



HAL
open science

Nouvelle méthodologie pour la caractérisation de distributions de masses molaires d'échantillons cellulosiques complexes

Jérémy Rebiere

► **To cite this version:**

Jérémy Rebiere. Nouvelle méthodologie pour la caractérisation de distributions de masses molaires d'échantillons cellulosiques complexes. Sciences et techniques de l'agriculture. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2017. Français. NNT : 2017INPT0017 . tel-02791416

HAL Id: tel-02791416

<https://hal.inrae.fr/tel-02791416v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :

M. JEREMY REBIERE

le lundi 20 mars 2017

Titre :

Nouvelle méthodologie pour la caractérisation de distributions de masses molaires d'échantillons celluloseux complexes

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (L.C.A.)

Directeur(s) de Thèse :

M. FRÉDÉRIC VIOLLEAU

MME VANESSA DURRIEU

Rapporteurs :

M. GERARD MORTHA, INP GRENOBLE

Mme TATIANA BUDTOVA, MINESPARISTECH

Membre(s) du jury :

M. MATHIAS DESTARAC, UNIVERSITE TOULOUSE 3, Président

M. FRÉDÉRIC VIOLLEAU, EI PURPAN, Membre

Résumé

Résumé

La cellulose est un biopolymère naturel et très abondant. Selon son origine et son mode d'extraction, elle présente des propriétés de cristallinité et de longueur de chaînes variables. Les interactions hydrogène entre les chaînes de cellulose sont en grande partie responsables de son organisation et forment un réseau très dense qui limite sa solubilité. Sa dissolution, complète et non-dégradante, est donc compliquée et dépend de la capacité du solvant à rompre ces liaisons hydrogène intermoléculaires.

L'analyse de la cellulose par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) pour suivre l'évolution des distributions de masses molaires (DMM) au cours des procédés de transformation est donc toujours problématique. Le système de solvant le plus commun est actuellement le chlorure de lithium/*N,N*-diméthylacétamide (LiCl/DMAc) qui est extrêmement toxique.

L'objectif de ce travail est le développement d'une méthode d'analyse des DMM de la cellulose dans des conditions moins toxiques et adaptée à tous les types de cellulose. Parmi les nombreux systèmes de solvant décrits dans la littérature, 3 systèmes, plus verts et non-dérivatisants, ont été sélectionnés afin d'identifier un système de solvant permettant la dissolution, sans dégradation, d'échantillons de cellulose de cristallinité et de masse molaire moyenne variables afin de remplacer LiCl/DMAc.

Les analyses thermogravimétriques et les mesures viscosimétriques ont permis d'évaluer et de comparer les modifications de 4 échantillons de cellulose dissous dans ces 3 systèmes et dans le LiCl/DMAc. LiCl/DMAc dégrade les celluloses de plus haute masse molaire (α -cellulose et Vitacel), réduisant de 50 % les longueurs de chaîne après dissolution.

Le système tétrabutylammonium/diméthylsulfoxyde (TBAF/DMSO) permet une dissolution rapide des 4 échantillons de cellulose sans dégradation ou modification majeure.

Le système TBAF/DMSO a, par la suite, été privilégié pour la caractérisation des échantillons en SEC. Du fait d'interactions possibles entre les groupements aromatiques composant la phase stationnaire et les molécules de TBAF, le système complet n'a pas pu être utilisé comme éluant. L'éluant choisi a donc été le DMSO mais qui, seul, ne solubilise pas les échantillons celluloses.

Les molécules de TBAF sont cependant indispensables au mécanisme de dissolution et la concentration en TBAF dans le DMSO a dû être adaptée en fonction des échantillons. Pour les échantillons celluloses de faible masse molaire, une concentration en TBAF de l'ordre de 1 % (m/v) est suffisante et permet de réaliser une analyse des masses molaires satisfaisantes. Pour les échantillons de plus haut poids moléculaire, cette concentration n'est plus suffisante pour les dissoudre convenablement. Or, avec des concentrations plus élevées, des phénomènes d'agrégation provoquent l'éluion d'une partie importante des macromolécules dans le volume mort, comme observé avec l'analyse de standards de pullulane.

Mots-clés : cellulose, dissolution, distribution de masses molaires, solvant non-dérivant, chromatographie d'exclusion stérique.

Remerciements

Remerciements

En tout premier lieu, je souhaite remercier le Laboratoire de Chimie Agroindustrielle, et en particulier les équipes de l'ENSIACET et de l'EI Purpan de m'avoir permis de mener à bien mes travaux de thèse.

Je remercie Mme Tatiana Budtova et Mr Gérard Mortha pour avoir accepté d'évaluer ces travaux. Je remercie Mr Mathias Destarac d'avoir accepté de participer et d'avoir présider mon jury de thèse. Leurs critiques bienveillantes sur la tenue de ma thèse furent constructives et enrichissantes, aussi bien dans leur rapport que le jour de ma soutenance, au cours de nos échanges. Un GRAND merci à eux.

Je remercie mes 3 chefs Mme Vanessa Durrieu, Mr Antoine Rouilly et Mr Frédéric Violleau pour m'avoir supporté durant toute la durée de la thèse, de m'avoir accompagné et par moment avoir su me recadrer. Une belle aventure, tumultueuse et difficile, mais très enrichissante personnellement et professionnellement. Un GRAND merci à vous.

Ces 3 ans (et demi) de thèse ont été une belle aventure scientifique, chimique mais également humaine. Les couloirs ont ainsi été les témoins de rencontres, de discussions, de rires mais aussi de déceptions.

Je remercie l'ensemble du personnel des différents laboratoires qui ont eu la (mal)chance de m'accueillir. Je pense aux personnels de l'ENSIACET, de l'EI Purpan mais aussi au « Centre for Nutrition and Food Sciences » de l'Université du Queensland à Brisbane (Australie) pour ces 2 mois de stage (un grand merci au Pr « BOB » Gilbert pour son accueil).

Remerciements

Je remercie également le personnel et les équipes encadrant les TP au cours desquels j'ai pu me confronter à la difficile mais enrichissante tâche d'enseigner. Merci le monitorat !! Un GRAND merci à vous tous, et en particulier à Maman Manu !!!

Je remercie l'ensemble des personnes qui m'ont supporté au quotidien. Je remercie mon petit Romain que j'ai ennuyé des journées, des semaines voire des mois à la recherche de produits (où est ce p***** de DMSO !!!). Merci également à Mireille pour son aide et sa patience face aux (quelques) problèmes rencontrés !!

Parlant de problèmes, je n'oublie pas les différents intervenants extérieurs (Nicolas, Stéphanie ou Grichka) pour leur disponibilité et leur intervention pour résoudre une ou plusieurs (!!)

panne(s). Merci à eux.

Un GRAND merci en particulier au clan de la coinche du LCA !!! Merci aux désormais Dr JB Jentzer, Dr Ben Moras, Dr Bastien Jallabert mais aussi Dr Cécé (ou maman) Bories pour toutes ces réunions à midi, très productives !! Bon courage à la (jeune) relève Vince (le guide du Surfeur), IronMike, ou encore Jeff, Nydia, Marian, Allan, Jésus, le très très Tchatcheur Francisco ou encore Nico (ex prez des stagiaires !). Le meilleur est à venir !!

Un GRAND merci à l'équipe de Purpan pour m'avoir accueilli et accepté malgré mon incompetence ou incompatibilité végétale !! Merci aux Dr Romain, Sophie, Marielle et Eugénie, sans oublier la toute nouvelle Dr Hélène (ma collègue de rédaction), Simon (le googlelizer), Eva (la bordelaise), Michael (le tonton flingueur de thésard déjà à terre !!) pour les petites pauses, les petits apéros, les soirées poker et les cafés !!!

Un GRAND merci à mes amis de l'Alcool'oc (PA, Damien, Cédy, Carole, Chacha et Lulu) pour leur soutien permanent durant toutes ces années, aux amis et frères du rugby, aux anciens de Movidia (Benoît, Laure et Matthieu) pour votre amitié et pour avoir supporté mes doutes, mes colères mais aussi ma folie.

Un ENORME merci à ma famille que j'aime qui n'a pas toujours compris mes choix mais les a toujours soutenus (malgré la distance ou les difficultés).

Enfin, une spéciale dédicace à mon parpaing !!

MERCI à vous tous.

Table

des

Matières

Table des Matières

TABLES DES ILLUSTRATIONS.....	2
INTRODUCTION GENERALE.....	8
PRESENTATION ET OBJECTIFS DE THESE.....	16
CHAPITRE I ETAT DE L'ART	20
I.1 La cellulose.....	21
I.1.1 Structure primaire.....	23
I.1.2 Structure secondaire.....	23
I.1.3 Structure tertiaire	24
I.1.3.1 Interactions intra- et inter-moléculaires	24
I.1.3.2 Semi-cristallinité	26
I.1.3.3 Allomorphisme	26
I.1.4 Propriétés physiques.....	31
I.1.4.1 Masse volumique des fibres de cellulose	31
I.1.4.2 Stabilité thermique des fibres de cellulose	32
I.2 Dissolution de la cellulose.....	33
I.2.1 Différentes classes de solvants	33
I.2.2 Solvants dérivatisants	34
I.2.2.1 Un peu d'histoire	34
I.2.2.2 Modifications chimiques de la cellulose.....	35

I.2.3	Solvants non-derivatisants	37
I.2.3.1	Fluides supercritiques	38
I.2.3.1.1	Système CO ₂ SC	39
I.2.3.1.2	Système H ₂ O SC	39
I.2.3.2	Solvants aqueux	40
I.2.3.3	Liquides ioniques	41
I.2.3.4	Système NMMO	42
I.2.3.5	Sels organiques	44
I.2.3.5.1	Système LiCl/DMAc	44
I.2.3.5.2	Système de solvant DMSO	46
I.3	Détermination des masses molaires de cellulose	49
I.3.1	Définitions	49
I.3.1.1	Degré de polymérisation	49
I.3.1.2	Masses molaires moyennes	50
I.3.2	Détermination des masses molaires moyennes	52
I.3.2.1	Viscosimétrie	52
I.3.2.2	Techniques de fractionnement & d'analyse appliquées à la cellulose	55
I.3.2.2.1	Appareillage	56
I.3.2.2.2	Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)	57
I.3.2.2.3	Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AsFFFF)	60
I.3.2.2.4	Systèmes de détection	64
I.3.2.2.5	Détermination de la distribution de masses molaires	71
I.3.2.2.6	Critiques des conditions d'analyse actuelles	78
I.4	Conclusion	81

CHAPITRE II ETUDE DES MODIFICATIONS STRUCTURALES D'ECHANTILLONS DE CELLULOSE NON-DERIVATISES APRES DISSOLUTION DANS DIFFERENTS SYSTEMES DE SOLVANT..... 86

II.1	Introduction	87
II.2	Matériels et méthodes	90
II.2.1	Matériels	90
II.2.2	Méthodes de dissolution/régénération	90
II.2.2.1	Principe général	90
II.2.2.2	Conditions de dissolution	92
II.2.2.3	Conditions de régénération et lavage	94

II.2.3	Méthodes d'analyse	95
II.2.3.1	Microanalyse élémentaire organique.....	95
II.2.3.2	Optimisation des conditions de dissolution par suivi turbidimétrique	96
II.2.3.3	Dégradation thermique par Analyse Thermo-Gravimétrique (ATG)	96
II.2.3.4	Observation de la structure cellulosique par Microscopie électronique à Balayage (MEB)	97
II.2.3.5	Indice de cristallinité (CrI) par diffraction par Rayons-X (DRX).....	98
II.2.3.6	Indice de cristallinité (CrI) par Spectroscopie RMN ¹³ C solide.....	98
II.2.3.7	Détermination des DP celluloses par viscosimétrie	99
II.2.3.8	Analyses statistiques	99
II.3	Résultats et discussion	100
II.3.1	Caractérisation des échantillons de cellulose commerciaux	100
II.3.1.1	Détermination des valeurs CrI et DPv	100
II.3.1.2	Détermination des teneurs C, H et O des échantillons celluloses	100
II.3.2	Procédés de dissolution	101
II.3.3	Procédés de Régénération	104
II.3.4	Modifications de la structure cellulosique.....	107
II.3.4.1	Stabilité thermique.....	107
II.3.4.2	Structure des fibres de cellulose par MEB.....	110
II.3.4.3	Analyses structurales par DRX et RMN ¹³ C solide	113
II.3.4.4	Mesures de viscosimétrie : détermination des DPv	115
II.3.5	Discussion.....	117
II.4	Conclusions	120
CHAPITRE III DETERMINATION DE LA DISTRIBUTION DE MASSES MOLAIRES		
D'ECHANTILLONS DE CELLULOSE NON-DERIVATISES PAR CHROMATOGRAPHIE		
D'EXCLUSION STERIQUE.....		124
III.1	Introduction	125
III.2	Matériel & Méthodes	126
III.2.1	Réactifs.....	126
III.2.1.1	Système de solvant.....	126
III.2.1.2	Standards.....	126
III.2.1.3	Cellulose	126
III.2.2	Méthode	127
III.2.2.1	Préparation des échantillons.....	127
III.2.2.1.1	Standards de pullulane	127

III.2.2.1.2	Cellulose.....	127
III.2.2.2	Conditions HPLC	128
III.2.2.2.1	Système HPLC	128
III.2.2.2.2	Système de colonne.....	128
III.2.2.2.3	Conditions d'élution	129
III.2.2.3	Traitement des données.....	129
III.3	Résultats & Discussion.....	131
III.3.1	Influence de la teneur en TBAF dans le solvant d'élution.....	131
III.3.2	Analyse de standards de pullulane	134
III.3.2.1	Standards préparés dans le DMSO pur (DT 0).....	134
III.3.2.2	Standards préparés dans les solutions de TBAF/DMSO	135
III.3.2.3	Comparaison des courbes de calibration	138
III.3.2.4	Discussion	139
III.3.3	Chromatographie d'exclusion stérique appliquée aux échantillons de cellulose non-dérivatisés ..	141
III.3.3.1	Influence du TBAF sur la taille des échantillons Avicel	141
III.3.3.2	Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés préparés dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 10 mg/mL	145
III.3.3.3	Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de haute masse molaire non-dérivatisés préparés dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 20 mg/mL.....	147
III.3.3.4	Discussion	149
III.4	Conclusion	152
	CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES.....	156
	ANNEXES	160
	Annexe A : « Bubbling » de SO₂(g) dans le DMSO	162
	Annexe B : Teneurs moyennes en C, H et O, selon la teneur en eau	163
	Annexe C : Observations MEB des différents échantillons de cellulose régénérés	164
	Annexe D : Effet de la nature du solvant sur la structure de membrane semi-perméable en cellulose régénérée.....	166
	Annexe E : Développement d'une membrane semi-perméable.....	168
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	I

Tables

des

Illustrations

Tables des Illustrations

Liste des figures

Figure 1 Unité anhydroglucose (UAG).....	23
Figure 2 Représentation schématique de la cellulose (Krassig, 1990)	24
Figure 3 Représentation schématique des liaisons hydrogène intra-moléculaires (bleues) et inter-moléculaires (rouges) des chaînes de cellulose	24
Figure 4 Caractère amphiphile d'une chaîne de cellulose (Medronho and Lindman, 2014).....	25
Figure 5 Représentation schématique de la structure semi-cristalline cellulosique	26
Figure 6 Représentation de la structure cristalline des allomorphes I _α (A) et I _β (B) (Navi and Heger, 2005).....	27
Figure 7 Représentation schématique de l'organisation en feuillets des chaînes de cellulose de type I (Gardner and Blackwell, 1974b)	28
Figure 8 Différentes voies d'obtention des allomorphes de cellulose	29
Figure 9 Représentation de la structure cristalline des allomorphes I _β (A) et II (B) (Klemm et al., 2005)	29
Figure 10 Représentation schématique de l'orientation des chaînes de cellulose I et II	30
Figure 11 Fonctionnalisations possibles de la cellulose en fonction du groupement chimique	35
Figure 12 Représentation schématique du mécanisme de dissolution de la cellulose dans RMIM [Cl]	42
Figure 13 Complexes entre la molécule de NMMO et la cellulose (Pinkert et al., 2010).....	43
Figure 14 Représentation schématique du mécanisme de dissolution de la cellulose dans LiCl/DMAc (Medronho and Lindman, 2015)	45

Figure 15 Représentations de complexes {LiCl/DMAc – Cellulose} : A (McCormick et al., 1985), B (Berger et al., 1985), C (El-Kafrawy, 1982), D (Herlinger and Hengstberger, 1985) et E (Vincendon, 1985)	46
Figure 16 Mécanisme de dissolution de la cellulose dans le système DMSO/DEA/SO ₂ (Isogai et al., 1987)	47
Figure 17 Représentation des complexes A : {TBAF-DMSO} et B : {TBAF-DMSO-Cellulose}	48
Figure 18 Distribution et relation entre les masses molaires moyennes	51
Figure 19 Viscosimètre d'Ostwald	53
Figure 20 Représentation schématique d'une colonne SEC	57
Figure 21 Mode de séparation de molécules de différentes tailles par fractionnement SEC	58
Figure 22 Exemple de chromatogrammes SEC selon la taille des macromolécules analysées	59
Figure 23 Représentation schématique du phénomène d'entropie au sein d'un pore (Wu, 2003)	59
Figure 24 Représentation schématique d'une cellule AsFIFFF	61
Figure 25 Représentation schématique du fractionnement par AsFIFFF	62
Figure 26 Représentation du phénomène de diffraction de la lumière (modèle de déviation)	65
Figure 27 Phénomène de diffusion de la lumière laser selon le volume occupé par la molécule	68
Figure 28 Représentation du diagramme de type Zimm (Zimm, 1948)	70
Figure 29 Représentation de la matrice de colonne en polystyrène-divinylbenzène	74
Figure 30 Structure chimique des standards, polystyrène et pullulane, utilisés pour la détermination de distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose	77
Figure 31 Etapes de dissolution de la cellulose (1) pré-chauffage, (2) gonflement et (3) dissolution	91
Figure 32 Etapes de régénération de la cellulose (4) régénération, (5) lavage-filtration et (6) post-séchage	91
Figure 33 Dissolution de l'échantillon Fibres de Coton dans le solvant IL : (A) dans les conditions optimisées (Tableau 16) et (B) dans les conditions de Zhang et al. (2005)	94
Figure 34 Détermination des températures To et Tm	97
Figure 35 Observations MEB (A) x200 – 100µm et (B) x500 – 50µm des celluloses non-traitées	111
Figure 36 Observations MEB (x200 – 100µm) : (A) α-cellulose et (B) Avicel, non traitées et régénérées	112

Figure 37	Diffractogrammes des différents échantillons de cellulose non traités et régénérés selon le système de solvant utilisé pour la dissolution.....	113
Figure 38	Spectres RMN ¹³ C solide des échantillons α-cellulose non traité (noir) et régénéré (rouge) après dissolution/régénération dans le système de solvant D/S.....	114
Figure 39	Possibles interactions TBAF_PS-DVB au sein d'un pore de colonne.....	132
Figure 40	Schématisation d'un pore de colonne non-saturé (A) et encombré (B).....	133
Figure 41	Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 0.....	134
Figure 42	Différence de dépliement selon la longueur des chaînes de polymère : courte (A) ou longue (B).....	135
Figure 43	Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 0,5.....	135
Figure 44	Modification des volumes hydrodynamiques des standards de haute (A) et de faible (B) masse molaire préparés en DT 0,5 (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C).....	136
Figure 45	Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 1.....	137
Figure 46	Influence de la teneur en TBAF sur les profils de standards (A= P 20 kDa ; B= P 636 kDa).....	137
Figure 47	Courbes de calibration (CC) obtenus par fractionnement SEC de standards de pullulane selon le solvant DT de préparation, avec $y = \log M_n$ et $x = V_e$	138
Figure 48	Evolution des volumes d'élution en fonction de la concentration en TBAF.....	139
Figure 49	Influence des molécules de TBAF sur les chaînes polymériques.....	140
Figure 50	Chromatogrammes cellulose Avicel à 1 mg/mL, préparée à différentes concentrations en TBAF	141
Figure 51	Chromatogrammes des échantillons Avicel préparés [TBAF] = 10 et 20 mg/mL.....	142
Figure 52	Conformations possibles des chaînes de cellulose dissoutes selon la concentration en TBAF.....	143
Figure 53	Chromatogrammes des différents échantillons de cellulose (1 mg/mL) préparés en TBAF/DMSO avec [TBAF] = 10 mg/mL (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C).....	146
Figure 54	Chromatogrammes de α-cellulose et Vitacel (1 mg/mL) préparées en TBAF/DMSO de concentration 10 et 20 mg/mL (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C).....	148
Figure 55	Phénomène de dilution du TBAF au cours du procédé de fractionnement.....	151
Figure 56	Montage « bubbling » SO ₂ (g) dans DMSO.....	162

Figure 57 Observations MEB (x500 - 50µm) des échantillons (A) α-cellulose et (B) Avicel, non traités et régénérés	164
Figure 58 Observations MEB (A : x200 - 100µm & B : x500 - 50µm) des échantillons de cellulose Vitacel non traités et régénérés.....	165
Figure 59 Observations microscopiques (x 40 – 100 µm) de membrane AsFIFFF en cellulose régénérée après traitement (A) 20°C/2 h & (B) 40 °C/4 h.....	167
Figure 60 Observations microscopiques (x 100 – 40 µm) de membrane AsFIFFF en cellulose régénérée après traitement (A) 20°C/2 h & (B) 40 °C/4 h.....	167
Figure 61 Propriétés physiques de la membrane céramique développée	168
Figure 62 Dégradation de la membrane en céramique	169

Liste des tableaux

Tableau 1 Exemples de teneur en cellulose selon l'origine.....	21
Tableau 2 Caractéristiques physiques de la cellulose (Fink et al., 1992; Klemm et al., 1998)	31
Tableau 3 Propriétés thermiques de la cellulose	32
Tableau 4 Exemples de fonctionnalisation sur le polymère de cellulose	36
Tableau 5 Coordonnées critiques de fluides supercritiques	38
Tableau 6 DP (UAG) de différentes sources de celluloses (Fengel and Wegener, 1983; Sjöström, 1993).....	49
Tableau 7 Conditions opératoires pour l'analyse d'échantillons cellulosiques dérivatisés	72
Tableau 8 Méthodes de détermination de distribution de masses molaires de celluloses dérivatisées.....	73
Tableau 9 Conditions opératoires SEC pour l'analyse d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés.....	75
Tableau 10 Méthodes SEC pour la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés	76
Tableau 11 Valeurs d'indice dn/dc pour la cellulose dans le système LiCl/DMAc (0,5 %, m/v).....	78
Tableau 12 Conditions de dissolution d'échantillons de cellulose dans les différents systèmes de solvant	92
Tableau 13 Incertitudes de mesure en fonction des teneurs en élément.....	96

Tableau 14 Caractérisation des indices de cristallinité (CrI) et des degrés de polymérisation (DP et DP _v) des échantillons de cellulose - comparaison entre les données fournisseurs et expérimentales	100
Tableau 15 Mesures des teneurs (%) en C, H et O des différents échantillons de cellulose commerciaux.....	101
Tableau 16 Conditions expérimentales de dissolution : temps (t) et température (T) optimisés, pour chacun des couples {système de solvant-échantillon de cellulose}	102
Tableau 17 Valeurs de turbidité (en NTU) des systèmes de solvant purs et des solutions de cellulose.....	102
Tableau 18 Microanalyses élémentaires de l'α-cellulose après dissolution dans le système D/T selon la méthode de régénération.....	104
Tableau 19 Conditions expérimentales de régénération et de lavages successifs (L.i) des échantillons de cellulose selon les systèmes de dissolution : nature des non-solvants (ns) et température (T) optimisées.....	105
Tableau 20 Teneurs (%) des différents échantillons cellulosiques après dissolution dans les différents systèmes de solvant puis régénérés par agitation magnétique à chaud – comparaison avec les teneurs des échantillons respectifs non-traités	106
Tableau 21 Température T ₀ (°C) des échantillons de cellulose non-traités et régénérés après dissolution dans les différents systèmes de solvant.....	108
Tableau 22 Température T _m (°C) des échantillons de cellulose non-traités et régénérés après dissolution dans les différents systèmes de solvant.....	109
Tableau 23 Valeurs DP _v mesurées pour les échantillons de cellulose non-traités et régénérés.....	115
Tableau 24 Masses molaires des standards de pullulane (données fournisseur)	126
Tableau 25 Concentrations finales des échantillons de standard.....	127
Tableau 26 Conditions expérimentales pour la préparation des solutions de cellulose.....	128
Tableau 27 Temps avant saturation de la colonne en fonction de la [TBAF] en solution dans le DMSO (0,5 mL/min à 60 °C).....	131
Tableau 28 Comparaison avec les valeurs fournisseurs et viscosimétriques, des masses molaires obtenues par calibration relative de l'échantillon Avicel préparé avec différentes concentrations en TBAF.	144
Tableau 29 Masses molaires de Avicel préparé en TBAF de 10 mg/mL, selon deux courbes de calibration.....	144
Tableau 30 Masses molaires obtenues par CC DT 0 et comparaison avec les masses molaires références pour les échantillons de cellulose préparés avec TBAF/DMSO de [TBAF] = 10 mg/mL.....	146

Tableau 31 Masses molaires de celluloses préparées avec TBAF/DMSO de [TBAF] de 20 mg/mL obtenues par CC DT 0, et comparées aux masses molaires références (fournisseur et viscosimétrique)..... 149

Tableau 32 Teneurs (%) en C, H et O cellulosique selon le taux d'absorption d'eau inter-fibrillaire..... 163

Introduction

Générale

Introduction générale

La raréfaction des ressources fossiles, associée aux pollutions générées au cours de leurs exploitations (destruction d'écosystèmes), de leurs utilisations (gaz à effet de serre) ainsi qu'aux problèmes liés à leur recyclage (notamment des matières plastiques) ont conduit au développement de nouveaux axes de recherche et à l'éclosion de la chimie verte.

La chimie verte ou chimie renouvelable encourage la conception de produits et de processus chimiques diminuant l'utilisation et la production de substances dangereuses, toxiques et issues des ressources fossiles. L'objectif est la réduction de l'impact de l'activité humaine sur l'environnement. Parmi les axes de recherche de cette nouvelle chimie, la substitution des polymères de synthèse, issus de la pétrochimie, par des polymères naturels abondants, renouvelables et biodégradables (amidon, cellulose, lignine, ...), donne lieu à de nombreux travaux et publications, et est actuellement en plein essor.

La cellulose est le biopolymère naturel le plus abondant dans le monde, et représente plus de 50% de la biomasse. Elle est présente majoritairement dans les parois cellulaires des plantes, de certaines algues, mais peut être aussi synthétisée par certaines bactéries. La cellulose est une matière première essentielle pour la fabrication de matériaux de construction (bois), de textiles (coton, viscose), de papiers et cartons (pâte de cellulose) mais est aussi présente dans d'autres domaines plus spécifiques tels que la cosmétique (émulsifiant), l'énergie (bioéthanol) ou la plasturgie. Les dérivés cellulosiques sont également utilisés comme additifs alimentaires ou pharmaceutiques.

Contrairement à de nombreux polymères naturels, et notamment la lignine et les hémicelluloses, la cellulose pure est un polymère dont la structure est bien définie (Klemm *et al.*, 1998). Son extraction et sa purification nécessitent plusieurs procédés chimiques et/ou mécaniques, au cours desquels la structure cellulosique peut être modifiée par oxydation, dépolymérisation ou décristallisation. Afin de conférer une haute valeur ajoutée et une meilleure spécification aux dérivés cellulosiques, le contrôle de ces différents procédés est nécessaire pour permettre d'obtenir des échantillons de cellulose les plus purs possibles et les mieux définis.

Outre la pureté, la Distribution de Masses Molaires (ou DMM) ainsi que la structure et la nature de la phase cristalline sont des caractéristiques primordiales de la cellulose. Leurs connaissances sont indispensables afin de développer à la fois de nouveaux produits et de nouveaux procédés. Comme pour tout polymère, la DMM et la cristallinité conditionnent de nombreuses propriétés physico-chimiques. La dissolution complète dans un système de solvant, plus ou moins complexe, est nécessaire pour la synthèse de dérivé et la détermination de la DMM d'un polymère quelle que soit la technique utilisée.

Néanmoins, le développement de nouveaux solvants capables de dissoudre la cellulose reste problématique en raison de la faible solubilité de ce polymère, limitant le développement de nouvelles méthodes de caractérisation. La dissolution de la cellulose dépend de plusieurs facteurs. La majorité des celluloses industrielles sont extraites de fibres végétales. Les hémicelluloses et la lignine en sont difficilement éliminées et leur présence résiduelle, même à l'état de trace, peut rendre difficile la dissolution. Les interactions inter- et intra-moléculaires de type liaison hydrogène, existant entre les chaînes de cellulose, associées à des interactions hydrophobes non négligeables, lui confèrent une structure dense. Ce réseau très organisé, dit semi-cristallin, est donc difficilement accessible à un solvant, ce qui limite sa dissolution.

Afin de dissoudre la cellulose, il est donc primordial de rendre accessible cette structure au solvant et permettre, en particulier, la rupture des interactions hydrogènes inter-moléculaires. De nombreux systèmes de solvant ont été développés selon les besoins, dont le mécanisme de dissolution (dérivatisant ou non-dérivatisant) et la famille chimique (sels organiques, liquides ioniques, fluide supercritique ou encore aqueux) sont très variés.

La chromatographie d'exclusion (SEC) est communément utilisée pour la détermination des DMM et des masses molaires moyennes des polymères naturels, et plus particulièrement celles d'échantillons cellulosiques de diverses origines. Les différences fonctionnelles entre ces polymères sont liées à la distribution des longueurs de chaîne, à leurs combinaisons, arrangements, et autres interactions entre les chaînes. Au cours des 20 dernières années, la méthode de chromatographie d'exclusion stérique (SEC) employant le système de solvant chlorure de lithium/*N,N*-diméthylacétamide (LiCl/DMAc) comme solvant d'élution et de dissolution de la cellulose est devenue la technique générale de référence pour la caractérisation des masses molaires d'échantillons cellulosiques. Cette technique a été appliquée pour étudier les transformations qui se produisent dans divers procédés chimiques et biologiques, comme les procédés de blanchiment de pâtes à papier, les traitements enzymatiques ou encore la fabrication de la viscose (Karlsson and Westermark, 1996; Rahkamo *et al.*, 1998; Silva and Laver, 1997; Sjöholm *et al.*, 2000a; Strlič *et al.*, 1998) et plus récemment pour l'étude de la conservation de papier ancien (Dupont, 2003; Jerosch *et al.*, 2002).

Néanmoins, la chromatographie d'exclusion stérique reste limitée et critiquable quant à l'analyse d'échantillons polymériques de haute masse molaire, du fait de possible formation d'agrégats (Sjöholm *et al.*, 2000b). Le DMAc est un produit chimique reconnu cancérogène et/ou mutagène et/ou toxique pour la reproduction (CMR) notamment pour sa reprotoxicité et l'altération du système nerveux central (Committe for Risk Assessment, 2014). Son utilisation en Europe est restreinte par la mise en place de la norme REACH (The European Commission, 2014). Le système LiCl/DMAc présente donc une forte toxicité. L'utilisation de ce système pour la préparation et l'analyse des échantillons de cellulose, ne répond pas aux directives décrites pour le développement de la chimie verte.

Par conséquent, le développement d'un nouveau système de solvant, moins toxique, et d'une nouvelle méthode d'analyse correspondante pour la caractérisation de distributions de masses molaires d'échantillons de cellulose constitue un défi pertinent écologiquement mais aussi en termes d'innovations scientifique, voire technique.

Présentation

et

Objectifs de thèse

Présentation et Objectifs de thèse

Le but de ce travail est donc la mise au point d'une nouvelle méthodologie, plus verte, permettant la détermination de la distribution en masses molaires de cellulose. Le manuscrit se présente sous la forme de 3 chapitres.

Le **chapitre I** est consacré à une étude bibliographique visant à rappeler les caractéristiques et les propriétés de la cellulose, les systèmes de solvant communément utilisés pour sa dissolution, ainsi que les principales méthodes connues pour la détermination des masses molaires d'échantillons de cellulose.

Par la suite, chacun des 2 chapitres se compose de 4 parties : (i) une introduction présentant le but recherché et l'intérêt des travaux, (ii) une partie matériels et méthodes afin de décrire les produits utilisés ainsi que les différents procédés de préparation et d'analyse utilisés, (iii) une partie résultats et discussion afin de présenter et de commenter les divers résultats des expériences, et enfin (iv) une partie conclusion sur les différentes observations.

Le **chapitre II** est dédié à l'étude des propriétés physico-chimiques cellulosiques suite à la dissolution de différents échantillons de cellulose dans les systèmes de solvant :

- le chlorure de butyl-méthylimidazolium (BMIM [Cl]),
- le diméthylsulfoxyde/diéthylamine/disulfure (DMSO/DEA/SO₂),
- le tétrabutylammonium/diméthylsulfoxyde (TBAF/DMSO),
- et le chlorure de lithium/N,N-Diméthylacétamide (LiCl/DMAc).

Ces systèmes de solvants sont reconnus comme non-dérivatisants pour les échantillons de cellulose. Les analyses élémentaire, microscopique (MEB), thermogravimétrique (ATG), par diffraction des rayons X (DRX) ainsi que des mesures de viscosité intrinsèque ont permis d'étudier les modifications structurales subies par 4 échantillons cellulosiques, de différents degrés de polymérisation et taux de cristallinité, au cours de leur dissolution. L'objectif est de comparer les modifications observées au travers de ces différents solvants avec les modifications observées après la dissolution respective de ces échantillons de cellulose par le système LiCl/DMAc. Cette étude a pour but l'identification d'un système de solvant non-dégradant permettant de remplacer le LiCl/DMAc pour le développement d'une méthode SEC pour la détermination de la DMM de cellulose. Le système TBAF/DMSO permet de dissoudre l'ensemble de nos échantillons, sans dégradation majeure.

Enfin le **chapitre III** est consacré au développement d'une nouvelle méthode d'analyse pour la détermination de masse molaire par SEC basée sur le système de solvant TBAF/DMSO sélectionné au cours de l'étude présentée dans le Chapitre II. Avec ce système de solvant, l'analyse se fait dans des conditions d'élution et de préparation différente, dite hétérogène. Les molécules de TBAF présentes dans le solvant d'élution interagissent, s'adsorbent à la surface du gel de polymère du système de colonne, provoquant une importante surpression. Cette saturation oblige l'utilisation du DMSO comme solvant d'élution. Deux études ont été menées, sur l'influence du TBAF en solution de préparation sur les volumes hydrodynamiques des échantillons de pullulane et des différents échantillons de cellulose.

Chapitre I

Etat de l'art

Chapitre I Etat de l'art

Au cours des dernières années, l'utilisation des polysaccharides naturels comme alternative à la raréfaction des ressources fossiles, afin de réduire l'impact humain sur l'environnement, ne cesse de croître. De nombreux travaux ont permis le développement de nouveaux procédés, produits et matériaux d'origine végétale.

Contrairement à l'amidon, autre polysaccharide naturel très largement étudié, la cellulose n'entre pas en compétition avec l'alimentation humaine. Du fait de sa biodisponibilité importante, de sa biodégradabilité et de ses propriétés physico-chimiques, la cellulose présente un intérêt majeur pour une grande variété d'axes de recherche.

Ce **chapitre I**, dédié à l'état de l'art, se divise en 3 grandes parties :

La **partie I** présente les aspects généraux de la structure de la cellulose, aux échelles moléculaire, supramoléculaire et macro-structurale.

La **partie II** présente les différentes classes de systèmes de solvants, non-dérivatisants connus et utilisés pour la dissolution de la cellulose.

La **partie III** présente les différentes méthodes utilisées pour la détermination de distribution de masses molaires développées pour la caractérisation de la cellulose.

I.1 LA CELLULOSE

La cellulose est le polymère naturel le plus abondant sur Terre. Il représente près de 50 % de la biomasse terrestre. Les végétaux en produisent de 50 à 100 milliards de tonnes par an.

La cellulose est le principal constituant de la paroi cellulaire des plantes et du bois (Krassig, 1990). La cellulose est aussi présente dans les parois cellulaires de certaines algues comme *Valonia* ou *Cladophora* (Gardner and Blackwell, 1974a; Mhrranyan, 2011), et peut également être biosynthétisée par certaines bactéries dont *acetobacter xylinum* (Embuscado *et al.*, 1994; Masaoka *et al.*, 1993).

La teneur en cellulose, dans ces différents organismes vivants, est variable selon leur origine (Tableau 1).

Tableau 1 Exemples de teneur en cellulose selon l'origine

Origine cellulose	Teneur en cellulose (% matière sèche)
Coton	95-99
Bactérienne	> 90
Lin	70-75
Bambou, bouleau, blé	40-50
Algale	20-30
Maïs	17-20

Cette biomasse végétale constitue donc une importante ressource renouvelable qui est déjà employée dans de multiples secteurs d'activité comme les biomatériaux (bois), l'énergie (bois de chauffage), l'industrie textile (coton, lin, chanvre) ou bien encore l'industrie papetière (cellulose). De nouveaux domaines d'exploitation de la cellulose émergent pour la conception de nouveaux films plastiques ou conducteurs biodégradables, ou pour la production de bioénergie comme le bioéthanol.

En 1834, le chimiste français Anselme Payen (Payen, 1838) découvre la cellulose, en extrayant une substance blanche et fibreuse des parois cellulaires végétales. Au cours du 19^{ème} siècle, de nombreux procédés d'extraction ont été développés afin d'extraire une cellulose, la plus pure possible :

- 1853 : procédé de cuisson à la soude à haute température (170 °C) permettant l'obtention d'une pâte marron dédiée à l'emballage avec un taux de cellulose de 70-80 % ;
- 1866 : procédé Bisulfite acide utilisant l'acide de calcium ($\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$) et le dioxyde de soufre (SO_2) à 140 °C ;
- 1879 : procédé Kraft à base de soude et de sulfure de sodium Na_2S .

Depuis les années 1950, le procédé Kraft est le processus de mise en pâte chimique le plus utilisé. Ce procédé permet la récupération simple et efficace des produits chimiques utilisés, de la matière première, mais aussi pour l'obtention de matière avec des propriétés de résistance supérieures. La pâte Kraft est utilisée pour l'emballage, pour les papiers d'impression, d'écriture lorsqu'elle est blanchie ou encore en mélange, due à ses bonnes propriétés mécaniques. Le procédé cuisson au bisulfite est utilisé industriellement pour obtenir des pâtes cellulosiques de grande pureté, avec un minimum de lignine et d'hémicelluloses résiduelles. Elles ont de bonnes propriétés pour la fabrication du papier ou pour l'obtention de pâtes spéciales à usage chimique nécessitant une grande pureté en cellulose.

Ces procédés permettent l'élimination de la lignine, après cuisson et blanchiment, afin d'obtenir une pâte chimique ne contenant plus, au maximum, que 5 % de lignine résiduelle et d'autres constituants tels que les hémicelluloses, les résines organiques, les cires, La production de pâte de grande pureté (> 90 %) en cellulose est ainsi possible (Ragnar *et al.*, 2000).

De nos jours, de nombreuses applications industrielles de la cellulose nécessitent son extraction (chimique ou mécanique) dans différentes conditions selon les besoins. De plus, il existe certains procédés chimiques nécessitant la dissolution de la cellulose puis sa régénération appelée dès lors cellulose régénérée afin d'améliorer la réactivité de la cellulose native.

La cellulose est un homopolymère d'unités D-glucose bien connu (French *et al.*, 2002). Sa structure chimique peut sembler relativement simple. Néanmoins, l'existence de différents niveaux d'organisation confère aux chaînes de cellulose une structure complexe, extrêmement organisée, présentant une très grande stabilité thermique et mécanique. L'emploi de traitements chimiques et/ou mécaniques spécifiques est nécessaire afin d'interagir sur les fibres de cellulose.

I.1.1 STRUCTURE PRIMAIRE

En 1834, le français Anselme Payen détermine donc sa formule empirique $(C_6H_{10}O_5)_n$ et la nomme cellulose, pour « le sucre provenant des cellules » (Klemm *et al.*, 1998).

Il s'agit d'un homopolymère qui se compose d'unités D-anhydroglucose (UAG) liées par des liaisons β -(1 \rightarrow 4)-glycosidiques (Figure 1). Ce type de liaison caractéristique, engendre une rotation de 180° par rapport à l'unité glucose suivante conduisant à la formation d'un motif de répétition de deux unités glucose, le cellobiose, et conférant une structure moléculaire hélicoïdale très étirée de 7 unités de cellobiose de pas (Viswanathan and Shenouda, 1971).

Comme présenté sur la Figure 1, les unités anhydroglucoses composant le polymère de cellulose possèdent 3 groupements hydroxyles libres dont 2 fonctions alcools secondaires (en position C2 et C3) et un alcool primaire (en position C6). Ces groupements sont responsables de la forte réactivité de la cellulose et peuvent donner lieu à des réactions d'estérification, d'éthérification ou de carboxylation, typiques des alcools primaires et secondaires.

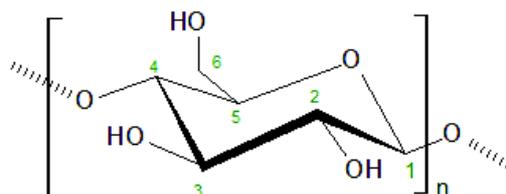


Figure 1 Unité anhydroglucose (UAG)

Chaque UAG comprend deux atomes d'oxygène engagés dans des liaisons osidiques en C1 et C4 pouvant être des sites privilégiés pour l'hydrolyse acide ou des coupures oxydatives. La composition élémentaire massique de la cellulose est de 49,4 % d'oxygène, 44,4 % de carbone et de 6,2 % d'hydrogène.

I.1.2 STRUCTURE SECONDAIRE

La structure moléculaire de la cellulose, représentée dans la Figure 2, comprend trois parties :

- une unité non-réductrice, située en fin de chaîne, avec des fonctions hydroxyles,
- une chaîne centrale linéaire composée d'un nombre variable n d'unités UAG en conformation chaise (plus stable énergétiquement), avec les groupements hydroxyles en position équatoriale,

- une unité réductrice en fin de chaîne (fonction aldéhyde) facilement oxydable (en acide carboxylique).

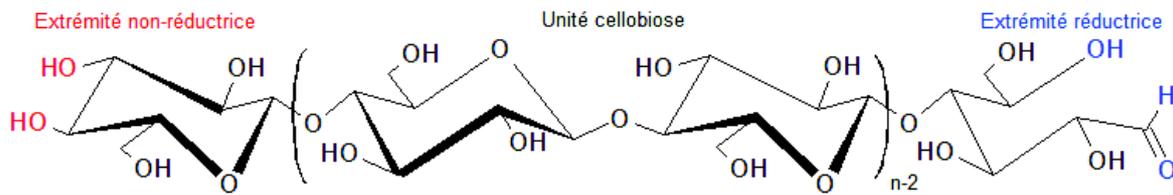


Figure 2 Représentation schématique de la cellulose (Krassig, 1990)

Le nombre n d'unités UAG correspond au degré de polymérisation (ou DP) de la cellulose. Le DP peut atteindre 24 000 unités glucose à l'état natif selon l'origine du polysaccharide.

I.1.3 STRUCTURE TERTIAIRE

La cellulose peut être considérée comme un polyol présentant des liaisons hydrogène fortes inter- et intra-moléculaires et des interactions hydrophobes de type Van der Waals. L'ensemble de ces interactions forment des réseaux plus ou moins complexes et organisés et confèrent une forte densité, stabilité et rigidité au polymère de cellulose.

I.1.3.1 Interactions intra- et inter-moléculaires

Chaque unité anhydroglucose possède donc 3 groupements hydroxyles libres. De par la nature des liaisons glycosidiques entre chaque unité UAG, ces groupements hydroxyles se situent en position équatoriale. Cette conformation favorise la formation de liaisons hydrogène intra- et inter-moléculaires (Nishiyama *et al.*, 2003) représentées sur la Figure 3.

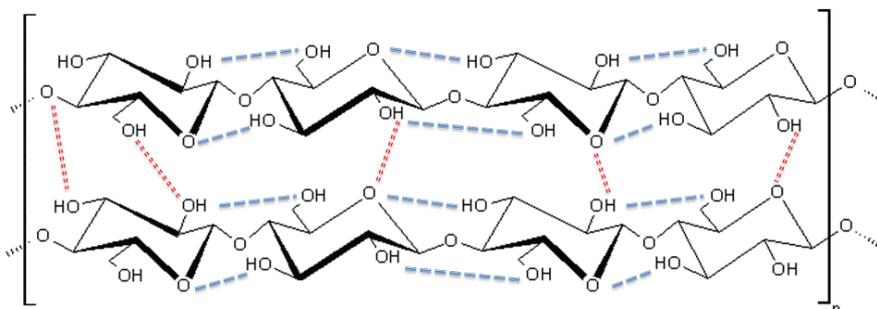


Figure 3 Représentation schématique des liaisons hydrogène intra-moléculaires (bleues) et inter-moléculaires (rouges) des chaînes de cellulose

Ces liaisons hydrogène intra-moléculaires se forment entre les groupements hydroxyles se trouvant à l'intérieur d'une même chaîne, tandis que les liaisons hydrogène inter-moléculaires se forment entre les groupements hydroxyles libres, et les plus proches, entre les chaînes de cellulose.

L'existence de ces liaisons hydrogène confèrent un caractère hydrophobe aux chaînes de cellulose, pouvant générer des forces de type Van der Waals (French *et al.*, 1993; Glasser *et al.*, 2012). Représenté sur la Figure 4, de récentes études ont démontré la nature amphiphile de la cellulose (Bergensträhle *et al.*, 2010; Lindman *et al.*, 2010; Medronho *et al.*, 2012).

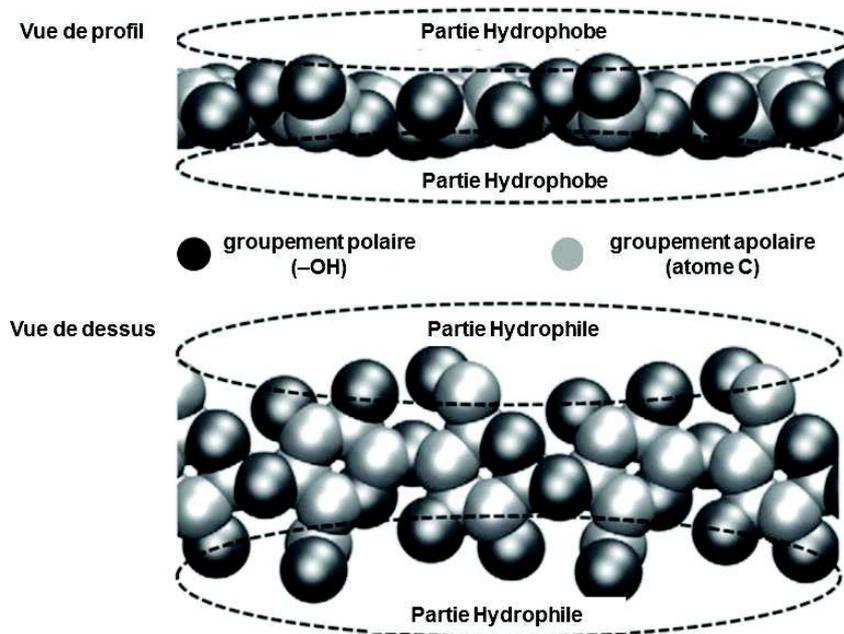


Figure 4 Caractère amphiphile d'une chaîne de cellulose (Medronho and Lindman, 2014)

L'orientation équatoriale des 3 groupements hydroxyles du cycle glucopyranose confère un caractère hydrophile à la cellulose (positions équatoriales de l'anneau). Au contraire, l'orientation axiale de l'anneau confère un caractère hydrophobe dû aux atomes d'hydrogène des liaisons C-H, situés sur les positions axiales de l'anneau.

Ainsi, les molécules de cellulose ont une anisotropie structurelle intrinsèque et, grâce aux liaisons hydrogène intra- et inter-moléculaires, il se forme des « rubans » aplatis présentant des côtés de polarité différente (Biermann *et al.*, 2001; Miyamoto *et al.*, 2009; Yamane *et al.*, 2006). Cette structure influe considérablement sur les propriétés microscopiques (interactions) et macroscopiques (solubilité) de la cellulose. L'ensemble de ces interactions induit une forte cohésion entre les différentes chaînes de cellulose.

Toutefois, dans la cellulose ces interactions ne sont pas uniformes le long des chaînes. Différentes zones d'organisation sont identifiables au sein de la structure polymérique.

1.1.3.2 Semi-cristallinité

La cellulose présente une structure dite semi-cristalline, allant de la géométrie parfaite et organisée dite cristalline à la géométrie aléatoire et désorganisée dite paracristalline ou amorphe (Figure 5).

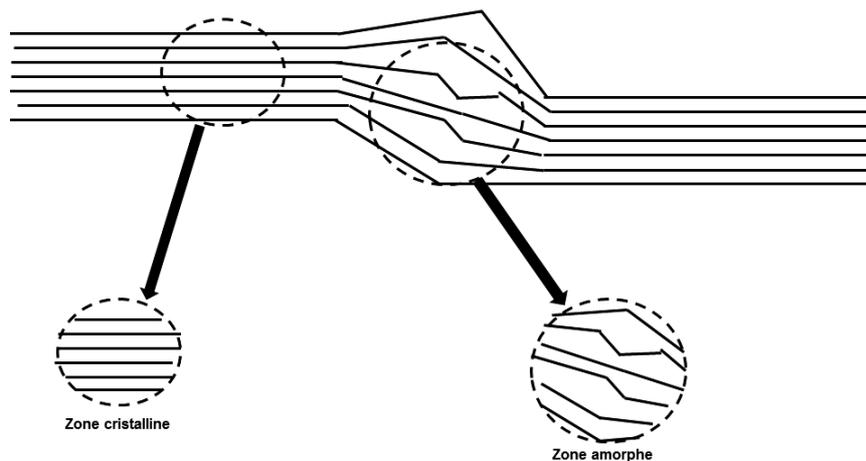


Figure 5 Représentation schématique de la structure semi-cristalline cellulosique

Ce modèle de structure est décrit comme fibrillaire frangé ou « fringed fibril model » (Hearle, 1958). Ainsi Hearle décrit les zones cristallines sous forme de franges, faites d'un empilement de chaînes macromoléculaires et les régions amorphes comme un empilement irrégulier hélicoïdal obtenu par la rupture totale des liaisons hydrogène inter-moléculaires et la rupture partielle des liaisons hydrogène intra-moléculaires (French *et al.*, 2002).

Comme le DP, la cristallinité des échantillons de cellulose n'est pas homogène et couvre une large gamme de taux de cristallinité, en fonction de l'origine du polymère de cellulose : de 40 à 50 % pour le bois, 60 % pour le coton et supérieur à 70 % pour certaines algues marines (Lin *et al.*, 1987).

1.1.3.3 Allomorphisme

La structure cristalline de la cellulose est très complexe. En plus, du taux de cristallinité variable selon l'origine, différentes conformations de cristallinité, issues des différents traitements appliqués, sont observées et appelées allomorphes : I_{α} , I_{β} , II, III_I, III_{II}, IV_I et IV_{II}.

Pour définir le type de cristallinité présent dans la cellulose, différentes techniques de caractérisation existent comme la spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), la diffraction des rayons X (DRX) ou la résonance magnétique nucléaire (RMN), notamment la RMN ^{13}C (Park *et al.*, 2009, 2010; Perez and Mazeau, 2005). Souvent, ces méthodes permettent de déterminer à la fois le taux de cristallinité mais également la conformation de la cristallinité dans l'échantillon analysé.

Native, la cellulose présente une cristallinité de type I. La structure a été décrite pour la première fois sur la cellulose de *Valonia ventricosa* par DRX, montrant alors l'arrangement parallèle des chaînes (Astbury *et al.*, 1932). Par la suite, la RMN ^{13}C couplée CP-MAS (Cross Polarization-Magic Angle Spinning) a permis d'établir que la cellulose de type I se décompose en deux sous-structures, I_α et I_β (Atalla and Vanderhart, 1984; Marchessault, 1987). La cellulose I_α , majoritaire dans la cellulose produite par les bactéries et les algues, se compose d'une phase triclinique à chaîne unique alors que la cellulose I_β , plus commune dans la cellulose végétale comme le lin ou le coton (Atalla and VanderHart, 1999), est composée d'une phase monoclinique à deux chaînes parallèles (Gardner and Blackwell, 1974a; Sarko and Muggli, 1974) comme illustré sur la Figure 6.

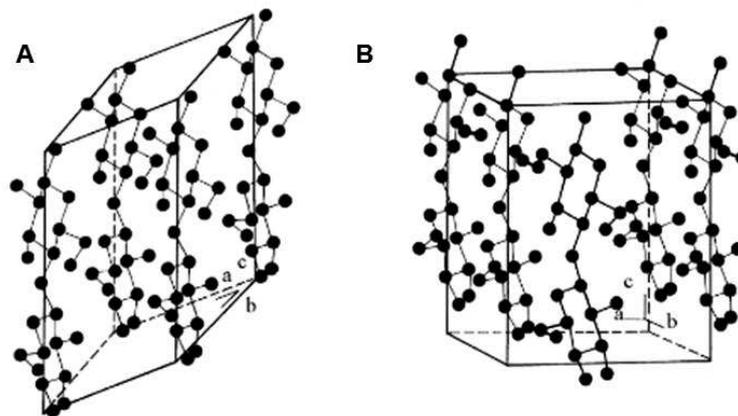


Figure 6 Représentation de la structure cristalline des allomorphes I_α (A) et I_β (B) (Navi and Heger, 2005)

Ces deux formes I_α et I_β sont présentes dans différentes proportions suivant l'origine de la cellulose (Atalla and Vanderhart, 1984). Les densités des mailles triclinique et monoclinique sont respectivement de 1,582 et 1,599 g/cm^3 . La maille monoclinique présente par conséquent une plus grande stabilité thermodynamique due aux interactions électrostatiques intraplanaires plus importantes dans ce type de maille.

La plus grande stabilité de l'allomorphe I_β explique, quant à elle, que la transformation cristalline de I_α à I_β est irréversible. De manière générale les chaînes de cellulose native s'arrangent de façon parallèle et forment des feuillets (Figure 7). L'orientation des chaînes de chaque feuillet est légèrement inclinée par rapport à celle de ses voisins, sans connexion entre les niveaux (Gardner and Blackwell, 1974b; Sarko and Muggli, 1974).

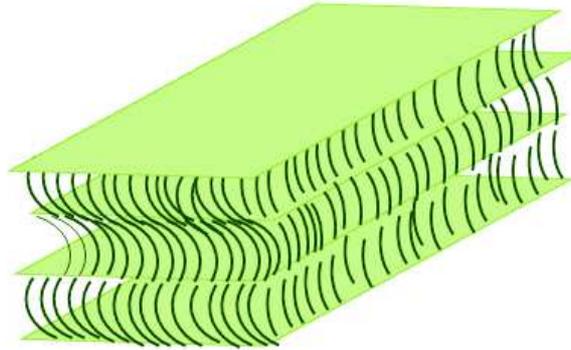


Figure 7 Représentation schématique de l'organisation en feuillets des chaînes de cellulose de type I (Gardner and Blackwell, 1974b)

Les autres formes existantes de cellulose sont produites à partir de la cellulose de type I par traitements chimiques (Kroon-Batenburg *et al.*, 1996). Chaque allomorphe possède une stabilité thermodynamique différente. De plus, la transition d'une allomorphie à une autre n'est pas toujours réversible.

L'obtention de ces différentes formes allomorphiques et de leurs configurations est résumée sur la Figure 8. La cellulose de type II qualifie toute cellulose obtenue par un traitement chimique ou physico-chimique permettant la dissolution de la cellulose native, par gonflement des microfibrilles, puis sa régénération, ou par traitement alcalin à la soude caustique appelé procédé de mercerisation (Mansikkamäki *et al.*, 2005; Okano and Sarko, 1985). Historiquement, le procédé de mercerisation a été découvert par John Mercer en 1844. Il permet le gonflement des fibres de cellulose conférant de meilleures propriétés mécaniques aux fibres textiles (Heines, 1944). Le phénomène dit « de gonflement » permet une ouverture du réseau intercrystallin facilitant son accessibilité.

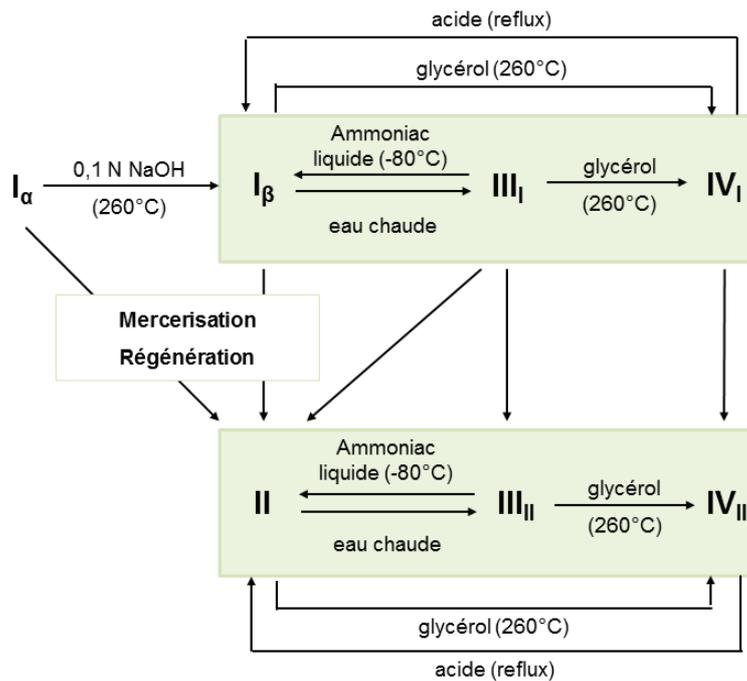


Figure 8 Différentes voies d'obtention des allomorphes de cellulose

D'autres procédés ont été décrits pour permettre la transition de cellulose I en cellulose II. Ces traitements emploient des conditions acides ou basiques à basse température visant à dissoudre la cellulose pour ensuite la régénérer, sans la dégrader. Les celluloses régénérées sont qualifiées de cellulose de type II. Sans changer la structure générale, le passage à la cellulose II génère des modifications irréversibles, notamment une modification de la structure cristalline (Figure 9).

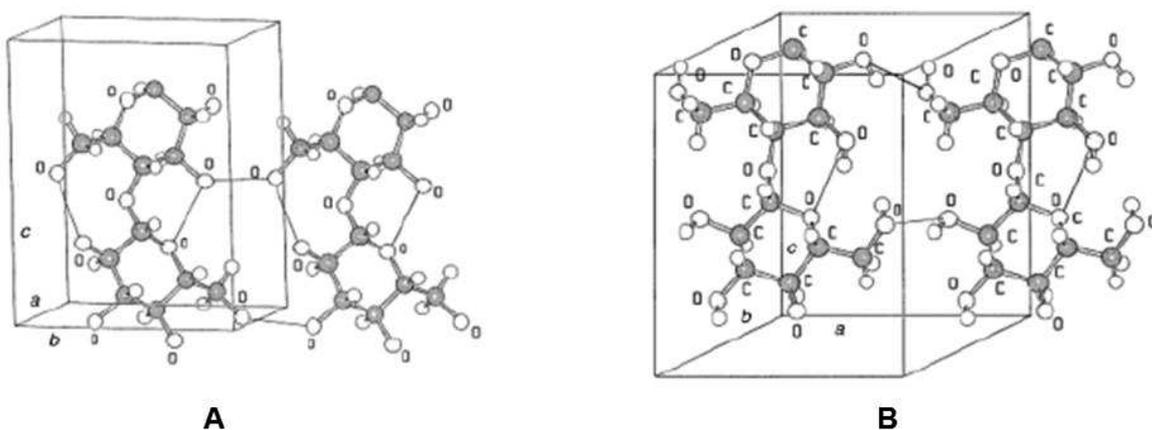


Figure 9 Représentation de la structure cristalline des allomorphes I_β (A) et II (B) (Klemm *et al.*, 2005)

Ainsi, sa structure diffère de la cellulose native par une réorientation moléculaire des chaînes de cellulose, qui se réarrangent de manière antiparallèle (Figure 10).

Cette réorientation permet la disposition d'un plus grand nombre de groupements hydroxyles à l'extérieur des chaînes, permettant ainsi d'établir de plus nombreuses interactions intermoléculaires, lui conférant une plus grande stabilité.

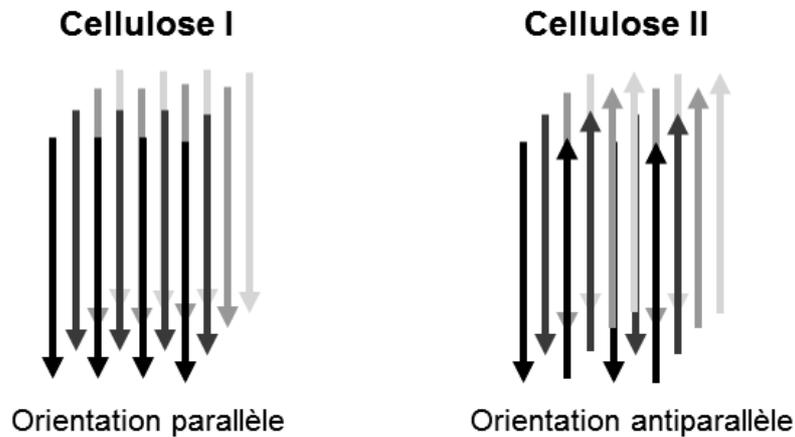


Figure 10 Représentation schématique de l'orientation des chaînes de cellulose I et II

Les chaînes de cellulose parallèles peuvent changer leur arrangement lors de la dissolution pour adopter une conformation préférentielle, thermodynamiquement plus stable. Ainsi, la transformation de la cellulose I en cellulose II est irréversible puisque la réaction inverse est énergétiquement défavorisée.

La cellulose II perd en zones de cristallinité et la proportion de zones amorphes augmente. Ses groupements hydroxyles sont alors plus disponibles et donc plus réactifs.

Enfin, il existe deux autres formes polymorphiques III et IV de la cellulose. Ces dernières possèdent respectivement deux configurations : parallèle (III_I et IV_I) et antiparallèle (III_{II} et IV_{II}) (Perez and Mazeau, 2005). Ainsi les allomorphes de celluloses III_I et III_{II} sont majoritairement obtenus par un traitement à l'ammoniaque ou en présence d'amine à partir de cellulose I et II respectivement (Yatsu *et al.*, 1986). L'orientation des chaînes est parallèle comme la cellulose I_α et I_β (Wada *et al.*, 2004).

Les allomorphes de cellulose IV_I et IV_{II} sont produits par traitement au glycérol à 260 °C, à partir des allomorphes de cellulose III_I et III_{II} respectivement.

I.1.4 PROPRIETES PHYSIQUES

Selon leur origine végétale, les fibres de cellulose peuvent avoir des longueurs de chaînes glycosidiques ainsi que des masses molaires associées et un taux de cristallinité très différents générant des différences structurales et par conséquent, des propriétés mécaniques et/ou thermiques variables.

I.1.4.1 Masse volumique des fibres de cellulose

La masse volumique de la cellulose varie selon la nature de l'échantillon, et en particulier de sa cristallinité. Ainsi, la cellulose la plus cristalline présente une masse volumique maximale de $1,63 \text{ g.cm}^{-3}$. Généralement, la masse volumique de la cellulose est comprise entre 1,48 et $1,55 \text{ g.cm}^{-3}$ démontrant le caractère semi-cristallin du polymère (Ellis and Smith, 2008). En effet, plus un polymère est cristallin, plus il est compact, plus sa masse volumique est importante. La variabilité de la masse volumique selon la nature de la cellulose génère des différences structurales sur la porosité et les surfaces d'échange entre les chaînes de cellulose (Tableau 2).

Tableau 2 Caractéristiques physiques de la cellulose (Fink *et al.*, 1992; Klemm *et al.*, 1998)

Nature des fibres de cellulose	Surface spécifique (S_{BET}) en $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$	Surface spécifique (SAXS) en $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$	Volume poreux (V_{Hg}) en $\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$
Coton	0,60 – 0,72	5,3 – 6,0	0,132
Pulpe obtenue par le procédé sulfite	0,35	1,7 – 3,2	0,072
Poudre de cellulose	-	5,2	-
Poudre de cellulose mercérisée	-	15,8	-
Viscose	0,3 -0,4	-	0,091

S_{BET} par technique d'adsorption des gaz physiques ; SAXS par technique de diffusion des rayons X aux petits angles ; V_{Hg} par détermination de la porosité au mercure ;

Ces caractéristiques physiques mettent en valeur une porosité faible ainsi que des surfaces spécifiques basses au sein de la cellulose dans son état naturel (coton), extraite (pulpe obtenue par le procédé sulfite) ou régénérée (fibres de viscose).

Ces valeurs varient selon les traitements chimiques et/ou mécaniques appliqués en fonction des propriétés désirées pour les fibres traitées. Ainsi, la surface spécifique et la porosité des fibres de cellulose sont diminuées par rapport à la cellulose native (coton) suite au gonflement des chaînes pour obtenir des fibres dites de viscose ou au traitement acide (procédé bisulfite). Ces traitements induisent une diminution des espaces interfibrillaires rendant plus compactes et donc plus résistantes les chaînes cellulosiques.

Au contraire, les procédés de mercérisation (alcalin) ou mécanique (poudre de cellulose) permettent d'obtenir des fibres de cellulose de surface spécifique supérieure à la cellulose native (coton). Ces fibres de cellulose sont rendues plus accessibles aux solvants, et par conséquent plus réactives.

1.1.4.2 Stabilité thermique des fibres de cellulose

La cellulose est donc un polymère semi-cristallin. Les interactions intra- et inter-moléculaires existantes confèrent une grande stabilité structurale à la cellulose. La cellulose conserve sa structure physico-chimique et ses propriétés mécaniques jusqu'à des températures de 200 °C (Brandrup and Immergut, 1989). Par conséquent, la cellulose ne présente pas de température de fusion. Toutefois, différentes grandeurs thermiques caractérisent la cellulose (Tableau 3).

Tableau 3 Propriétés thermiques de la cellulose

Grandeurs	Valeurs	Référence
Température de dégradation (°C)	280 - 330	(Klemm <i>et al.</i> , 1998)
Chaleur de combustion (kJ.kg ⁻¹ .K ⁻¹)	17,43 (coton)	(Mark, 1984; Mark <i>et al.</i> , 1985)
Chaleur spécifique Cp (J.g ⁻¹ .K ⁻¹)	1,21 à 1,36 (à 293 K)	(Mark, 1984)
Conductivité Thermique (W.m ⁻¹ .K ⁻¹)	0,071 (coton)	(Brandrup and Immergut, 1989)
	0,029 – 0,170 (papiers)	
Température de transition vitreuse Tg (°C)	220 – 245 (amorphe)	(Brandrup and Immergut, 1989)
	243 – 433 (cristalline)	
Enthalpie de cristallisation (kJ.g ⁻¹)	121,8	

La cellulose reste le siège de réactions de décomposition importantes pour des températures comprises entre 250 et 397 °C pouvant libérer des molécules d'eau H₂O (g), de dioxyde de carbone CO₂ (g) ou de monoxyde de carbone CO (g) (Madorsky *et al.*, 1958). D'autres composés tels que le lévoglucosane, composé organique aromatique de formule C₆H₁₀O₅ peuvent être formés par pyrolyse (Lakshmanan and Hoelscher, 1970).

I.2 DISSOLUTION DE LA CELLULOSE

Du fait de sa semi-cristallinité, le comportement chimique de la cellulose se distingue de celui d'un polyalcool ordinaire. L'alternance de zones amorphes (facilement accessibles) et de zones cristallines (peu réactives et très organisées) affecte grandement sa réactivité. La présence de nombreux groupements hydroxyles lui confère un caractère polaire et une affinité préférentielle pour les systèmes de solvant de type polaire.

Il existe deux types de gonflement au cours du procédé de dissolution de la cellulose : (i) le premier dit inter-cristallin correspond à la pénétration de l'agent chimique dans les parties amorphes, les plus accessibles et (ii) le second dit intra-cristallin correspond à la pénétration de l'agent chimique dans les zones cristallines. Ces dernières résistent mieux à la pénétration des solvants ou des réactifs du fait de leur organisation importante. Ce second processus est le plus difficile, nécessitant un système de solvant dont les composés chimiques possèdent des caractéristiques spécifiques.

La dissolution des chaînes cellulosiques est rendue possible uniquement si le solvant forme des complexes avec les groupements hydroxyles de la cellulose, scindant ainsi les interactions hydrogène intermoléculaires. Les chaînes de cellulose se désunissent alors les unes des autres pour former un complexe avec le système de solvant. De nombreux systèmes de solvant ont été développés et étudiés afin de permettre la dissolution ou la fonctionnalisation de la cellulose.

I.2.1 DIFFERENTES CLASSES DE SOLVANTS

La dissolution de la cellulose peut se faire par l'intermédiaire de 2 types de système de solvant : (i) sans aucune modification chimique (solvant non-dérivatisant) ou (ii) avec une modification ou fonctionnalisation du polymère (solvant dérivatisant).

Ces systèmes de solvant peuvent être de nature chimique différente (solvant aqueux, organique, ...). De plus, ces systèmes peuvent interagir sur la cellulose de manière très différente (complexation, gonflement, dissolution).

Les systèmes de solvant appelés « dérivatisants » réagissent avec la cellulose pour former des intermédiaires cellulosiques organo-solubles. Ces dérivés cellulosiques peuvent présenter une relative instabilité en présence d'eau.

Ces solvants présentent deux inconvénients majeurs : leur toxicité importante, dans la majorité des cas, et l'existence de possibles réactions parasites débouchant sur des incertitudes structurelles.

Ces difficultés ont conduit au développement d'une seconde famille de systèmes de solvant, appelés « non-dérivatisants ». Par définition, ces solvants n'altèrent pas chimiquement le polymère de cellulose au cours du procédé de dissolution (Heinze and Koschella, 2005).

Ces derniers systèmes de solvant non-dérivatisants semblent favorables et plus appropriés pour permettre la définition des propriétés physico-chimiques de la cellulose.

1.2.2 SOLVANTS DERIVATISANTS

1.2.2.1 *Un peu d'histoire*

Depuis le XIXème siècle, les polysaccharides, naturels ou modifiés, dont la cellulose, sont reconnus comme des polymères d'intérêt dans de nombreux domaines. Les dérivés de cellulose commerciaux sont majoritairement des esters et des éthers solubles dans l'eau et/ou les solvants organiques.

Les réactions chimiques mettent en jeu un groupement hydroxyle libre (-OH) de l'unité glucidique et un groupement substituant. Les trois groupements hydroxyles de chaque unité glucose peuvent être convertis en esters ou éthers ce qui change considérablement les propriétés de solubilité de la cellulose.

Ainsi, différents dérivés cellulosiques sont synthétisés et développés pour diverses applications industrielles, tels que le tricarbnilate de cellulose (Hall and Horne, 1973), le nitrate de cellulose (Li and Frey, 2010), l'acétate de cellulose (Barud *et al.*, 2008) et le carboxyméthylcellulose (Haleem *et al.*, 2014 ; Yaşar *et al.*, 2007).

Les chaînes de cellulose fonctionnalisées ne peuvent plus former d'interactions intra- et inter-moléculaires, ce qui a une conséquence directe sur la solubilité du polymère et sa réactivité. La cellulose tricarbnilée par exemple, est un dérivé de type ester très stable et soluble dans plusieurs solvants de type organique comme des esters, des éthers et des cétones (Guthrie *et al.*, 1975).

1.2.2.2 Modifications chimiques de la cellulose

La structure chimique de la cellulose rend possible différentes modifications relatives aux alcools et polyols, aux cétales et acétales, et à moindre niveau aux fonctions aldéhydes par l'extrémité réductrice du polymère (Figure 11) (Cumpstey, 2013).

Il existe dans la littérature de très nombreuses conditions de fonctionnalisation de la cellulose, et notamment pour la formation de dérivé ester ou éther (Fox *et al.*, 2011). Cependant, la réactivité de ces fonctions diffère selon la nature de la réaction envisagée.

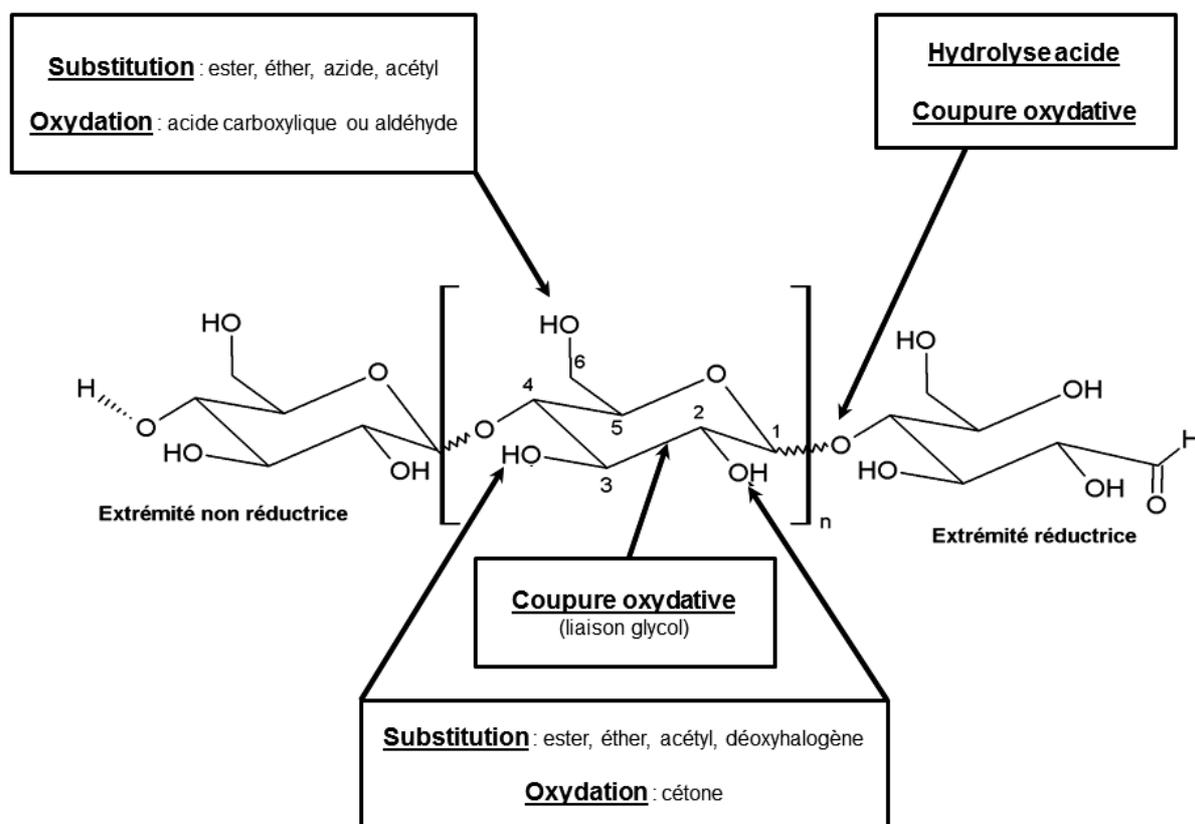


Figure 11 Fonctionnalisations possibles de la cellulose en fonction du groupement chimique

Par exemple, dans le cas d'une réaction d'étherification, la fonction alcool secondaire portée par C2 est la plus réactive, suivi par le OH porté par C3, du fait de son environnement chimique plus adéquat. La fonction OH alcool primaire portée en C6 est défavorisée. Au cours de la réaction d'étherification, la formation de l'intermédiaire alcoolate est nécessaire et favorise les fonctions alcool secondaires du fait de leur plus grande stabilité. A l'inverse, pour une réaction d'estérification, le groupement alcool primaire OH porté en C6 démontre une plus grande réactivité du fait de sa disponibilité.

La rupture de liaison de type C-C, C2-C3, permet la modification du squelette osidique de la cellulose (Coseri *et al.*, 2015). Dans le cas de la mercérisation, l'utilisation de la soude caustique permet de gonfler les zones cristallines. Ainsi, le passage de l'allomorphe de type I au type II améliore par conséquent sa réactivité. Cette méthode largement utilisée dans le procédé viscosse permet de préparer le xanthate de cellulose à partir de la cellulose alcaline activée et de bisulfure de carbone.

Les chaînes de cellulose peuvent également subir des hydrolyses acides en présence de HCl ou de H₂SO₄ (Lapointe, 2000). Ces dégradations, catalysées par les protons, impliquent la rupture des liaisons glycosidiques en C1 et C4. Ce processus donne lieu à un raccourcissement de la chaîne glycosidique, entraînant la diminution du DP et à la formation de fonctions réductrices. On peut produire dans certains cas, notamment lors de l'utilisation de H₂SO₄ concentré et à chaud, du glucose si l'hydrolyse acide arrive à son terme. Quelques réactions appliquées à la cellulose sont présentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 Exemples de fonctionnalisation sur le polymère de cellulose

Réaction chimique	Fonctionnalisation	Référence
hydrolyse acide	acide carboxylique	(Daruwalla and Nabar, 1956)
substitution	éther	(Gourson <i>et al.</i> , 1999)
	ester	(Pasquini <i>et al.</i> , 2006; Vaca-Garcia <i>et al.</i> , 1998)
oxydation	cétone (C2 & C3)	(Fredon <i>et al.</i> , 2002; Guigo <i>et al.</i> , 2014; Kristiansen <i>et al.</i> , 2010)
	éther	(Biliuta <i>et al.</i> , 2010)
	ester	(Hirota <i>et al.</i> , 2010)
	oxydation des OH en carboxyles	(Varela, 2003) (Wu <i>et al.</i> , 2012)

Fonctionnaliser la cellulose est indispensable pour certaines applications afin d'améliorer sa réactivité ou sa solubilisation en tant qu'intermédiaire réactionnel. Néanmoins, pour analyser et/ou caractériser un échantillon de cellulose, la conservation de sa structure native est préférable, dans la mesure où la fonctionnalisation de la cellulose peut modifier sa structure physico-chimique.

I.2.3 SOLVANTS NON-DERIVATISANTS

Actuellement, différentes catégories de solvants non-dérivatisants sont décrits : les systèmes de solvants aqueux, les sels métalliques, les sels organiques, les liquides ioniques ou bien encore les fluides supercritiques. Certains systèmes sont déjà employés pour la caractérisation de propriétés physiques, telles que la détermination des DP ou de distribution de masses molaires cellulosiques.

Le cadmium éthylènediamine (ou Cadoxen), l'hydroxyde de cupraammonium (ou Cuam) et l'hydroxyde de cupriéthylènediamine (ou Cuen) sont des systèmes de solvant basés respectivement sur la formation de complexes de cadmium (Cd) et de cuivre (Cu). Ces systèmes sont de bons solvants de la cellulose, encore récemment utilisé pour l'analyse de la viscosité de la cellulose et par conséquent pour la mesure de DP (Eckelt *et al.*, 2011). Néanmoins, la présence d'ions métalliques (Cd ou Cu) rend difficilement utilisable ces systèmes de solvant pour la détermination des DMM en SEC, du fait de la dégradation (érosion) des systèmes d'analyse. De plus, la coloration bleue des solutions obtenues limite l'utilisation de détecteurs de type réfractomètre (UV ou RI) ou de diffusion de la lumière.

Une autre famille met en jeu des sels de solvant organique à base de *N,N*-diméthylacétamide (DMAc), de 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone (DMI), de diméthylformamide (DMF) ou de diméthylsulfoxyde (DMSO) en solution avec un complexe de chlorure de lithium (LiCl) par exemple. Ces systèmes ont été développés et étudiés afin de dissoudre sans modifier chimiquement l'homopolymère cellulosique pour permettre la fonctionnalisation de la cellulose mais aussi son analyse et notamment le LiCl/DMAc en SEC.

Depuis la fin des années 1990, de nouveaux systèmes de solvant non-dérivatisant tels que les liquides ioniques, les fluides supercritiques ou le système de solvant *N*-méthylmorpholine *N*-oxide (NMMO) ont été développés pour leur stabilité thermique (faible tension de vapeur) et pour leur non-toxicité relative, du fait de pouvoir être recyclés, sous certaines conditions, ce qui leur confèrent un intérêt majeur dans le cadre de la chimie verte.

Selon la nature du solvant, le comportement de la cellulose varie, pouvant aller du gonflement simple à la dissolution directe. Selon l'effet désiré, il est possible d'employer différents solvants.

La nature des échantillons cellulosiques (composition, taux de cristallinité, DP) est aussi un paramètre clé de leur dissolution. Ainsi, il est connu que les pâtes cellulosiques à base de sulfites se dissolvent plus rapidement que les fibres de coton (Pionteck *et al.*, 1996). Cela est attribué à la forte cristallinité du coton cellulosique, frein à sa solubilisation.

1.2.3.1 Fluides supercritiques

Un fluide supercritique est défini comme un fluide dense, non condensable, dont la température (T) mais aussi la pression (P) sont supérieures à celle du point critique (P_c , T_c) (Jacquemin, 2006). En ce point et pour des coordonnées (P, T) supérieures à ce point, il n'est pas possible de différencier une phase liquide d'une phase gazeuse.

Un fluide supercritique possède donc des propriétés intermédiaires, entre liquide et gaz. La masse volumique peut être modifiée graduellement dans une large gamme de pression. Les coordonnées critiques de composés usuels pour les technologies supercritiques sont reportées dans le Tableau 5 suivant :

Tableau 5 Coordonnées critiques de fluides supercritiques

Composé	T_c (K)	P_c (MPa)	Masse volumique (kg.m^{-3})
CO ₂	304,4	7,38	468
H ₂ O	617,3	22,10	317
Ethanol	516,3	6,39	280

Les premières applications utilisant les fluides supercritiques ont concerné le domaine de l'extraction de caféine ou de la séparation (désasphaltage), où ils ont remplacé avec succès les solvants toxiques. Par la suite, il a fallu attendre le début des années 1980 pour assister aux premiers travaux d'élaboration de matériaux en milieu supercritique.

L'apport des fluides supercritiques s'est fait dans le domaine des matériaux. L'utilisation de ces fluides permet de réduire la consommation d'eau et de solvant, par production en voie sèche, ainsi que la réduction des poudres de polymère. Les fluides supercritiques sont utilisés pour le traitement de produits sensibles à la chaleur, la valorisation des résidus de la filière agricole ou viticole (extraction de monomères résiduels), mais aussi pour l'amélioration des propriétés mécanique, thermique et de pureté des matériaux obtenus.

Ceci s'est traduit par l'élaboration de nombreuses applications dans les domaines pharmaceutique (enrobage, micronisation), agroalimentaire (extraction, stérilisation), cosmétique (encapsulation), aéronautique (revêtement), plasturgique (PET, tensio-actifs) ou énergétique (biocarburant, biogaz). Ces procédés industriels utilisent essentiellement le CO₂ SC (Pasqualone *et al.*, 2016; Türk, 1999; Yeo *et al.*, 2000), le H₂O SC (Bitencourt *et al.*, 2016; Caputo *et al.*, 2016) ou l'éthanol supercritique (Mazanov *et al.*, 2016).

1.2.3.1.1 Système CO₂ SC

Ce système est particulièrement intéressant car obtenu dans des conditions plus douces que d'autres fluides supercritiques comme H₂O SC. De plus, il présente l'avantage d'être non toxique, disponible en grandes quantités, non-inflammable, stable chimiquement et facilement éliminé. Dans le contexte actuel de chimie verte, il présente un intérêt tant scientifique qu'industriel. Il est employé dans les réactions d'hydrogénation du fait de sa haute miscibilité avec l'hydrogène, cela permet alors d'augmenter les vitesses de réaction tout en conservant, voire en améliorant, la sélectivité et la séparation des produits (Kainz *et al.*, 1999).

Le CO₂ SC est peu polaire et ne solubilise que faiblement les molécules de haut poids moléculaire. Son utilisation en tant que solvant de la cellulose est limitée. En effet, ce système est employé pour l'obtention de dérivés éthyl ou carbamate de cellulose (Baldino *et al.*, 2015; De Marco *et al.*, 2014; Yin and Shen, 2007) ou pour la dégradation de la cellulose en glucose (Muratov, 2007).

1.2.3.1.2 Système H₂O SC

Il est possible de dissoudre et de modifier le DP de la cellulose en utilisant de l'eau supercritique comme solvant (Olanrewaju, 2012; Sasaki *et al.*, 2000; Tolonen *et al.*, 2013). Différentes celluloses possédant des taux de cristallinités et des valeurs de DP différentes ont été étudiées.

Ces celluloses sont traitées dans les conditions suivantes : 230-270 °C/10 mPa/2-15 min par "demi-débit à haute pression d'eau". Le taux de cristallinité reste inchangé mais le DP est réduit avec l'augmentation de la température. De plus, des analyses effectuées par DRX et par FTIR démontrent un changement de la structure cristalline. Par ce procédé, le comportement des celluloses (dégradation ou hydrolyse) est différent selon la différence de cristallinité existante entre les échantillons de cellulose traités (Abdullah *et al.*, 2013).

Bien que les fluides supercritiques possèdent de nombreux avantages, le coût des technologies à haute pression, le contrôle délicat des propriétés, les faibles quantités généralement produites et la faible solubilisation de molécules de haut poids moléculaire ont considérablement ralenti leur développement dans les procédés industriels.

1.2.3.2 Solvants aqueux

Même si l'eau reste le non-solvant le plus connu de la cellulose, certains solvants aqueux permettent sa dissolution (solution de soude, d'acide). Parmi eux, se trouvent les solutions de Cuam de formule $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4](\text{OH})_2$, de Cuen de formule $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2)_2](\text{OH})_2$ ainsi que les solutions à base de soude (Budtova and Navard, 2016; Egal *et al.*, 2007; Isogai and Atalla, 1998).

Le mécanisme de dissolution proposé suppose que les complexes métalliques dissolvent la cellulose par l'intermédiaire d'une déprotonation initiale des groupes hydroxyles, suivie par une liaison de coordination aux groupes hydroxyles en position C2 et C3 de chaque unité anhydroglucose (Klufers and Kunte, 2001). Ainsi, Isogai et Atalla (1998) ont obtenu une solution aqueuse limpide à 5 % de soude contenant 2 % de cellulose dans le cadre de celluloses de faible DP.

De même, une méthode utilisant une solution aqueuse d'urée composée soit d'hydroxyde de lithium soit d'hydroxyde de sodium a été développée afin de réaliser plusieurs réactions de modification de la cellulose (Cai and Zhang, 2005; Ke *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2006). Le remplacement de l'urée par de la thiourée améliore la dissolution de la cellulose (Zhang *et al.*, 2002). En effet, pour les fibres de coton avec un DP de 620, la solubilité dans la thiourée est 2 à 3 fois supérieure à celle atteinte dans l'urée. Les solutions de cellulose obtenues sont transparentes et incolores. Cependant, la viscosité intrinsèque dans NaOH/thiourée est également plus élevée que dans NaOH/urée.

Les interactions {cellulose-NaOH} restent similaires avec ou sans la présence d'urée. Néanmoins, l'ajout d'urée ou de thiourée favorise le pouvoir de dissolution de ce système par rapport au système NaOH. Cet ajout stabilise les interactions {cellulose-NaOH} formées, du fait de la capacité de l'urée ou de la thiourée à se lier à l'eau libre en solution, ce qui minimise les interactions {NaOH-eau} pouvant coexister et perturber le mécanisme de dissolution.

Malgré les progrès récents liés à l'utilisation d'additifs comme l'urée, la thiourée ou encore l'oxyde de zinc (Weng *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2004), l'application industrielle reste limitée du fait de la faible concentration de cellulose, d'une gélification rapide et des faibles DP des celluloses dissoutes (< 200) (Heinze and Koschella, 2005).

1.2.3.3 Liquides ioniques

Depuis 1930, les liquides ioniques sont connus pour dissoudre la cellulose (Graenacher, 1934). Cependant, ce n'est que depuis les années 2000 que les liquides ioniques sont reconnus et largement utilisés comme un système de solvant non-dérivatisant de la cellulose (Swatloski *et al.*, 2002). Ces systèmes de solvant sont étudiés afin de réaliser plusieurs modifications de la cellulose. Ces travaux démontrent l'efficacité des liquides ioniques pour la dissolution de la cellulose (Boissou *et al.*, 2014; Heinze *et al.*, 2005; Isik *et al.*, 2014; Turner *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005).

Les liquides ioniques sont des sels organiques qui possèdent une température de fusion inférieure à 100 °C, voire à 25 °C tout en possédant une grande stabilité thermique (au-delà de 300 °C). Ils permettent de dissoudre la cellulose à haute concentration, jusqu'à 25 % m/m (Swatloski *et al.*, 2002) même pour des échantillons de haut poids moléculaire (DP > 600). Actuellement, un très grand nombre de liquides ioniques a été décrits dans la littérature. Néanmoins, seuls les systèmes composés des cations ammonium, pyridium et imidazolium sont reconnus pour dissoudre la cellulose (Seoud *et al.*, 2007; Swatloski *et al.*, 2002; Zhu *et al.*, 2006).

Pour leur efficacité, le chlorure d'1-butyl-3-méthylimidazolium (ou BMIM [Cl]) et l'acétate d'1-éthyl-3-méthylimidazolium acétate (ou EMIM [Ac]) sont les plus étudiés. Ces systèmes de solvants permettent une dissolution plus rapide de la cellulose de faible et moyen DP. Ils permettent d'obtenir des solutions cellulosiques de concentrations supérieures à celles obtenues avec le LiCl/DMAc.

Bien que la dissolution de la cellulose par l'intermédiaire d'autres les liquides ioniques comme le chlorure d'1-éthyl-3-méthylimidazolium (ou EMIM [Cl]), ou le chlorure d'1-butyl-3-diméthylimidazolium (ou BDMIM [Cl]) donnent des résultats supérieurs à la dissolution par BMIM [Cl], le BMIM [Cl] reste le liquide ionique préférentiel pour la fonctionnalisation de la cellulose. En effet, ce dernier permet de dissoudre des celluloses à fort DP (Barthel and Heinze, 2006).

Les liquides ioniques sont considérés comme des solvants non-dérivatisants pour la cellulose. En effet, par analyse RMN ^{13}C , les échantillons de cellulose dissous dans le BMIM [Cl] ne présentent aucune modification structurale due à leur dissolution (Heinze *et al.*, 2005). Malgré de nombreuses études, le mécanisme de solubilisation n'est pas encore bien défini. Pour le système BMIM [Cl], l'anion Cl^- joue un rôle primordial dans la solubilisation de la cellulose (Moulthrop *et al.*, 2005; Remsing *et al.*, 2006). Les analyses RMN ^{13}C et RMN $^{35/37}\text{Cl}$ ont montré que l'anion Cl^- , du fait de sa plus grande disponibilité, est responsable de la rupture des liaisons hydrogène intra et inter-moléculaires de la cellulose (Seoud *et al.*, 2007). Comme représenté sur la Figure 12 (Feng and Chen, 2008; Remsing *et al.*, 2006), les ions Cl^- ne se lient pas de façon covalente avec les chaînes cellulosiques. La structure des échantillons dissous peut être modifiée selon les conditions expérimentales utilisées (Minnick *et al.*, 2016).

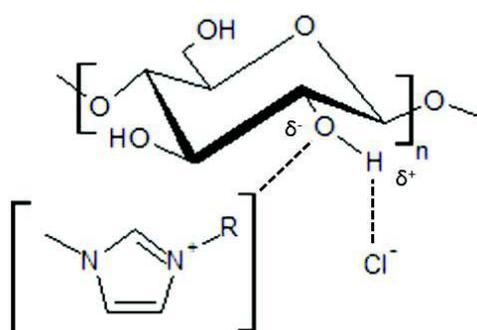


Figure 12 Représentation schématique du mécanisme de dissolution de la cellulose dans RMIM [Cl]

1.2.3.4 Système NMMO

Le solvant *N*-méthylmorpholine *N*-oxide (NMMO) est un solvant organique présentant l'avantage d'être réutilisable et recyclable. Le NMMO est un solvant hydraté, dont la teneur en eau est variable. La cellulose, sous forme d'une pâte de bois, est malaxée avec une solution aqueuse de NMMO.

Le NMMO présente une grande stabilité thermique. Il est possible de réaliser la dissolution de la cellulose par procédé micro-onde (Dogan and Hilmioğlu, 2009). Néanmoins, il est nécessaire d'ajouter un antioxydant afin d'éviter la dégradation du solvant NMMO (par réduction) ou la réduction du DP cellulosique (Rosenau *et al.*, 2001, 2002). La capacité de dissolution de la cellulose par le NMMO est due à la fonction N-O de la molécule. Cette fonction a la possibilité de former des liaisons hydrogène avec les groupements hydroxyles OH de la cellulose (Franks and Varga, 1979).

En présence d'eau, les groupements hydroxyles de l'eau entrent en compétition avec ceux de la cellulose. Le NMMO montre cependant une préférence pour l'eau, il est par conséquent nécessaire de diminuer la quantité d'eau dans le NMMO. Cependant, l'absence totale d'eau génère un état d'association des molécules de NMMO monohydrate conduisant à une diminution de son pouvoir de dissolution. Une teneur en eau maintenue entre 12 et 14 % est recommandée (Novosjolov and Sachina, 2000).

Ce type de solvant dissout la cellulose avec un DP élevé, rapidement, à des températures de 90 °C en obtenant une solution claire et filable. L'interaction entre le NMMO et la cellulose peut être interprétée comme la formation d'un complexe réseau d'hydrogène avec interaction ionique superposée (Figure 13). Les interactions solvant-cellulose sont seulement physiques, ce qui fait l'intérêt du NMMO.

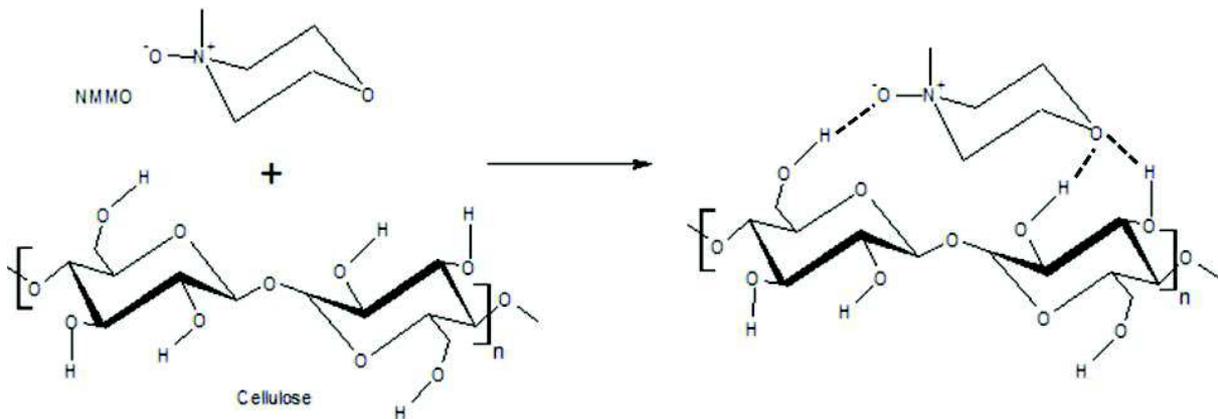


Figure 13 Complexes entre la molécule de NMMO et la cellulose (Pinkert *et al.*, 2010)

La méthode de dissolution consiste à imprégner la cellulose avec un mélange NMMO-eau avec 30 % d'eau à température ambiante, et en chauffant sous faible pression, afin de réduire la teneur en eau jusqu'à atteindre la concentration permettant la dissolution. Ce procédé permet le gonflement des fibres et accroît ainsi leur accessibilité. De plus, dans ces conditions la dégradation du solvant est évitée (Fink *et al.*, 2001).

Ce système de solvant est utilisé pour l'obtention des fibres régénérées dites Lyocell ou Tencel développées respectivement par Lenzing A.G. et Courtaulds. Le solvant dilué dans l'eau de lavage est récupéré et purifié. Près de 100 % du solvant est recyclé. Ce procédé est appelé « dry jet - wet spinning ».

Au cours du procédé Lyocell, la cellulose, sous forme d'une pâte de bois, est malaxée avec une solution aqueuse de NMMO. Afin d'atteindre l'état de dissolution, une partie de l'eau est retirée sous vide pour atteindre une composition de 8-20 % de cellulose, de 75-80 % de NMMO et de 5-12 % d'eau.

Les propriétés de ces fibres diffèrent des autres fibres cellulosiques. Leur contrainte à la rupture est plus élevée et leur allongement à la rupture est plus faible comparé à la viscose, elles ont des modules élastiques (à sec et en milieu humide) plus élevés et leur pouvoir absorbant est grand (Mortimer, 1995). Néanmoins, ces propriétés peuvent être un inconvénient notamment dans le domaine textile.

1.2.3.5 Sels organiques

Ces systèmes sont formés par addition d'un sel solide, type chlorure ou bromure de lithium (LiCl ou LiBr respectivement) ou fluorure de tétra-*N*-butylammonium (TBAF) dans un solvant organique de type *N,N*-diméthylacétamide (DMAc), diméthylformamide (DMF), 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone (DMI) ou diméthylsulfoxyde (DMSO).

1.2.3.5.1 Système LiCl/DMAc

Développé dès la fin des années 1970, le système LiCl/DMAc est le plus connu des sels organiques non-dérivatisants (McCormick and Lichatowich, 1979). Ce système de solvant est une référence dans la littérature de par son emploi en chromatographie d'exclusion stérique (Dawsey and McCormick, 1990; Dupont and Harrison, 2004; Matsumoto *et al.*, 2001; McCormick *et al.*, 1985; Nayak *et al.*, 2008; Potthast *et al.*, 2002a).

La dissolution de la cellulose par ce système de solvant nécessite un traitement préalable basé sur un système d'échange de solvants tel que H₂O/MeOH et MeOH/DMAc favorisant la dissolution (Ishii *et al.*, 2008).

Le mécanisme de dissolution de la cellulose par ce système de solvant se base sur la formation d'un complexe du système de solvant avec les groupements hydroxyles de la cellulose comme illustré sur la Figure 14. Le LiCl forme un complexe avec le DMAc. La stabilité de ce complexe favorise la dissolution de la cellulose (Dawsey and McCormick, 1990; Morgenstern and Kammer, 1996).

Les ions Cl^- se lient aux atomes d'hydrogène H des groupements hydroxyles libres permettant la complexation des atomes d'oxygène O des groupements hydroxyles de la cellulose avec les ions de lithium Li^+ et le groupement amide du DMAc.

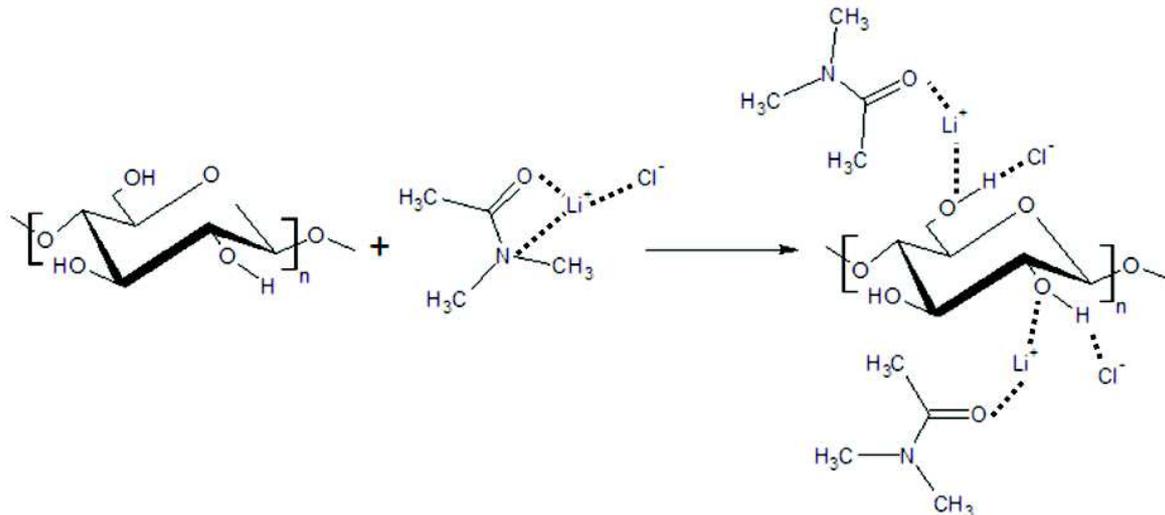


Figure 14 Représentation schématique du mécanisme de dissolution de la cellulose dans LiCl/DMAc (Medronho and Lindman, 2015)

La formation de ce complexe permet la rupture des interactions inter- et intra-moléculaires et par conséquent la séparation des chaînes de cellulose et donc leur solubilisation. Une solution de cellulose homogène et limpide est alors observée.

Cependant, de nombreuses études ont décrit ce complexe {système de solvant-cellulose} et divergent sur le mécanisme de formation et la géométrie de ce dernier, ainsi que sur le rôle des composants du système de solvant sur la dissolution de la cellulose (Figure 15). Dans chacun des cas, le LiCl a un rôle majeur dans la formation de ce complexe (Morgenstern and Kammer, 1996).

Un premier mécanisme décrit la formation du complexe $\{\text{Li} \cdot x\text{DMAc}\}^+ \text{Cl}^-$, permettant à l'ion Cl^- libre d'établir des liaisons hydrogène avec les protons des groupements hydroxyles libres de la cellulose, générant la rupture des interactions inter-moléculaires et donc la séparation des chaînes de cellulose et par conséquent leur dissolution (Figure 15 A).

Un second mécanisme propose l'interaction de l'ion Cl^- avec les protons des groupements hydroxyles libres qui rentrent en compétition avec les interactions inter-moléculaires au sein de la cellulose.

Ces interactions $\{Cl^- \cdots HO\}$ polarisent la surface des chaînes de cellulose, qui peuvent alors interagir avec le complexe $\{Li - DMAc\}^+$ (Figure 15 B) et donc favorisent le mécanisme de dissolution (Dawsey and McCormick, 1990). De nombreuses géométries ont été proposées pour représenter ces interactions (Figure 15 C-E) entre le système de solvant LiCl/DMAc et la cellulose (Cell-OH).

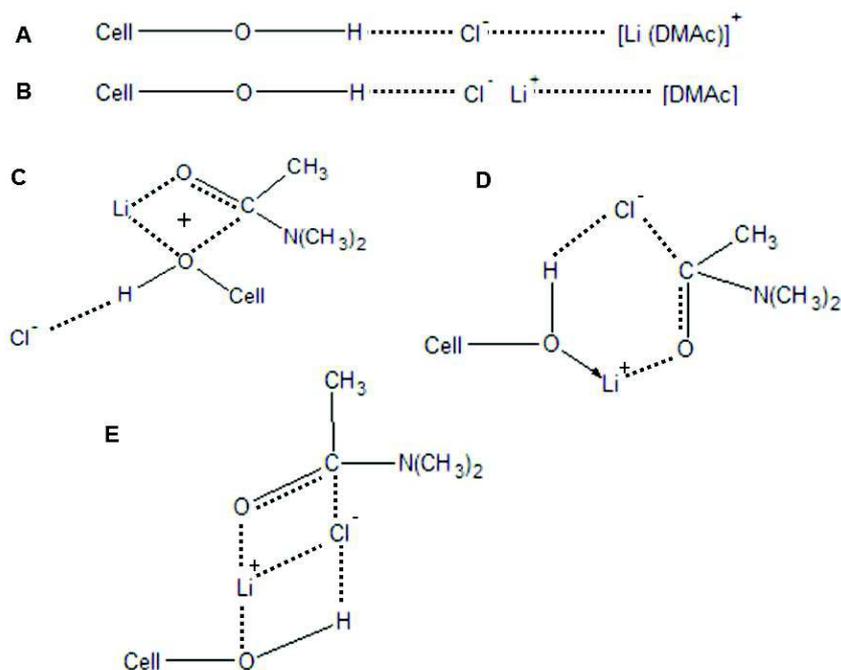


Figure 15 Représentations de complexes $\{LiCl/DMAc - Cellulose\}$: A (McCormick *et al.*, 1985), B (Berger *et al.*, 1985), C (El-Kafrawy, 1982), D (Herlinger and Hengstberger, 1985) et E (Vincendon, 1985)

Les solutions de cellulose dans le LiCl/DMAc sont extrêmement stables. De nombreuses études rapportent la non-dégradation du polymère, après plusieurs mois (Terbojevich *et al.*, 1985), voire des années en solution à température ambiante (Turbak *et al.*, 1981).

Le système de solvant LiCl/DMAc possède un fort potentiel pour la dissolution d'une grande variété de dérivés cellulosiques. Ce système semble permettre la dissolution d'échantillons cellulosiques de haut DP (Heinze and Liebert, 2001; Sjöholm *et al.*, 2000b).

1.2.3.5.2 Système de solvant DMSO

Le diméthylsulfoxyde (ou DMSO) est un solvant pouvant être biosourcé, issu de la liqueur dite noire de l'industrie papetière, et donc co-produit du procédé de bioraffinerie (Genco, 1999). Le DMSO est un solvant d'intérêt majeur dans le cadre de la chimie verte. Différents systèmes de solvant basés sur le DMSO ont été développés.

Le système de solvant DMSO/DEA/SO₂ est un mélange multi-fonctions qui permet de réaliser des fonctionnalisations en solution homogène (Isogai *et al.*, 1987). Le mécanisme de dissolution est similaire à celui décrit pour le LiCl/DMAc. La première étape est la formation d'un complexe entre les différents constituants du système de solvant qui se lie dans une seconde étape aux groupements OH de la cellulose (Figure 16). Ce système est connu pour modifier la cristallinité de la cellulose, en diminuant la partie cristalline au profit des parties amorphes. Ce système de solvant permet de dissoudre une large gamme de cellulose quelle que soit leur origine.

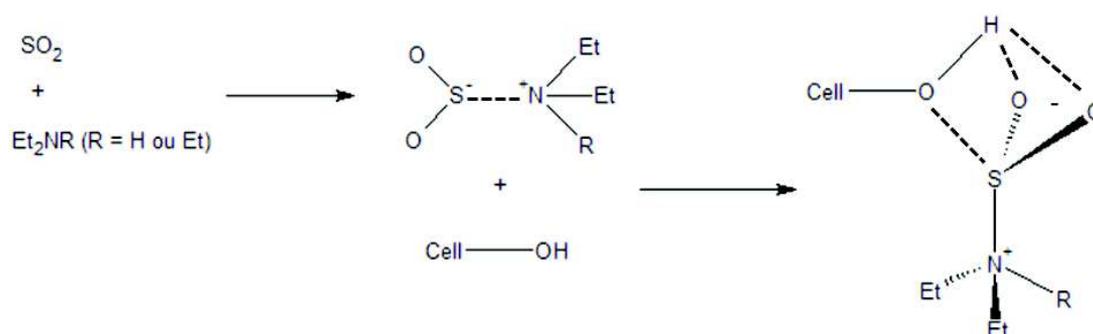


Figure 16 Mécanisme de dissolution de la cellulose dans le système DMSO/DEA/SO₂ (Isogai *et al.*, 1987)

Plus récemment, des études ont utilisé le système de solvant TBAF/DMSO afin de dissoudre différents échantillons de cellulose (Ass *et al.*, 2004; Heinze *et al.*, 2000). Par l'ajustement de la température et de la concentration, ce système est capable de dissoudre des échantillons cellulose de haut degré de polymérisation (DP > 650) sans aucun prétraitement (Casarano *et al.*, 2011; Köhler and Heinze, 2007).

Le mécanisme de dissolution se fait dans ce cas-ci également en deux étapes (Pinkert *et al.*, 2010; Seoud *et al.*, 2013). Premièrement, un complexe de forme hexagonale se forme entre une molécule de DMSO et deux molécules de TBAF (Figure 17 A).

Par la suite, ce complexe interagit avec les groupements OH cellulose pour former un nouveau complexe hexagonal composé par une molécule de DMSO, une molécule de TBAF et un groupement OH glycosidique (Figure 17 B).

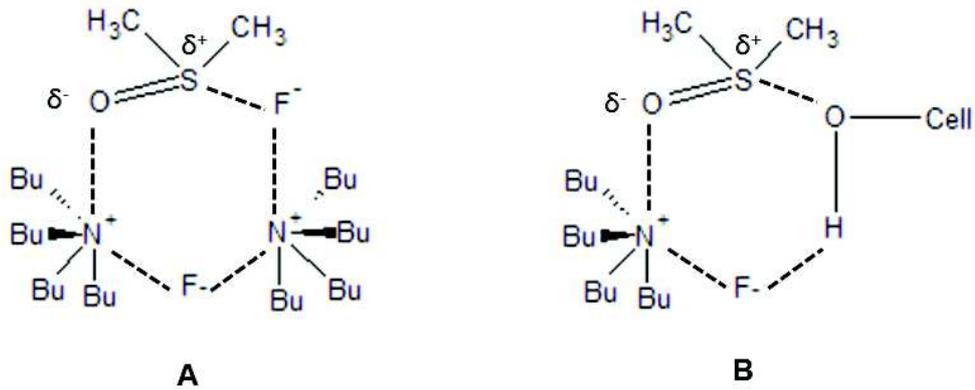


Figure 17 Représentation des complexes A : {TBAF-DMSO} et B : {TBAF-DMSO-Cellulose}

Ce système de solvant est étudié afin de permettre la fonctionnalisation de la cellulose de manière plus douce et plus efficace (Ass *et al.*, 2004; Heinze and Liebert, 2001) sans modification de la structure chimique de la cellulose en solution (Heinze *et al.*, 2005).

I.3 DETERMINATION DES MASSES MOLAIRES DE CELLULOSE

Contrairement aux composés de faible masse molaire, un polymère n'a pas une seule masse molaire. Presque tous les polymères synthétiques et naturels présentent une certaine polydispersité. La distribution de masse molaire de polymère, synthétique ou naturel, peut être décrite par une courbe de distribution ou une fonction de distribution.

Pour la cellulose, cette distribution varie selon son origine et le traitement chimique et/ou mécanique employé pour son extraction du milieu naturel.

I.3.1 DEFINITIONS

I.3.1.1 Degré de polymérisation

Le degré de polymérisation (DP) moyen représente le nombre moyen d'unité monomérique composant un polymère. Dans le cas de la cellulose ce DP indique le nombre moyen d'unités d'anhydroglucose (UAG), de masse molaire $MM_{UAG} = 162,1 \text{ g.mol}^{-1}$, constituant les macromolécules. Il s'agit d'une mesure médiane qui ne rend pas compte de la dispersité existante. La valeur de DP varie en fonction de l'origine des échantillons ou du traitement appliqué pour l'extraction (Tableau 6).

Tableau 6 DP (UAG) de différentes sources de celluloses (Fengel and Wegener, 1983; Sjöström, 1993)

	DP
Cellulose de l'algue valonia	20000-27000
Coton natif	8000-15000
Cellulose issue du bois	8000-10000
Cellulose bactérienne	2000-6000
Coton traité	1000-5000
Cellulose (bois délignifié)	1000-1500
Cellulose (rayonne)	600-800
Cellulose régénérée	250-500
Cellulose (microcristalline)	200-250

Dans son état naturel, il est difficile de déterminer la longueur des chaînes cellulosiques. En effet, il faut solubiliser la cellulose dans un solvant approprié pour pouvoir notamment déterminer son DP par viscosimétrie. Cette dissolution peut modifier la structure, voire dégrader sensiblement la chaîne polymérique. Enfin, les procédés d'extraction, de purification et/ou de fonctionnalisation peuvent affecter considérablement les valeurs de DP (Hon and Shiraishi, 2000).

1.3.1.2 Masses molaires moyennes

La masse molaire moyenne de la cellulose est comprise entre $1,5 \cdot 10^4$ et $2,5 \cdot 10^6$ g.mol⁻¹ (Hon and Shiraishi, 2000). Différentes masses molaires moyennes sont utilisées pour définir la taille des chaînes de polymères. Différentes techniques instrumentales sont utilisées et fournissent différents types de masses molaires moyennes, définies selon les équations suivantes :

- Masse molaire moyenne en nombre M_n :

Équation 1

$$M_n = \int_0^{\infty} M f_n(M) dM = \sum_i x_i M_i = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \frac{\sum_i m_i}{\sum_i m_i / M_i} = \frac{1}{\sum_i w_i / M_i}$$

- Masse molaire moyenne en masse M_w :

Équation 2

$$M_w = \int_0^{\infty} M f_w(M) dM = \sum_i w_i M_i = \frac{\sum_i m_i M_i}{\sum_i m_i} = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i}$$

- Masse molaire moyenne d'ordre z M_z :

Équation 3

$$M_z = \frac{\int_0^{\infty} M^2 f_w(M) dM}{\int_0^{\infty} M f_w(M) dM} = \frac{\sum_i m_i M_i^2}{\sum_i m_i M_i} = \frac{\sum_i n_i M_i^3}{\sum_i n_i M_i^2}$$

- Masse molaire moyenne par viscosimétrie M_v :

Équation 4

$$M_v = \left[\int_0^{\infty} M^a f_w(M) dM \right]^{\frac{1}{a}} = \left[\sum_i w_i M_i^a \right]^{\frac{1}{a}}$$

Dans les équations ci-dessus, n_i est le nombre de moles (ou le nombre de molécules N_i), m_i est la masse, x_i est la fraction molaire, w_i est la fraction massique des molécules de masse molaire M_i , et a est l'exposant de l'équation de Mark-Houwink-Sakurada (Chee, 1985).

Si $a = 1$, la moyenne en viscosité devient identique à la moyenne en masse. Généralement, les valeurs de M_v se situent entre M_n et M_w , en étant plus proche de M_w . Les différentes moyennes sont sensibles différemment aux différentes masses molaires. M_n est sensible principalement aux fractions de faibles masses molaires tandis que M_w et en particulier M_z sont sensibles à des fractions de masse molaire élevée. Pour les polymères monodisperses, toutes les masses molaires moyennes sont identiques.

Les masses molaires moyennes d'un polymère polydispense, par leur définition mathématique varient dans l'ordre suivant :

$$M_n < M_v < M_w < M_z$$

Comme représenté sur la Figure 18, il est possible d'illustrer la relation entre les masses moléculaires moyennes et la distribution de masses moléculaires (Silbey *et al.*, 2004).

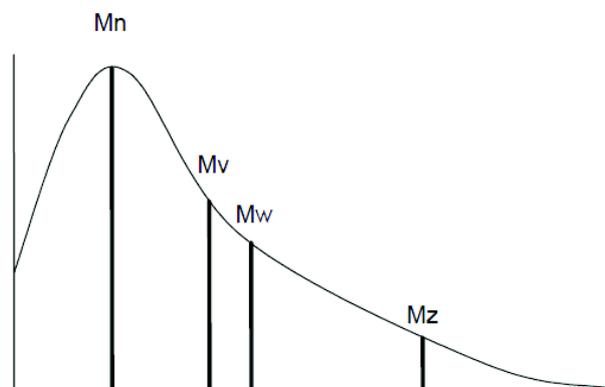


Figure 18 Distribution et relation entre les masses molaires moyennes

Le rapport M_w/M_n , aussi appelé *indice de polydispersité* (I_p), est un indicateur de la distribution de masse molaire d'un polymère. Si un polymère est monodisperse, I_p est égal à 1 car toutes les masses molaires moyennes sont identiques. Cet indice augmente à mesure que la polydispersité du polymère diffère.

I.3.2 DETERMINATION DES MASSES MOLAIRES MOYENNES

De nombreuses méthodes ont été développées pour déterminer les masses molaires moyennes des polymères et leur distribution (Lescq, 1996). Les plus utilisées sont : la mesure de la viscosité intrinsèque d'un échantillon, l'utilisation de la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) ou par fractionnement à contre-flux (FFF). Ces méthodes ne donnent pas accès aux mêmes informations :

- la mesure de viscosité permet d'évaluer le degré de polymérisation (DP) moyen par détermination de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ d'un échantillon permettant de définir M_v .
- le fractionnement par chaîne SEC ou FFF couplé à différents détecteurs (RI, UV, multi-angles de diffusion de la lumière (MALS) ou viscosimètre) permet de déterminer différentes masses molaires (M_n , M_v , M_w et M_z) et ainsi obtenir la distribution des masses molaires pour un échantillon donné.

I.3.2.1 Viscosimétrie

Dans l'industrie, la viscosimétrie est utilisée afin d'évaluer la longueur moyenne des chaînes de cellulose par la détermination de leur DP. La viscosité est intimement liée à l'intensité des forces de cohésion entre les molécules. Les dimensions des chaînes de polymère dans une solution diluée affectent les propriétés rhéologiques de la solution.

La viscosimétrie des solutions de polymère diluées est une méthode importante pour la caractérisation des polymères du fait de l'instrumentation simple et peu coûteux. Les mesures viscosimétriques classiques sont réalisées à l'aide d'un viscosimètre capillaire (Figure 19), dit d'Ubbelohde ou d'Ostwald. La mesure du temps d'écoulement t permet de déterminer la viscosité spécifique (η_{sp}) ou la viscosité relative (η_{rel}) :

Équation 5

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{t - t_0}{t_0} = \eta_{rel} - 1$$

avec η et η_0 respectivement les viscosités de la solution diluée de polymère et du solvant pur.

Sur la Figure 19, les deux points A et B délimitent un volume connu pour le bulbe du capillaire. Au cours de cette analyse, le temps nécessaire à la solution pour passer du point B au point A est mesuré (t pour la solution polymérique et t_0 pour le solvant pur).

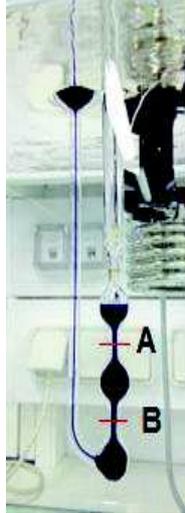


Figure 19 Viscosimètre d'Ostwald

En pratique, la mesure de la viscosité est remplacée par la mesure du temps (t) nécessaire pour qu'un certain volume de solvant ou de la solution s'écoule du point B au point A (Figure 19). La viscosité spécifique est une mesure de l'augmentation de la viscosité due à l'addition de polymère et, selon Einstein, est proportionnelle à la fraction volumique (ϕ) d'un polymère en solution, en fonction d'un facteur A selon son comportement hydrodynamique (sphérique, bâtonnet) en solution :

Équation 6

$$\eta_{sp} = A \cdot \phi = A \cdot \frac{V_{\text{polymère}}}{V_{\text{solution}}}$$

A la limite de dilution infinie, la viscosité réduite est connue sous le nom de viscosité intrinsèque :

Équation 7

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_{rel}}{c}$$

La viscosité intrinsèque décrit comment le comportement d'un polymère en solution et sa structure moléculaire (taille et forme) peut modifier la viscosité de la solution. La solution est considérée comme diluée (c'est-à-dire constituée de chaînes de polymères individualisées en solution, sans interaction intermoléculaire polymère-polymère significative). La concentration d'une solution composée de chaînes de polymère commençant à interagir l'une-l'autre est appelée *concentration critique* (c^*).

Cette concentration critique est atteinte lorsque la fraction volumique du polymère $\phi = 1$. Elle peut être définie comme :

Équation 8

$$c^* \approx \frac{A}{[\eta]}$$

La concentration critique est indirectement proportionnelle à la viscosité intrinsèque. La détermination de la viscosité intrinsèque doit être effectuée en dessous de c^* afin d'assurer une extrapolation linéaire exacte.

Le viscosimètre doit être choisi de telle sorte que $t_0 \approx 100$ sec. Un contrôle précis de la température est très important pour la détermination de la viscosité intrinsèque. Cependant, le maintien de la température constante est plus important que la température absolue elle-même.

De manière générale, la détermination des DP par viscosimétrie consiste à la mesure d'un temps d'écoulement t . Cette mesure permet de déterminer la viscosité dynamique (η) à un taux de cisaillement faible du liquide. Par la loi de Poiseuille et en connaissant la masse volumique (ρ) de la solution, il est possible d'obtenir la relation :

Équation 9

$$t = \frac{k \eta}{\rho}$$

avec k est la constante propre du viscosimètre fournie par le fabricant. Il peut être déterminé par étalonnage avec un liquide dont la masse volumique et la viscosité sont connues.

Pour déterminer la viscosité d'une solution de cellulose, plusieurs solutions de concentrations différentes sont préparées dans le solvant choisi (généralement une solution de cupriéthylène diamine de cuivre (Cuen ou CED)), afin de déterminer la viscosité dynamique η de chaque solution. On extrapole la limite lorsque la concentration en polymère tend vers 1. On obtient ainsi la viscosité intrinsèque notée $[\eta]$. On obtient la relation suivante :

Équation 10

$$[\eta] = \lim_{\phi \rightarrow 0} \left(\frac{\eta - \eta_0}{\phi \eta_0} \right)$$

De manière générale, le degré de polymérisation est déterminé par mesure de la viscosité intrinsèque de la solution de cellulose souhaitée. Cette méthode simple, facile est couramment employée dans l'industrie des pâtes et papiers (Hon and Shiraishi, 2000) et permet d'obtenir une valeur indirecte de la masse molaire d'un échantillon. Il existe différentes normes selon le domaine d'application de ces mesures (ASTM D 1795, 2013; Norme ISO, 2010; TAPPI, 2013). Selon la norme utilisée en viscosimétrie, des approximations sont admises, permettant de déterminer DP_v et M_v (avec x et x' coefficients de corrélation des normes) comme :

Équation 11

$$DP_v \approx x \cdot [\eta] \approx x' \cdot \eta_{rel}$$

Équation 12

$$M_v \approx DP_v \times MM_{UAG}$$

Cependant cette méthode présente certaines limites, notamment liées aux conditions opératoires. La dissolution totale et correcte de l'échantillon cellulosique est primordiale. La subsistance d'agrégats limite l'écoulement dû aux forces de cisaillement accrues au sein du viscosimètre au cours de la mesure. Une dissolution partielle génère une modification (diminution) de la concentration de l'échantillon analysé et peut engendrer d'importantes erreurs de mesure des temps d'écoulement. La préparation des échantillons dans les systèmes de solvant Cuen ou Cadoxen peut générer la dégradation des échantillons et fausser les mesures (Dupont and Mortha, 2004). Cette mesure dépend de l'opérateur (temps de réaction, acuité visuelle), du matériel de mesure (chronomètre, viscosimètre) et de la norme choisie.

1.3.2.2 Techniques de fractionnement & d'analyse appliquées à la cellulose.

La chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et l'Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AsFFFF) sont des techniques qui permettent de fractionner les molécules en solution en fonction de leur volume hydrodynamique. Selon le mode de détection couplé aux techniques de fractionnement, la détermination de la distribution de masses molaires des échantillons analysés peut être relative ou absolue. La détermination de la distribution de masses molaires est importante car c'est un critère lié aux propriétés intrinsèques des molécules analysées. La détermination de la distribution en masses molaires moyennes (M_n , M_w et M_z) de la cellulose n'échappe pas à cette règle.

Cependant, du fait de sa faible solubilité, le nombre de modes opératoires pour l'analyse des échantillons de cellulose est limité. Dans cette partie, les principes généraux de fractionnement et de détermination de la distribution de masses molaires, ainsi que les applications pour la caractérisation d'échantillons de cellulose sont présentés.

1.3.2.2.1 Appareillage

Les systèmes SEC et AsFIFFF se composent comme tous systèmes chromatographiques d'un réservoir d'éluant, de systèmes de pompe, d'injection et de fractionnement, montés en série à des détecteurs connectés à un dispositif d'acquisition et de traitement du signal.

Le système d'élution se compose d'un réservoir de solvant (phase mobile) et d'un système de pompe. L'utilisation d'un dégazeur permettant d'éliminer les bulles ou de filtres en ligne pour supprimer la présence de particules dissoutes ou en suspension est courante. La phase mobile se compose d'un solvant organique ou aqueux permettant la dissolution et l'élution des molécules à analyser. Cette phase mobile dépend de la nature des échantillons analysés.

La phase mobile est contrôlée par un système de pompage, capable de travailler à haute pression et qui permet de délivrer à débit constant le solvant d'élution. Dans le cas de fractionnement par AsFIFFF, le système de pompe est plus complexe. En effet, ce système nécessite le contrôle de différents débits tels que le flux laminaire (V_c), le flux croisé (V_x) et le débit d'injection notamment.

La phase mobile mise en mouvement par les pompes traverse alors un système d'injection, composé généralement d'une vanne 6 voies équipée d'une boucle d'injection de volume connu permettant l'introduction de l'échantillon à analyser dans le système. Les masses injectées sont de l'ordre de quelques microgrammes. Le système d'injection automatique (programmable) permet la répétabilité et la reproductivité des analyses.

La chromatographie d'exclusion stérique (ou SEC pour Size Exclusion Chromatography) et le fractionnement par flux-force (ou FFF pour Field-Flow Fractionation) sont les principaux systèmes de fractionnement pour l'analyse de polymères. Ces deux techniques présentent deux modes de fractionnement différents.

I.3.2.2.2 Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Comme toute technique chromatographique, au cours de la chromatographie d'exclusion stérique, les molécules analysées se répartissent entre une phase mobile et une phase stationnaire.

La phase stationnaire des colonnes se compose d'un gel ou phase polymérique de porosité définie. Le gel est constitué de billes sphériques de diamètre connu, présentant une distribution de taille étroite. Comme présenté sur la Figure 20, la colonne chromatographique se caractérise par différentes grandeurs qui sont : le volume total de colonne V_{col} , le volume mort V_o ou volume interstitiel entourant les billes de gel, et le volume des billes de gel V_{gel} . Le volume V_{gel} représente la somme du volume de matrice V_{mat} et le volume poreux V_p rempli de solvant et lieu de la rétention des molécules. Le mécanisme de rétention est fondé sur l'équilibre thermodynamique entre le volume mort V_o et le volume poreux V_p .

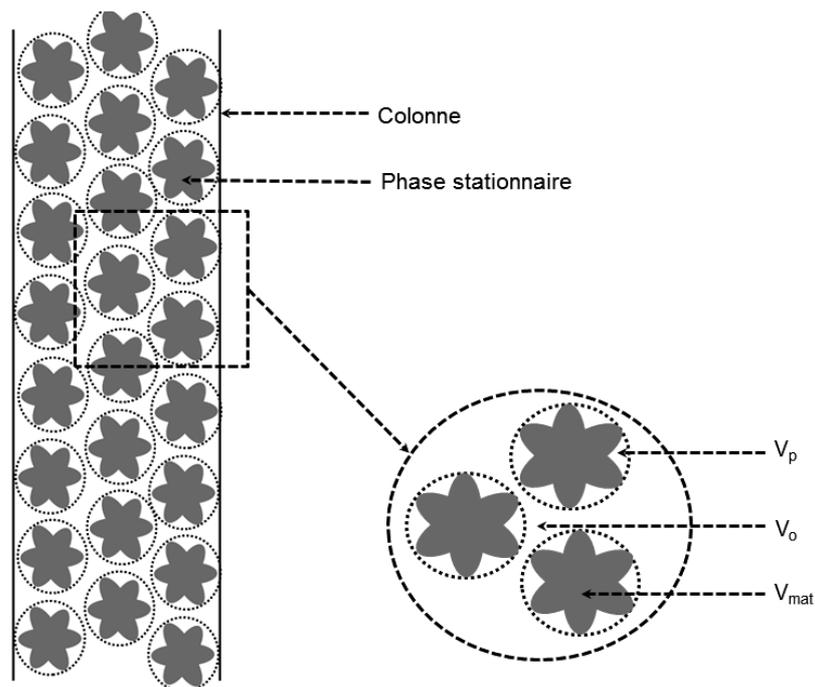


Figure 20 Représentation schématique d'une colonne SEC

Soit K_{SEC} le coefficient de partage entre V_o et V_p , le volume d'éluion V_e d'une macromolécule peut se définir par :

Équation 13

$$V_e = V_o + K_{SEC} \cdot V_p$$

Ce coefficient K_{SEC} est fonction de la taille et de la géométrie de la chaîne macromoléculaire, mais aussi de la taille des pores. Il varie entre 0 à 1. Toutes les molécules en solution sont éluées entre deux volumes limites : V_o et $V_o + V_p$.

Les trop grosses molécules ne peuvent avoir accès aux pores de gel. Dans ce cas, $K_{SEC} = 0$ et $V_e = V_o$. Ces molécules non retenues sont donc éluées dans le volume mort et sont dites exclues. De petites molécules sont à l'inverse en perméation totale dans les pores. Dans ce cas $K_{SEC} = 1$ donc $V_e = V_o + V_p$.

Comme représenté dans la Figure 21, les plus petites molécules (en rouge) pénètrent dans les pores de la phase stationnaire, augmentant leur distance de parcours au sein de la colonne par rapport à des molécules de plus grosses tailles (bleues). Au contraire, les molécules vertes de taille trop importantes sont exclues (volume V_o) du support chromatographique, réduisant leur distance de parcours.

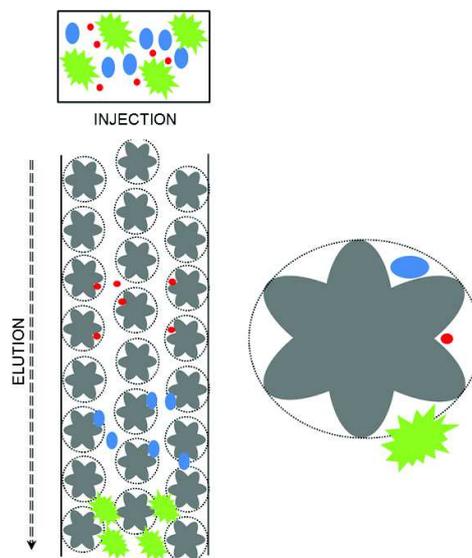


Figure 21 Mode de séparation de molécules de différentes tailles par fractionnement SEC

Par conséquent, à débit de phase mobile constant, le temps de rétention des molécules rouges est plus important que le temps de rétention des molécules bleues. Les trois macromolécules de tailles différentes sont séparées et présentent trois pics chromatographiques distincts suivant un ordre décroissant de leur taille (Figure 22).

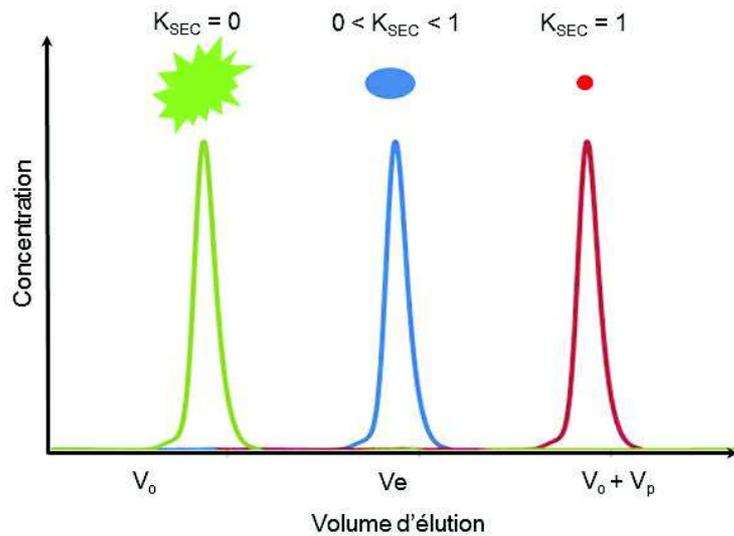


Figure 22 Exemple de chromatogrammes SEC selon la taille des macromolécules analysées

Ces phénomènes ont fait l'objet d'études thermodynamiques, la distribution d'un soluté entre le solvant interstitiel et les pores de la phase stationnaire est déterminée uniquement par la différence d'entropie entre ces deux systèmes (Wu, 2003). L'entropie d'un système est définie par l'équation :

Équation 14

$$S = k \ln \Omega$$

où k , constante de Boltzmann et Ω , nombre de permutations possibles du soluté dans ce système.

Une molécule de petite taille (en rouge) possède plus de possibilités de rétention qu'une molécule de plus grande taille (en bleu) (Figure 23). En effet, pour une molécule de petite taille, le nombre de permutations disponibles, et donc l'entropie, est plus importante.

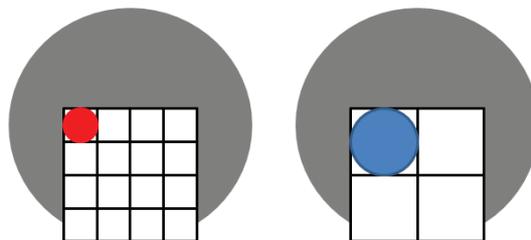


Figure 23 Représentation schématique du phénomène d'entropie au sein d'un pore (Wu, 2003).

Des tailles trop petites ou trop grandes de pores ne permettent pas une différenciation significative du nombre de permutation entre les molécules analysées.

Plus la polydispersité des macromolécules présente dans l'échantillon analysé est importante, plus le support chromatographique sélectionné doit présenter une large gamme de porosité. Pour cela, l'utilisation de colonnes composées de supports chromatographiques de porosités différentes (colonne dite mixte) ou l'assemblage en série de colonnes différentes de porosité unique sont recommandés.

Pour une reproductibilité et une stabilité optimales des analyses, les systèmes de colonnes sont maintenus à température constante. La viscosité du solvant doit être la plus faible possible, nécessitant des températures élevées ($T > 60\text{ °C}$), ce qui améliore l'efficacité des colonnes tout en réduisant la pression du système.

1.3.2.2.3 Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AsFFFF)

Les méthodes dites de fractionnement par flux-force (FFF) sont des techniques assez nouvelles, dédiées principalement à la caractérisation des macromolécules. Décrites pour la première fois en 1960 par Giddings (Giddings, 1966), les techniques de fractionnement par flux-force sont basées sur l'action simultanée de l'écoulement d'un liquide dans un canal de faible épaisseur et l'effet d'un champ externe appliqué perpendiculairement au canal. Le champ d'application de ces techniques est très large, avec une étendue en taille allant du submicronique à des particules de plus de 100 μm . Différentes techniques de fractionnement ont été décrites, qui diffèrent selon la nature du champ externe appliqué :

- Sedimentation FFF (SdFFF) : cette technique utilise la force centrifuge comme champ externe. Les particules sont séparées en fonction de leur taille et de leur densité (Giddings *et al.*, 1974). Cette technique est très utilisée pour la caractérisation de particules colloïdales dont le diamètre est compris entre 0,05 et 1 μm (Giddings and Ho, 1995; Kirkland and Yau, 1983).
- Thermal FFF (ThFFF) : cette technique est généralement utilisée pour analyser les polymères synthétiques dans les solvants organiques. Elle est basée sur l'utilisation d'un gradient de température établi par chauffage d'une plaque du canal d'un côté et le refroidissement de l'autre. Ce gradient est responsable d'une diffusion thermique des espèces due à une différence de leur vitesse de mouvement, liée à leur coefficient de diffusion thermique (Liu and Giddings, 1992; Thompson *et al.*, 1969).

- Electrical FFF (EIFFF) : cette méthode combine les avantages de l'électrophorèse et de la séparation par Flux Force. Elle utilise un champ électrique comme champ externe et permet ainsi de séparer les molécules en fonction de leur taille, mais également en fonction de leur nature électrostatique (Caldwell and Gao, 1993).
- Flow FFF (FIFFF) : cette technique est la plus universelle. Le champ de force appliqué est un flux croisé perpendiculaire au flux d'éluant. Cette méthode permet de séparer les molécules de 1 nm jusqu'aux particules de 100 μm de diamètre (Giddings *et al.*, 1976; Liu and Giddings, 1993; Liu *et al.*, 1993).

Parmi l'ensemble de ces techniques de fractionnement, la technique la plus utilisée de nos jours est l'Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AsFIFFF) développée par Wahlund et Giddings (Wahlund and Giddings, 1987). Cette technique est une des techniques FFF la plus universelle. Sa gamme d'application couvre les macromolécules, simples ou complexes, d'importance biologique, pharmaceutique, industrielle ou environnementale.

Le fractionnement par AsFIFFF est basé sur une séparation en fonction de leur diamètre hydrodynamique. Le système de fractionnement par AsFIFFF est constitué d'une cellule de séparation dite asymétrique (Figure 24) à travers laquelle un flux d'éluant est appliqué. La cellule est constituée d'un bloc supérieur imperméable et d'un bloc inférieur doté d'un fritté.

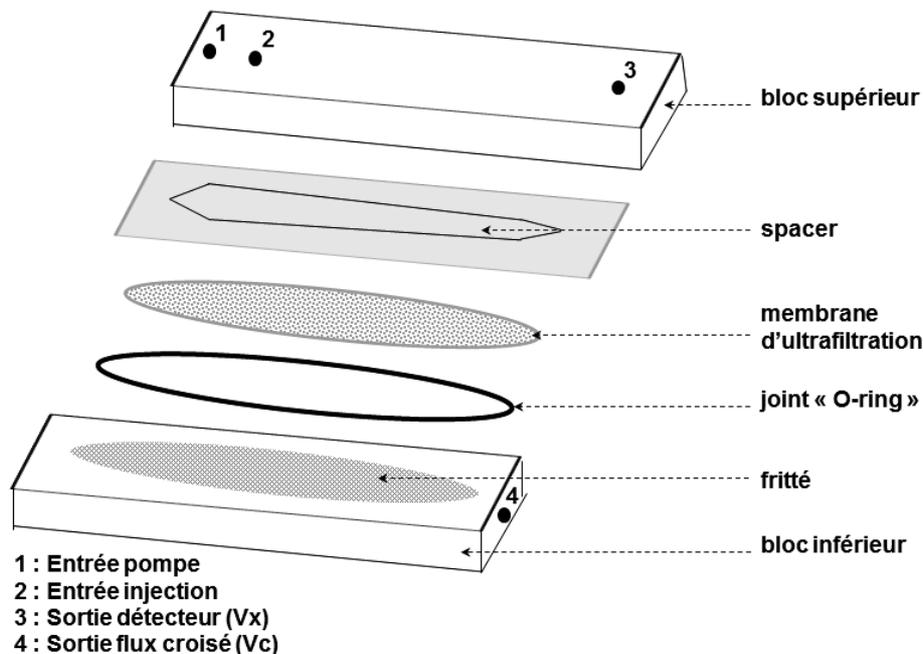


Figure 24 Représentation schématique d'une cellule AsFIFFF

Une membrane d'ultrafiltration, généralement de 5 ou 10 kDa, est déposée sur le fritté à travers lequel une fraction de l'éluant introduit dans la cellule va pouvoir être soutiré. Elle détermine la limite inférieure de taille des échantillons. Ces membranes sont généralement en cellulose régénérée ou en polyethersulfones. Un spacer, fine lamelle de forme trapézoïdale, est déposé sur la membrane et serré entre les deux blocs. L'épaisseur de cette pièce fixe le volume de la zone de fractionnement. L'épaisseur varie entre 125 et 490 μm . Contrairement à la chromatographie d'exclusion stérique, l'absence de phase stationnaire dans la cellule limite les phénomènes d'adsorption et de cisaillement des molécules.

Les constituants de l'échantillon sont séparés par l'application d'un champ de force perpendiculaire à la direction d'éluion, dit flux croisé. En mode normal, mode fréquemment observé, la séparation se fait selon la Figure 25. Un mode différent du mode normal peut apparaître, le mode stérique, observé pour des molécules de taille supérieure à 1 μm , et dans lequel les molécules de grosses tailles sont éluées avant les petites.

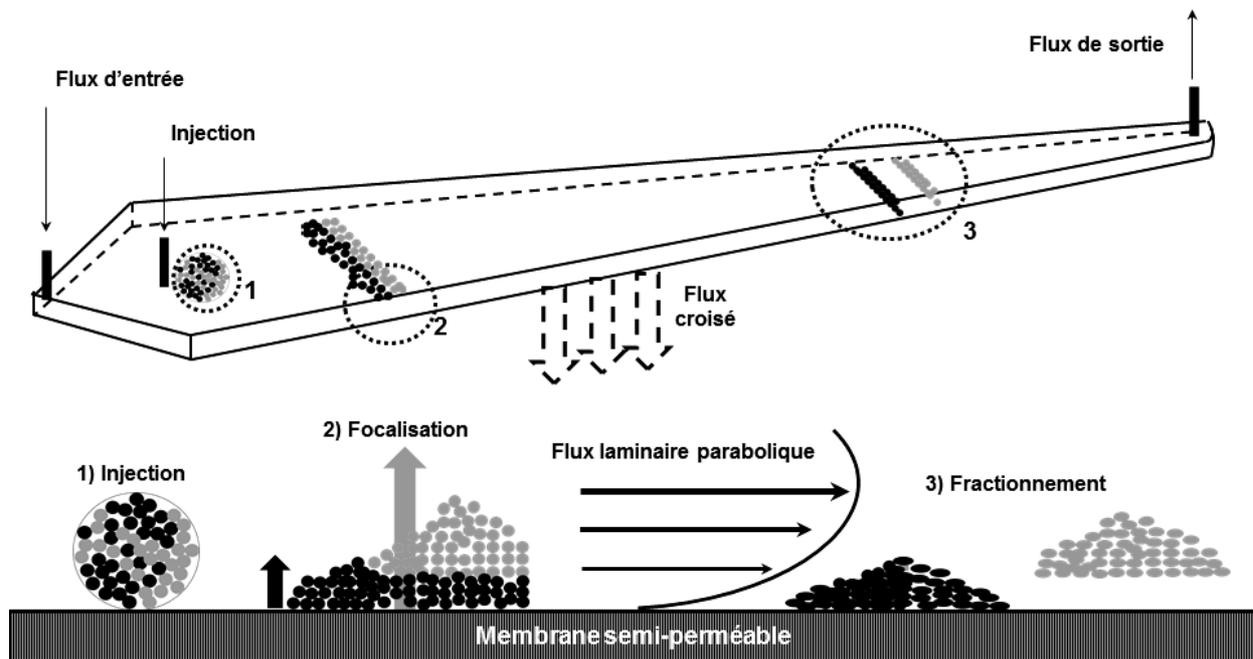


Figure 25 Représentation schématique du fractionnement par AsFIFFF

L'échantillon injecté dans la cellule est soumis au flux croisé de débit V_c et au mouvement brownien, qui est fonction du coefficient de diffusion D des molécules dans l'éluant. Lors des phases de concentration et de relaxation des échantillons, les molécules se répartissent sur un même plan à proximité de la membrane semi-perméable (étape de focalisation).

Les grosses molécules, présentant un coefficient de diffusion faible, sont plus proches de la membrane que les petites molécules, présentant un coefficient de diffusion plus élevé, sont plus éloignées de la membrane. Au cours de la phase d'éluion, l'épaisseur de la cellule étant très faible (de 125 à 490 μm), le régime est laminaire et le profil de vitesse parabolique (Figure 25). Le temps de rétention t_R s'écrit en fonction du coefficient de diffusion :

Équation 15

$$t_R = \frac{t_0 V_c w^2}{6 V_0 D}$$

avec t_R le temps de rétention du composé, t_0 le temps mort correspondant à la traversée du volume de la cellule, V_0 le volume de la cellule, w l'épaisseur de la cellule, D le coefficient de diffusion, et V_c le débit de flux croisé.

Ce coefficient de diffusion est fonction du rayon hydrodynamique de la molécule d'après l'équation approximée de Stokes-Einstein :

Équation 16

$$D = \frac{k T}{6 \pi \eta r_H}$$

avec k est la constante de Boltzmann, T la température absolue (K), η la viscosité de l'éluant et r_H le rayon hydrodynamique de la molécule.

En mode normal, le temps de rétention s'exprime alors en fonction du rayon hydrodynamique de la molécule selon l'équation suivante :

Équation 17

$$t_R = \frac{t_0 V_c w^2 \eta \pi}{V_0 k T} \cdot r_H$$

L'AsFIFFF est une des technologies les plus avancées pour la séparation de macromolécules de masse molaire élevée. Cette technique est utilisée pour la détermination des distributions de masses molaires de polymères (Rolland-Sabaté *et al.*, 2007; Wittgren and Wahlund, 1997a; Zattoni *et al.*, 2009), de macromolécules (Bria *et al.*, 2013; Rbii *et al.*, 2009; Runyon *et al.*, 2013) et de nanoparticules (Ehrhart *et al.*, 2011; Kammer *et al.*, 2011; Runyon *et al.*, 2014)

avec une masse molaire atteignant 10^9 g/mol et une taille de l'ordre du micromètre. De ce fait, cette technique se développe dans divers domaines de recherche et développement comme en biologie moléculaire (Van Bruijnsvoort *et al.*, 2001; Wahlund *et al.*, 2011), en nanotechnologie et nanomédecine (Till *et al.*, 2014; Varenne *et al.*, 2016), ainsi que dans les secteurs pharmaceutiques (Fraunhofer and Winter, 2004) et agro-industriels (Guyomarc'h *et al.*, 2010; Lemelin *et al.*, 2005).

Le couplage de ces techniques de fractionnement, SEC ou AsFIFFF, à un système de détection permet de déterminer la distribution de masses molaires de l'échantillon analysé.

I.3.2.2.4 *Systèmes de détection*

Différents types de détecteurs peuvent être installés en sortie de la colonne afin d'assurer la détection des échantillons fractionnés. Selon le mode de détection, la distribution de masses molaires des polymères peut être déterminée de manière relative ou absolue. Les systèmes de détection peuvent être de nature diverse selon les propriétés des échantillons analysés.

➤ Détecteurs RI et UV-visible

Ces détecteurs sont sensibles à la concentration détectée. Le signal obtenu est proportionnel uniquement à la quantité d'échantillon injectée.

Le détecteur UV-visible est le plus couramment utilisé en chromatographie liquide classique. Il est utilisé pour la détection de molécules constituées de groupements chromophores (double liaison, cycle aromatique ou carbonyle). En SEC, son utilisation est limitée. De nombreux polymères n'ont qu'une faible, voire aucune absorption de la lumière UV-visible. Le détecteur UV-visible mesure l'absorbance de la phase mobile (A), qui est défini comme le logarithme du rapport des intensités de la lumière incidente (I_0) et de la lumière transmise (I). Selon la loi Lambert-Beer, l'absorbance est liée au coefficient d'absorption ε ($\text{mLg}^{-1}\text{cm}^{-1}$), à la concentration c (g/mL) et à la longueur de la cellule L (cm).

Équation 18

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon c L$$

Les réfractomètres différentiels (RI) sont les détecteurs les plus courants en SEC et sont considérés comme universels, en comparaison des détecteurs UV-visible.

Ils permettent la détection de tous les composés dont l'incrément de l'indice de réfraction dn/dc spécifique est non nul. Ces détecteurs RI mesurent en continu la différence d'indice de réfraction entre la phase mobile de référence (n_1) et le solvant d'éluion en sortie de colonne (n_2), selon l'égalité suivante :

Équation 19

$$n_1 \sin i_1 = n_2 \sin i_2$$

avec i_1 et i_2 , angles d'incidence de la lumière dans les milieux de référence et d'analyse.

Le signal de détection est d'autant plus fort que la différence entre les indices de réfraction est importante (Figure 26).

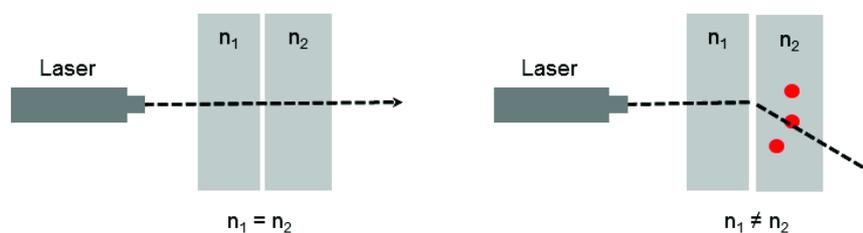


Figure 26 Représentation du phénomène de diffraction de la lumière (modèle de déviation)

Ce phénomène de déviation est détecté à l'aide d'un miroir. L'angle d'incidence, décrit par la déviation de la lumière, est d'autant plus important que l'indice de réfraction du milieu d'analyse (n_2) est élevé. Cet angle de diffraction est proportionnel à la concentration molaire dans le milieu.

Les détecteurs RI sont très sensibles au changement de composition de la phase mobile ainsi qu'aux changements de température et de débit, contrairement aux détecteurs UV-visible. La cellule de détection est contenue dans un bloc métallique et thermostaté. Plusieurs heures sont nécessaires pour conditionner les colonnes SEC et stabiliser le signal RI.

La détermination de la distribution des masses molaires lors de l'usage de techniques SEC ou AsFFFF couplées uniquement à un détecteur quantitatif (RI, UV-Visible...) nécessite la calibration du système. Cette méthode est décrite comme relative.

Cette méthode consiste à déterminer la relation entre le logarithme de la masse molaire $\log M$ d'une série de standards, de masses molaires connues et de polydispersité faible ($I_p \approx 1$), et le volume d'éluion V_e correspondant :

Équation 20

$$\log M = a + bVe + cVe^2 + dVe^3$$

L'analyse des standards se fait dans les mêmes conditions expérimentales (solvant, débit d'éluion et température) que celles utilisées pour l'analyse des échantillons de polymères à caractériser. Le polynôme de troisième ordre représente l'ajustement le plus approprié (Podzimek, 2011). La calibration nécessite des standards recouvrant l'ensemble de la gamme de masse molaire des échantillons de polymères à analyser. Par cette méthode, l'analyse des échantillons ne se fait que dans l'intervalle défini par les standards : l'intervalle spécifique d'analyse.

L'utilisation de 6 à 10 standards est suffisante pour établir une courbe d'étalonnage. Cette méthode est valable pour un couple polymère-solvant donné. Différents types de standards existent : polystyrène (PS), polyéthylène glycol (PEG) ou encore des polymères de glucose de type dextrane ou pullulane.

➤ Viscosimètre en ligne

En théorie, le viscosimètre mesure la viscosité spécifique, convertie en viscosité intrinsèque à partir de la concentration déterminée à l'aide d'un détecteur sensible à la concentration. Connaissant la viscosité intrinsèque, la masse molaire est obtenue en fonction de la calibration universelle.

En pratique, le viscosimètre mesure une différence de pression entre une partie contenant la solution de polymère et une seconde contenant de l'éluant pur. Conformément à la loi de Poiseuille dans le cas de l'écoulement laminaire, la mesure de la viscosité peut être remplacée par la mesure de la différence de pression :

Équation 21

$$\Delta P = \frac{8\eta L}{\pi R^4} D$$

où ΔP est la différence de pression au travers du tube (pression d'entrée - pression de sortie), R le rayon du tube, η la viscosité, L la longueur du tube et D le débit volumétrique au travers du tube (mL/min).

Au moment de son élution, l'échantillon génère une modification de la pression, du fait d'une viscosité différente en entrée du capillaire du détecteur. Cette variation de pression, combinée à la pression d'entrée, donne la viscosité spécifique selon l'équation :

Équation 22

$$\eta_{sp} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = \frac{4 \Delta P}{P_{ent} - 2 \Delta P}$$

avec ΔP variation de pression au travers du tube, η la viscosité de la solution, η_0 la viscosité du solvant et P_{ent} la pression d'entrée.

Ce mode de détection est sensible aux variations de débit et de température. Le principe de fractionnement est régi par la différence de taille des molécules en solution diluée. L'étalonnage universel se base sur le fait que les volumes hydrodynamiques des espèces éluant au même volume d'élution sont supposés identiques (Casassa, 1971; Grubisic *et al.*, 1967).

La viscosité intrinsèque $[\eta]$ des étalons est fonction de la masse molaire. Elle peut être déterminée expérimentalement ou calculée à partir de l'équation de Mark-Houwink-Sakurada :

Équation 23

$$[\eta] = K \cdot M^a$$

V_e peut être exprimé théoriquement en fonction du produit de la masse molaire M et de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ selon l'équation suivante :

Équation 24

$$\log ([\eta] M) = f(V_e)$$

Ce mode d'analyse nécessite la connaissance des deux coefficients de Mark-Houwink, K et a . Ces coefficients ne sont connus que pour un nombre limité de couples polymère-solvant.

➤ Détecteur multiangle de diffusion statique de la lumière

Les détecteurs de diffusion statique de la lumière, très utilisés en SEC, permettent de déterminer de façon absolue la taille des molécules fractionnées.

Le principe est basé sur la propriété qu'ont les molécules soumises à un rayonnement électromagnétique, à se polariser et à diffuser la lumière. Cette diffusion induite peut se faire de deux façons (Figure 27) : (i) isotrope pour des molécules de diamètre inférieur à $1/20^{\text{ème}}$ de la longueur d'onde du rayonnement incident, et (ii) anisotrope pour des molécules plus volumineuses (Wyatt, 1993; Zimm, 1948).

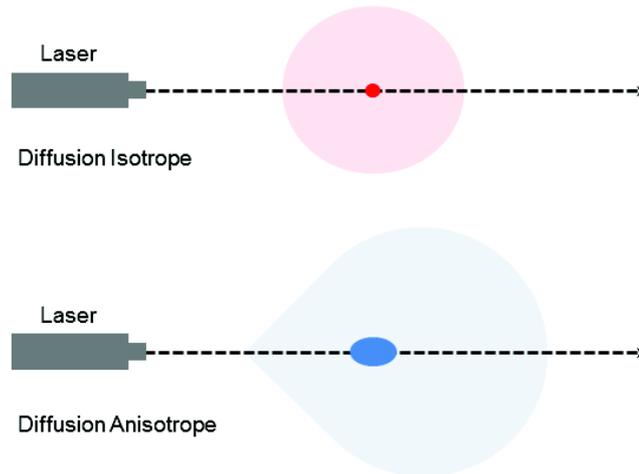


Figure 27 Phénomène de diffusion de la lumière laser selon le volume occupé par la molécule

Ce détecteur permet de mesurer simultanément la lumière diffusée sous différents angles de mesure, entre 0° et 180° . L'intensité de la lumière diffusée par un échantillon dépend, entre autres, de l'angle d'observation θ , de la masse molaire moyenne en masse M_w et du rayon de giration r_g de la molécule. Une des relations existantes entre ces paramètres est décrite par l'équation de Zimm (Zimm, 1948) :

Équation 25

$$\frac{K c}{R_\theta} = \frac{1}{M_w P(\theta)} + 2A_2 c + \dots$$

où K représente la constante optique, c la concentration de l'échantillon dans la cellule de mesure, M_w la masse molaire moyenne en masse, R_θ le rapport d'excès de Rayleigh, $P(\theta)$ le facteur de forme qui exprime l'influence du rayon sur l'intensité du rayon diffusé et A_2 le deuxième coefficient du viriel. Le rapport d'excès de Rayleigh R_θ est fonction de l'intensité de la lumière diffusée aux différents angles :

Équation 26

$$R_{\theta} = \frac{(I_{\theta(BP)} - I_{\theta(S)}) \cdot r_D^2}{I_0 V_0}$$

où I_{θ} l'intensité de la lumière diffusée par le soluté en solution (BP) et le solvant (S) à l'angle θ , I_0 l'intensité du rayon incident, r_D la distance séparant le centre de la cellule de mesure et le détecteur, et V_0 le volume de la cellule.

Le facteur de forme $P(\theta)$ dépend de la taille et de la forme de la molécule et décrit la dépendance angulaire de l'intensité de la lumière diffusée :

Équation 27

$$P(\theta) = \frac{1}{1 + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} r_g^2 \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)}$$

Couplée à des techniques de fractionnement comme la SEC, la concentration des molécules analysées est faible ce qui rend le facteur $2A_2c$, négligeable dans l'Équation 25. L'équation s'écrit dès lors :

Équation 28

$$\frac{Kc}{R_{\theta}} = \frac{1}{M_w P(\theta)}$$

Par extrapolation à $\theta = 0$, la masse molaire et le rayon de giration de la molécule peuvent être obtenus à partir de la représentation de Zimm définie par la droite d'équation :

Équation 29

$$\frac{Kc}{R_{\theta}} = f\left(\sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)\right)$$

La masse molaire (M_w) correspond à la valeur de l'intersection de la droite avec l'axe des ordonnées et le rayon de giration r_g la pente de la droite (Figure 28).

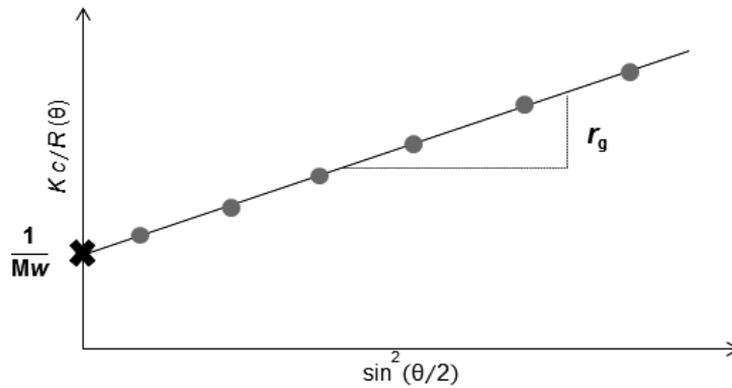


Figure 28 Représentation du diagramme de type Zimm (Zimm, 1948)

Le détecteur MALS couplé à la SEC et à un détecteur quantitatif (RI, UV-Visible) permet d'accéder aux valeurs de distribution de masse molaire (M_n , M_w , M_z), de distribution de taille (R_n , R_w et R_z) et de poly dispersité (M_w/M_n) de masse molaire moyenne en nombre (M_n) et en masse (M_w) ainsi qu'à l'indice de polydispersité (I_p). Le rayon de giration r_g est déterminé comme :

Équation 30

$$r_g = \sqrt{\frac{\sum n_i M_i r_i^2}{\sum n_i M_i}}$$

avec r_i le rayon des molécules de masse M_i .

Ce mode d'analyse nécessite un couplage détecteur de diffusion statique de la lumière avec un détecteur quantitatif. Le couplage de ce mode de détection avec les techniques de fractionnement SEC ou AsFIFFF, permet de déterminer de manière absolue les masses molaires et le rayon de giration des molécules analysées.

Pour se faire, l'incrément de l'indice de réfraction (ou dn/dc), grandeur spécifique d'un polymère pour un système de solvant et de température d'analyse donné, est nécessaire. Cet indice peut être déterminé expérimentalement ou fourni par la littérature. Le dn/dc est déterminé par l'injection au travers d'un réfractomètre de solution {polymère-solvant} à une température donnée et à des différentes concentrations (c) afin d'enregistrer les différentes intensités (I) de signal dues aux différentes concentrations. Ainsi, il est possible de tracer une droite $I = f(c)$ où la pente de cette droite correspond au dn/dc .

I.3.2.2.5 *Détermination de la distribution de masses molaires*

Les techniques SEC et AsFIFFF ont été étudiées pour caractériser et étudier les transformations subies par la cellulose au cours des différents procédés chimiques et biologiques.

Initialement, seuls les échantillons de cellulose dérivatisés, et notamment la cellulose tri-carbanilate (CTC), ont été synthétisés puis analysés du fait de leur solubilité dans des solvants SEC communs (THF, aqueux).

Néanmoins, seule l'analyse par SEC d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés, préparés et analysés dans des solutions de cadoxen a été étudiée entre les années 1960 et 1980.

Au cours des 30 dernières années, l'analyse SEC utilisant le LiCl/DMAc comme solvant d'éluion et de dissolution de la cellulose est devenue la référence pour la caractérisation des masses molaires de la cellulose non-dérivatisée.

➤ *D'échantillons de cellulose dérivatisés*

Cette méthode consiste à dérivatiser chacun des groupements hydroxyles libres des unités anhydroglucose afin de permettre sa solubilisation, et donc son analyse par SEC.

La réaction de dérivatisation doit être complète et uniforme sur la chaîne de cellulose mais sans dégradation par hydrolyse ou par oxydation de l'échantillon de celluloses (Hon and Shiraishi, 2000). Les trinitrates et les acétates de cellulose ont été majoritairement étudiés (Wu, 2003).

Obtenus par substitution complète, les dérivés tricarbnilates (CTC) présentent une plus grande stabilité, contrairement aux dérivés trinitrates (CTN) ou acétates (CTA). Cette réaction ne cause ni dépolymérisation ni dégradation de la cellulose initiale.

Ces échantillons cellulosiques dérivatisés sont communément analysés dans un système de solvant différent du solvant de préparation. Néanmoins, l'analyse de celluloses dérivatisées a pu être réalisée en milieu homogène : le même système de solvant est utilisé pour la détermination de la distribution des masses molaires que pour la fonctionnalisation des échantillons (Tableau 7).

Tableau 7 Conditions opératoires pour l'analyse d'échantillons cellulosiques dérivatisés

Cellulose	Système de solvant		Débit mL/min	[cellulose] mg/mL	Vinj μL	Système de fractionnement	Température °C	référence
	Préparation	Analyse						
<i>Fractionnement SEC</i>								
CTN	/	THF	1	/	/	2 colonnes Model 100 Gel (Waters)	TA	(Segal, 1968)
CMC	Cadoxen + NaCl (200 mM)	NaCl (200 mM)	3,5	1-5	100	Colonne Biogel A-50m (Kemilapreparat)	TA	(Almin <i>et al.</i> , 1972)
CTC	DMAc (réactif Pyr et PIC)	THF	1	1	100-150	3 colonnes Phenogel 10 ⁴ , 10 ⁵ et 10 ⁶ A (Phenomenex)	TA	(Terbojevich <i>et al.</i> , 1995)
CTC	DMSO (réactif PIC)	THF	1	1	100	2 colonnes Ultrastyrigel (Waters)	TA	(Dupont and Mortha, 2004)
CTC	LiCl/DMAc (0,5% ; m/v) (réactif PIC)	LiCl/DMAc (0,5% ; m/v)	1	/	200	PC + 4 colonnes Mixed-A 20 μm (Polymer)	80	(Berthold <i>et al.</i> , 2004)
CTA	LiCl/DMAc (0,5% ; m/v) (réactif AcCl)	LiCl/DMAc (0,5% ; m/v)						
DAC	100 mM NaNO ₃ (NaIO ₄)	100 mM NaNO ₃	0,8	1-10	100	PC + 2-3 colonnes Aquagel-OH Mixed-H 8 μm	TA	(Sulaeva <i>et al.</i> , 2015)
<i>Fractionnement AsFIFFF</i>								
HPMC	Methanol/10 mM NaCl (1/1 ; v/v)		V _x = 1 V _c = 0,25-2	1-12	20	Mylar spacer 119 μm Cellulose régénérée NADIR 10 kDa	TA	(Wittgren and Wahlund, 1997b)
EHEC	10 mM NaCl 0,4 % (m/m) NaN ₃		V _x = 0,4-0,6 V _c = 0,4-0,2	1	100	Cellulose régénérée NADIR 10 kDa	TA	(Andersson <i>et al.</i> , 2001)
HPC	10 mM NaNO ₃ + 0,002 % (m/m) NaN ₃ (17 mM NH ₄ CH ₃ CO ₂)	10 mM NaNO ₃ + 0,002 % (m/m) NaN ₃	V _x = 1 V _c = 1	2,3	100	Mylar spacer 250 μm Cellulose régénérée 5 kDa	TA	(Leeman <i>et al.</i> , 2006)
CNCs	0,02 % (m/m) NaN ₃ (H ₂ SO ₄)	0,02 % (m/m) NaN ₃	V _x = 1 V _c = 0,8	5	4-8	Mylar spacer 490 μm Cellulose régénérée 10 kDa	TA	(Guan <i>et al.</i> , 2012)
DAC	100 mM NaNO ₃ (NaIO ₄)	10 mM NaNO ₃	V _x = 1 V _c = 0,5	10	100	Spacer 350 μm Cellulose régénérée 10 kDa	TA	(Sulaeva <i>et al.</i> , 2015)

PIC = phénylisocyanate ; AcCl = Chlorure d'acétate ; Pyr = pyridine ; PC = pré-colonne ; HPMC = hydroxypropylméthylcellulose ; EHEC = éthylhydroxyéthylcellulose ; CNCs = cellulose nanocristalline ; HPC = hydroxypropylcellulose ; DAC = dialdéhyde cellulose ; V_c = flux laminaire ; V_x = flux croisé ; TA = température ambiante ; / = non communiqué ;

Ces procédés de dérivatisation permettent la détermination de la distribution de masses molaires de manière absolue et relative (Tableau 8).

Tableau 8 Méthodes de détermination de distribution de masses molaires de celluloses dérivatisées

Système de solvant	Méthode d'analyse	Détection	Cellulose	Standard	référence
THF	SEC-Relative	RI	CTN	Polystyrène	(Segal, 1968)
LiCl/DMAc (0,5% ; m/v)		UV-RI	CTC et CTA	Pullulane	(Berthold <i>et al.</i> , 2004)
THF	SEC-Absolue	MALS-RI	CTC	Polystyrène	(Terbojevich <i>et al.</i> , 1995)
THF		UV-MALS	CTC	/	(Dupont and Mortha, 2004)
100 mM NaNO ₃	AsFIFFF/SEC-Absolue	MALS-RI	DAC	/	(Sulaeva <i>et al.</i> , 2015)
Methanol/10 mM NaCl (1/1 ; v/v)	AsFIFFF-absolue	MALS-RI	HPMC	Pullulane	(Wittgren and Wahlund, 1997b)
10mM NaCl 0,4 % (m/m) NaN ₃		MALS-RI	EHEC	Pullulane	(Andersson <i>et al.</i> , 2001)
10 mM NaNO ₃ + 0,002 % (m/m) NaN ₃		MALS-RI	HPC	Pullulane	(Leeman <i>et al.</i> , 2006)
10 mM NaNO ₃		MALS-RI	CNCs	/	(Guan <i>et al.</i> , 2012)

HPMC = hydroxypropylméthylcellulose ; EHEC = éthylhydroxyéthylcellulose ; CNCs = cellulose nanocristalline ; HPC = hydroxypropylcellulose ; DAC = dialdéhyde cellulose ;

➤ D'échantillons de cellulose non-dérivatisés

Les premiers travaux rapportants l'emploi du LiCl/DMAc en tant que solvant de la cellulose non-dérivatisée pour l'analyse SEC, ont été publiés en 1981 (McCormick, 1981; Turbak *et al.*, 1981). Dès 1986, le LiCl/DMAc fut étudié pour la détermination des distributions de masses molaires de cellulose par analyse SEC (Ekmanis, 1986). Depuis, cette méthode a été très largement utilisée pour l'analyse d'une très grande variété d'échantillons de cellulose.

Par cette technique, la distribution de masses molaires de différents échantillons cellulosiques ont été déterminée, comme les fibres de coton pures (Timpa and Ramey, 1994), des échantillons de cellulose issus du coton (Rousselle and Howley, 1998; Sjöholm *et al.*, 2000b; Striegel and Timpa, 1996a, 1996b), diverses pâtes à papier issues du procédé Sulfite (Jerosch *et al.*, 2001; Karlsson and Westermark, 1996; Karlsson *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 1990) ou du procédé Kraft (Berggren, 2001; Silva and Laver, 1997; Sjöholm *et al.*, 2000c).

Enfin, un dernier système de solvant a récemment été étudié (Rousselle, 2002). Homologue au système LiCl/DMAc, ce système de solvant est un mélange de chlorure de lithium et de 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone, le LiCl/DMI. Cette méthode permet la détermination de DMM pour des échantillons issus de pâtes de feuillus et de résineux (Yanagisawa and Isogai, 2005; Yanagisawa *et al.*, 2005).

Différentes conditions d'analyse ont été rapportées dans la littérature permettant la détermination de la distribution de masses molaires par chromatographie d'exclusion stérique d'une grande variété d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés (Tableau 9).

En raison des propriétés corrosives du LiCl et de la viscosité élevée de ces solutions, de faibles concentrations en LiCl dans le solvant d'élution sont préférables. Généralement, cette concentration en LiCl est de 0,5 % mais des méthodes utilisent des concentrations allant jusqu'à 5 %. Néanmoins, l'augmentation de cette concentration en sel génère une augmentation de la viscosité du solvant d'élution, ce qui nécessite une diminution du débit de la phase mobile (Strlič *et al.*, 2002).

Les colonnes utilisées pour l'analyse SEC d'échantillons de cellulose non-dérivatisée en LiCl/DMAc et LiCl/DMI se composent d'une phase stationnaire constituée de billes de copolymère styrène-divinylbenzène (PS-DVB). Représenté sur la Figure 29, le PS-DVB est un copolymère réticulé, composé de styrène et de divinylbenzène.

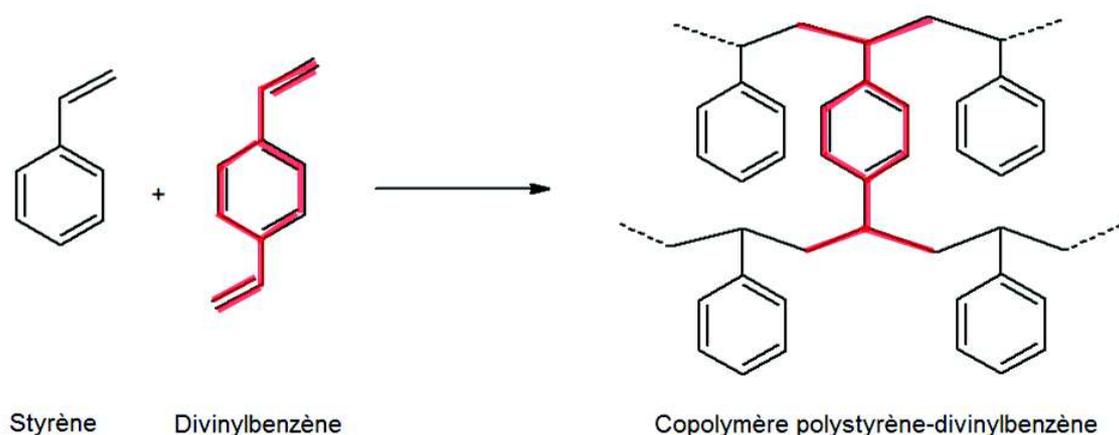


Figure 29 Représentation de la matrice de colonne en polystyrène-divinylbenzène

L'utilisation de ce copolymère PS-DVB comme phase stationnaire permet de diminuer la pression du système et l'utilisation de débits plus élevés (Schult *et al.*, 2000), du fait de la taille importante des pores et de sa rigidité structurale.

Tableau 9 Conditions opératoires SEC pour l'analyse d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés

Cellulose	Système de solvant		Débit mL/min	[cellulose] mg/mL	Vinj μL	Système de colonne	T colonne	référence
	dissolution	élution					°C	
Commerciale	LiCl/DMAc (0.5% ; m/v)		1	0,6	100-150	PC + 3 colonnes Waters (10μm) Mixed-B	80	(Striegel and Timpa, 1995)
Coton & Pâte de bois (feuillu)			1	0,5	100-200	PC + 4 colonnes PLgel Mixed-A (20μm)	80	(Sjöholm <i>et al.</i> , 2000a, 2000b)
Coton			0,8	/	400	4 colonnes Waters μstyragel HT (10 ³ -10 ⁴ -10 ⁵ Å) + ultrastyragel (10 ⁶ Å)	60	(Emsley <i>et al.</i> , 2000)
Pure (Whatman)			1	0,625	100	PC + 3 colonnes Waters (10μm) Mixed-B	60	(Dupont and Harrison, 2004; Dupont and Mortha, 2004)
μcristalline, Fibres de coton et Pâte (résineux)			1	0,25 – 1	50-200	3 colonnes PLgel Mixed-B (10μm)	40	(Schult <i>et al.</i> , 2000, 2002)
Fibres de coton			1	1,2	400	PC + 4 colonnes Waters μstyragel (10 ³ -10 ⁴ -10 ⁵ Å) + ultrastyragel (10 ⁶ Å)	80	(Timpa, 1991)
Poudre, Fibres & Whatman	LiCl/DMAc (1% ; m/v)	DMAc	0,5	1	200	PC + 2 colonnes PLgel Mixed-C (5μm) et Mixed-B (10μm)	80	(Strlič <i>et al.</i> , 2002)
	LiCl/DMAc (2% ; m/v)	LiCl/DMAc (0,5% ; m/v)						
	LiCl/DMAc (3% ; m/v)	LiCl/DMAc (1% ; m/v)						
Coton & Régénérée	LiCl/DMAc (5% ; m/v)	LiCl/DMAc (0,5-5% ; m/v)	0,1	0,5	260	1 colonne TSK-gel GMHXL (10μm)	TA	(Hasegawa <i>et al.</i> , 1993)
Pâte	LiCl/DMAc (0,8% ; m/v)		1	1	/	PC + 2 colonnes PLgel Mixed B (10μm)	80	(Tenkanen <i>et al.</i> , 1999)
Fibres & poudre	LiCl/DMAc (1% ; m/v)		0,7	0,5	100	PC + 1 colonne PLgel Mixed-C (5μm)	80	(Strlič <i>et al.</i> , 1998)
Pâte			1	0,5-1	100	3 colonnes Waters μstyragel (10 ⁴ -10 ⁵ Å-10 ⁶ Å)	80	(Westermarck and Gustafsson, 1994)
Coton	LiCl/DMI (0,5% ; m/v)		0,5	0,6	150	PC + 3 colonnes PLgel Mixed-B (10μm)	80	(Rousselle, 2002)
Algale, Bactérienne, Coton, Pâte de bois	LiCl/DMI (1% ; m/v)	LiCl/DMI (1% ; m/v)	0,5	0,5	100	1 colonne Shodex KD-806M	60	(Yanagisawa <i>et al.</i> , 2005)
	LiCl/DMAc (1% ; m/v)							

Différentes méthodes absolue ou relative ont été rapportées afin de déterminer la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés (Tableau 10).

Ces méthodes peuvent différer par la nature des standards utilisés ou des conditions d'analyse pour les méthodes de détermination dite relative par calibration du système de fractionnement ou par les valeurs de constante nécessaire à la détermination absolue des masses molaires comme l'incrément de l'indice de réfraction dn/dc dans le cas de l'utilisation des détecteurs MALS - RI.

Tableau 10 Méthodes SEC pour la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés

Système de solvant	Méthode d'analyse	Détection	Cellulose	Standard	référence
LiCl/DMAc	Relative	RI	Coton	Cellulose	(Hasegawa <i>et al.</i> , 1993)
		UV - RI	Pâte	Pullulane	(Westermarck and Gustafsson, 1994)
		RI	Fibres et Poudre	Pullulane	(Strlič <i>et al.</i> , 1998)
		RI	Coton	Polysaccharide	(Emsley <i>et al.</i> , 2000)
		MALLS - RI	Coton et Pâte	Pullulane	(Sjöholm <i>et al.</i> , 2000b)
		UV - RI	Coton et Pâte	Pullulane	(Sjöholm <i>et al.</i> , 2000a)
		MALLS - RI	Mcristalline, Fibres de coton et Pâte	/	(Schult <i>et al.</i> , 2002)
		RI	Poudre, Fibres et Whatman	Pullulane & Polystyrène	(Strlič <i>et al.</i> , 2002)
LiCl/DMAc	Relative & Absolue	Viscosimètre - RI	Commerciale	Polystyrène	(Striegel and Timpa, 1995)
LiCl/DMI		Viscosimètre - RI	Coton	Polystyrène	(Rousselle, 2002)
LiCl/DMAc	Absolue	MALLS - RI	Whatman	/	(Dupont and Harrison, 2004; Dupont and Mortha, 2004)
LiCl/DMI		MALLS - RI	Algale, Bactérienne, Coton et Pâte	/	(Yanagisawa <i>et al.</i> , 2005)

A ce jour, il n'existe aucun standard de cellulose de masse molaire connue. Des standards non-cellulosiques comme des standards de polystyrène (Silva and Laver, 1997; Striegel and Timpa, 1995; Timpa, 1991) ou des standards de pullulane (Karlsson and Westermarck, 1997; Kennedy *et al.*, 1990; Sjöholm *et al.*, 2000a, 2000b; Strlič *et al.*, 1998) sont couramment utilisés et présentent des structures différentes de la cellulose (Figure 30).

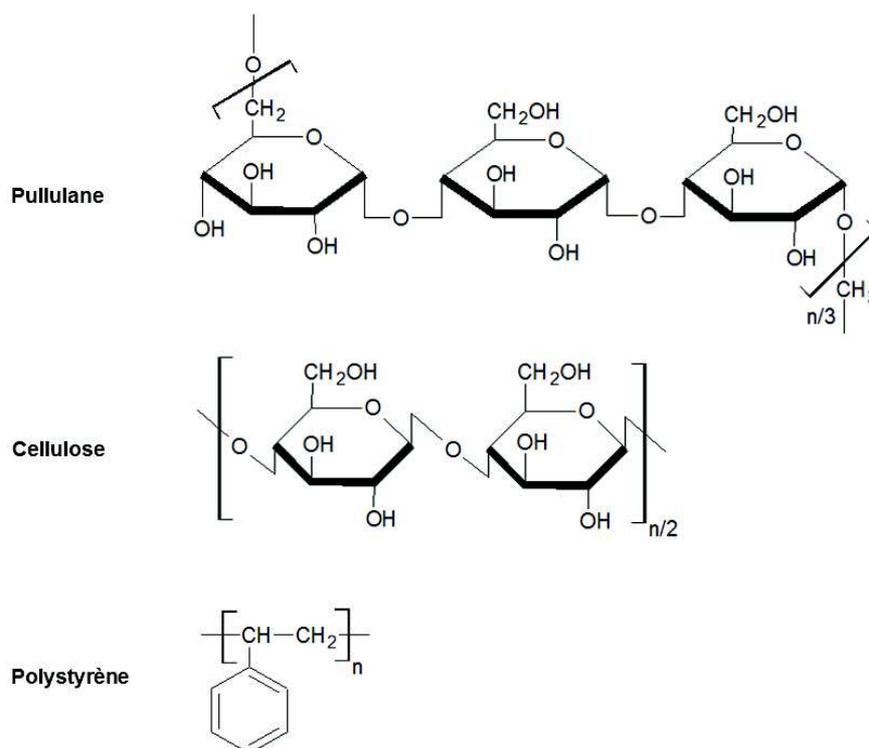


Figure 30 Structure chimique des standards, polystyrène et pullulane, utilisés pour la détermination de distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose

L'hétérogénéité chimique, la conformation et la rigidité du squelette du polymère sont les facteurs qui régissent le volume hydrodynamique des standards en solution. Le squelette carboné de la cellulose présente une rigidité supérieure par rapport aux standards de pullulane et de polystyrène (Bikova and Treimanis, 2002; Silva and Laver, 1997). La cellulose a un volume hydrodynamique plus important que le pullulane ou le polystyrène à masse molaire égale pour des conditions de solubilisations, système de solvant et température, équivalentes (Sjöholm *et al.*, 2000a). Les pullulanes, du fait de leur composition chimique (polymère de glucose), restent les standards privilégiés pour l'analyse de la cellulose. Les distributions de masses molaires ainsi obtenues sont à exprimer en masse molaire équivalente de pullulane (Rahkamo *et al.*, 1998; Silva and Laver, 1997; Sjöholm *et al.*, 2000b, 2000c; Strlič *et al.*, 1998; Westermark and Gustafsson, 1994).

La détermination de distribution de masses molaires absolue dépend de la connaissance et/ou de la mesure de l'incrément d'indice de réfraction dn/dc dans le cas de l'utilisation de détecteurs MALS-RI, variable selon la température et le système de solvant utilisé au cours de l'analyse. Pour l'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés dans un même système de solvant (LiCl/DMAc), différentes valeurs de dn/dc sont rapportées (Tableau 11).

Tableau 11 Valeurs d'indice dn/dc pour la cellulose dans le système LiCl/DMAc (0,5 %, m/v)

dn/dc (mL/g)	Cellulose	Température (°C)	Référence
0,163	Commerciale	/	(Striegel and Timpa, 1995)
0,091	Pâte et Coton	25	(Sjöholm <i>et al.</i> , 2000b)
0,104	Bois et Coton	40	(Schult <i>et al.</i> , 2002)
0,108	Pâte	40	(Berggren <i>et al.</i> , 2003)
0,077	Papier Whatman	60	(Dupont, 2003)

Les échantillons pour déterminer l'indice dn/dc sont les mêmes que les échantillons analysés respectifs. Les différences de valeur s'expliquent par les différences de température expérimentale mais aussi par la grande variabilité des instrumentations utilisées, et notamment les longueurs d'onde du détecteur RI, et de la nature des celluloses analysées.

D'autres phénomènes peuvent expliquer ces différences de valeur : le caractère hygroscopique du solvant (Debzi, 1992) ou de petites variations de la concentration en LiCl dans le système de solvant (Berggren *et al.*, 2003). A concentration en LiCl fixe (90 mg/mL de LiCl dans le DMAc), les valeurs de dn/dc mesurées à 30 °C diffèrent selon les échantillons de cellulose préparés, de masses molaires entre $1,25 \cdot 10^5$ et $7 \cdot 10^5$ g/mol, allant de 0,0403 à 0,0698 mL/g (McCormick *et al.*, 1985). L'hétérogénéité des valeurs dn/dc ne permet pas une homogénéité et une comparaison des résultats.

Enfin, il n'est pas à exclure que le phénomène de désionisation, pouvant survenir au cours de la chromatographie dynamique, n'altère pas les solutions ; et notamment conduire à l'agrégation de chaînes de polymère entre elles, du fait d'une perte de solubilité au cours du fractionnement.

1.3.2.2.6 Critiques des conditions d'analyse actuelles

Les méthodes actuelles développées pour la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques, dérivatisés ou non-dérivatisés, présentent certaines limites. La nature des solvants utilisés et le procédé de dissolution sont deux inconvénients majeurs à cette technique d'analyse.

➤ Propriétés & Toxicité

Dans le cas de la détermination de la DMM d'échantillons cellulose dérivatisés, les solutions préparées avec le cadoxen présentent une viscosité élevée, générant d'importante force de cisaillement, et des perturbations importantes au cours des analyses. (Jayme and Neuschaffer, 1957; Segal and Timpa, 1969).

Le cadoxen, du fait de la présence du composé cadmium, et le THF présente une importante toxicité respective par contact avec la peau ou par inhalation (National Center for Biotechnology Information, 2016). De par leur propriété cancérigène, ces systèmes de solvant sont classés CMR.

Les systèmes de solvant utilisés pour l'analyse SEC d'échantillons de cellulose non-dérivatisés utilisent le *N,N*-Diméthylacétamide (DMAc) ou le 1,3-Diméthyl-2-Imidazolidinone (DMI). Ces deux solvants présentent une forte toxicité. Le DMAc, solvant reconnu CMR (pour Cancérogènes, Mutagènes et Reprotoxique), est très nocif par inhalation et par contact avec la peau (Centers for Disease Control and Prevention, 1994; Committee for Risk Assessment, 2014). Le DMI, bien que considéré non CMR, présente une forte toxicité par contact avec la peau (Maybridge, 2007; TCI Europe, 2012).

➤ Phénomènes parasites

Les conditions de préparation des échantillons à analyser non-appropriées peuvent être la source de modification de la structure hydrodynamique du polymère en solution. Des conditions inadéquates peuvent conduire à la dégradation de l'échantillon, ou à la dissolution partielle de l'échantillon et à la formation d'agrégats, générant respectivement la sous-estimation ou la surestimation de la distribution de masses molaires des analytes.

La dérivatisation des échantillons de cellulose engendre une augmentation massive importante, et notamment les dérivés tricarbonylates (de 162 à 517 Da par UAG), accentuant le phénomène d'exclusion pour les échantillons de plus hautes masses molaires (Wu, 2003) en chromatographie d'exclusion stérique notamment. Des études ont démontré que les pâtes issues de feuillus ont une solubilité limitée dans le cadoxen (Sjöström, 1993; Sjöström and Enström, 1966). L'ajout de NaOH en solution facilite le processus de dissolution mais augmente les phénomènes de dégradation sur les échantillons de celluloses dissous (Achwal and Gupta, 1968; Henley, 1961).

Enfin, la dérivation en milieu hétérogène peut conduire à la dégradation des chaînes de cellulose de faibles masses molaires (Wood *et al.*, 1986), la formation de sous-produit indésirable (Evans *et al.*, 1991a) ou une dépolymérisation des échantillons (Evans *et al.*, 1991b).

La détermination de la DMM d'échantillons celluloses non-dérivatisés peut également être perturbée par des phénomènes limitant la qualité des analyses.

Bien que LiCl/DMAc soit le solvant d'élution et de dissolution référence pour la détermination de distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés, le procédé de préparation peut durer plusieurs jours selon la nature de l'échantillon. Ces temps sont fonction de la cristallinité et/ou de la masse molaire de l'échantillon (Silva and Laver, 1997). Il en est de même pour la dissolution de la cellulose dans le LiCl/DMI pour laquelle 90 jours peuvent être nécessaires pour dissoudre certains échantillons (Rousselle, 2002). La cellulose a une solubilité limitée dans ces systèmes de solvant. Du fait d'une quantité insuffisante en sel (LiCl) dans les solutions de LiCl/DMAc, la dissolution des échantillons celluloses n'est que partielle (Berggren *et al.*, 2003; Potthast *et al.*, 2002a; Sjöholm *et al.*, 2000b). Ce phénomène est dû à une quantité insuffisante en LiCl, pour permettre une dissociation totale des chaînes de cellulose entre elles.

Dans le cas d'échantillons de cellulose de haute masse molaire, il est possible de retrouver ces structures non-dissoutes, gonflées, par conséquent exclues de l'analyse (Morgenstern and Kammer, 1996, 1999; Sjöholm *et al.*, 2000b). Pour des solutions de concentration en sels trop faible, les échantillons de cellulose dissous peuvent précipiter au sein de la phase stationnaire (Striegel and Timpa, 1996a). Au contraire, une concentration trop importante de sel en solution favorise la dissolution des échantillons en solution. L'augmentation de la concentration en sels LiCl en solution améliore la solubilisation de la cellulose, réduisant notamment les temps de dissolution. Cependant, l'excès de sel s'agrège sur les chaînes de cellulose, augmentant le volume hydrodynamique général des chaînes de cellulose dissociées (Berggren, 2001; Sjöholm *et al.*, 1997, 2000a). Ce phénomène d'agrégation des molécules de LiCl sur les chaînes de cellulose se traduit par des phénomènes d'épaulement des pics chromatographiques (McCormick *et al.*, 1985). Enfin, afin d'améliorer le procédé de dissolution, l'application d'un chauffage trop important peut conduire à la dégradation de la cellulose en solution, provoquant une dépolymérisation des échantillons de cellulose (Potthast *et al.*, 2002a, 2002b, 2003; Sundholm and Tahvanainen, 2003).

I.4 CONCLUSION

La détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose est en enjeu majeur pour la compréhension et le développement de nouveaux procédés de valorisation de la cellulose.

La cellulose est un polymère naturel, abondant, renouvelable et biodégradable, présentant une structure complexe. En fonction de son origine, la cellulose présente des propriétés différentes et des hétérogénéités structurales (taux de cristallinité, longueur des chaînes). Sa structure semi-cristalline lui confère une stabilité chimique et thermique, qui limite sa dissolution dans les solvants usuels.

Le recours à des procédés chimiques et des solvants pouvant être toxiques et/ou dégradants pour les échantillons de cellulose est nécessaire. De très nombreux systèmes de solvant ont ainsi été développés et étudiés pour dissoudre les échantillons de cellulose. Par la suite, ces systèmes de solvant ont été appliqués pour le développement de méthodes d'analyse afin de déterminer la distribution de masses molaires d'échantillons celluloses.

En chromatographie d'exclusion stérique, la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons celluloses dérivatisés ou non-dérivatisés nécessite l'utilisation de systèmes de solvants toxiques, contraire au pré-requis de la chimie verte. Plusieurs phénomènes indésirables et parasites ont été rapportés, comme la dissolution incomplète, la formation d'agrégats ou la dégradation des échantillons au cours de la préparation des échantillons à analyser. Ces divers phénomènes sont responsables de la sur-estimation ou sous-estimation de la distribution de masses molaires des échantillons analysés.

De plus, par définition, l'analyse SEC présente certaines limites qu'il est toujours bon d'avoir à l'esprit. En effet, l'exclusion des molécules de plus haut volume hydrodynamique, les forces de cisaillement et les phénomènes d'adsorption sur la phase stationnaire limitent son utilisation pour des échantillons de cellulose de masse molaire importante.

L'AsFFFF, pour sa part, permet la séparation d'échantillons de haute masse molaire (Williams and Caldwell, 2012) en s'affranchissant des contraintes connues de la SEC du fait de l'absence de phase stationnaire. Il n'y a pas ou peu de phénomène d'adsorption sur la membrane comme cela peut être possible avec les systèmes de colonne SEC.

Cette méthode déjà utilisée pour l'analyse d'échantillons de cellulose dérivatisés, apparaît comme une solution et un outil pour la détermination des distributions de masses molaires importantes. Néanmoins, actuellement, l'utilisation de cette méthode n'a jamais été décrite pour la caractérisation d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés. L'analyse d'échantillons non-dérivatisés apparaît difficile du fait de la nature de la membrane d'accumulation, en cellulose régénérée. Comme décrit précédemment, l'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés nécessite l'utilisation de systèmes de solvant capable de solubiliser la cellulose.

Par conséquent, ces systèmes de solvant semblent et doivent être capables de dissoudre, du fait de sa nature, la membrane d'accumulation employée pour ce système de fractionnement. L'utilisation de ce mode d'analyse pour la détermination de distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés nécessite le développement de nouvelles membranes d'accumulation de nature différente, type céramique ou plastique.

Chapitre II

**Etude des modifications structurales
d'échantillons de cellulose non-
dérivatisés après dissolution dans
différents systèmes de solvant**

Chapitre II Etude des modifications structurales d'échantillons de cellulose non- dérivatisés après dissolution dans différents systèmes de solvant

Cette partie décrit les effets de la dissolution dans 4 systèmes de solvant connus comme non-dérivatisants sur 4 échantillons de cellulose différents. Les conditions de dissolution et de régénération varient selon les systèmes de solvant choisis.

L'objectif de cette étude est de comparer les effets de dissolution au travers de 3 systèmes de solvant, plus verts, moins toxiques (DMSO/DEA/SO₂ ; BMIM [Cl] ; TBAF/DMSO) et notamment les modifications structurales post-dissolution avec ceux observés après dissolution dans le LiCl/DMAc. Le but est d'identifier le système de solvant le moins dégradant des échantillons de cellulose afin d'envisager son utilisation comme solvant pour le développement d'une nouvelle méthode SEC, à la place du LiCl/DMAc.

II.1 INTRODUCTION

La technique la plus reconnue pour la détermination des masses molaires moyennes de polymères et surtout de leur distribution en masse molaire (DMM) est la chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Cette technique séparative nécessite la dissolution des échantillons polymériques dans un solvant donné.

Malheureusement, la cellulose est insoluble dans l'eau et la majeure partie des solvants organiques communs dans des conditions conventionnelles. Toutefois, depuis plus de 30 ans, de nombreux systèmes de solvant ont été étudiés pour la dissolution, la décristallisation et/ou la modification de la cellulose. Ces systèmes peuvent être classés en 2 catégories : (i) les solvants dits dérivatisants utilisés pour modifier et/ou affecter la structure physico-chimique des chaînes de cellulose et (ii) les solvants non-dérivatisants connus pour aider à la dissolution sans modifier la structure chimique des chaînes de cellulose.

Dans les deux cas, la conservation de la structure et du degré de polymérisation pendant la dissolution est un des verrous actuels (Medronho and Lindman, 2015). En effet, la cellulose nécessite d'être dissoute afin d'être analysée. Il est extrêmement difficile de connaître précisément la structure à l'état natif de la cellulose, variable selon son origine, notamment la longueur des chaînes, et de comprendre précisément les effets de la dissolution.

Dans l'objectif de réaliser des caractérisations de masses molaires (moyennes et DMM) par SEC, les solvants non dérivatisants sont privilégiés. Ces systèmes de solvant non-dérivatisants sont principalement utilisés en tant que solvants de dissolution d'échantillons cellulosiques. La dissolution a pour but de faciliter la modification chimique de la cellulose, dans des conditions homogènes (pour les applications en pâtes et papiers ou en bioraffinerie notamment).

Ils peuvent être classés en trois catégories (hors fluides super-critiques) :

- Les sels dissous comme le chlorure de lithium/diméthylacétamide (LiCl/DMAc) (Dupont, 2003; Jing *et al.*, 2007; Röder *et al.*, 2001; Striegel, 1997), le fluorure de tétra-*N*-butylammonium/diméthylsulfoxyde (TBAF/DMSO) (Heinze *et al.*, 2000; Östlund *et al.*, 2009), ou encore le diméthylsulfoxyde/diéthylamine/dioxyde de soufre (DMSO/DEA/SO₂) (Isogai *et al.*, 1987) ;

- Les solutions aqueuses comme les systèmes *N*-méthylmorpholine *N*-oxide (NMMO)/H₂O (Dogan and Hilmioğlu, 2009; Rosenau *et al.*, 2003), dithiocyanate de calcium (Ca(SCN)₂)/H₂O (Frey *et al.*, 2006) ou hydroxyde de sodium/urée (NaOH)/urée/H₂O (Chen *et al.*, 2015; Qi *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2010) ;
- Les systèmes de liquide ionique comme le chlorure de butylméthylimidazolium (BMIM [Cl]) (Seoud *et al.*, 2007), l'acétate de butylméthylammonium (BMIM [OAc]) (Silva *et al.*, 2015) et le lévulinate de méthyltripropylammonium (TriC₃ [Lev]) (Boissou *et al.*, 2014).

Dans l'ensemble des travaux précédemment cités, la non-dégradation des chaînes celluloses n'étant pas la priorité, l'influence du procédé de dissolution sur les valeurs des DP et/ou DMM n'a pas été systématiquement étudiée. Or depuis une vingtaine d'années, certaines études spécifiques ont montré que ces solvants non-dérivatisants pouvaient engendrer une altération de la structure des chaînes en termes de cristallinité (I.1.3.3) mais également générer de fortes dégradations de la structure cellulosique suivant les conditions de préparation (concentration, température) (Ahn *et al.*, 2016a; Potthast *et al.*, 2003; Sjöholm *et al.*, 2000b).

Dès lors, il semble intéressant d'étudier spécifiquement l'influence de plusieurs systèmes de solvant sur un panel d'échantillons de cellulose, de taux de cristallinité, d'origine et de degré de polymérisation différents.

Les systèmes sélectionnés sont les suivants : (i) le LiCl/DMAc (ou D/L) principalement utilisé pour la détermination de la DMM par chromatographie d'exclusion stérique (Potthast *et al.*, 2015; Sjöholm *et al.*, 2000b; Striegel and Timpa, 1995) ; (ii) le DMSO/DEA/SO₂ (ou D/S) connu depuis 50 ans pour rendre amorphe la cellulose cristalline, afin d'améliorer les traitements chimiques (Ciolacu *et al.*, 2011) ; (iii) le BMIM [Cl] (ou IL) étudié comme solvant de pré-traitement d'échantillons de cellulose (Iguchi *et al.*, 2013) et enfin (iv) le TBAF/DMSO (ou D/T), utilisé généralement pour la fonctionnalisation de la cellulose (Ramos *et al.*, 2005a, 2005b).

Les effets de la dissolution sont étudiés sur 4 celluloses commerciales différentes par leur taux de cristallinité, leur degré de polymérisation et leur origine : les celluloses Avicel et Fibres de Coton connues pour être des celluloses de faible DP mais de taux de cristallinité élevé et les celluloses Vitacel et α -cellulose connues pour leur DP fort et leur faible taux de cristallinité.

Les conditions de dissolution sont optimisées pour les 16 différents couples (système de solvant/échantillon de cellulose), et suivies par turbimétrie. Afin d'étudier les effets de la dissolution sur la structure cellulosique, les échantillons sont régénérés par l'ajout d'un non-solvant de la cellulose (étape de régénération).

Ces échantillons cellulosiques sont analysés pré- et post- dissolution/régénération par Analyse Thermo-Gravimétrique (ATG), Microscopie Electronique à Balayage (MEB), Diffraction des Rayons-X (DRX), spectroscopie RMN solide et par mesure de viscosimétrie afin d'évaluer les effets dus à la dissolution au travers de ces différents solvants.

Ainsi, l'analyse des modifications structurales, découlant des résultats obtenus au cours de ces dissolutions, permettra de définir le système de solvant le moins dérivatisant de la structure physico-chimique de ces échantillons de cellulose, en vue de son utilisation comme solvant d'analyse pour une étude par SEC de ces échantillons (cf. chapitre III).

II.2 MATERIELS ET METHODES

II.2.1 MATERIELS

Le diméthylsulfoxyde (DMSO, 99,7 %, anhydre), le *N,N*-diméthylacétamide (DMAc, 99,8 % anhydre), la solution d'hydroxyde de bis(éthylènediamine) de cuivre (II) (solution CED, 1 M de cuivre, ratio molaire d'éthylènediamine/cuivre (II) de 2/1), le diéthylamine (DEA, 99,5 %), le trihydrate de fluorure de tétrabutylammonium (TBAF, 97 %), le chlorure de lithium (LiCl, 99 %) et l'éthanol (96 %) sont produits par Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne), l'acétone (99 %) par Carlo Erba Reagent (Molsheim, France), le dioxyde de soufre gazeux (SO₂) par Air Liquide (Toulouse, France) et le chlorure de 1-butyl-3-imidazolium (BMIM [Cl], 98 %) par Solvionic (Toulouse, France).

Les celluloses Avicel (PH-101, Ph Eur, cellulose microcristalline, lot n°BCBK2051V), α -cellulose (poudre, lot n°BCBH3503V) et Fibres de Coton (fibres de coton, fibres moyennes, lot n°MKBQ8042V) ont été fournies par Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne). La cellulose Vitacel (L600/30, Ph Eur, poudre de cellulose, lot n°7120891215 X) a été fournie par JRS Pharma (Rosenberg, Allemagne). Pour chacune de ces celluloses, caractérisées par différents taux de cristallinité (CrI) et degré de polymérisation (DP) (Tableau 14), tous les essais de cette étude ont été réalisés sur le même lot.

II.2.2 METHODES DE DISSOLUTION/REGENERATION

II.2.2.1 Principe général

La dissolution des échantillons de cellulose se divise en 3 étapes (Figure 31) :

- 1- **étape de séchage** : (à 103 °C pendant 2 heures) pour diminuer la teneur en eau, présente dans les fibres de cellulose et pouvant empêcher la dissolution ;
- 2- **étape de gonflement** : pour augmenter le volume des fibres afin d'améliorer la pénétration du solvant sous un léger chauffage (excepté pour le liquide ionique BMIM [Cl]) ;
- 3- **étape de dissolution** : pour solubiliser la cellulose, sous conditions expérimentales spécifiques (Tableau 16) ;

Échantillon de cellulose

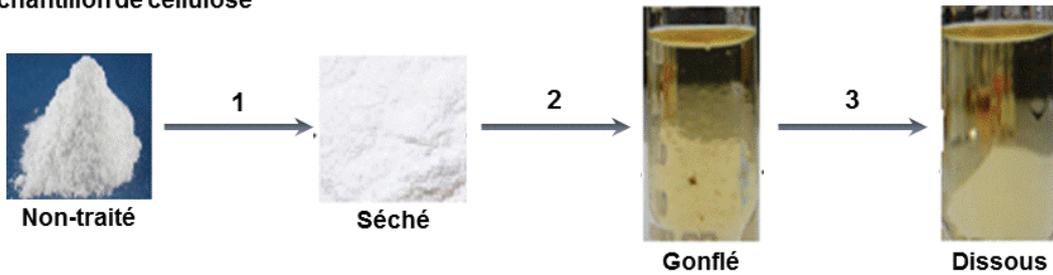


Figure 31 Etapes de dissolution de la cellulose (1) pré-chauffage, (2) gonflement et (3) dissolution

Après dissolution, les échantillons de cellulose sont régénérés selon les 3 étapes suivantes (Figure 32) :

- 4- *étape de régénération* : pour permettre la précipitation un non-solvant de la cellulose est ajouté, à chaud, à la solution de cellulose dissoute;
- 5- *étape de lavage-filtration* (plusieurs fois) : pour éliminer tous les résidus de solvant pouvant subsister entre les fibres de cellulose régénérée, et obtenir les échantillons de cellulose régénérée les plus purs possibles, par l'ajout de non-solvant à chaud et séchage sous air ;
- 6- *étape de post-séchage* : pour éliminer tout résidu de solvant, séchage sous air ;

Échantillon de cellulose

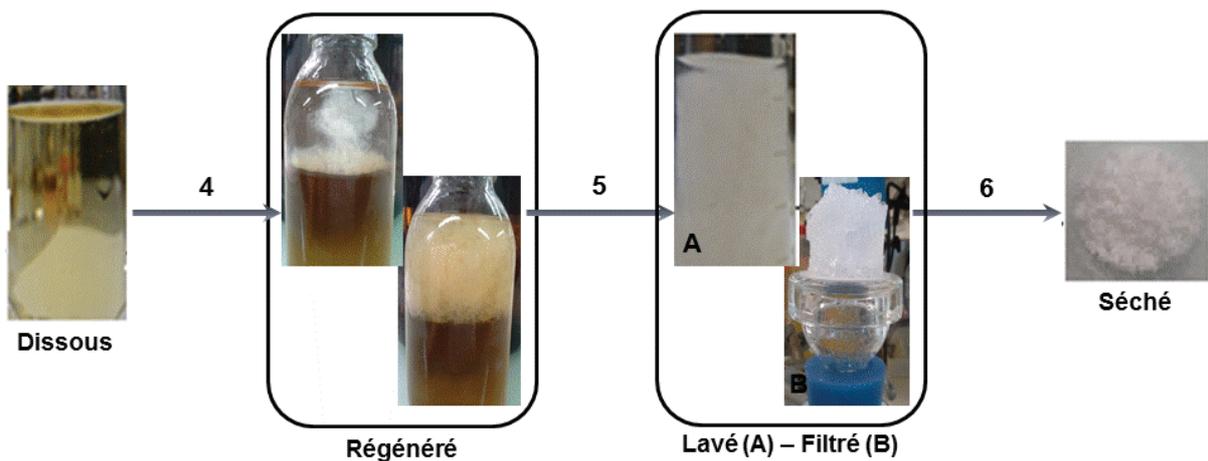


Figure 32 Etapes de régénération de la cellulose (4) régénération, (5) lavage-filtration et (6) post-séchage

II.2.2.2 Conditions de dissolution

Pour chaque système de solvant utilisé, différentes conditions expérimentales sont disponibles dans la littérature et décrites dans le tableau 1.

Tableau 12 Conditions de dissolution d'échantillons de cellulose dans les différents systèmes de solvant

Système de solvant	Cellulose			Conditions expérimentales					référence
	Nature	[]* mg/mL	DP	Gonflement		Dissolution			
				Temps	T (°C)	Temps	T (°C)	[sels] mg/mL	
D/L	Avicel	50	/	2 h	130	/	100 → 25**	100	(Araki <i>et al.</i> , 2006)
	Papier Whatman	10	/	66 h	25	48 h	25 °C	80	(Dupont, 2003)
		8	/	10 min	150	200 h	100 → 25**	70	
D/S	Avicel		183	10 min	60	< 10 s		1,19 SO ₂ + 1,35 DEA	(Ciolacu <i>et al.</i> , 2011, 2012; Isogai and Atalla, 1991; Isogai <i>et al.</i> , 1987)
	Coton	40-120	1 500			< 1 h			
	Pâte		3 078			1 h			
	Algue	12	1800			3 h			
IL	Coton	100	650			2-4 h	110		(Zhang <i>et al.</i> , 2005)
	Pâte	80	1 600			40 min	100-130		
	Avicel	50	280			/	85		
	α-cellulose	120	495						
	Peuplier	70	229			24-240 h	85		
	Pâte	100	1 000	/	100			(Swatloski <i>et al.</i> , 2002)	
D/T	Sisal		574	30 min	30	1 h	60	90-200	(Ramos <i>et al.</i> , 2005a, 2005b)
	coton	170	400						
	Avicel		260-330						
Fibres	30	650-950							

* [] : concentration

** 100 → 25 : ajout du sel (LiCl) à 100 °C. Puis, la réaction est laissée à température ambiante (25 °C)

Aucune de ces conditions expérimentales n'a pas pu être efficace pour dissoudre les quatre échantillons étudiés, pour des raisons de température, de durée et/ou de concentration.

Il est indispensable d'adapter les conditions expérimentales de dissolution à la nature de l'échantillon de cellulose. Pour chaque échantillon de cellulose, 1,0 g en masse sèche de cellulose est solubilisé dans un ballon de 200 mL dans les 4 différents systèmes de solvant.

Nos méthodes de dissolution sont les suivantes :

- Pour le système LiCl/DMAc (**D/L**) : la cellulose est successivement lavée et filtrée avec de l'eau distillée, de l'éthanol et enfin du DMAc pour permettre l'ouverture des fibres de cellulose (*étape de gonflement*). Sous agitation magnétique continue, la cellulose lavée est mélangée avec 100,0 g de DMAc pendant 30 minutes à 150 °C. Après le refroidissement de la solution à 100 °C, 8,0 g de LiCl sont ajoutés et laissés sous agitation à température ambiante pour éviter la dégradation du système {solvant-cellulose}. Le temps de réaction varie selon la nature de l'échantillon de cellulose dissout.
- Pour le système DMSO/DEA/SO₂ (**D/S**) : l'échantillon de cellulose est placé dans 40,0 g de DMSO pendant 2 heures à température ambiante sous agitation magnétique continue pour permettre l'ouverture des fibres (*étape de gonflement*). Pendant ce temps, une solution de DMSO/SO₂ est préparée par barbotage, « bubbling », de SO₂ gaz dans une solution de DMSO (Annexe A : « Bubbling » de SO₂(G) dans le DMSO). A partir de cette solution de DMSO/SO₂ préparée, un volume correspondant à 1,19 g de SO₂ est ajouté au mélange DMSO-cellulose gonflée, suivi par l'ajout de 1,35 g de DEA. Cette solution finale est laissée sous agitation à température ambiante, afin d'éviter l'évaporation de SO₂ en solution. Le temps de réaction varie selon la nature de la cellulose dissoute.
- Pour le système BMIM [Cl] (**IL**) : une solution de 100,0 g de BMIM [Cl] est chauffée à 110 °C sous agitation magnétique continue, pendant 30 minutes, dans laquelle l'échantillon de cellulose est ajouté progressivement sous chauffage continu à 110 °C. Au-dessous de 110 °C, la viscosité du liquide ionique affecte l'efficacité de la dissolution. Au-dessus de cette même température, une forte coloration de la solution cellulosique est observée et indique une dégradation du système {solvant-cellulose}. Pour limiter cet effet non désirable, seul le temps de réaction est modifiable et varie en fonction des échantillons de cellulose dissouts.

- Pour le système TBAF/DMSO (D/T) : l'échantillon de cellulose et 20,0 g de DMSO sont placés sous agitation magnétique continue pendant 2 heures à 60 °C pour l'ouverture des fibres de cellulose (*étape de gonflement*). 70,0 g d'une solution de TBAF/DMSO (11/1 ; m/m) sont ajoutés sous la même agitation pendant 30 minutes. Selon la nature des échantillons de cellulose, la température de réaction varie entre 60 et 100 °C.

Des conditions spécifiques et optimales, notamment en termes de temps et de température de dissolution, ont été déterminées pour chacun des couples {système de solvant-échantillon de cellulose} étudié (Tableau 16). Ces conditions permettent la dissolution des échantillons de cellulose en évitant toute dégradation (Potthast *et al.*, 2002b; Silva *et al.*, 2015) visible par une coloration de la solution cellulosique, illustrée Figure 33.

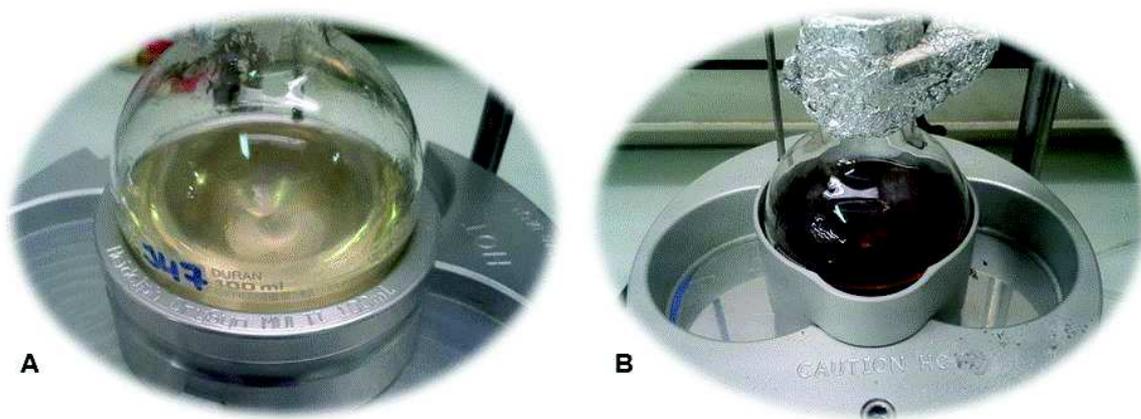


Figure 33 Dissolution de l'échantillon Fibres de Coton dans le solvant IL : (A) dans les conditions optimisées (Tableau 16) et (B) dans les conditions de Zhang *et al.* (2005)

Le processus de dissolution est considéré comme terminé dès lors que les solutions obtenues sont claires et limpides. Cette dissolution, effective, a été suivie et confirmée par des mesures de turbidité (Tableau 17).

II.2.2.3 Conditions de régénération et lavage

Pour l'étape de régénération des échantillons de cellulose dissous, des non-solvants de cellulose, tels que l'eau, l'éthanol ou encore l'acétone sont utilisés (Geng *et al.*, 2014; Sundberg *et al.*, 2013). Les conditions optimales de régénération sont déterminées après microanalyse élémentaire organique en C, H et O (en %) des échantillons régénérés et comparés avec les échantillons non traités.

Différentes méthodes de régénération et de lavage ont été testées afin de définir les conditions optimales pour obtenir les échantillons régénérés les plus purs possibles.

II.2.3 METHODES D'ANALYSE

II.2.3.1 *Microanalyse élémentaire organique*

La microanalyse élémentaire organique permet la détermination d'une ou plusieurs teneurs élémentaires à partir de prélèvements analytiques de l'ordre du milligramme (analyse C, H, N et O). Les microanalyseurs organiques employés pour le dosage C, H, N et O sont conçus et fabriqués par le Service Instrumentation de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA, CNRS, Villeurbanne, France). Les domaines d'analyse varient selon la nature des atomes : carbone C de 0,10 à 100 %, hydrogène H de 0,3 à 16 % et Oxygène O de 0,3 à 60 %. La composition élémentaire massique des macromolécules de cellulose est de 49,4 % en oxygène, 44,4 % en carbone et de 6,2 % en hydrogène (Krässig *et al.*, 2000).

La détermination du Carbone et de l'Hydrogène peut être effectuée sur 2 types d'appareils :

- le microanalyseur C.H.N. : la combustion totale du prélèvement analytique se fait à 1050 °C sous courant d'hélium/oxygène et sous pression. Le carbone et l'hydrogène des échantillons sont respectivement transformés en dioxyde de carbone et en eau. Le dioxyde de carbone et l'eau sont séparés sur une colonne chromatographique et mesurés sur un détecteur à conductibilité thermique (Méthode d'analyses MA-E2-02 & MA-E2-12).
- le microanalyseur C.H. : la combustion totale du prélèvement analytique se fait à 1050 °C sous courant d'oxygène. Le carbone et l'hydrogène des échantillons sont respectivement transformés en dioxyde de carbone et en eau et quantifiés par des détecteurs spécifiques infrarouges CO₂ et H₂O (Méthode d'analyses MA-E2-01 & MA-E2-75).

La détermination de la teneur en oxygène se fait par pyrolyse totale du prélèvement analytique à 1080 °C sous courant d'azote. L'oxygène des composés de pyrolyse obtenu est transformé en monoxyde de carbone par passage sur du charbon actif à 1120 °C. Le monoxyde de carbone est quantifié par un détecteur spécifique infrarouge CO (Méthode d'analyses MA-E2-13). L'estimation des incertitudes de mesure se fait par le passage de substances de référence, mesurées comme des points inconnus. Les écarts entre les valeurs théoriques et ces valeurs de contrôle mesurées ont été quantifiées (Tableau 13).

En fonction des résultats obtenus sur l'ensemble des gammes de mesures, et des analyseurs, des écarts maximums tolérés (EMT) ont été définis et correspondront à l'estimation de la mesure pour chaque élément en fonction des teneurs déterminées.

Tableau 13 Incertitudes de mesure en fonction des teneurs en élément

Elément	Teneur (%) cellulose (Krässig <i>et al.</i> , 2000)	Gamme de mesure (%)	Incertitude de mesure (% absolu)
Carbone	44,4	30 - 75	0,40
Hydrogène	6,2	3 - 15	0,30
Oxygène	49,4	> 40	0,50

Les analyses élémentaires des celluloses natives (α -cellulose, Avicel, Fibres de Coton et Vitacel) non traitées et régénérées sont réalisées suite à leur dissolution/régénération dans les différents systèmes de solvant. La préparation des échantillons à analyser se fait par séchage à l'étuve à 103 °C pendant 24 h suivi d'un passage à l'étuve à vide pendant 36 h à 60-80 °C.

II.2.3.2 Optimisation des conditions de dissolution par suivi turbidimétrique

Les mesures de turbidité ont été réalisées en triplicat pour chacune des solutions de dissolution avec un turbidimètre *nephelometer 2100P 46500-00* (Hach Company, Loveland, CO, USA) se composant d'un détecteur de diffusion de la lumière perpendiculaire au faisceau lumineux. La corrélation entre la lumière transmise et la lumière dispersée/diffusée permet la détermination précise de la présence de particules non-dissoutes, plus grande que la longueur d'onde de la lumière incidente (860 nm) dans une solution.

Les unités de turbidité d'un néphélomètre calibré sont appelées unités de turbidité néphélométriques (ou NTU). L'étalonnage a été effectué entre 1 et 1000 NTU. 20,0 mL des solutions ont été stabilisés 30 minutes aux températures de dissolution optimisées (Tableau 16) avant les mesures.

II.2.3.3 Dégradation thermique par Analyse Thermo-Gravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est effectuée pour caractériser la décomposition thermique des échantillons non traités et régénérés. Les données de stabilité thermique ont été obtenues sur *TGA/DSC SDT Q600 Thermogravimetric Analyzer* (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

La température est augmentée sous air atmosphérique de 25 à 130 °C à une vitesse de chauffage de 10 °C/min, puis jusqu'à 600 °C à une vitesse de chauffage de 5 °C/min. Dans la littérature, deux températures spécifiques sont utilisées pour évaluer la dégradation d'un polymère : la température de début de dégradation (T_0 , °C) et la température de dégradation moyenne (T_m , °C).

T_0 est déterminée par l'intersection entre la tangente au point d'inflexion de la pente principale de dégradation avec la ligne de base de la courbe thermogravimétrique (TG) comme représenté sur la Figure 34. T_m est déterminée comme la température de l'apex de dégradation de la courbe différentielle DTG, ou comme la température correspondant au point d'inflexion sur la courbe TG (Figure 34). Pour chacun des échantillons, T_0 et T_m sont déterminées par le logiciel Mettler Toledo via les courbes TG/DTG, et analysées en duplicat.

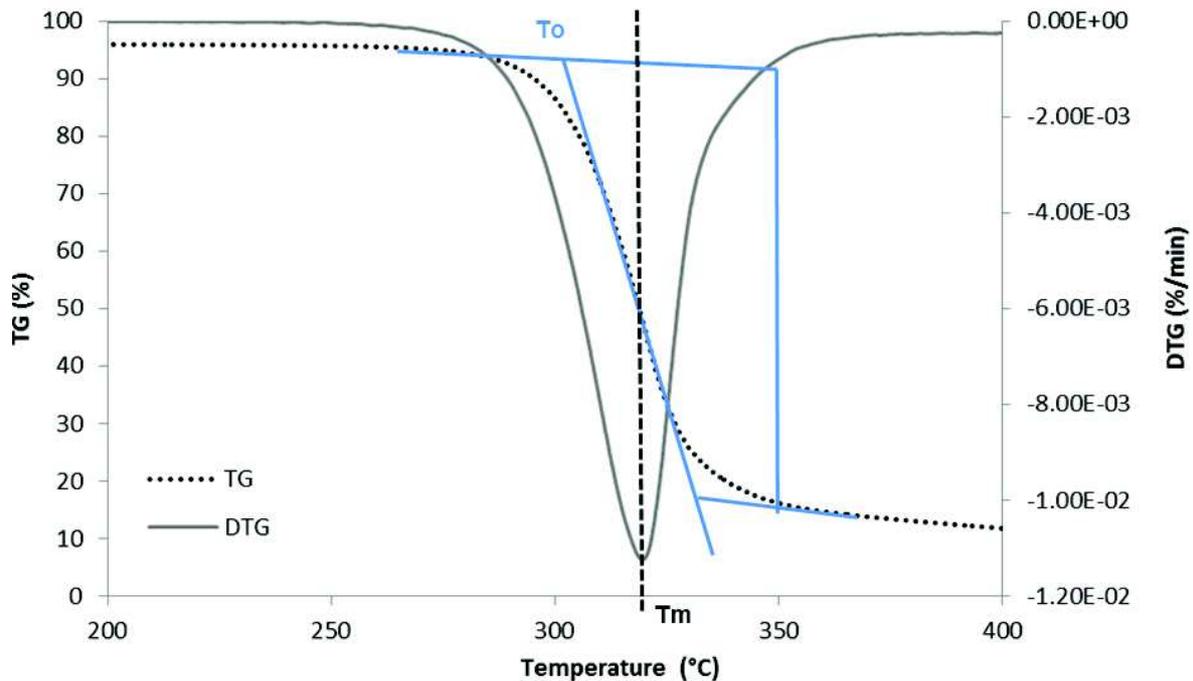


Figure 34 Détermination des températures T_0 et T_m

II.2.3.4 Observation de la structure cellulosique par Microscopie électronique à Balayage (MEB)

Les observations par microscopie électronique à balayage des différents échantillons ont été effectuées avec un *Jeol 6510 LV Scanning Electron Microscope*, sans prétraitement. Seules les observations x200 sont présentées dans les conditions suivantes : observation directe ; BEC ; WD : 9-10 mm ; SS60 ; 68-70 PA.

II.2.3.5 Indice de cristallinité (CrI) par diffraction par Rayons-X (DRX)

La diffraction par rayons-X est réalisée par un diffractomètre *Bruker D8 Advance Powder X-ray Diffractometer* (Bruker, Allemagne) basé sur des radiations $\text{CuK}\alpha$. Les analyses des échantillons de cellulose ont été faites dans un intervalle d'angle de 5° à 40° (2θ) et un pas d'analyse de $0,02^\circ/15$ secondes.

Certaines méthodes d'analyse DRX existent dans la littérature pour déterminer le taux de cristallinité (Park *et al.*, 2010). En accord avec leurs conclusions, la méthode de déconvolution pour la détermination de l'indice de cristallinité (CrI) a été privilégiée à la méthode de détermination par hauteur de pic, plus ancienne, plus simpliste et qui ne tient pas compte des différences observables entre les diffractogrammes des celluloses I et II (Cao and Tan, 2005; Oh *et al.*, 2005).

Cette méthode de déconvolution est réalisée par le logiciel Topas (Bruker, Allemagne). Pour les celluloses non traitées et après soustraction du bruit de fond analytique (enregistré séparément), les diffractogrammes DRX sont déconvolués en différents pics cristallins Gaussiens (à 15° , 16° , 21° , 22° et 35° , 2θ) et un pic amorphe Gaussien, large, centré autour de 20 et 22° (2θ) comme décrit par Nam *et al.*, 2016. L'indice de cristallinité CrI est obtenu par division de la somme des surfaces des pics cristallins avec la somme de toutes les surfaces de pics.

II.2.3.6 Indice de cristallinité (CrI) par Spectroscopie RMN ^{13}C solide

Les spectres RMN ^{13}C obtenus par polarisation croisée ont été enregistrés sous « Magic-Angle Spinning » (MAS) sur un spectromètre *Bruker Advance III 300* à une fréquence de Larmor de 300 MHz.

Une sonde commerciale à double résonance supportant des rotors MAS de diamètre externe 7 mm a été utilisée à une fréquence de rotation de 5 kHz. Les spectres RMN ^{13}C CP-MAS sont enregistrés avec un temps de contact de 2 ms, 1 s comme temps de relaxation et 5 120 scans d'analyse. Les impulsions ^1H et ^{13}C ont été étalonnées avec de la glycine. L'échelle de déplacement chimique ^{13}C est calibrée en utilisant le signal le plus intense de cellulose à 76 ppm (Mangiante *et al.*, 2013).

II.2.3.7 Détermination des DP cellulosiques par viscosimétrie

Afin d'évaluer la modification structurale des échantillons au cours de la dissolution/régénération, des mesures de viscosimétrie intrinsèque des échantillons de cellulose non-traités et régénérés préparés dans une solution de CED ont été réalisées selon la norme ASTM D-1795 (2013) et leur degré de polymérisation moyen viscosimétrique (DP_v) a été déterminé. Les mesures ont été effectuées avec un viscosimètre *150 Cannon-Fenske* (Cannon Instrument Company, State College, PA, USA).

Dans un récipient de 50,0 mL, une masse suffisante (200-300 mg) de l'échantillon de cellulose est mélangée à 25,0 mL d'eau distillée sous agitation 24 heures à température ambiante. Lorsque les fibres de cellulose semblent totalement gonflées, 25,0 mL d'une solution de CED sont ajoutés. La solution alors obtenue est agitée pendant 24 heures à température ambiante. Après dissolution complète, 10,0 mL de la solution sont analysés grâce au viscosimètre. Toutes les mesures ont été effectuées manuellement à l'aide d'un chronomètre et sous observation visuelle directe. Chaque mesure a été faite 4 fois, correspondant à 2 dissolutions et 2 mesures pour chacune d'elles.

II.2.3.8 Analyses statistiques

La turbidité, la température T_0 et les mesures de DP_v pour chaque échantillon de cellulose ont été mesurés 2 à 3 fois successivement. Les valeurs rapportées sont la moyenne des multiples analyses avec la valeur d'erreur moyenne correspondante. Les résultats obtenus ont été traités par le logiciel de statistique *Minitab Release 17* et analysés par *One way ANOVA* avec un coefficient de confiance de 0,95 et un modèle de comparaisons multiples moyennes Tukey-Kramer. Les résultats rapportés dans les différents tableaux ne présentant pas la même lettre en exposant sont considérés significativement différents.

II.3 RESULTATS ET DISCUSSION

II.3.1 CARACTERISATION DES ECHANTILLONS DE CELLULOSE COMMERCIAUX

II.3.1.1 Détermination des valeurs CrI et DP_v

Les CrI et DP_v des échantillons commerciaux ont été évalués par la méthode de déconvolution DRX et la norme ASTM D-1795 respectivement. Les résultats sont résumés dans le Tableau 14 et comparés aux données des fournisseurs.

Tableau 14 Caractérisation des indices de cristallinité (CrI) et des degrés de polymérisation (DP et DP_v) des échantillons de cellulose - comparaison entre les données fournisseurs et expérimentales

Cellulose	Données fournisseur			Données expérimentales	
	Gamme CrI (%)	Gamme DP	Valeur DP (lot)	CrI (%)	DP _v
Avicel	70-90	150-350	217	78	226±9
Fibres de Coton	60-80	190-250	Nc	64	271±7
Vitacel	40-60	440-2250	1079	42	1072±27
α-cellulose	50-70	700-1200	Nc	50	1209±38

Les valeurs de DP_v obtenues pour les échantillons commerciaux sont en conformité avec les valeurs données par les fournisseurs, confirmant ainsi la pertinence de la méthode de mesure. Les valeurs de CrI obtenues sont également proches des données des fournisseurs et similaires aux valeurs rapportées dans la littérature (Vaca-Medina *et al.*, 2013).

Au vu des valeurs de DP_v obtenues, les celluloses Avicel et Fibres de Coton sont par la suite considérées comme des échantillons cellulosiques de faible masse molaire, à l'opposé des celluloses α-cellulose et Vitacel de masse molaire supérieure. D'après les valeurs CrI obtenues, la cellulose Vitacel est l'échantillon le plus amorphe (CrI de 42 %) à l'inverse de l'échantillon Avicel le plus cristallin (CrI de 78 %).

II.3.1.2 Détermination des teneurs C, H et O des échantillons cellulosiques

Les microranalyses élémentaires organiques des celluloses natives non traitées (α-cellulose, Avicel, Fibres de Coton et Vitacel) sont rapportées dans le Tableau 15.

Il est normal que la somme des pourcentages %C, %O et %H ne soit pas égal à 100 %. En effet, il ne s'agit pas d'une répartition de ces éléments au travers d'un échantillon mais bel et bien d'une mesure différente, dissociée et non dépendante d'un atome à un autre.

Tableau 15 Mesures des teneurs (%) en C, H et O des différents échantillons de cellulose commerciaux

Eléments	Teneur (%) échantillons cellulosiques				
	Théorique ^a	α -cellulose	Avicel	Fibres de Coton	Vitacel
Carbone C	44,44	43,68	43,52	43,04	43,73
Hydrogène H	6,22	6,41	6,53	6,59	6,50
Oxygène O	49,34	49,90	50,91	50,61	50,67

^a teneurs théoriques déterminées par calcul

Les teneurs théoriques sont déterminées pour un échantillon de cellulose homogène, parfait et anhydre, soit Cell-OH ($C_6H_{10}O_5$) de masse molaire 162,14 g/mol. La comparaison des teneurs mesurées avec celles théoriques calculées, permet d'identifier que les teneurs mesurées, et ce quelle que soit la nature de l'échantillon de cellulose, sont légèrement différentes de celles attendues théoriquement. La cellulose contient entre 5 et 8 % massique en ses fibres (Krässig *et al.*, 2000). La quantité d'eau au cœur de la structure de nos échantillons de cellulose est de l'ordre de 3 % (Annexe B : Teneurs moyennes en C, H et O, selon la teneur en eau). Comme décrit dans la littérature (Zeronian *et al.*, 1983), de petites variations de ce comportement hygroscopique sont visibles (différences de teneur en eau) selon la nature et par conséquent selon la structure fibrillaire des différents échantillons.

II.3.2 PROCÉDES DE DISSOLUTION

La pénétration du solvant dans les fibres de cellulose dépend directement de la nature et de la polarité du solvant. La plupart des solvants connus de la cellulose ont la capacité de dissoudre la cellulose en cassant le réseau de liaisons hydrogène. Ils pénètrent dans le réseau cristallin pour dissocier les chaînes de cellulose. Néanmoins, la majorité de ces systèmes dégradent ou modifient fortement la structure des échantillons de cellulose (cristallinité et/ou masse molaire) dissous (Cao *et al.*, 2010; Emmel *et al.*, 2003).

Pour chaque solvant, les conditions expérimentales (résumées dans le Tableau 16) ont été optimisées afin d'avoir les conditions les plus douces possibles (en termes de température et de durée), impliquant de légères différences d'un échantillon à l'autre.

Tableau 16 Conditions expérimentales de dissolution : temps (t) et température (T) optimisés, pour chacun des couples {système de solvant-échantillon de cellulose}

Cellulose	Conditions expérimentales	D/L	D/S	IL	D/T
Avicel	t (h)	24,0	0,3	3,0	0,5
	T (°C)	25	25	110	60
Fibres de Coton	t (h)	24,0	0,3	0,5	0,5
	T (°C)	25	25	110	60
Vitacel	t (h)	24,0	4,0	0,5	0,5
	T (°C)	25	25	110	90
α -cellulose	t (h)	48,0	1,0	4,0	0,5
	T (°C)	25	25	110	100

Dans tous les cas, la dissolution a été considérée comme complète lorsque les solutions étaient limpides. Des mesures de turbidité ont par la suite été réalisées pour confirmer la dissolution (Tableau 17).

Pour tous les échantillons, la différence entre les valeurs de turbidité des solutions et celle du solvant pur est inférieure à 50 NTU, ce qui permet de valider la dissolution des chaînes cellulosiques dans les systèmes de solvant considérés (Mazza *et al.*, 2008).

Tableau 17 Valeurs de turbidité (en NTU) des systèmes de solvant purs et des solutions de cellulose

Solutions	Système de solvant			
	D/L	D/S	IL	D/T
Système de solvant pur	13,67 ^a ±0,31	1,23 ^a ±0,06	0,70 ^a ±0,00	13,20 ^a ±0,27
Avicel	15,40 ^a ±0,10	30,77 ^b ±2,48	1,80 ^a ±0,10	11,43 ^a ±0,15
Fibres de Coton	17,03 ^a ±0,15	2,27 ^a ±0,06	2,30 ^b ±0,44	9,56 ^b ±0,06
Vitacel	23,40 ^b ±0,10	0,60 ^a ±0,00	2,47 ^b ±0,23	13,67 ^a ±0,06
α -cellulose	46,33 ^c ±6,15	40,10 ^c ±0,36	3,30 ^c ±1,08	7,03 ^c ±0,15

^{a-c} les différences de lettre dans une même colonne indique une différence statistique entre les valeurs moyennes (P < 0,05)

Avec les systèmes de solvant D/S et D/L, la température de dissolution a été fixée à 25°C, afin d'éviter l'évaporation de SO₂ gazeux (Li *et al.*, 2002) ainsi que la dégradation éventuelle de la cellulose en solution (Potthast *et al.*, 2002b, 2003).

Inversement, dans le cas du BMIM [Cl] (IL), une température plus élevée est nécessaire afin de diminuer la viscosité du solvant et de faciliter la dissolution des échantillons cellulosiques. Néanmoins, lors des expérimentations, une coloration brune de la solution cellulosique a été observée pour des températures supérieures à 110 °C, suggérant une certaine dégradation des macromolécules. Par conséquent, la température optimale a été fixée à 110 °C.

Pour le système de solvant D/T, le temps de dissolution n'apparaît pas comme limitant et a été fixé à 30 minutes. La température a été adaptée pour chaque échantillon de cellulose et est comprise entre de 60 à 100 °C.

Toutefois, certaines différences ont pu être observées, en fonction de la masse molaire et du taux de cristallinité des échantillons de cellulose. Parmi les échantillons de faible masse molaire, les Fibres de Coton sont facilement dissoutes dans les 4 systèmes de solvants, avec les conditions les plus douces (Tableau 16). L'échantillon Avicel est également dissous par tous les solvants, mais la valeur de turbidité dans D/S est 30 fois plus élevée que la valeur du système solvant pur (Tableau 17). Cette différence peut s'expliquer par la cristallinité plus élevée d'Avicel par rapport aux Fibres de Coton (Tableau 14), qui serait un obstacle à sa dissolution, même si ce solvant est reconnu pour solubiliser les chaînes cellulosiques, notamment dans des travaux traitant de l'amorphisation de la cellulose (Ciolacu *et al.*, 2012; Isogai *et al.*, 1987).

Les échantillons de masse molaire élevée sont correctement dissous dans les systèmes de solvant IL et D/T comme le confirment les valeurs de turbidité observées. Dans le système de solvant D/L, les mesures de turbidité (Tableau 17) démontrent une influence significative de la longueur de la chaîne cellulosique, suggérant une bonne dissolution des celluloses de faible masse molaire (Avicel et Fibres de Coton) et seulement un « gonflement » des celluloses de masse molaire plus élevée (α -cellulose et Vitacel), même si des solutions claires ont été observées pour tous les échantillons cellulosiques dissous. Des solutions limpides malgré une dissolution incomplète ont également été observées dans le cas de certains amidons riches en amylose dans le DMSO (Schmitz *et al.*, 2009). Cette dissolution difficile a également été observée pour la lignocellulose dans ce système D/L (Kotelnikova *et al.*, 2015).

En conclusion, les systèmes de solvant D/T et IL semblent être les systèmes les plus appropriés pour dissoudre correctement les 4 échantillons de cellulose. Cependant, le système IL nécessite une température beaucoup plus élevée, et des temps de dissolution plus longs pour les échantillons ayant un CrI élevé.

II.3.3 PROCÉDES DE REGENERATION

Afin d'étudier l'influence des procédés de dissolution sur les échantillons étudiés, il est essentiel de s'assurer de l'élimination de toute trace de solvant, d'où l'importance du procédé de régénération. Ce procédé est en fait constitué d'une première étape de précipitation des macromolécules par introduction d'un non-solvant dans les solutions d'échantillons celluloses, puis d'étapes de lavage.

Trois procédés de précipitation ont été envisagés : soxhlet, ultrasons et agitation magnétique, afin de choisir celui qui permettrait d'obtenir les échantillons les plus purs (sans solvant résiduel). Des microanalyses élémentaires ont été réalisées sur les échantillons d' α -cellulose régénérés dans 100 mL d'eau comme non-solvant (Ding *et al.*, 2012) par ces trois différentes méthodes (Tableau 18).

Tableau 18 Microanalyses élémentaires de l' α -cellulose après dissolution dans le système D/T selon la méthode de régénération

Non solvant	Eléments	Teneurs (%)					
Eau	C	43,46	55,76	42,61	33,68	43,68	
	H	7,22	11,33	6,62	8,53		6,41
	O	40,87	26,77	49,32	38,29		49,90
Conditions	Température (°C)	100	70	70	25	α -cellulose non traitée	
	Durée (h)	6	6	1	1		
	Régénération	Soxhlet	Ultrasons	Agitation magnétique	Agitation magnétique		

Ces analyses démontrent de grandes différences en termes d'efficacité de régénération au regard des valeurs obtenues et comparées aux valeurs de l' α -cellulose non-traitée.

Une température relativement élevée favorise le phénomène de diffusion et semble essentielle pour permettre la bonne miscibilité entre solvant et non-solvant, comme le confirment les résultats obtenus dans le cas de l'agitation magnétique. Une température élevée augmente l'efficacité du procédé de régénération.

Par ultrasons et à 70 °C, toutes les teneurs sont très éloignées des valeurs de l'échantillon non-traité : +12 % pour C, +5 % pour H et -25 % pour O. Ces différences peuvent s'expliquer par un éventuel emprisonnement du solvant dans les fibres de cellulose au cours de la précipitation. Chaque complexe de TBAF/DMSO résiduel apporte une unité DMSO (C₂H₆OS) et une unité TBAF (C₁₆H₃₆NF) comme illustré Figure 17 (I.2.3.5.2).

La persistance de ces composés après régénération justifierait l'augmentation importante des teneurs en C et H relativement à la diminution de la teneur en O.

Par soxhlet, les valeurs de %C et %H sont proches de celles de l'α-cellulose non traitée. Cependant une diminution de plus de 10 % des valeurs de %O est observable, ce qui laisse supposer que le solvant n'a pas été totalement éliminé.

Au contraire, l'agitation magnétique à 70 °C permet d'éliminer efficacement le solvant comme le démontrent les teneurs moyennes élémentaires avant et après régénération. Ce mode de précipitation est donc celui sélectionné pour la suite de l'étude.

Après 1 heure sous agitation magnétique à chaud, les solutions sont filtrées afin de récupérer les échantillons régénérés, après quoi 100,0 mL de non-solvant sont ajoutés pour le lavage de ces échantillons régénérés.

Quatre *étapes de lavage-filtration* successives, chacune d'une heure, sont nécessaires afin d'obtenir des celluloses régénérées les plus blanches et pures possibles. Ces conditions de régénération et de lavages ont été optimisées, en termes de température et de solvant de lavage et sont résumées dans le Tableau 19.

Tableau 19 Conditions expérimentales de régénération et de lavages successifs (L.i) des échantillons de cellulose selon les systèmes de dissolution : nature des non-solvants (ns) et température (T) optimisées

Etape	Conditions	D/L	D/S	IL	D/T
Régénération	ns T (°C)	eau 70	éthanol 50	eau 80	eau 70
L.1	ns T (°C)	70	eau/éthanol (1/1 ; v/v) 50 75		70
L.2	ns T (°C)	60	éthanol 50 60		60
L.3	ns T (°C)	70	éthanol/acétone (1/1 ; v/v) 50 50		50
L.4	ns T (°C)	25	acétone 25 25		25

Les conditions de régénération et de lavages varient selon la nature du système de solvant utilisée pour la dissolution des échantillons. Les échantillons de cellulose régénérés sont séchés sous hotte et à température ambiante jusqu'à obtenir une masse d'échantillon stable. Il faut noter que l'étape de régénération est effectuée avec l'eau comme non-solvant, excepté pour le système D/S avec lequel l'éthanol est le non-solvant privilégié (Ciolacu *et al.*, 2011; Isogai and Atalla, 1991).

Suite au procédé de régénération, la présence de solvant résiduel dans les échantillons régénérés peut causer d'importantes variations des teneurs élémentaires C, H, O du fait de la persistance de molécules issues des différents systèmes de solvant comme : (i) DMAc (C_4H_9NO) et LiCl pour D/L, (ii) DMSO (C_2H_6OS) et TBAF ($C_{16}H_{36}NF$) pour D/T, (iii) BMIM [Cl] ($C_8H_{15}N_2Cl$) pour IL, et (iv) DMSO (C_2H_6OS) et DEA ($C_4H_{11}N$) pour D/S. La présence de ces différentes molécules au sein des échantillons régénérés et lavés est détectée par la modification significative des teneurs des éléments. Les microanalyses élémentaires ont été faites et présentées dans le Tableau 20 suivant, afin de s'assurer de la pureté de l'ensemble des échantillons dissous.

Tableau 20 Teneurs (%) des différents échantillons cellulose après dissolution dans les différents systèmes de solvant puis régénérés par agitation magnétique à chaud – comparaison avec les teneurs des échantillons respectifs non-traités

Cellulose	Eléments	Teneur (%) des échantillons cellulose				
		Non-traité	D/L	D/T	IL	D/S
α-cellulose	Carbone C	43,68	41,90	39,81	43,25	43,17
	Hydrogène H	6,41	6,42	6,26	6,38	6,29
	Oxygène O	49,90	50,95	52,59	50,35	50,27
Avicel	Carbone C	43,52	43,32	42,79	42,53	42,98
	Hydrogène H	6,53	6,62	6,64	6,51	6,53
	Oxygène O	50,91	51,20	51,49	51,36	51,18
Fibres de Coton	Carbone C	43,04	43,33	43,29	42,78	42,94
	Hydrogène H	6,59	6,68	6,58	6,46	6,49
	Oxygène O	50,61	51,15	51,37	51,37	51,29
Vitacel	Carbone C	43,73	43,08	43,40	42,96	43,08
	Hydrogène H	6,50	6,45	6,60	6,49	6,39
	Oxygène O	50,67	50,87	51,21	50,36	50,68

Les pourcentages des différents éléments C, H, O pour les échantillons régénérés sont similaires aux valeurs des échantillons non-traités respectifs. Il n'y a aucune variation significative pouvant résulter de la présence de solvant résiduel, comme illustré dans le Tableau 18, au sein des celluloses suite au procédé de régénération.

Toutefois, de légères variations sont observables selon la nature des échantillons. C'est notamment le cas pour l' α -cellulose, qui suite à sa dissolution dans les systèmes D/L et D/T présente des teneurs différentes. Cette variation peut s'expliquer par la présence d'eau, plus importante, dans ces échantillons régénérés (Annexe B : Teneurs moyennes en C, H et O, selon la teneur en eau). L'ensemble des analyses confirme la récupération d'échantillons de cellulose régénérés dits « propres » suite à leur dissolution-régénération.

II.3.4 MODIFICATIONS DE LA STRUCTURE CELLULOSIQUE

II.3.4.1 Stabilité thermique

Dans la littérature, l'ATG a permis de mettre en évidence 3 étapes au cours du processus de décomposition de la cellulose (Kaloustian *et al.*, 2003) :

- La faible perte en masse (jusqu'à 6-8 %) observée pour les basses températures (< 140 °C), correspond à l'évaporation de l'eau adsorbée naturellement par les chaînes de cellulose (Fort *et al.*, 2007),
- La zone de dégradation thermique de la cellulose, ou zone de pyrolyse active, débute pour une température de début de dégradation, T_0 , de 250 °C et finit à 400 °C (Cozzani *et al.*, 1997; Grønli *et al.*, 2002; Randriamanantena *et al.*, 2009). Selon la nature de la cellulose, la température T_0 varie, entre 250 et 300 °C pour le coton (Calahorra *et al.*, 1989; Kaur *et al.*, 1987) et entre 300 et 350 °C pour les échantillons de cellulose (Carrier *et al.*, 2011; Ramiah, 1970; Yang *et al.*, 2007). Cette plage de température est identifiée comme le début de la décomposition de la cellulose (Kaloustian *et al.*, 1997), au cours de laquelle des réarrangements chimiques (formation de groupements carbonyles ou carboxyles) mais aussi de possibles dégradations structurales (libération de gaz CO₂ ou CO, clivage par transglycosylation ou formation de lévoglucosane) peuvent survenir (Kaur *et al.*, 1987; Shafizadeh, 1982).

- Enfin, la dégradation totale par calcination du squelette carboné est observée pour des températures comprises entre 380-500 °C (Albano *et al.*, 1999; Paul *et al.*, 2010; Soares *et al.*, 1995).

La stabilité thermique des échantillons, non-traités et régénérés, a été caractérisée par la détermination de T_o et T_m , comme définie précédemment, afin d'évaluer les modifications de la structure des chaînes de cellulose suite aux procédés de dissolution/régénération.

Cette technique a déjà été utilisée afin de mettre en évidence l'effet de la dissolution de la cellulose dans le système de solvant BMIM [Cl] (Han *et al.*, 2013).

Les valeurs de T_o des échantillons dissous dans les 4 systèmes de solvant sont présentées dans le Tableau 21 et comparées aux valeurs des échantillons non traités.

Tableau 21 Température T_o (°C) des échantillons de cellulose non-traités et régénérés après dissolution dans les différents systèmes de solvant

Cellulose	Non-traitée	Régénérée (système de solvant)			
		D/L	D/S	IL	D/T
Avicel	301,5 ^a ±3,2	260,3 ^c ±3,5	247,8 ^d ±0,3	271,5 ^b ±0,8	321,2 ^a ±0,2
Fibres de Coton	312,3 ^a ±1,5	261,2 ^b ±0,8	295,2 ^a ±5,9	295,9 ^a ±0,9	313,5 ^a ±9,3
Vitacel	304,4 ^a ±1,2	283,6 ^b ±4,5	274,7 ^b ±6,7	262,0 ^c ±1,4	306,9 ^a ±5,8
α -cellulose	311,7 ^a ±3,0	233,5 ^d ±1,8	276,4 ^b ±3,7	262,1 ^c ±1,1	306,2 ^a ±2,8

^{a-c} les différences de lettre dans une même ligne indique une différence statistique entre les valeurs moyennes ($P < 0,05$)

Toutes les températures T_o déterminées, quel que soit le couple cellulose/système de solvant, sont comprises entre 260 et 321 °C démontrant le maintien de la structure cellulosique, à l'exception des couples { α -cellulose_D/L} et {Avicel_D/S}, respectivement 233,5 °C et 247,8 °C, indiquant la non-conservation de la structure cellulosique.

Afin d'évaluer les modifications structurelles subies par les échantillons suite à leur dissolution/régénération, les valeurs de T_m des échantillons dissous dans les 4 systèmes de solvant sont présentées dans le Tableau 22 et comparées aux valeurs des échantillons non traités. Comme avec les valeurs T_o , la dissolution des échantillons de cellulose par ces systèmes de solvant, à l'exception du système de solvant D/T, provoque des modifications structurelles en comparaison des structures originelles non-traitées.

Tableau 22 Température T_m (°C) des échantillons de cellulose non-traités et régénérés après dissolution dans les différents systèmes de solvant

Cellulose	Non-traitée	Régénérée (système de solvant)			
		D/L	D/S	IL	D/T
Avicel	317,9 ^a ±2,2	277,5 ^c ±2,7	262,1 ^d ±0,4	284,2 ^c ±0,9	332,8 ^a ±0,5
Fibres de Coton	329,7 ^a ±1,4	274,0 ^b ±0,7	301,4 ^a ±2,2	313,8 ^a ±0,8	334,0 ^a ±5,4
Vitacel	324,8 ^a ±1,1	304,1 ^a ±4,3	282,8 ^b ±3,7	277,6 ^c ±1,4	330,8 ^a ±4,1
α-cellulose	329,6 ^a ±2,1	246,1 ^d ±1,4	298,7 ^b ±1,8	277,3 ^c ±1,2	324,5 ^a ±2,4

^{a-c} les différences de lettre dans une même ligne indique une différence statistique entre les valeurs moyennes (P < 0,05)

En effet, des températures de dégradation T_m proches de 280 °C, température de dégradation de la cellulose amorphe, dénotent d'une amorphisation de la structure cristalline d'origine, alors qu'une température de dégradation proche de 250 °C (dégradation de l'unité cellobiose) ou 215 °C (dégradation de l'unité D-glucose) démontre une dégradation de la structure des chaînes de cellulose (Serapiglia *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2013). La diminution de la température T_m peut indiquer une modification de la cristallinité de l'échantillon et/ou une diminution de la masse molaire de l'échantillon (Calahorra *et al.*, 1989; Chen *et al.*, 2012; Emmel *et al.*, 2003).

Avec le système de solvant D/L, les valeurs T_m entre les échantillons non-traités (324,8 °C) et ceux régénérés (304,1 °C) ne présentent pas de différence significative pour l'échantillon Vitacel. Une diminution significative de T_m a été observée pour tous les autres échantillons. Toutes les valeurs T_m, à l'exception de Vitacel, sont inférieures à 280 °C (température de la cellulose amorphe), indiquant une dégradation de la structure cristalline de la cellulose mais le maintien de la structure cellulosique au cours du procédé de dissolution/régénération. Dans le cas de l'échantillon α-cellulose, T_m (246,1 °C) diminue de près de 25 % par rapport à la valeur non traitée. Cette valeur est proche de la valeur de dégradation de la cellobiose (250 °C) démontrant une forte dégradation non seulement de la structure cristalline mais également de la structure macromoléculaire.

Avec le système de solvant D/S, les valeurs T_m entre les échantillons non traités (329,7 °C et 329,6 °C) et ceux régénérés (301,4 °C et 298,7 °C) ne présentent pas de différence significative pour les échantillons Fibres de Coton et α-cellulose respectivement. Concernant, l'échantillon Vitacel, les températures T_m (282,8 °C) sont très proches de T_m de la cellulose amorphe (280 °C) démontrant l'amorphisation de l'échantillon post dissolution/régénération.

Enfin, pour l'échantillon Avicel, échantillon de cellulose de plus forte cristallinité, la température T_m de 262,1 °C est comprise entre la température de dégradation de la cellulose amorphe (280 °C) et de l'unité cellobiose (250 °C) indiquant d'une dégradation à la fois de la structure cristalline mais aussi de la structure cellulosique.

Avec le système de solvant IL, les valeurs T_m entre les échantillons non-traités (329,7 °C) et ceux régénérés (313,8 °C) ne présentent pas de différence significative pour l'échantillon Fibres de Coton. Tous les autres échantillons régénérés présentent des valeurs T_m comprises entre 277,3 °C et 284,2 °C, qui sont des valeurs voisines de la température de dégradation de la cellulose amorphe. Cette diminution significative des valeurs de T_m par rapport aux valeurs des échantillons non traités (toutes supérieures à 300°C) démontre que les échantillons ont été significativement altérés par le procédé de dissolution.

Avec le système de solvant D/T, quels que soient les échantillons dissous, aucun changement significatif des valeurs T_m pour les échantillons non traités et régénérés n'a été observé (toutes les valeurs de T_m restent supérieures à 300 °C). Le système de solvant D/T semble donc être le seul système de solvant capable de dissoudre les 4 échantillons de cellulose sans les déstructurer.

II.3.4.2 Structure des fibres de cellulose par MEB

La microscopie électronique à balayage (MEB) a permis l'observation des 4 différents échantillons de cellulose et l'identification des modifications structurales dues aux processus de dissolution/régénération par rapport aux échantillons non traités.

Les fibres de cellulose non traitées sont essentiellement en forme de tige/de bâtonnet. Les dimensions transversales des particules des fibres celluloses commerciales (Figure 35) varient entre 15 et 25 μm et leurs dimensions longitudinales varient fortement, de quelques centaines à plusieurs milliers de micromètres. La structure de surface des fibres de cellulose n'apparaît pas strictement ordonnée.

Les observations MEB faites sur les échantillons régénérés α -cellulose (Figure 36A) et Avicel (Figure 36B) illustrent les modifications observées après le procédé de dissolution/régénération, via les différents systèmes de solvant étudiés, par comparaison avec les analyses MEB de ces mêmes échantillons non traités.

D'autres observations ont été formulées à partir des MEB des deux autres échantillons de cellulose et sont présentées en annexe (Annexe C : Observations MEB des différents échantillons de cellulose régénérés). Quel que soit l'échantillon de cellulose, l'organisation fibrillaire a complètement disparu après dissolution/régénération.

Morphologiquement, les échantillons régénérés ne sont pas affectés de manière homogène. Ces différences observées varient selon la nature du système de solvant utilisé.

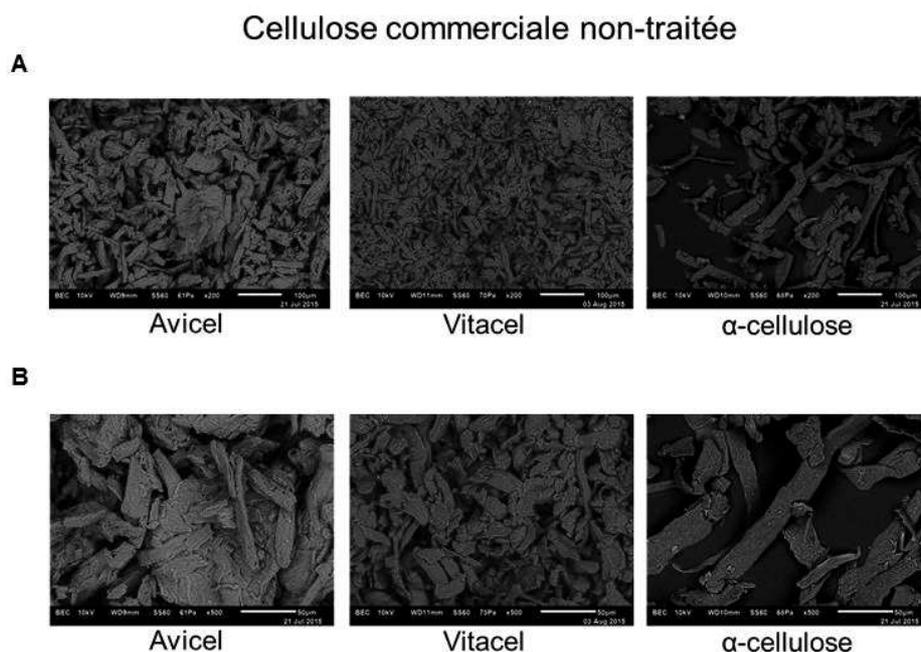


Figure 35 Observations MEB (A) x200 – 100µm et (B) x500 – 50µm des celluloses non-traitées

De manière générale, les fibres de cellulose régénérées semblent être moins organisées que les fibres non traitées. Elles semblent former des agglomérats pour les échantillons régénérés de faible DP (représentés par Avicel sur la Figure 36B) ainsi que pour les échantillons régénérés de DP plus important dans le cas des systèmes de solvant D/L et IL (représentés par α -cellulose sur la Figure 36A). Pour les échantillons régénérés de cellulose de haut DP (Figure 36A), après dissolution dans les systèmes de solvant D/T et D/S et régénération, il subsiste des fragments de fibres d'aspect similaire aux fibres non traitées. Quel que soit l'échantillon de cellulose et le système de solvant utilisé au cours de la dissolution, les observations MEB à des grossissements supérieurs (Annexe C : Observations MEB des différents échantillons de cellulose régénérés) démontrent un amincissement de toutes les fibres régénérées (de l'ordre de 0,5 à 1 µm avec D/S et D/L, et de 1,5 à 3 µm par rapport D/T) par rapport aux fibres de cellulose non-traitées (de l'ordre de 20µm), sauf après dissolution dans IL.

De par leur mécanisme de dissolution (I.2.3), les systèmes de solvant D/S, D/L et D/T permettent la séparation et l'ouverture des chaînes de cellulose, en brisant les liaisons intra- et inter- moléculaires.

Néanmoins, ces observations macroscopiques ne sont pas révélatrices de l'intégrité chimique (DP) de la chaîne polymérique. La réduction de l'épaisseur des fibres cellulosiques n'est pas nécessairement un indicateur de dégradation des longueurs chaînes macromoléculaires.

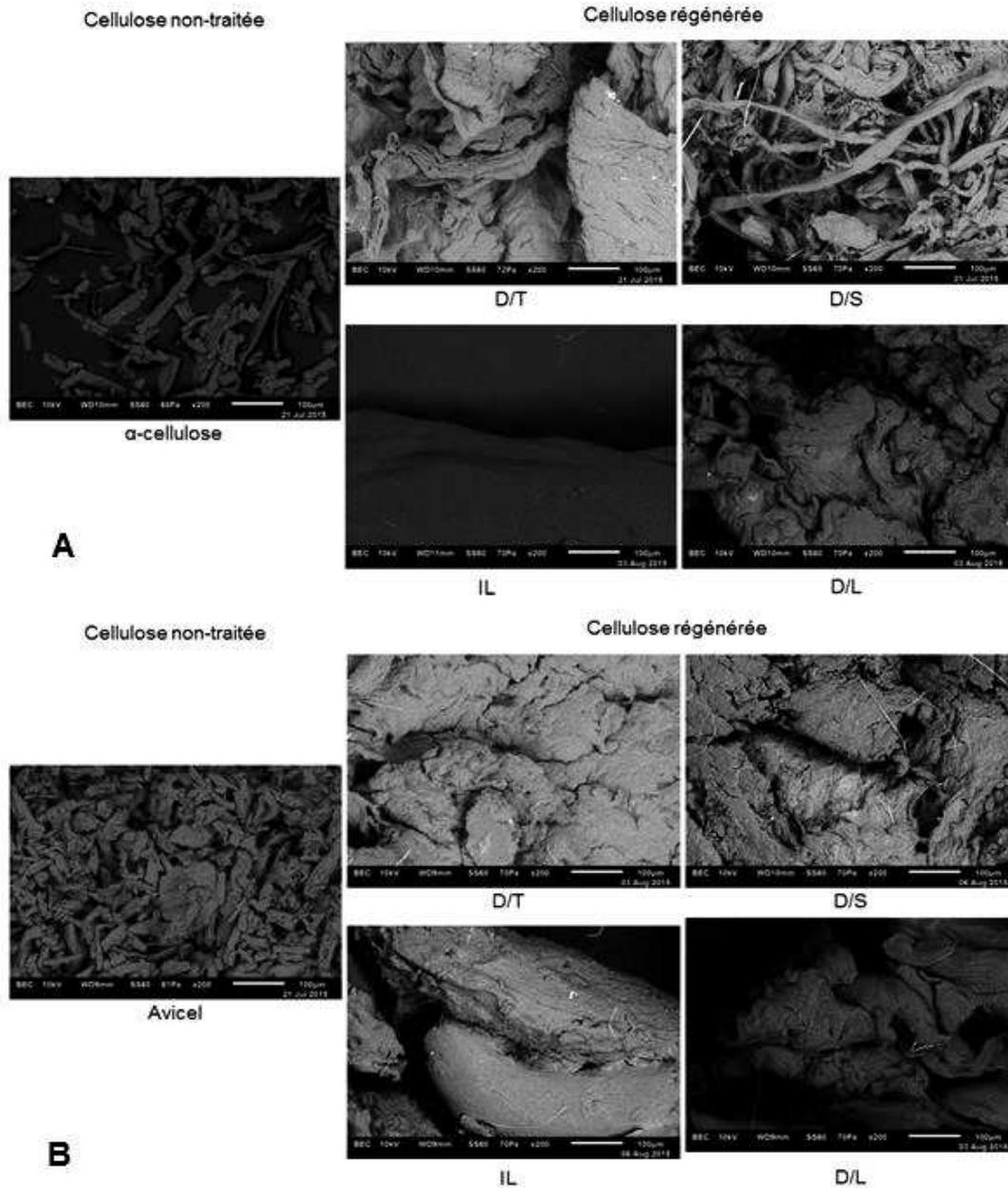


Figure 36 Observations MEB (x200 – 100µm) : (A) α-cellulose et (B) Avicel, non traitées et régénérées

II.3.4.3 Analyses structurales par DRX et RMN 13C solide

La diffraction RX est utilisée pour mettre en évidence la modification structurale des échantillons cellulosiques suite à leur dissolution/régénération dans les différents systèmes de solvants étudiés. Les diffractogrammes obtenus pour les 4 échantillons dissous dans les 4 systèmes de solvant sont présentés Figure 37.

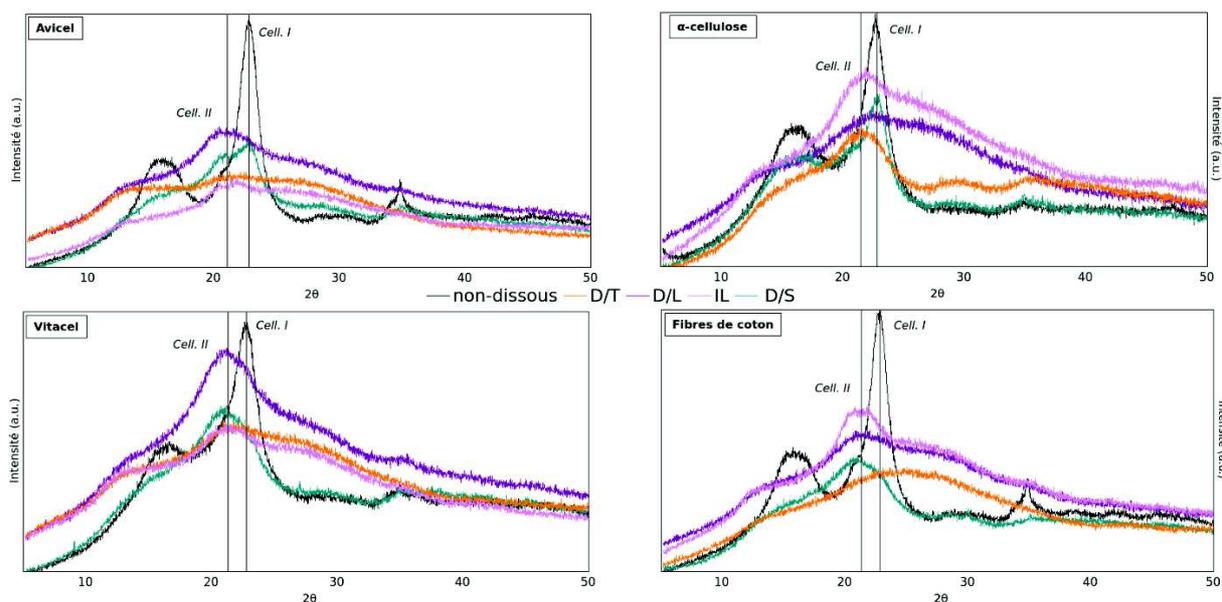


Figure 37 Diffractogrammes des différents échantillons de cellulose non traités et régénérés selon le système de solvant utilisé pour la dissolution

Pour les 4 échantillons, les diffractogrammes obtenus après dissolution/régénération, montrent une modification importante des pics cristallins et amorphes, par rapport aux diffractogrammes des échantillons non traités, et ce quel que soit le système de solvant, rendant ces pics difficiles à définir et ne permettant pas une détermination précise des valeurs CrI (Karimi and Taherzadeh, 2016).

Pour la majorité des échantillons, un déplacement des pics cristallins est observé, caractéristique du passage de la structure cristalline de la cellulose de type I (dite native) à celle de type II, après dissolution/régénération, comme cela a déjà été décrit dans la littérature (French, 2014; Nam *et al.*, 2016).

Pour l' α -cellulose, la cristallinité de l'échantillon non traité, de type I, est mesurée en utilisant comme pic principal de cristallinité, le pic à $22,5^\circ$ (Mittal *et al.*, 2011), identifié par la ligne de *Cell.I* sur la Figure 37.

Après les étapes de dissolution/régénération par les solvants D/T, D/L et IL, le pic principal cristallin est déplacé à $21,7^\circ$, correspondant au pic principal cristallin de la cellulose de type II (ligne *Cell.II* sur la Figure 37). Ce déplacement du pic de cristallinité démontre le changement du type de cristallinité suite au processus de dissolution/régénération. Il est accompagné par le déplacement du pic cristallin le moins intense de 15° à 12° , révélateur du passage de la cristallinité de la cellulose de la forme I à la forme II (Nam *et al.*, 2016).

Ce changement de forme de la cristallinité est observé après la dissolution/régénération au travers de tous les systèmes de solvant et pour les 4 échantillons de cellulose, à l'exception de l' α -cellulose et de l'Avicel dans le système de solvant D/S. Après régénération de ces échantillons après dissolution/régénération par D/S, seulement une fraction de l'Avicel et une petite fraction de l' α -cellulose sont converties en cellulose de type II. Le maintien d'une grande proportion de cellulose de type I, couplé aux valeurs élevées de turbidité obtenues (Tableau 17), laisse supposer une dissolution incomplète des chaînes cellulosiques.

La conservation de la structure cristalline de la cellulose I pour l'échantillon d' α -cellulose après dissolution/régénération dans le système de solvant D/S est confirmée par spectroscopie RMN ^{13}C à l'état solide (Figure 38).

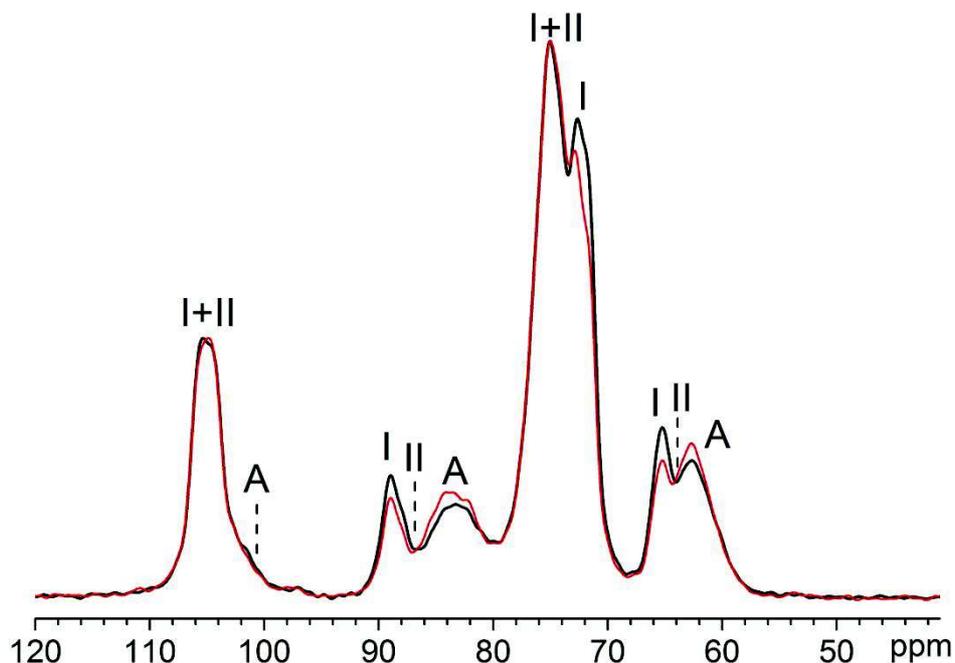


Figure 38 Spectres RMN ^{13}C solide des échantillons α -cellulose non traité (noir) et régénéré (rouge) après dissolution/régénération dans le système de solvant D/S

Une petite fraction de la cellulose de type I est convertie en cellulose amorphe de type II, comme le montre la légère diminution des signaux à 90, 73 et 66 ppm et la légère augmentation des signaux à 84 et 64 ppm (Mangiante *et al.*, 2013). La fraction de cellulose de type II formée est trop faible pour être détectée dans cette expérience.

Comme décrit dans la littérature (Ahn *et al.*, 2016b), pour chacun des systèmes de solvant, le processus de dissolution/régénération génère une diminution de l'intensité des pics de cristallinité sur les diffractogrammes DRX. De plus, la dissolution au travers des systèmes de solvant D/T, D/L et IL dégrade fortement la structure cristalline des échantillons, à un point tel que les échantillons régénérés respectifs semblent amorphisés.

II.3.4.4 Mesures de viscosimétrie : détermination des DP_v

Les valeurs de DP_v issues des mesures de viscosité intrinsèque pour chacun des systèmes étudiés, soit les 4 échantillons de cellulose dissous dans 4 systèmes de solvant puis régénérés, sont présentées et comparées aux valeurs DP_v des échantillons cellulosiques respectifs non traités, dans le Tableau 23.

Le procédé viscosimétrique utilisant la dissolution des échantillons, non traités et régénérés, dans une solution de cupriéthylènediamine (ou CED) (ASTM D-1795, 2013) n'est pas absolu car la dissolution au travers du CED peut dégrader ou modifier les échantillons préparés. Néanmoins, ce procédé est reconnu pour donner une bonne approximation des valeurs de DP_v d'échantillons de cellulose et permet une comparaison des effets dus aux différents procédés de dissolution/régénération (Karimi and Taherzadeh, 2016).

Tableau 23 Valeurs DP_v mesurées pour les échantillons de cellulose non-traités et régénérés

Cellulose	Non-traitée	Régénérée (système de solvant)			
		D/L	D/S	IL	D/T
Avicel	226 ^a ±9	248 ^b ±6	192 ^d ±2	164 ^e ±5	295 ^b ±7
Fibres de Coton	271 ^a ±7	270 ^a ±7	239 ^a ±5	145 ^c ±4	274 ^a ±7
Vitacel	1072 ^a ±27	645 ^c ±12	470 ^d ±10	403 ^c ±6	1206 ^a ±13
α-cellulose	1209 ^a ±38	550 ^b ±10	558 ^b ±6	421 ^c ±7	1172 ^a ±15

^{a-c} les différences de lettre dans une même ligne indique une différence statistique entre les valeurs moyennes (P < 0,05)

Le système de solvant IL diminue de manière significative les valeurs DP_v : de 50 à 70 % dans le cas des échantillons de faible masse molaire (Fibres de Coton et Avicel) et de 30 à 40 % pour les échantillons de masse molaire plus élevée (Vitacel et α -cellulose). Comme décrit dans la littérature, le système de solvant IL semble dégrader significativement les échantillons de cellulose. En effet, Ahn *et al.* (2016) ont observé une forte diminution de la masse molaire de la cellulose (cellulose de peuplier) dissoute dans le système BMIM [Cl] en fonction du temps de dissolution, et l'ont attribuée à la dépolymérisation des chaînes cellulosiques par hydrolyse acide au sein du liquide ionique.

De même, le système de solvant D/S réduit les valeurs de DP_v de 50 % pour les échantillons de cellulose de masse molaire élevée (de 1209 à 558 pour l' α -cellulose) et de près de 20 % pour les échantillons de cellulose de faible masse molaire. Ce système, déjà connu pour amorphiser les échantillons de cellulose, induit donc également une diminution significative des valeurs de DP_v des échantillons dissous, contrairement aux résultats publiés par Isogai & Attala (1991). Ces résultats sont cohérents avec les valeurs de T_0 observées précédemment.

Le système de solvant D/L ne modifie pas les valeurs DP_v mesurées des échantillons de faible masse molaire (Avicel et Fibres de Coton), mais diminue de près de la moitié les valeurs DP_v des échantillons de masse molaire plus élevée. Ce solvant, pourtant utilisé pour la détermination des masses molaires d'échantillons cellulosiques par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) (Dupont and Harrison, 2004; Dupont and Mortha, 2004; Sjöholm *et al.*, 2000a) semble donc dégrader les chaînes cellulosiques de haute masse molaire.

Enfin, le système de solvant D/T semble ne pas affecter de manière significative la longueur de chaîne des échantillons cellulosiques dissous. En effet, les valeurs des DP_v mesurées sur les échantillons de cellulose régénérés sont similaires à celles des échantillons non-traités respectifs.

II.3.5 DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons essayé de trouver les conditions optimales pour la dissolution de quatre échantillons cellulosesiques de masse molaire différente (faible ou élevée) et de taux de cristallinité différents, dans quatre systèmes de solvant différents, le classique D/L et trois autres (D/S, IL et D/T) choisis pour leur innocuité relative (solvants non-dérivatisants). L'influence de ces différents processus de dissolution/régénération sur les propriétés des échantillons de cellulose (cristallinité et DP_v) a été étudiée.

Il est apparu évident que les conditions de dissolution (température et temps) et de régénération (nature du non-solvant et température) varient en fonction de la nature du couple {système de solvant-échantillon cellulósique} et impactent la structure de la cellulose. Néanmoins, ces conditions sont nécessaires pour réaliser la dissolution, et il semble important d'étudier (i) la capacité de chaque solvant à dissoudre les différents types de cellulose et (ii) l'impact de la dissolution sur l'intégrité de la cellulose, et en particulier sur les masses molaires respectives. Ce dernier aspect est primordial dans la recherche d'un nouveau solvant pour l'analyse par SEC d'échantillons de cellulose. D'après les résultats présentés dans ce chapitre II, le système de solvant D/S permet la dissolution correcte d'un seul type de cellulose (Fibres de coton) tandis que le système D/L dissout principalement les échantillons de faible DP, indépendamment de leur cristallinité. Enfin, les systèmes de solvant D/T et IL semblent capables de dissoudre tous types de cellulose, indépendamment du taux de cristallinité ou du DP des échantillons. Cependant, les conditions opératoires pour parvenir à la dissolution de la cellulose sont différentes. Les mécanismes de dissolution sont également variables en fonction de la nature du solvant (Medronho and Lindman, 2015).

Le mécanisme de dissolution de la cellulose dans le système D/S (pour DMSO/DEA/SO₂) a été décrit dans les années 80 (Isogai *et al.*, 1987). Le D/S est, parmi les solvants non dérivatisants et non aqueux, supposé permettre la dissolution d'une large gamme d'échantillons de cellulose sans générer de dépolymérisation (Medronho and Lindman, 2014, Isogai & Attala, 1991). La dissolution par ce système, obtenue à température ambiante (Tableau 16), demande un temps de dissolution plus important pour les échantillons de haute masse molaire (1 h pour α -cellulose et 4 h pour Vitacel, contre 20 min pour Avicel et Fibres de Coton). Enfin, le procédé semble moins efficace pour les échantillons de cellulose hautement cristallins (α -cellulose et Avicel) selon les valeurs de turbidité (Tableau 17) avec le maintien de la structure cristalline de type I après dissolution/régénération (Figure 37).

Ces derniers échantillons semblent avoir une solubilité limitée dans ce système de solvant. Au regard des résultats ATG et DP_v (Tableau 21-23), le D/S dégrade de manière significative tous les échantillons, à l'exception de l'échantillon Fibres de Coton. Une des raisons possibles de cette non-dégradation est la nature de cette cellulose, d'une grande pureté par rapport aux autres échantillons cellulosiques. En effet, le mécanisme de dissolution proposé par Isogai *et al.* (1987) prend en compte la formation d'un complexe entre les groupements hydroxyles libres de la cellulose avec les fonctions SO₂ et NH₂ présentes dans le système D/S, spécifique à la cellulose native (Isogai *et al.*, 1987). En effet, cet échantillon n'a subi aucun traitement d'extraction classique de l'hémicellulose et de lignine. Pour les autres échantillons, la présence d'impuretés et/ou de modifications dans l'agencement des chaînes de cellulose résultant du processus d'extraction et/ou de purification semble empêcher la formation de ce complexe, pouvant entraîner une dégradation notable de l'intégrité des chaînes cellulosiques, soit lors de la dissolution, soit lors de la régénération.

De nos jours, avec l'essor de la chimie verte, les liquides ioniques sont de plus en plus utilisés et en particulier pour la dissolution et la modification d'échantillons de cellulose. Le choix du BMIM [Cl] a été guidé par l'utilisation de ce solvant dans de nombreux travaux, afin de dissoudre différents types de cellulose : cellulose microcristalline, fibres de coton ou encore cellulose bactérienne de DP allant jusqu'à 2500 (Heinze *et al.*, 2008). Dans ces conditions, les échantillons d'Avicel et d' α -cellulose sont les plus difficiles à solubiliser, avec des temps de dissolution plus importants, probablement en raison, respectivement, de leur cristallinité et leur masse molaire plus élevées (Tableau 14). De plus, la dissolution par IL cause la dégradation des chaînes cellulosiques de tous les échantillons, comme le confirment les valeurs T_o et T_m (Tableaux 21-22) et DP_v des échantillons régénérés par rapport à celles des échantillons non traités (Tableau 23).

Le LiCl/DMAc est le solvant référence pour l'analyse chromatographique par perméation de gel d'échantillons de cellulose et envisagé comme solvant de référence pour l'établissement d'un potentiel protocole standardisé (Potthast *et al.*, 2015). Le mécanisme de dissolution est encore largement discuté, mais porte essentiellement sur la complexation du solvant, soit avec le cation fortement oxophile ou directement avec les groupes hydroxyles cellulosiques, en laissant les ions chlorure libres pour former des liaisons hydrogène avec les chaînes glucidiques, détruisant l'organisation intermoléculaire des chaînes cellulosiques (Sen *et al.*, 2013).

Dans notre étude, la dissolution des échantillons cellulosiques dans le D/L s'effectue sur des temps de 24 à 48 h, durées relativement courtes par rapport aux données bibliographiques, pouvant aller jusqu'à 10 jours (Dupont, 2003), mais significativement plus longues que celles choisies avec les autres systèmes de solvant étudiés (de 20 min à 4 h) (Tableau 14). Néanmoins, la dissolution n'est vraiment efficace que pour les échantillons de faible masse molaire (Tableau 17). Après régénération, toute trace de la structure cristalline de la cellulose de type I (ou native) a disparu (Figure 37). Le processus de dissolution/régénération par D/L a provoqué une forte diminution des températures T_o et T_m pour tous les échantillons (Tableaux 21-22) traduisant une dégradation de la structure cellulosique. Pour les échantillons de masse molaire élevée (α -cellulose et Vitacel), les valeurs de DP_v (Tableau 23) démontrent que ce système affecte significativement la longueur des chaînes. La diminution des valeurs de DP_v atteint respectivement 39 % et 54 % pour Vitacel et α -cellulose. Ces observations permettent de remettre en question la capacité de ce système de solvant, pourtant référence pour l'analyse SEC, à dissoudre, sans les dégrader, les échantillons cellulosiques de haute masse molaire.

Le TBAF/DMSO est un autre système de solvant bien connu pour la dissolution de la cellulose. Le mécanisme de dissolution est principalement basé sur la capacité de l'ion fluorure à perturber le réseau des liaisons hydrogènes entre les chaînes de cellulose, grâce à une forte interaction ion-dipôle avec les groupements hydroxyles cellulosiques et aidé par la bonne solvatisation du cation, encombrant, par le DMSO (Sen *et al.*, 2013). La dissolution dans le système D/T n'affecte ni les valeurs de température T_o ou T_m , ni celles de DP_v (Tableaux 21-23), laissant espérer la préservation de la longueur et de la structure des chaînes cellulosiques. Cela est vrai également dans le cas de l' α -cellulose, nécessitant une température de dissolution plus élevée (100 °C) (Tableau 16). Ainsi, selon nos expériences, le système de solvant TBAF/DMSO semble être le candidat idéal pour dissoudre divers types d'échantillons cellulosiques et pour être testé en tant que solvant pour l'analyse SEC d'échantillons cellulosiques. Néanmoins, de nouvelles méthodes pour étudier et quantifier les effets de la dissolution permettraient de mettre en lumière les mécanismes de dissolution de la cellulose précisément, telles que la RMN, déjà appliquée à l'amidon (Dona *et al.*, 2007).

II.4 CONCLUSIONS

Dans ce chapitre II, les dissolutions de 4 différents types de cellulose dans 4 systèmes de solvant différents LiCl/DMAc, DMSO/DEA/SO₂, BMIM [Cl] et TBAF/DMSO, reconnus pour leurs caractères non-dérivatisants, ont été réalisées. Chaque système de solvant affecte différemment la structure de la cellulose. Selon le système de solvant utilisé pour dissoudre les échantillons, différents niveaux de dégradation ont été observés.

Le LiCl/DMAc permet la dissolution des échantillons de cellulose de plus faible DP (à savoir Avicel et Fibres de Coton), mais peine à dissoudre les échantillons de masse molaire plus élevée (à savoir Vitacel et α -cellulose). Le DMSO/DEA/SO₂ permet la dissolution correcte sans dégradation uniquement de Fibres de Coton, mais réduit significativement le DP des échantillons de cellulose de haut DP. Dans les systèmes de solvants BMIM [Cl] et TBAF/DMSO, les dissolutions ont été obtenues quel que soit le type d'échantillons de cellulose dissous. Néanmoins, compte tenu des conditions opératoires mises en œuvre avec le système IL tous les échantillons régénérés présentent des dégradations importantes, comme observé avec la diminution de la température de dégradation T_0 et des valeurs DP_v de près de 50%.

Enfin, le TBAF/DMSO semble être le système le moins dégradant : les valeurs de DP_v des celluloses régénérées sont similaires à celles des celluloses non traitées. La modification de la cristallinité des échantillons régénérés rendus quasiment amorphes par la dissolution/régénération à partir de D/T, va dans le sens d'une solubilisation efficace, mais les valeurs de T_0 , comparables à celles des celluloses non-traitées, confirment la non-dégradation des chaînes. Ce système de solvant apparaît donc prometteur à la fois comme solvant non-dérivatisant pour la réactivité, mais aussi comme solvant d'élution pour la détermination de la distribution des masses molaires par chromatographie d'exclusion stérique.

Chapitre III

Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés par chromatographie d'exclusion stérique

Chapitre III Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés par chromatographie d'exclusion stérique

Ce chapitre III est consacré au développement d'une nouvelle méthode d'analyse par chromatographie exclusion stérique plus "verte" pour la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques non-dérivatisés.

Cette nouvelle méthode chromatographique est basée sur l'utilisation du système de solvant TBAF/DMSO. Nos travaux ont consisté à envisager ce système comme solvant de préparation et/ou d'élution. Le TBAF/DMSO permet une dissolution rapide, efficace, sans affecter les échantillons de cellulose (Chapitre II).

Ce chapitre III présente le choix du matériel et des conditions analytiques SEC avec ce système de solvant, sur la base des techniques existantes. Par cette méthode, les analyses de standards de pullulane et des différents échantillons de cellulose ont été réalisées.

III.1 INTRODUCTION

La détermination de la distribution des masses molaires est délicate du fait de la faible solubilité de la cellulose, limitant le développement de nouvelles méthodes de caractérisation. Trouver un solvant non-dérivatisant et non-dégradant pour ce polymère est extrêmement complexe. Le LiCl/DMAc est le système de solvant référence pour la détermination de la distribution de masses molaires de cellulose. Néanmoins, l'utilisation de ce système de solvant est limitée du fait de la toxicité du solvant et des phénomènes d'agrégation, de dégradation ou d'insolubilité pouvant être rencontrés.

Dans le chapitre II, nous avons étudié les modifications structurales subies par 4 échantillons celluloses au cours de leur dissolution dans quatre systèmes de solvant décrits comme non-dérivatisants. Le TBAF/DMSO ne semble pas affecter les DP de nos échantillons celluloses. Aussi l'utilisation de ce système de solvant est envisagée pour le développement d'un nouveau système de chromatographie d'exclusion stérique.

Synthétisé dès 1866 par Alexander Zaytsev, le diméthylsulfoxyde (ou DMSO) peut être produit à partir du Diméthylsulfane (DMS). Le DMS peut être un produit secondaire issu de l'industrie papetière, obtenu par procédé Kraft (Genco, 1999; Roy, 2000). Le DMSO peut donc être renouvelable. Du fait de son caractère non-toxique et de sa capacité à solubiliser de nombreux composés organiques, le DMSO est utilisé dans l'industrie chimique et pharmaceutique la solubilisation (Flick, 1998; Roy, 2000), notamment comme agent de vectorisation, pour favoriser le transport de médicament dans les cellules ainsi que pour le traitement des maladies auto-immunes. Son utilisation est approuvée par l'organisme américain de contrôle des aliments et des médicaments (Food and Drug Agency).

Il s'agit d'un solvant organique organosulfuré, polaire, aprotique et incolore. Le DMSO est thermiquement stable (température d'ébullition de 190,85 °C), de masse volumique 1,10 g/mL et de viscosité η (à 25 °C) similaire à celle du DMI (respectivement 1,99 cP et 1,94 cP), solvant déjà utilisé pour la détermination de distribution de masses molaires par analyse SEC d'échantillons de cellulose.

En partant du système de solvant TBAF/DMSO, une méthode de chromatographie d'exclusion stérique a donc été mise en place. Le fractionnement de différents standards de pullulanes et de 4 échantillons de cellulose a été réalisé dans différentes conditions de préparation.

III.2 MATERIEL & METHODES

III.2.1 REACTIFS

III.2.1.1 Système de solvant

Le diméthylsulfoxyde (DMSO, 99,7 %, anhydrous) et le trihydrate de fluorure de tétrabutylammonium (TBAF, 97 %) sont produits par Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne).

III.2.1.2 Standards

Des standards de pullulane (PSS Polymer Standards Service, Mainz, Allemagne) représentant une large gamme de masses molaires ont été utilisés (Tableau 24).

Tableau 24 Masses molaires des standards de pullulane (données fournisseur)

Standard	Référence	Masse molaire (Da)			Polydispersité Ip	Type
		Mn	Mw	Mp		
P 0,3 kDa	PSS-pul 342	342	342	342	1,00	Pullulane
P 1,1 kDa	PSS-pul 1,3k	1080	1320	1080	1,23	DIN-Pullulane standard
P 5,9 kDa	PSS-pul 6k	5900	6200	6100	1,05	Pullulane
P 9,2 kDa	PSS-pul 10k	9200	10000	9600	1,09	Pullulane
P 20 kDa	PSS-pul 22k	20000	21700	21100	1,09	Pullulane
P 45,5 kDa	PSS-pul 50k	45500	48800	47100	1,07	Pullulane
P 100 kDa	PSS-pul 110k	100000	113000	107000	1,13	Pullulane
P 184 kDa	PSS-pul 200k	184000	200000	194000	1,09	Pullulane
P 318 kDa	PSS-pul 400k	318000	366000	344000	1,15	Pullulane
P 636 kDa	PSS-pul 800k	636000	805000	708000	1,27	Pullulane
P 970 kDa	dpul 1,3m	970000	1330000	1220000	1,37	DIN-Pullulane standard
P 1720 kDa	dpul 2,5m	1720000	2560000	2350000	1,49	DIN-Pullulane standard

* DIN = Deutsches Institut für Normung

III.2.1.3 Cellulose

Les celluloses Avicel (PH-101, Ph Eur, cellulose microcristalline, lot n°BCBK2051V), Fibres de Coton (fibres de coton, fibres moyennes, lot n°MKBQ8042V) et α -cellulose (poudre, lot n°BCBH3503V) ont été fournies par Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne).

La cellulose Vitacel (L600/30, Ph Eur, poudre de cellulose, lot n°7120891215 X) a été fournie par JRS Pharma (Rosenberg, Allemagne).

Tous les essais de cette étude ont été réalisés sur le même lot.

III.2.2 METHODE

III.2.2.1 Préparation des échantillons

III.2.2.1.1 Standards de pullulane

Les échantillons ne contiennent qu'un seul standard en solution et sont préparés directement dans les vials HPLC. Pour chaque échantillon, une masse de 1,5 mg de standard est dissoute par l'ajout d'un volume de 1,5 mL, de solution de TBAF/DMSO. La solution est placée sous agitation (incubateur) à température ambiante jusqu'à obtention de solutions claires et limpides. Trois séries de standards, nommées respectivement DT 0, DT 0,5 et DT 1, sont préparées à partir de solution de TBAF/DMSO dont la concentration de TBAF (ou [TBAF]) dissoute dans le DMSO varie. Les concentrations finales des échantillons sont présentées dans le Tableau 25 suivant :

Tableau 25 Concentrations finales des échantillons de standard

Nom série	[pullulane] mg/mL	[TBAF] mg/mL
DT 0	1	0
DT 0,5	1	5
DT 1	1	10

III.2.2.1.2 Cellulose

Les échantillons de cellulose préparés pour l'analyse SEC présentent une concentration de 1 mg/mL, comme rencontré dans la littérature (Dupont, 2003; Silva and Laver, 1997; Sjöholm *et al.*, 2000b). Comme décrit dans le chapitre II, la dissolution des échantillons de cellulose par le système TBAF/DMSO se fait en deux étapes : une étape de gonflement et une étape de dissolution.

Etape de gonflement

Après un séchage de 1 h dans une étuve à 103 °C, 20 mg d'échantillon de cellulose sont placés dans un ballon de 50 mL, sous agitation magnétique (600 rpm) à 60 °C dans un volume de 10 mL de DMSO pendant 1 h. Cette étape est commune à tous les échantillons de cellulose préparés.

Etape de dissolution

Suite à l'étape de gonflement, 10 mL d'une solution de TBAF/DMSO sont ajoutés, sous agitation magnétique continue (600 rpm) durant 30 minutes. La température de dissolution varie entre 60 °C et 100 °C selon la nature des échantillons de cellulose préparés (Chapitre 2).

Une première série d'échantillons de cellulose Avicel dissous dans différentes solutions de TBAF/DMSO a été préparée à une température de 60 °C. Les concentrations finales en TBAF des solutions sont comprises entre 2,5 et 100 mg/mL et en cellulose fixée à 1 mg/mL.

Par la suite, les solutions de cellulose étudiées sont préparées dans des conditions suivantes (Tableau 26). Ces conditions diffèrent selon la nature des échantillons (Chapitre II) :

Tableau 26 Conditions expérimentales pour la préparation des solutions de cellulose

Cellulose	Avicel	Fibres de coton	α-cellulose	Vitacel
[cellulose] mg/mL	1	1	1	1
[TBAF] mg/mL	10	10	10 20	10 20
Température (°C)	60	60	90	100

III.2.2.2 Conditions HPLC

III.2.2.2.1 Système HPLC

La chaîne chromatographique se compose d'une pompe isocratique, délivrant à débit constant le solvant d'élution, d'un système d'injection automatisé et d'un four de colonne thermorégulé à 60 °C (Agilent technologies, Allemagne). Le système de détection en sortie de colonne se constitue d'un réfractomètre RI (RID-10A, Shimadzu, Japon). La température du détecteur est fixée à 40 °C.

III.2.2.2.2 Système de colonne

Développé par la compagnie Shodex (Munich, Allemagne), le système de colonne se compose d'une pré-colonne Mixed-B KD (50 x 8 mm) et d'une colonne Mixed-B KD-806M (300 x 8 mm) montées en série. La nature de la phase stationnaire est du PS-DVB. Ce système a notamment été utilisé pour la détermination de la distribution de masses molaires de cellulose en LiCl/DMI (Yanagisawa and Isogai, 2005; Yanagisawa *et al.*, 2005).

Les caractéristiques du système de colonne sont les suivantes :

- taille (unique) de pores : 10^4 \AA (soit $1 \text{ }\mu\text{m}$)
- température maximale d'utilisation : $60 \text{ }^\circ\text{C}$
- pression maximale d'utilisation : 30 bars

Ce système de colonne permet un fractionnement efficace d'une large gamme de standards de polystyrène (PS) pour des masses molaires allant jusqu'à 20 000 kDa dans le chloroforme, mais aussi de standards de polyéthylène glycol (PEG) pour des masses molaires allant jusqu'à 40 000 kDa dans le diméthylformamide (données fournisseur).

III.2.2.2.3 Conditions d'élution

Afin de travailler à des valeurs de viscosité faibles et d'augmenter le transfert de masse entre les phases mobile et stationnaire, les analyses SEC utilisant le DMSO comme solvant sont couramment réalisés à 80°C . Cependant, la température maximale acceptable par les colonnes utilisées est de 60°C , choisie comme température d'analyse.

Dans le cas d'une analyse optimale, le solvant d'élution doit être similaire au système de préparation des échantillons. Une étude préliminaire, présentée dans la partie III.3.1, démontre une adsorption des molécules de TBAF sur la phase stationnaire. Cette adsorption conduit à l'obstruction de la colonne, plus ou moins rapide selon la concentration en TBAF, provoquant une surpression du système d'analyse. L'utilisation du système TBAF/DMSO comme solvant d'élution n'est pas envisageable en l'état. Après s'être assuré de la non-précipitation, dans le DMSO pur, des échantillons dissous et préparés dans les solutions de TBAF/DMSO, le DMSO pur est choisi comme solvant d'élution.

Le débit d'élution est de $0,5 \text{ mL/min}$, pour une pression associée $P = 21 \text{ bars}$. Le volume d'injection des échantillons est de $100 \text{ }\mu\text{L}$.

III.2.2.3 Traitement des données

L'acquisition et le traitement du signal du détecteur sont assurés pour le logiciel Astra 6.1.2 (Wyatt Technology, USA). Cette configuration SEC nécessite la calibration du système de fractionnement à partir de standards, dans notre cas de pullulane.

Les volumes d'élution des standards varient selon leurs masses molaires respectives, et permettent de déterminer la courbe de calibration (CC) $\log MM = f(V_e)$. Ces courbes ainsi obtenues définissent un intervalle de séparation spécifique. Les bornes de cet intervalle correspondent aux volumes d'élution respectifs du standard de plus haute masse molaire ($V_{e \min}$) et de plus basse molaire ($V_{e \max}$). Ces bornes doivent être comprises dans les volumes limites de la colonne, tel que : $V_{e \min} \geq V_0$ et $V_{e \max} \leq V_0 + V_p$.

Cet intervalle délimite la zone de calibration pour la détermination relative de la distribution de masses molaires des échantillons. Les chromatogrammes résultant du fractionnement permettent d'identifier les volumes d'élution respectifs des échantillons. Par l'intermédiaire des courbes de calibration obtenues, la détermination des masses molaires est possible, pour des volumes d'élution compris dans l'intervalle de séparation spécifique.

III.3 RESULTATS & DISCUSSION

III.3.1 INFLUENCE DE LA TENEUR EN TBAF DANS LE SOLVANT D'ELUTION

Afin d'évaluer l'influence de la concentration en sel sur la pression du système, différents systèmes d'élution TBAF/DMSO avec des concentrations en TBAF comprises entre 0 et 10 mg/mL ont été testés.

L'utilisation de la colonne ne peut être envisagée que pour une pression inférieure à la pression dite limite ($P_{lim} = 30$ bars). Le temps nécessaire pour atteindre la valeur limite de pression du système est variable selon la concentration en TBAF. Cette augmentation de pression traduit du colmatage de la colonne par les molécules de TBAF présentes en solution. Ces temps mesurés sont présentés dans le Tableau 27 suivant :

Tableau 27 Temps avant saturation de la colonne en fonction de la [TBAF] en solution dans le DMSO (0,5 mL/min à 60 °C)

[TBAF] mg/mL	0	2,5	5	10
Temps avant $P \geq P_{lim}$ (min)	nd	120	60	20

nd = non déterminé

A l'exception du DMSO pur ([TBAF] = 0 mg/mL), quelque soit la teneur en TBAF en solution, la limite de pression de la colonne est atteinte. Ce phénomène de saturation est d'autant plus important et rapide que la concentration en TBAF en solution est élevée. Cette surpression peut s'expliquer par l'adsorption importante des molécules de TBAF sur la phase stationnaire de la colonne. Ce phénomène affecte le principe de fractionnement en SEC. Ces interactions dépendent des propriétés de la phase stationnaire de la colonne, de l'échantillon et du solvant.

Tel que décrit dans la littérature (Podzimek, 2011), ces interactions, majoritairement non-covalentes, peuvent être de différents types : dipôle-dipôle, π - π , hydrophobes, liaison hydrogène, ou de groupes polaires avec les groupes polaires de la phase stationnaire. Ainsi, il a été mis en évidence que l'analyse SEC de polymères composés de groupements « amino » avec des colonnes en PS-DVB en solution THF est délicate.

Par conséquent, l'existence d'interactions dipôle-dipôle entre les cycles aromatiques (donneur π), à la surface de la phase stationnaire en PS-DVB, et le groupement ammonium quaternaire des molécules de TBAF (accepteur et chargé +) peut être possible (Figure 39).

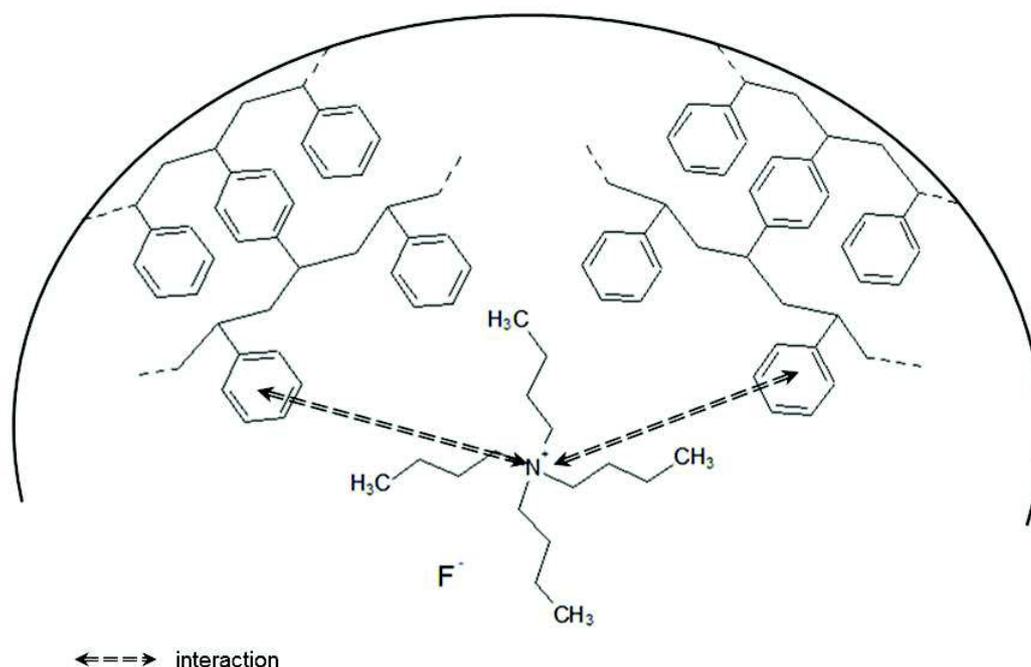


Figure 39 Possibles interactions TBAF_PS-DVB au sein d'un pore de colonne

Ce phénomène d'adsorption semble important. Hypothétiquement, l'interaction TBAF-phase stationnaire semble intense, ne permettant pas une désorption simultanée. Par conséquent, l'apport continu de nouvelles molécules de TBAF par l'intermédiaire du solvant d'élution TBAF/DMSO génère un encombrement stérique progressif, du fait de la concentration de molécules de TBAF sur la phase stationnaire, conduisant à une augmentation progressive de la pression. Cet encombrement stérique (Figure 40) conduit à la formation d'un bouchon dans la colonne. En l'état, l'utilisation du TBAF/DMSO comme solvant d'élution en chromatographie d'exclusion stérique semble inappropriée.

Ces phénomènes de saturation et de surpression observés en présence de TBAF n'ont pas été rapportés avec LiCl/DMAc ou LiCl/DMI comme solvant d'élution, quel que soit la teneur en LiCl en solution. Deux explications peuvent être avancées : (i) la différence de masses molaires existante entre les sels utilisés et (ii) la différence de volume hydrodynamique du complexe {solvant-sel}. Du fait de sa structure chimique, une molécule de TBAF, de masse molaire de 261,5 Da, présente un volume hydrodynamique nettement supérieur à celui d'une molécule de LiCl, de masse molaire 42,4 Da.

De plus, en solution les complexes {DMSO-TBAF} et {DMAc-LiCl} présentent deux conformations différentes (Medronho and Lindman, 2014; Pinkert *et al.*, 2010). Le complexe {DMSO-TBAF} (Figure 17) présente un volume hydrodynamique en solution plus important que le complexe {DMAc-LiCl} (Figure 14). Par conséquent, l'existence d'interactions {PS-DVB_LiCl} est possible mais ne sont pas significative stériquement pour colmater la colonne ou générer des surpressions, comme provoquent les molécules de TBAF.

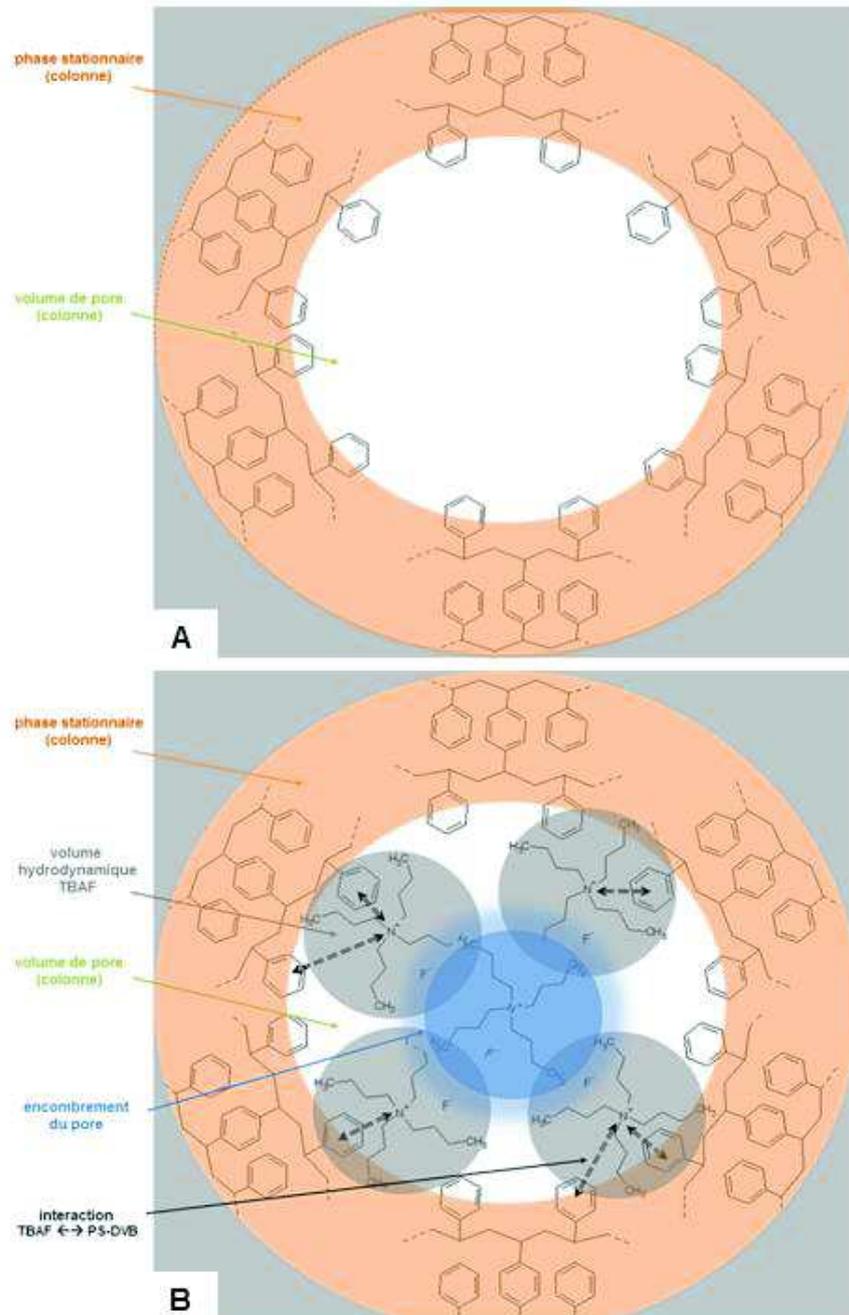


Figure 40 Schématisation d'un pore de colonne non-saturé (A) et encombré (B)

III.3.2 ANALYSE DE STANDARDS DE PULLULANE

Les standards de pullulane sont solubles dans le DMSO pur (DT 0). Afin de déterminer l'influence du TBAF sur les volumes hydrodynamiques des pullulanes, ces standards ont également été solubilisés dans du DMSO additivé de TBAF à 5 et 10 mg/mL, respectivement nommés DT 0,5 et DT 1. A partir des chromatogrammes obtenus, les courbes de calibration $\log(MM) = f(V_e)$ ont été déterminées pour chacune des 3 conditions opératoires.

III.3.2.1 Standards préparés dans le DMSO pur (DT 0)

Les chromatogrammes des standards de pullulan préparés dans le DMSO sont représentés sur la Figure 41:

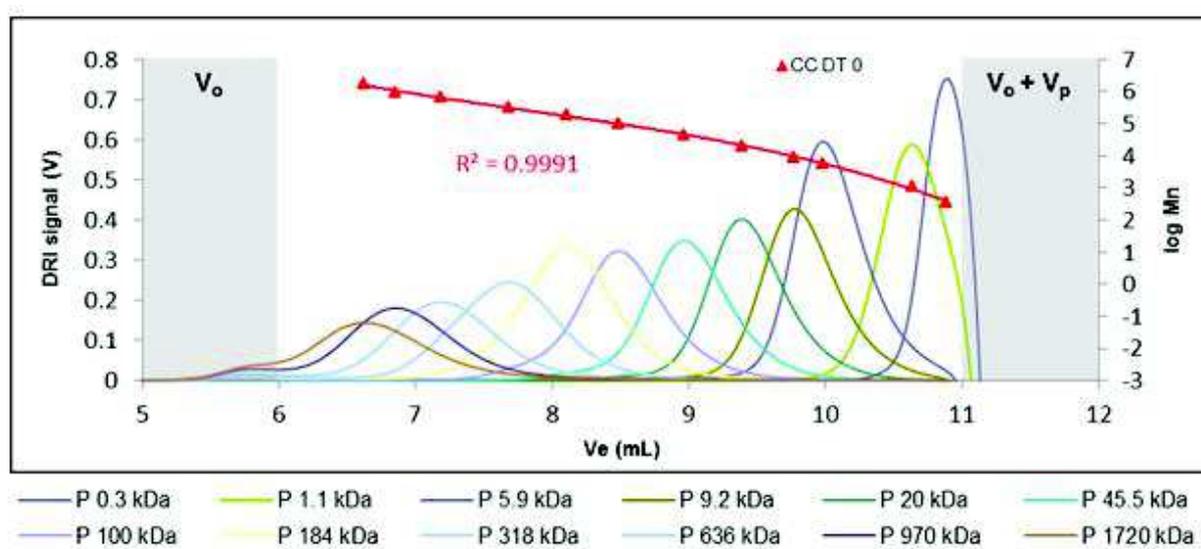


Figure 41 Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 0 (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Les chromatogrammes obtenus présentent des pics d'élution bien définis. Néanmoins, les chromatogrammes présentent un pic chromatographique aplati et élargi d'autant plus marqué que la masse molaire du standard associé est importante. Cet élargissement des pics peut s'expliquer par l'hétérogénéité de dépliement des chaînes en solution (Figure 42). En effet les liaisons hydrogène intra-moléculaire confèrent aux chaînes de pullulane une géométrie particulière en solution (linéaire, repliée). Avec l'augmentation de la longueur de chaîne, le nombre de liaisons intra-moléculaire est plus important.

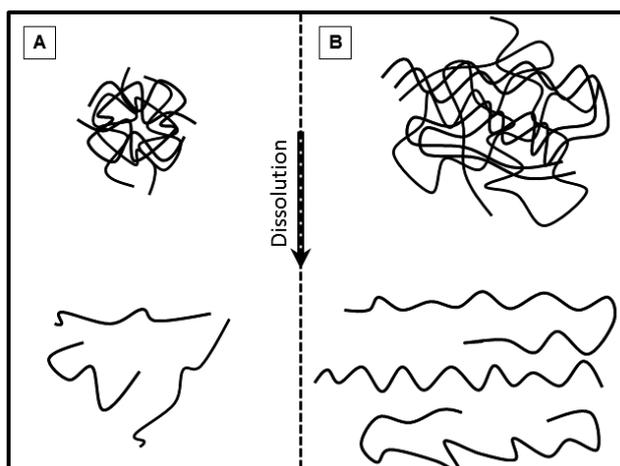


Figure 42 Différence de dépliement selon la longueur des chaînes de polymère : courte (A) ou longue (B)

Par conséquent, le dépliement en solution des échantillons de plus haute masse molaire peut être hétérogène en solution, contrairement aux standards de masses molaires faibles.

III.3.2.2 Standards préparés dans les solutions de TBAF/DMSO

Les chromatogrammes des standards de pullulane préparés dans le TBAF/DMSO (m/v) à 0,5 % (DT 0,5) sont représentés sur la Figure 43:

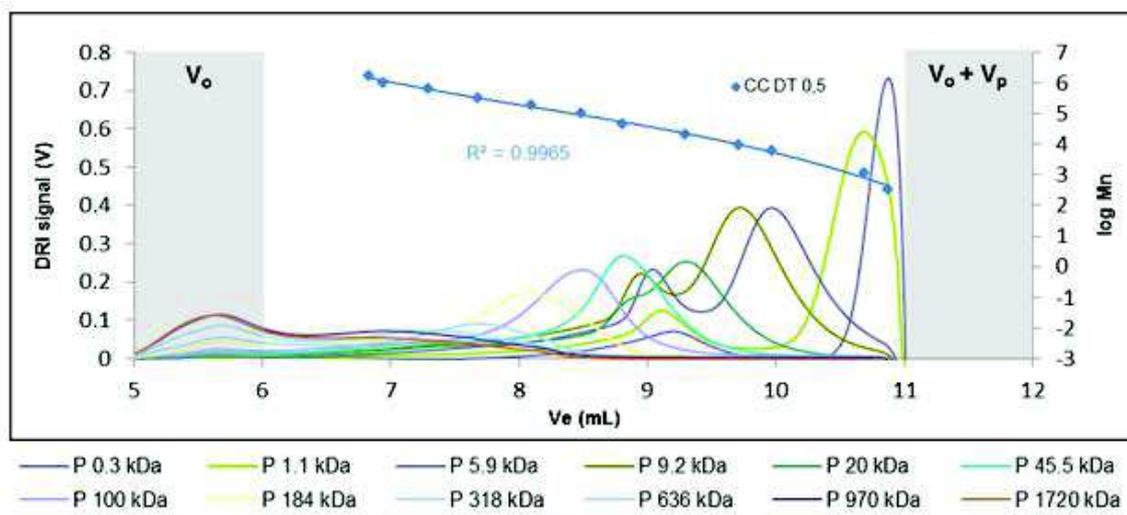


Figure 43 Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 0,5
(solvant d'éluion : DMSO ; débit d'éluion : 0,5 mL/min ; 60°C)

Sur les chromatogrammes obtenus, les pics d'éluion restent bien définis et identifiables.

La présence de TBAF en solution augmente le volume hydrodynamique des standards analysés, conduisant à la formation d'une 2^{ème} population au sein d'un même standard de volume hydrodynamique plus important.

Ce phénomène se traduit par l'augmentation de l'intensité du pic d'exclusion (V_e compris entre 5 et 6 mL) pour les standards de masse molaire supérieure à 100 kDa. La fraction exclue devient majoritaire pour les standards de masse molaire supérieure à 636 kDa (Figure 44A_1). Ce phénomène est d'autant plus important que la masse molaire du standard est élevée (Figure 44A_2). De la même manière, une 2^{ème} population (V_e entre 8,7 et 9,5 mL) pour les standards de 0,3 à 20 kDa est identifiable, mais reste dans l'intervalle d'analyse (Figure 44B).

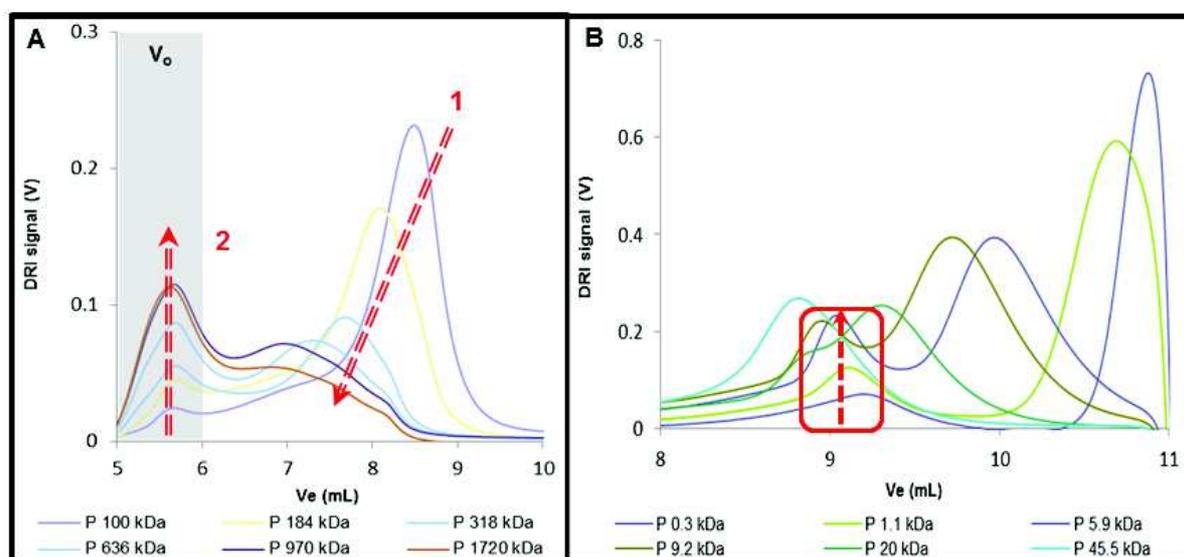


Figure 44 Modification des volumes hydrodynamiques des standards de haute (A) et de faible (B) masse molaire préparés en DT 0,5 (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Les chromatogrammes, représentés sur la Figure 45, des standards de pullulane préparés dans une solution de TBAF/DMSO de $[TBAF] = 10$ mg/mL (DT 1) présentent le même phénomène que décrit précédemment.

En effet, les chromatogrammes obtenus présentent une 2^{ème} population, de volume hydrodynamique supérieur, pour chacun des standards analysés. Ce 2nd pic correspond au phénomène d'adsorption du TBAF sur les chaînes conduisant à l'augmentation du volume hydrodynamique et réduisant sa rétention au sein de la colonne. Ce phénomène est plus marqué que de la concentration en TBAF en solution est importante.

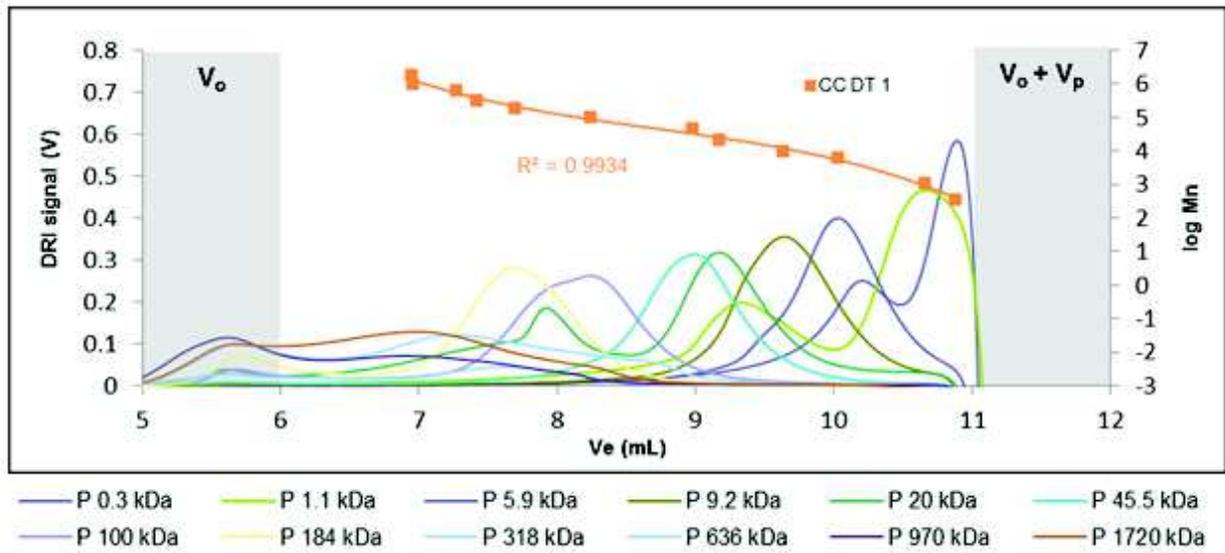


Figure 45 Chromatogrammes des standards de pullulan préparés en DT 1
(solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Par conséquent, les volumes hydrodynamiques des standards de pullulane sont d'autant plus affectés que la concentration en TBAF est élevée comme le montre la Figure 46 pour les standards de masse molaire 20 et 636 kDa.

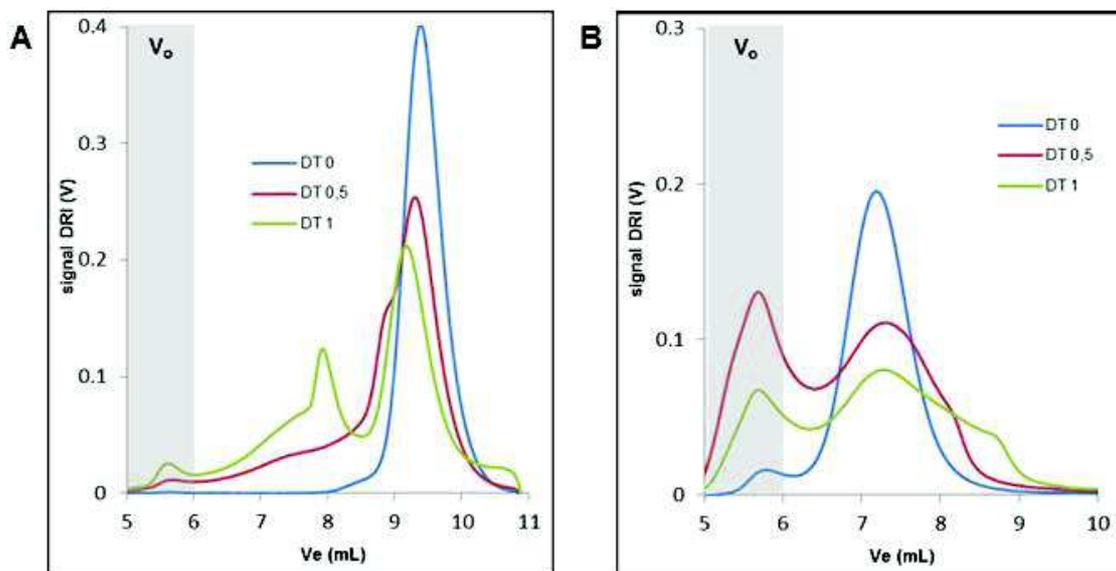


Figure 46 Influence de la teneur en TBAF sur les profils de standards (A= P 20 kDa ; B= P 636 kDa)

Par conséquent, la présence de TBAF en solution pour la préparation des standards semble affecter leur volume hydrodynamique, du fait de l'agrégation des molécules de TBAF sur les chaînes de pullulanes.

III.3.2.3 Comparaison des courbes de calibration

Les courbes de calibration ont été établies à partir des volumes d'élution du pic majoritaire de chaque standard qui élue dans la zone de fractionnement spécifique [Ve min ; Ve max] (Figure 47). Les courbes de calibration obtenues sont de bonne qualité avec des coefficients de corrélation respectifs R^2 supérieurs à 0,99. Les courbes de calibration présentent un intervalle de séparation spécifique similaire [6,6 mL ; 10,9 mL].

Les courbes de calibration CC DT 0 et CC DT 0,5 sont superposables, par conséquent elles peuvent être considérées identiques. Concernant CC DT 1, bien que l'allure de la courbe semble similaire aux 2 précédentes, la courbe de calibration est légèrement différente.

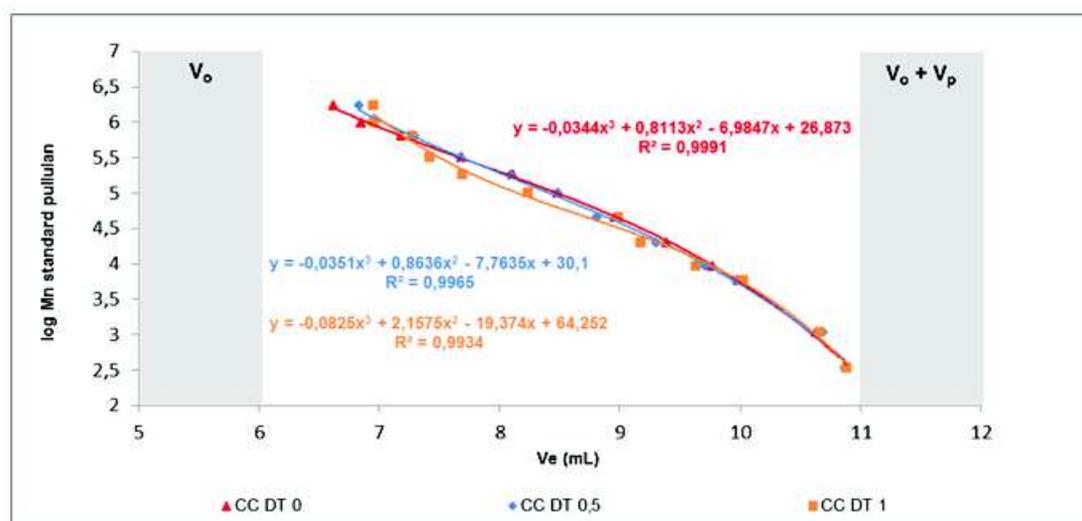


Figure 47 Courbes de calibration (CC) obtenus par fractionnement SEC de standards de pullulane selon le solvant DT de préparation, avec $y = \log Mn$ et $x = V_e$

Du fait de la concentration en TBAF supérieure, les volumes hydrodynamiques respectifs des standards préparés à une concentration en TBAF de 10 mg/mL (DT 1) sont plus affectés que les mêmes standards préparés avec une solution TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 5 mg/mL (Figure 48). C'est notamment le cas, pour les standards P 9,2 kDa à P 318 kDa pour lesquels, les volumes d'élution respectifs diminuent avec l'augmentation de la concentration en TBAF en solution. Ce phénomène démontre l'augmentation du volume hydrodynamique des chaînes de standard en présence de TBAF.

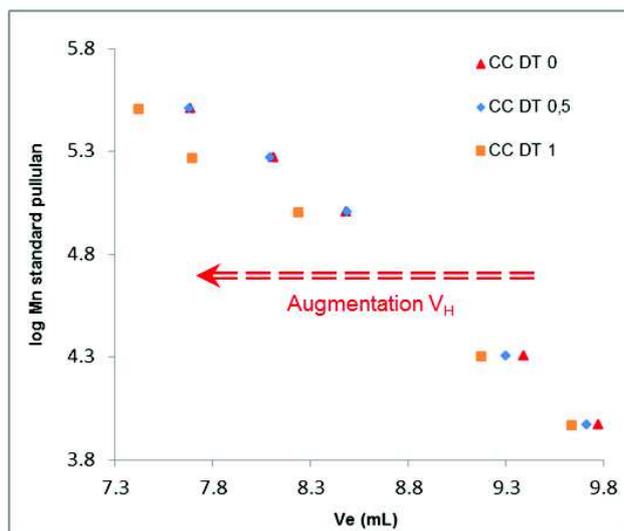


Figure 48 Evolution des volumes d'élution en fonction de la concentration en TBAF

Les standards P 0,3 kDa à P 5,9 kDa présentent des volumes d'élution identiques. Les volumes hydrodynamiques sont similaires et faiblement affectés par la présence du TBAF en solution. Les standards de masse molaire supérieure à P 636 kDa, les volumes d'élution restent sensiblement identiques malgré la présence de molécules de TBAF en solution.

III.3.2.4 Discussion

La présence de TBAF dans les solutions de standard affecte les volumes hydrodynamiques des standards. L'adsorption des molécules de TBAF en solution sur les chaînes de standard génère une augmentation des volumes hydrodynamiques de ces standards. Pour tous les standards analysés, il y a apparition d'une population présentant un volume hydrodynamique important. Pour les standards de haute masse molaire, ce phénomène conduit à une forte augmentation du taux d'exclusion.

Deux hypothèses sont possibles pour expliquer ce phénomène comme proposé sur la Figure 49. Les pullulanes étant solubles dans le DMSO pur, les molécules de TBAF en solution n'interviennent pas dans le mécanisme de dissolution.

Par conséquent :

- Soit le TBAF se concentre, s'agrège sur les chaînes de pullulane déjà dissociées.
- Soit le TBAF améliore la dissolution et permet le dépliement total des chaînes.

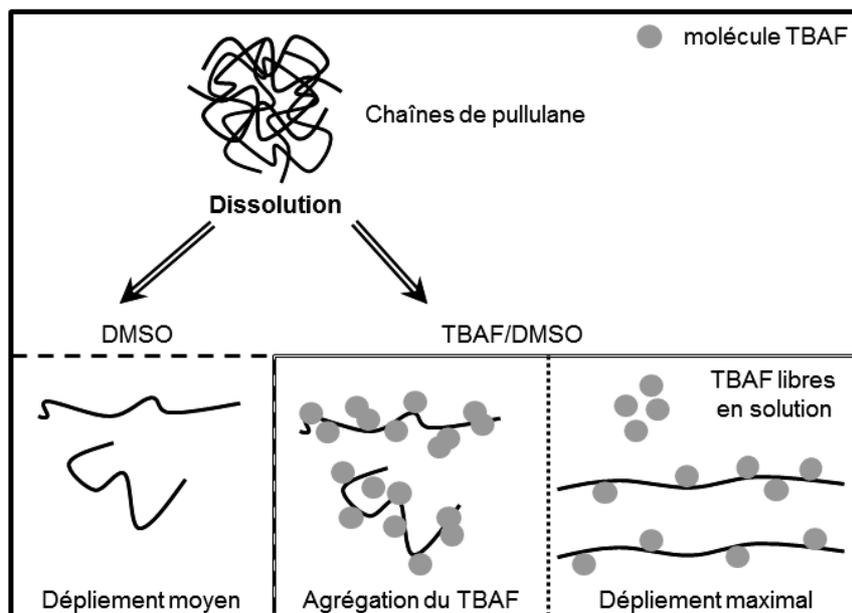


Figure 49 Influence des molécules de TBAF sur les chaînes polymériques

Dans les deux cas de figure envisagés, la présence du TBAF en solution engendre une modification du volume hydrodynamique des standards. Des phénomènes similaires ont été observés dans le cas de standards de pullulane préparés dans différentes solutions de LiCl/DMAc (Striegel and Timpa, 1996b; Strlič *et al.*, 2002).

Les courbes de calibration obtenues à partir des volumes d'élution des standards dans l'intervalle de séparation spécifique sont superposables avec un bon coefficient de corrélation.

Par conséquent, pour la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de masse molaire inconnue, le choix de la courbe de calibration utilisé importe peu. Néanmoins, l'application de la courbe de calibration CC DT 0 correspondant aux standards préparés dans le DMSO pur sera privilégiée.

III.3.3 CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION STERIQUE APPLIQUEE AUX ECHANTILLONS DE CELLULOSE NON-DERIVATISES

III.3.3.1 Influence du TBAF sur la taille des échantillons Avicel

Dans la littérature, il est décrit que l'augmentation de la quantité de LiCl en solution de LiCl/DMAc favorise la dissolution des échantillons de cellulose (Strlič *et al.*, 2002).

Par analogie, l'étude de l'influence de la teneur en TBAF dans la solution de préparation TBAF/DMSO, sur les volumes hydrodynamiques des échantillons de cellulose Avicel est réalisée. Différents échantillons de cellulose Avicel ont ainsi été préparés à des concentrations variables de TBAF en solution (de 100 à 2,5 mg/mL). Les chromatogrammes obtenus sont représentés sur la Figure 50.

Les chromatogrammes obtenus démontrent une forte influence de la concentration en TBAF sur le fractionnement des échantillons, et par conséquent sur le volume hydrodynamique, d'un même échantillon de cellulose.

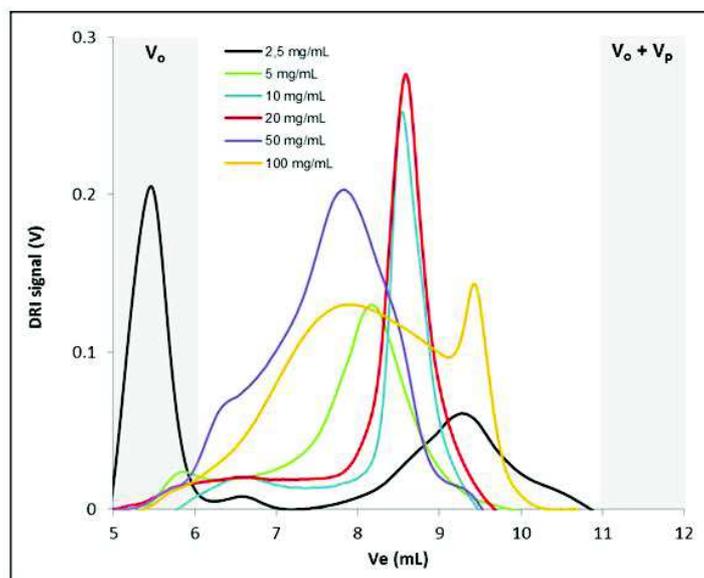


Figure 50 Chromatogrammes cellulose Avicel à 1 mg/mL, préparée à différentes concentrations en TBAF (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Les échantillons préparés avec les plus fortes concentrations en TBAF, 100 et 50 mg/mL, présentent des chromatogrammes avec un pic étalé, résultant d'une hétérogénéité des échantillons. Le chromatogramme de l'échantillon Avicel préparé à partir d'une solution TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 100 mg/mL présente deux pics d'élution.

Les chromatogrammes d'échantillons de plus faible concentration en TBAF, 2,5 et 5 mg/mL présentent d'importantes différences. Le pic d'élution de l'échantillon préparé à 5 mg/mL est légèrement étalé, alors que le pic d'élution de l'échantillon préparé à 2,5 mg/mL présente 2 pics nettement distincts. Le 1^{er} pic est élué dans le volume mort V_0 de la colonne et représente la majorité du signal (> 50 %). Le 2nd pic est très étalé.

Enfin, les pics d'élution des échantillons préparés avec des concentrations en TBAF de 10 et 20 mg/mL présentent un aspect bien défini et similaire (Figure 51).

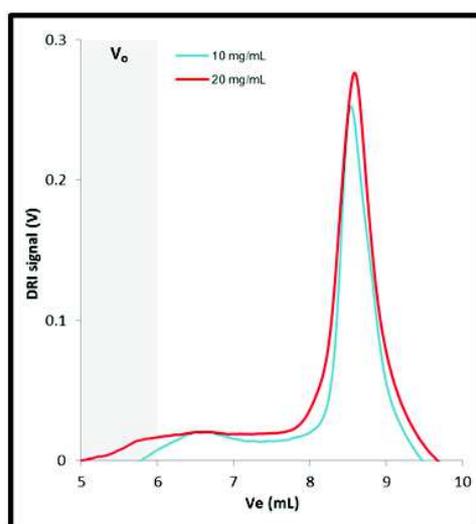


Figure 51 Chromatogrammes des échantillons Avicel préparés [TBAF] = 10 et 20 mg/mL (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Différentes hypothèses peuvent expliquer ces phénomènes (Figure 52).

Une concentration insuffisante en TBAF ne permet pas une dissociation totale des chaînes de cellulose en solution. C'est le cas des échantillons préparés avec des solutions de TBAF de concentration 2,5 et 5 mg/mL. Une partie de l'échantillon est dissous tandis qu'une autre partie est juste gonflée.

Par conséquent la partie de l'échantillon gonflé peut présenter un volume hydrodynamique trop important pour permettre sa rétention dans le système de colonne (2,5 mg/mL). Dans des conditions idéales en molécules de TBAF en solution, la dissolution est totale et permet une dissociation totale des chaînes de cellulose, sans que la teneur en TBAF influe de manière significative sur les volumes hydrodynamiques (10 et 20 mg/mL).

Enfin, la teneur en TBAF est plus importante que nécessaire pour réaliser la dissolution.

Les fibres de cellulose sont totalement dissociées. Cependant, les molécules de TBAF en excès peuvent soit (i) s'agréger sur les chaînes libres, soit (ii) rompre les liaisons hydrogène intra-moléculaire, responsables de la conformation de la cellulose en solution, et permettre le dépliement total de la chaîne. Dans ces 2 cas, le volume hydrodynamique des chaînes de cellulose augmente (50 et 100 mg/mL).

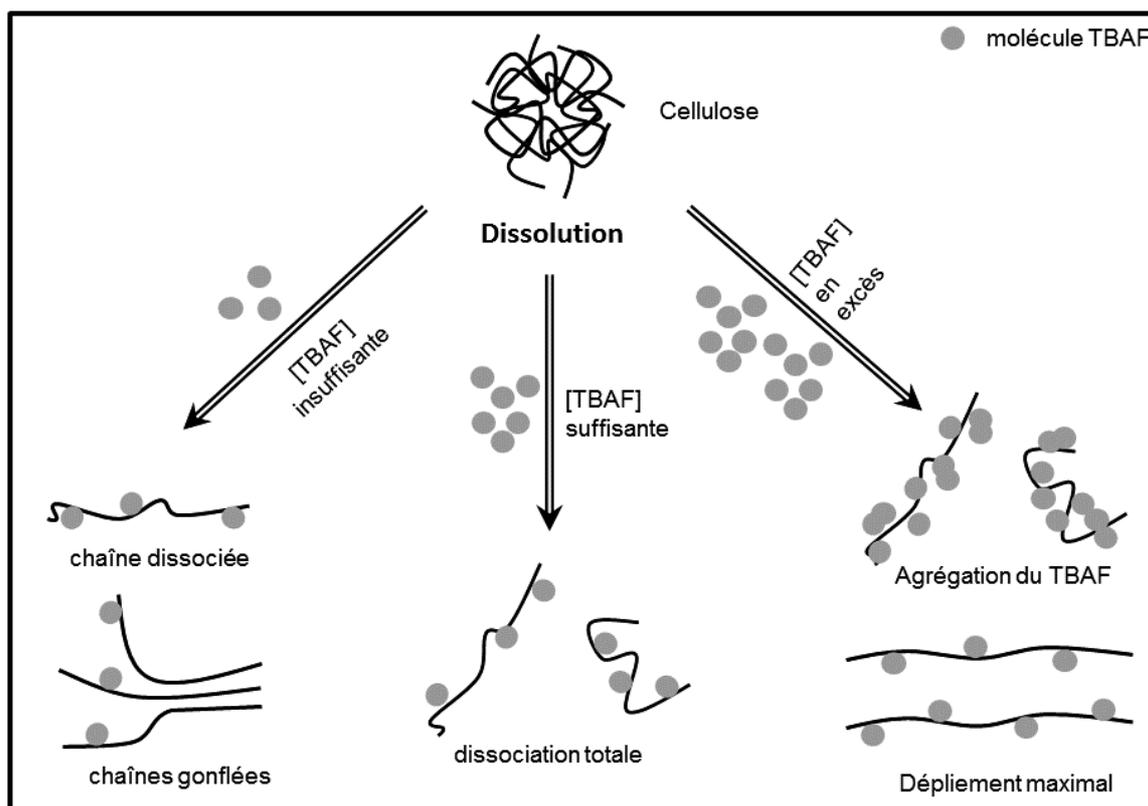


Figure 52 Conformations possibles des chaînes de cellulose dissoutes selon la concentration en TBAF

Pour les différents échantillons Avicel analysés, les différentes valeurs de masses molaires (MM sup, MM inf, M_n et M_w) ont pu être déterminées grâce aux chromatogrammes et à la courbe de calibration CC DT 0 (Figure 41) déterminées précédemment. Ces valeurs ont pu être comparées aux valeurs données par les fournisseurs et aux valeurs M_v mesurées par viscosimétrie (chapitre II). Ces valeurs sont résumées dans le Tableau 28.

Les masses molaires obtenues pour les échantillons préparés aux concentrations 100, 50, 5 et 2,5 mg/mL sont très nettement supérieures aux valeurs de référence (MM fournisseur et M_v). A trop forte ou trop faible concentration en TBAF, le volume hydrodynamique des échantillons est anormalement élevé ce qui conduit à une surestimation des masses molaires calculées.

Tableau 28 Comparaison avec les valeurs fournisseurs et viscosimétriques, des masses molaires obtenues par calibration relative de l'échantillon Avicel préparé avec différentes concentrations en TBAF.

[TBAF]	% exclu	I _p	M _n *	M _w *	M _v *		MM*		MM* fournisseur	
					non-traité	traité	inf	sup	inf	sup
100	2,4	2,7	82,1	221,3	36,6	47,8	7,2	27,6	24,3	56,7
		1,1	12,6	14,2			27,6	2142,7		
50	3,5	2,1	110,0	233,4			31,7	2142,7		
20	0,9	1,1	43,6	48,4			17,8	176,4		
10	0,8	1,1	43,8	46,9			20,7	125,9		
5	1,3	1,3	68,2	87,0			24,0	1541,6		
2,5	64,5	1,4	52,5	74,6			3,6	125,9		

* M_n, M_w, M_v et MM sont exprimées en kDa ; [TBAF] en mg/mL

Les phénomènes d'agrégation de molécules de TBAF sur les chaînes polymériques de cellulose dus à la forte teneur en TBAF (50 et 100 mg/mL) ou les phénomènes de dissolution partielle (2,5 et 5 mg/mL) peuvent être responsables de ces volumes hydrodynamiques importants des échantillons en solution.

En revanche, les échantillons préparés à 10 et 20 mg/mL de TBAF présentent des masses molaires sensiblement similaires aux masses molaires de référence. A ces concentrations en TBAF, les systèmes de solvant TBAF/DMSO respectifs, dissolvent parfaitement la cellulose Avicel, sans modification apparente des volumes hydrodynamiques de ces échantillons.

D'après la littérature, la détermination de la distribution de masses molaires par méthode relative nécessite la préparation des standards et des échantillons inconnus dans les mêmes conditions. Les masses molaires de l'échantillon Avicel préparés avec une solution TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 10 mg/mL, sont déterminées à partir de CC DT 1 et comparées à celles déterminées avec CC DT 0 (Tableau 29).

Tableau 29 Masses molaires de Avicel préparé en TBAF de 10 mg/mL, selon deux courbes de calibration

	% exclu	I _p	M _n *	M _w *	MM*	
					inf	sup
CC DT 0	0,8	1,1	43,8	46,9	17,8	176,4
CC DT 1	0,9	1,1	45,7	49,8	26,0	202,2

* M_n, M_w et MM sont exprimées en kDa

Les valeurs obtenues par l'emploi des CC DT 1 et CC DT 0 sont proches. Ces résultats confirment que nos courbes de calibration sont similaires. Par conséquent, l'utilisation de la courbe de calibration CC DT 0 pour l'ensemble des échantillons semble possible et validée.

Le système de solvant TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 10 mg/mL permet l'obtention de chromatogrammes mieux définis. Ce système de solvant est privilégié pour la dissolution des autres échantillons de cellulose.

III.3.3.2 Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivatisés préparés dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 10 mg/mL

Les chromatogrammes des échantillons de cellulose préparés à partir d'une solution de TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 10 mg/mL sont représentés sur la Figure 53. Les chromatogrammes obtenus mettent en évidence deux comportements très distincts que l'on peut associer à deux catégories de cellulose : (i) les celluloses de faible masse molaire (Avicel et Fibres de Coton) et (ii) les celluloses de haute masse molaire (α -cellulose et Vitacel).

Les chromatogrammes des celluloses α -cellulose et Vitacel obtenus (Figure 53), présentent deux pics d'élution distincts, correspondant à deux populations de molécules. Le 1^{er} pic est élué dans le volume mort V_0 indiquant la présence de molécules dont le volume hydrodynamique est trop important pour être fractionné par le système. Le 2nd pic est élué entre 10 et 11 mL et indique la présence de macromolécules de volume hydrodynamique faible. Ce 2nd pic peut correspondre à l'élution de molécules de TBAF sous la forme complexée TBAF/DMSO (Figure 17).

Ce phénomène n'a jamais pu être vérifié, malgré l'injection de solution fortement concentrée en TBAF, sans cellulose. L'absence de TBAF en quantité suffisante ne permet pas une dissolution totale des chaînes de cellulose. Ainsi, plus de 40 % des échantillons injectés sont exclus du système d'analyse. Par conséquent, la majeure partie de l'échantillon est seulement gonflée et non-dissoute.

Ces celluloses nécessitent l'apport de plus de TBAF en solution pour permettre la dissociation des chaînes de cellulose entre elles. Les chaînes de cellulose non-dissociées représentent de grand volume hydrodynamique, pouvant subir d'importantes forces de cisaillement. Celles-ci peuvent ralentir le déplacement de ces chaînes de cellulose au cours du fractionnement et peuvent impacter l'élution des molécules de TBAF.

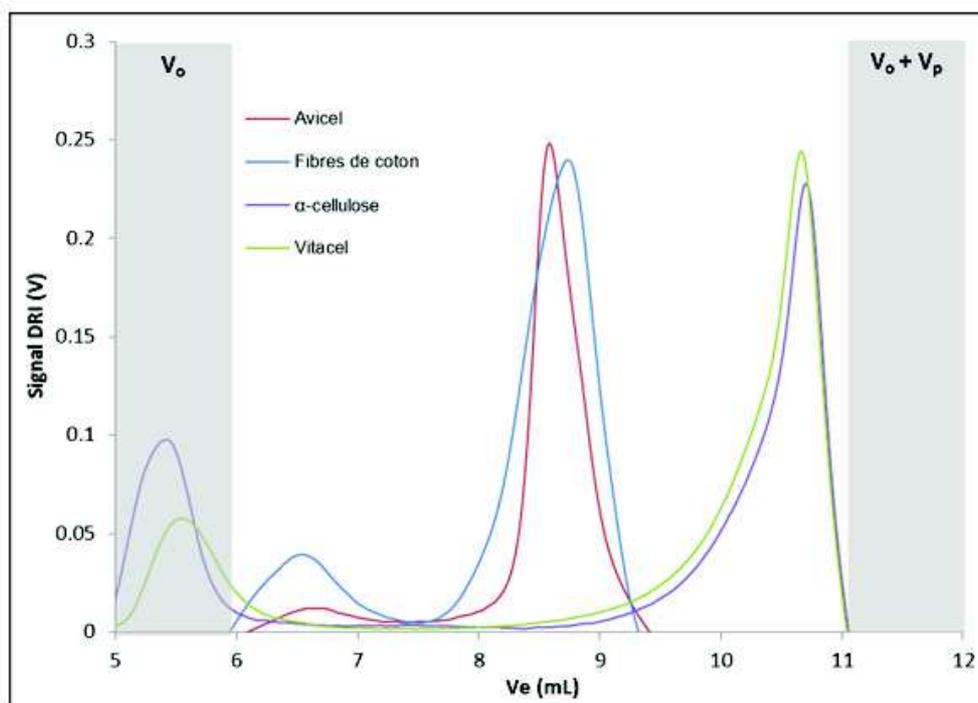


Figure 53 Chromatogrammes des différents échantillons de cellulose (1 mg/mL) préparés en TBAF/DMSO avec [TBAF] = 10 mg/mL (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Les chromatogrammes des échantillons Avicel et Fibres de Coton présentent un seul pic d'élution d'aspect bien défini (Figure 53) entre 8,3 et 9,6 mL pour Avicel, contre 7,8 et 9,2 mL pour Fibres de Coton. Le signal d'élution de l'échantillon Fibres de Coton est plus étalé que celui de l'échantillon Avicel.

Les chromatogrammes des échantillons α -cellulose et Vitacel ne permettent pas de déterminer des valeurs de masses molaires cohérentes. Par conséquent, seules les masses molaires des échantillons Avicel et Fibres de Coton déterminées grâce à la courbe de calibration CC DT 0 sont présentées dans le Tableau 30.

Tableau 30 Masses molaires obtenues par CC DT 0 et comparaison avec les masses molaires références pour les échantillons de cellulose préparés avec TBAF/DMSO de [TBAF] = 10 mg/mL

	% exclu	I _p	M _n *	M _w *	M _v *		MM*		MM* fournisseur	
					non-traité	traité	inf	sup	inf	sup
Avicel	0,8	1,1	43,8	46,9	36,6	47,8	17,8	176,4	24,3	56,7
Fibres de Coton	1,2	1,2	38,4	47,6	43,9	44,4	20,7	257,8	30,8	48,6

* M_n, M_w, M_v et MM sont exprimées en kDa

Pour les celluloses de faible masse molaire Avicel et Fibres de Coton, les différentes masses molaires déterminées par la courbe de calibration CC DT 0 sont en accord avec les masses molaires de références (fournisseurs et viscosimétriques). Dans ces conditions d'analyse, il est possible de déterminer les masses molaires d'échantillons cellulosiques de faible masse molaire.

Le système de solvant TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 10 mg/mL permet de dissoudre tous les échantillons de cellulose. Néanmoins, dans ces conditions, seule l'analyse SEC d'échantillons de cellulose de faible masse molaire semble correcte. En effet, ces conditions de dissolution ne permettent pas une dissociation totale des chaînes de cellulose, α -cellulose et Vitacel, pouvant présenter de trop fortes masses molaires. De plus, la possible présence de résidus d'hémicelluloses peut perturber la dissolution de ces échantillons. L'analyse SEC dans ces conditions de préparation ne permet pas la détermination de leurs masses molaires.

III.3.3.3 Détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons de haute masse molaire non-dérivatisés préparés dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 20 mg/mL

Le système de solvant TBAF/DMSO, de concentration en TBAF de 10 mg/mL, ne permet pas de déterminer la distribution de masses molaires des échantillons de cellulose de haute masse molaire. Dans ces conditions, les échantillons ne sont que partiellement dissous provoquant l'exclusion de la majorité de l'échantillon injecté, et notamment la partie cellulosique gonflée. La préparation de ces échantillons de cellulose avec TBAF/DMSO de concentration en TBAF de 20 mg/mL a permis l'évaluation des performances de dissolution.

Les chromatogrammes obtenus pour l' α -cellulose et la Vitacel sont représentés sur la Figure 54. Ces chromatogrammes sont comparés à ceux obtenus précédemment dans le TBAF/DMSO à 10 mg/mL de concentration en TBAF. Comme précédemment, les échantillons α -cellulose et Vitacel présentent deux pics d'élution nettement distinctifs.

Un 1^{er} pic est élué entre V_0 et V_e min et représente plus de 50 % des molécules injectées. Ce pic correspond à la présence au sein de l'échantillon d'une population partiellement dissoute, à l'état gonflée, dont le volume hydrodynamique est trop important pour permettre son fractionnement.

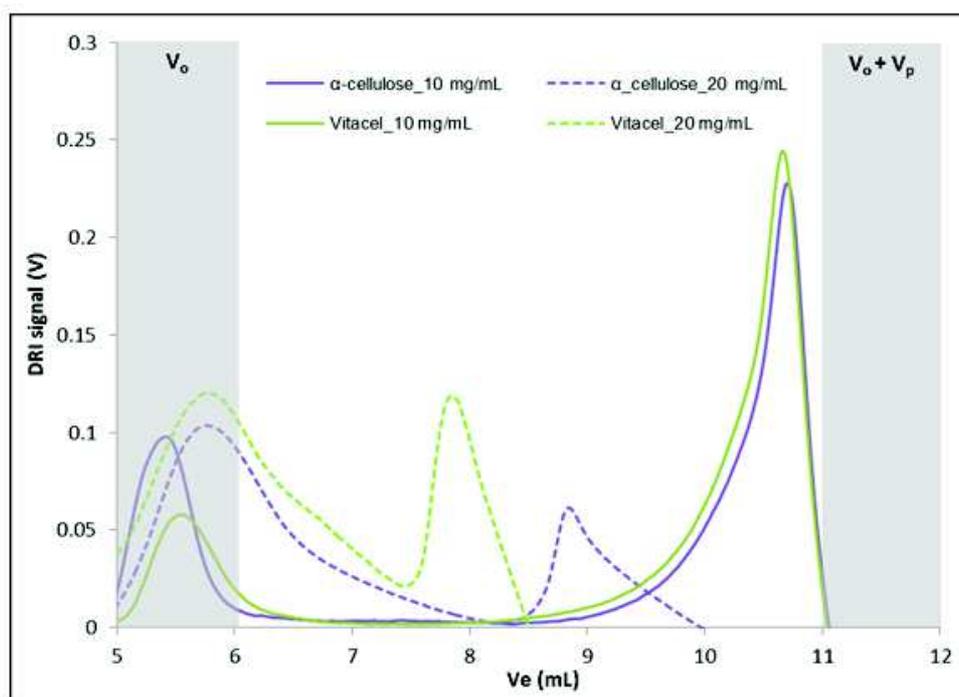


Figure 54 Chromatogrammes de α -cellulose et Vitacel (1 mg/mL) préparées en TBAF/DMSO de concentration 10 et 20 mg/mL (solvant d'élution : DMSO ; débit d'élution : 0,5 mL/min ; 60°C)

Un 2nd pic est élué dans le domaine spécifique d'analyse du système. Pour α -cellulose, ce pic élué entre 8,5 et 10 mL. Ce pic peut être attribué à une partie de l'échantillon de α -cellulose dissous. Pour Vitacel, ce pic est mieux défini, sans épaulement, avec un volume d'élution compris entre 7,5 et 8,3 mL. Ce pic correspond à l'échantillon de Vitacel en solution.

Ainsi, l'augmentation de la concentration en TBAF pour les échantillons de haute masse molaire, favorise la dissociation d'une partie des chaînes de cellulose. Néanmoins, la persistance de deux pics démontre que cette concentration n'est pas encore suffisante pour permettre la dissociation de la totalité de l'échantillon pour en permettre l'analyse SEC.

Les masses molaires des échantillons α -cellulose et Vitacel ont été déterminées en utilisant la courbe de calibration CC DT 0 et sont présentées dans le Tableau 31. Plus de 50 % des échantillons α -cellulose et Vitacel injectés sont exclus de l'analyse. Ce phénomène s'explique par la persistance d'une grande proportion de population non-dissoute. L'augmentation de la concentration en TBAF tend à améliorer la dissociation totale des chaînes de cellulose.

Tableau 31 Masses molaires de celluloses préparées avec TBAF/DMSO de [TBAF] de 20 mg/mL obtenues par CC DT 0, et comparées aux masses molaires références (fournisseur et viscosimétrique)

	% exclu	I_p	M_n^*	M_w^*	M_v^*		MM^*		MM^* fournisseur	
					<i>non-traité</i>	<i>traité</i>	<i>Inf</i>	<i>sup</i>	<i>inf</i>	<i>sup</i>
α -cellulose	62,3	1,7	40,2	68,5	196,3	190,2	5,8	61,2	113,1	194,2
Vitacel	52,6	1,1	201,2	217,3	174,1	195,2	80,5	317,5	71,3	365,2

* M_n , M_w , M_v et MM sont exprimées en kDa

Pour l'échantillon d' α -cellulose préparé dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 20 mg/mL, les masses molaires déterminées sont très nettement inférieures à celles des données de référence.

Au contraire, pour l'échantillon Vitacel préparé dans TBAF/DMSO de [TBAF] = 20 mg/mL, les masses molaires obtenues sont sensiblement similaires aux valeurs mesurées par viscosimétrie ou fournisseur.

III.3.3.4 Discussion

En fonction de la concentration de TBAF en solution et selon la nature de l'échantillon, les fibres de cellulose présentent une dissociation plus ou moins totale. La disponibilité de TBAF en solution est un facteur important quant à la détermination de masses molaires des échantillons préparés.

Une concentration insuffisante de TBAF en solution ne permet qu'une dissolution incomplète de la cellulose. La persistance de population dite gonflée ou en partie dissoute, exclue une majorité de l'échantillon des limites de rétention du système chromatographique.

Pour des concentrations supérieures, les volumes hydrodynamiques des échantillons de cellulose sont fortement affectés, comme ceux des échantillons Avicel préparés avec une concentration en TBAF de 50 et 100 mg/mL. En effet, les volumes hydrodynamiques semblent modifiés par l'excès de TBAF.

Cette augmentation de la structure volumique peut s'expliquer par une forte agrégation des molécules de TBAF à la surface des chaînes de cellulose dissociées ou à un dépliement total de la chaîne de cellulose en solution dû à la rupture des liaisons intra-moléculaires au sein des chaînes de cellulose.

L'augmentation de la teneur en TBAF en solution facilite la dissolution apparente des échantillons cellulosiques et permet une dissociation totale des chaînes.

A concentration en TBAF suffisante, les volumes hydrodynamiques des échantillons Avicel et Fibres de Coton préparés dans les solutions de TBAF/DMSO de $[TBAF] = 10$ et 20 mg/mL, ne sont pas affectés par les molécules de sel en solution. Le système semble idéal et permet la détermination correcte, relativement aux valeurs fournisseur et mesurées par viscosimétrie, de la distribution de masses molaires de ces échantillons.

Cette concentration en TBAF n'est pas constante à tous les échantillons de cellulose. Pour permettre une dissociation totale, les échantillons de haute masse molaire nécessitent des concentrations en TBAF supérieures aux échantillons de plus faible masse molaire. Ainsi, la disponibilité des molécules de TBAF en solution doit être d'autant plus importante que la longueur des chaînes de cellulose à dissocier augmente.

Une explication possible peut être l'utilisation d'un système d'analyse hétérogène, où le solvant d'élution et de préparation sont différents. Ainsi, au cours de l'injection et du fractionnement, une partie des molécules de TBAF contenue dans l'échantillon injecté se dissout dans le solvant d'élution, le DMSO. La concentration en TBAF dans les échantillons de cellulose s'en retrouve réduite, du fait de la dilution dans le système d'élution des échantillons.

Cette dilution du TBAF dans le DMSO (Figure 55B) au cours du mécanisme de fractionnement peut générer une diminution de la solubilité des échantillons de cellulose dissous. Les chaînes des échantillons de plus faible masse molaire restent dissociées (Figure 55A) tandis que les chaînes des échantillons de plus haute masse molaire peuvent reformer des agrégats (Figure 55C).

Par conséquent, afin d'éviter ces phénomènes, l'utilisation de TBAF dans le solvant d'élution semble nécessaire. En l'état actuel, par chromatographie d'exclusion stérique, ce type de solvant d'élution n'est pas envisageable (III.3.1).

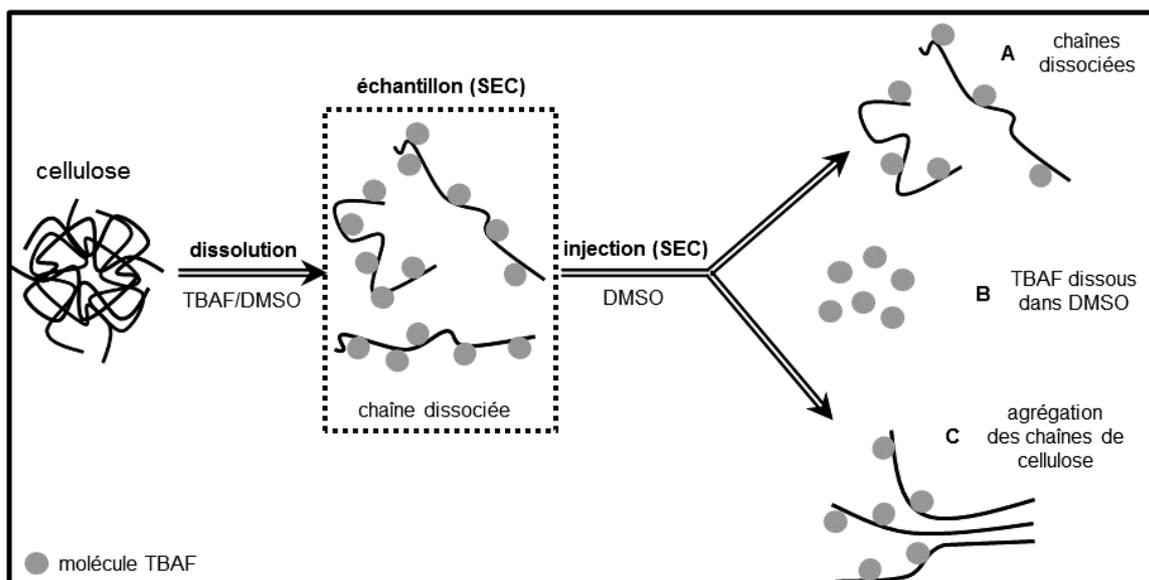


Figure 55 Phénomène de dilution du TBAF au cours du procédé de fractionnement

L'emploi d'une colonne présentant une phase stationnaire de plus faible polarité que les phases stationnaires en PS-DVB, telle que la colonne PolarGel-M (Agilent technologies, Allemagne), pourrait diminuer les interactions possibles avec les molécules de TBAF.

Enfin, l'utilisation d'une méthode de fractionnement différente, telle que l'AsFIFFF, qui ne nécessite pas de phase stationnaire pourrait être une solution.

III.4 CONCLUSION

La concentration en TBAF dans le solvant de dissolution des polymères, de pullulane ou de cellulose, affecte les volumes hydrodynamiques. L'augmentation de la teneur en TBAF dans les solutions de standard de pullulane tend à augmenter le volume hydrodynamique de l'ensemble des standards. Pour les standards de pullulane, l'ajout de TBAF en solution n'est pas nécessaire. Cet ajout dégrade l'aspect des chromatogrammes mais ne modifie pas les courbes de calibration.

Pour les échantillons de cellulose, la concentration de TBAF influe sur l'efficacité du procédé de dissolution : celle-ci peut être (i) partielle lorsque la concentration en TBAF est trop faible provoquant la persistance de fibres de cellulose gonflées ; (ii) idéale et optimale permettant une dissociation totale des fibres sans affecter les volumes hydrodynamiques des échantillons ; ou (iii) totale mais non optimale pour des concentrations en TBAF trop importante. Dans ce dernier cas, l'excédent de TBAF peut s'agréger sur les chaînes de cellulose libres ou rompre les liaisons hydrogène intra-moléculaire permettant le dépliement total des chaînes en solution, et modifier le volume hydrodynamique des échantillons.

Les valeurs de masses molaires obtenues lors de l'analyse de cellulose ne sont pas homogènes. En effet, les chromatogrammes obtenus pour Fibres de Coton sont similaires à ceux obtenus pour Avicel. Ces celluloses présentent des masses molaires proches et faibles. Comme pour Avicel, les masses molaires de Fibres de Coton sont conformes à celles attendues. Dans les mêmes conditions de dissolution, les chromatogrammes obtenus pour les celluloses de plus haute masse molaire, α -cellulose et Vitacel, présentent d'importants pics d'exclusion. Ce phénomène d'exclusion résulte d'une dissociation partielle des chaînes de cellulose due à une concentration insuffisante en TBAF. La présence plus importante de molécules de TBAF en solution favorise la dissociation des chaînes de cellulose.

Pour les celluloses, il semble nécessaire de travailler à des concentrations de TBAF supérieures ou égales à 10 mg/mL afin de permettre une dissociation totale des chaînes de cellulose, et notamment pour les échantillons de cellulose de plus haute masse molaire. L'ensemble des phénomènes décrits par cette étude démontre les limites associées aux conditions de dissolution des échantillons de cellulose, et notamment l'exclusion des échantillons de plus haute masse molaire du fait d'un volume hydrodynamique trop important en solution.

Conclusion Générale

&

Perspectives

Conclusion Générale & Perspectives

La cellulose est un polymère naturel, abondant, renouvelable et biodégradable. Sa structure est variable selon son origine (taux de cristallinité, longueur des chaînes). Du fait de sa semi-cristallinité, sa dissolution dans les solvants usuels est complexe. De nombreux systèmes de solvant ont ainsi été développés pour dissoudre les échantillons de cellulose et appliqués pour le développement de méthodes d'analyse afin de déterminer la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques et le développement de nouveaux procédés de valorisation de la cellulose. En chromatographie d'exclusion stérique, la détermination de la distribution de masses molaires d'échantillons cellulosiques dérivatisés ou non-dérivatisés nécessite l'utilisation de systèmes de solvants généralement toxiques, notamment du LiCl/DMAc. Outre les différents phénomènes indésirables et parasites rapportés, ce système de solvant présente une forte toxicité, contraire aux exigences de la chimie verte.

L'objectif de ces travaux de thèse était de trouver un solvant alternatif, moins toxique, afin de développer une nouvelle méthode pour la détermination de la distribution de masses molaires de différents échantillons de cellulose.

Dans une première partie, l'étude des effets dus à la dissolution de 4 différents types de cellulose dans 4 systèmes de solvants différents LiCl/DMAc, DMSO/DEA/SO₂, BMIM [Cl] et TBAF/DMSO a été réalisée. Chacun des systèmes de solvant affecte différemment la structure de la cellulose. Selon le système de solvant utilisé pour dissoudre nos échantillons, différents niveaux de dégradation ont été observés.

Le BMIM [Cl] diminue de moitié la valeur des DP_v de tous les échantillons dissous. La dissolution par l'intermédiaire des systèmes de solvant LiCl/DMAc et DMSO/DEA/SO₂ affecte les DP_v des échantillons de plus haute masse molaire. Enfin, le TBAF/DMSO semble être le système le moins dégradant : les valeurs de DP_v des celluloses régénérées sont similaires à celles des celluloses non traitées. Ce système de solvant est apparu prometteur comme solvant d'élution et de préparation pour le développement d'une méthode de détermination de la distribution de masses molaires par chromatographie d'exclusion stérique.

Les analyses en SEC ont été réalisées avec le DMSO comme solvant d'élution. L'utilisation du TBAF/DMSO est limitée en l'état, du fait de possibles interactions entre le TBAF en solution avec le copolymère de PS-DVB qui compose la phase stationnaire de la colonne. En effet, l'emploi du TBAF/DMSO comme solvant d'élution a conduit au colmatage du système de fractionnement.

La concentration en TBAF dans les solutions, de pullulane ou de cellulose, affecte les volumes hydrodynamiques de ces polymères. L'augmentation de la teneur en TBAF dans les solutions de standard de pullulane tend à augmenter leur volume hydrodynamique respectif. L'ajout de TBAF en solution n'est pas nécessaire. Cet ajout affecte l'aspect des chromatogrammes mais ne modifie pas les courbes de calibration.

Pour les échantillons de cellulose, la concentration de TBAF influe sur l'efficacité du procédé de dissolution. Lorsque la concentration en TBAF est trop faible, la persistance de fibres de cellulose gonflées est observée. Pour une concentration optimale en TBAF, dépendante de la nature des échantillons de cellulose, la dissociation des chaînes est totale. La quantité de TBAF en solution par rapport à la quantité de cellulose dissoute est suffisante pour dissoudre et dissocier les chaînes de cellulose sans modifier les volumes hydrodynamiques des échantillons en solution. Si la concentration en TBAF est trop importante, la dissociation est totale. Cependant, l'excès de TBAF peut s'agréger sur les chaînes de cellulose libres ou rompre les liaisons hydrogène intra-moléculaire permettant le dépliement total des fibres en solution. Ces phénomènes tendent à augmenter le volume hydrodynamique des échantillons.

Les masses molaires obtenues lors de l'analyse de cellulose ne sont pas homogènes. Pour les échantillons de faible masse molaire, Avicel et Fibres de Coton, les masses molaires sont conformes aux valeurs fournisseurs et viscosimétriques.

Dans les mêmes conditions, les chromatogrammes obtenus pour les celluloses de plus haute masse molaire, α -cellulose et Vitacel, présentent d'importants pics d'exclusion, résultant d'une dissociation partielle des chaînes de cellulose. Pour les échantillons de haute masse molaire, la concentration de TBAF en solution semble insuffisante. L'augmentation de la concentration de TBAF en solution semble favoriser la dissociation des chaînes de cellulose. L'augmentation des volumes hydrodynamiques respectifs des standards de pullulane en solution de TBAF/DMSO de concentration en TBAF supérieure à 10 mg/mL rend difficile la préparation, et l'analyse, d'échantillons de cellulose, notamment de plus haute masse molaire, à des concentrations en TBAF supérieures à 10 mg/mL.

Cette étude démontre les limites associées aux conditions de dissolution des échantillons de cellulose et notamment, l'importance de la disponibilité des molécules de TBAF en solution. L'utilisation d'un système d'analyse hétérogène peut expliquer ce phénomène, du fait de la réduction de la concentration en TBAF dans les échantillons de cellulose au cours de l'analyse. En effet, une proportion des molécules de TBAF peut se répartir au sein du solvant d'élution. Cette dilution de molécules de TBAF conduit à une baisse de la solubilité des échantillons de cellulose.

De plus, par définition, l'analyse SEC présente certaines limites comme les phénomènes d'adsorption sur la phase stationnaire qui limitent son utilisation pour des échantillons de celluloses de masse molaire importante. Cependant, il semble inévitable d'employer un système homogène d'analyse, avec le TBAF/DMSO comme solvant d'élution. L'homogénéisation du système d'analyse doit permettre l'emploi de détecteur MALS et la détermination absolue de la distribution de masses molaires des échantillons de cellulose.

Le développement d'une technique de fractionnement par AsFIFFF semble approprié afin de pallier aux contraintes connues de la SEC et du fait de l'absence de phase stationnaire. De par sa nature (métallique, céramique ou plastique), le risque d'adsorption sur la membrane d'ultrafiltration est limité, en comparaison de la nature des phases stationnaires composant les colonnes en SEC.

Le fractionnement par AsFIFFF est déjà utilisé pour l'analyse d'échantillons de cellulose dérivatisés en solution aqueuse ou organique (THF). Cette méthode pourrait être une solution pour la détermination de distributions de masses molaires importantes.

Deux obstacles techniques, majeurs, sont la nature de la membrane d'accumulation (semi-perméable) dans le cas d'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés et la thermorégulation du bloc de fractionnement pour l'utilisation de systèmes de solvant présentant une forte viscosité (type DMSO, DMAc ou DMI).

La membrane se compose, dans la majorité des cas, de cellulose régénérée. Du fait de sa nature, la membrane ne permet pas l'utilisation, sans dégradation, de systèmes de solvant permettant la dissolution et l'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés (Annexe D : Effet de la nature du solvant sur la structure de membrane semi-perméable en cellulose régénérée). Le développement de membrane de nature résistant à ces systèmes de solvant présente un grand intérêt. Ainsi, au cours de ces travaux de thèse, la conception d'une membrane céramique semi-perméable, en TiO_2 , a été réalisée. Cependant, cette membrane présente une fragilité importante, limitante les essais de fractionnement (Annexe E : Développement d'une membrane semi-perméable). De la même façon, la conception d'un bloc AsFIFFF a été réalisée en acier. Ce bloc permet la circulation d'un fluide chauffé (eau ou silicone) en circuit fermé, permettant par conduction thermique la thermorégulation du bloc.

Le développement d'autres méthodes FFF pourrait être envisagé, comme la Thermal FFF, basée sur un fractionnement en fonction d'un gradient de température, qui ne nécessite pas l'utilisation de membrane. Cependant, la présence d'ions fluorures peut causer la corrosion du système, limitant son utilisation avec un système de solvant type TBAF/DMSO.

Ainsi, nombreuses sont les méthodes d'analyse permettant la caractérisation de distribution de masses molaires de macromolécules avec des systèmes de solvant commun (aqueux ou organique type THF). Néanmoins, peu de ces techniques peuvent être adaptées pour la caractérisation des distributions de masses molaires d'échantillons de cellulose non-dérivée, nécessitant l'emploi de systèmes de solvant plus complexes, de viscosité importante ou pouvant dégrader le système (phénomène de corrosion ou de dissolution). Répondre aux limites techniques représente un intérêt majeur pour le développement de nouvelles méthodes d'analyse, plus universelles et efficaces, et la conception de nouvelles technologies.

Annexes

ANNEXE A : « BUBBLING » DE SO₂(g) DANS LE DMSO

Basée sur la littérature (Ciolacu *et al.*, 2011; Isogai and Atalla, 1991) et représentée sur la Figure 56, la procédure consiste à faire buller du SO₂ gazeux (procédé « bubbling ») dans une solution de DMSO (100 mL) au travers d'une garde de CaCl₂(s) pendant environ 20 min.

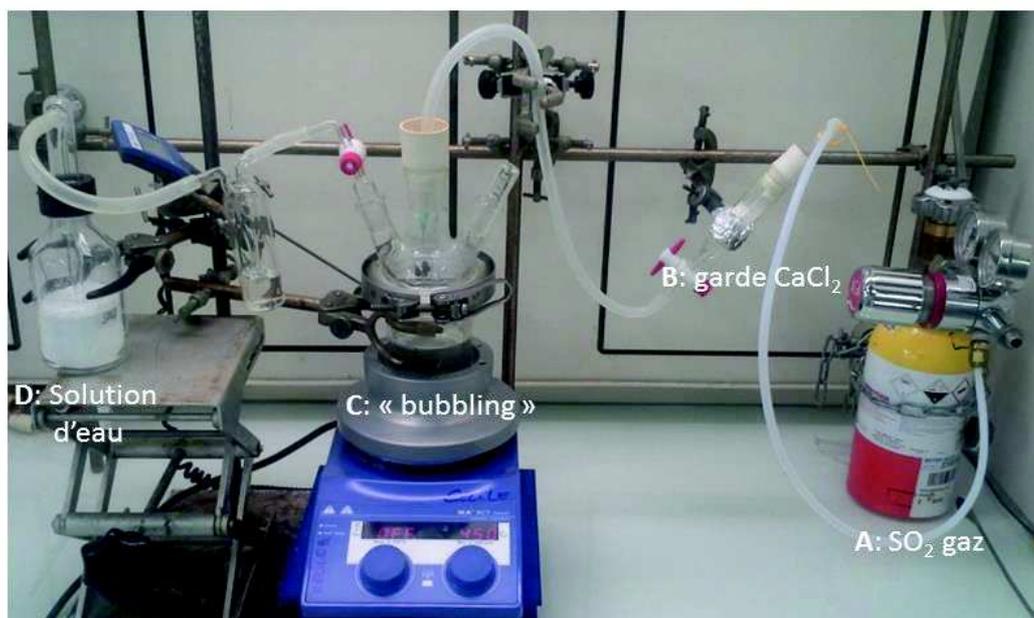


Figure 56 Montage « bubbling » SO₂(g) dans DMSO

Au cours du procédé, la solution chauffe. En sortie du montage, un piège composé d'une solution d'eau est nécessaire afin de capter le SO₂(g) en excès libéré au cours du bullage. Après refroidissement à température ambiante, 1 mL de la solution de DMSO/SO₂ obtenue est versé dans 100 mL d'eau. Cette solution diluée est alors immédiatement titrée afin de déterminer la concentration en SO₂ dans la solution de DMSO/SO₂ préparée, par une solution de soude NaOH à 0,5 N en utilisant un indicateur coloré, la phénolphtaléine. La décoloration de la phénolphtaléine a lieu lorsque l'acide sulfureux formé à partir de SO₂ dans l'eau est neutralisé par la solution de NaOH. Cette solution de DMSO/SO₂ est stable 2 mois à condition de la conserver à température ambiante et dans l'obscurité.

ANNEXE B : TENEURS MOYENNES EN C, H ET O, SELON LA TENEUR EN EAU

Le % massique d'un atome dans une molécule est le rapport entre « la masse de cet atome dans une mole de cette molécule » sur « la masse molaire totale de la molécule ».

Les teneurs %H et %O sont nettement supérieures pour les échantillons commerciaux analysés par rapport aux valeurs théoriques déterminées pour un échantillon de cellulose anhydre. La cellulose a une teneur naturelle en eau comprise entre 3 et 9 % massique de cellulose. Le Tableau 32 suivant présente les teneurs calculées respectives en fonction de ces teneurs en eau.

Tableau 32 Teneurs (%) en C, H et O cellulosique selon le taux d'absorption d'eau inter-fibrillaire

% mH ₂ O	0	3	5	7	9
Masse molaire cellulose (g/mol)	162,14	166,97	170,25	173,49	176,73
Éléments	Teneurs en %				
C	44,44	43,16	42,33	41,54	40,78
H	6,22	6,36	6,45	6,54	6,63
O	49,34	50,50	51,22	51,92	52,60

Malgré les précautions prises au cours de la préparation des échantillons à analyser (étuve à 103 °C 24 h puis sous vide 36 h à 60-80 °C), la cellulose contient un % d'eau au cœur de sa structure.

Cependant, de petites variations de ce comportement hygroscopique (variation du taux) sont observables selon la nature et la structure fibrillaire. En effet, selon la teneur en eau présente au cœur des échantillons de cellulose, les teneurs respectives en C, H et O varient fortement. Même, si la teneur en H ne varie pas significativement, passant de 6,22 à 6,63 % pour des teneurs respectives de 0 à 9 % en eau. Au contraire, les teneurs en C et en O varient fortement. 9 % d'eau génère une diminution de près de 4 % de la teneur en C et une augmentation de plus de 3 % de la teneur en O.

ANNEXE C : OBSERVATIONS MEB DES DIFFERENTS ECHANTILLONS DE CELLULOSE REGENERES

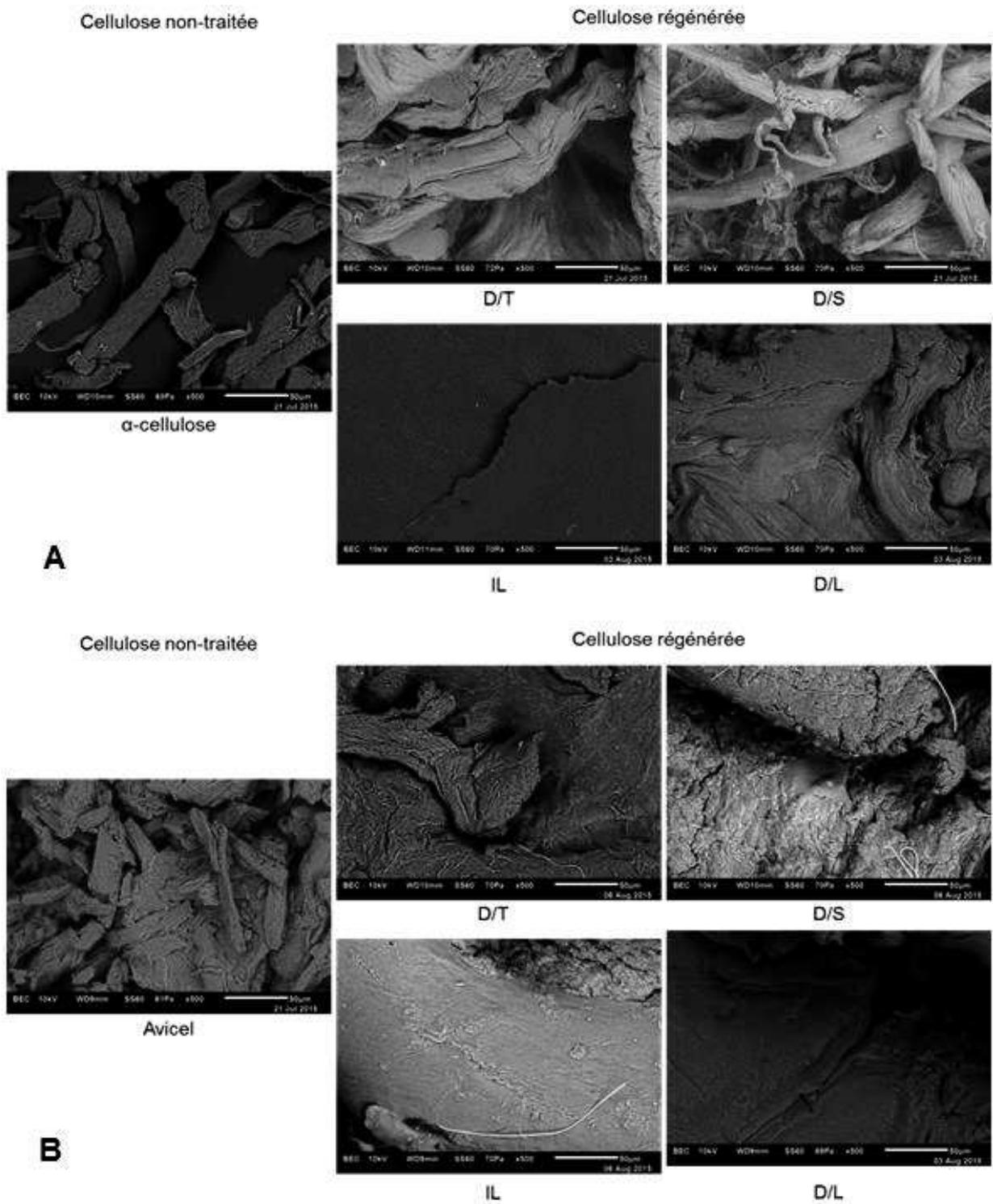


Figure 57 Observations MEB (x500 - 50µm) des échantillons (A) α -cellulose et (B) Avicel, non traités et régénérés

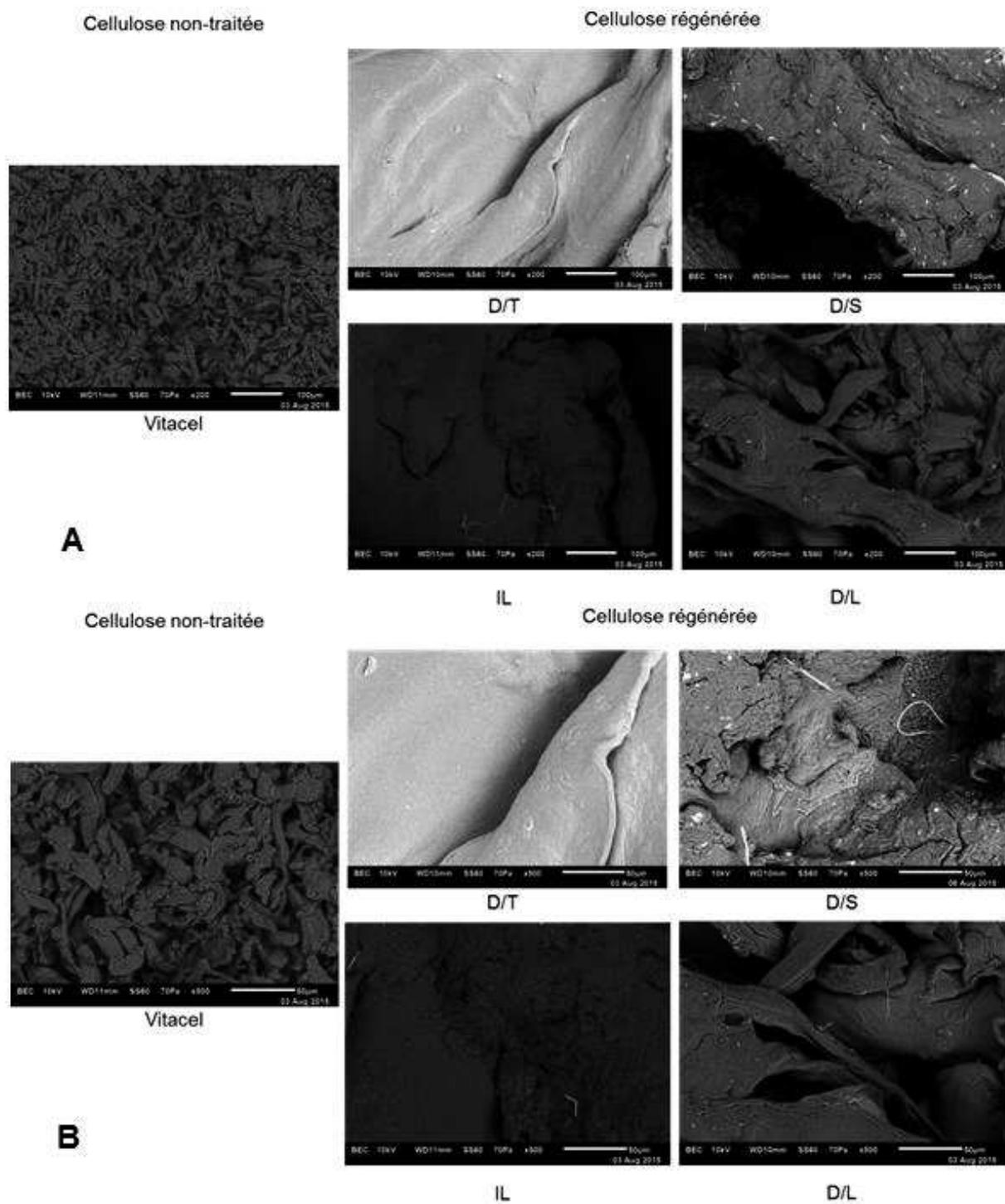


Figure 58 Observations MEB (A : x200 - 100µm & B : x500 - 50µm) des échantillons de cellulose Vitacel non traités et régénérés

ANNEXE D : EFFET DE LA NATURE DU SOLVANT SUR LA STRUCTURE DE MEMBRANE SEMI-PERMEABLE EN CELLULOSE REGENEREE

Objectifs

Etudier le phénomène de dégradation d'une membrane AsFIFFF en cellulose régénérée en fonction de la nature du solvant. Trois systèmes de solvant ont été utilisés : eau/ NaNO_3 (50 mM), le DMSO pur et une solution de TBAF/DMSO (10 mg/mL ou 0,04 mM). Deux conditions ont été étudiées : à température ambiante (20 °C) et à chaud (40 °C).

Observations & traitements des images

Les observations sont effectuées par microscope confocal (Olympus Fluoview FV1000 avec un laser multi-ligne FV5-LAMAR-2 et un laser HeNe(g) laser FV10-LAHEG230-2). Les images ont été enregistrées par les objectifs x40 et x100. Le traitement des images est réalisé par le logiciel image J software 1.47v.

Les observations sont faites par transmission du faisceau laser au travers de la matière. Plus l'épaisseur de la matière est importante, moins la lumière est transmise (zone sombre). Au contraire, la diminution de l'épaisseur de la matière permet une meilleure transmission de la lumière (zone claire). L'augmentation de la proportion des parties claires au détriment des parties sombres est révélatrice de la dégradation respective des membranes.

Résultats

Les observations enregistrées (Figure 59-60) démontrent que la structure de la membrane n'est pas affectée par le système eau/ NaNO_3 (50 mM) quelque soit la température du milieu. Au contraire, l'emploi de solution de DMSO dégrade la structure de la membrane, visible par l'augmentation de la présence de zone claire sur les observations. Cette dégradation est d'autant plus importante que la solution contient du TBAF en solution et que la température du milieu est élevée.

Conclusion

L'utilisation et le développement d'une méthode AsFIFFF pour le fractionnement d'échantillons de celluloses non-dérivatisés nécessite un nouveau système de membrane semi-perméable capable de résister à un système de solvant TBAF/DMSO.

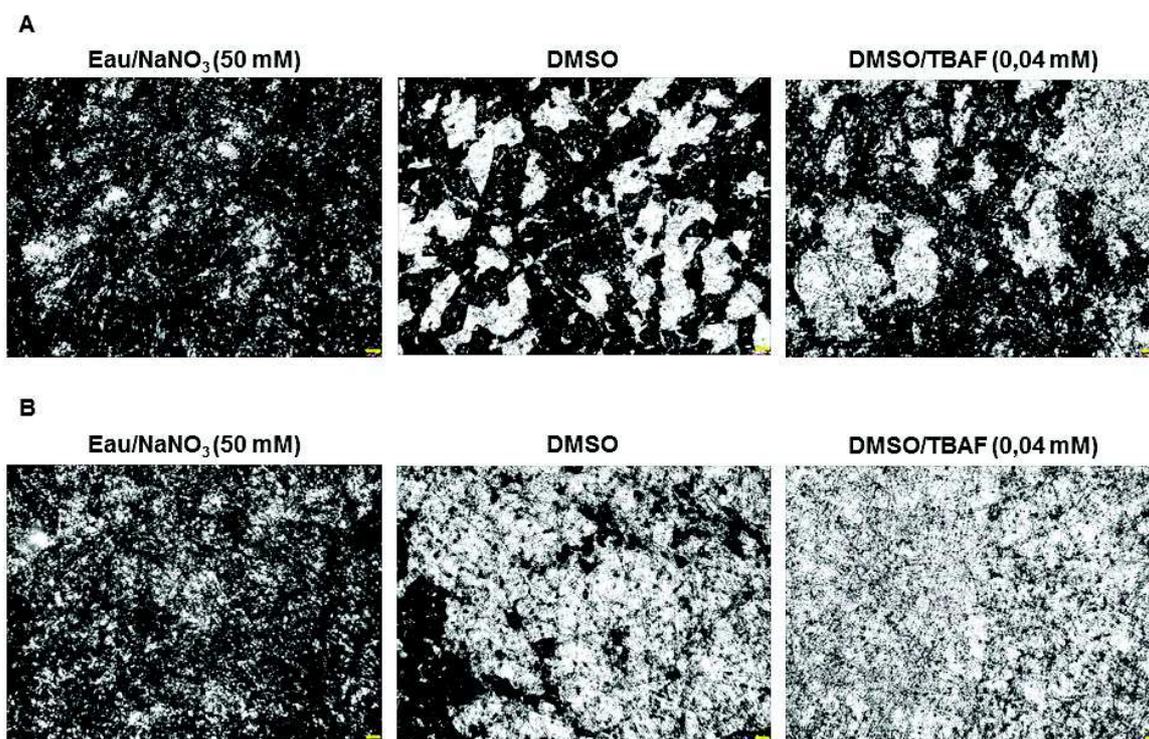


Figure 59 Observations microscopiques (x 40 – 100 μ m) de membrane AsFIFFF en cellulose régénérée après traitement (A) 20°C/2 h & (B) 40 °C/4 h

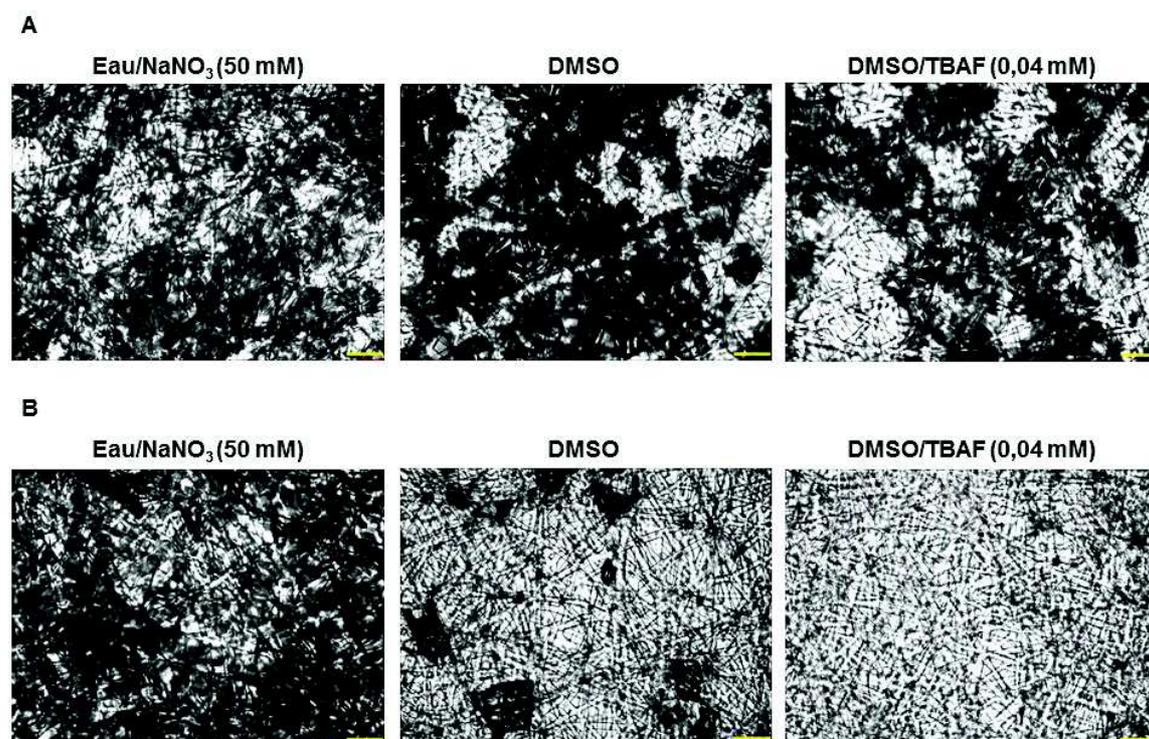


Figure 60 Observations microscopiques (x 100 – 40 μ m) de membrane AsFIFFF en cellulose régénérée après traitement (A) 20°C/2 h & (B) 40 °C/4 h

ANNEXE E : DEVELOPPEMENT D'UNE MEMBRANE SEMI-PERMEABLE

Objectifs

Permettre l'utilisation de systèmes de solvant nécessaire pour la dissolution et l'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés.

Matériel

Fournie par l'entreprise Consensus (Munich, Allemagne), la membrane se compose d'oxyde de Titane et présente les propriétés suivantes (Figure 61) :

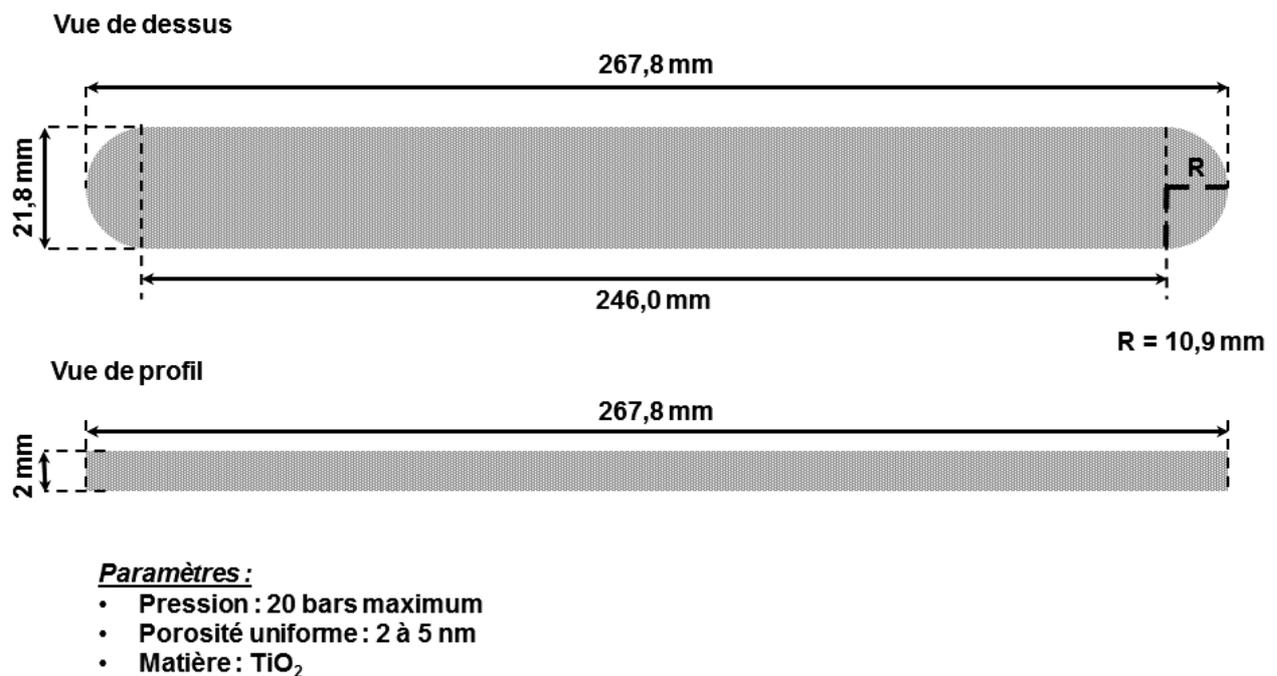


Figure 61 Propriétés physiques de la membrane céramique développée

Observations

Cette membrane (Figure 62A) présente l'avantage de ne pas se dégrader en présence de systèmes de solvant en DMSO. Néanmoins, l'inconvénient majeur de cette membrane est sa fragilité. Après quelques tests, de micro-fissures sont apparues au sein de la structure céramique (Figure 62B). Ces fissures peuvent conduire à la détérioration totale de la membrane (Figure 62C).

Ces dégradations ont été observées après seulement quelques assemblages (force de pression < 1,6 N.m) ou après seulement quelques tests d'analyse préliminaires (en eau/ NaNO_3 50 mM) dont la pression système n'a jamais dépassée les 11 Bars.

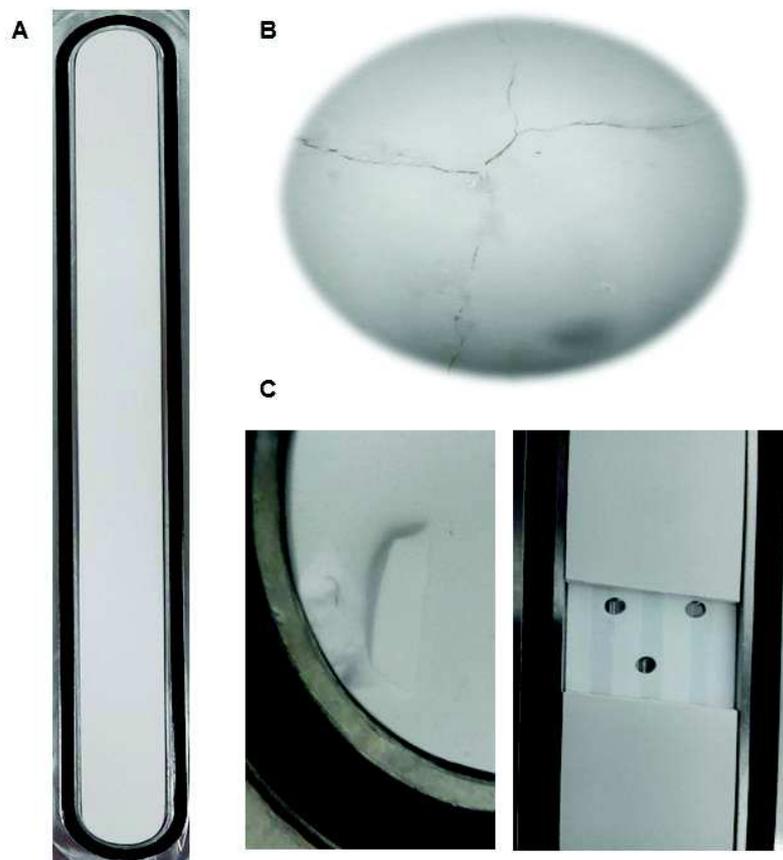


Figure 62 Dégradation de la membrane en céramique

Perspectives

Ce type de membrane apparaît être une solution pour le développement de la méthode AsFIFFF afin de permettre l'analyse d'échantillons de cellulose non-dérivatisés. Cependant, cette technologie est limitée du fait de sa fragilité.

L'amélioration de ce type de membrane est nécessaire, notamment concernant sa résistance mécanique. Plusieurs autres matériaux ont ainsi été envisagés (mylar, ou PTFE, ou d'autres composés céramiques (Alumine (AlO_2) ou Zircane (ZrO_2)). Aucun fournisseur ne peut garantir une porosité unique inférieure au μm .

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

Abdullah, R., Ueda, K., and Saka, S. (2013). Decomposition behaviors of various crystalline celluloses as treated by semi-flow hot-compressed water. *Cellulose* 20, 2321–2333.

Achwal, W.B., and Gupta, A.B. (1968). Studies in a modified cadoxen solvent. *Angew. Makromol. Chem.* 2, 190–203.

Ahn, Y., Kwak, S.-Y., Song, Y., and Kim, H. (2016a). Physical state of cellulose in BmimCl: dependence of molar mass on viscoelasticity and sol-gel transition. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18, 1460–1469.

Ahn, Y., Song, Y., Kwak, S.-Y., and Kim, H. (2016b). Highly ordered cellulose II crystalline regenerated from cellulose hydrolyzed by 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Carbohydr. Polym.* 137, 321–327.

Albano, C., González, J., Ichazo, M., and Kaiser, D. (1999). Thermal stability of blends of polyolefins and sisal fiber. *Polym. Degrad. Stab.* 66, 179–190.

Almin, K.E., Eriksson, K., and Pettersson, B.A. (1972). Determination of the molecular weight distribution of cellulose on calibrated gel columns. *J. Appl. Polym. Sci.* 16, 2583–2593.

Andersson, M., Wittgren, B., and Wahlund, K.-G. (2001). Ultrahigh molar mass component detected in ethylhydroxyethyl cellulose by asymmetrical flow field-flow fractionation coupled to multiangle light scattering. *Anal. Chem.* 73, 4852–4861.

Araki, J., Kataoka, T., Katsuyama, N., Teramoto, A., Ito, K., and Abe, K. (2006). A preliminary study for fiber spinning of mixed solutions of polyrotaxane and cellulose in a dimethylacetamide/lithium chloride (DMAc/LiCl) solvent system. *Polymer* 47, 8241–8246.

Ass, B.A.P., Frollini, E., and Heinze, T. (2004). Studies on the homogeneous acetylation of cellulose in the novel solvent dimethyl sulfoxide/tetrabutylammonium fluoride trihydrate. *Macromol. Biosci.* 4, 1008–1013.

- Astbury, W.T., Marwick, T.C., and Bernal, J.D. (1932). X-ray analysis of the structure of the wall of *Valonia Ventricosa*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* *109*, 443–450.
- ASTM D 1795 (2013). Standard test method for intrinsic viscosity of cellulose.
- Atalla, R.H., and VanderHart, D.L. (1999). The role of solid state C-13 NMR spectroscopy in studies of the nature of native celluloses. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* *15*, 1–19.
- Atalla, R., and Vanderhart, D. (1984). Native cellulose - a composite of 2 distinct crystalline forms. *Science* *223*, 283–285.
- Baldino, L., Sarno, M., Cardea, S., Irusta, S., Ciambelli, P., Santamaria, J., and Reverchon, E. (2015). Formation of cellulose acetate-graphene oxide nanocomposites by supercritical CO₂ assisted phase inversion. *Ind. Eng. Chem. Res.* *54*, 8147–8156.
- Barthel, S., and Heinze, T. (2006). Acylation and carbanilation of cellulose in ionic liquids. *Green Chem.* *8*, 301–306.
- Barud, H.S., de Araújo Júnior, A.M., Santos, D.B., de Assunção, R.M.N., Meireles, C.S., Cerqueira, D.A., Rodrigues Filho, G., Ribeiro, C.A., Messaddeq, Y., and Ribeiro, S.J.L. (2008). Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose. *Thermochim. Acta* *471*, 61–69.
- Bergenstråhle, M., Wohler, J., Himmel, M.E., and Brady, J.W. (2010). Simulation studies of the insolubility of cellulose. *Carbohydr. Res.* *345*, 2060–2066.
- Berger, W., Keck, M., Philipp, B., and Schleicher, H. (1985). Nature of interactions in the dissolution of cellulose in non aqueous solvent systems. *Lenzing. Berichte* *59*, 88–95.
- Berggren (2001). Fiber strength in relation to molecular mass distribution of hardwood kraft pulp. Degradation by ozone and acid hydrolysis. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* *16*, 333–338.
- Berggren, R., Berthold, F., Sjöholm, E., and Lindström, M. (2003). Improved methods for evaluating the molar mass distributions of cellulose in kraft pulp. *J. Appl. Polym. Sci.* *88*, 1170–1179.
- Berthold, F., Gustafsson, K., Berggren, R., Sjöholm, E., and Lindström, M. (2004). Dissolution of softwood kraft pulps by direct derivatization in lithium chloride/N,N-dimethylacetamide. *J. Appl. Polym. Sci.* *94*, 424–431.
- Biermann, O., Hädicke, E., Koltzenburg, S., and Müller-Plathe, F. (2001). Hydrophilicity and lipophilicity of cellulose crystal surfaces. *Angew. Chem. Int. Ed.* *40*, 3822–3825.
- Bikova, T., and Treimanis, A. (2002). Problems of the MMD analysis of cellulose by SEC using DMA/LiCl: A review. *Carbohydr. Polym.* *48*, 23–28.
- Biliuta, G., Frascas, L., Strnad, S., Harabagiu, V., and Coseri, S. (2010). Oxidation of cellulose fibers mediated by nonpersistent nitroxyl radicals. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* *48*, 4790–4799.
- Bitencourt, R.G., Cabral, F.A., and Meirelles, A.J.A. (2016). Ferulic acid solubility in supercritical carbon dioxide, ethanol and water mixtures. *J. Chem. Thermodyn.* *103*, 285–291.

- Boissou, F., Mühlbauer, A., Vigier, K.D.O., Leclercq, L., Kunz, W., Marinkovic, S., Estrine, B., Nardello-Rataj, V., and Jérôme, F. (2014). Transition of cellulose crystalline structure in biodegradable mixtures of renewably-sourced levulinate alkyl ammonium ionic liquids, γ -valerolactone and water. *Green Chem.* *16*, 2463–2471.
- Brandrup, J., and Immergut, E.H. (1989). *Polymer handbook* (New York: Wiley).
- Bria, C., Violleau, F., and Williams, S.K.R. (2013). Field-Flow Fractionation for Biological, Natural, and Synthetic Polymers: Recent Advances and Trends. *Lc Gc Eur.* *26*, 660–671.
- Van Bruijnsvoort, M., Wahlund, K.-G., Nilsson, G., and Kok, W.T. (2001). Retention behaviour of amylopectins in asymmetrical flow field-flow fractionation studied by multi-angle light scattering detection. *J. Chromatogr. A* *925*, 171–182.
- Budtova, T., and Navard, P. (2016). Cellulose in NaOH–water based solvents: a review. *Cellulose* *23*, 5–55.
- Cai, J., and Zhang, L. (2005). Rapid Dissolution of Cellulose in LiOH/Urea and NaOH/Urea Aqueous Solutions. *Macromol. Biosci.* *5*, 539–548.
- Calahorra, M.E., Cortázar, M., Eguiazábal, J.I., and Guzmán, G.M. (1989). Thermogravimetric analysis of cellulose: effect of the molecular weight on thermal decomposition. *J. Appl. Polym. Sci.* *37*, 3305–3314.
- Caldwell, K.D., and Gao, Y.S. (1993). Electrical field-flow fractionation in particle separation. 1. Monodisperse standards. *Anal. Chem.* *65*, 1764–1772.
- Cao, Y., and Tan, H. (2005). Study on crystal structures of enzyme-hydrolyzed cellulosic materials by X-ray diffraction. *Enzyme Microb. Technol.* *36*, 314–317.
- Cao, Y., Li, H., Zhang, Y., Zhang, J., and He, J. (2010). Structure and properties of novel regenerated cellulose films prepared from cornhusk cellulose in room temperature ionic liquids. *J. Appl. Polym. Sci.* *116*, 547–554.
- Caputo, G., Dispenza, M., Rubio, P., Scargiali, F., Marotta, G., and Brucato, A. (2016). Supercritical water gasification of microalgae and their constituents in a continuous reactor. *J. Supercrit. Fluids* *118*, 163–170.
- Carrier, M., Loppinet-Serani, A., Denux, D., Lasnier, J.-M., Ham-Pichavant, F., Cansell, F., and Aymonier, C. (2011). Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. *Biomass Bioenergy* *35*, 298–307.
- Casarano, R., Nawaz, H., Possidonio, S., Da Silva, V.C., and Seoud, O.A. El (2011). A convenient solvent system for cellulose dissolution and derivatization: Mechanistic aspects of the acylation of the biopolymer in tetraallylammonium fluoride/dimethyl sulfoxide. *Carbohydr. Polym.* *86*, 1395–1402.
- Casassa, E.F. (1971). Theoretical models for peak migration in gel permeation chromatography. *J. Phys. Chem.* *75*, 3929–3939.
- Centers for Disease Control and Prevention (1994). Immediately dangerous to life or health concentrations (IDLH): dimethyl acetamide.

- Chee, K.K. (1985). Estimation of Mark–Houwink–Sakurada constants using polydisperse polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* *30*, 1323–1325.
- Chen, H.-Z., Wang, N., and Liu, L.-Y. (2012). Regenerated cellulose membrane prepared with ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride as solvent using wheat straw. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* *87*, 1634–1640.
- Chen, X., Chen, J., You, T., Wang, K., and Xu, F. (2015). Effects of polymorphs on dissolution of cellulose in NaOH/urea aqueous solution. *Carbohydr. Polym.* *125*, 85–91.
- Ciolacu, D., Ciolacu, F., and Popa, V.I. (2011). Amorphous cellulose - Structure and characterization. *Cellul. Chem. Technol.* *45*, 13–21.
- Ciolacu, D., Pitol-Filho, L., and Ciolacu, F. (2012). Studies concerning the accessibility of different allomorphic forms of cellulose. *Cellulose* *19*, 55–68.
- Committee for Risk Assessment (2014). Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of N,N-dimethylacetamide (DMAc) (European Chemicals Agency (ECHA)).
- Coseri, S., Biliuta, G., Zemljič, L.F., Srndovic, J.S., Larsson, P.T., Strnad, S., Kreže, T., Naderi, A., and Lindström, T. (2015). One-shot carboxylation of microcrystalline cellulose in the presence of nitroxyl radicals and sodium periodate. *RSC Adv.* *5*, 85889–85897.
- Cozzani, V., Lucchesi, A., Stoppato, G., and Maschio, G. (1997). A new method to determine the composition of biomass by thermogravimetric analysis. *Can. J. Chem. Eng.* *75*, 127–133.
- Cumpstey, I. (2013). Chemical modification of polysaccharides. *Int. Sch. Res. Not.* *2013*, 1–27.
- Daruwalla, E.H., and Nabar, G.M. (1956). Acid hydrolysis of cellulose. *J. Polym. Sci.* *20*, 205–208.
- Dawsey, T.R., and McCormick, C.L. (1990). The lithium chloride/dimethylacetamide solvent for cellulose: a literature review. *J. Macromol. Sci. Part C* *30*, 405–440.
- Debzi, E.-M. (1992). Celluloses issues du traitement à la vapeur : évolution des masses moléculaires moyennes, transformations morphologiques et cristallines. Grenoble 1.
- Ding, Z.-D., Chi, Z., Gu, W.-X., Gu, S.-M., Liu, J.-H., and Wang, H.-J. (2012). Theoretical and experimental investigation on dissolution and regeneration of cellulose in ionic liquid. *Carbohydr. Polym.* *89*, 7–16.
- Dogan, H., and Hilmioglu, N.D. (2009). Dissolution of cellulose with NMMO by microwave heating. *Carbohydr. Polym.* *75*, 90–94.
- Dona, A., Yuen, C.-W.W., Peate, J., Gilbert, R.G., Castignolles, P., and Gaborieau, M. (2007). A new NMR method for directly monitoring and quantifying the dissolution kinetics of starch in DMSO. *Carbohydr. Res.* *342*, 2604–2610.

- Dupont, A.-L. (2003). Cellulose in lithium chloride/N,N-dimethylacetamide, optimisation of a dissolution method using paper substrates and stability of the solutions. *Polymer* 44, 4117–4126.
- Dupont, A.-L., and Harrison, G. (2004). Conformation and dn/dc determination of cellulose in N,N-dimethylacetamide containing lithium chloride. *Carbohydr. Polym.* 58, 233–243.
- Dupont, A.-L., and Mortha, G. (2004). Comparative evaluation of size-exclusion chromatography and viscometry for the characterisation of cellulose. *J. Chromatogr. A* 1026, 129–141.
- Eckelt, J., Knopf, A., Röder, T., Weber, H.K., Sixta, H., and Wolf, B.A. (2011). Viscosity-molecular weight relationship for cellulose solutions in either NMMO monohydrate or cuen. *J. Appl. Polym. Sci.* 119, 670–676.
- Egal, M., Budtova, T., and Navard, P. (2007). The dissolution of microcrystalline cellulose in sodium hydroxide-urea aqueous solutions. *Cellulose* 15, 361–370.
- Ehrhart, J., Mingotaud, A.-F., and Violleau, F. (2011). Asymmetrical flow field-flow fractionation with multi-angle light scattering and quasi elastic light scattering for characterization of poly(ethyleneglycol-b- ϵ -caprolactone) block copolymer self-assemblies used as drug carriers for photodynamic therapy. *J. Chromatogr. A* 1218, 4249–4256.
- Ekmanis, J.L. (1986). Gel permeation chromatographic analysis of cellulose. *Polym. Notes Waters Chromatogr. Div. 1*.
- El-Kafrawy, A. (1982). Investigation of the cellulose/LiCl/dimethylacetamide and cellulose/LiCl/N-methyl-2-pyrrolidinone solutions by ^{13}C NMR spectroscopy. *J. Appl. Polym. Sci.* 27, 2435–2443.
- Ellis, B., and Smith, R. (2008). *Polymers : A Property Database* (New York: Dekker).
- Embuscado, M.E., Marks, J.S., and BeMiller, J.N. (1994). Bacterial cellulose. I. Factors affecting the production of cellulose by *Acetobacter xylinum*. *Food Hydrocoll.* 8, 407–418.
- Emmel, A., Mathias, A.L., Wypych, F., and Ramos, L.P. (2003). Fractionation of *Eucalyptus grandis* chips by dilute acid-catalysed steam explosion. *Bioresour. Technol.* 86, 105–115.
- Emsley, A.M., Ali, M., and Heywood, R.J. (2000). A size exclusion chromatography study of cellulose degradation. *Polymer* 41, 8513–8521.
- Evans, R., Wearne, R.H., and Wallis, A.F.A. (1991a). Effect of amines on the carbanilation of cellulose with phenylisocyanate. *J. Appl. Polym. Sci.* 42, 813–820.
- Evans, R., Wearne, R.H., and Wallis, A.F.A. (1991b). Pyridine-catalyzed depolymerization of cellulose during carbanilation with phenylisocyanate in dimethylsulfoxide. *J. Appl. Polym. Sci.* 42, 821–827.
- Feng, L., and Chen, Z. (2008). Research progress on dissolution and functional modification of cellulose in ionic liquids. *J. Mol. Liq.* 142, 1–5.

- Fengel, D., and Wegener, G. (1983). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions* (Walter de Gruyter).
- Fink, H.-P., Philipp, B., Zschunke, C., and Hayn, M. (1992). Structural changes of LODP cellulose in the original and mercerized state during enzymatic hydrolysis. *Acta Polym.* *43*, 270–274.
- Fink, H.-P., Weigel, P., Purz, H.J., and Ganster, J. (2001). Structure formation of regenerated cellulose materials from NMMO-solutions. *Prog. Polym. Sci.* *26*, 1473–1524.
- Flick, E.W. (1998). Organic Sulfur Compounds. In *Industrial Solvents Handbook*, (New Jersey: Noyes Data Corporation), pp. 222–237.
- Fort, D.A., Remsing, R.C., Swatloski, R.P., Moyna, P., Moyna, G., and Rogers, R.D. (2007). Can ionic liquids dissolve wood? Processing and analysis of lignocellulosic materials with 1-*n*-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Green Chem* *9*, 63–69.
- Fox, S.C., Li, B., Xu, D., and Edgar, K.J. (2011). Regioselective esterification and etherification of cellulose: a review. *Biomacromolecules* *12*, 1956–1972.
- Franks, N.E., and Varga, J.K. (1979). US Patent 4 145 532.
- Fraunhofer, W., and Winter, G. (2004). The use of asymmetrical flow field-flow fractionation in pharmaceuticals and biopharmaceuticals. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* *58*, 369–383.
- Fredon, E., Granet, R., Zerrouki, R., Krausz, P., Saulnier, L., Thibault, J.F., Rosier, J., and Petit, C. (2002). Hydrophobic films from maize bran hemicelluloses. *Carbohydr. Polym.* *49*, 1–12.
- French, A.D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose* *21*, 885–896.
- French, A.D., Miller, D.P., and Aabloo, A. (1993). Miniature crystal models of cellulose polymorphs and other carbohydrates. *Int. J. Biol. Macromol.* *15*, 30–36.
- French, A.D., Bertoniere, N.R., Brown, R.M., Chanzy, H., Gray, D., Hattori, K., and Glasser, W. (2002). Cellulose. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (New York: John Wiley & Sons, Inc.), pp. 473–507.
- Frey, M., Cuculo, J.A., Hinestroza, J., and Kotek, R. (2006). Creation of a new class of cellulose engineering materials. *Natl. Text. Cent. Annu. Rep.* *M05-CR02*.
- Gardner, K.H., and Blackwell, J. (1974a). The hydrogen bonding in native cellulose. *Biochim. Biophys. Acta* *343*, 232–237.
- Gardner, K.H., and Blackwell, J. (1974b). The structure of native cellulose. *Biopolymers* *13*, 1975–2001.
- Genco, J.M. (1999). Pulp. In *Kirk-Othmer Concise Encyclopedia of Chemical Technology*, (New York: John Wiley & sons), pp. 1678–1682.

- Geng, H., Yuan, Z., Fan, Q., Dai, X., Zhao, Y., Wang, Z., and Qin, M. (2014). Characterisation of cellulose films regenerated from acetone/water coagulants. *Carbohydr. Polym.* *102*, 438–444.
- Giddings, J.C. (1966). A new separation concept based on a coupling of concentration and flow nonuniformities. *Sep. Sci.* *1*, 123–125.
- Giddings, J.C., and Ho, J. (1995). Accurate Measurement of Density of Colloidal Latex Particles by Sedimentation Field-Flow Fractionation. *Langmuir* *11*, 2399–2404.
- Giddings, J.C., Yang, F.J.F., and Myers, M.N. (1974). Sedimentation field-flow fractionation. *Anal. Chem.* *46*, 1917–1924.
- Giddings, J.C., Yang, F.J., and Myers, M.N. (1976). Flow-field-flow fractionation: a versatile new separation method. *Science* *193*, 1244–1245.
- Glasser, W.G., Atalla, R.H., Blackwell, J., Brown, R.M., Burchard, W., French, A.D., Klemm, D.O., and Nishiyama, Y. (2012). About the structure of cellulose: debating the Lindman hypothesis. *Cellulose* *19*, 589–598.
- Gourson, C., Benhaddou, R., Granet, R., Krausz, P., Saulnier, L., and Thibault, J.F. (1999). Preparation of biodegradable plastic in microwave oven and solvent-free conditions. *Comptes Rendus Acad. Sci. Ser. II Fasc. C-Chim.* *2*, 75–78.
- Graenacher, C. (1934). Cellulose solution.
- Grønli, M.G., Várhegyi, G., and Di Blasi, C. (2002). Thermogravimetric analysis and devolatilization kinetics of wood. *Ind. Eng. Chem. Res.* *41*, 4201–4208.
- Grubisic, Z., Rempp, P., and Benoit, H. (1967). A universal calibration for gel permeation chromatography. *J. Polym. Sci. [B]* *5*, 753–759.
- Guan, X., Cueto, R., Russo, P., Qi, Y., and Wu, Q. (2012). Asymmetric flow field-flow fractionation with multiangle light scattering detection for characterization of cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules* *13*, 2671–2679.
- Guigo, N., Mazeau, K., Putaux, J.-L., and Heux, L. (2014). Surface modification of cellulose microfibrils by periodate oxidation and subsequent reductive amination with benzylamine: a topochemical study. *Cellulose* *21*, 4119–4133.
- Guthrie, J.T., Huglin, M.B., Richards, R.W., Shah, V.I., and Simpson, A.H. (1975). Behaviour of cellulose tricarbonyl in dilute solution. *Eur. Polym. J.* *11*, 527–533.
- Guyomarc'h, F., Violleau, F., Surel, O., and Famelart, M.-H. (2010). Characterization of heat-induced changes in skim milk using asymmetrical flow field-Flow fractionation coupled with multiangle laser light scattering. *J. Agric. Food Chem.* *58*, 12592–12601.
- Haleem, N., Arshad, M., Shahid, M., and Tahir, M.A. (2014). Synthesis of carboxymethyl cellulose from waste of cotton ginning industry. *Carbohydr. Polym.* *113*, 249–255.
- Hall, D.M., and Horne, J.R. (1973). Preparation of cellulose triacetate and cellulose tricarbonyl by nondegradative methods. *J. Appl. Polym. Sci.* *17*, 3727–3732.

- Han, J., Zhou, C., French, A.D., Han, G., and Wu, Q. (2013). Characterization of cellulose II nanoparticles regenerated from 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Carbohydr. Polym.* *94*, 773–781.
- Hasegawa, M., Isogai, A., and Onabe, F. (1993). Size-exclusion chromatography of cellulose and chitin using lithium chloride—N,N-dimethylacetamide as a mobile phase. *J. Chromatogr. A* *635*, 334–337.
- Hearle, J.W.S. (1958). A fringed fibril theory of structure in crystalline polymers. *J. Polym. Sci.* *28*, 432–435.
- Heines, S.V. (1944). John Mercer and mercerization, 1844. *J. Chem. Educ.* *21*, 430.
- Heinze, T., and Koschella, A. (2005). Solvents applied in the field of cellulose chemistry: a mini review. *Polímeros* *15*, 84–90.
- Heinze, T., and Liebert, T. (2001). Unconventional methods in cellulose functionalization. *Prog. Polym. Sci.* *26*, 1689–1762.
- Heinze, T., Dicke, R., Koschella, A., Kull, A.H., Klohr, E.-A., and Koch, W. (2000). Effective preparation of cellulose derivatives in a new simple cellulose solvent. *Macromol. Chem. Phys.* *201*, 627–631.
- Heinze, T., Liebert, T.F., Pfeiffer, K.S., and Hussain, M.A. (2003). Unconventional cellulose esters: synthesis, characterization and structure–property relations. *Cellulose* *10*, 283–296.
- Heinze, T., Schwikal, K., and Barthel, S. (2005). Ionic liquids as reaction medium in cellulose functionalization. *Macromol. Biosci.* *5*, 520–525.
- Heinze, T., Dorn, S., Schöbitz, M., Liebert, T., Köhler, S., and Meister, F. (2008). Interactions of Ionic Liquids with Polysaccharides – 2: Cellulose. *Macromol. Symp.* *262*, 8–22.
- Henley, D. (1961). A macromolecular study of cellulose in the solvent cadoxen. *Ark. Kemi* *18*, 327–392.
- Herlinger, H., and Hengstberger, M. (1985). Behavior of cellulose in unconventional solvents. *Lenzing. Berichte* *59*, 96–104.
- Hirota, M., Furihata, K., Saito, T., Kawada, T., and Isogai, A. (2010). Glucose/glucuronic acid alternating co-polysaccharides prepared from TEMPO-oxidized native celluloses by surface peeling. *Angew. Chem. Int. Ed.* *49*, 7670–7672.
- Hon, D.N.-S., and Shiraishi, N. (2000). *Wood and Cellulosic Chemistry, Second Edition, Revised, and Expanded* (CRC Press).
- Iguchi, M., Aida, T.M., Watanabe, M., and Smith Jr, R.L. (2013). Dissolution and recovery of cellulose from 1-butyl-3-methylimidazolium chloride in presence of water. *Carbohydr. Polym.* *92*, 651–658.
- Ishii, D., Tatsumi, D., and Matsumoto, T. (2008). Effect of solvent exchange on the supramolecular structure, the molecular mobility and the dissolution behavior of cellulose in LiCl/DMAc. *Carbohydr. Res.* *343*, 919–928.

- Isik, M., Sardon, H., and Mecerreyes, D. (2014). Ionic Liquids and Cellulose: Dissolution, Chemical Modification and Preparation of New Cellulosic Materials. *Int. J. Mol. Sci.* *15*, 11922–11940.
- Isogai, A., and Atalla, R.H. (1991). Amorphous celluloses stable in aqueous media: Regeneration from SO₂–amine solvent systems. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* *29*, 113–119.
- Isogai, A., and Atalla, R.H. (1998). Dissolution of Cellulose in Aqueous NaOH Solutions. *Cellulose* *5*, 309–319.
- Isogai, A., Ishizu, A., and Nakano, J. (1987). Dissolution mechanism of cellulose in SO₂–amine–dimethylsulfoxide. *J. Appl. Polym. Sci.* *33*, 1283–1290.
- Jacquemin, J. (2006). Etude thermodynamique de liquides ioniques non aqueux. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
- Jayme, G., and Neuschaffer, K. (1957). Cadmium-amin komplex basen als Lösungsmittel für Cellulose. *Makromol. Chem.* *23*, 71–83.
- Jerosch, H., Lavédrine, B., and Cherton, J.-C. (2001). Study of the stability of cellulose–holocellulose solutions in N,N-dimethylacetamide–lithium chloride by size exclusion chromatography. *J. Chromatogr. A* *927*, 31–38.
- Jerosch, H., Lavedrine, B., and Cherton, J.C. (2002). Study on the correlation between SEC and mechanical tests of different paper types for degradation state evaluation. *Restaur.-Int. J. Preserv. Libr. Arch. Mater.* *23*, 222–239.
- Jing, H., Liu, Z., Li, H., Wang, G., and Pu, J. (2007). Solubility of wood-cellulose in LiCl/DMAC solvent system. *For. Stud. China* *9*, 217–220.
- Kainz, S., Brinkmann, A., Leitner, W., and Pfaltz, A. (1999). Iridium-catalyzed enantioselective hydrogenation of imines in supercritical carbon dioxide. *J. Am. Chem. Soc.* *121*, 6421–6429.
- Kaloustian, J., Pauli, A.M., and Pastor, J. (1997). Thermal analysis of cellulose and some etherified and esterified derivatives. *J. Therm. Anal.* *48*, 791–804.
- Kaloustian, J., El-Moselhy, T.F., and Portugal, H. (2003). Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochim. Acta* *401*, 77–86.
- Kammer, F. von der, Legros, S., Hofmann, T., Larsen, E.H., and Loeschner, K. (2011). Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation. *TrAC Trends Anal. Chem.* *30*, 425–436.
- Karimi, K., and Taherzadeh, M.J. (2016). A critical review of analytical methods in pretreatment of lignocelluloses: Composition, imaging, and crystallinity. *Bioresour. Technol.* *200*, 1008–1018.
- Karlsson, O., and Westermarck, U. (1996). Evidence for chemical bonds between lignin and cellulose in kraft pulps. *J. Pulp Pap. Sci.* *22*, 397–401.

- Karlsson, O., and Westermark, U. (1997). The significance of glucomannan for the condensation of cellulose and lignin under kraft pulping conditions. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* *12*, 90–93.
- Karlsson, O., Pettersson, B., and Westermark, U. (2001). Linkages between residual lignin and carbohydrates in bisulphite (magnefite) pulps. *J. Pulp Pap. Sci.* *27*, 310–316.
- Kaur, B., Gur, I.S., and Bhatnagar, H.L. (1987). Thermal degradation studies of cellulose phosphates and cellulose thiophosphates. *Angew. Makromol. Chem.* *147*, 157–183.
- Ke, H., Zhou, J., and Zhang, L. (2006). Structure and physical properties of methylcellulose synthesized in NaOH/urea solution. *Polym. Bull.* *56*, 349–357.
- Kennedy, J.F., Rivera, Z.S., White, C.A., Lloyd, L.L., and Warner, F.P. (1990). Molecular weight characterization of underivatized cellulose by GPC using lithium chloride-dimethylacetamide solvent system. *Cellul. Chem. Technol.* *24*, 319–325.
- Kirkland, J.J., and Yau, W.W. (1983). Simultaneous determination of particle size and density by sedimentation field flow fractionation. *Anal. Chem.* *55*, 2165–2170.
- Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., Wagenknecht, W., and others (1998). *Comprehensive cellulose chemistry. Volume 1: fundamentals and analytical methods. Compr. Cellul. Chem. Vol. 1 Fundam. Anal. Methods.*
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.-P., and Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angew. Chem. Int. Ed.* *44*, 3358–3393.
- Klüfers, P., and Kunte, T. (2001). A transition metal complex of D-glucose. *Angew. Chem. Int. Ed.* *40*, 4210–4212.
- Köhler, S., and Heinze, T. (2007). New solvents for cellulose: dimethyl sulfoxide/ammonium fluorides. *Macromol. Biosci.* *7*, 307–314.
- Kotelnikova, N.E., Bykhovtsova, Y.V., Mikhailidi, A.M., and Saprykina, N.N. (2015). Comparative study on the methods for dissolving powder lignocelluloses in DMAc/LiCl and chemical properties of samples regenerated from the solutions. *Russ. J. Bioorganic Chem.* *41*, 700–707.
- Krassig, H. (1990). Cellulose - morphology, structure, accessibility and reactivity. *Papier* *44*, 617–623.
- Krässig, H., Schurz, J., Steadman, R.G., Schliefer, K., Albrecht, W., Mohring, M., and Schlosser, H. (2000). Cellulose. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, (New York: Wiley-VCH),.
- Kristiansen, K.A., Potthast, A., and Christensen, B.E. (2010). Periodate oxidation of polysaccharides for modification of chemical and physical properties. *Carbohydr. Res.* *345*, 1264–1271.
- Kroon-Batenburg, L.M.J., Bouma, B., and Kroon, J. (1996). Stability of cellulose structures studied by MD simulations. Could mercerized cellulose II be parallel? *Macromolecules* *29*, 5695–5699.

- Lakshmanan, C.M., and Hoelscher, H.E. (1970). Production of Levoglucosan by Pyrolysis of Carbohydrates. Pyrolysis in Hot Inert Gas Stream. *Prod. RD* 9, 57–59.
- Lapointe, R. (2000). *Précis de chimie de la cellulose*.
- Leeman, M., Wahlund, K.-G., and Wittgren, B. (2006). Programmed cross flow asymmetrical flow field-flow fractionation for the size separation of pullulans and hydroxypropyl cellulose. *J. Chromatogr. A* 1134, 236–245.
- Lemelin, E., Aussenac, T., Violleau, F., Salvo, L., and Lein, V. (2005). Impact of cultivar and environment on size characteristics of wheat proteins using asymmetrical flow field-flow fractionation and multi-angle laser light scattering. *Cereal Chem. J.* 82, 28–33.
- Lesec, J. (1996). *Masses molaires moyennes* (Ed. Techniques Ingénieur).
- Li, L., and Frey, M. (2010). Preparation and characterization of cellulose nitrate-acetate mixed ester fibers. *Polymer* 51, 3774–3783.
- Li, H., Liu, D., and Wang, F. (2002). Solubility of dilute SO₂ in dimethyl sulfoxide. *J. Chem. Eng. Data* 47, 772–775.
- Lin, J.S., Tang, M.-Y., and Fellers, J.F. (1987). Fractal analysis of cotton cellulose as characterized by small-angle X-ray scattering. In *ACS Symposium Series*, (Oxford University Press), pp. 233–254.
- Lindman, B., Karlström, G., and Stigsson, L. (2010). On the mechanism of dissolution of cellulose. *J. Mol. Liq.* 156, 76–81.
- Liu, G., and Giddings, J.C. (1992). Separation of particles in aqueous suspensions by thermal field-flow fractionation. Measurement of thermal diffusion coefficients. *Chromatographia* 34, 483–492.
- Liu, M.K., and Giddings, J.C. (1993). Separation and measurement of diffusion coefficients of linear and circular DNAs by flow field-flow fractionation. *Macromolecules* 26, 3576–3588.
- Liu, M.K., Li, P., and Giddings, J.C. (1993). Rapid protein separation and diffusion coefficient measurement by frit inlet flow field-flow fractionation. *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* 2, 1520–1531.
- Madorsky, S.L., Hart, V.E., and Straus, S. (1958). Thermal degradation of cellulosic materials. *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 60, 343–349.
- Mangiante, G., Alcouffe, P., Burdin, B., Gaborieau, M., Zeno, E., Petit-Conil, M., Bernard, J., Charlot, A., and Fleury, E. (2013). Green nondegrading approach to alkyne-functionalized cellulose fibers and biohybrids thereof: synthesis and mapping of the derivatization. *Biomacromolecules* 14, 254–263.
- Mansikkamäki, P., Lahtinen, M., and Rissanen, K. (2005). Structural changes of cellulose crystallites induced by mercerisation in different solvent systems; Determined by powder X-ray diffraction method. *Cellulose* 12, 233–242.

- Marchessault, R.H. (1987). Cellulose structure modification and hydrolysis. *J. Polym. Sci. Part C Polym. Lett.* 25, 139–140.
- De Marco, I., Baldino, L., Cardea, S., and Reverchon, E. (2014). Production of Ethyl Cellulose Scaffolds by Supercritical CO₂ Phase Separation. In *Ibic2014: 4th International Conference on Industrial Biotechnology*, E. Bardone, M. Bravi, and T. Keshavarz, eds. (Milan: Aidic Servizi Srl), pp. 265–270.
- Mark, R.E. (1984). *Handbook of physical and mechanical testing of paper and paperboard* (New York: Dekker).
- Mark, H.F., Bikales, N.M., Overberger, C.G., Menges, G., and Kroschwitz, J.I. (1985). *Cellular Materials to Composites* (New York: Wiley-Interscience).
- Masaoka, S., Ohe, T., and Sakota, N. (1993). Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *J. Ferment. Bioeng.* 75, 18–22.
- Matsumoto, T., Tatsumi, D., Tamai, N., and Takaki, T. (2001). Solution properties of celluloses from different biological origins in LiCl · DMAc. *Cellulose* 8, 275–282.
- Maybridge (2007). 1,3-Diméthyl-2-Imidazolidinone.
- Mazanov, S.V., Gabitova, A.R., Usmanov, R.A., Gumerov, F.M., Labidi, S., Ben Amar, M., Passarello, J.-P., Kanaev, A., Volle, F., and Le Neindre, B. (2016). Continuous production of biodiesel from rapeseed oil by ultrasonic assist transesterification in supercritical ethanol. *J. Supercrit. Fluids* 118, 107–118.
- Mazza, M., Catana, D.-A., Vaca-Garcia, C., and Cecutti, C. (2008). Influence of water on the dissolution of cellulose in selected ionic liquids. *Cellulose* 16, 207–215.
- McCormick, C.L. (1981). Novel cellulose solutions.
- McCormick, C.L., and Lichatowich, D.K. (1979). Homogeneous solution reactions of cellulose, chitin, and other polysaccharides to produce controlled-activity pesticide systems. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* 17, 479–484.
- McCormick, C.L., Callais, P.A., and Hutchinson, B.H. (1985). Solution studies of cellulose in lithium chloride and N,N-dimethylacetamide. *Macromolecules* 18, 2394–2401.
- Medronho, B., and Lindman, B. (2014). Competing forces during cellulose dissolution: From solvents to mechanisms. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 19, 32–40.
- Medronho, B., and Lindman, B. (2015). Brief overview on cellulose dissolution/regeneration interactions and mechanisms. *Adv. Colloid Interface Sci.* 222, 502–508.
- Medronho, B., Romano, A., Miguel, M.G., Stigsson, L., and Lindman, B. (2012). Rationalizing cellulose (in)solubility: reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions. *Cellulose* 19, 581–587.
- Mihranyan, A. (2011). Cellulose from cladophorales green algae: from environmental problem to high-tech composite materials. *J. Appl. Polym. Sci.* 119, 2449–2460.

- Minnick, D.L., Flores, R.A., DeStefano, M.R., and Scurto, A.M. (2016). Cellulose solubility in ionic liquid mixtures: temperature, cosolvent, and antisolvent effects. *J. Phys. Chem. B* *120*, 7906–7919.
- Mittal, A., Katahira, R., Himmel, M.E., and Johnson, D.K. (2011). Effects of alkaline or liquid-ammonia treatment on crystalline cellulose: changes in crystalline structure and effects on enzymatic digestibility. *Biotechnol. Biofuels* *4*, 41.
- Miyamoto, H., Umemura, M., Aoyagi, T., Yamane, C., Ueda, K., and Takahashi, K. (2009). Structural reorganization of molecular sheets derived from cellulose II by molecular dynamics simulations. *Carbohydr. Res.* *344*, 1085–1094.
- Morgenstern, B., and Kammer, H.-W. (1996). Solvation in cellulose-LiCl-DMAc solutions. *Trends Polym. Sci.* *4*, 87–92.
- Morgenstern, B., and Kammer, H.-W. (1999). On the particulate structure of cellulose solutions. *Polymer* *40*, 1299–1304.
- Mortimer, S. (1995). Etude de la structuration des fibres lyocell. Grenoble 1.
- Moulthrop, J.S., Swatloski, R.P., Moyna, G., and Rogers, R.D. (2005). High-resolution ¹³C NMR studies of cellulose and cellulose oligomers in ionic liquid solutions. *Chem. Commun. Camb. Engl.* 1557–1559.
- Muratov, G.A. (2007). Bioconversion of cotton cellulose to glucose by supercritical CO₂. *Chem. Nat. Compd.* *43*, 641–642.
- Nam, S., French, A.D., Condon, B.D., and Concha, M. (2016). Segal crystallinity index revisited by the simulation of X-ray diffraction patterns of cotton cellulose I β and cellulose II. *Carbohydr. Polym.* *135*, 1–9.
- National Center for Biotechnology Information (2016). Tetrahydrofuran.
- Navi, P., and Heger, F. (2005). Comportement thermo-hydrromécanique du bois: applications technologiques et dans les structures (PPUR presses polytechniques).
- Nayak, J.N., Chen, Y., and Kim, J. (2008). Removal of impurities from cellulose films after their regeneration from cellulose dissolved in DMAc/LiCl solvent system. *Ind. Eng. Chem. Res.* *47*, 1702–1706.
- Nishiyama, Y., Sugiyama, J., Chanzy, H., and Langan, P. (2003). Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose I α from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J. Am. Chem. Soc.* *125*, 14300–14306.
- Norme ISO (2010). Pâtes - Détermination de l'indice de viscosité limite à l'aide d'une solution de cupri-éthylènediamine (CED). ISO 5351 20.
- Novosjolov, N.P., and Sachina, E.S. (2000). Cellulose structural peculiarities and the mechanism of its dissolution in tertiary amine N-oxides. *Cellul. Chem. Technol.* *33*, 361–380.
- Oh, S.Y., Yoo, D.I., Shin, Y., Kim, H.C., Kim, H.Y., Chung, Y.S., Park, W.H., and Youk, J.H. (2005). Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and

carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Carbohydr. Res.* *340*, 2376–2391.

Okano, T., and Sarko, A. (1985). Mercerization of cellulose. II. Alkali–cellulose intermediates and a possible mercerization mechanism. *J. Appl. Polym. Sci.* *30*, 325–332.

Olanrewaju, K. (2012). Reaction kinetics of cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water. Thèses et dissertations.

Östlund, Å., Lundberg, D., Nordstierna, L., Holmberg, K., and Nydén, M. (2009). Dissolution and gelation of cellulose in TBAF/DMSO solutions: the roles of fluoride ions and water. *Biomacromolecules* *10*, 2401–2407.

Park, S., Johnson, D.K., Ishizawa, C.I., Parilla, P.A., and Davis, M.F. (2009). Measuring the crystallinity index of cellulose by solid state ¹³C nuclear magnetic resonance. *Cellulose* *16*, 641–647.

Park, S., Baker, J.O., Himmel, M.E., Parilla, P.A., and Johnson, D.K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuels* *3*, 1.

Pasqualone, A., Gambacorta, G., Summo, C., Caponio, F., Di Miceli, G., Flagella, Z., Marrese, P.P., Piro, G., Perrotta, C., De Bellis, L., *et al.* (2016). Functional, textural and sensory properties of dry pasta supplemented with lyophilized tomato matrix or with durum wheat bran extracts produced by supercritical carbon dioxide or ultrasound. *Food Chem.* *213*, 545–553.

Pasquini, D., Belgacem, M.N., Gandini, A., and Curvelo, A.A. da S. (2006). Surface esterification of cellulose fibers: Characterization by DRIFT and contact angle measurements. *J. Colloid Interface Sci.* *295*, 79–83.

Paul, S.A., Oommen, C., Joseph, K., Mathew, G., and Thomas, S. (2010). The role of interface modification on thermal degradation and crystallization behavior of composites from commingled polypropylene fiber and banana fiber. *Polym. Compos.* *31*, 1113–1123.

Payen, A. (1838). Mémoire sur la composition du tissu propre des plantes et du ligneux. *7*, 1052–1056.

Perez, S., and Mazeau, K. (2005). Conformations, structures and morphologies of celluloses. *Polysaccharides 2nd Edition*, 41–68.

Pinkert, A., Marsh, K.N., and Pang, S. (2010). Reflections on the solubility of cellulose. *Ind. Eng. Chem. Res.* *49*, 11121–11130.

Pionteck, H., Berger, W., Morgenstern, B., and Fengel, D. (1996). Changes in cellulose structure during dissolution in LiCl:N,N-dimethylacetamide and in the alkaline iron tartrate system EWNN .1. Electron microscopic studies on changes in cellulose morphology. *Cellulose* *3*, 127–139.

Podzimek, S. (2011). Size Exclusion Chromatography. In *Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation*, (New York: John Wiley & Sons, Inc.), pp. 99–206.

- Potthast, A., Rosenau, T., Buchner, R., Röder, T., Ebner, G., Bruglachner, H., Sixta, H., and Kosma, P. (2002a). The cellulose solvent system N,N-dimethylacetamide/lithium chloride revisited: the effect of water on physicochemical properties and chemical stability. *Cellulose* *9*, 41–53.
- Potthast, A., Rosenau, T., Sixta, H., and Kosma, P. (2002b). Degradation of cellulosic materials by heating in DMAc/LiCl. *Tetrahedron Lett.* *43*, 7757–7759.
- Potthast, A., Rosenau, T., Sartori, J., Sixta, H., and Kosma, P. (2003). Hydrolytic processes and condensation reactions in the cellulose solvent system N,N-dimethylacetamide/lithium chloride. Part 2: degradation of cellulose. *Polymer* *44*, 7–17.
- Potthast, A., Radosta, S., Saake, B., Lebioda, S., Heinze, T., Henniges, U., Isogai, A., Koschella, A., Kosma, P., Rosenau, T., *et al.* (2015). Comparison testing of methods for gel permeation chromatography of cellulose: coming closer to a standard protocol. *Cellulose* *22*, 1591–1613.
- Qi, H., Liebert, T., Meister, F., and Heinze, T. (2009). Homogenous carboxymethylation of cellulose in the NaOH/urea aqueous solution. *React. Funct. Polym.* *69*, 779–784.
- Ragnar, M., Henriksson, G., Lindström, M.E., Wimby, M., Blechschmidt, J., and Heinemann, S. (2000). Pulp. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, (New York: Wiley-VCH),.
- Rahkamo, L., Viikari, L., Buchert, J., Paakkari, T., and Suortti, T. (1998). Enzymatic and alkaline treatments of hardwood dissolving pulp. *Cellulose* *5*, 79–88.
- Ramiah, M.V. (1970). Thermogravimetric and differential thermal analysis of cellulose, hemicellulose, and lignin. *J. Appl. Polym. Sci.* *14*, 1323–1337.
- Ramos, L.A., Frollini, E., and Heinze, T. (2005a). Carboxymethylation of cellulose in the new solvent dimethyl sulfoxide/tetrabutylammonium fluoride. *Carbohydr. Polym.* *60*, 259–267.
- Ramos, L.A., Frollini, E., Koschella, A., and Heinze, T. (2005b). Benzylolation of cellulose in the solvent dimethylsulfoxide/tetrabutylammonium fluoride trihydrate. *Cellulose* *12*, 607–619.
- Randriamanantena, T., Razafindramisa, F.L., Ramanantsizehena, G., BERNES, A., and LACABANE, C. (2009). Thermal behaviour of three woods of Madagascar by thermogravimetric analysis in inert atmosphere. In *Proceedings of the Fourth High-Energy Physics International Conference*,.
- Rbii, K., Violleau, F., Guedj, S., and Surel, O. (2009). Analysis of aged gelatin by AFIFFF-MALS: Identification of high molar mass components and their influence on solubility. *Food Hydrocoll.* *23*, 1024–1030.
- Remsing, R.C., Swatloski, R.P., Rogers, R.D., and Moyna, G. (2006). Mechanism of cellulose dissolution in the ionic liquid 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride: a ¹³C and ^{35/37}Cl NMR relaxation study on model systems. *Chem. Commun.* 1271–1273.

- Röder, T., Morgenstern, B., Schelosky, N., and Glatter, O. (2001). Solutions of cellulose in N,N-dimethylacetamide/lithium chloride studied by light scattering methods. *Polymer* 42, 6765–6773.
- Rolland-Sabaté, A., Colonna, P., Mendez-Montealvo, M.G., and Planchot, V. (2007). Branching features of amylopectins and glycogen determined by asymmetrical flow field flow fractionation coupled with multiangle laser light scattering. *Biomacromolecules* 8, 2520–2532.
- Rosenau, T., Potthast, A., Sixta, H., and Kosma, P. (2001). The chemistry of side reactions and byproduct formation in the system NMMO/cellulose (Lyocell process). *Prog. Polym. Sci.* 26, 1763–1837.
- Rosenau, T., Potthast, A., Adorjan, I., Hofinger, A., Sixta, H., Firgo, H., and Kosma, P. (2002). Cellulose solutions in N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) – degradation processes and stabilizers. *Cellulose* 9, 283–291.
- Rosenau, T., Hofinger, A., Potthast, A., and Kosma, P. (2003). On the conformation of the cellulose solvent N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) in solution. *Polymer* 44, 6153–6158.
- Rousselle, M.-A. (2002). Determining the molecular weight distribution of cotton cellulose: a new GPC solvent. *Text. Res. J.* 72, 131–134.
- Rousselle, M.-A., and Howley, P.S. (1998). Molecular weight of cotton cellulose: effect of treatment with a total cellulase. *Text. Res. J.* 68, 606–610.
- Roy, K.-M. (2000). Sulfones and Sulfoxides. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, (New York: Wiley-VCH),.
- Runyon, J.R., Nilsson, L., Alftrén, J., and Bergenståhl, B. (2013). Characterization of oat proteins and aggregates using asymmetric flow field-flow fractionation. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 6649–6655.
- Runyon, J.R., Ulmius, M., and Nilsson, L. (2014). A perspective on the characterization of colloids and macromolecules using asymmetrical flow field-flow fractionation. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 442, 25–33.
- Sarko, A., and Muggli, R. (1974). Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. III. Valonia cellulose and cellulose II. *Macromolecules* 7, 486–494.
- Sasaki, M., Fang, Z., Fukushima, Y., Adschiri, T., and Arai, K. (2000). Dissolution and hydrolysis of cellulose in subcritical and supercritical water. *Ind. Eng. Chem. Res.* 39, 2883–2890.
- Schmitz, S., Dona, A.C., Castignolles, P., Gilbert, R.G., and Gaborieau, M. (2009). Assessment of the extent of starch dissolution in dimethyl sulfoxide by ¹H NMR spectroscopy. *Macromol. Biosci.* 9, 506–514.
- Schult, T., Moe, S.T., Hjerde, T., and Christensen, B.E. (2000). Size exclusion chromatography of cellulose dissolved in LiCl/DMAc using macroporous monodisperse

poly(styrene-co-divinylbenzene) particles. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* *23*, 2277–2288.

Schult, T., Hjerde, T., Optun, O.I., Kleppe, P.J., and Moe, S. (2002). Characterization of cellulose by SEC-MALLS. *Cellulose* *9*, 149–158.

Segal, L. (1968). Characterization of celluloses by gel permeation chromatography. *J. Polym. Sci. Part C Polym. Symp.* *21*, 267–282.

Segal, L., and Timpa, J.D. (1969). Cellulose solubility in cadoxen and the effect of age of the solvent on viscometric data. *Sven. Papperstidn* *72*, 656–661.

Sen, S., Martin, J.D., and Argyropoulos, D.S. (2013). Review of cellulose non-derivatizing solvent interactions with emphasis on activity in inorganic molten salt hydrates. *ACS Sustain. Chem. Eng.* *1*, 858–870.

Seoud, O.A. El, Koschella, A., Fidale, L.C., Dorn, S., and Heinze, T. (2007). Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: a window of opportunities. *Biomacromolecules* *8*, 2629–2647.

Seoud, O. El, Nawaz, H., and Arêas, E. (2013). Chemistry and applications of polysaccharide solutions in strong electrolytes/dipolar aprotic solvents: an overview. *Molecules* *18*, 1270–1313.

Serapiglia, M.J., Cameron, K.D., Stipanovic, A.J., and Smart, L.B. (2008). High-resolution thermogravimetric analysis for rapid characterization of biomass composition and selection of shrub willow varieties. *Appl. Biochem. Biotechnol.* *145*, 3–11.

Shafizadeh, F. (1982). Introduction to pyrolysis of biomass. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* *3*, 283–305.

Silbey, R.J., Alberty, R.A., and Bawendi, M.G. (2004). *Physical Chemistry* (New Jersey: Wiley).

Silva, A.A., and Laver, M.L. (1997). Molecular weight characterization of wood pulp cellulose : Dissolution and size exclusion chromatographic analysis. *Tappi J.* *80*, 173–180.

Silva, R.D., Vongsanga, K., Wang, X., and Byrne, N. (2015). Cellulose regeneration in ionic liquids: factors controlling the degree of polymerisation. *Cellulose* *22*, 2845–2849.

Singh, S., Varanasi, P., Singh, P., Adams, P.D., Auer, M., and Simmons, B.A. (2013). Understanding the impact of ionic liquid pretreatment on cellulose and lignin via thermochemical analysis. *Biomass Bioenergy* *54*, 276–283.

Sjöholm, E., Gustafsson, K., Pettersson, B., and Colmsjö, A. (1997). Characterization of the cellulosic residues from lithium chloride/N,N-dimethylacetamide dissolution of softwood kraft pulp. *Carbohydr. Polym.* *32*, 57–63.

Sjöholm, E., Gustafsson, K., Berthold, F., and Colmsjö, A. (2000a). Influence of the carbohydrate composition on the molecular weight distribution of kraft pulps. *Carbohydr. Polym.* *41*, 1–7.

- Sjöholm, E., Gustafsson, K., Eriksson, B., Brown, W., and Colmsjö, A. (2000b). Aggregation of cellulose in lithium chloride/*N,N*-dimethylacetamide. *Carbohydr. Polym.* *41*, 153–161.
- Sjöholm, E., Gustafsson, K., Norman, E., Reitberger, T., and Colmsjö, A. (2000c). Fibre strength in relation to molecular weight distribution of hardwood kraft pulp. Degradation by gamma irradiation, oxygen/alkali or alkali. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* *15*, 326–332.
- Sjöström, E. (1993). *Wood chemistry: fundamentals and applications* (Gulf Professional Publishing).
- Sjöström, E., and Enström, B. (1966). Spectrophotometric determination of the residual lignin in pulp after dissolution in cadoxen. *Sven. Papperstidn* *69*, 469–476.
- Soares, S., Camino, G., and Levchik, S. (1995). Comparative study of the thermal decomposition of pure cellulose and pulp paper. *Polym. Degrad. Stab.* *49*, 275–283.
- Striegel, A. (1997). Theory and applications of DMAc/LiCl in the analysis of polysaccharides. *Carbohydr. Polym.* *34*, 267–274.
- Striegel, A.M., and Timpa, J.D. (1996a). Gel permeation chromatography of polysaccharides using universal calibration. *Int. J. Polym. Anal. Charact.* *2*, 213–220.
- Striegel, A.M., and Timpa, J.D. (1996b). Size Exclusion Chromatography of Polysaccharides in Dimethylacetamide-Lithium Chloride. In *Strategies in Size Exclusion Chromatography*, (Washington: American Chemical Society), pp. 366–378.
- Striegel, A., and Timpa, J.D. (1995). Molecular characterization of polysaccharides dissolved in Me₂NAc-LiCl by gel-permeation chromatography. *Carbohydr. Res.* *267*, 271–290.
- Strlič, M., Kolar, J., Žigon, M., and Pihlar, B. (1998). Evaluation of size-exclusion chromatography and viscometry for the determination of molecular masses of oxidised cellulose. *J. Chromatogr. A* *805*, 93–99.
- Strlič, M., Kolenc, J., Kolar, J., and Pihlar, B. (2002). Enthalpic interactions in size exclusion chromatography of pullulan and cellulose in LiCl–*N,N*-dimethylacetamide. *J. Chromatogr. A* *964*, 47–54.
- Sulaeva, I., Klinger, K.M., Amer, H., Henniges, U., Rosenau, T., and Potthast, A. (2015). Determination of molar mass distributions of highly oxidized dialdehyde cellulose by size exclusion chromatography and asymmetric flow field-flow fractionation. *Cellulose* *22*, 3569–3581.
- Sundberg, J., Toriz, G., and Gatenholm, P. (2013). Moisture induced plasticity of amorphous cellulose films from ionic liquid. *Polymer* *54*, 6555–6560.
- Sundholm, F., and Tahvanainen, M. (2003). Preparation of cellulose samples for size-exclusion chromatography analyses in studies of paper degradation. *J. Chromatogr. A* *1008*, 129–134.
- Swatloski, R.P., Spear, S.K., Holbrey, J.D., and Rogers, R.D. (2002). Dissolution of cellose with ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* *124*, 4974–4975.

- TAPPI (2013). Viscosity of pulp (capillary viscometer method).
- TCI Europe (2012). 1,3-Dimethyl-2-imidazolidinone.
- Tenkanen, M., Tamminen, T., and Hortling, B. (1999). Investigation of lignin-carbohydrate complexes in kraft pulps by selective enzymatic treatments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *51*, 241–248.
- Terbojevich, M., Cosani, A., Conio, G., Ciferri, A., and Bianchi, E. (1985). Mesophase formation and chain rigidity in cellulose and derivatives. 3. Aggregation of cellulose in N, N-dimethylacetamide-lithium chloride. *Macromolecules* *18*, 640–646.
- Terbojevich, M., Cosani, A., Camilot, M., and Focher, B. (1995). Solution studies of cellulose tricarbanilates obtained in homogeneous phase. *J. Appl. Polym. Sci.* *55*, 1663–1671.
- The European Commission (2014). Commission regulation (EU).
- Thompson, G.H., Myers, M.N., and Giddings, J.C. (1969). Thermal field-flow fractionation of polystyrene samples. *Anal. Chem.* *41*, 1219–1222.
- Till, U., Gaucher-Delmas, M., Saint-Aguet, P., Hamon, G., Marty, J.-D., Chassenieux, C., Payré, B., Goudounèche, D., Mingotaud, A.-F., and Violleau, F. (2014). Asymmetrical flow field-flow fractionation with multi-angle light scattering and quasi-elastic light scattering for characterization of polymersomes: comparison with classical techniques. *Anal. Bioanal. Chem.* *406*, 7841–7853.
- Timpa, J.D. (1991). Application of universal calibration in gel permeation chromatography for molecular weight determinations of plant cell wall polymers: cotton fiber. *J. Agric. Food Chem.* *39*, 270–275.
- Timpa, J.D., and Ramey, H.H. (1994). Relationship between cotton fiber strength and cellulose molecular weight distribution: HVI calibration standards. *Text. Res. J.* *64*, 557–562.
- Tolonen, L.K., Penttilä, P.A., Serimaa, R., Kruse, A., and Sixta, H. (2013). The swelling and dissolution of cellulose crystallites in subcritical and supercritical water. *Cellulose* *20*, 2731–2744.
- Turbak, A.F., El-Kafrawy, A., Snyder, F.W., and Auerbach, A.B. (1981). Solvent system for cellulose.
- Türk, M. (1999). Formation of small organic particles by RESS: experimental and theoretical investigations. *J. Supercrit. Fluids* *15*, 79–89.
- Turner, M.B., Spear, S.K., Holbrey, J.D., and Rogers, R.D. (2004). Production of bioactive cellulose films reconstituted from ionic liquids. *Biomacromolecules* *5*, 1379–1384.
- Vaca-Garcia, C., Thiebaud, S., Borredon, M.E., and Gozzelino, G. (1998). Cellulose esterification with fatty acids and acetic anhydride in lithium chloride/N,N-dimethylacetamide medium. *J. Am. Oil Chem. Soc.* *75*, 315–319.
- Vaca-Medina, G., Jallabert, B., Viet, D., Peydecastaing, J., and Rouilly, A. (2013). Effect of temperature on high pressure cellulose compression. *Cellulose* *20*, 2311–2319.

- Varela, O. (2003). Oxidative reactions and degradations of sugars and polysaccharides. B.-A. in C.C. and Biochemistry, ed. (Academic Press), pp. 307–369.
- Varenne, F., Makky, A., Gaucher-Delmas, M., Violleau, F., and Vauthier, C. (2016). Multimodal dispersion of nanoparticles: a comprehensive evaluation of size distribution with 9 size measurement methods. *Pharm. Res.* 33, 1220–1234.
- Vincendon, M. (1985). Proton NMR study of the chitin dissolution mechanism. *Makromol. Chem.* 186, 1787–1795.
- Viswanathan, A., and Shenouda, S.G. (1971). The helical structure of cellulose I. *J. Appl. Polym. Sci.* 15, 519–535.
- Wada, M., Chanzy, H., Nishiyama, Y., and Langan, P. (2004). Cellulose III crystal structure and hydrogen bonding by synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Macromolecules* 37, 8548–8555.
- Wahlund, K.G., and Giddings, J.C. (1987). Properties of an asymmetrical flow field-flow fractionation channel having one permeable wall. *Anal. Chem.* 59, 1332–1339.
- Wahlund, K.-G., Leeman, M., and Santacruz, S. (2011). Size separations of starch of different botanical origin studied by asymmetrical-flow field-flow fractionation and multiangle light scattering. *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 1455–1465.
- Wendler, F., Todi, L.-N., and Meister, F. (2012). Thermostability of imidazolium ionic liquids as direct solvents for cellulose. *Thermochim. Acta* 528, 76–84.
- Weng, L., Zhang, L., Ruan, D., Shi, L., and Xu, J. (2004). Thermal Gelation of Cellulose in a NaOH/Thiourea Aqueous Solution. *Langmuir* 20, 2086–2093.
- Westermarck, U., and Gustafsson, K. (1994). Molecular size distribution of wood polymers in birch kraft pulps. *Holzforschung* 48, 146–150.
- Williams, S.K.R., and Caldwell, K.D. (2012). *Field-Flow Fractionation in Biopolymer Analysis* (Vienne: Springer).
- Wittgren, B., and Wahlund, K.-G. (1997a). Fast molecular mass and size characterization of polysaccharides using asymmetrical flow field-flow fractionation-multiangle light scattering. *J. Chromatogr. A* 760, 205–218.
- Wittgren, B., and Wahlund, K.-G. (1997b). Effects of flow-rates and sample concentration on the molar mass characterisation of modified celluloses using asymmetrical flow field-flow fractionation–multi-angle light scattering. *J. Chromatogr. A* 791, 135–149.
- Wood, B.F., Conner, A.H., and Hill, C.G. (1986). The effect of precipitation on the molecular weight distribution of cellulose tricarbonyl. *J. Appl. Polym. Sci.* 32, 3703–3712.
- Wu, C.-S. (2003). *Handbook of size exclusion chromatography and related techniques : revised and expanded* (New York: Wu, C.-S.).
- Wu, Y.D., He, J.M., Huang, Y.D., Wang, F.W., and Tang, F. (2012). Oxidation of regenerated cellulose with nitrogen dioxide/carbon tetrachloride. *Fibers Polym.* 13, 576–581.

- Wyatt, P.J. (1993). Light scattering and the absolute characterization of macromolecules. *Anal. Chim. Acta* *272*, 1–40.
- Yamane, C., Aoyagi, T., Ago, M., Sato, K., Okajima, K., and Takahashi, T. (2006). Two different surface properties of regenerated cellulose due to structural anisotropy. *Polym. J.* *38*, 819–826.
- Yanagisawa, M., and Isogai, A. (2005). SEC-MALS-QELS study on the molecular conformation of cellulose in LiCl/amide solutions. *Biomacromolecules* *6*, 1258–1265.
- Yanagisawa, M., Shibata, I., and Isogai, A. (2005). SEC-MALLS analysis of softwood kraft pulp using LiCl/1,3-dimethyl-2-imidazolidinone as an eluent. *Cellulose* *12*, 151–158.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H., and Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* *86*, 1781–1788.
- Yaşar, F., Toğrul, H., and Arslan, N. (2007). Flow properties of cellulose and carboxymethyl cellulose from orange peel. *J. Food Eng.* *81*, 187–199.
- Yatsu, L.Y., Calamari, T.A., and Benerito, R.R. (1986). Conversion of cellulose I to stable cellulose III. *Text. Res. J.* *56*, 419–424.
- Yeo, S.-D., Choi, J.-H., and Lee, T.-J. (2000). Crystal formation of BaCl₂ and NH₄Cl using a supercritical fluid antisolvent. *J. Supercrit. Fluids* *16*, 235–246.
- Yin, C., and Shen, X. (2007). Synthesis of cellulose carbamate by supercritical CO₂-assisted impregnation: Structure and rheological properties. *Eur. Polym. J.* *43*, 2111–2116.
- Zattoni, A., Rambaldi, D.C., Reschiglian, P., Melucci, M., Krol, S., Garcia, A.M.C., Sanz-Medel, A., Roessner, D., and Johann, C. (2009). Asymmetrical flow field-flow fractionation with multi-angle light scattering detection for the analysis of structured nanoparticles. *J. Chromatogr. A* *1216*, 9106–9112.
- Zeronian, S.H., Coole, M.L., Alger, K.W., and Chandler, J.M. (1983). Studies on the water sorption isotherms of celluloses and their use for determining cellulose crystallinities. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.* *37*, 1053–1069.
- Zhang, H., Wu, J., Zhang, J., and He, J. (2005). 1-allyl-3-methylimidazolium chloride room temperature ionic liquid: a new and powerful nonderivatizing solvent for cellulose. *Macromolecules* *38*, 8272–8277.
- Zhang, L., Ruan, D., and Gao, S. (2002). Dissolution and regeneration of cellulose in NaOH/thiourea aqueous solution. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* *40*, 1521–1529.
- Zhang, S., Li, F.-X., Yu, J., and Hsieh, Y.-L. (2010). Dissolution behaviour and solubility of cellulose in NaOH complex solution. *Carbohydr. Polym.* *81*, 668–674.
- Zhou, J., Zhang, L., and Cai, J. (2004). Behavior of cellulose in NaOH/Urea aqueous solution characterized by light scattering and viscometry. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* *42*, 347–353.

Zhou, J., Qin, Y., Liu, S., and Zhang, L. (2006). Homogenous synthesis of hydroxyethylcellulose in NaOH/Urea aqueous solution. *Macromol. Biosci.* 6, 84–89.

Zhu, S., Wu, Y., Chen, Q., Yu, Z., Wang, C., Jin, S., Ding, Y., and Wu, G. (2006). Dissolution of cellulose with ionic liquids and its application: a mini-review. *Green Chem.* 8, 325–327.

Zimm, B.H. (1948). The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions. *J. Chem. Phys.* 16, 1093–1099.

RÉSUMÉ

La cellulose est un biopolymère naturel et très abondant. Selon son origine et son mode d'extraction, elle présente des propriétés de cristallinité et de longueur de chaînes variables. Les interactions hydrogène entre les chaînes de cellulose sont en grande partie responsables de son organisation et forment un réseau très dense qui limite sa solubilité. Sa dissolution, complète et non-dégradante, est donc compliquée et dépend de la capacité du solvant à rompre ces liaisons hydrogène intermoléculaires. L'analyse de la cellulose par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) pour suivre l'évolution des distributions de masses molaires (DMM) au cours des procédés de transformation est donc toujours problématique. Le système de solvant le plus commun est actuellement le chlorure de lithium/*N,N*-diméthylacétamide (LiCl/DMAc) qui est extrêmement toxique. L'objectif de ce travail est le développement d'une méthode d'analyse des DMM de la cellulose dans des conditions moins toxiques et adaptée à tous les types de cellulose. Parmi les nombreux systèmes de solvant décrits dans la littérature, 3 systèmes, plus verts et non-dérivatisants, ont été sélectionnés afin d'identifier un système de solvant permettant la dissolution, sans dégradation, d'échantillons de cellulose de cristallinité et de masse molaire moyenne variables afin de remplacer LiCl/DMAc.

Les analyses thermogravimétriques et les mesures viscosimétriques ont permis d'évaluer et de comparer les modifications de 4 échantillons de cellulose dissous dans ces 3 systèmes et dans le LiCl/DMAc. LiCl/DMAc dégrade les celluloses de plus haute masse molaire (α -cellulose et Vitacel), réduisant de 50 % les longueurs de chaîne après dissolution. Le système tétrabutylammonium/diméthylsulfoxyde (TBAF/DMSO) permet une dissolution rapide des 4 échantillons de cellulose sans dégradation ou modification majeure. Le système TBAF/DMSO a, par la suite, été privilégié pour la caractérisation des échantillons en SEC. Du fait d'interactions possibles entre les groupements aromatiques composant la phase stationnaire et les molécules de TBAF, le système complet n'a pas pu être utilisé comme éluant. L'éluant choisi a donc été le DMSO mais qui, seul, ne solubilise pas les échantillons cellulosiques. Les molécules de TBAF sont cependant indispensables au mécanisme de dissolution et la concentration en TBAF dans le DMSO a dû être adaptée en fonction des échantillons. Pour les échantillons cellulosiques de faible masse molaire, une concentration en TBAF de l'ordre de 1 % (m/v) est suffisante et permet de réaliser une analyse des masses molaires satisfaisantes. Pour les échantillons de plus haut poids moléculaire, cette concentration n'est plus suffisante pour les dissoudre convenablement. Or, avec des concentrations plus élevées, des phénomènes d'agrégation provoquent l'éluion d'une partie importante des macromolécules dans le volume mort, comme observé avec l'analyse de standards de pullulane.

Mots-clés : cellulose, dissolution, distribution de masses molaires, solvant non-dérivatisant, chromatographie d'exclusion stérique.

ABSTRACT

Cellulose is a very abundant natural biopolymer. According to its origin and to its extraction mode, it presents various crystallinity rate and molar mass. Its organization relies mainly on intermolecular hydrogen bonds that form a strong network and thus limiting cellulose solubility. Complete and non-degradative dissolution is then complicated and depends on the solvent ability to disrupt these hydrogen bonds. Analysis of the molar mass distribution (MMD) of cellulose by size exclusion chromatography (SEC) of cellulose is consequently problematic while the study of the evolution of cellulose molar mass during transformations could be extremely useful in many processes. The most common solvent used in SEC is lithium chloride/*N,N*-dimethylacetamide (LiCl/DMAc), which is extremely toxic. The aim of this PhD study is then to develop a new analytical method to characterize cellulose MMD using safer solvents and adapted to all kinds of cellulosic sample. Among the numerous non-derivatizing solvent systems described in the literature, three of them have been selected. Greener and less toxic than LiCl/DMAc, their ability to dissolve cellulosic sample of various crystallinity and average molar mass without degradation was then tested.

Thermogravimetric analyses and viscosimetric studies allowed to evaluate and to compare the modifications involved by the dissolution for four different cellulosic samples. LiCl/DMAc degraded the samples of higher molar mass (α -cellulose and Vitacel) decreasing their degree of polymerization by 50 % after dissolution. Tetrabutylammonium/dimethylsulfoxide (TBAF/DMSO) system allows rapid dissolution of the 4 cellulose samples, without major degradation or modification. TBAF/DMSO system was then studied as solvent for SEC analysis of these cellulose samples. Due to the interactions between the aromatic groups composing the stationary phase with TBAF molecules, the complete system could not be used as eluant. Chosen eluant was then DMSO alone. However, as the TBAF molecules are mandatory for the dissolution of cellulose, TBAF concentration was adapted according to the cellulose nature for the preparation of the samples. For low molar mass cellulose samples, a TBAF concentration of 1 % (w/v) was sufficient and allowed to performed correctly the chromatographic analysis. For the samples of higher molar mass, this concentration was not high enough to complete the dissolution. Using, higher concentrations caused aggregation phenomena resulting in the elution of a large amount of the macromolecules in the dead volume, as observed with the analysis of pullulan standards.

Keywords : cellulose, dissolution, molar masses distribution, underivatizing solvent, size exclusion chromatography.
