



**HAL**  
open science

# Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques

David Lafargue

► **To cite this version:**

David Lafargue. Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques. Ingénierie des aliments. Université de Nantes, 2007. Français. NNT: . tel-02823382

**HAL Id: tel-02823382**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02823382v1>**

Submitted on 6 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 Nantes

ÉCOLE DOCTORALE

MÉCANIQUE, THERMIQUE ET GÉNIE CIVIL

Année 2007

N° B.U. :

## Thèse de DOCTORAT

Spécialité : GÉNIE DES PROCÉDÉS

Présentée et soutenue publiquement par :

**David LAFARGUE**

le 30 novembre 2007  
à l'ENITIA, Nantes

## Étude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques

### JURY

<i>Président</i>	M. R. DETERRE	<i>Professeur, Université de Nantes</i>
<i>Rapporteurs</i>	Mme C. MICHON M. A. DUFRESNE	<i>Professeur, AgroParisTech, Massy</i> <i>Professeur, EFPG-INP, Grenoble</i>
<i>Examineurs</i>	Mme T. BUDTOVA M. P. LEFEVRE M. D. LOURDIN M. J.-L. DOUBLIER	<i>Chargée de recherche, École des mines de Paris, CEMEF, Sophia-Antipolis</i> <i>Responsable des applications pharmaceutiques et cosmétiques, Roquette Frères, Lestrem</i> <i>Chargé de recherche, INRA, Nantes</i> <i>Directeur de recherche, INRA, Nantes</i>

Directeur de thèse : Denis Lourdin  
co-Directeur de thèse : Jean-Louis Doublier



## *Remerciements*

Ces travaux ont été réalisés à l'INRA de Nantes au sein de l'unité Biopolymères, Interactions, Assemblages. Arrivé au moment de la création de cette unité, je tiens à remercier son directeur pour m'y avoir accueilli et m'avoir donné la possibilité de représenter les doctorants au conseil d'unité.

J'adresse ma reconnaissance à tous les membres du jury pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail : Mme Camille Michon (AgroParisTech, Massy) et M. Alain Dufresne (EFPG - INP, Grenoble) pour avoir été les rapporteurs, M. Rémi Deterre (Université de Nantes) en sa qualité de président du jury, et Mme Tatiana Budtova (École des Mines de Paris-CEMEF, Sophia-Antipolis) et M. Philippe Lefevre (Roquette Frères S.A., Lestrem) pour avoir été les examinateurs.

Je veux remercier en particulier Denis Lourdin et Jean-Louis Doublier, mes directeurs de thèse, pour m'avoir confié ce travail et avec qui j'ai passé trois années passionnantes. Je leur suis très reconnaissant pour la qualité de leur encadrement, leur attention, et bien évidemment pour les connaissances et leur expérience du monde de la recherche qu'ils ont su me transmettre, et qui j'en suis sûr me seront bénéfiques dans les années futures. Merci Denis pour ta qualité scientifique indéniable, ta profonde gentillesse, et les discussions extraprofessionnelle pour une passion commune : la musique. Merci Jean-Louis pour votre pédagogie, votre méthode, votre patience méticuleuse de chaque instant pour mes petites étourderies. Enfin, je vous remercie tout les deux pour votre gentillesse, votre bonne humeur, les moments passés ensemble, votre complémentarité, et la confiance que vous m'avez apportée tout au long ce travail. Ce fut pour moi un honneur véritable et sincère de pouvoir partager ces trois années à vos côtés.

Je tiens à adresser mes remerciements aux partenaires pour leur implication dans ce projet de recherche : j'adresse en particulier mes remerciements à Cyril Chaudemanche et Tatiana Budtova du CEMEF, Mme Lefrançois et M. Desprairies de Cargill Texturizing solutions, et M. Lefevre de chez Roquette frères pour les nombreuses discussions au sein des réunions techniques et scientifiques qui ont permis de faire avancer ce projet.

Je souhaite remercier également Alain Buléon, pour avoir suivi une grande partie de ce travail et m'avoir fait profiter de ses connaissances étendues sur l'amidon ainsi que pour la pertinence de ses conseils. J'en profite au passage pour remercier Jacques Lefebvre et Hervé Bizot pour leur disponibilité de chaque instant et leurs conseils prolifiques.

Un grand merci à Sylvie Durand et Bruno Pontoire pour leur disponibilité, les nombreuses discussions et le temps consacré à m'aider et à me conseiller lors des manipulations rhéologiques, microcalorimétriques, et de microscopie confocale concernant Sylvie, et pour la diffraction de rayon-X pour Bruno. Je remercie également Joëlle Davy pour les mesures calorimétriques, et Cécile Mangavel pour les mesures de séchage et la mise à disposition de l'enceinte climatique. Merci à Cédric Gaillard pour les mesures réalisées en AFM. Merci également à Alain Sire et Patrice Papineau pour leur précieuse assistance dans la mise en place d'expérimentations. Merci également à Dominique l'Hostis et Raymonde Le Magrex.

Je voudrais également remercier les personnes de l'INRA que j'ai eu la chance de côtoyer et qui ont su rendre ces trois années nantaises toujours plus agréables. Je remercie en particulier Benoît, Najet, Virginie, Diminique pour les agréables moments de détente, Joris, Naoufel, Sami, Ming, Djiabril, Beda, Gueba, Helga, Agata, Jessica, Bérénice, Mathilde, Colin, et également les autres membres de l'INRA: Anne-Cécile, Sylvaine, Jane, Bénédicte, Carole, Laurent, Marlène, Roselyne, Guy, Jean-François, Hubert et les autres membres des équipes PEPSI et MC2 pour leur bonne humeur et les moments de détente passés en leur compagnie.

Je n'oublie pas bien évidemment de remercier mes amis de ma région natale marmandaise qui ont toujours suivi avec intérêt mon parcours et le développement de ces travaux de recherche. Je tiens à remercier mes parents, qui ont toujours cru en moi et sans qui rien n'aurait été possible. Merci également à Chris et Marie et au petit loulou Aubin qui va bientôt être grand frère. Ma dernière pensée revient à Alexandra qui occupe mon cœur et qui par son soutien infaillible a rendu possible la rédaction de cette thèse. Merci pour son amour, son écoute, ses encouragements et son soutien.

## *Avant propos*

Cette thèse a été réalisée à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Nantes dans l'unité Biopolymères, Interactions, Assemblages (BIA) au sein des équipes *Physico-Chimie et Enzymologie des PolySaccharides et leurs Interactions* (PEPSI), et *Matériaux, Création, et Comportement* (MC2).

Ce travail de recherche s'inscrit dans le cadre du projet VEGE pour *Gélules pharmaceutiques en polymères issus d'extraits végétaux*, dont l'objectif est de remplacer la gélatine par un mélange de polysaccharides d'origine végétale pour la fabrication de gélules pharmaceutiques dures. Ce projet a été financé dans le cadre du Réseau National Matériaux et Procédés (RNMP) du Ministère de l'Industrie dont l'objet est de favoriser, dans le domaine des matériaux et procédés, la collaboration entre la recherche publique et la recherche industrielle.

Le réseau RNMP labellise des projets de recherche et développement qui visent à faire émerger de nouveaux matériaux présentant des propriétés nouvelles ou améliorées. Ce projet implique trois partenaires industriels : Roquette frères, Cargill texturizing solutions, et Roxlor et deux partenaires publics, le Centre de Mise en Forme des Matériaux (CEMEF), de l'école des Mines de Paris, et l'INRA de Nantes.



## *Publications*

Les travaux de recherche qui ont été réalisés dans le cadre de cette thèse de doctorat ont fait l'objet des publications et communications scientifiques suivantes:

### Publications:

David Lafargue, Denis Lourdin, Jean-Louis Doublier, **(2007)**, *Film-forming properties of a modified starch/ $\kappa$ -carrageenan mixture in relation to its rheological behaviour*, Carbohydrate Polymers, 70, 101-111.

David Lafargue, Jean Louis Doublier, Alain Buléon, Bruno Pontoire, and Denis Lourdin, **(2007)**, *Structure and Mechanical Properties of Hydroxypropylated Starch Films*, Biomacromolecules, 8 (12), 3950–3958.

### Communications orales:

David Lafargue, Denis Lourdin, Jean-Louis Doublier, **(2006)**, *Influence de l'hydrolyse sur les propriétés filmogènes d'amidon de pois hydroxypropylés*, 31/01/2006, Service R&D Société ROQUETTE, Lestrem, France.

David Lafargue, Denis Lourdin, Jean-Louis Doublier, **(2006)**, *Propriétés rhéologiques d'un mélange filmogène à base d'amidon et de  $\kappa$ -carraghénane*, 06-08/03/2006, Journées des Jeunes Rhéologues, Evieux l'Arbresle, France.

David Lafargue, Jean-Louis Doublier, Denis Lourdin, **(2006)**, *Influence de la masse molaire sur la structure et les propriétés de films d'amidon*, 08/06/2006, 27èmes Journées ouest du groupe français d'études & d'applications des Polymères (GFP), Nantes, France.

David Lafargue, Denis Lourdin, Jean-Louis Doublier, **(2006)**, *Modified Starch/ $\kappa$ -carrageenan mixtures: from rheological properties of paste to mechanical properties of film*, 18-22/06/2006, 8th International Hydrocolloids Conference, Trondheim, Norvège.

Affiches:

David Lafargue, Jean-Louis Doublier, Denis Lourdin, **(2007)**, *Formation of hydroxypropylated starch films; structure evolution during the casting*, 2-6/07/2007, European Polymer Congress, Portoroz, Slovénie.

## Table des matières

<i>Remerciements</i> .....	i
<i>Avant propos</i> .....	iii
<i>Publications</i> .....	v
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>5</b>
<b>I.1 GÉLULES PHARMACEUTIQUES</b> .....	<b>5</b>
I.1.1 Gélules pharmaceutiques dures .....	6
I.1.2 Fabrication et propriétés des gélules de gélatine dures .....	6
I.1.3 Propriétés des gélules de gélatine .....	10
I.1.4 Alternatives à la gélatine .....	12
<b>I.2 POLYSACCHARIDES ÉTUDIÉS</b> .....	<b>14</b>
I.2.1 L'amidon .....	15
I.2.1.1 Composition et structure primaire de l'amidon .....	15
I.2.1.2 Morphologie et ultrastructure des grains d'amidons .....	18
I.2.1.3 Transitions hydrothermiques .....	23
I.2.1.4 Modifications de l'amidon .....	25
I.2.2 Le carraghénane .....	29
I.2.2.1 Structure chimique .....	29
I.2.2.2 Conformation du $\kappa$ -carraghénane .....	30
I.2.2.3 Gélification du $\kappa$ -carraghénane .....	34
<b>I.3 MÉLANGES DE POLYSACCHARIDES</b> .....	<b>39</b>
I.3.1 Comportement de phase .....	39
I.3.2 Incompatibilité thermodynamique .....	40
I.3.3 Les gels à base de mélanges polysaccharides .....	42
I.3.3.1 Propriétés rhéologiques .....	43
I.3.3.2 Rhéologie des mélanges à base d'amidon .....	43
<b>I.4 PROPRIÉTÉS DES FILMS A BASE DE POLYSACCHARIDES</b> .....	<b>45</b>
I.4.1 Mise en forme des films à base de polysaccharides .....	45
I.4.1.1 Voie Sèche .....	45

I.4.1.2	Voie humide .....	46
I.4.2	Films à base d'amidon .....	47
I.4.2.1	Teneur en eau .....	48
I.4.2.2	Transition vitreuse $T_g$ .....	49
I.4.2.3	Cristallinité dans les films d'amidon .....	56
I.4.3	Films à base d'amidons modifiés .....	59
I.4.4	Films à base de mélanges de polysaccharides .....	60
<b>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES .....</b>		<b>61</b>
<hr/>		
<b>II.1</b>	<b>MATÉRIELS .....</b>	<b>61</b>
II.1.1	Gélatine .....	61
II.1.2	$\kappa$ -carraghénane .....	61
II.1.3	Amidons de pois hydroxypropylés .....	61
<b>II.2</b>	<b>MÉTHODES .....</b>	<b>63</b>
II.2.1	Préparation des solutions .....	63
II.1.1	Solutions à base de gélatine .....	63
II.1.1	Solutions à base d'amidon et de $\kappa$ -carraghénane .....	63
II.2.2	Préparation de films .....	64
II.1.2	Films minces : casting .....	65
II.1.1	Films épais thermomoulés .....	65
II.2.3	Méthodes de caractérisation .....	66
II.1.2	Propriétés rhéologiques .....	66
II.1.3	Teneur en eau et cinétiques de séchage .....	69
II.1.4	Cristallinité et changement d'état .....	71
II.1.5	Propriétés mécaniques .....	74
II.1.6	Morphologie .....	76
<b>CHAPITRE III : RÉSULTATS .....</b>		<b>77</b>
<hr/>		
<b>III.1</b>	<b>GÉLATINE: COMPORTEMENTS RHÉOLOGIQUES ET PROPRIÉTÉS FILMOGÈNES .....</b>	<b>78</b>
III.1.1	Comportements rhéologiques .....	78
III.1.1.1	Solutions de gélatine à 50°C .....	78
III.1.1.2	Gélification .....	78
III.1.1.3	Propriétés viscoélastiques des gels .....	81
III.1.2	Formation des films .....	83
III.1.3	Propriétés des films .....	84

III.1.3.1	<i>Traction uniaxiale</i> .....	84
III.1.3.2	<i>Transitions de phase des films de gélatine</i> .....	85
III.1.4	<i>Conclusion</i> .....	86
<b>III.2</b>	<b>COMPORTEMENTS RHÉOLOGIQUES DES MÉLANGES AMIDON / K-CARRAGHÉNANE</b>	<b>87</b>
III.2.1	<i>Comportements rhéologiques à 50°C</i> .....	88
III.2.1.1	<i>Amidons de pois hydroxypropylés</i> .....	88
III.2.1.2	<i>κ-carraghénane</i> .....	91
III.2.1.3	<i>Mélanges amidon/κ-carraghénane</i> .....	91
III.2.1.4	<i>Conclusion sur le comportement des mélanges à 50°C</i> .....	95
III.2.2	<i>Gélification-fusion</i> .....	96
III.2.2.1	<i>Mesures microcalorimétriques</i> .....	96
III.2.2.2	<i>Mesures rhéologiques</i> .....	99
III.2.3	<i>Propriétés viscoélastiques des gels à 20°C</i> .....	103
III.2.3.1	<i>Gels de κ-carraghénane</i> .....	103
III.2.3.2	<i>Mélanges gélifiés</i> .....	104
III.2.4	<i>Conclusion sur le comportement à 20°C</i> .....	107
<b>III.3</b>	<b>STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS MÉCANIQUES DES FILMS</b> .....	<b>108</b>
III.3.1	<i>Influence de la masse molaire</i> .....	108
III.3.1.1	<i>Cristallinité</i> .....	108
III.3.1.2	<i>Caractérisation de la structure semi-cristalline</i> .....	110
III.3.1.3	<i>Cinétiques de séchage</i> .....	112
III.3.1.4	<i>Mise en place de la structure au cours du séchage</i> .....	112
III.3.1.5	<i>Morphologie des films</i> .....	116
III.3.1.6	<i>Propriétés mécaniques</i> .....	118
III.3.2	<i>Influence de la cristallinité à masse molaire constante</i> .....	120
III.3.2.1	<i>Élaboration de films à différents degrés de cristallinité</i> .....	120
III.3.2.2	<i>Caractérisation de la structure semi-cristalline</i> .....	122
III.3.2.3	<i>Propriétés mécaniques des films</i> .....	123
III.3.3	<i>Influence de la teneur en eau</i> .....	123
III.3.3.1	<i>Isothermes de sorption à 25°C</i> .....	123
III.3.3.2	<i>Évolution de la Tg avec la teneur en eau</i> .....	124
III.3.3.3	<i>Évolution des propriétés mécaniques avec la teneur en eau</i> .....	126
III.3.4	<i>Influence des plastifiants : glycérol et polysorb®</i> .....	127
III.3.5	<i>Conclusion sur la structure et les propriétés mécaniques des films d'amidons hydroxypropylés et hydrolysés</i> .....	130
III.3.6	<i>Effets du κ-carraghénane</i> .....	132
III.3.6.1	<i>Séchage</i> .....	132

III.3.6.2	<i>Teneurs en eau</i> .....	133
III.3.6.3	<i>Cristallinité</i> .....	133
III.3.6.4	<i>Changements d'état et transitions de phase</i> .....	134
III.3.6.5	<i>Propriétés mécaniques</i> .....	135
III.3.6.6	<i>Conclusion sur l'effet du <math>\kappa</math>-carraghénane</i> .....	136
<b>CHAPITRE IV : DISCUSSION GÉNÉRALE</b> .....		<b>138</b>
<hr/>		
<b>IV.1</b>	<b>EFFETS DE SYNERGIE EN SOLUTION ET À L'ÉTAT DE GEL</b> .....	<b>137</b>
IV.1.1	Constituants seuls .....	137
IV.1.2	Mélanges.....	138
<b>IV.2</b>	<b>CINÉTIQUE ET ÉVOLUTION DE LA STRUCTURE AU COURS DU SÉCHAGE</b> .....	<b>143</b>
IV.2.1	Réorganisations moléculaires au cours du séchage.....	143
IV.2.1.1	<i>Mécanismes de cristallisation</i> .....	143
IV.2.1.2	<i>Effet de la température de séchage</i> .....	145
IV.2.1.3	<i>Effet de la masse molaire sur la cristallinité de l'amidon</i> .....	146
IV.2.2	Effet de la séparation de phase sur les cinétiques de séchage .....	146
<b>IV.3</b>	<b>STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS DES FILMS</b> .....	<b>147</b>
IV.3.1	Films à base des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane .....	147
IV.3.2	Films d'amidon.....	147
IV.3.2.1	<i>Structure cristalline</i> .....	147
IV.3.2.2	<i>Distribution de l'eau</i> .....	149
IV.3.2.3	<i>Phase amorphe</i> .....	151
IV.3.3	Propriétés mécaniques .....	151
IV.3.3.1	<i>À l'état vitreux</i> .....	152
IV.3.3.2	<i>À l'état caoutchoutique</i> .....	152
IV.3.3.3	<i>Effet de l'humidité ambiante : stabilité des films</i> .....	153
<b>IV.4</b>	<b>COMPARAISON AVEC LA GÉLATINE</b> .....	<b>155</b>
IV.4.1	En solution.....	155
IV.4.2	Gélification .....	156
IV.4.3	Propriétés des films .....	157
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....		<b>161</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....		<b>165</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....		<b>181</b>
<hr/>		

## *INTRODUCTION*



## *Introduction*

La gélule est l'une des formes galéniques les plus anciennes dans l'histoire pharmaceutique, connue notamment des Égyptiens dès l'Antiquité. En Europe, il faut attendre le XIX<sup>ème</sup> siècle pour voir apparaître la première gélule pharmaceutique à base de gélatine avec le brevet du pharmacien M. Dublanc et de son étudiant M. Mothès. Au cours des années suivantes, cette invention a connu un tel succès que la production des gélules s'est rapidement développée dans de nombreux pays. Ceci a abouti à de nombreuses améliorations dont l'invention des gélules de gélatine dures en 1846 par M. Lehuby.

Le développement des gélules pharmaceutiques dures, utilisées à des fins thérapeutiques, trouve son origine dans le vif intérêt suscité par les nombreuses découvertes dans le domaine pharmacologique. Ceci a considérablement élargi la gamme de formulations possibles utilisant des gélules pharmaceutiques dures. Aujourd'hui, les gélules pharmaceutiques sont principalement à base de gélatine animale d'origine porcine ou bovine. La gélatine est une protéine animale qui est un ingrédient traditionnel dans de très nombreux domaines, notamment dans l'alimentaire. C'est un substrat de choix pour la fabrication des gélules pharmaceutiques grâce à ses propriétés gélifiantes à des températures proches de la température ambiante et à son aptitude à former des films homogènes.

Cependant, l'usage de la gélatine animale dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique se trouve encadrée par des réglementations de plus en plus contraignantes. Le principe de précaution appliqué par exemple au risque de transmission, par la gélatine animale, de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine ESB (vache folle) a remis en cause son utilisation. Même si aujourd'hui, la réglementation sur l'origine de la gélatine est très stricte et que la gélatine ne présente plus un risque pour la santé, le développement de produits de substitution intéresse les industries pharmaceutiques et alimentaires. Les sources dont provient la gélatine peuvent également poser des problèmes religieux ou éthiques pour certaines populations. De nombreuses personnes à travers le monde ne consomment pas de produits à base de porc (végétariens, Hébreux, et Musulmans) ou à base de bœuf (végétariens, Hindous). C'est pour ces raisons que le remplacement de la gélatine par d'autres agents de texture d'origine non animale, a fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières années.

Dans ce contexte, un programme de recherche, VEGE, pour *Gélules pharmaceutiques en polymères issus d'extraits végétaux*, a débuté en 2004 en collaboration avec des industriels, Roquette, Cargill Texturizing solutions, Roxlor, et deux laboratoires publics, le Centre de mise en forme des matériaux (CEMEF) de l'école des Mines de Paris et l'INRA de Nantes. Ce programme de recherche a bénéficié du soutien des ministères de la recherche et de l'industrie dans le cadre du réseau RNMP (Réseau National Matériaux et Procédés).

L'objectif principal de ce projet de recherche est de substituer la gélatine par un mélange de polysaccharides d'origine végétale pour la fabrication de gélules pharmaceutiques dures. L'idée est de développer un nouveau système dont les caractéristiques en solution et à l'état solide seraient les plus proches des formulations existantes. Les contraintes industrielles imposent l'élaboration de formulations concentrées (25-30%) préparées à des températures inférieures à 100°C capables de former un gel physique au refroidissement et de former un film après séchage. Le film obtenu doit avoir une tenue mécanique suffisante pour résister aux contraintes de démoulage, de remplissage, et de stockage, et être capable de se dissoudre dans l'estomac, en milieu acide.

Le système envisagé est un mélange à base d'amidon et de carraghénane. L'amidon conférerait au mélange des propriétés filmogènes et sa solubilité en milieu aqueux, le carraghénane apporterait son aptitude à gélifier. Le choix a porté sur l'utilisation d'un amidon hydroxypropylé et hydrolysé pour sa capacité à être solubilisé à des températures inférieures à 100°C et à former des solutions stables à des concentrations élevées ( $\approx$  25-30%). L'origine botanique de cet amidon est le pois en raison de sa teneur en amylose élevée qui améliore les propriétés mécaniques des films. Le carraghénane étudié a été le  $\kappa$ -carraghénane sous forme potassium pour sa capacité à former des gels physiques thermoréversibles dont les températures de transition sont facilement ajustables. Les mélanges filmogènes ont été préparés par casting.

Dans ce contexte, le premier objectif a été de sélectionner plusieurs formulations à base du système amidon / carraghénane dont les conditions d'élaboration ainsi que les caractéristiques à l'état solide sont les plus proches possibles de celles des films obtenus à base de gélatine. Pour ce faire, en suivant les conditions imposées par le procédé de fabrication industriel des gélules, nous avons étudié les comportements rhéologiques et mécaniques de la gélatine

comme référence. À partir de l'étude des propriétés rhéologiques des mélanges en solution, ainsi que des propriétés physiques des films obtenus par casting, des mélanges ayant une bonne « filmabilité » ont été mis au point pour produire des gélules par un procédé proche de celui existant.

Le second objectif a consisté à élucider les mécanismes et le rôle des constituants dans les mélanges à l'état de solution, de gel, et à l'état solide en lien avec la mise en place de la structure au cours du séchage. Les mélanges amidon-carraghénane étant particulièrement étudiés pour l'intérêt qu'ils suscitent dans l'industrie alimentaire, l'amélioration de la connaissance de ces systèmes permettra d'élargir leurs domaines d'application non seulement pour de nouvelles applications alimentaires mais également dans l'industrie pharmaceutique en tant que gélule.

Le chapitre I de ce manuscrit décrit le contexte scientifique et technologique dans lequel s'est déroulée cette étude. Dans la première partie de ce chapitre, l'industrie des gélules pharmaceutiques sera présentée en lien avec la méthode de fabrication actuelle des gélules, les propriétés des gélules à base de gélatine, et les alternatives qui sont proposées. La deuxième partie est dédiée à la description détaillée des polysaccharides qui ont été utilisés dans cette étude : l'amidon et le  $\kappa$ -carraghénane. Le comportement en solution et lors de la gélification des mélanges de polysaccharides et avec notamment les mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane sont développés dans la troisième partie. Enfin, les principales techniques de mise en forme des films à base de polysaccharides et les propriétés des films à base d'amidon et des mélanges de polysaccharides sont abordées dans la quatrième et dernière partie.

Le chapitre II décrit l'approche expérimentale poursuivie pour réaliser ce travail. Les différents échantillons utilisés et leurs caractéristiques moléculaires sont présentés en premier lieu. La mise au point des conditions d'élaboration des films à base de gélatine et d'amidon/ $\kappa$ -carraghénane dans des conditions proches de celles utilisées pour la fabrication de gélules pharmaceutiques, ainsi que les méthodes de caractérisation des propriétés à l'état de solution, à l'état solide en lien avec la formation de films sont détaillées dans la deuxième partie.

Le chapitre III est consacré aux résultats obtenus lors de ce travail. La première partie de ce chapitre a permis d'établir un comportement rhéologique de la gélatine sur la base des propriétés rhéologiques et filmogènes dans les conditions industrielles. Les différentes

formulations ont ensuite été caractérisées en solution et lors de la gélification par des mesures rhéologiques et microcalorimétriques. Les films ont été caractérisés en terme de propriétés mécaniques, thermomécaniques, de changements d'état et de transitions de phase, de morphologie, et de structure en lien avec la formation des films par des mesures cinétiques du séchage et d'évolution de la structure.

Le dernier chapitre de ce travail (chapitre IV) est consacré à la discussion générale de ce travail, puis à une conclusion qui rappellera les principaux résultats de cette étude et les perspectives de ce projet de recherche.

## *CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE*



## I.1 GÉLULES PHARMACEUTIQUES

Les gélules, également appelées capsules (du mot latin *capsula* qui signifie contenant), sont des préparations solides constituées d'une enveloppe dure ou molle, de forme et de capacité variables, contenant généralement une dose unitaire de principe actif. Le contenu des gélules peut être solide, liquide, ou de consistance pâteuse. Les gélules *molles* désignent une capsule constituée d'une seule partie dont la forme peut être cylindrique, sphérique, ovoïde, etc. Elle contient en général un plastifiant qui lui confère ses propriétés de souplesse d'où l'adjectif qui la désigne. Les gélules *dures* sont constituées de deux parties (la tête et le corps) de forme cylindrique qui ont un diamètre légèrement différent permettant leur emboîtement. Les gélules dures contiennent très peu de plastifiant ce qui les rend rigides.

Le premier brevet concernant l'utilisation de gélules de gélatine pour des usages thérapeutiques a été déposé en 1834 par MM. J.G.A. Dublanc et F.A.B. Mothès. De nombreuses tentatives avaient été entreprises pour masquer le goût désagréable de certains médicaments en vogue à cette époque (térébenthine, copaïba). La solution qui a rencontré le plus de succès a été l'invention d'une capsule à base d'un film de gélatine renfermant le médicament.

MM. Dublanc et Mothès élaborent alors un procédé de fabrication des gélules qui consiste à tremper un objet cylindrique en laiton dans une solution aqueuse de gélatine parfumée et sucrée, puis à le retirer et à le poser verticalement pour le séchage. Après l'évaporation de l'eau, la gélatine se trouve sous forme d'un film solide recouvrant les parois du cylindre, formant ainsi une capsule. Les gélules, pouvant être assimilées à des gélules molles, sont alors remplies puis scellées avec une goutte de solution de gélatine. M. Mothès a continué seul à travailler sur l'amélioration du procédé d'élaboration et sur l'utilisation des gélules de gélatine. Le succès incroyable de ses gélules dans les années suivantes s'est traduit par leur utilisation à l'échelle mondiale.

Pour plus de détails, il est possible de se référer à un ouvrage consacré à l'histoire des gélules pharmaceutiques, à leur méthode de fabrication et à leur caractéristique (Podczeck et Jones, 2004). Nous nous limiterons dans les parties suivantes à décrire les caractéristiques des gélules pharmaceutiques dures.

### **I.1.1 Gélules pharmaceutiques dures**

Au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle, le remarquable essor des gélules pharmaceutiques *molles* de Mothès, entraîne le développement de nombreux procédés alternatifs. En 1846, soit un peu plus de dix ans après l'invention de la première gélule à base de gélatine, M. J.C. Lehuby dépose un brevet sous l'intitulé « Mes enveloppes médicamenteuses ». Il est le premier à proposer une gélule constituée de deux parties qui sont produites en trempant des doigts de moulage en métal dans une solution de gélatine puis en les séchant. Les gélules ont une forme cylindrique et sont constituées de deux hémicylindres de diamètre légèrement différent permettant un assemblage aisé. Il est important de souligner que ce procédé, qui a été amélioré par l'inventeur au fil des années, était initialement destiné à fabriquer des gélules dures à base d'amidon de manioc, puis à base d'un mélange de carraghénane et de gélatine appelées alors *capsules en lichen*. Cependant ces formulations ont été abandonnées en raison de leur fragilité en comparaison avec la gélatine.

Contrairement au succès rapide qu'ont connu les gélules de gélatine molles de M. Mothès, le développement des gélules dures a été retardé par la difficulté technique que représente la fabrication de la tête et du corps de la gélule. Il a fallu attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle pour voir émerger aux États Unis la première production industrielle de gélules dures à base de gélatine. A partir de 1931, la société Parke, Davis & Co., réussit à développer une machine capable dans le même temps de produire la tête et le corps de la gélule, et de les assembler. La production des gélules dures est aujourd'hui encore, fondée sur ce procédé. Quelques modifications minimales ont été apportées au fil des années, essentiellement pour automatiser et optimiser les différentes étapes de la production. Les plus gros producteurs de gélules pharmaceutiques sont aujourd'hui les sociétés Capsugel (États Unis), et Shionogi Qualicaps (Japon).

### **I.1.2 Fabrication et propriétés des gélules de gélatine dures**

Le procédé de fabrication d'une gélule dure fait appel à un procédé très ancien qui est le moulage par trempage. Les paramètres de moulage des gélules sont fondés sur des caractéristiques spécifiques à la gélatine. Chacune des étapes de la production des gélules doit

être parfaitement contrôlée pour assurer un fonctionnement en continu des machines de production à des cadences très élevées. Les matières premières utilisées sont de la gélatine, des colorants, des conservateurs, et des tensioactifs. Les différentes étapes de la fabrication des gélules dures sont la mise en solution, le moulage par trempage également appelé dipping ou dip-molding, le séchage, puis l'assemblage.

**Mise en solution.** La gélatine, sous forme de poudre, est mise en solution dans de l'eau déminéralisée à une concentration de 30-40% puis est portée à une température d'environ 60°C. Le mélange est homogénéisé sous vide pour limiter la présence de bulles d'air qui peuvent être emprisonnées dans la solution visqueuse de gélatine et créer ensuite des défauts d'aspect sur la gélule. À cette température, la gélatine en solution peut subir des réactions d'hydrolyse au cours du temps, pouvant modifier considérablement ses propriétés physiques comme la viscosité en solution ou la force du gel. Pour cette raison, le cycle de production des gélules doit être planifié et contrôlé de manière rigoureuse. La gélatine est ensuite transférée dans des réservoirs régulés à environ 55°C de plus faible volume qui serviront à alimenter chacune des chaînes de production. C'est dans ces réservoirs que sont ajoutés les additifs tels que les colorants, les conservateurs, et les tensioactifs. Des mesures préliminaires de la viscosité sont généralement effectuées directement dans le réservoir à l'aide d'un viscosimètre rotationnel. Le couple concentration / viscosité en solution est un paramètre extrêmement important car il détermine l'épaisseur et la masse de la gélule.

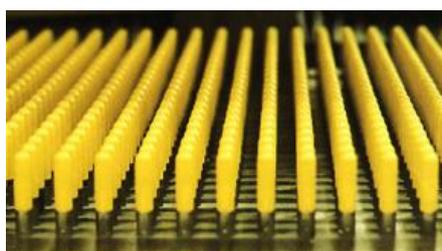
**Formation des capsules.** La solution de gélatine est placée dans un bac à débordement à une température d'environ 55°C. À cette température, l'évaporation est continue, nécessitant de contrôler la viscosité et de la réajuster si nécessaire. La concentration de la solution est alors maintenue entre 25% et 30%. Le réservoir utilisé est équipé en son centre d'une plaque rectangulaire au-dessous de laquelle se trouve une vis d'Archimède. Ce dispositif permet d'une part d'obtenir une hauteur de bain constante et, d'autre part, d'homogénéiser la solution par un mouvement permanent du liquide. Cela permet également de filtrer la solution de gélatine et d'éliminer ainsi d'éventuels résidus. Des doigts de moulage en inox (enduits d'une légère couche de lubrifiant : solution à base de lécithine de soja) ayant une température d'environ 25°C, sont trempés dans le bain de gélatine dont la température est d'environ 50-55°C (Figure I.1-1). La solution de gélatine gélifie instantanément sur la surface des doigts. Les doigts sont alors retirés lentement de la solution pour assurer une épaisseur uniforme. La gélification permet de fixer la gélatine sur le doigt. La viscosité de la solution détermine la

quantité de matière prélevée et donc l'épaisseur finale de la capsule. Différents profils de vitesses des doigts de moulage sont programmés pour contrôler également l'épaisseur. Afin d'éviter la formation de gouttes ou de coulées de matières qui se forment lors de la remontée, les doigts de moulage subissent plusieurs rotations destinées à uniformiser l'épaisseur de matière sur la surface de la gélule. Un léger courant d'air froid est alors soufflé pour figer définitivement la surface du film de gélatine. Les doigts de moulage ont un diamètre plus élevé pour la partie supérieure (tête) qui vient s'emboîter dans la partie inférieure de la gélule (corps).



**Figure I.1-1.** Formation des gélules dures de gélatine par moulage par trempage.

**Séchage des gélules.** Les films de gélatine formés sont passés successivement dans des tunnels de séchage, à l'intérieur desquels la température et l'humidité relative (HR) sont contrôlées très précisément (Figure I.1-2). La température est comprise entre 22 et 28°C et l'humidité relative entre 38% et 43% en fonction des compartiments de séchage. La température ne peut pas être trop élevée en raison de la thermoréversibilité des gels de gélatine.

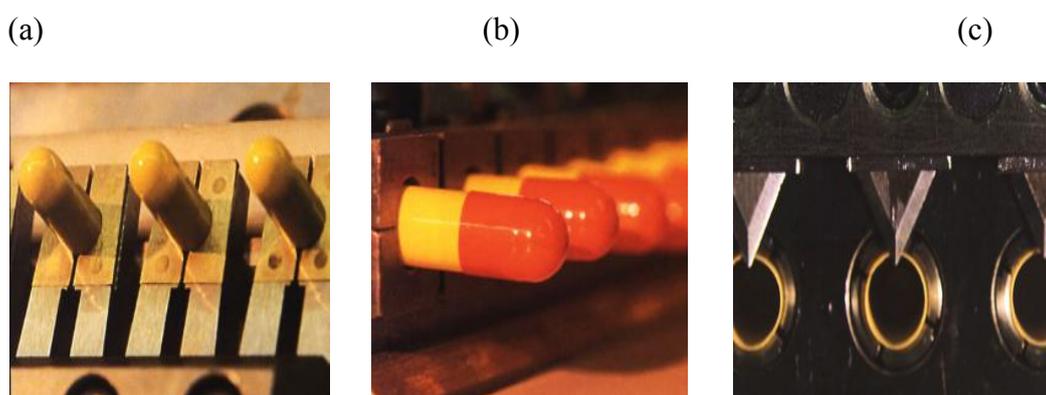


**Figure I.1-2.** Positionnement des doigts de trempage lors du passage dans les fours de séchage

Le cycle de séchage dure environ 30 à 40 min. Les conditions de séchage sont ajustées afin d'obtenir une vitesse de séchage lente au début du cycle, atteignant ensuite un maximum au milieu du cycle puis diminuant en fin de cycle. Ces profils de vitesse sont nécessaires pour effectuer un séchage uniforme. En effet, si la vitesse de séchage est trop élevée, une « peau » de matière peut se former à la surface du film isolant l'intérieur de la gélule qui reste sous

forme de gel. Lorsque les gélules sortent du tunnel de séchage, elles ne sont pas totalement « séchées ». Elles contiennent encore une quantité d'eau résiduelle de 15 à 18% (teneur supérieure à la teneur en eau à l'équilibre de 13-16% dans des conditions standard de température et d'humidité relative (25°C, 60% HR)). L'eau fait partie intégrante des gélules et joue un rôle de plastifiant. Plus la teneur en eau est importante et plus le film de gélatine va être ductile et flexible. Au contraire, pour des teneurs en eau faibles (< 10%), ils deviennent fragiles et cassants. Les gélules sont donc extraites des fours à une teneur en eau de 15 à 18% pour qu'elles résistent mécaniquement aux étapes suivantes de démoulage et d'ébavurage.

**Démoulage, ébavurage, assemblage.** Les films solides de gélatine sont démoulés à l'aide de mâchoires en métal entourant les doigts de moulage, ce qui permet de libérer les capsules des doigts de moulage (Figure I.1-3 (a)). Les capsules formées sont délibérément trop longues car des défauts d'épaisseur apparaissent généralement à la base de la tête et du corps. Une étape d'ébavurage permet d'ôter cette partie défectueuse et ainsi d'obtenir une capsule à la bonne dimension (Figure I.1-3 (b)). Les rebuts qui représentent 20% de la capsule en masse vont être réutilisés ultérieurement. En effet, ces morceaux de films vont être solubilisés pour pouvoir être recyclés dans la chaîne de production. La tête et le corps de la capsule sont ensuite assemblés puis la gélule formée est stockée à 25°C et 40% d'H.R. pour finaliser le séchage (Figure I.1-3 (c)).



**Figure I.1-3.** Étapes de démoulage (a), d'ébavurage (b), et d'assemblage des gélules (c).

Les doigts de moulages sont ensuite nettoyés et lubrifiés pour faciliter le démoulage des gélules puis ils sont transférés au début de la chaîne de production pour le prochain cycle. Les gélules produites sont contrôlées afin qu'il n'existe aucun défaut d'aspect sur la surface. De

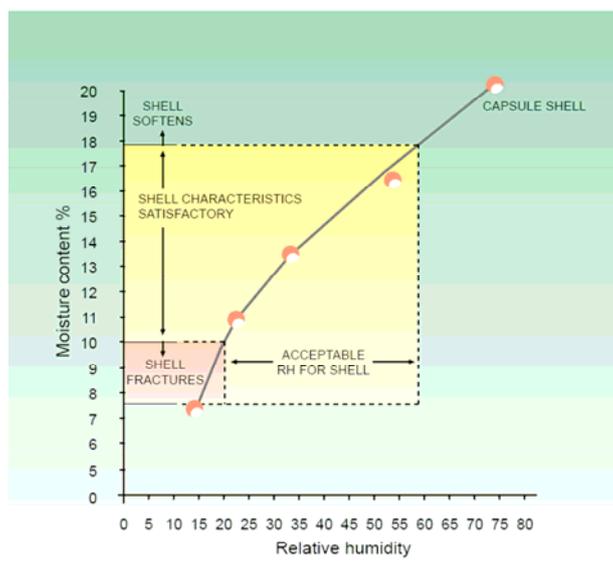
plus, les dimensions des gélules sont contrôlées très précisément. Les gélules sont ensuite envoyées à des sociétés pharmaceutiques qui assurent l'ouverture des capsules, leur remplissage et leur fermeture définitive dans des machines de remplissage opérant à des cadences très élevées. Tout défaut d'aspect ou une mauvaise dimension peut provoquer un arrêt du cycle de remplissage. Les doigts de moulage actuels permettent d'obtenir des gélules dont les deux parties présentent de nombreuses améliorations de formes (nervures, rainures, etc...) pour assurer une résistance et une tenue optimale lors du stockage et du remplissage.

### **I.1.3 Propriétés des gélules de gélatine**

Les gélules dures à base de gélatine ont une teneur en eau comprise entre 13 et 16 % (base sèche). En fonction des conditions de stockage, température et humidité relative, la teneur en eau peut être sensiblement modifiée. Les isothermes de sorption/désorption de la gélatine ont été largement étudiées et montrent l'influence de l'activité de l'eau sur la teneur en eau des gélules dures à base de gélatine (Sobral et Habitante, 2001). Pour des teneurs en eau inférieures à 10%, les films à base de gélatine deviennent fragiles. Ils se déforment et se déchirent à des teneurs en eau supérieures à 18%. La variation de la teneur en eau provoque non seulement des modifications des propriétés physiques des gélules mais également des changements dimensionnels. Pour des teneurs en eau comprises entre 13 et 16%, une modification de la teneur en eau de 1% provoque une variation dimensionnelle de 0,5%.

La relation entre l'humidité relative pendant le stockage, la teneur en eau, et les propriétés mécaniques des gélules dures de gélatine a été établie et est représentée sur la Figure I.1-4 (Bond et al., 1970). Pour obtenir des performances optimales, les gélules doivent être stockées dans des conditions d'humidité relative comprises entre 35% et 55%. Les méthodes conventionnelles pour évaluer la fragilité des gélules sont fondées sur des mesures de résistance à l'impact. Les capsules peuvent résister à l'impact ou se rompre ce qui permet de définir un critère de fragilité en fonction des conditions de stockage. Cependant cette méthode empirique reste limitée pour déterminer de manière précise l'influence de la formulation sur la rigidité de la gélule. Des mesures de compression et de flexion sur des gélules ont également été menées pour déterminer les propriétés mécaniques des gélules (Kuentz et Rothlisberger, 2002; Missaghi et Fassihi, 2006). Ces études ont montré que la rigidité des

capsules de gélatine est modifiée au cours du temps, en fonction de la teneur en eau et également en fonction de l'excipient. Les mesures de traction sont également pertinentes pour évaluer les propriétés mécaniques des films à base de gélatine.



**Figure I.1-4.** Teneur en eau à l'équilibre de gélules pharmaceutiques dures vides à base de gélatine en lien avec le comportement mécanique. Les gélules sont stockées à différentes humidités relatives pendant deux semaines à 20°C. (Bond et al., 1970).

Une des caractéristiques importantes de la gélatine qui explique son utilisation dans les gélules pharmaceutiques depuis leur invention, est son aptitude à se dissoudre dans des milieux aqueux à une température proche de celle du corps humain. L'étude de la désintégration des gélules et de leur solubilité dans différents milieux biologiques recréant des conditions gastriques a fait l'objet de nombreux travaux (Podczeck et Jones, 2004). Les gélules de gélatine sont insolubles à des températures inférieures à 30°C. Des techniques microscopiques ont permis d'observer la rupture des gélules et également de visualiser les hétérogénéités d'épaisseur sur la paroi de la gélule. Il a été montré dans une solution à 0.1M d'HCl que la gélule commence à se plisser après une immersion de 40s. Enfin, par microscopie électronique à balayage (MEB), la diffusion du milieu biologique à l'intérieur de la paroi de la capsule a pu être visualisé. Après seulement 30 s, 75% de la surface de la gélule a été atteinte.

#### I.1.4 Alternatives à la gélatine

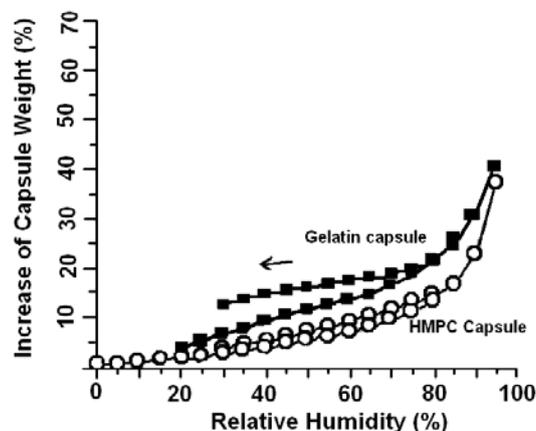
La gélatine est très largement utilisée, notamment dans l'industrie pharmaceutique et se trouve être le matériau le plus adapté pour la fabrication de gélules. Elle est soluble dans l'eau à des concentrations élevées à environ 60°C, elle forme des gels au refroidissement thermoréversibles à des températures proches de la température ambiante, elle offre d'excellentes qualités filmogènes et elle se dissout facilement à une température proche du corps humain.

Des gélules à base de gélatine de poissons ont été commercialisées récemment par certains fabricants (Aquacaps® de Roxlor, OceanCaps™ de Capsugel). Cette gélatine est produite à partir de la peau de certaines espèces de poissons des eaux chaudes qui ont une composition en proline et hydroxyproline (acides aminés jouant un rôle important lors de gélification) similaire à la gélatine de mammifères. Ces gélules dont les caractéristiques chimiques et physiques sont équivalentes à la gélatine de mammifère facilitant leur mise en oeuvre sur des machines de production standard. Cependant le coût de ces gélules reste élevé.

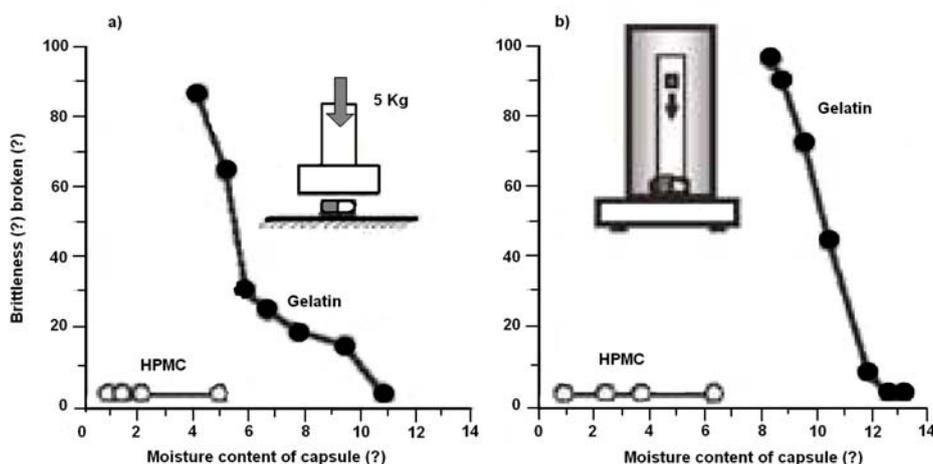
L'hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC) ou hypromellose est un polysaccharide à base de cellulose modifiée qui a connu une grande popularité lors de sa commercialisation en tant que gélule végétale dans le secteur de la phytothérapie. Les premières gélules en hypromellose, destinées au marché américain pour satisfaire la demande de consommateurs végétariens, ont été commercialisées par la société R. P. Scherer West Inc (GS Technologies Inc, 1998; Grosswald et al., 2002). Toutefois, comme ce matériau offrait des propriétés mécaniques plus faibles que celles de la gélatine, ces gélules à base d'HPMC (Vegicap®) étaient deux fois plus épaisses. La Société japonaise Shionogi Qualicaps a mis un point des gélules d'HPMC dans lesquelles un agent gélifiant est ajouté en faible quantité, le carraghénane (Yamamoto et al., 1998). Ces gélules (Quali-V®) ont des propriétés similaires à celles de la gélatine. Elles ont les mêmes dimensions et s'adaptent aux machines de remplissage employées pour les gélules à base de gélatine. Par la suite, de nombreuses sociétés ont également développé des gélules à base de cellulose : Capsugel Division de Pfizer Inc. (capsules Vcaps®), Natural Capsules Ltd. (Cellulose capsules).

Les gélules d'hypromellose offrent des propriétés filmogènes comparables à celles de la gélatine. En outre, dans des conditions de stockage identiques, la teneur en eau de

l'hypromellose (2-5%) est très largement inférieure à celle de la gélatine (13-15%) (Figure I.1-5). Cela permet d'utiliser ces gélules pour contenir des substances hygroscopiques. De plus, les gélules conservent leurs propriétés malgré une teneur en eau faible (Figure I.1-6).



**Figure I.1-5.** Isotherme de sorption-désorption de gélules dures à base de gélatine et d'HPMC à l'équilibre à 25°C (Nagata, 2002).



**Figure I.1-6.** Test de fragilité des gélules : pourcentage de gélules fracturées en fonction de leur teneur en eau. a: résistance à la pression avec des gélules remplies d'amidon de maïs. b: résistance au choc avec des gélules vides (Nagata, 2002).

Le principal inconvénient des gélules d'HPMC est leur coût élevé comparé à celui de la gélatine. Ce matériau présente également l'inconvénient d'avoir un goût et une odeur désagréable. Depuis ces dernières années, le nombre croissant de brevets traitant de substituts à la gélatine pour la fabrication de gélules pharmaceutiques dures, notamment le pullulane

(Robert et al., 2005) et l'amidon hydroxypropylé (Robert et al., 2000), montre à quel point les recherches dans ce domaine restent actives (Paris et Viau, 2001; Basquin et al., 2003). Récemment, de nouvelles gélules à base de pullulane (NPCaps®) ont été commercialisées par la société Capsugel Division de Pfizer Inc (Robert et al., 2005).

Des gélules à base d'amidon ont été fabriquées par moulage par injection (Wittwer et al., 1998). Ces capsules avaient une épaisseur importante et une forme différente en comparaison avec les gélules à base de gélatine et nécessitaient l'utilisation d'un équipement spécifique pour le remplissage. La fabrication de gélules à base d'amidon hydroxypropylé a également été décrite (Christen et Cheng, 1977). Malheureusement, en raison de l'absence de gélification de ces solutions d'amidon, les temps de trempage sont relativement longs (20 s comparé à 1 à 2 s pour la gélatine), freinant la commercialisation de telles gélules. A l'heure actuelle, malgré le nombre important de brevets concernant l'amidon, aucune exploitation commerciale n'en est faite.

## I.2.1 L'amidon

L'amidon est un polysaccharide d'origine végétale. C'est la principale substance glucidique de réserve des végétaux supérieurs. Il représente une fraction pondérale importante des matières premières agricoles. On le trouve dans les organes de réserves des plantes telles que les céréales (30-80% de la matière sèche (ms)), les tubercules (60-90% ms), et les légumineuses (25-50% ms). L'amidon constitue la principale source d'énergie pour l'alimentation humaine et animale. C'est un composé nutritionnel abondant, renouvelable, peu coûteux, qui trouve dans les aliments de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant, matières sucrantes. L'amidon est également utilisé dans de nombreux secteurs industriels non-alimentaires : la production papetière, l'industrie pharmaceutique, cosmétique, textile, etc. Il est également devenu ces dernières années une matière première intéressante pour la production de matières plastiques renouvelables et biodégradables et se pose en candidat potentiel pour la fabrication de biocarburants.

### I.2.1.1 Composition et structure primaire de l'amidon

Les caractéristiques de composition, de morphologie et d'ultrastructure qui dépendent de l'origine botanique de l'amidon ont fait l'objet de nombreuses revues bibliographiques (Banks et Greenwood 1975; Duprat et al. 1980; Whistler et Daniel 1984; Zobel 1988a; Buléon et al. 1990; Buléon et al. 1998; Jane 2004).

L'amidon est un polymère du glucose  $C_6H_{10}O_5$ , composé de deux homopolymères de structures primaires différentes: l'amylose, macromolécule quasiment linéaire, et l'amylopectine, macromolécule très fortement ramifiée. La teneur en amylose est différente selon l'origine botanique de l'amidon. Elle varie entre 0% (amidon de maïs cireux ou *waxy*) et 70-80% (amidon de pois ridé et maïs riche en amylose). Ces valeurs extrêmes sont obtenues pour des génotypes mutés, alors que la teneur en amylose des espèces sauvages telles que la pomme de terre, le blé, le pois lisse est comprise entre 18 et 35%. L'amidon est constitué d'entités granulaires semi-cristallines qui résultent d'une organisation de ses deux constituants. L'amidon contient également en faibles quantités des constituants non glucidiques représentant 0,1 à 2% selon l'origine botanique. Ces composants mineurs sont

principalement des lipides, des protéines et des minéraux localisés aussi bien à la surface des grains d'amidon qu'à l'intérieur.

### I.1.1.1 L'amylose

L'amylose est un polymère linéaire constitué d'unités D-glucose liées par des liaisons de type  $\alpha$  (1,4) (Figure I.2-1). L'amylose native contient 500 à 6000 unités glucose selon l'origine botanique, réparties en plusieurs chaînes dont le degré de polymérisation moyen est de l'ordre de 500, correspondant à une masse molaire moyenne en poids  $\overline{M}_w$  comprise entre  $10^5$  -  $10^6$  g/mol (Banks et Greenwood, 1975). Certaines chaînes d'amylose peuvent être ramifiées par des liaisons  $\alpha$  (1,6) (Banks et Greenwood, 1975). Cependant le nombre de ces liaisons est faible et celles-ci semblent être fréquemment situées près de l'extrémité réductrice (Takeda et al., 1987). Le nombre de ces ramifications est d'autant plus élevé que la masse moléculaire  $\overline{M}_w$  est grande.

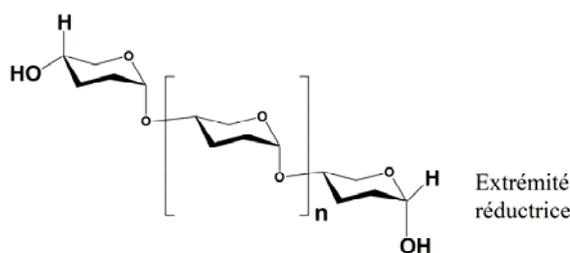


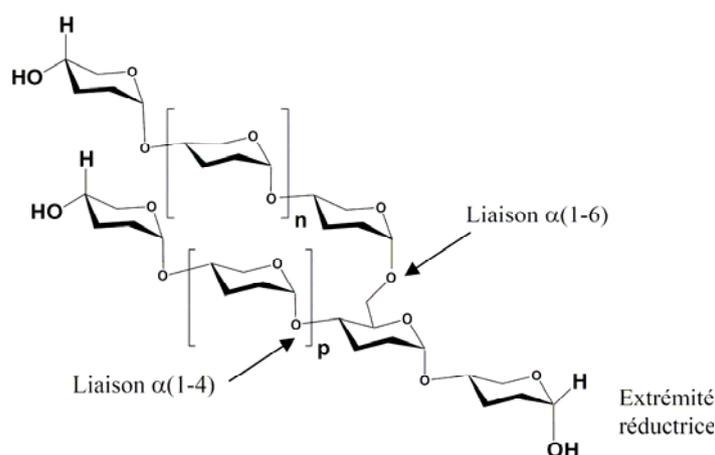
Figure I.2-1. Structure de l'amylose

L'amylose a la spécificité de pouvoir complexer des molécules hydrophobes telles que l'iode, des acides gras, des alcools etc. Sa conformation et son mode de liaison lui permettent d'adopter des formes hélicoïdales comportant 6 unités glucose par tour, stabilisées par des liaisons hydrogène intramoléculaires. Les groupements hydrophiles sont orientés vers l'extérieur et les groupements hydrophobes vers l'intérieur, ce qui forme une cavité hydrophobe dans laquelle vont venir se loger les molécules complexées. La capacité de liaison de l'iode est de 20 mg pour 100 mg d'amylose qui est caractérisé par une longueur d'onde au maximum d'absorption ( $\lambda_{\max}$ ) comprise entre 620 et 640 nm.

L'amylose peut être extraite à partir de grains d'amidon dispersés dans l'eau par complexation avec certains alcools (par exemple le butanol) (Schoch, 1945). L'amylose peut également être synthétisée *in vitro* par voie enzymatique (Pfannemüller, 1987; Ball et al., 1998; Potocki-Veronese et al., 2005).

### I.1.1.2 L'amylopectine

Contrairement à la chaîne linéaire d'amylose, l'amylopectine est un polymère hautement ramifié constitué de centaines de courtes chaînes d'unités glucose, reliées principalement par des liaisons  $\alpha$  (1,4) et par 5 à 6 % de liaisons  $\alpha$  (1,6), responsables des ramifications (Figure I.2-2).



**Figure I.2-2.** Structure de l'amylopectine

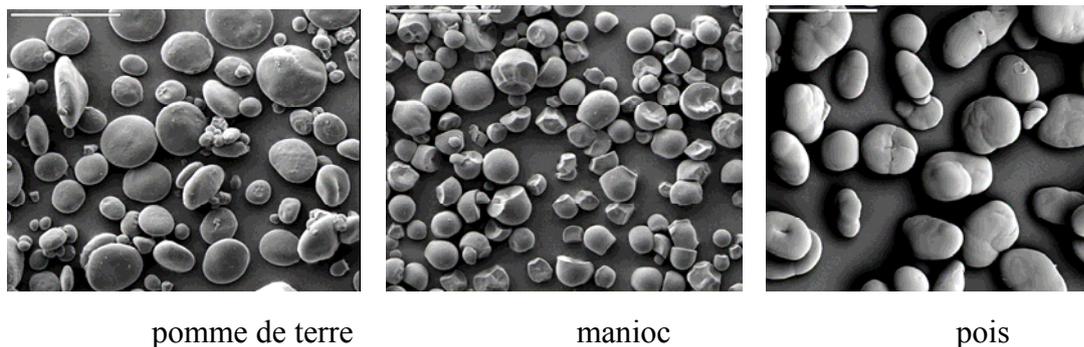
L'amylopectine est le constituant principal de la plupart des amidons. Les premiers modèles structuraux de l'amylopectine proposaient une organisation homogène des ramifications, mais il a ensuite été établi que l'amylopectine était constituée d'un ensemble de grappes de chaînes courtes (chaînes S ou chaînes A) de  $\overline{DP}_w$  15-20, reliées entre elles par des chaînes plus longues de  $\overline{DP}_w$  (chaînes L ou chaînes B) 40-45 (Robin et al., 1974). Ce modèle a ensuite été complété avec la présence de chaînes de  $\overline{DP}_w > 60$  (chaînes C) qui portent l'unique extrémité réductrice sur laquelle se greffent les chaînes B (Burchard et Thurn, 1985). Les différences structurales, liées à l'origine botanique, portent essentiellement sur le rapport chaînes longues L sur chaînes courtes S qui serait de l'ordre de 5 pour les amylopectines de tubercules et de 8

à 10 pour les amylopectines de céréales et de légumineuses. Un nouveau modèle a été proposé dans lequel les clusters sont reliés à un squelette constitué de chaînes de  $\overline{DP}_w > 60$  (Bertoft, 2004). L'amylopectine a une masse moléculaire très élevée de  $10^7$  à  $10^8$  g/mol. La prépondérance de chaînes courtes et la présence de liaisons  $\alpha$  (1,6) sur les longues chaînes confèrent à l'amylopectine une faible capacité de liaison à l'iode, inférieure à 1 mg pour 100 mg d'amylopectine. Le complexe formé de couleur brune est identifié à une longueur d'onde au maximum d'absorption ( $\lambda_{\max}$ ) de 540 nm.

### I.2.1.2 Morphologie et ultrastructure des grains d'amidons

#### I.2.1.2.1 Morphologie des grains d'amidon

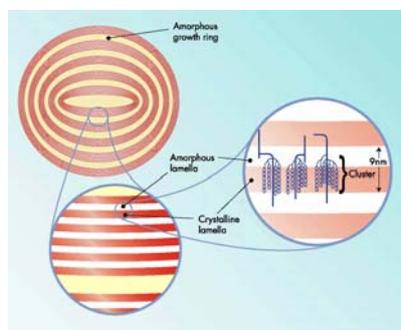
A l'état natif, l'amylose et l'amylopectine sont associées au niveau d'entités granulaires semi-cristallines appelées grains d'amidon, dont la taille (1 à 100  $\mu\text{m}$ ), la morphologie (sphérique, lenticulaire, réniforme...), la composition (amylose/amylopectine), la position du hile (point de départ de la croissance du grain d'amidon) dépendent de l'origine botanique (Figure I.2-3). Observés en microscopie optique à lumière polarisée, les grains d'amidon sont biréfringents et présentent une croix de Malte dont les branches se rejoignent au niveau du hile (Biot, 1844). La biréfringence est positive ce qui implique une organisation radiale des chaînes macromoléculaires au sein du grain.



**Figure I.2-3.** Grains de différents amidons observés en microscopie électronique à balayage MEB (grossissement  $\times 280$ ) (Boursier, 2005).

#### I.2.1.2.2 Ultrastructure des grains d'amidons

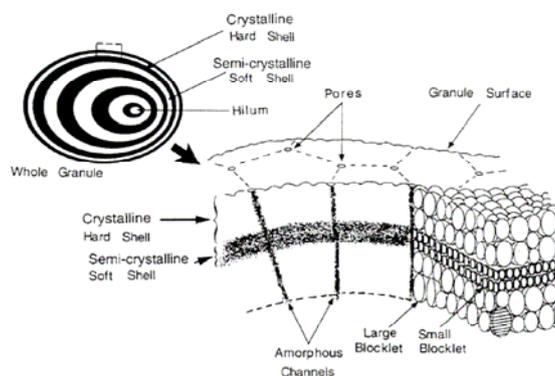
Les grains d'amidon sont des entités semi-cristallines constituées de couches concentriques formées d'anneaux de croissance cristallins et amorphes. La taille et le nombre de ces anneaux de croissance dépendent de l'origine botanique de l'amidon (French, 1984). Ces couches correspondent à une alternance de lamelles amorphes et cristallines dont l'épaisseur varie de 120 à 400 nm (Yamaguchi et al., 1979). L'existence de ces zones a été confirmée par diffraction des rayons X aux petits angles (SAXS) (Oostergetel et van Bruggen, 1989). Jenkins et Donald (1995) ont proposé un modèle d'organisation du grain d'amidon reprenant différentes échelles structurales (Figure I.2-4). L'épaisseur des répétitions semi-cristallines (9-10nm) correspondrait à la structure en grappe de l'amylopectine. Les lamelles cristallines seraient constituées de chaînes courtes d'amylopectine  $\overline{DP}$  15, tandis que les lamelles amorphes seraient constituées des points de branchements.



**Figure I.2-4.** Les différents niveaux d'organisation du grain d'amidon (Jenkins et Donald, 1995)

Cependant, depuis quelques années, les études menées par microscopie à force atomique (AFM) sur la surface des grains d'amidon (Baldwin et al., 1998) et au sein de leur structure interne (Ohtani et al. 2000a; Baker et al. 2001; Ridout et al. 2002; Ridout et al. 2003) ont permis de renforcer le concept de blocklets proposé par Gallant et al. (1997) (Figure I.2-5) basé des observations réalisées par microscopie électronique à balayage (MEB), à transmission (MET) et à force atomique (AFM). Dans ce modèle, les lamelles seraient organisées au sein de blocs sphériques ("blocklets") ayant un diamètre variant de 20 à 500 nm selon l'origine botanique et leur localisation dans le grain d'amidon. La taille des blocklets d'amidon de blé (cristallinité de type A) varie de 10 à 50 nm (Baldwin et al., 1998) alors que les amidons de pois lisse (cristallinité de type B) forment des blocklets beaucoup plus importants avec une taille variant de 200 à 300 nm. L'amylopectine constituerait le support des structures cristallines. Les courtes chaînes d'amylopectine ont un DP suffisant pour former des doubles hélices, elles-mêmes associées parallèlement pour former des grappes. Les grappes s'organisent pour former des lamelles d'environ 9-10 nm d'épaisseur, caractérisées

par l'alternance de régions cristallines (doubles hélices) et amorphes (points de branchement). L'amylose permettrait de relier entre eux les blocklets et améliorerait la résistance du grain d'amidon (Ridout et al., 2003). La capacité de l'AFM à déterminer une dureté locale sur la section de grains, ainsi que le mouillage et le gonflement localisés de ces sections, a permis de localiser un matériel cristallin et amorphe dans le grain d'amidon (Ridout et al., 2002). Les analyses détaillées d'AFM sur la structure interne des grains d'amidon de pois ont suggéré que les blocklets sont distribués uniformément et que les anneaux amorphes de croissance résultent des défauts localisés dans la croissance des grains (Ridout et al., 2004).

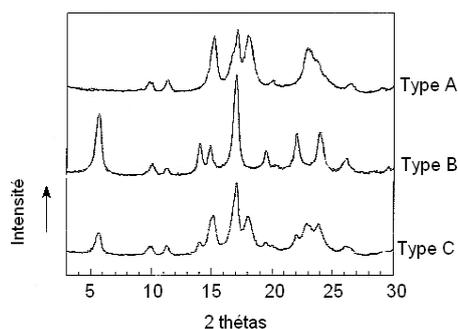


**Figure I.2-5.** Organisation du grain d'amidon en "blocklets" (Gallant et al., 1997).

### I.2.1.2.3 Structure semi-cristalline des grains d'amidons

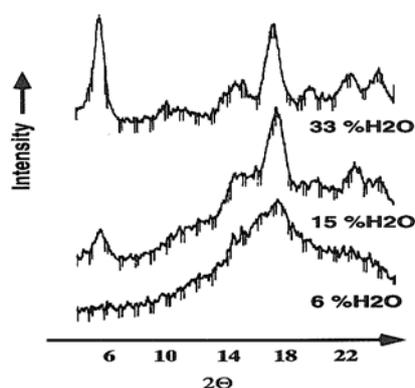
#### I.2.1.2.3.1 Phase cristalline

La nature semi-cristalline des amidons natifs a été mise en évidence par diffraction des rayons X (DRX) (Katz, 1930). Les amidons natifs peuvent être classés en trois groupes selon leur diagramme de diffraction (Figure I.2-6): A, B et C. Le type A caractérise en général des amidons de céréales (amidon de blé et de maïs). Le type B caractérise des amidons de tubercules et de céréales riches en amylose. Enfin, le type C est caractéristique des amidons de légumineuses. Il correspond à un mélange des deux types cristallins A et B.



**Figure I.2-6.** Diagramme de diffraction des rayons X pour des amidons cristallins de type A, B, et C.

Les diagrammes de DRX de grains d'amidon présentent des pics larges et une contribution amorphe importante. Le degré de cristallinité de l'amidon varie de 15% à 45% selon l'origine botanique (Zobel, 1988). Il est connu que l'eau fait partie intégrante de la structure cristalline des amidons de type A et de type B. En dessous de 10% de teneur en eau, les diagrammes de diffraction sont mal définis.

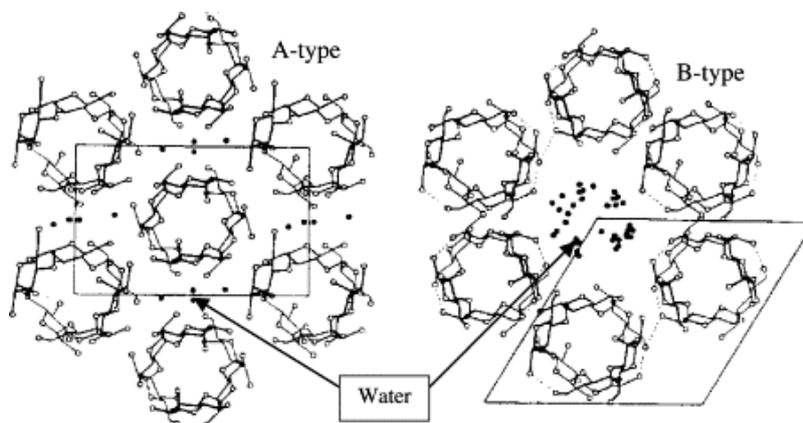


**Figure I.2-7.** Cristallinité d'un amidon de pomme de terre: influence de la teneur en eau sur la résolution du diagramme de diffraction des rayons X (Buléon et al., 1982).

L'intensité des pics de diffraction augmente et la résolution des diagrammes de diffraction de type B augmente à partir d'une teneur en eau de 10%, jusqu'à un maximum de 33% (Cleven et al., 1978; Buléon et al., 1982). Les modèles les plus récents concernant les structures de type A et B proposent un arrangement parallèle de doubles hélices gauches à brins parallèles (Imberty et al., 1988; Imberty et al., 1991). La conformation la plus stable pour l'amylose est une double hélice comportant  $2 \times 6$  unités glucose par tour. Chaque double hélice est disposée parallèlement à sa voisine avec un décalage d'un demi-pas selon l'axe de la double hélice. Cette structure est stabilisée par des interactions de Van der Waals et des liaisons hydrogène. La principale différence entre les deux principaux polymorphes A et B réside dans

l'empilement des doubles hélices dans la maille cristalline et la quantité d'eau présente entre les doubles hélices.

Dans la structure de type A, possédant une maille monoclinique ( $a = 2,124$  nm,  $b = 1,172$  nm,  $c = 1,069$  nm, et  $\gamma = 123,5^\circ$ ), chaque double hélice a six voisines, formant ainsi une structure dense (Figure I.2-8) (Popov et al., 2006). La compacité de la structure ne permet l'hydratation que par 4 molécules d'eau par maille. Le type B se caractérise par une maille hexagonale ( $a = b = 1,85$  nm,  $c = 1,04$  nm et  $\gamma = 120^\circ$ ) (Figure I.2-8). Chaque double hélice a trois voisines. Les hélices sont disposées autour d'une cavité centrale qui contient des molécules d'eau (36 par maille) (Imberty et Perez, 1988; Takahashi et al., 2004).



**Figure I.2-8.** Arrangement cristallin de doubles hélices d'amylose de type A et B.

Aux trois types cristallins observés pour les amidons natifs, il convient d'ajouter le type cristallin V caractéristique des complexes amylose-ligands pour des amidons après traitement thermique (lipides monocyclés, certains arômes, ...)(V pour Verkleistert, c'est à dire observé sur des amidons cuits).

### I.2.1.3 Transitions hydrothermiques

#### I.2.1.3.1 *Milieu hydraté*

##### I.2.1.3.1.1 Gélatinisation - empesage

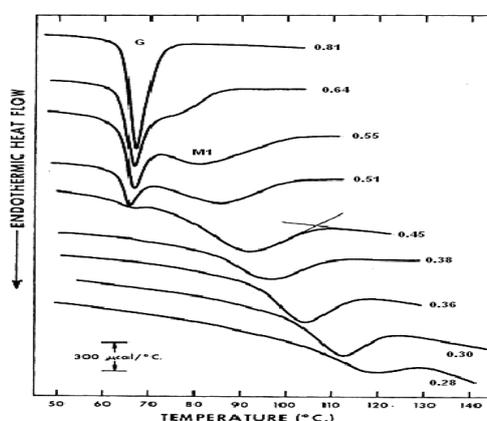
Le chauffage d'une suspension aqueuse d'amidon à une température supérieure à environ 60°C, en excès d'eau, provoque le gonflement irréversible du grain d'amidon. À une température donnée appelée température de *gélatinisation*, le grain d'amidon perd sa structure semi-cristalline (disparition de la croix de Malte observée en lumière polarisée) et gonfle très rapidement sur une plage de température limitée (1 à 1,5°C). Ce phénomène est également observé par analyse enthalpique différentielle (AED) et se caractérise par un endotherme de fusion. Le pic de cet endotherme correspond à la température de gélatinisation. Ces phénomènes dépendent de l'origine botanique et du type cristallin.

À des températures supérieures, au cours du gonflement du grain d'amidon, l'amylose amorphe se solubilise dans le milieu. C'est la phase d'empesage conduisant à l'obtention d'un empois d'amidon. Cet empois est une suspension dans laquelle les grains d'amidons gonflés forment une phase dispersée, et les macromolécules d'amylose solubilisées forment la phase continue. L'incompatibilité thermodynamique entre l'amylose et l'amylopectine entraîne une séparation de phase à chaud, 70°C (Kalichevsky et Ring, 1987). L'augmentation de la fraction volumique des grains d'amidon gonflés provoque une augmentation de la viscosité. Les grains d'amidon de tubercule ont un fort degré de gonflement aboutissant à des empois avec une viscosité apparente importante. Cependant, les amidons de céréales (type cristallin A) sont caractérisés par une première étape de gonflement limitée à la température de gélatinisation, puis par un second gonflement vers 90°C au cours duquel une dispersion marquée des macromolécules se produit. Ceci explique la faible consistance des empois de blé par rapport aux amidons de tubercules (Doublier, 1981). Si le chauffage de l'empois se poursuit, les grains résiduels éclatent et se dispersent mais la solubilisation est rarement totale.

#### I.2.1.3.2 *Milieu faiblement hydraté*

En milieu faiblement hydraté (< 70% d'eau en base humide, b.h.), les mécanismes de transformation sont plus complexes. Il a été montré par AED qu'un deuxième endotherme

apparaît à des teneurs en eau intermédiaires (Donovan, 1979). La Figure I.2-9 présente la variation classique des transitions de l'amidon de pomme de terre en fonction de la teneur en eau. L'apparition des deux endothermes G et M1 a été observée pour de nombreux amidons (pomme de terre, blé, avoine, maïs normal, maïs cireux, amylomais, manioc, pois lisse et pois ridé...) mais leur origine a été interprétée différemment, comme deux transitions de gélatinisation en excès d'eau et de fusion en milieu peu hydraté (Donovan, 1979; Blanshard, 1987) ou comme une transition vitreuse associée à un processus de fusion hors équilibre (Biliaderis et al., 1986). La présence de lipides dans les amidons de céréales peut conduire à une troisième transition (95-100°C) attribuée à la fusion des complexes amylose – lipides qui se forment au cours du chauffage.



**Figure I.2-9.** Thermogrammes d'AED d'amidon de pomme de terre à différentes fractions volumiques d'eau (Donovan, 1979)

### I.2.1.3.3 *Rétrogradation*

La rétrogradation est le terme qui désigne la réorganisation structurale des empois d'amidon au cours de l'abaissement de la température. Au cours du refroidissement, lorsque la concentration est suffisamment importante ( $> 1\%$ ), l'amylose se réorganise et forme un gel opaque non réversible thermiquement. L'amylose gélifie rapidement (Miles et al., 1985) alors que la gélification de l'amylopectine est plus lente et se produit après plusieurs semaines (Ring et al., 1987). La gélification de l'amylopectine est limitée en raison de sa structure branchée. La formation des gels d'amidon s'effectue en deux étapes caractérisées par une transition du type pelote / hélice au niveau des segments des chaînes polymères puis par une cristallisation par empilement des chaînes (Buléon et al., 1990). Les gels d'amidon sont formés d'une matrice d'amylose emprisonnant des fantômes de grains riches en amylopectine

(Miles et al., 1985). Cependant, il peut se produire une inversion de phase lorsque le rapport amylose/amylopectine est inférieur à 30/70 (Leloup et al., 1991; Doublier et Llamas, 1993). Les gels d'amylose et d'amylopectine ont généralement une cristallinité de type B. La rétrogradation de solutions diluées d'amylose et d'amylopectine a été observée par microscopie électronique à transmission (MET) et cryo-TEM (Putaux et al., 2000). Pour l'amylose, ces auteurs observent dans un premier temps une agrégation de quelques molécules de forme vermiculaire qui, dans un deuxième temps, s'associent pour former un réseau ramifié étendu. Les bras de ce réseau peuvent être décrits comme une alternance de cristaux de type B et de zones amorphes. Au cours du temps, ce réseau se condense par synérèse et forme des agrégats semi-cristallins. Pour l'amylopectine, les mécanismes d'agrégation sont similaires à ceux de l'amylose mais les unités semi-cristallines correspondent à l'organisation des chaînes latérales de l'amylopectine.

#### I.2.1.4 Modifications de l'amidon

L'amidon constitue un matériel de base qui est largement employé dans l'industrie aussi bien sous sa forme native qu'après avoir subi des transformations physiques et/ou chimiques. Celles-ci améliorent les propriétés fonctionnelles de l'amidon lui permettant d'élargir ses domaines d'application dans de nombreux secteurs industriels (Hermansson and Svegmark 1996; BeMiller 1997; Singh, Kaur et al. 2007). Quelques exemples de modifications sont présentées dans le Tableau I.2-1. Les réactions d'hydrolyse acide et d'éthérisation (hydroxypropylation) sont décrites plus en détails dans la partie suivante, car elles concernent les modifications chimiques apportées aux amidons de l'étude.

Tableau I.2-1: Propriétés et applications des amidons modifiés (Singh et al., 2007).

Type de modification	Propriétés	Applications
Prégélatinisés	Soluble dans l'eau à température ambiante	Préparations alimentaires instantanées
Hydrolyse acide ou enzymatique	Réduction de la masse moléculaire : diminution de la viscosité, et augmentation de la rétrogradation	confiserie, gommés
Oxydation	Faible viscosité, transparence, et température de stabilisation basse	Agents de texture dans les desserts, confiserie
Dextrinisation	Faible viscosité, réduit la quantité de sucre	Agent filmogène, confiserie
Éthérisation	Améliore la transparence des empois, réduction de la synérèse et stabilité	Sauces, soupes, fruits sur sucre, puddings
Estérisation	Abaissent la température de gélatinisation, faible tendance à former des gels, transparence des empois	Produits alimentaires réfrigérés, encapsulation, stabilisant d'émulsion
Réticulation	Stabilité des grains au gonflement, aux hautes températures, au cisaillement et aux conditions acides	Sauces, soupes (UHT, appertisées, conserves, surgelées), crèmes desserts, yaourts, fruits sur sucre

#### I.2.1.4.1 *L'hydrolyse acide*

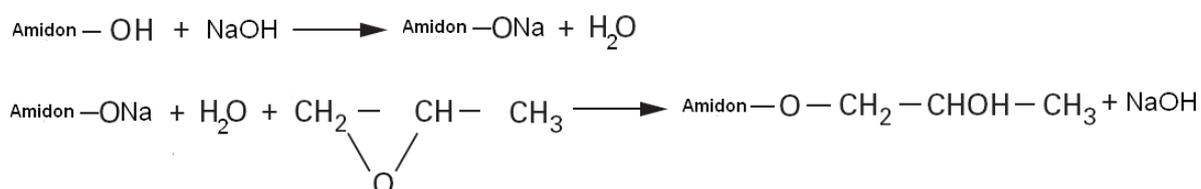
L'hydrolyse acide est une modification chimique de l'amidon qui permet d'améliorer sa solubilité à faible température. Elle conduit à une réduction de la masse moléculaire et permet de réduire la viscosité à chaud des empois d'amidon permettant leur utilisation à des concentrations plus élevées. Ce traitement affaiblit la structure granulaire et rend les grains d'amidon solubles dans l'eau froide pour les traitements les plus poussés.

Le mécanisme réactionnel de l'hydrolyse acide d'un polysaccharide est le mécanisme de "l'ion cyclique", au cours duquel a lieu la scission d'une liaison glycosidique suite à la protonation de l'oxygène de la liaison glycosidique. Généralement, l'hydrolyse acide est réalisée à des concentrations élevées en amidon (30-36 % d'amidon) à des températures de 40-60°C avec 8% d'acide chlorhydrique ou 15 % d'acide sulfurique sur une durée variant de 30 min à plusieurs heures (Wurzberg, 1995). Lorsque la viscosité (ou fluidité) ou degré de conversion voulu est atteint, la solution est neutralisée et les grains d'amidon sont lavés.

L'hydrolyse acide ne s'effectuerait pas de manière aléatoire. Elle aurait lieu préférentiellement au niveau des liaisons terminales des chaînes, en particulier pour celles adjacentes aux unités des extrémités non réductrices (BeMiller, 1967). Les cinétiques d'hydrolyse peuvent être décomposées en deux phases distinctes qui caractérisent l'action de l'acide sur deux fractions différentes. La première phase correspondrait à l'hydrolyse rapide de la fraction la plus amorphe de l'amidon. La seconde, beaucoup plus lente, correspondrait à l'hydrolyse de la partie cristalline et d'un amorphe plus dense situé au voisinage des "cristallites" de l'amidon (Robin et al., 1974). La dégradation des grains d'amidon dépend de nombreux facteurs. Elle dépend tout d'abord de l'origine botanique de l'amidon, c'est-à-dire du type cristallin, de la morphologie des grains d'amidon (forme, taille, état de surface) et du rapport amylose / amylopectine. Elle dépend également des paramètres propres à l'hydrolyse acide, à savoir le type d'acide, la concentration en acide, la concentration en amidon, la température, la durée d'hydrolyse et l'agitation (Robin et al., 1974).

I.2.1.4.2 *Éthérification : l'hydroxypropylation*

Cette modification chimique est principalement destinée à améliorer la texture des empois d'amidon, leur transparence et leur stabilité (Kim et al. 1992; Jane 1997; Choi et Kerr 2003). L'hydroxypropylation se caractérise par le greffage de groupements fonctionnels sur les fonctions hydroxyles des macromolécules d'amidon. Les amidons hydroxypropylés sont en général préparés par une réaction d'éthérification en présence d'oxyde de propylène en milieu alcalin à des températures comprises entre 30 et 50°C pour préserver la structure granulaire (Figure I.2-10).



**Figure I.2-10.** Réaction d'hydroxypropylation

Les amidons hydroxypropylés sont définis par le degré de substitution qui représente le nombre moyen de groupements hydroxypropyl par unité glucose. Les groupements hydroxypropyl introduits sur les chaînes d'amidon ont la capacité de rompre les liaisons hydrogènes inter et intramoléculaires, affaiblissant la structure granulaire de l'amidon (Wootton et Manatsathit, 1983). Les groupements hydroxypropyles sont principalement introduits sur les chaînes d'amidon situées dans la région amorphe qui est principalement composée d'amylose (Blanshard, 1987). Il a été confirmé sur des amidons de maïs et de pomme de terre hydroxypropylés que l'amylose est plus substituée que l'amylopectine, la modification de l'amylopectine étant localisée près des points de branchements (Kavitha et BeMiller, 1998; Shi et BeMiller, 2000). Certains auteurs ont montré sur de l'amidon de pomme de terre que les groupements hydroxypropyles sont distribués de manière homogène sur l'amylopectine (Richardson et al., 2001). Cependant, ces auteurs ont montré que les conditions de réactions et l'origine botanique déterminent la distribution des groupements sur les macromolécules d'amidon. La nature hydrophile des groupements hydroxypropyles permet de réduire le phénomène de synérèse lors d'un cycle de congélation/décongélation. Choi et Kerr (2003) ont montré par RMN pulsée que la capacité d'absorption d'eau des

amidons de blé hydroxypropylés augmente avec l'augmentation du degré de substitution dans une gamme spécifique d'activité de l'eau. L'augmentation du degré de substitution diminue la température de gélification, augmente le gonflement des grains et améliore la solubilité (Kaur et al., 2004). La diminution des liaisons internes affaiblit la structure granulaire et permet d'augmenter le degré de mobilité des chaînes d'amidon dans les zones amorphes.

Les analyses microscopiques réalisées sur des amidons de pomme de terre hydroxypropylés ont mis en évidence des modifications morphologiques localisées sur les grains d'amidons. La plupart des changements structuraux ont lieu dans la région centrale, relativement moins organisée des grains d'amidon, alors que les régions périphériques semblent être moins affectées (Kim et al., 1992; Huber et BeMiller, 2001). Cependant il a été démontré pour des amidons de pois et de maïs waxy que l'hydroxypropylation se répartit uniformément sur les grains (Biliaderis, 1982). Les modifications morphologiques des grains sont plus évidentes pour des degrés de substitution importants (Kim et al., 1992).

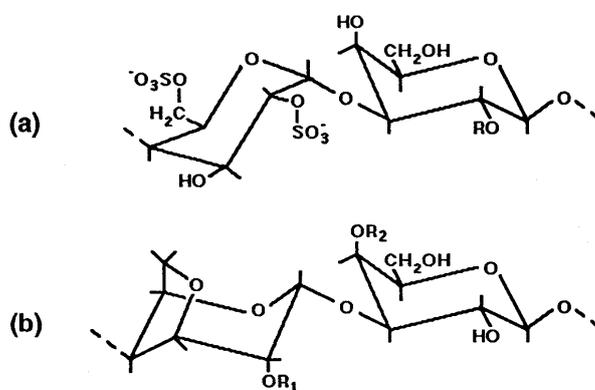
Certains auteurs ont observé que l'hydroxypropylation provoque une augmentation de la viscosité en raison du gonflement important des grains d'amidons au cours du chauffage (Kim, Hermansson et al. 1992; Liu, Ramsden et al. 1999; Shi and BeMiller 2000). L'hydroxypropylation permet également de retarder les phénomènes de rétrogradation (Butler, Christianson et al. 1986; Hoover, Hannouz et al. 1988; Perera and Hoover 1999). Ceci a été attribué à des effets d'encombrement stérique imposés par les groupes hydroxypropyl qui perturbent la formation de structures ordonnées durant l'agrégation des chaînes et la cristallisation. En théorie, les amidons hydroxypropylés ne gélifient pas et conservent un caractère visqueux. Toutefois, Kaur et al (2004) ont montré l'apparition de nombreuses micro-fibrilles en forme de bâtonnets sur des gels d'amidon de pomme de terre hydroxypropylés conservés 30 jours à 4°C. Ces auteurs suggèrent que durant cette longue période de stockage, une séparation de phase peut être responsable de la formation de ces structures.

## I.2.2 Le carraghénane

Les carraghénanes sont des polysaccharides extraits de certaines algues rouges de la famille des *Rhodophyceae*. Leur nom dérive de celui du lichen Carageen dont ils sont initialement extraits. Ils sont obtenus par traitement thermique en milieu alcalin, filtrés, précipités dans l'alcool avant d'être récupérés sous forme de poudre. Les carraghénanes sont utilisés principalement dans l'industrie alimentaire comme agents de texture ainsi que pour leur capacité à former des gels réversibles en milieu aqueux. On les retrouve également dans certaines applications cosmétiques ou pharmaceutiques pour stabiliser les émulsions ou les dispersions.

### I.2.2.1 Structure chimique

Les carraghénanes sont constituées de chaînes linéaires sulfatées dont le motif de répétition est un disaccharide constitué de deux résidus galactoses,  $\beta$ -D-galactose et anhydrogalactose liées en  $\beta$  (1, 3) et  $\alpha$  (1, 4) (Rees, 1969) (Figure I.2-11). Il existe trois grandes catégories de carraghénanes utilisés par l'industrie selon leur degré de sulfatation et de la position du résidu  $\text{SO}_3^-$  sur le cycle carboné : les kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ), et lambda ( $\lambda$ ) carraghénanes. Ces différentes catégories sont présentes dans les algues en proportions variables en fonction de l'espèce, du lieu et de la saison de la récolte. Les masses molaires moyennes en poids  $\overline{M}_w$  varient de 3 à  $10 \cdot 10^5$  g/mol. Les  $\kappa$ - et  $\iota$ -carraghénanes gélifient grâce à la formation d'hélices. La fraction la plus sulfatée, le  $\lambda$ -carraghénane ne possède pas de résidu anhydrogalactose et ne forme pas de gel (Rees, 1963).



**Figure I.2-11.** Motif de répétition idéal du  $\lambda$ -carraghénane (a) ( $R = \text{H}$  ou  $\text{SO}_3^-$ ), et (b) du  $\iota$ -carraghénane ( $R_1 = R_2 = \text{SO}_3^-$ ) et du  $\kappa$ -carraghénane ( $R_1 = \text{H}$  ;  $R_2 = \text{SO}_3^-$ ).

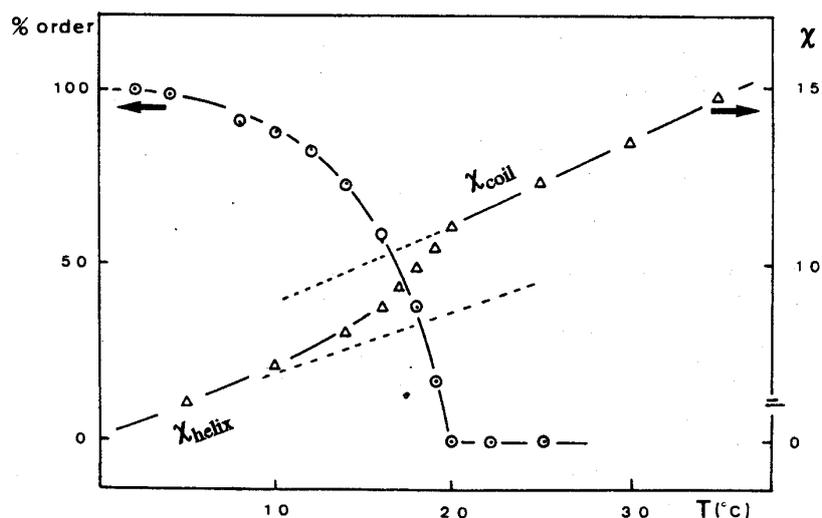
### I.2.2.2 Conformation du $\kappa$ -carraghénane

#### I.2.2.2.1 *Conformation à l'état solide*

Les premières études de diffraction des rayons X réalisées sur des films obtenus par déshydratation de gels de kappa et iota carraghénane ont mis en évidence la présence de « cristallites » (Bayley, 1955). Sur des bases similaires, Anderson et al. (1969) ont proposé un modèle de double hélice pour le  $\iota$ -carraghénane avec un arrangement coaxial de double hélices (Anderson et al., 1969). Deux chaînes identiques triples ayant un pas de 2,6 nm sont parallèles et décalées de 1,3 nm. Dans cette structure, deux liaisons hydrogène intermoléculaires sont formées par unités disaccharides. Plus récemment, Millane et al. (1988) ont proposé un modèle pour le  $\kappa$ -carraghénane à partir de données de diffraction des rayons X. Ce modèle relativement proche de celui du  $\iota$ -carraghénane se différencie par une excentration des deux chaînes d'un angle de  $28^\circ$  et une translation de 0,1 nm. Cependant une étude menée sur des fibres préparées à partir de films de  $\kappa$ -carraghénane (Cairns et al., 1991) confirme une organisation sous forme de double hélices mais semble en désaccord avec le modèle détaillé proposé par Millane et al. (1988).

#### I.2.2.2.2 *Conformation en solution et transition conformationnelle*

Les propriétés du  $\kappa$ -carraghénane et du  $\iota$ -carraghénane ont fait l'objet de nombreux travaux (Vreeman et al. 1980; Morris 1998; Piculell 2006). Elles dépendent à la fois de la température et de l'environnement ionique (présence de sels, concentration). En solution (à chaud), les carraghénanes se comportent comme des pelotes statistiques dont le degré d'expansion dépend du degré de sulfatation et de l'environnement ionique en raison de son caractère polyélectrolyte. Au refroidissement, ils adoptent une conformation hélicoïdale. La température de transition pelote-hélice qui dépend de la nature du cation ( $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ...) et de la force ionique peut être observée par des mesures de polarimétrie (Rees, 1969), de conductivité (Rochas et Rinaudo, 1980; Rochas, 1982), de diffusion de la lumière, d'analyse enthalpique différentielle (Morris, Rees et al. 1980; Rochas 1982; Rochas and Rinaudo 1982; Paoletti et al. 1985; Rochas 1985).



**Figure I.2-12.** Pourcentage d'ordre du  $\kappa$ -carraghénane en solution par polarimétrie (O) et par des mesures de conductivité ( $\Delta$ ) (Rochas et Landry, 1987)

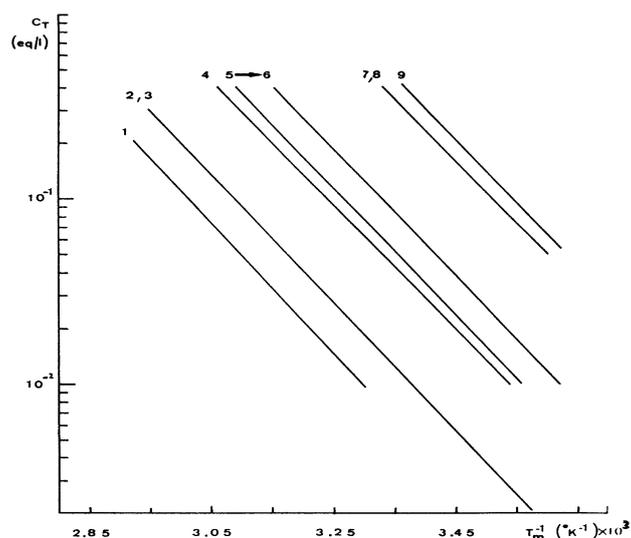
L'état ionique du carraghénane ainsi que l'environnement ionique dans lequel il se trouve déterminent ses propriétés conformationnelles. Rochas (1982) a mis en évidence par polarimétrie et par des mesures de conductivité que les différents cations étudiés peuvent être classés en trois catégories en fonction de leur efficacité à promouvoir et à stabiliser la formation d'hélice :

les cations monovalents non-spécifiques :  $\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{N}(\text{CH}_3)_4^+$

les cations divalents :  $\text{Co}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Sr}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Ba}^{2+}$

les cations monovalents spécifiques :  $\text{NH}_4^+ < \text{K}^+ < \text{Cs}^+ < \text{Rb}^+$

Les cations monovalents spécifiques sont très efficaces pour promouvoir la formation d'hélices. Pour les cations monovalents non spécifiques et les cations divalents, l'efficacité de stabilisation des hélices varie peu. Par exemple il est constaté que les « petits » ions comme  $\text{Na}^+$  et  $\text{Li}^+$  ou très gros comme  $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$  ne favorisent pas l'établissement d'une conformation ordonnée. Ils sont seulement capables de former des liaisons ioniques avec les groupements sulfate sans néanmoins former de liaisons électrostatiques avec les atomes d'oxygène présents sur le résidu anhydrogalactose (Rochas, 1982).



**Figure I.2-13.** Variation de la température de transition  $T_m$  au refroidissement du  $\kappa$ -carraghénane en fonction de la concentration totale  $C_T$  de différents cations monovalents (1)  $Rb^+$ , (2)  $Cs^+$ , (3)  $K^+$ , (4)  $NH_4^+$ , (7)  $N(CH_3)_4^+$ , (8)  $Na^+$ , (9)  $Li^+$ , et des cations divalents (5→6)  $Ba^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  (Rochas, 1982).

Rochas (1982) a montré pour le  $\kappa$ -carraghénane que dans sa forme ionique pure, l'inverse de  $T_m$  (température de transition hélice/pelote) varie linéairement avec le logarithme de la concentration totale en cation. La concentration ionique totale du milieu est définie par la relation suivante :

$$C_T = C_s + \bar{\gamma} C_p \quad \text{Équation I.2-1}$$

avec  $C_s$  : la concentration en sel ajouté

$C_T$  : la concentration totale en sel

$C_p$  : la concentration en contre-ions apporté par le polymère

$\bar{\gamma}$  : coefficient d'activité prenant en compte les interactions électrostatiques entre le contre-ions et le polymère (0,55 dans le cas du  $\kappa$ -carraghénane sous forme  $K^+$ )

L'augmentation de  $T_m$  avec  $C_T$  indique que la conformation ordonnée est stabilisée avec l'augmentation de la force ionique. Les charges portées sur le polymère sont écrantées et les répulsions diminuent, ce qui contribue à l'abaissement de l'énergie libre électrostatique de l'hélice. La variation linéaire  $C_T = f(T_m^{-1})$  observée pour les différents cations est

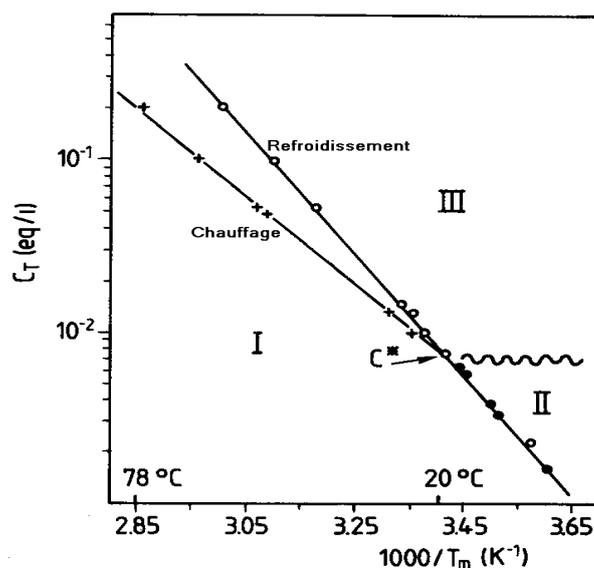
généralement constatée pour la transition conformationnelle de polyélectrolytes de nature glucidique. La théorie de la condensation des contre-ions prévoit que la pente de la droite est proportionnelle à l'enthalpie de transition en tenant compte des variations de densité de charge au cours de la transition. Une bonne correspondance a été observée avec les enthalpies de transition mesurées par calorimétrie (Rochas et Rinaudo, 1982).

Ce type de représentation, assimilée à un diagramme de phase, permet d'une manière simple de calculer les températures de transitions à partir de la concentration en polymère et de la force ionique du milieu. Elle implique également qu'en l'absence de sel ajouté,  $T_m$  dépend essentiellement de la concentration en polymère. Rochas (1982) s'appuie sur la construction d'un diagramme de phase pour le  $\kappa$ -carraghénane sous  $K^+$  en solution aqueuse en présence ou non de KCl à partir duquel il a défini plusieurs domaines où le carraghénane se trouve sous différentes formes (Figure I.2-14):

domaine I : le  $\kappa$ -carraghénane a une conformation désordonnée sous forme de pelote statistique car la température est supérieure à  $T_m$ .

domaine II : le  $\kappa$ -carraghénane présente une conformation ordonnée sous forme de dimère d'hélice car la température est inférieure à  $T_m$  mais avec  $C_T$  qui est inférieur à  $C^*$ , la concentration limite de gélification.

domaine III : le  $\kappa$ -carraghénane présente une conformation ordonnée sous forme d'hélices agrégées et forme un gel.



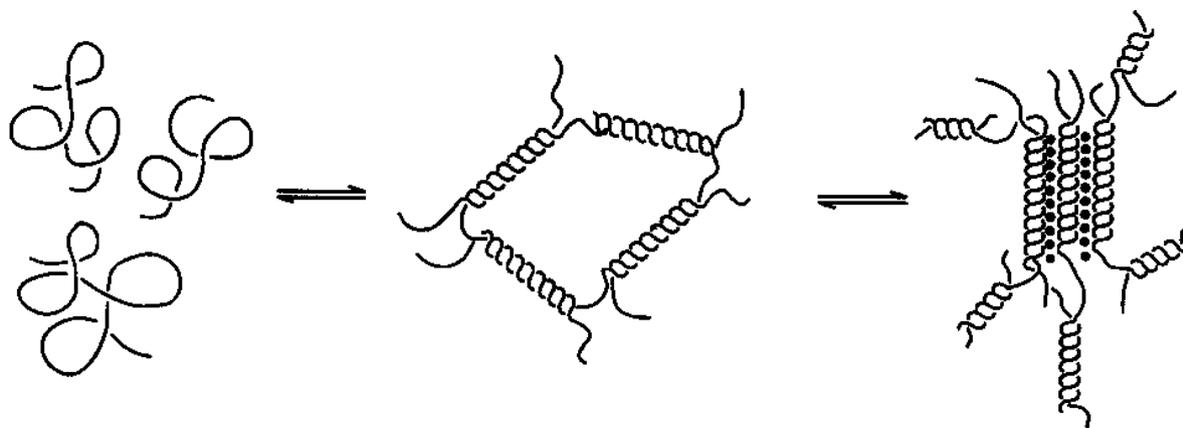
**Figure I.2-14.** Diagramme de phase du  $\kappa$ -carraghénane représentant la variation de la température de transition au refroidissement et au chauffage en fonction de la concentration totale en potassium (Rochas, 1982).

En dessous de la concentration  $C^* = 7,10^{-3}$  eq/l soit  $T_m = 20^\circ\text{C}$ , les températures de transition pelote-hélice et hélice-pelote sont confondues. Pour des concentrations supérieures à  $C^*$ , on observe une hystérésis entre la température de transition au refroidissement (transition pelote / hélice) et au chauffage (transition hélice / pelote).

Cette hystérésis s'accroît avec la concentration ionique du milieu. L'existence de cette hystérésis serait le reflet du processus d'agrégation des doubles hélices du carraghénane. Les agrégats de doubles hélices sont thermiquement plus stables et donc la température de transition hélice / pelote est supérieure à la transition pelote /hélice. Les mesures calorimétriques permettent de mettre en évidence ce processus de désagrégation et de retour à l'état désordonné (Rochas et Rinaudo, 1982).

### I.2.2.3 Gélification du $\kappa$ -carraghénane

La gélification du  $\kappa$ -carraghénane a fait l'objet de nombreux travaux. Nous nous limiterons à considérer les aspects essentiels des mécanismes et des propriétés. Pour plus de détails, il est possible de se référer aux revues bibliographiques (Rees, 1969; Rees et al., 1983; Piculell, 2006). Les premières études de Rees (1969) basées sur des expériences de diffraction des RX sur des films de  $\iota$ -carraghénanes avaient abouti à un premier modèle de gélification des carraghénanes en une seule étape (pelote/doubles hélices). Morris et al. (1980) ont proposé par la suite pour le  $\kappa$ -carraghénane un mécanisme impliquant deux étapes distinctes et permettant de prendre en compte les spécificités ioniques (Figure I.2-15).



**Figure I.2-15.** Modèle de gélification du  $\kappa$ -carraghénane. • Cation favorisant la gélification. (Morris et al., 1980)

La première étape est la transition conformationnelle de pelotes en doubles hélices et la seconde étape se traduit par l'agrégation de ces doubles hélices. La gélification proviendrait de l'agrégation des doubles hélices par des jonctions ioniques  $K^+$  en présence de KCl. La formation du réseau tridimensionnel requiert, selon ce modèle, la présence de "coudes" au niveau de la structure primaire, interrompant la régularité de structure et donnant ainsi à chaque chaîne la possibilité de participer à plusieurs doubles hélices avec d'autres chaînes. Ce rôle de "coude" serait joué par des unités galactose remplaçant quelques résidus anhydrogalactose.

De leur côté, Smidsrød et al. (1980) ont proposé un modèle de gélification à partir de la jonction spécifique d'hélices simples impliquant également les ions  $K^+$ . Rochas (1982) a ensuite montré que les  $\kappa$ -carraghénanes pouvaient adopter une conformation ordonnée sans gélification. Cet auteur, montre que la formation d'hélices n'entraîne pas obligatoirement la formation d'un gel. Une concentration critique en ions  $C^*$ , à une température donnée, est nécessaire pour que les dimères d'hélices s'associent en agrégats qui sont ensuite "pontés" par des liaisons faibles. Cette hypothèse exclut la nécessité d'impliquer directement les ions  $K^+$  dans les jonctions et la présence de "coudes" sur les chaînes (Rochas, 1982).

Par ailleurs, il a été montré qu'en présence de certains anions, iodure ou sulfocyanate par exemple, la gélification ne peut pas se produire. Ceci est attribué à une forte densité de charge des doubles hélices, limitant ainsi leur agrégation (Zhang et Furo, 1993; Viebke et al., 1994; Borgström et al., 1996). On constate cependant une gélification par dialyse contre un sel spécifique tel que le KCl. Ainsi, si la nature du dimère d'hélice n'est pas élucidée, il est communément admis que la gélification du  $\kappa$ -carraghénane est avant tout le résultat d'un «entassement» des dimères d'hélices impliquant un grand nombre d'entre eux pour former des « fagots », comme ceci a été suggéré sur la base de résultats obtenus par Diffusion de RX aux petits angles (Turquois et al., 1995).

#### II.2.2.4. Thermoréversibilité des gels et propriétés rhéologiques.

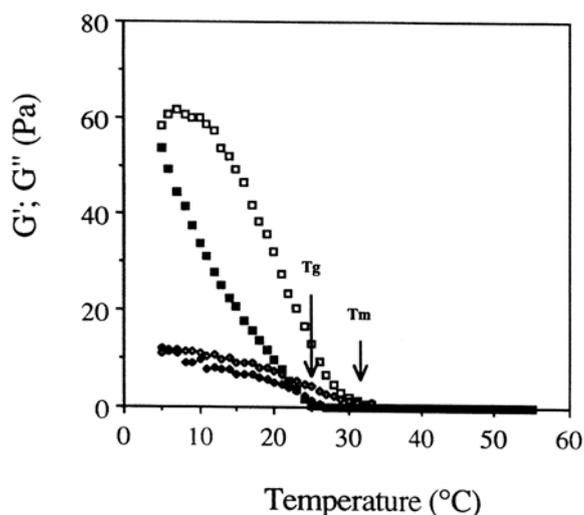
Par des mesures en compression uniaxiale, Rochas et al. (1990) ont établi que les propriétés mécaniques des gels de  $\kappa$ -carraghénane dépendent de la masse molaire. En dessous d'une

masse molaire critique ( $3 \times 10^4$  g/mole), le gel ne peut pas se former. Au-delà de cette valeur, le module d'Young augmente avec la masse molaire jusqu'à  $2 \times 10^5$  g/mole puis se stabilise. Les mêmes auteurs ont montré qu'il existe également une concentration critique de gélification, celle-ci étant proche de la concentration critique d'enchevêtrement ( $C^*$ ) des solutions de polymères. Au-delà de cette concentration, le module d'Young suit une loi de variation du type  $E = k C^v$  avec  $v$  proche de 2 (Rochas et al., 1990).

Les essais en régime harmonique permettent de caractériser la viscoélasticité des gels ainsi que d'étudier leur thermoréversibilité. Il est à noter qu'il est nécessaire de s'assurer que les mesures sont réalisées en absence de glissements. Pour les  $\kappa$ -carraghénanes, ces effets sont d'autant plus susceptibles de se produire en se situant à teneur élevée en  $K^+$  ou à concentration élevée en polysaccharide, conditions dans lesquelles les gels risquent de présenter une certaine synérèse, en lien avec une agrégation importante des dimères d'hélices.

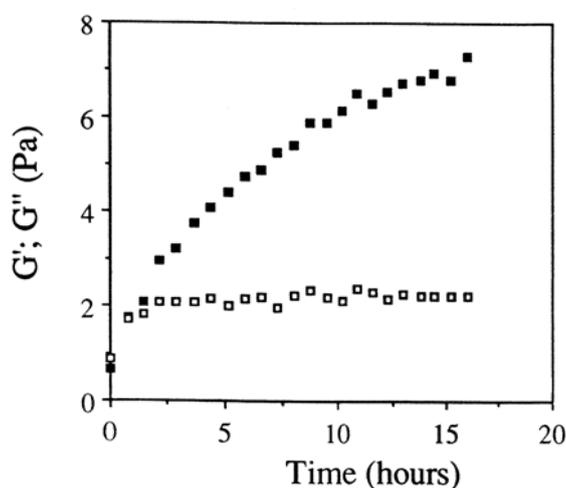
Il est établi que ce sont la forme ionique du polysaccharide ainsi que la présence des sels ajoutés et leur nature qui déterminent les propriétés des gels ainsi que leur thermoréversibilité (Nunez-Santiago et Tecante, 2007). Rochas et Rinaudo (1984) ont montré la coïncidence entre la transition pelote-hélice et la transition sol-gel : lors du refroidissement, dès que les macromolécules de  $\kappa$ -carraghénane s'ordonnent sous forme d'hélice, le système gélifie. Ainsi pour un  $\kappa$ -carraghénane sous forme  $K^+$  et en présence de KCl, les températures de gélification et de fusion sont déterminées par le biais du paramètre  $C_T$  défini dans l'Équation II-1. Les températures de gélification et de fusion se déduisent directement du diagramme de phase présenté précédemment (Figure I.2-13).

À titre d'exemple, la Figure I.2-16 montre l'évolution des modules conservatif  $G'$  et dissipatif  $G''$  en fonction de la température pour une concentration de  $\kappa$ -carraghénanes (forme  $K^+$ ) à 1% en absence de sel ajouté (Fernandes et al., 1992).



**Figure I.2-16.** Variations de  $G'$  et de  $G''$  en fonction de la température pour une concentration en  $\kappa$ -carraghénane de 1%. Fréquence 1 Hz.  $T_g$  : température de gélification ;  $T_m$  : température de fusion. Refroidissement :  $G'$  (■),  $G''$  (◆). Chauffage :  $G'$  (□),  $G''$  (◇). (Fernandes et al., 1992).

Le système est refroidi de 55°C à 5°C puis réchauffé. L'hystérésis montrée par la différence entre la température de gélification  $T_g$  (pour  $G' > G''$ ) et la température de fusion du gel  $T_m$  (pour  $G' < G''$ ) apparaît très nettement. Elle traduit la présence d'agrégats qui retardent la fusion du gel. La cinétique de gélification à 25°C de ce même système est présentée sur la Figure I.2-17;  $G'$  augmente régulièrement sur la période de temps considérée (16 heures) alors que  $G''$  atteint un plateau assez rapidement (2 heures). Ce comportement traduit la formation du gel au cours du temps par l'agrégation des hélices de  $\kappa$ -carraghénanes. La coïncidence entre température de fusion et transition conformationnelle à la fusion a également été notée.



**Figure I.2-17.** Cinétique d'évolution du  $\kappa$ -carraghénane à une concentration de 1%. Température de mesure 25°C. Fréquence 1Hz.  $G'$  (■),  $G''$  (□). (Fernandes et al., 1992).

Une augmentation de la force ionique se traduit non seulement par une température de transconformation plus élevée mais également par une augmentation de la rigidité des gels obtenus. Ainsi, Hermansson (1989) a mis en évidence que l'augmentation de la concentration en KCl se traduit par une plus grande rigidité des gels sans en modifier les caractéristiques globales. Par ailleurs, des effets synergiques ont été décrits dans le cas d'apport d'ions de nature différente de celle du contre-ion (Hermansson et al., 1991). Ainsi, les  $\kappa$ -carraghénanes sous forme  $\text{Na}^+$  à une concentration de 1% forment des gels en présence de NaCl 250 mM et de KCl 20 mM. Une faible quantité d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  (60 mM) permet également la gélification des  $\kappa$ -carraghénanes sous forme sodium. De la même façon, des effets synergiques sont observés lors de la gélification des  $\text{K}^+$   $\kappa$ -carraghénanes en présence d'ions calcium : les gels obtenus sont beaucoup plus rigides qu'en présence seulement d'ions  $\text{K}^+$ .

### I.3 MÉLANGES DE POLYSACCHARIDES

#### I.3.1 Comportement de phase

La compréhension de la nature des interactions et les mécanismes mis en jeu dans les mélanges de polysaccharides ont fait l'objet de nombreux travaux (Morris 1995; Williams et Phillips 1995; Zasytkin et al. 1997; Morris 1998). Les bases thermodynamiques qui déterminent le comportement des mélanges de biopolymères en milieu aqueux sont les mêmes que celles des mélanges de polymères synthétiques en milieu solvant. Il n'y a pas de différence fondamentale entre les deux. Lorsque deux polymères sont mélangés en solution, deux types de comportement peuvent être observés.

La miscibilité totale est caractérisée par un milieu homogène stable, les deux polymères étant des co-solutés « indifférents » l'un par rapport à l'autre, formant une seule phase. Cette situation, pouvant avoir lieu lorsque le système est très dilué, se rencontre très rarement.

Le phénomène le plus souvent observé est la séparation de phase. Les polymères se répartissent inégalement dans le mélange et deux phases coexistent au sein du système. La séparation de phase peut être « associative » ou « ségrégative ». Les phénomènes de démixtion des mélanges dépendent fortement de la nature des interactions existantes entre les biopolymères. Les interactions attractives peuvent être spécifiques (ioniques) ou non spécifiques (van der Waals, hydrogène, hydrophobes, ioniques). Les interactions répulsives, non spécifiques, peuvent être de nature électrostatique et/ou liées à un mécanisme de volume exclu.

- La séparation de phase associative ou « coacervation complexe » se traduit par une séparation de deux phases liquides : les deux polymères sont associés dans la même phase, alors que l'autre phase contient essentiellement le solvant. Elle se traduit par la formation de complexes solubles ou insolubles qui peuvent précipiter. Ce type de séparation de phase se produit généralement au sein d'un mélange de polyélectrolytes portant des charges de

signes opposés comme par exemple une protéine (à un pH inférieur à son point isoélectrique) et un polysaccharide anionique.

- La séparation de phase «ségrégitative» est un cas assez couramment rencontré dans les mélanges de polysaccharides qui a été étudié pour de nombreux systèmes: méthylcellulose-dextrane (Albertsson, 1962) amylose-dextrane (Kalichevsky et al., 1986), amylose-amylopectine (Kalichevsky et Ring, 1987), dextrane-agarose (Medin et Janson, 1993), caroube-dextrane (Garnier et al., 1995), pectine-pectine (McDougall et al., 1997), guar-amylopectine (Closs et al., 1999), amylose/ $\kappa$ -carraghénane (Tecante et Doublier, 2002), guar-dextrane (Simonet et al., 2002), amidon hydroxypropylé/ $\kappa$ -carraghénane (Chaudemanche, 2007). Cette liste n'est pas exhaustive mais rend compte du nombre de mélanges à base de polysaccharides incompatibles qui ont été étudiés.

La faible entropie de mélange qui résulte de la nature macromoléculaire ainsi que l'enthalpie de mélange endothermique expliquent l'incompatibilité entre ces entités. Deux polymères seront ainsi d'autant plus difficiles à mélanger que leurs masses molaires respectives seront élevées. L'effet de la force ionique et du pH sont déterminés dans le cas des polyélectrolytes. La présence de groupements ioniques sur l'un des constituants réduit la tendance à la séparation de phase en augmentant le domaine de compatibilité (Piculell et al., 1995).

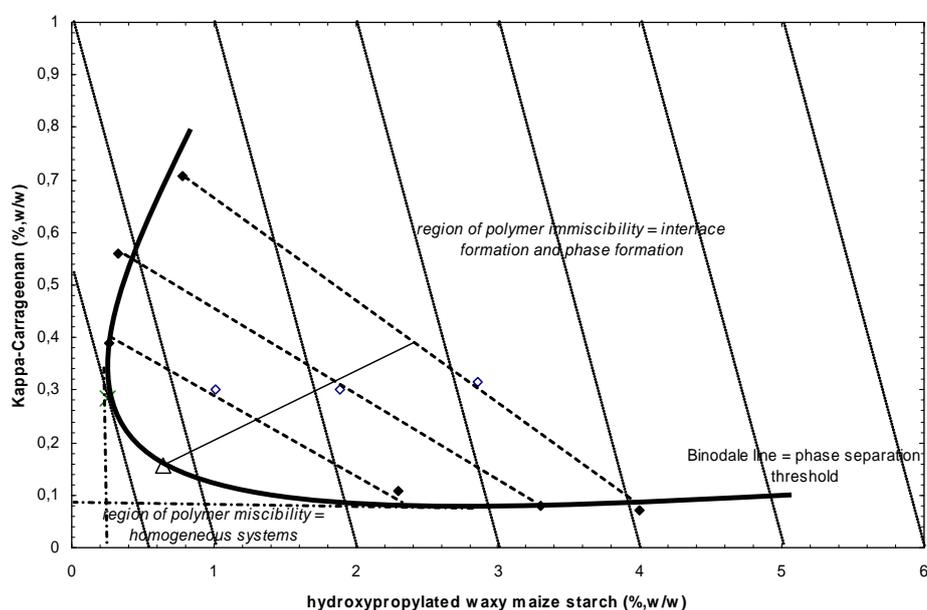
### **I.3.2 Incompatibilité thermodynamique**

La plupart des mélanges non-ioniques sont incompatibles en solution pour de faibles concentrations (Zasytkin et al., 1997). A l'équilibre thermodynamique, les mélanges de polymères peuvent être décrits par leur diagramme de phase. Les premiers diagrammes de phase de mélanges de polysaccharides en solution aqueuse ont été établis pour les systèmes méthylcellulose–dextrane (Albertsson, 1962). Les constituants de nature différente sont incompatibles d'un point de vue thermodynamique. Chacune des deux phases formées est enrichie en l'un des polymères, le solvant étant réparti entre les deux. À l'équilibre

thermodynamique, chaque phase contient majoritairement un des deux polymères et une quantité plus faible de l'autre polymère.

La Figure I.3-1 représente le diagramme de phase du mélange amidon waxy hydroxypropylé/ $\kappa$ -carraghénane à 25°C (Chaudemanche, 2007).

Le phénomène de séparation entre polysaccharides a également été traité de manière théorique afin d'établir des règles de comportement ou de prédire les diagrammes de phase expérimentaux préexistants (Clark, 2000; Simonet et al., 2000). La plupart de ces études font référence à des systèmes modèles comme les mélanges aqueux polyethyleneoxide (PEO)-dextrane.



**Figure I.3-1.** Diagramme de phase à 25°C du mélange amidon waxy hydroxypropylé /  $\kappa$ -carraghénane (Chaudemanche, 2007).

Le phénomène d'incompatibilité thermodynamique s'explique par le fait que les biopolymères de nature différente ne peuvent pas occuper le même volume en solution lorsqu'il n'existe pas d'interactions spécifiques entre eux. Cela implique généralement que leur incompatibilité les pousse à s'exclure mutuellement, et ainsi à se concentrer dans chacune des phases (Morris, 1990; Zasytkin et al., 1997). Ces effets de volume exclu peuvent conduire, lorsqu'un des biopolymères a la capacité de gélifier, à l'accélération des cinétiques de gélification, à la diminution de la concentration critique de gélification, et parfois à une amélioration des propriétés mécaniques des gels.

### I.3.3 Les gels à base de mélanges polysaccharides

Selon le comportement de phase des mélanges, les gels à base de mélanges de polysaccharides peuvent être divisés selon trois catégories (Morris et Wilde, 1997; Zasytkin et al., 1997; Morris, 1998): les gels «mixtes ou interpénétrés», les gels «complexes», et les gels «remplis ou séparés».

*Un gel mixte ou interpénétré* est constitué de deux polysaccharides qui gélifient séparément, formant deux réseaux indépendants. Ces structures couvrent la totalité du volume, mais il n'existe aucune interaction spécifique entre eux. Ces gels sont également classifiés comme des gels interpénétrés.

*Les gels complexes* aussi appelés *gels couplés* impliquent l'association intermoléculaire des constituants formant un seul réseau. La description des mécanismes d'association au cours de la gélification est encore controversée. De nombreuses revues bibliographiques décrivent ces mécanismes d'associations pour des gels binaires de polysaccharides (Morris et al., 1980; Williams et Phillips, 1995). Certains modèles, établis pour les systèmes carraghénane-caroube et xanthane-caroube, supposent que les polysaccharides interagissent et forment des zones de jonctions coopératives spécifiques (Dea et al., 1977).

*Un gel rempli* contient un réseau constitué par le polymère gélifiant qui forme la phase continue avec des particules dispersées enrichies par l'autre polymère. La phase dispersée peut être sous forme de particules solides ou liquides, qui jouent un rôle de charge ou de renfort qui gonfle le réseau. L'exemple caractéristique d'un *gel rempli* est le gel d'amidon de céréales et de légumineuses. La phase continue est constituée par un réseau d'amylose et la phase dispersée par des grains d'amidons gonflés composés majoritairement d'amylopectine. L'influence de l'origine botanique et du procédé de transformation sur le comportement des gels peut alors être expliquée par des lois de mélanges appliqués aux composites (Morris, 1990).

### I.3.3.1 Propriétés rhéologiques

Les interactions entre les constituants se caractérisent souvent par des effets de synergie représentés par la formation de gels thermoréversibles dans des conditions où les constituants seuls ne gélifient pas (Doublier 1994; Morris 1998; Norton et Foster 2002). Selon les conditions choisies, un effet antagoniste ou synergique peut être mis en évidence par rapport aux propriétés des biopolymères seuls. L'effet antagoniste se traduit par un affaiblissement du gel par rapport aux constituants seuls. Dans le cas des gels remplis, l'augmentation de la fraction volumique des particules insérées dans la matrice peut entraîner une diminution de l'élasticité des gels (Zasytkin et al., 1997).

Les interactions synergiques dans les mélanges binaires de polysaccharides se définissent par un renforcement du gel et / ou de la viscosité en solution du mélange par rapport à chacun des biopolymères pris séparément. Ces interactions sont souvent considérées comme synonymes de liaisons intermoléculaires entre les deux polysaccharides conduisant à des gels complexes (Cairns et al., 1987; Morris, 1995; Williams et Phillips, 1995). Cependant, l'incompatibilité thermodynamique des constituants peut également aboutir à des effets de synergie (Morris, 1990; Zasytkin et al., 1997). En solution, l'effet synergique est dû à des effets de volume exclu provoquant des effets de concentration dans le mélange. Lors de la formation d'un gel, ils proviennent des effets de concentration dans la phase continue riche en agent gélifiant (Zasytkin et al., 1997).

### I.3.3.2 Rhéologie des mélanges à base d'amidon

#### - *état de solution*

Les propriétés rhéologiques de suspensions d'amidon en présence de polysaccharides ont fait l'objet de nombreux travaux. La présence de polysaccharides comme le xanthane, le guar, le caroube, provoquent une augmentation considérable de la viscosité des empois d'amidon (Christianson et al., 1981; Alloncle et Doublier, 1991). Ces effets ont été expliqués de différentes manières. Il a été suggéré, en ne tenant pas compte de la phase granulaire, que

l'augmentation de la viscosité du mélange serait due à une complexation entre les molécules d'amidon solubles et du polysaccharide ajouté (Christianson et al., 1981; Eidam et al., 1995). Alloncle et al. (1991) ont suggéré que l'augmentation de la viscosité des mélanges (amidon-guar, amidon-caroube, ou amidon-xanthane) peut être attribuée à une augmentation artificielle de la concentration du polysaccharide dans la phase continue en raison du gonflement des grains d'amidon pendant l'empesage. Cependant, dans les mélanges amidon waxy-xanthane, l'augmentation des modules dynamiques avec l'addition progressive de l'amidon aux solutions de xanthane ne peut être expliquée par des effets de concentration dans la phase continue. Certains auteurs ont alors proposé un mécanisme de déplétion-floculation (Abdulmola et al., 1996).

*- état de gel*

Les propriétés viscoélastiques de gels à base d'amidon et de polysaccharides ont été également décrites. Si les propriétés des empois d'amidon mettent en évidence des augmentations importantes de la viscosité, les propriétés rhéologiques des gels obtenus après rétrogradation ne subissent pas de modifications aussi spectaculaires. Celles-ci sont principalement régies par la fraction volumique de la phase dispersée (grains) et celle de la phase continue. Généralement l'addition de polysaccharides accélère la formation des gels d'amidon. Ce phénomène a été observé pour le  $\kappa$ -carraghénane même si l'ajout de  $\iota$ -carraghénane produit l'effet inverse (Eidam et al., 1995). D'un point de vue général, les gels amidon-polysaccharides peuvent être décrits comme des gels composites dans lesquels des effets d'incompatibilité thermodynamique (Alloncle et Doublier, 1991; Eidam et al., 1995), d'association de grains par des mécanismes de déplétion-floculation (Abdulmola et al., 1996), ou la formation d'un deuxième réseau imprégnant le gel d'amidon (Mohammed et al., 1998) peuvent se produire.

#### I.4 PROPRIÉTÉS DES FILMS A BASE DE POLYSACCHARIDES.

Plusieurs décennies d'exploitation intensive des polymères synthétiques pour des usages courants se sont traduites par l'accumulation de matières plastiques dans notre environnement. De plus, comme nous l'avons déjà mentionné, l'utilisation de biomatériaux à base de ressources animales telle que la gélatine a connu une crise sans précédent qui a engendré de nombreuses recherches afin d'élaborer des matériaux de substitution.

Pour ces raisons, les recherches axées sur le développement de matériaux à base de biopolymères issus du monde végétal se sont très largement développées ces dernières années (Tharanathan, 2003; Yu et al., 2006). Les polysaccharides sont connus pour leurs propriétés filmogènes et peuvent être utilisés pour des applications alimentaires ou non-alimentaires. Une large gamme de propriétés peut être obtenue en raison des nombreuses fonctionnalités qu'ils offrent (Nisperos-Carriedo, 1994).

##### **I.4.1 Mise en forme des films à base de polysaccharides**

Il existe plusieurs procédés d'élaboration de films à base de biopolymères. Les deux principaux sont les procédés dits par voie humide et par voie sèche. La formation du matériau se déroule généralement en deux étapes : la première consiste à obtenir un état déstructuré et la seconde correspond à la mise en forme.

##### **I.4.1.1 Voie Sèche**

Ce procédé de transformation est utilisé lorsque le matériau manifeste un comportement thermoplastique, c'est à dire qu'il pourra comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondu de façon réversible. Certains polysaccharides peuvent être alors considérés comme des matériaux thermoplastiques en présence d'eau. Les procédés de

transformation utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour les polymères synthétiques : extrusion, extrusion-soufflage, injection, thermoformage, calandrage (Chandra et Rustgi, 1998).

Parmi les polysaccharides, l'amidon a très largement été envisagé pour ce type d'utilisation. Depuis de nombreuses années des études ont mis en évidence la possibilité de réaliser des matériaux thermoplastiques à base d'amidon (Savary et al., 1993). Les paramètres à prendre en compte sont ceux classiquement considérés dans les différentes techniques de transformation des matières plastiques, à savoir, la viscosité, la température de transition vitreuse, la température de fusion, la température de dégradation.

#### I.4.1.2 Voie humide

La voie humide consiste à solubiliser les macromolécules, souvent en milieu aqueux, puis à évaporer le solvant pour obtenir un film solide. En fonction du domaine d'application, il existe différents procédés pour réaliser des films par voie humide.

La méthode de « casting » reste une des méthodes les plus utilisées pour former des films minces. Elle consiste à étaler sur un support une solution ou un gel de polymère. L'épaisseur du film est déterminée par la concentration en polymère et par l'épaisseur initiale de la solution ou du gel qui est généralement ajustée à l'aide d'une barre d'étalement. Elle permet de fabriquer de manière simple et peu coûteuse, à l'échelle de laboratoire, des films dont la mise en œuvre et les propriétés sont assimilables à ceux produits par d'autres méthodes de voie humide, telle que le moulage par trempage par exemple.

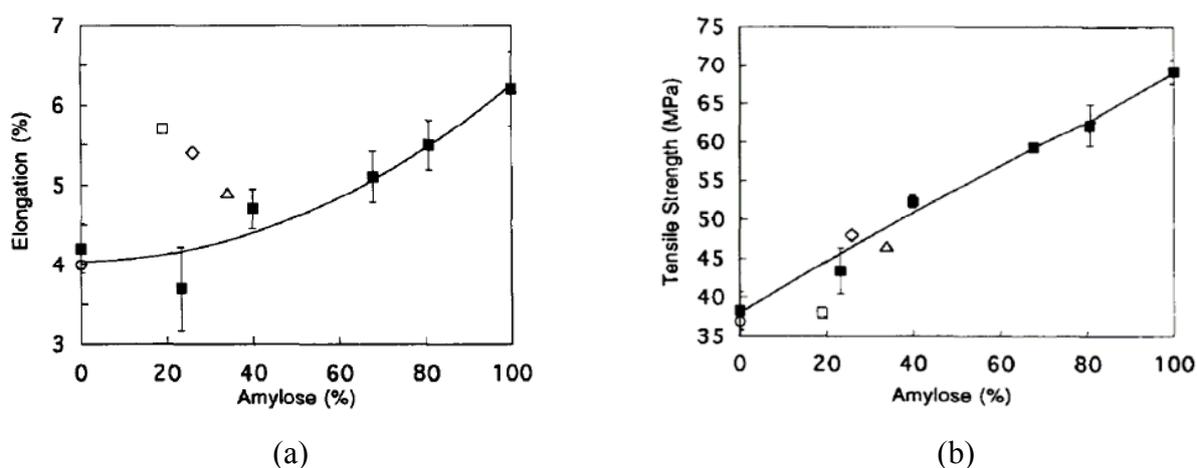
La méthode de moulage par trempage (dipping ou dip-molding) est une méthode très ancienne utilisée pour appliquer un film protecteur sur certains produits alimentaires (Greener Donhowe et Fennema, 1994), ou sur des produits techniques comme certaines céramiques (Santacruz et al., 2004). Cette technique est celle utilisée pour la fabrication des gélules pharmaceutiques dures (Podczeck et Jones, 2004). Elle l'est également pour la fabrication d'objets en latex et de nombreuses pièces plastiques. L'objet à mouler ou à revêtir va être trempé dans une solution de manière à former une couche gélifiée uniforme sur la surface de

l'objet. Un fois l'épaisseur désirée atteinte, l'objet est retiré de la solution puis séché. Le film ou l'objet obtenu pourra alors être démoulé.

D'autres méthodes peuvent être employées comme le « spraying » qui consiste à pulvériser sur une surface une solution de polymère sous forme de fines gouttelettes afin d'obtenir un film d'une épaisseur très fine. Pour des applications en tant que matériaux, les principaux polysaccharides d'intérêt sont la cellulose et l'amidon, mais une attention croissante a été portée à d'autres polysaccharides comme les carraghénanes, les pectines, les alginates, le pullulane, le chitosane, le xanthane (Nisperos-Carriedo, 1994).

#### I.4.2 Films à base d'amidon

Les matériaux à base d'amidon ont été largement étudiés en raison de leur faible coût, de leur caractère biodégradable et renouvelable. Ils sont devenus des matériaux de choix pour la fabrication de films issus de ressources renouvelables. Depuis les premiers travaux réalisés sur les propriétés mécaniques et barrières de films à base d'amylose (Wolff et al., 1951), une quantité très importante de travaux a mis en évidence les propriétés des films à base d'amidon obtenus par casting (Bader et Goritz, 1994; Lourdin et al., 1995; Rindlav et al., 1997; Myllarinen et al., 2002). Leurs propriétés mécaniques qui restent assez faibles dépendent de la teneur en amylose comme le montre la Figure I.4-1.



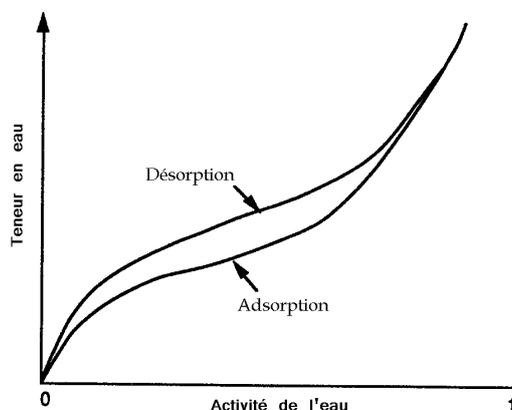
**Figure I.4-1.** Propriétés mécaniques en traction de films à base d'amidon. (a) Contrainte à la rupture et (b) déformation à la rupture en fonction de la teneur en amylose (Lourdin et al., 1995).

Cette figure représente la variation de la contrainte à la rupture et l'élongation à la rupture en fonction de la teneur en amylose lors d'essais mécaniques en traction pour une teneur en eau d'environ 12%. L'augmentation quasiment linéaire de ces propriétés avec la teneur en amylose est due à la capacité d'enchevêtrement des macromolécules linéaires. La structure hautement ramifiée des macromolécules d'amylopectine gêne la formation de ces enchevêtrements. Les amidons riches en amylose comme l'amylomais (70% d'amylose) ou l'amidon de pois lisse (35% d'amylose) sont de bons candidats pour la fabrication de films à base d'amidon.

Malheureusement malgré des contraintes à la rupture tout à fait acceptables (30-60 MPa) qui sont comparables à celles de certains polymères synthétiques (Polyéthylène basse densité : 40 MPa), les matériaux à base d'amidon restent très fragiles (déformation à la rupture 6-7 %). De plus leur sensibilité à l'eau, les rend très dépendants des conditions dans lesquelles ils sont stockés.

#### I.4.2.1 Teneur en eau

La connaissance des isothermes de sorption est extrêmement importante pour prédire l'état et le comportement physique des films d'amidons et des biopolymères en général. Ces isothermes représentent la variation de la teneur en eau en fonction de l'activité de l'eau  $A_w$  (Figure I.4-2). Une hystérèse entre les isothermes d'adsorption et de désorption est généralement observée.



**Figure I.4-2.** Représentation schématique d'un isotherme de sorption avec un hystérésis entre l'isotherme d'absorption et de désorption. La teneur en eau est souvent exprimé en g/g.

Les isothermes ont une allure de type sigmoïde et sont établies à partir de données expérimentales. Les points expérimentaux sont généralement obtenus à partir d'échantillons à l'équilibre conditionnés sous différentes activités de l'eau. Les variations de la teneur en eau en fonction de l'activité de l'eau peuvent être décrites selon les modèles de Brunauer-Emmett-Teller (BET) et le modèle de Guggenheim-Andersson-DeBoer (GAB).

Le modèle de BET est défini par l'équation suivante :

$$\frac{m}{m_m} = \frac{A_w}{(1-A_w)[1+(K-1)A_w]} \quad \text{Équation I.4-1}$$

Avec  $m$  la teneur en eau (g/g),  $m_m$  est la valeur de la monocouche, et  $K$  une constante.

Ce modèle est couramment employé pour déterminer la valeur de la monocouche qui exprime la quantité d'eau nécessaire pour former une couche de molécules d'eau d'une épaisseur équivalente à une molécule présente sur la surface absorbante. L'application de ce modèle est limitée car il ne permet de prédire les isothermes que sur une plage réduite d'activité de l'eau variant de 0,1 à 0,5 (Labuza, 1968).

Le modèle de GAB (Van den Berg et Bruin, 1981) est semblable au modèle BET à l'exception d'un paramètre :

$$\frac{m}{m_m} = \frac{K' C A_w}{(1-C A_w)[1+(K'-1)C A_w]} \quad \text{Équation I.4-2}$$

Ce modèle est très utilisé car il peut être appliqué sur une large gamme d'activité de l'eau, à différentes températures. Il permet de calculer la valeur de la monocouche et il est valable pour de nombreux biopolymères.

#### I.4.2.2 Transition vitreuse $T_g$

La détermination des propriétés physiques de l'amidon à l'état amorphe fait référence à la science des matériaux polymères (Levine et Slade, 1986). Cette approche a permis de comprendre l'extrême sensibilité des propriétés physiques de l'amidon à l'état amorphe en fonction de la teneur eau. Aux températures inférieures à la  $T_g$ , la mobilité moléculaire est réduite et le matériau est dans un état vitreux, dont le comportement mécanique est de type fragile. Aux températures supérieures à  $T_g$ , la mobilité moléculaire augmente et le matériau est dans un état caoutchoutique, dont le comportement est ductile. La valeur de la  $T_g$  par rapport à la température d'utilisation du matériau influence les propriétés physiques et par conséquent détermine le champ d'application du matériau.

La quantité d'eau contenue dans les films modifie de manière très importante la température de transition vitreuse  $T_g$  et donc les propriétés mécaniques (Zeleznač et Hoseney 1987; Slade et Levine 1995; Bizot et al. 1997). L'eau joue un rôle de plastifiant de l'amidon. Il a été montré qu'une variation de 1% de la teneur en eau provoque une modification de la  $T_g$  d'environ 10°C. Ferry (1980) a montré que la  $T_g$  des mélanges polymère / plastifiant diminue en raison de la baisse de la masse molaire moyenne du mélange. L'ajout de plastifiant augmente la distance intermoléculaire ou volume libre des chaînes d'amidon et diminue la viscosité locale provoquant une augmentation de la mobilité moléculaire (Trommsdorff et Tomka, 1995). La variation de la  $T_g$  en présence d'un plastifiant peut être calculée à partir des modèles de Gordon et Taylor et de Couchman et Karasz (Roos, 1995).

La relation de Gordon et Taylor (Gordon et Taylor, 1952) détermine l'effet plastifiant de l'eau sur de nombreux biopolymères pour des teneurs en eau comprise entre 0 et 50%.

$$T_g = \frac{w_1 T_{g1} + k w_2 T_{g2}}{w_1 + k w_2} \quad \text{Équation I.4-3}$$

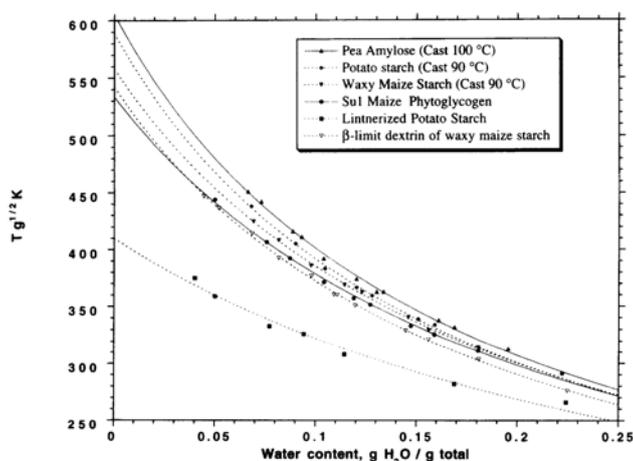
avec  $w_1$  et  $w_2$ : fraction massique en polymère, et en eau, respectivement.  $T_{g1}$  et  $T_{g2}$  leurs températures de transition vitreuse respectives.  $k$  est un facteur empirique relatif aux liaisons hydrogènes entre le plastifiant et le polymère qui peut être calculé à partir des données expérimentales de  $T_g$  pour différentes teneurs en eau. Cette équation est relativement simple à appliquer mais elle se restreint à des systèmes polymères / eau et ne peut s'appliquer à des systèmes plus complexes comprenant des mélanges de polymères.

Pour des systèmes plus complexes, la relation de Couchman et Karasz est généralement utilisée. Ce modèle prend en compte la modification de la capacité calorifique ( $\Delta C_p$ ) des composés purs au passage de la  $T_g$ . Elle est similaire à l'équation de Gordon et Taylor mais

elle introduit le paramètre  $k = \frac{\Delta C_{p2}}{\Delta C_{p1}}$  :

$$T_g = \frac{w_1 \Delta C_{p1} T_{g1} + w_2 \Delta C_{p2} T_{g2}}{w_1 \Delta C_{p1} + w_2 \Delta C_{p2}} \quad \text{Équation I.4-4}$$

avec les indices 1 et 2 correspondant au polymère et à l'eau, respectivement.

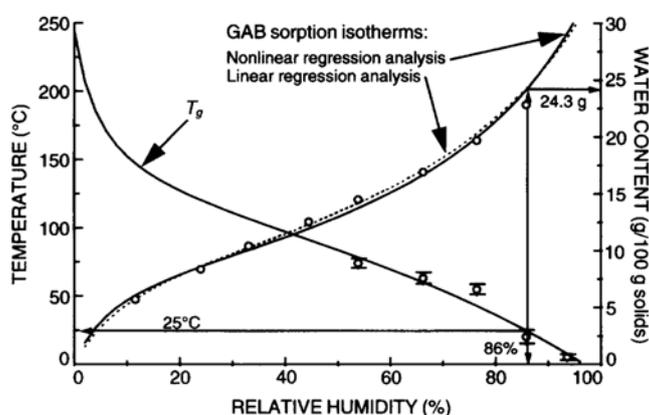


**Figure I.4-3.** Variation de la  $T_g$  pour différentes fractions d'amidons en fonction de la teneur en eau (Bizot et al., 1997)

L'application de ces modèles permet de déterminer la  $T_g$  et la différence de capacité calorifique  $\Delta C_p$  de l'amidon anhydre par extrapolation à partir des mesures de  $T_g$  des polysaccharides hydratés (Figure I.4-3). La  $T_g$  de l'amidon de blé anhydre a été déterminée à 227°C (Zeleznač et Hosney, 1987), et celle de films d'amidon de pomme de terre amorphes et d'amylose de pois à 316°C et 332°C, respectivement (Bizot et al., 1997). La  $T_g$  des films d'amidon a également été déduite à partir de valeurs de malto-oligosaccharides donnant une  $T_g$  de 227°C (Orford et al., 1989). L'amylopectine a une  $T_g$  plus faible, environ 20°C, par rapport à l'amylose en raison de sa structure branchée. L'effet des branchements est connu comme un dépresseur de  $T_g$  et est souvent décrit en termes de plastification interne (Slade et Levine, 1991).

La relation entre les isothermes de sorption et les valeurs de transition vitreuse permet de déterminer l'influence des conditions de stockage sur la  $T_g$  de l'amidon par l'intermédiaire du

diagramme de phase présenté dans la Figure I.4-4. La diminution de la  $T_g$  avec l'augmentation de l'humidité relative permet de déterminer les conditions de stockage critiques pour lesquelles la  $T_g$  se trouve au-dessous de la température ambiante. L'humidité relative d'équilibre critique a été estimée à environ 86% pour l'amidon de maïs amorphe correspondant à une teneur en eau d'environ 20% (base humide) (Jouppila et Roos, 1997). Au-delà de ces valeurs critiques, le matériau est dans un état caoutchoutique. L'augmentation des mobilités moléculaires peut conduire à des réorganisations structurales de type recristallisation. Ces diagrammes de phase sont donc extrêmement utiles pour décrire les domaines de stabilité des produits et permet d'établir des critères pertinents concernant les conditions de stockage des films (Roos, 1995).



**Figure I.4-4.** Représentation schématique du diagramme de phase d'un amidon de pomme de terre montrant la diminution de la  $T_g$  avec l'augmentation de l'humidité relative H.R. L'isotherme de sorption montre la variation de la teneur en eau en fonction de  $A_w$  à 25°C extrapolée à l'aide du modèle de GAB. Les valeurs expérimentales de  $T_g$  extrapolée à l'aide de l'équation de Gordon et Taylor et l'isotherme de sorption du modèle de GAB permettent de déterminer les valeurs critiques de teneur en eau et d'humidité relative (Jouppila et Roos, 1997).

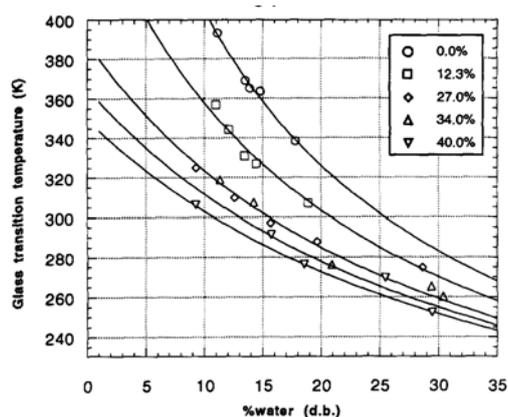
D'autres facteurs peuvent jouer un rôle sur les propriétés des films à base d'amidon. La masse molaire des échantillons peut modifier de manière sensible les propriétés des films d'amidon. La relation entre la masse molaire des polymères et la  $T_g$  a été décrite depuis de nombreuses années pour les polymères synthétiques (Fox et Flory, 1950; Ferry, 1980) mais également pour l'amidon (Orford et al., 1989). La température de transition vitreuse  $T_g$  varie linéairement avec l'inverse de la masse molaire. Cela a été attribué au volume libre des polymères. Les propriétés mécaniques des films d'amidon de pomme de terre thermoplastiques diminuent avec la baisse de la masse molaire sur des échantillons hydrolysés (van Soest et al., 1996). Cependant, il a été montré que ces modifications se produisent

seulement pour des matériaux dans un état caoutchoutique. Aucune différence significative n'a été observée dans le domaine vitreux. Dans la zone vitreuse, les mouvements moléculaires sont réduits et la taille de chaînes n'influe pas sur le module. La diminution des modules élastiques des matériaux de faible masse molaire dans le domaine caoutchoutique est attribuée à la difficulté pour ces chaînes courtes de former un réseau de chaînes enchevêtrées.

#### *1.4.2.2.1 Influence de la teneur en plastifiants*

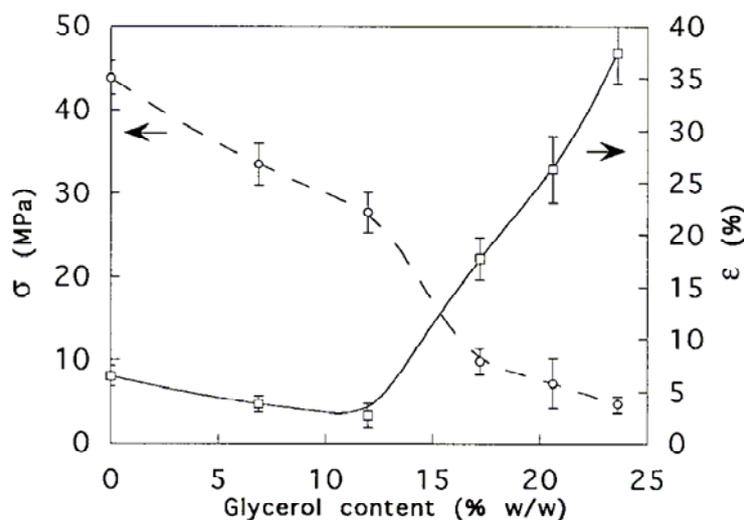
Afin de stabiliser les propriétés de l'amidon en fonction des conditions d'humidité, des plastifiants sont généralement ajoutés afin d'améliorer les propriétés mécaniques des films pour augmenter leur flexibilité. L'ajout de ces molécules facilite la mise en forme et a également un effet dépresseur sur la Tg. Les mesures d'analyses enthalpiques différentielles (ATD) et d'analyses thermo-mécaniques dynamiques (ATMD) sont des méthodes de choix pour déterminer la Tg (Kalichevsky et al., 1992).

De nombreuses études sur l'effet dépresseur combiné aux caractéristiques de compatibilité et de volatilité de nombreux plastifiants (glycérol, sorbitol, lactate de sodium, éthylène, diéthylène et propylène glycol, urée, diacétate de glycérol, ...) ont été menées et ont permis d'identifier les composés les plus efficaces (Wolff, Davis et al. 1951; van Soest, Hulleman et al. 1996; Forssell, Mikkila et al. 1997; Lourdin, Coignard et al. 1997; Gaudin, Lourdin et al. 1999; Hulleman, Kalisvaart et al. 1999). L'éthylène glycol et le diéthylène glycol sont les deux plastifiants les plus efficaces pour leur effet dépresseur de la Tg de l'amidon. L'addition de 16% (base sèche ; g/g) de plastifiant total (eau + plastifiant) permet d'abaisser la Tg en dessous de la température ambiante. Le glycérol et le sorbitol sont les plastifiants connus de l'amidon qui sont le plus étudiés en raison de leur efficacité et de leur caractère alimentaire. L'influence de la teneur en glycérol sur la Tg de l'amidon en fonction de la teneur en eau est reporté sur la Figure I.4-5.



**Figure I.4-5.** Variation de la température de transition vitreuse de l'amidon en fonction de la teneur en eau pour différentes concentrations en glycérol (Lourdin et al., 1997b).

Les variations de  $T_g$  sont calculées à partir du modèle de Couchman et Karasz étendu à trois composants (eau-plastifiant-polymère). L'augmentation de la teneur en plastifiant provoque une diminution de la  $T_g$  mais également une baisse de la pente des courbes indiquant une réduction de l'efficacité des plastifiants, lorsqu'ils sont présents à des concentrations élevées. Pour les teneurs en plastifiant élevées, la déviation entre les données expérimentales et le modèle théorique de Couchman qui s'applique aux systèmes monophasiques montre qu'il se produit une séparation de phase entre le polymère et le plastifiant. L'effet de certains sucres tels que le fructose, glucose, sucrose et xylose a également été étudié sur des films d'amylopectine (Kalichevsky et al., 1993). De manière générale, l'effet plastifiant de ces sucres sur la  $T_g$  de l'amylopectine est plus prononcé à de faibles teneurs en eau. Ces auteurs ont également montré que des phénomènes de séparation de phase peuvent se produire pour des teneurs en plastifiant élevées réduisant leur efficacité. Comme nous l'avons déjà précisé, la  $T_g$  est un paramètre déterminant pour les propriétés mécaniques des matériaux. Le rôle du plastifiant est d'augmenter la souplesse ou ductilité (élongation à la rupture) des matériaux et d'améliorer leur comportement dans de nombreux types de sollicitations mécaniques. La Figure I.4-6 montre l'influence de la teneur en glycérol sur les propriétés mécaniques en traction de films d'amidon. La plastification se caractérise par une meilleure tenue à la déformation. Pour des teneurs en glycérol  $> 12\%$  (g/g d'amidon), la contrainte à la rupture diminue ( $\sigma$ ) et l'élongation à la rupture ( $\epsilon$ ) augmente.



**Figure I.4-6.** Influence de la teneur en glycérol sur la contrainte maximum (○) et la déformation à la rupture (□), pour des films d'amidon de pomme de terre à 25°C, conditionnés à 57% d'H.R. (Lourdin et al., 1997a).

Cependant l'amélioration des propriétés mécaniques ne se produit réellement qu'à partir de 12% de glycérol et d'environ 27% de sorbitol. A ces concentrations, la  $T_g$  du mélange est égale à la température ambiante. Au-delà de ces valeurs, le matériau est dans un état caoutchoutique. Par contre à des teneurs inférieures en plastifiant, il se produit un phénomène dit d'antiplastification, également rencontré dans les polymères synthétiques.

#### I.4.2.2.2 Phénomènes d'antiplastification

Ce phénomène atypique lorsqu'un plastifiant est ajouté a été observé depuis de nombreuses années sur les polymères synthétiques (Jackson et Caldwell, 1967) et récemment sur les films à base d'amidon (Lourdin et al., 1997a). Il se traduit par l'effet inverse de la plastification. Les antiplastifiants sont en général compatibles avec le polymère. Ils ont généralement une masse molaire faible et une  $T_g$  supérieure à  $-50^{\circ}\text{C}$ . L'antiplastification se produit uniquement lorsque le polymère est dans un état vitreux c'est à dire lorsque la  $T_g$  du matériau est supérieure à la température ambiante. Cet effet est supprimé lorsque la  $T_g$  est inférieure à la température ambiante.

Pour les polymères synthétiques, l'antiplastification provoque une diminution de l'allongement à la rupture et une augmentation de la contrainte à la rupture. Dans le cas des

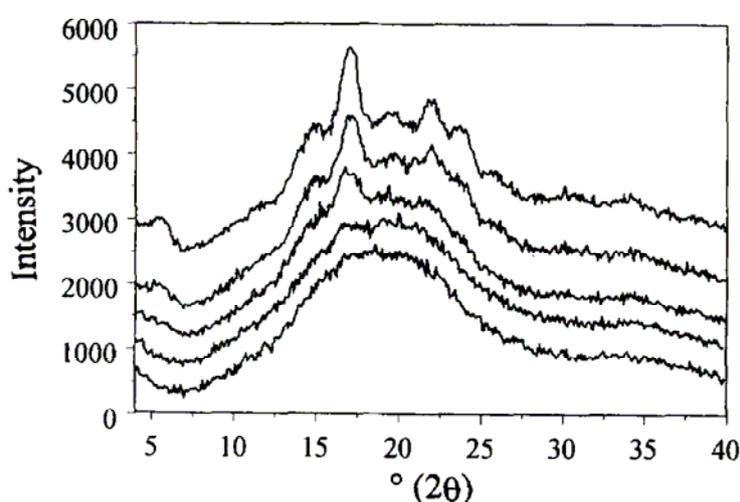
films d'amidon, elle se traduit également par une diminution de l'allongement à la rupture mais aussi par une diminution de la contrainte la rupture (Figure I.4-6).

Les mesures réalisées par analyse thermo-mécaniques dynamiques (ATMD) ont permis de mettre en évidence des différences au niveau des mobilités moléculaires locales. Le phénomène d'antiplastification proviendrait d'interactions hydrogène entre le plastifiant et l'amidon réduisant les mobilités moléculaires. Les relaxations moléculaires secondaires qui apparaissent aux très basses températures entre  $-100^{\circ}\text{C}$  et  $-50^{\circ}\text{C}$  sur l'amidon disparaissent lorsque le glycérol est ajouté. Les mobilités moléculaires à l'origine des ces relaxations seraient alors réduites en présence de plastifiant. L'effet gênant de l'antiplastification nécessite l'introduction de glycérol dans des quantités relativement importantes ( $> 20\%$ , g/g d'amidon).

#### I.4.2.3 Cristallinité dans les films d'amidon

Il est très important de connaître et de contrôler la cristallinité dans les films à base de polymère. Il a été montré que la cristallinité peut avoir un impact considérable sur les propriétés physiques des films de polymères (Ferry, 1980). La cristallisation des polymères dépend fortement de la masse molaire, du degré de branchement, de la concentration, de la température et du solvant utilisé. Lorsque l'on forme des films d'amidon par casting à partir de solutions, il peut se produire des phénomènes de recristallisation au cours du séchage (Katz, 1930; Rindlav et al., 1997). Il a été montré que la structure se réorganise sous forme de cristaux de type B. Les études de diffusion de la lumière aux petits angles (SALS) et de diffraction des rayons X aux grands angles (DRX) menées sur des films d'amylose obtenus par casting ont permis de mettre en évidence l'influence des conditions de formation du film sur la structure (Unbehend et Sarko, 1974). Pour tous les films, une structure supramoléculaire a été observée par les mesures de SALS. L'analyse des films par DXR a mis en évidence une structure cristalline de type B avec des tailles de cristaux de 24-28 Å. L'augmentation du temps de vieillissement et/ou la diminution de la température de vieillissement accentuent l'apparition de morphologies sous forme de bâtonnets. L'influence de la température de casting sur la structure des films d'amidon a été mise en évidence (Rindlav et al., 1997). Ces auteurs ont montré qu'en fonction de la température mais aussi de l'humidité relative (HR) de formation du film, la cristallinité peut être totalement modifiée.

Comme le montre la Figure I.4-7, les films formés à 20°C à des humidités relatives hautes ont un taux de cristallinité (23%) plus élevé que ceux formés à une faible humidité relative (13%). Ces auteurs ont suggéré que le séchage dans des conditions d'humidité relative élevées entraîne une augmentation des temps de séchage. L'eau étant un plastifiant de l'amidon, l'augmentation du temps de séchage favorise les interactions eau-polymère et ainsi la mobilité moléculaire. Pendant cette période de séchage, les macromolécules d'amidon vont alors avoir le temps de se réorganiser sous forme de cristaux (Rindlav et al., 1997). Pour les films amorphes formés à des températures plus élevées (50°C et 68°C), ces auteurs ont suggéré que la structure des films est également gouvernée par les mécanismes de cristallisation qui dépendent de la température de séchage T et plus précisément de T-Tg.



**Figure I.4-7.** Spectres de diffraction des rayons X aux grands angles (DRX) de films d'amidon de pomme de terre obtenus dans différentes conditions de séchage. De haut en bas : 20°C et 92%RH, 20°C et 58%RH, 20°C et 25%RH, 50°C, et 68°C (Rindlav et al., 1997).

L'influence de la température de séchage sur la cristallinité est expliquée par des mécanismes de cristallisation qui sont favorisés lorsque la température est comprise entre la température de transition vitreuse Tg et la température de fusion Tm. Il est suggéré que la cristallisation des biopolymères amorphes est contrôlée cinétiquement par la différence entre la température ambiante T et la température de transition vitreuse du polymère Tg (Roos, 1995). La cristallisation ne se produit pas ou est extrêmement lente aux températures inférieures à Tg mais elle peut se produire aux températures supérieures à Tg, à une vitesse dépendant de T-Tg (Slade et Levine, 1991).

Pour les polymères synthétiques, il est admis que les polymères linéaires cristallisent plus rapidement que les polymères branchés. Rindlav-Westling et al. (1998) ont montré que les films à base d'amylose ont un degré de cristallinité relativement élevé ( $\approx 35\%$ ), alors que les films à base d'amylopectine sont totalement amorphes dans des conditions de séchage similaires. Les différentes structures s'expliquent par les différences de vitesse de cristallisation entre les deux polymères. En effet, l'amylose se réorganise très rapidement par rapport à l'amylopectine. Il a été montré que les gels d'amylose développent rapidement une cristallinité qui se stabilise à partir d'une journée (Miles et al., 1985). Contrairement à l'amylose, la cristallisation de l'amylopectine se produit beaucoup plus lentement et se développe sur plusieurs semaines (Ring et al., 1987). Une cristallinité de type B a cependant été observée sur des films d'amylopectine en présence de glycérol (Rindlav-Westling et al., 1998). Ces phénomènes dépendent aussi du degré de désenchevêtrement des molécules avant réorganisation.

La cristallisation des films à base d'amidon de pomme de terre a été expliquée par des phénomènes de co-cristallisation entre l'amylose et l'amylopectine, amorcée par les chaînes linéaires d'amylose comme cela a déjà été décrit pour des systèmes à base d'amidon (Mestres, Colonna et al. 1988; Leloup, Colonna et al. 1991; Gudmundsson 1994; Hulleman, Kalisvaart et al. 1999; Rindlav-Westling, Stading et al. 2002). Plusieurs modèles de co-cristallisation ont été suggérés comprenant des doubles hélices homogènes formées d'amylose-amylose, ou des doubles hélices hétérogènes composées d'amylose et d'amylopectine, ou alors des mélanges d'hélices homogènes et hétérogènes. Néanmoins, ce mécanisme n'est pas encore bien compris et cette hypothèse reste à confirmer.

La cristallinité rend les films plus rigides en augmentant le module élastique, la contrainte à la rupture et en diminuant l'allongement à la rupture. Les cristaux agissent comme des nœuds de réticulation physiques qui génèrent des concentrations de contraintes et donc fragilisent le matériau. Cet effet a été montré sur des films d'amidon de pomme de terre thermoplastiques obtenus par thermomoulage ou par extrusion (van Soest, Hulleman et al. 1996; van Soest and Vliгентhart 1997; Hulleman, Kalisvaart et al. 1999). Certains auteurs attribuent ces phénomènes à des effets de rigidification engendrés par des réticulations micro-cristallines (Slade et Levine, 1995). L'augmentation des modules avec la cristallinité proviendrait d'une diminution de la mobilité moléculaire dans la phase cristalline, ce qui augmente la  $T_g$  de la

phase amorphe. Dans les polymères synthétiques semi-cristallins, l'augmentation du module avec la cristallinité proviendrait d'une diminution de la mobilité moléculaire au voisinage de la phase cristalline, augmentant la Tg de la phase amorphe.

Les films à base d'amidon souffrent de nombreux inconvénients qui réduisent considérablement leur champ d'application. La difficulté de mise en oeuvre nécessitant des températures élevées, une mauvaise tenue à l'eau, un vieillissement important sont à l'heure actuelle les caractéristiques les plus contraignantes. Pour limiter ces inconvénients, de nombreuses solutions ont été proposées : l'incorporation de nanocharges minérales (Wilhelm et al., 2003), ou l'ajout de polymères synthétiques (Arvanitoyannis, Biliaderis et al. 1998; Jobling 2004; Pandey and Singh 2005; Huang, Yu et al. 2006; Yu, Dean et al. 2006). Nous nous contenterons de décrire dans les paragraphes suivants l'utilisation de l'amidon sous forme modifiée et en présence d'autres polysaccharides.

### **I.4.3 Films à base d'amidons modifiés**

La modification chimique de l'amidon a été étudiée depuis de nombreuses années afin d'améliorer les propriétés mécaniques, de réduire l'hydrophilie et ainsi contrôler la biodégradabilité. L'acétate d'amidon, obtenu par une réaction d'estérification, connaît plusieurs applications industrielles (Parandoosh et Hudson, 1993). Une diminution de la température de fusion et une augmentation de la solubilité dans les solvants polaires et apolaires ont été démontrées pour des taux d'acétylation supérieurs à 40%. Cependant, malgré un intérêt certain pour ces amidons estérifiés qui ont un caractère hydrophile plus faible, le coût de la réaction freine l'élargissement de son domaine d'application. De plus cette modification chimique diminue les propriétés mécaniques des films.

L'utilisation d'éthers d'amidons comme les amidons hydroxypropylés a également été envisagée pour la fabrication de films (Roth et Mehlretter, 1967). Ces amidons modifiés ont l'avantage de pouvoir être solubilisés à des températures relativement basses (<100°C) et présentent des propriétés mécaniques comparables à l'amidon. Des propriétés avantageuses telles que la transparence et la flexibilité ont été démontrées pour un usage en tant que matériaux d'emballage (Vorweg et al., 2004; Lefevre et al., 2005). Cependant il existe très

peu d'informations sur la structure et les propriétés physiques des films d'amidons hydroxypropylés.

#### **I.4.4 Films à base de mélanges de polysaccharides**

L'utilisation de mélanges de polysaccharides a fait l'objet de nombreux travaux afin d'élaborer des biomatériaux potentiellement utilisables en tant que polymères artificiels, films comestibles ou biodégradables. Des mélanges d'amidon soluble et d'acétate de cellulose ont été étudiés car ils offrent une large gamme de propriétés qui peuvent être mises à profit dans des applications biomédicales, notamment pour constituer une matière osseuse synthétique biorésorbable, ou un support à la régénération du tissu vivant (Pereira et al., 1998). Des films à base de mélanges de méthyl cellulose et d'amidon soluble, plastifiés avec du glycérol ou des sucres, ont été préparés par casting, extrusion et thermomoulage pour former des films comestibles (Arvanitoyannis et Biliaderis, 1999). Ces auteurs ont montré que le glycérol abaissait fortement la Tg des mélanges. Cependant le sorbitol semblait être le plastifiant le plus efficace au niveau des propriétés mécaniques (une élongation à la rupture plus élevée). La présence de cellulose permet d'augmenter la résistance à la traction et diminue la perméabilité à l'eau. Cependant, l'augmentation de la cristallinité au cours du temps a eu comme conséquence de diminuer la perméabilité à l'eau. Une méthode pour contrôler la sensibilité à l'eau des mélanges d'amidon/ acétate cellulose a été développée (Demirgoz et al., 2000). Ces mélanges étaient chimiquement modifiés par une réaction de réticulation des chaînes fondée sur la réaction entre les groupes hydroxyle de l'amidon et les groupements phosphate de l'acétate de cellulose. Le degré d'hydratation, l'angle de contact, et les propriétés mécaniques ont été comparées aux constituants seuls. Les résultats obtenus ont montré que la sensibilité à l'eau des mélanges était réduite de plus de 15% et que dans un même temps les propriétés mécaniques des films étaient améliorées. Les propriétés thermomécaniques de films obtenus par casting à base d'amidon et de chitosane ont été déterminées par des analyses thermo-mécaniques dynamiques (ATMD) et des essais de traction (Lazaridou et Biliaderis, 2002). L'incorporation d'un plastifiant (sorbitol à 10% et 30%) a permis d'améliorer la flexibilité des films. Des mélanges amidon/chitosane ont été irradiés avec un faisceau d'électrons et thermomoulés pour former des films avec des propriétés anti-bactériennes (Zhai et al., 2004). La contrainte et l'élongation à la rupture ont

été sensiblement améliorées après l'incorporation de 20% de chitosane. L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) et par microscopie électronique à balayage (MEB) a montré une micro-séparation de phase entre les constituants. L'activité antibactérienne a été mise en évidence pour des teneurs en chitosane de seulement 5%. Les mélanges amidon-pectines ont été étudiés (Fishman et al., 1996). Cependant, l'ajout de pectine diminue les propriétés mécaniques des films d'amidon. De nombreuses études ont montré que l'introduction de charges sous forme de fibres (Averous et al., 2001), de microfibrilles (Dufresne et Vignon, 1998) et de whiskers de cellulose (Angles et Dufresne, 2001) ou de nanocristaux d'amidon de maïs waxy (Angellier et al., 2006) permet de renforcer les propriétés mécaniques et la sensibilité à l'eau des films d'amidon. Généralement, les interactions entre les charges et entre les charges avec la matrice sont dues à l'existence de liaisons hydrogène.

## *CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES*







## II.1 MATÉRIELS

### II.1.1 Gélatine

L'échantillon de gélatine d'origine bovine (Brésil, lot LFN0281 04, Bloom 273<sup>\*</sup>) a été fourni par la société ROXLOR (La Ciotat, France). Sa teneur en eau est de 10,6% en base humide (b.h.).

### II.1.2 $\kappa$ -carraghénane

L'échantillon de  $\kappa$ -carraghénane utilisé (XPU-HD300 ; lot L385/03) a été fourni par la société CARGILL Texturizing Solutions basée à Baupré (France). Ses caractéristiques moléculaires et ioniques ont été déterminées par le fournisseur. Il s'agit d'un échantillon commercial qui est majoritairement sous forme potassium ( $K^+$ ). Il contient 191.8 meq/100g de  $K^+$  (7.5%), 87 meq/100g de  $Na^+$  (2%), 0.6% de chlorures, 10 meq/100g de  $Ca^{2+}$  (0.4%) et 1.23 meq/100g de  $Mg^{2+}$  (0.03%). Sa masse molaire moyenne en poids  $\overline{M}_w$  est de 780000 g/mol. Sa teneur en eau est de 10% (b.h.).

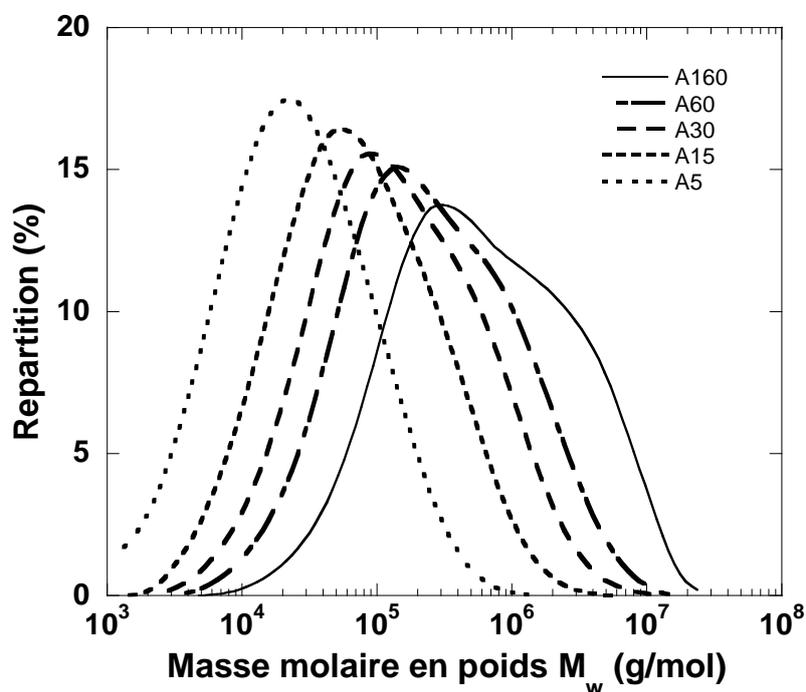
### II.1.3 Amidons de pois hydroxypropylés

Cinq échantillons d'amidon de pois hydroxypropylés de différentes masses molaires moyennes  $\overline{M}_w$  ont été fournis par la société Roquette (Lestrem, France). Ces échantillons, issus du même amidon de départ, ont été obtenus par hydrolyse acide. La teneur en amylose est de 34% et le taux de substitution est de  $0,20 \pm 0,01$  (soit en moyenne 1 groupement hydroxypropyle pour 5 unités glucose). Les courbes de répartition de masse molaire

---

\* *\*Le Bloom est une unité utilisée industriellement pour mesurer la rigidité des gels de gélatine en compression dans des conditions standardisées (gels obtenus après 24 heures à 10°C; C=6.67%).*

déterminées par HPSEC-MALLS pour les différents échantillons sont représentées dans la Figure II.1-1. Les valeurs de  $\bar{M}_w$  sont indiquées dans le Tableau II.1-1.



**Figure II.1-1.** Profil de répartition des masses molaires en poids des amidons de pois hydroxypropylés et hydrolysés (données Roquette).

Tableau II.1-1. Masse molaires moyenne en poids des différents échantillons

Désignation des échantillons	Masse molaire moyenne en poids	Viscosité intrinsèque dans l'eau à 25°C [ $\eta$ ] ml/g
	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$ (g/mol)	
A160	160	37,8
A60	59	25,1
A30	33	20,5
A15	15	16,0
A5	5	11,9

## II.2 MÉTHODES

### II.2.1 Préparation des solutions

#### II.1.1 Solutions à base de gélatine

La gélatine se présente sous la forme de grains de 2 à 3 mm de diamètre. Les grains ont été préalablement mis à gonfler dans de l'eau déionisée (18M $\Omega$ cm) pendant 10 minutes à température ambiante, puis placés dans un bain thermostaté à 60°C sous agitation moyenne pendant 45 minutes sous vide afin d'éliminer les bulles d'air. La concentration est ensuite réajustée par ajout d'eau et la solution est stabilisée 30 minutes à 50°C. Les concentrations finales exprimées en base sèche (b.s.) varient de 20 à 30%. Le pH mesuré est de 5,5.

#### II.1.1 Solutions à base d'amidon et de $\kappa$ -carraghénane

Les empois d'amidon sont préparés à des concentrations variant de 25% à 30% (b.s.) par dispersion de la poudre dans l'eau déionisée (18M $\Omega$ cm) sous forte agitation à température ambiante. La dispersion est ensuite placée dans un bain thermostaté à 90°C pendant 30 min. L'élimination de bulles résiduelles s'effectue en conservant l'empois à 70°C pendant 15 min sous faible agitation. La suspension est ensuite conservée à 55°C sous faible agitation pendant 30 minutes.

Les solutions de  $\kappa$ -carraghénanes sont préparées par dispersion lente de la poudre dans l'eau déionisée sous forte agitation à température ambiante. La solution est ensuite placée à 80°C pendant 45 min. La solubilisation est complète et l'élimination de bulles résiduelles est réalisée en conservant la solution à 70°C pendant 15 min sous faible agitation. La solution est ensuite maintenue à une température de 55°C durant 30 minutes.

Pour la préparation des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane, les constituants sont mélangés à l'état sec puis dispersés dans de l'eau déionisée à température ambiante sous forte agitation. La dispersion est ensuite placée à 90 °C pendant 45 minutes pour assurer une solubilisation complète des constituants. La solution homogène est ensuite placée à 70°C pendant 2 heures pour éliminer les bulles d'air résiduelles, puis conservée à 55°C pendant 30 minutes.

Les concentrations en amidon (A) que nous avons étudiées varient entre 25 et 30%. Les concentrations en  $\kappa$ -carraghénane varient de 1% à 0,1% avec des concentrations en KCl

correspondantes variant de 0 à 11,70 mM. En utilisant du  $\kappa$ -carraghénane, il est possible de contrôler la température de transition hélice-pelote et pelote-hélice en ajustant la teneur totale en ion  $K^+$ . En se basant sur le diagramme de Rochas (1982), nous avons choisi d'obtenir une température de gélification d'environ 25°C pour le  $\kappa$ -carraghénane seul. Quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane dans la gamme étudiée (1% à 0.1%), la teneur totale en ion  $K^+$  ( $C_T$ ) est maintenue constante par le rapport entre la teneur en KCl ajouté et la concentration en polymère grâce à la relation suivante :

$$C_T = C_s + \bar{\gamma} C_p \quad \text{avec } \bar{\gamma} \text{ est } 0,55. \quad \text{Équation II.2-1}$$

La teneur en  $K^+$  du  $\kappa$ -carraghénane est  $2,36 \times 10^{-3}$  eq/g ( $M_0 = 424$  g/mol).

Soit pour une concentration en  $\kappa$ -carraghénane de 1% sans sel ajouté, la concentration ionique totale sera  $C_T = (2,36 \times 10^{-3} \text{ eq/g}) \times (10 \text{ g/l}) \times 0,55 = 1,3 \times 10^{-2}$  eq/l.

Les différentes compositions étudiées sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau II.2-1 : Compositions des constituants seuls et dans le mélange.

Désignation	Concentration en amidon (%)	Concentration en $\kappa$ -carraghénane $C_p$ (%)	Concentration en $\kappa$ -carraghénane $C_p \times 10^3$ (eq/l)	Concentration en KCl $C_s \times 10^3$ (eq/l)
<u>Amidon seul</u>				
A	25-30	0	0	0
<u><math>\kappa</math>-Carraghénane seul</u>				
$\kappa$ C 1	0	1	23,58	0
$\kappa$ C 0,75	0	0,75	17,69	3,24
$\kappa$ C 0,5	0	0,5	11,79	6,49
$\kappa$ C 0,25	0	0,25	5,90	9,73
$\kappa$ C 0,1	0	0,1	2,36	11,70
<u>Mélanges</u>				
A- $\kappa$ C 1	25-30	1	23,58	0
A- $\kappa$ C 0,75	25-30	0,75	17,69	3,24
A- $\kappa$ C 0,5	25-30	0,5	11,79	6,49
A- $\kappa$ C 0,25	25-30	0,25	5,90	9,73
A- $\kappa$ C 0,1	25-30	0,1	2,36	11,70

$C_T$  constante =  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l.

## II.2.2 Préparation de films

### 11.1.2 Films minces : casting

Après une stabilisation à 55°C pendant 30 minutes, les solutions sont déposées sur des supports puis séchées à l'intérieur d'une enceinte climatique ERATIS ICH 600 afin de contrôler les conditions de séchage. La température est fixée à 25°C et l'Humidité Relative d'équilibre (HR) est fixée à 40%, ce qui correspond aux conditions utilisées industriellement pour la fabrication des gélules.

Les films d'amidons sont réalisés sur des supports en PVC expansé (Nodex®) qui grâce à l'aspérité de leur surface assurent un bon démoulage. L'épaisseur de la solution est ajustée avec une barre d'étalement filetée permettant d'obtenir des films d'environ 90  $\mu\text{m} \pm 10\mu\text{m}$ .

Les films de gélatine et les mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénanes sont réalisés sur des plaques de verre recouvertes en leur centre d'une feuille en téflon® autocollante. Ce dispositif permet de fixer le film sur la périphérie en verre et de démouler aisément la partie de film en contact avec le téflon®. L'épaisseur est ajustée à l'aide d'une barre d'étalement dont nous avons préalablement réglé l'entrefer permettant d'obtenir des films d'environ 100  $\mu\text{m} \pm 10\mu\text{m}$ .

Les films de  $\kappa$ -carraghénane ont été réalisés dans des boîtes de pétri rectangulaires en polystyrène (120×120mm). Les faibles concentrations en  $\kappa$ -carraghénane utilisées ( $\leq 1\%$ ) nécessitent une épaisseur de solution initiale importante pour obtenir un film d'environ 100  $\mu\text{m}$ . L'épaisseur finale du film dépend de la quantité de solution déposée.

Les films obtenus sont stockés dans une boîte de conditionnement (Sanplatec dry keeper), dans laquelle nous avons placé une solution saline saturée de bromure de sodium (NaBr). Cela permet d'obtenir une humidité relative HR de 58% à 25°C. L'épaisseur des films est mesurée à l'aide d'un micromètre Mitutoyo ( $\pm 0.001\text{mm}$ ) sur cinq endroits du film. Celle-ci doit être équivalente à l'épaisseur des gélules qui est d'environ 100 $\mu\text{m}$ .

### 11.1.1 Films épais thermomoulés

Cette méthode permet de mouler des films à partir d'échantillons sous forme de poudre sous l'action de la pression et de la température. Les échantillons proviennent des films obtenus par casting qui ont été cryobroyés, puis hydratés en ajoutant de l'eau au goutte à goutte jusqu'à une teneur en eau de 25% (b.h.) pour maintenir le matériau dans un état caoutchoutique. Les poudres sont conservées pendant 24 heures pour obtenir une hydratation homogène. Environ 15 g de poudre sont ensuite disposées uniformément dans un cadre en acier de 0,5 mm d'épaisseur placé entre deux feuilles de téflon®. Ce dispositif est placé pendant 20 min dans une presse hydraulique entre deux plateaux fixes et mobiles chauffés à 120°C et fermés avec une pression de 20 MPa. Un refroidissement est ensuite appliqué à 5°C/min par circulation d'eau dans les plateaux. Ceux-ci sont ouverts uniquement lorsque la température est inférieure à 60°C afin d'éviter toute évaporation au cours du refroidissement. Les films formés d'une épaisseur de 500  $\mu\text{m} \pm 20 \mu\text{m}$  sont ensuite découpés en éprouvettes rectangulaires de 10 mm de large à l'aide d'un emporte pièce puis stockés à 25°C et 58% d'H.R. L'épaisseur des films est également mesurée à l'aide d'un micromètre Mitutoyo ( $\pm 0.001\text{mm}$ ) sur cinq endroits du film.

### II.2.3 Méthodes de caractérisation

#### II.1.2 Propriétés rhéologiques

##### II.1.2.1 Viscosité en solution diluée

La viscosité intrinsèque  $[\eta]$ , caractéristique du couple polymère-solvant à une température donnée, n'est pas une valeur de viscosité en soi mais correspond au volume hydrodynamique occupé par une molécule de polymère seule. Elle dépend principalement de la longueur de la chaîne de polymère, de sa rigidité, de la qualité du solvant. Expérimentalement,  $[\eta]$  est déterminée par la double extrapolation à dilution infinie des équations de Huggins et Kraemer.

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + \lambda_1 \cdot [\eta]^2 \cdot c \quad \text{Équation II.2-2 (Huggins)}$$

avec  $\eta_{sp}$  : viscosité spécifique :  $\frac{(\eta - \eta_s)}{\eta_s}$

$$\frac{\ln \eta_{rel}}{c} = [\eta] - \lambda_2 \cdot [\eta]^2 \cdot c \quad \text{Équation II.2-3 (Kraemer)}$$

avec:  $\eta_{rel}$  : viscosité relative :  $\frac{\eta}{\eta_s}$

c: concentration (g/ml)

$[\eta]$  : viscosité intrinsèque (ml/g)

$\lambda_1$  et  $\lambda_2$  les paramètres de Huggins et de Kraemer.

Les mesures ont été réalisées sur un viscosimètre LS 40 (Contraves, Zürich) équipé d'un système de mesure coaxial de type Couette ( $R_1 = 6$  mm ;  $R_2 = 6,5$  mm ;  $h = 18$  mm). Une solution mère a été préparée à une concentration de  $1 \times 10^{-2}$  g/ml. L'échantillon a été solubilisé dans l'eau par un chauffage à  $90^\circ\text{C}$  pendant 30 min. Cette solution a ensuite été passée à travers des filtres d'acétate de cellulose de 3  $\mu\text{m}$  puis 0.8  $\mu\text{m}$  pour éliminer d'éventuels fantômes de grains d'amidon, puis diluée à quatre concentrations. Les mesures ont été effectuées à  $25^\circ\text{C}$  sur une gamme de cinq concentrations variant de  $1 \times 10^{-2}$  g/ml à  $2 \times 10^{-3}$  g/ml. La viscosité est déterminée en effectuant un balayage en vitesse de cisaillement de 0 à  $10^2$   $\text{s}^{-1}$ .

### II.1.2.2 Comportement rhéologique en solution concentrée

Les mesures rhéologiques ont été réalisées sur deux rhéomètres : un rhéomètre AR2000 (TA Instruments) à contrainte imposée équipé d'une géométrie cône plan en inox (diamètre: 40mm; angle:  $4^\circ$ ; troncature : 98  $\mu\text{m}$ ), et un rhéomètre ARES-LS à déformation imposée équipé d'une géométrie cône plan en téflon® (diamètre: 40mm; angle:  $2^\circ$ ; troncature : 55.6  $\mu\text{m}$ ). Pour les deux instruments, la régulation thermique est assurée par le plateau inférieur équipé d'un thermostat à effet Peltier. Au cours des mesures, les échantillons sont recouverts d'huile paraffine pour éviter toute évaporation. La dilatation de l'entrefer qui se produit au cours des traitements thermiques appliqués a été prise en compte et automatiquement compensée avec un gradient calibré en fonction du traitement thermique appliqué, égal dans notre cas à 0,5  $\mu\text{m}/^\circ\text{C}$  pour l'acier et 0,117  $\mu\text{m}/^\circ\text{C}$  pour le téflon®.

Nous avons établi une procédure de caractérisation pour déterminer le comportement rhéologique de nos échantillons dans des conditions proches du procédé industriel afin de

contrôler les différentes étapes de l'élaboration des gélules dures. Cela consiste dans un premier temps à mesurer les propriétés des échantillons à une température de 50°C (température à laquelle sont stockées les solutions mères de gélatine). Puis, dans un deuxième temps, à mesurer le comportement des gels au cours du refroidissement et du chauffage pour pouvoir déterminer les paramètres essentiels dans cette étude, à savoir, les cinétiques de formation du gel, les températures de gélification, de fusion, les forces des gels.

Le protocole qui a été défini et appliqué de manière systématique pour les différents échantillons au cours de cette thèse est le suivant :

#### Propriétés d'écoulement

- Les échantillons sont placés sur le plateau du rhéomètre « à chaud » à 60°C.
- Des courbes d'écoulement sont effectuées à 50°C en mode linéaire ( aller de 0 à 100 s<sup>-1</sup> et retour de 100 à 0 s<sup>-1</sup>) puis en mode logarithmique (de 100 à 0,01 s<sup>-1</sup> avec stabilisation de 1min entre chaque point).

#### Propriétés viscoélastiques

- Les échantillons sont placés sur le plateau du rhéomètre « à chaud » à 60°C.
- Un spectre mécanique est réalisé à 50°C dans le domaine linéaire de 100 à 0,1 rad/s à des déformations de 0,1%.
- Une rampe de refroidissement de 50°C à 20°C à une cinétique de 1°C/min est réalisée (amplitude de déformation de 0,1%, fréquence de mesure 1rad/s).
- Puis un spectre mécanique est réalisé à 20°C dans le domaine linéaire de 100 à 0,1 rad/s à des déformations de 0,1%.
- Une rampe de chauffage de 20°C à 50°C à une cinétique de 1°C/min est ensuite réalisée (amplitude de déformation de 0,1%, fréquence de mesure 1rad/s).
- Enfin, après un conservation à 60°C pendant 1h, la variation des modules G' et G'' au cours du temps à 20°C après un refroidissement rapide depuis 60°C (30°C/min) a été enregistrée.

### II.1.3 Teneur en eau et cinétiques de séchage

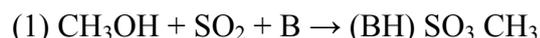
#### II.1.3.1 Détermination de la teneur en eau

##### II.1.3.1.1 Analyse thermogravimétrique

La thermogravimétrie est basée sur la mesure de la masse d'un échantillon au cours d'une rampe de température. Nous utilisons cette technique pour déterminer rapidement et précisément la teneur en eau des échantillons sous forme de poudre ou de film, en appliquant une rampe de température de 25°C à 130°C à 3°C/min, puis un maintien à 130°C pendant 90 min. Les échantillons sont disposés dans une nacelle sensible à  $\pm 10^{-3}$  mg. La perte de masse est obtenue après s'être assuré que la masse résiduelle de l'échantillon atteigne un équilibre.

##### II.1.3.1.2 Karl-Fischer

La détermination de la teneur en eau par la méthode de Karl Fisher consiste à faire réagir stœchiométriquement l'eau, en présence d'anhydride sulfurique, de méthanol, une base et de l'iode. Elle a été déterminée sur un appareil Mettler Toledo DL18. Cette réaction d'oxydoréduction est la suivante :



B est une base : l'imidazole. Le titrage est suivi à l'aide d'une électrode de platine à deux pointes dont les pôles sont raccordés à une source de courant. Lorsque les dernières traces d'eau sont détectées, le tension tombe à zéro : les électrodes sont dépolarisées par l'iode présente.

Les échantillons, placés dans un creuset métallique, sont introduits dans le tube porte creuset qui va être placé dans un four à 150°C. L'eau contenue dans l'échantillon s'évapore et est entraînée par un gaz de balayage (azote sec) du tube porte creuset vers la cellule de titrage Karl Fisher.

### II.1.3.2 Isothermes de sorption

Les isothermes de sorption représentent les variations de la teneur en eau (g/g d'amidon ; base sèche, b.s.) en fonction de l'humidité relative (HR). La réalisation des isothermes de sorption est basée sur le mode opératoire proposé dans le cadre de la normalisation BCR RM302, report : EU12429 afférente à l'action COST 90 « The certification of water content of microcrystalline cellulose (MCC) at 10 water activities ». La détermination des isothermes de sorption résulte de trois manipulations successives :

- le pré-conditionnement : pré-séchage
- le conditionnement sous humidité relative contrôlée
- la détermination de la teneur en eau

Le pré-séchage est réalisé en déshydratant les échantillons par chauffage à 50°C en présence d'anhydride phosphorique P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, sous pression réduite. Cette opération sert de base de calcul pour la détermination des teneurs en eau. Les échantillons sont ensuite conditionnés sous vide à 25°C à des humidité relatives contrôlées grâce à la présence de solutions salines saturées (Tableau II.2-2). L'équilibre d'hydratation est obtenu lorsque la masse de l'échantillon est stable.

Les données expérimentales sont lissées grace au modèle de Guggenheim - Anderson - de Boer (van den Berg, 1984).

$$\frac{W}{W_m} = \frac{C.k.A_w}{[(1-k.A_w).(1-k.A_w+C.k.A_w)]} \quad \text{Équation II.2-4}$$

où A<sub>w</sub> est l'activité de l'eau correspondant à l'équilibre à l'Humidité Relative (%) à température constante.

W est la quantité totale d'eau absorbée sur base sèche.

W<sub>m</sub> est la quantité d'eau absorbée sous la forme de monocouche équivalente à la saturation des sites d'absorption primaires (considérés tous identiques).

K caractérise la différence d'énergie d'action entre l'eau pure et l'eau absorbée en multicouche.

C est la constante de Guggenheim qui caractérise l'excès d'énergie avec laquelle la première couche d'eau interagit avec la surface d'absorption primaire.

Tableau II.2-2: Activité de l'eau A<sub>w</sub> en fonction du conditionnement des échantillons.

Solutions salines saturées	Activité de l'eau $A_w$
NaOH	0.07
LiCl	0.11
CH <sub>3</sub> COOK	0.22
MgCl <sub>2</sub>	0.33
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.43
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.53
NaBr	0.58
SrCl <sub>2</sub>	0.71
NaCl	0.75
KCl	0.84
BaCl <sub>2</sub>	0.90

### 11.1.3.3 Cinétiques de séchage

Les mesures de la masse pour l'établissement des cinétiques de séchage ont été réalisées à l'aide d'une balance interfacée (Mettler Toledo AG285) placée à l'intérieur de l'enceinte climatique au cours du séchage. Les films sont pesés tout au long du séchage afin de mesurer les variations de la masse au cours du temps et détecter l'atteinte de l'équilibre.

### 11.1.4 Cristallinité et changement d'état

#### 11.1.4.1 Diffraction des rayons X aux grands angles

Les échantillons conditionnés, sous forme de poudre ou de films, sont placés entre deux feuilles de ruban adhésif afin d'éviter toute évolution de la teneur en eau au cours de la mesure. Les diagrammes de diffraction ont été enregistrés sur deux diffractomètres :

- Un diffractomètre Inel XRG3000 (Artenay, France), dont le tube à rayons X contient une cathode en cuivre. Les rayons X générés avec un courant de tension 40 kV et d'intensité de 30 mA ont une longueur d'onde  $\lambda_{\text{Cu K}\alpha 1} = 1.5405 \text{ \AA}$  obtenue grâce à un monochromateur en quartz. Les rayons diffractés sont enregistrés sur un détecteur courbe de 120° (CPS120, Inel) pendant 2 heures.
- Un diffractomètre BRUKER™ D8 Discover opérant à 40 kV et 40 mA, dont la longueur d'onde identique au cas précédent est obtenue par des doubles miroirs de

Goebel. Les rayons diffractés sont enregistrés sur un détecteur bidimensionnel à fils. Le temps d'acquisition est de 5 à 10 min.

Les spectres obtenus à partir des diffractomètres sont normalisés par rapport à l'aire totale diffusée pour des angles  $2\theta$  compris entre  $3^\circ$  et  $30^\circ$ . Le degré de cristallinité a été déterminé par la méthode de Wakelin et al. (1959). Cette méthode consiste à comparer le diagramme de diffraction de l'échantillon avec une référence amorphe et cristalline (Wakelin et al., 1959). De l'amylose de type-B recristallisé a été utilisée comme référence cristalline. La référence amorphe est un échantillon de nos films dans un état amorphe. Le degré de cristallinité correspond à la pente de la droite de régression de l'équation suivante:

$$(I_{ech} - I_{am})_{2\theta} = f(I_{cris} - I_{am})_{2\theta} \quad \text{Équation II.2-5}$$

Cette méthode permet de déterminer des taux de cristallinité avec une précision de  $\pm 3\%$ .

La taille latérale des cristaux a été déterminée à partir de la relation de Scherrer:

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad \text{Équation II.2-6}$$

$D_{hkl}$  est la taille latérale des cristaux,  $K$  est une constante qui dépend de la façon de définir la taille des domaines diffractants. Elle est d'environ 0,9 pour l'amidon et la cellulose (Klug et Alexander, 1954).  $\lambda$  est la longueur d'onde du rayonnement X (nm).  $\beta$  est la largeur à mi-hauteur des pics de diffraction apparaissant à  $2\theta \sim 5.6^\circ$ .

#### II.1.4.2 Cinétiques de cristallisation

L'évolution de la structure au cours de la formation des films par casting a été enregistrée sur le diffractomètre BRUKER<sup>TM</sup> D8 Discover permettant d'obtenir des temps d'acquisition de quelques minutes.

Environ 55 mg de solution sont déposés dans une capsule en aluminium percée pour le passage du rayon X (épaisseur finale du film obtenu d'environ 200  $\mu\text{m}$ ). La capsule est placée dans l'enceinte du diffractomètre dans laquelle la température et l'HR sont contrôlées et sont d'environ  $25^\circ\text{C}$  et 40% HR. Les temps d'acquisition sont de 10min. Une capsule identique est

préparée et va être pesée dans l'enceinte du diffractomètre pour obtenir simultanément la cinétique de séchage de l'échantillon.

### II.1.4.3 Analyse enthalpique différentielle (AED)

#### II.1.4.3.1 Calorimétrie

La détermination des températures de transition vitreuse  $T_g$  et de fusion  $T_F$  ont été réalisées sur un calorimètre DSC 121 (SETARAM) et DSC Q100 (TA Instruments). Les films sont d'abord cryobroyés puis stockés dans des conditions contrôlées pendant 1 semaine.

Pour les mesures réalisées sur la DSC 121, des capsules en inox contenant environ 100 mg d'échantillon ont été utilisées. Pour les mesures réalisées sur la Q100, nous avons utilisé des capsules en aluminium et des capsules en inox contenant chacune environ 25mg d'échantillon. La capsule de référence contient de l'alumine dont la quantité est ajustée pour obtenir des valeurs de capacité calorifique  $C_p$  des deux capsules les plus proches possibles. Deux rampes de chauffage sont réalisées successivement entre  $-30$  et  $150^\circ\text{C}$  à  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ . À la fin du premier passage, une trempe est effectuée à  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  pour maintenir l'échantillon dans un état amorphe. La température de transition vitreuse  $T_g$  correspond à la demi-variation de la capacité calorifique durant la transition.

#### II.1.4.3.2 Microcalorimétrie

La microcalorimétrie a été utilisée pour mettre en évidence les transitions structurales de faible énergie qui se produisent lors des transitions pelote-hélice ou hélice-pelote dans les systèmes à base de carraghénane. Les mesures ont été réalisées sur le microcalorimètre Micro DSC III (SETARAM, France). Environ  $800 \mu\text{L}$  de solution de  $\kappa$ -carraghénane ou de mélange amidon/ $\kappa$ -carraghénane sont déposés à  $60^\circ\text{C}$  dans une capsule en inox. La capsule contenant l'échantillon et la capsule de référence, de même masse, sont fermées par un joint thermorésistant. Elles sont mises en place dans le four de l'appareil réglé à  $20^\circ\text{C}$  pendant 15 minutes. Deux cycles de chauffage et de refroidissement sont réalisés à une vitesse linéaire de  $1^\circ\text{C}/\text{min}$  entre  $20^\circ\text{C}$  et  $70^\circ\text{C}$ . Les mesures de flux de chaleur sont enregistrées avec une sensibilité de l'ordre de  $10^{-4} \text{ J/g}$ . Le premier refroidissement et le deuxième chauffage ont été retenus pour cette étude.

### II.1.5 Propriétés mécaniques

#### II.1.5.1 Traction uniaxiale

Cet essai consiste à appliquer une déformation (étirement) à vitesse constante à un échantillon aux dimensions normalisées, et à mesurer la force résultante jusqu'à la rupture du matériau. A partir des courbes de force en fonction du déplacement on accède à:

- la contrainte  $\sigma$  exprimée en MPa: elle correspond à la force mesurée (N) rapportée à la section de l'éprouvette :

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad \text{Équation II.2-7}$$

avec F : force en newton (N)

S : section de l'éprouvette : épaisseur  $\times$  largeur (mm<sup>2</sup>)

- la déformation  $\varepsilon$  (sans unité) : elle correspond au rapport entre le déplacement et la longueur de référence :

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} = \frac{l - l_0}{l_0} \quad \text{Équation II.2-8}$$

l : déplacement (mm)

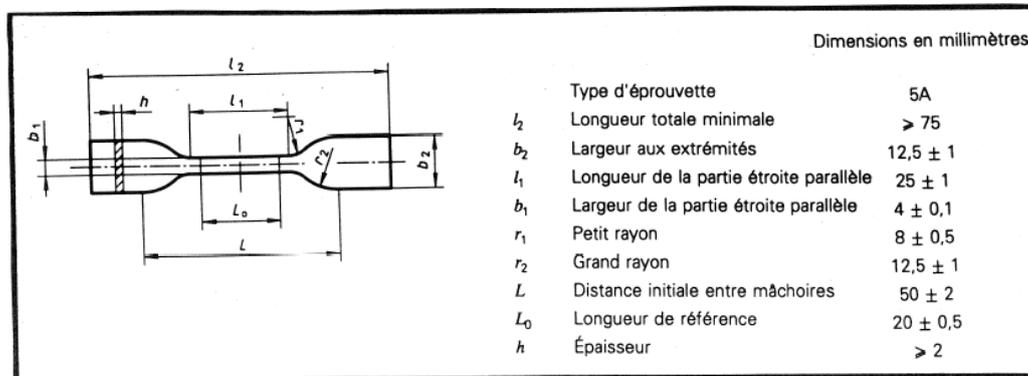
$l_0$  : longueur de référence (mm)

- le module de Young E (MPa) : il correspond à la pente dans la partie linéaire de la courbe contrainte-déformation pour les faibles déformations :

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad \text{Équation II.2-9}$$

Les propriétés mécaniques à la rupture ont été caractérisées. La contrainte à la rupture  $\sigma_R$  et la déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  ont été calculées pour chaque échantillon en considérant que la section des éprouvettes ne varie pas de manière significative au cours de la mesure. L'allure des courbes contrainte-déformation permet également de définir un comportement particulier du matériau tel que le comportement fragile (rupture dans le domaine élastique) et ductile (rupture dans le domaine plastique). Les éprouvettes sont découpées avec un emporte-pièce

aux dimensions normées (ISO 527-3 : 1995/5A/20 ; haltère de 50×4mm) et les échantillons sont maintenus dans leurs atmosphères respectives au moins 1 semaine avant d'être caractérisés.



**Figure II.2-1.** Caractéristiques dimensionnelles des éprouvettes de traction.

Les mesures de traction ont été effectuées sur un dynamomètre (Instron 1122) doté d'une cellule de mesure 0-100N. Le serrage des échantillons est réalisé à l'aide de mâchoires pneumatiques soumises à une pression de 1,5 Bar.

Pour les essais réalisés dans des conditions contrôlées, les mesures de traction ont été effectuées sur une machine de traction Adamel-Lhomargy DY34 munie d'un capteur de force de 10N, couplée au logiciel d'acquisition Autotrac. L'appareil de traction a été placé à l'intérieur de l'enceinte climatique ERATIS ICH 600 pour contrôler les conditions de température et d'Humidité Relative.

Sur les deux appareils, la vitesse de la traverse a été fixée à 1mm/min et les mesures ont été réalisées jusqu'à la fracture de l'échantillon. Afin d'obtenir une bonne reproductibilité des mesures, 8 échantillons sont caractérisés à chaque test.

#### II.1.5.2 Analyse Thermo-Mécanique Dynamique (ATMD)

Les mesures ont été réalisées sur les films thermomoulés ( $l$  : 10 mm ;  $e$  : 700 $\mu$ m) à l'aide de l'appareil ATMD MK IV (Rheometrics Scientific). Les échantillons sont soumis à une sollicitation de type dual cantilever à une fréquence de 1Hz et une déformation de 0,1%. La

cinétique de chauffage, appliquée de 25°C à 130°C, est de 3°C/min. Les films sont préalablement enduits de graisse téflon (hydrophobe) pour limiter le séchage du film lors de l'essai.

### II.1.6 Morphologie

#### *II.1.6.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)*

Les images de microscopie à force atomique (AFM) ont été acquises sur un microscope Autoprobe CP Park Scientific Instrument (Sunnyvale, CA). Pour chaque échantillon, des images en topographie et contraste de phase sont simultanément enregistrées à l'air en utilisant le mode intermittent (ou tapping). La constante de raideur du bras de levier, ou cantilever, est de 38 N/m et les pointes utilisées sont en silicium dopé au phosphore (Veeco Probes, CA – USA). La fréquence d'excitation de la pointe est, dans chaque cas, fixée autour de 280 kHz et la vitesse de balayage à la surface de l'échantillon est de 1 Hz (ou une ligne par seconde). Les surfaces scannées varient entre 1 x 1  $\mu\text{m}^2$  et 40 x 40  $\mu\text{m}^2$ . Les images expérimentales sont traitées sur le logiciel WSxM 4.0 (Nanotec Electronica).

Chaque échantillon est préparé en fixant sur un support AFM aimanté un morceau de 1  $\text{cm}^2$  découpé sur les films d'amidon (conservés dans une atmosphère à 58% d'humidité). Pour chacun des échantillons, les deux côtés du film sont systématiquement imagés. Des courbes de rugosité sont également déduites à partir des images en mode topographie. Elles représentent la distribution en nombre des hauteurs mesurées en fonction de leur fréquence d'apparition et permettent de calculer la rugosité moyenne et la hauteur maximale des pics.

## *CHAPITRE III: RÉSULTATS*

### III.1 GÉLATINE: COMPORTEMENTS RHÉOLOGIQUES ET PROPRIÉTÉS FILMOGÈNES

Dans cette partie, nous caractériserons les comportements rhéologiques et les propriétés filmogènes de la gélatine dans les conditions proches du procédé d'obtention des gélules. L'objectif est de disposer de références dans le cadre de ce projet de recherche.

#### **III.1.1 Comportements rhéologiques**

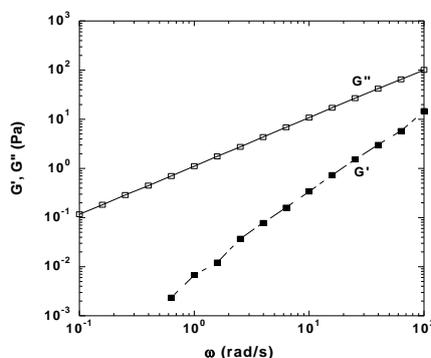
##### III.1.1.1 Solutions de gélatine à 50°C

Les propriétés d'écoulement ont été déterminées à 50°C pour des concentrations en gélatine de 20 à 30% (g/g). Dans cette gamme de concentrations, un comportement Newtonien est observé conformément à la littérature (Stainsby, 1977; Leuenberger, 1991; Wulansari et al., 1998). Les viscosités sont indiquées dans le Tableau III.1-1.

**Tableau III.1-1.** Variation de la viscosité de la gélatine en fonction de la concentration. Température de mesure 50°C.

Concentration (%)	$\eta$ à 50°C (Pa.s)
20	0,23
21	0,25
23	0,57
25	0,69
27	0,85
30	1,15

Le spectre mécanique de la gélatine à 50°C est représenté dans la Figure III.1-1 pour une concentration de 27%. Le module  $G''$  est supérieur à  $G'$  sur toute la plage de fréquences considérée. De plus, une forte dépendance des modules avec la fréquence est observée :  $G'' \propto \omega^1$  et  $G' \propto \omega^{1.8}$ . Ceci a été observé pour toutes les concentrations en gélatine étudiées et reflète le comportement de type solution macromoléculaire de la gélatine à cette température.



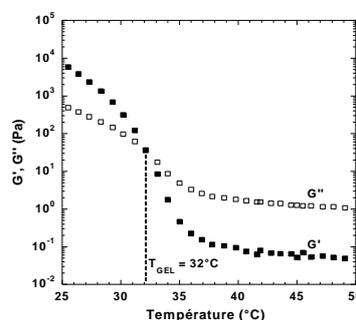
**Figure III.1-1.** Spectre mécanique de la gélatine à 27%.  $G'$  : symboles pleins ;  $G''$  : symboles vides. Température de mesure 50°C; amplitude de déformation 1%.

### III.1.1.2 Gélification

Les variations de  $G'$  et  $G''$  au cours du refroidissement entre 50°C et 25°C, sont représentées dans la Figure III.1-2 à une concentration de 27%. A 50°C,  $G''$  est supérieur à  $G'$  et la valeur des modules est faible,  $G' \approx 5 \times 10^{-2}$  Pa et  $G'' \approx 1$  Pa. Ceci reflète le comportement de type

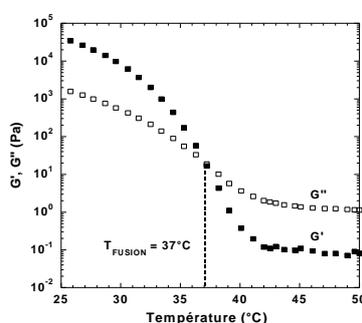
solution de la gélatine à cette température que nous venons de décrire. Jusqu'à 37°C, les modules varient peu, mais augmentent rapidement entre 37 et 25°C. À une température de 32°C, les modules  $G'$  et  $G''$  se croisent. Nous retenons ce point de croisement comme la température de gélification ( $T_{\text{GEL}}$ ) marquant la transition d'un état de solution à un état de gel. Il est largement reconnu qu'en toute rigueur ce sont les variations de  $\tan \delta$  ( $G''/G'$ ) en fonction de la température, pour différentes fréquences de mesure, qui doivent être considérées, le point de gel (ou de fusion) étant défini au croisement des courbes de  $\tan \delta$ . Cette méthode a été proposée initialement pour des gels chimiques (Winter et Chambon, 1986), puis employée pour des gels physiques tels que la gélatine, le  $\iota$ -carraghénane (Michon et al., 1993), le  $\kappa$ -carraghénane (Nunez-Santiago et Tecante, 2007), et différents biopolymères (Doublier et Cuvelier, 2006). Néanmoins, le critère de transition  $G'=G''$  obtenu par des rampes de température à une fréquence fixe se justifie par les variations rapides des modules  $G'$  et  $G''$  au moment de la transition et la similitude des températures de transition comparées avec celles obtenus par la méthode de Winter et Chambon (résultats non montrés).

À partir de cette température de transition, les modules ne cessent d'augmenter et atteignent à 25°C une valeur d'environ  $6 \times 10^3$  Pa pour  $G'$  et  $5 \times 10^2$  Pa pour  $G''$ . Les mécanismes de gélification de la gélatine sont bien connus. À une température suffisamment basse, les chaînes de gélatine subissent une transition conformationnelle pelote-hélice et sont capables de former un réseau thermoréversible par l'association d'hélices au niveau de zones de jonction stabilisées par des liaisons hydrogène (Stainsby, 1977; te Nijenhuis, 1981; Djabourov et Papon, 1983; Ross-Murphy, 1992; te Nijenhuis, 1997). Ces zones de jonction forment une structure constituée de triples hélices similaires à celles du collagène (Veis, 1964; Harrington et Rao, 1970).



**Figure III.1-2.** Modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  en fonction de la température au refroidissement pour un échantillon de gélatine à 27%. Rampe de température de 50°C à 25°C à 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation 1%.

Les variations de  $G'$  et  $G''$  au cours du chauffage du gel entre 25°C et 50°C sont représentées dans la Figure I.1-3. À 25°C, la valeur des modules est nettement supérieure à celle observée à la fin de la rampe de refroidissement. Ceci reflète l'évolution du gel au cours du temps lorsqu'il a été conservé à 25°C pendant environ 30 minutes. À cette température,  $G' \approx 4 \times 10^4$  Pa et  $G'' \approx 2 \times 10^3$  Pa. Au cours du chauffage, les modules diminuent et se croisent à une température de 37°C, définissant ainsi la température de fusion ( $T_{FUS}$ ) qui correspond à la transition de l'état de gel à un état de solution. Les modules diminuent ensuite progressivement jusqu'à 50°C pour atteindre des valeurs similaires à celle obtenues avant la rampe de refroidissement. Ceci met en évidence le caractère thermoréversible des gels de gélatine.



**Figure III.1-3.** Modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  en fonction de la température au chauffage pour un échantillon de gélatine à 27%. Rampe de température de 25°C à 50°C à 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation 1%.

Les températures de gélification et de fusion pour les différentes concentrations en gélatine étudiées, sont données dans le Tableau III.1-2. On note une légère augmentation de  $T_{GEL}$  de 30 à 33°C lorsque la concentration augmente de 20% à 30%. La température de fusion,  $T_{FUSION}$ , est supérieure de quelques degrés (3 à 5°C) par rapport à  $T_{GEL}$  et varie de façon assez comparable.

**Tableau III.1-2.** Températures de gélification,  $T_{GEL}$ , et de fusion,  $T_{FUSION}$ , ( $G'=G''$ ), au cours de rampes de températures entre 50°C et 25°C au refroidissement et 25°C et 50°C au chauffage. Cinétique de température 1°C/min. Fréquence 1 rad/s. Amplitude de déformation 1%.

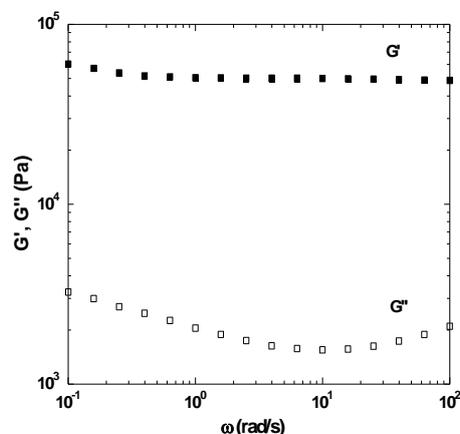
Concentration (%)	$T_{GEL}$ (°C)	$T_{FUSION}$ (°C)
20	30	33
21	30	33
23	31	35
25	32	36
27	32	37

30	33	38
----	----	----

Les diagrammes d'état représentant les variations des températures de gélification et de fusion en fonction de la concentration en gélatine ont été décrits (Michon et al., 1993). L'existence d'une hystérèse entre les températures de transitions a été observée ( $< 1^\circ\text{C}$  à une concentration de 20%), et a été attribuée à l'état hors équilibre dans lequel se trouve le gel lors de la mesure (Michon et al., 1993). De plus, il a également été montré que le phénomène d'hystérèse correspond à des effets coopératifs entre les liaisons hydrogène des triples hélices et la rupture de ces hélices (chauffage) qui nécessite plus d'énergie par rapport à leur création (refroidissement). Une hystérèse importante (plusieurs degrés) est toutefois attribuée à des effets cinétiques.

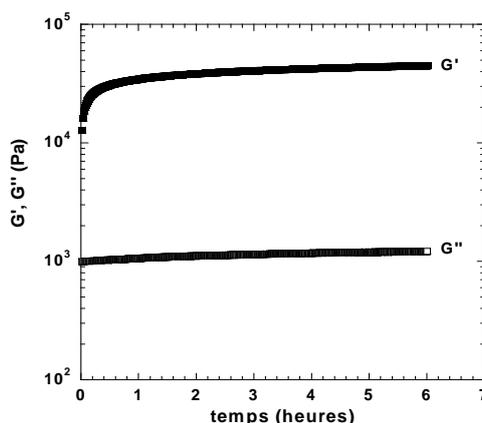
### III.1.1.3 Propriétés viscoélastiques des gels

Le spectre mécanique de la gélatine à  $20^\circ\text{C}$  est représenté dans la Figure III.1-4. Le comportement viscoélastique est dominé par la composante élastique  $G'$ .  $G'$  est largement supérieur à  $G''$  sur toute la plage de fréquence avec  $G' > 10G''$ .  $G'$  est constant sur une large gamme de fréquence ( $G' \approx 5 \times 10^4 \text{ Pa}$ ). La faible dépendance de  $G'$  avec la fréquence et le fait qu'il soit largement supérieur à  $G''$  ( $G' > 10G''$ ) indiquent que le système a un comportement caractéristique d'un gel (Clark et Ross-Murphy, 1987). Ce comportement a également été observé pour toutes les concentrations en gélatine étudiées.



**Figure III.1-4.** Spectre mécanique de la gélatine à 27%.  $G'$  : symboles pleins ;  $G''$  : symboles vides. Température de mesure  $20^\circ\text{C}$ ; amplitude de déformation 1%.

La légère augmentation de  $G'$  vers les faibles fréquences de mesure s'explique par le fait que le gel évolue dans le temps. Les mesures sont réalisées à partir de la fréquence la plus élevée ( $10^2$  rad/s) et le temps nécessaire pour l'obtention de chaque point du spectre varie avec l'inverse de la fréquence. La Figure III.1-5 met en évidence cette évolution du gel de gélatine au cours du temps après un refroidissement rapide ( $30^\circ\text{C}/\text{min}$ ) de  $60^\circ\text{C}$  à  $23^\circ\text{C}$ .



**Figure III.1-5.** Évolution des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction du temps pour un gel de gélatine à 27%. Température de mesure  $23^\circ\text{C}$  ; fréquence 1 rad/s ; amplitude de déformation : 1%.

$G'$  est largement supérieur à  $G''$ , la formation du gel étant presque instantanée à cette température.  $G'$  augmente très rapidement au cours du temps. Il atteint environ  $3 \times 10^4$  Pa.s en 20 min de mesure, puis augmente plus lentement sans toutefois aboutir à une valeur constante. Après 6 h de mesure, il est d'environ  $4 \times 10^4$  Pa.s. Cet aspect cinétique de la gélification de la gélatine a été largement décrit (te Nijenhuis, 1981; Djabourov et Lechaire, 1993; te Nijenhuis, 1997), les gels de gélatine n'atteignant jamais un équilibre thermodynamique.

Il a été montré que  $G'$  augmente au cours du temps en raison de l'accroissement des zones de jonctions dans le réseau et de la rigidification des chaînes qui les connectent. Ces phénomènes sont attribués à un degré d'hélicité plus important (te Nijenhuis, 1997). Il faut également souligner que la stabilité des gels dépend de leur histoire thermique (te Nijenhuis, 1981; Michon et al., 1993). L'augmentation du temps de conservation du gel et/ou une température de stockage plus élevée entraînent une plus grande stabilité des hélices et une augmentation de la température de fusion du gel.

Les variations de  $G'$  (à 6h) en fonction de la concentration sont représentées dans la

Figure III.1-6. Le module  $G'$  varie avec la concentration à la puissance 2,1. Nous avons observé précédemment que  $G'$  n'atteint pas d'équilibre et augmente continuellement au cours du temps. Pour cette raison, les relations entre  $G'$  et la concentration qui ont été établies varient selon les auteurs. Cependant, il est admis, que  $G'$  varie linéairement avec le carré de la concentration sur une large gamme de concentrations (Ferry, 1948; te Nijenhuis, 1997).

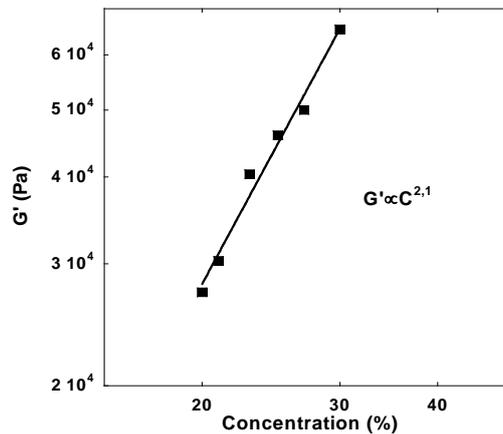


Figure III.1-6. Variations de  $G'$  (à 6h) en fonction de la concentration en gélatine. Données obtenues après 6 h de mesure à 25°C. Fréquence 1rad/s ; déformation 1%.

### III.1.2 Formation des films

La Figure III.1-7 montre les cinétiques de séchage de gels de gélatine à 25%, 27% et 30% à 25°C et 40% d'humidité relative (H.R.).

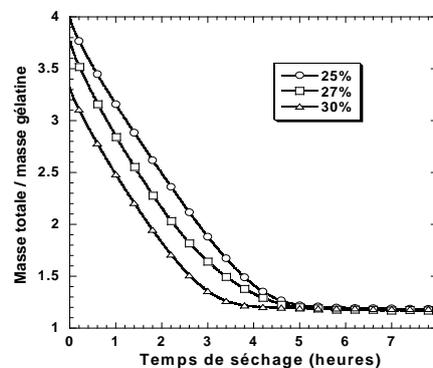


Figure III.1-7. Cinétique de séchage de gels de gélatine à 25°C et 40% H.R.

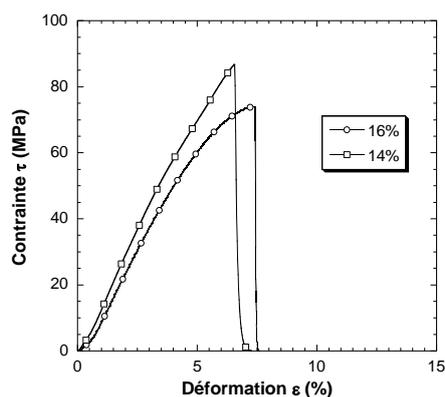
Le rapport masse du gel/masse de la gélatine, correspondant à l'inverse de la concentration en gélatine, est représenté dans cette figure en fonction du temps de séchage sur une durée de 8 heures. Dans un premier temps, ce rapport diminue linéairement avec le temps de séchage, la pente étant similaire quelle que soit la concentration. La vitesse de séchage dans cette partie est donc identique pour les trois concentrations. Ensuite, la vitesse de séchage diminue progressivement pour atteindre un plateau au-delà de 5h. Plus la concentration en gélatine est importante, plus le séchage est rapide. À l'équilibre à 25°C et 40% d'HR, les films de gélatine ont une teneur en eau d'environ 14%. Ce profil de séchage est généralement observé lors du séchage de films de biopolymères (Menagalli et al., 1999; Tapia-Blacido et al., 2005) et de polymères synthétiques (Nguï et Mallapragada, 1998, 1999a; Steward et al., 2000; Gu et Alexandridis, 2005). Ces différents auteurs ont montré que les mécanismes moléculaires se produisant au cours du séchage peuvent être divisés en plusieurs parties. En raison de la teneur en eau initiale importante, l'eau peut s'évaporer facilement reflétant la première partie linéaire de la courbe de séchage. Lorsque la concentration en polymère augmente au cours de l'évaporation, les effets d'enchevêtrements et le changement d'état du polymère (transition vitreuse) entraînent une réduction de la mobilité moléculaire et provoquent ainsi une diminution importante de la vitesse de séchage (Nguï et Mallapragada, 1999a). Avant d'atteindre l'équilibre, la fin du séchage se caractérise par une perte d'eau très lente en raison de l'état vitreux du film.

### III.1.3 Propriétés des films

#### III.1.3.1 Traction uniaxiale

Les propriétés mécaniques des films à base de gélatine ont été déterminées par des mesures de traction à 25°C. La Figure III.1-8 représente une courbe contrainte-déformation de deux films de gélatine stockés à deux humidités relatives (40% et 58%) durant deux semaines. Les teneurs en eau respectives sont de 14% et 16%.

Les films conservés à 40% d'HR, avec une teneur en eau de 14%, ont un module de Young  $E$  de 1,7 GPa, une contrainte à la rupture  $\sigma_R$  de 87 MPa, et une déformation à la rupture d'environ 6,5%. Pour les films conservés à 58% d'HR, avec une teneur en eau de 16%, le module d'Young ( $E$ ) et la contrainte à la rupture  $\sigma_R$  diminuent à 1,3 GPa, et 74MPa, respectivement, alors que la déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  augmente légèrement à environ 7%.

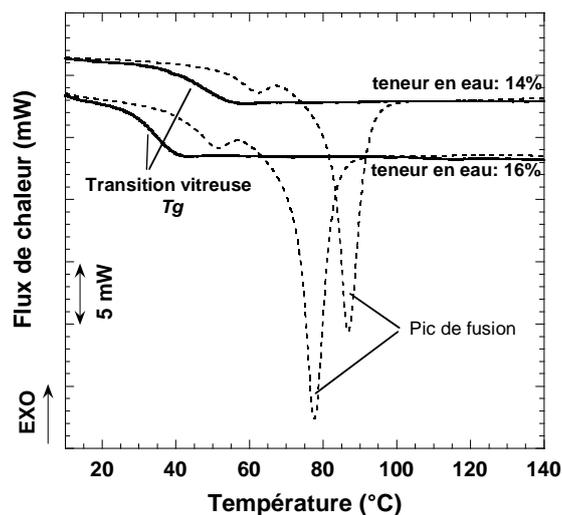


**Figure III.1-8.** Courbe contrainte-déformation d'un film de gélatine mesuré à 25°C. Film stocké à 25°C et 40% d'HR (□): teneur en eau : 14%  $\pm$ 0,2%. Film stocké à 25°C et 58% d'HR (○) : teneur en eau 16%  $\pm$ 0,2%.

Les films stockés à 40% d'HR ont un comportement légèrement plus fragile que les films conservés à 58% d'HR. Ceci met en évidence le rôle déterminant de l'eau lors du démoulage des gélules pharmaceutiques à des teneurs en eau de 15 à 18% plutôt que 13 à 16%. L'augmentation de la teneur en eau permet d'apporter de la flexibilité aux films. La sensibilité à l'eau de la gélatine est un phénomène commun aux biopolymères (Slade et Levine, 1991). L'eau joue un rôle de plastifiant et modifie les propriétés physiques des films de gélatine (Sobral et al., 1999; Sobral et al., 2001).

### III.1.3.2 Transitions de phase des films de gélatine

Les thermogrammes d'AED des films de gélatine stockés à des HR de 40% et 58% sont représentés sur la Figure III.1-9. Au cours du premier scan, un endotherme apparaît à environ 50°C-60°C correspondant à la relaxation d'enthalpie associée au vieillissement physique (Hutchinson, 1995). Un second endotherme est observé à environ 80-90°C. Le maximum du pic de cet endotherme apparaît à environ 78°C pour une teneur en eau de 16% et augmente à 86°C pour une teneur en eau de 14%. Au cours du second scan, seule la température de transition vitreuse  $T_g$  des films (état amorphe) apparaît. Elle se produit à 35°C pour les films à une teneur en eau de 16% et augmente à 47°C pour une teneur en eau de 14%.



**Figure III.1-9.** Thermogrammes d'AED de films de gélatine stockés à des humidités relatives de 40% et 58%. Le premier scan est représenté en ligne pointillée; le second scan est représenté en ligne continue. Cinétique de chauffage 3°C/min.

L'endotherme qui apparaît au cours du premier scan est attribué à la transition hélice-pelote qui est une transition du premier ordre. Lorsque le film de gélatine est chauffé au-delà de cet endotherme de fusion, son comportement est assimilable à celui d'un plastique fondu. La trempe que l'on fait subir à l'échantillon à la fin du premier scan permet de figer le matériau dans un état amorphe, expliquant la disparition de l'endotherme de fusion au cours du second scan (Marshall et Petrie, 1980; Slade et Levine, 1987). Le déplacement de  $T_g$  observé entre le premier et le second scan a été attribué à la présence des zones cristallines lors du premier scan (Slade et Levine, 1987; Sobral et al., 1999), la  $T_g$  des polymères augmentant en général avec la cristallinité (Jin et al., 1984; Slade et Levine, 1989).

De plus, la diminution de la  $T_g$  avec la teneur en eau a été largement décrite pour les biopolymères et notamment la gélatine. L'effet plastifiant de l'eau sur les transitions de phase des films de gélatine se manifeste par une diminution de la  $T_g$  et la  $T_F$  avec l'augmentation de la teneur en eau (Marshall et Petrie, 1980; Slade et Levine, 1987; Sobral et al., 1999; Sobral et Habitante, 2001).

### III.1.4 Conclusion

Les propriétés rhéologiques de la gélatine en solution à 50°C mettent en évidence un comportement newtonien avec des viscosités de l'ordre de 0,2 à 1,2 Pa.s pour des

concentrations de 20% à 30%. Dans cette gamme de concentrations, la température de gélification  $T_{\text{GEL}}$  est de 30 à 33°C. Les gels formés sont thermoréversibles avec des modules de conservation  $G'$  qui varient avec le carré de la concentration. Pour une concentration en gélatine de 27%, la valeur du module  $G'$  à 20°C est d'environ  $10^4$  Pa.

Les cinétiques de séchage permettent de déterminer le temps à partir duquel la teneur en eau dans les films atteint un équilibre dans nos conditions expérimentales. Ce temps est atteint après un séchage d'environ 5h et diminue avec l'augmentation de la concentration. La teneur en eau des films de gélatine à la fin du séchage est d'environ 14% (40% d'HR). Elle augmente à 16% pour les films stockés à 58% d'HR. Les mesures de calorimétrie et de traction montrent le rôle important de la teneur en eau sur les transitions de phase des films en abaissant la  $T_g$ , la  $T_F$ , et en modifiant leurs propriétés mécaniques. A 25°C, les films de gélatine sont dans un état vitreux. En réduisant la teneur en eau de 2%, la contrainte à la rupture  $\sigma_R$  diminue de 95 MPa à 74 MPa, le module de Young  $E$  augmente de 1,3 à 1,7GPa. La déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  est d'environ 7% pour ces teneurs en eau.

### III.2 COMPORTEMENTS RHÉOLOGIQUES DES MÉLANGES AMIDON / K-CARRAGHÉNANE

Les propriétés rhéologiques de mélanges amidon de pois hydroxypropylé/ $\kappa$ -carraghénane ont été déterminées dans des conditions similaires à celles utilisées précédemment pour la gélatine pour la fabrication des gélules pharmaceutiques dures. Les cinq échantillons d'amidon de pois hydroxypropylé de différentes masses molaires, utilisés à des concentrations de 25 à 30%, ont été mélangés avec du  $\kappa$ -carraghénane, sous forme  $K^+$ , à une concentration inférieure ou égale à 1%. La concentration ionique totale  $C_T$  du système a été maintenue

constante à  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l en ajustant la teneur en KCl dans le but de contrôler la température de gélification (cf matériels et méthodes Tableau II.2-1).

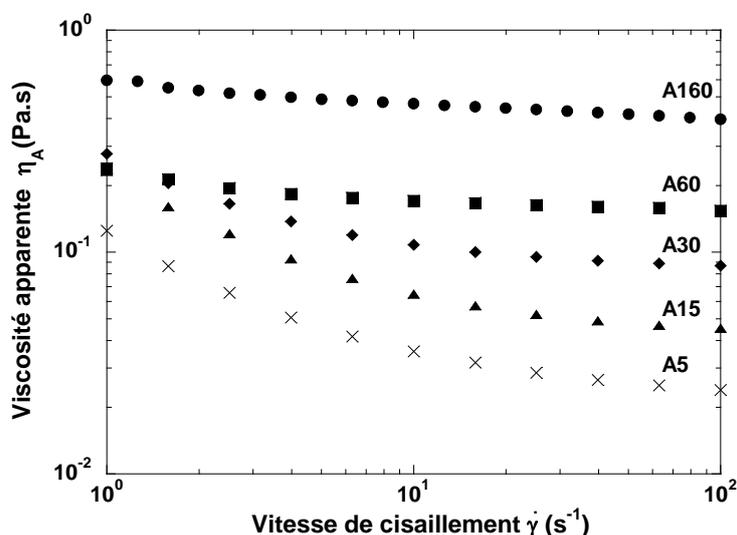
### III.2.1 Comportements rhéologiques à 50°C

#### III.2.1.1 Amidons de pois hydroxypropylés

##### III.2.1.1.1 Propriétés d'écoulement

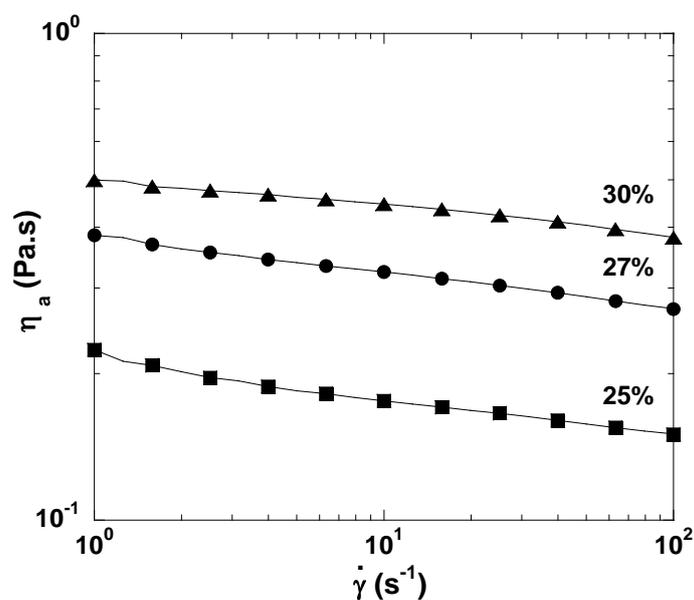
Après traitement thermique à 90°C, les dispersions d'amidons sont transparentes suggérant une bonne solubilisation. Cependant, un examen au microscope montre la présence de quelques particules insolubilisées correspondant à des fragments de grains d'amidon.

Les courbes d'écoulement des amidons de pois hydroxypropylés A160, A60, A30, A15, et A5, mesurées à 50°C à une concentration de 25% (g/g), sont montrées dans la Figure III.2-1, représentant les variations de la viscosité apparente  $\eta_a$  en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$  en échelles logarithmiques. Pour tous les échantillons, le comportement est rhéofluidifiant. Ce comportement est d'autant plus prononcé que la masse molaire des échantillons est faible. Par ailleurs, la viscosité apparente diminue avec la masse molaire des échantillons. Nous constatons également une augmentation de la viscosité apparente des empois aux faibles vitesses de cisaillement, ce phénomène étant d'autant plus prononcé que la masse molaire des amidons est faible. Il indique la présence d'un seuil d'écoulement. L'existence de quelques particules de type fragments de grains d'amidon, et/ou d'agrégats de molécules insolubilisées pourrait expliquer un tel comportement.



**Figure III.2-1.** Courbes d'écoulement des dispersions d'amidon de pois hydroxypropylés à une concentration de 25% (g/g). A160 (●), A60 (■), A30 (◆), A15 (▲), et A5 (×). Température de mesure : 50°C.

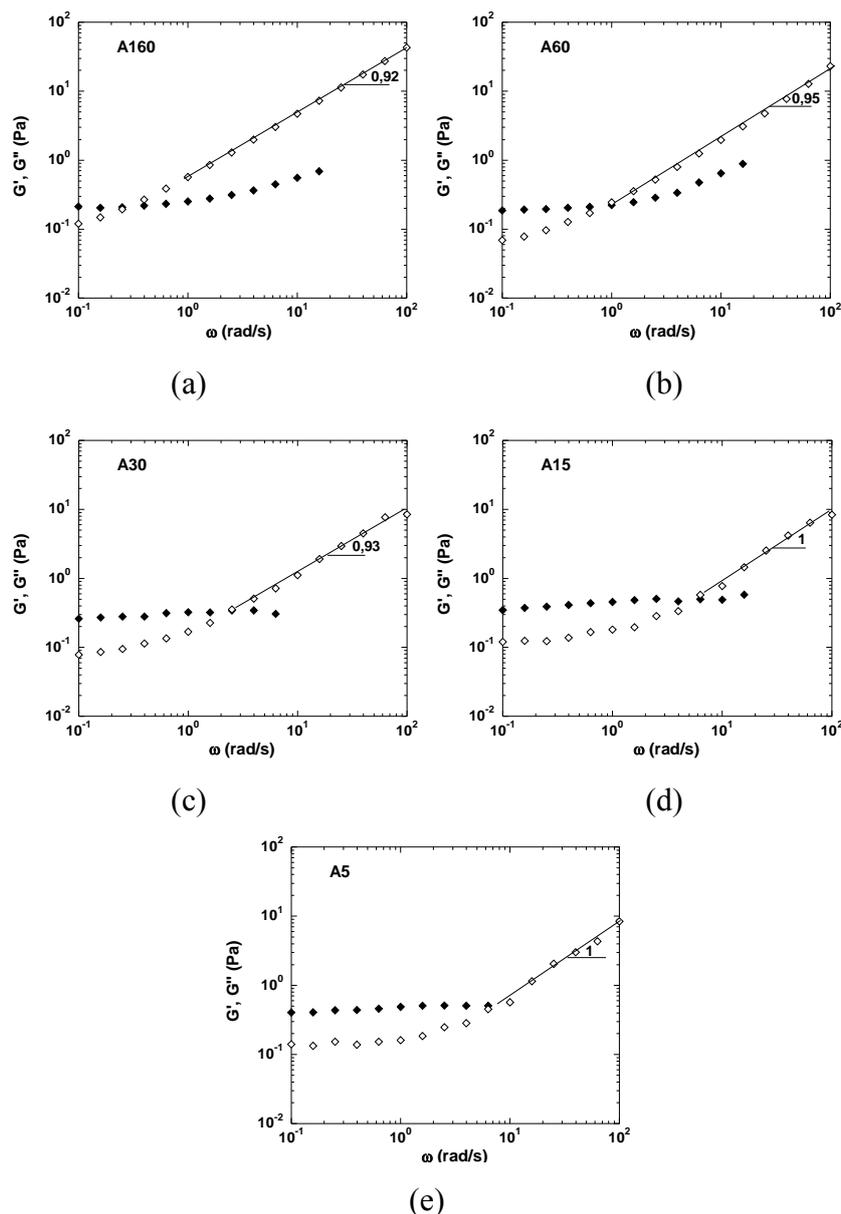
La Figure III.2-2 représente les courbes d'écoulement de l'amidon A60 mesurées à 50°C pour des concentrations de 25%, 27%, et 30%. Cette figure met en évidence le comportement rhéofluidifiant que nous venons de décrire. Comme attendu, la viscosité apparente des empois augmente avec la concentration en amidon.



**Figure III.2-2.** Courbes d'écoulement des dispersions de l'amidon de pois hydroxypropylé A60 à des concentrations de 25% (■), 27% (●), et 30% (▲). Température de mesure 50°C.

### III.2.1.1.2 Propriétés viscoélastiques

Les spectres mécaniques à 50°C des amidons A160, A60, A30, A15, et A5 à une concentration de 25% sont représentés dans la Figure III.2-3. On observe une forte dépendance de  $G''$  avec la fréquence, la pente étant proche de 1. On note également que  $G'(\omega)$  varie peu aux faibles fréquences et n'a pas pu être mesuré à des fréquences supérieures à environ 15 rad/s. Ceci s'explique par le décalage de phase entre  $G'$  et  $G''$ , proche de 90°, rendant difficile la mesure de  $G'$  pour ces fréquences.



**Figure III.2-3.** Spectres mécaniques des différents empois d'amidon de pois hydroxypropylés et fluidifiés à une concentration de 25%. (a) A160, (b) A60, (c) A30, (d) A15, (e) A5.  $G'$ : symboles pleins;  $G''$ : symboles vides. Température de mesure : 50°C. Amplitude de déformation : 1%.

Les modules se croisent à une fréquence qui varie avec la masse molaire des amidons. Ce point de croisement se produit à une fréquence de 0,3 rad/s pour l'A160, à 0,9 rad/s pour l'A60, 2,5 rad/s pour l'A3, 5,7 rad/s pour l'A15, et 7 rad/s pour l'A5. Aux fréquences plus basses,  $G'$ , supérieur à  $G''$ , est indépendant de la fréquence, reflétant un comportement de type solide avec des valeurs de  $G'$  très faibles, de l'ordre de  $10^{-1}$  Pa.

La dépendance de  $G''$  avec la fréquence ( $G'' \propto \omega^{-1}$ ) et la transparence des empois semblent refléter un comportement de solution macromoléculaire. Cependant le fait que  $G'$  atteigne un

plateau à faible fréquence pourrait s'expliquer par la présence des fragments de grains d'amidons que nous avons signalés. On peut donc supposer que les dispersions d'amidons que nous avons caractérisées sont constituées en grande partie de macromolécules en solution mais qu'une faible quantité n'a pas été entièrement solubilisée formant des agrégats qui expliquent l'existence d'un seuil d'écoulement et un comportement viscoélastique particulier à faible fréquence.

### III.2.1.2 $\kappa$ -carraghénane

#### III.2.1.2.1 Propriétés d'écoulement

Sur la gamme de concentration étudiée (0,1% à 1%), le comportement viscosimétrique à 50°C du  $\kappa$ -carraghénane est newtonien : la viscosité varie de 5 mPa.s à 65 mPa.s (Tableau III.2-1). Ce comportement est typique du  $\kappa$ -carraghénane à cette température, sachant que dans ces conditions, les molécules adoptent une conformation en pelote avec un volume hydrodynamique assez réduit du fait d'une grande flexibilité.

Tableau III.2-1. Viscosité des solutions de  $\kappa$ -carraghénane en fonction de la concentration. Température de mesure 50°C.

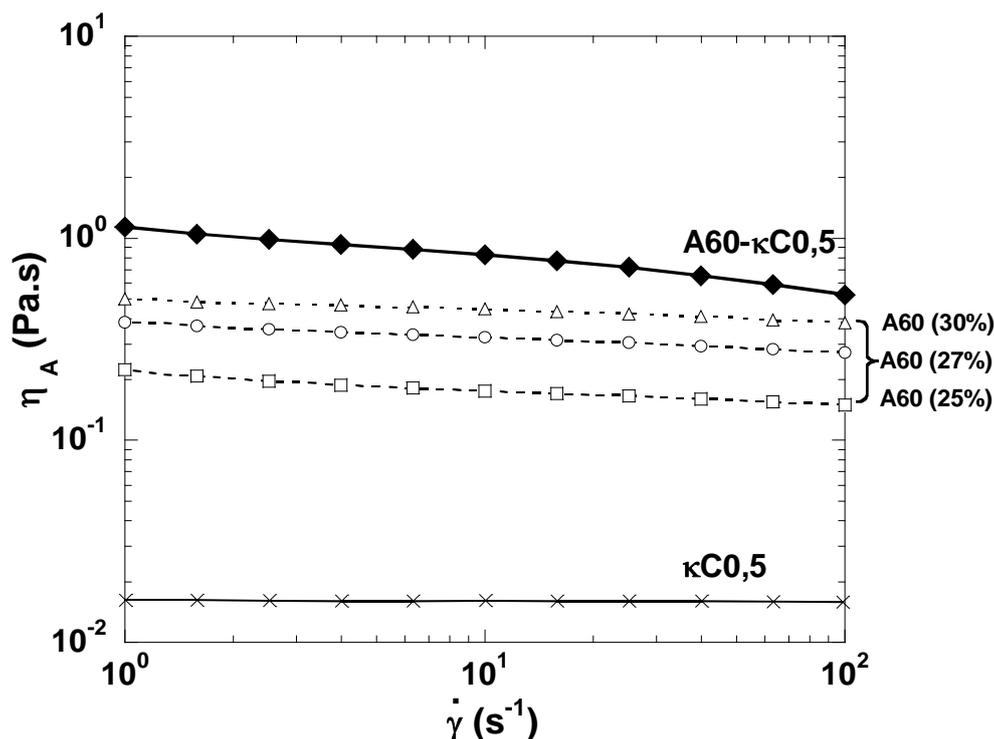
Concentration en $\kappa$ -carraghénane (%)	Viscosité (mPa.s)
1	65
0,75	37
0,5	16
0,25	8
0,1	5

### III.2.1.3 Mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane

#### III.2.1.3.1 Propriétés d'écoulement

Les propriétés d'écoulement des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane ont également été déterminées à 50°C. Nous présenterons les résultats obtenus pour une concentration en amidon dans le mélange de 25%. La Figure III.2-4 représente les courbes d'écoulement du mélange A60- $\kappa$ C0,5. Les courbes d'écoulement de l'amidon A60 (25%, 27%, et 30%) et du

$\kappa$ -carraghénane à 0,5% ( $\kappa$ C0,5) sont également représentées. Le mélange A60- $\kappa$ C0,5, (concentration en amidon de 25%), a un comportement comparable à celui de l'amidon seul mais le caractère rhéofluidifiant est plus prononcé. La viscosité apparente du mélange est très largement supérieure à celle des constituants seuls. Elle est par ailleurs supérieure à la viscosité de l'amidon seul à 30%. Ces résultats indiquent une synergie importante entre l'amidon et le  $\kappa$ -carraghénane à 50°C.

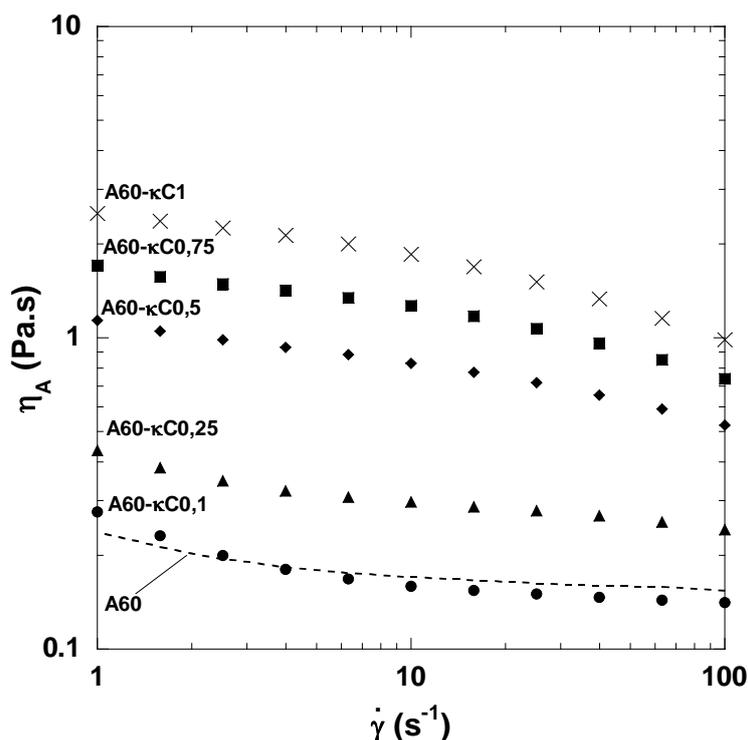


**Figure III.2-4.** Courbes d'écoulement du mélange A60(25%)- $\kappa$ C0,5 ( $\blacklozenge$ ), du  $\kappa$ -carraghénane à 0,5% ( $\kappa$ C0,5  $\times$ ), et des dispersions d'amidon A60 à 25% ( $\square$ ), 27% ( $\circ$ ), et 30% ( $\triangle$ ), et Température de mesure : 50°C.

### III.2.1.3.2 Influence de la teneur en $\kappa$ -carraghénane

La Figure III.2-5 présente les courbes d'écoulement des mélanges constitués de l'amidon A60 à 25% à différentes concentrations en  $\kappa$ -carraghénane de 0,1% à 1%, en comparaison avec l'amidon A60 seul (25%). L'augmentation de la concentration en  $\kappa$ -carraghénane dans le mélange provoque une augmentation importante de la viscosité apparente, avec un comportement rhéofluidifiant de plus en plus prononcé. Ces courbes mettent en évidence l'augmentation importante de la viscosité des mélanges par rapport aux constituants seuls.

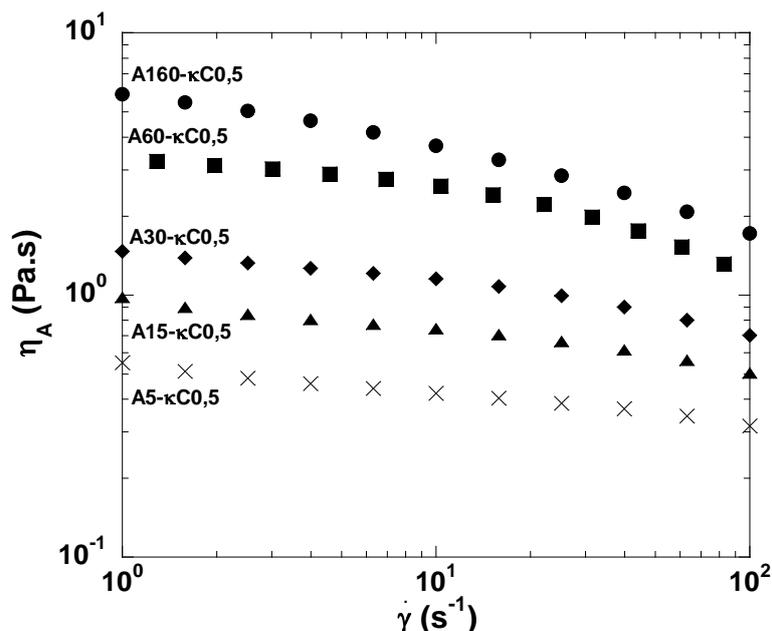
Cependant pour des concentrations en  $\kappa$ -carraghénane faibles ( $\leq 0,25\%$ ), ces effets sont beaucoup moins prononcés. L'allure de la courbe d'écoulement du mélange A60- $\kappa$ C0,25 est similaire à l'amidon seul, avec un léger effet de synergie. Pour des concentrations en  $\kappa$ -carraghénane faibles ( $\kappa$ C=0,1%), les courbes d'écoulement des mélanges sont confondues avec celle des amidons seuls, reflétant l'influence limitée du  $\kappa$ -carraghénane à cette concentration.



**Figure III.2-5.** Courbes d'écoulement des mélanges : amidon A60 (25%) à différentes concentrations en  $\kappa$ -carraghénane. A60- $\kappa$ C1 (x), A60- $\kappa$ C0,75 (■), A60- $\kappa$ C0,5 (◆), A60- $\kappa$ C0,25 (▲), A60- $\kappa$ C0,1 (●). La courbe d'écoulement de l'amidon seul A60 (25%) est également représentée (traits discontinus). Température de mesure : 50°C.

### III.2.1.3.3 Influence de la masse de l'amidon

La Figure III.2-6 représente les courbes d'écoulement à 50°C des mélanges constitués des différents amidons à une concentration de 25% en présence du  $\kappa$ C0,5. Dans tous les cas, la viscosité apparente des mélanges est largement supérieure à celle de l'amidon seul (Figure III.2-1), confirmant l'effet de synergie pour tous les amidons. Le comportement rhéofluidifiant est d'autant plus prononcé que la masse molaire de l'amidon est élevée.



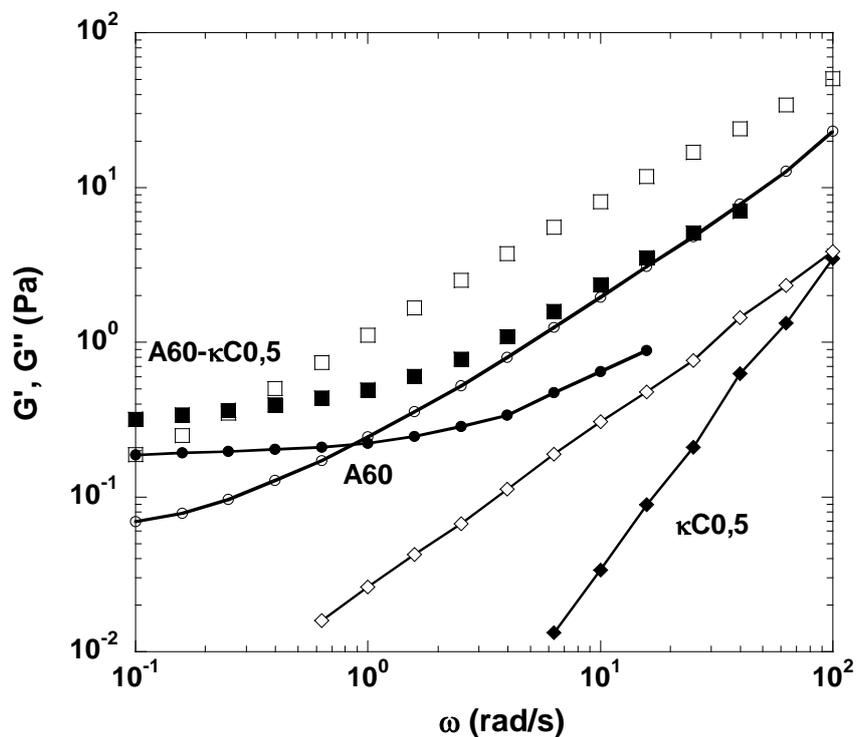
**Figure III.2-6.** Courbes d'écoulement des mélanges amidon/ $\kappa$ C0,5 pour des concentrations en amidon de 25%. A160- $\kappa$ C0,5 (●), A60- $\kappa$ C0,5 (■), A30- $\kappa$ C0,5 (◆), A15- $\kappa$ C0,5 (▲), et A5- $\kappa$ C0,5 (×). Température de mesure : 50°C.

#### III.2.1.3.4 Propriétés viscoélastiques

La Figure III.2-7 présente le spectre mécanique à 50°C du mélange A60- $\kappa$ C0,5, en comparaison avec celui du  $\kappa$ -carraghénane à 0,5% ( $\kappa$ C0,5), et de l'amidon A60 à une concentration en amidon seul et dans le mélange de 25%. Le  $\kappa$ C0,5 présente un comportement typique d'une solution macromoléculaire avec  $G' \propto \omega^2$  et  $G'' \propto \omega^1$ . Le point de croisement des modules se situe à 100 rad/s. À cette température, les chaînes de  $\kappa$ -carraghénane sont dans une conformation désordonnée. Ce comportement a été observé pour toutes les concentrations en  $\kappa$ -carraghénane étudiées.

Le spectre mécanique du mélange A60- $\kappa$ C0,5 est assez semblable à celui de l'amidon seul. On constate la même dépendance de  $G''$  avec la fréquence ( $G'' \propto \omega^{0,92}$ ) et  $G'' > G'$  aux fréquences élevées (10-100 rad/s). On observe également le comportement atypique que nous avons signalé pour l'amidon avec  $G'$  qui tend vers un plateau aux faibles fréquences. Le point de croisement des modules se situe à 0,25 rad/s. Le spectre mécanique du mélange A60- $\kappa$ C0,5 se rapproche en fait de celui de l'amidon mais pour une concentration de 30%. Ce

comportement reflète les effets de synergie importants entre les constituants du mélange déjà observés par les mesures viscosimétriques.



**Figure III.2-7.** Spectres mécaniques du  $\kappa$ C0,5 (traits continus, ◆, ◇), de A60 (traits continus ●, ○), et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 (■, □). Concentration de l'A60 seul et dans le mélange : 25%.  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  symboles vides. Température de mesure : 50°C. Amplitude de déformation : 1%.

#### III.2.1.4 Conclusion sur le comportement des mélanges à 50°C

De ces mesures rhéologiques sur les dispersions d'amidons et des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane, on peut conclure que le comportement rhéologique des mélanges à 50°C est avant tout déterminé par l'amidon. Ce résultat s'explique par le fait que l'amidon est largement majoritaire dans le milieu. L'effet du  $\kappa$ -carraghénane est cependant spectaculaire : sa présence entraîne une augmentation très importante de la viscosité apparente avec un renforcement du comportement rhéofluidifiant et également une augmentation des modules viscoélastiques. Ces effets ont été observés quelle que soit la formulation étudiée (masse molaire et concentration de l'amidon). En comparaison avec la gélatine à 50°C, on note donc des différences de comportement assez nettes que ce soit du point de vue des propriétés d'écoulement (comportement rhéofluidifiant pour l'amidon et les mélanges alors qu'il est

newtonien pour la gélatine) ou des propriétés viscoélastiques. Le comportement viscoélastique particulier que nous avons observé pour l'amidon et les mélanges (plateau en  $G'$  aux faibles fréquences) indique une solubilisation incomplète de l'amidon laissant quelques fragments de grains d'amidon et des agrégats dans le milieu. Les effets de synergie en solution que nous observons ont déjà été décrits pour des systèmes à base d'amidon avec d'autres polysaccharides (Christianson et al., 1981; Morris, 1990). Ces phénomènes pourraient résulter d'effets de concentration du polysaccharide ajouté dans la phase continue en raison de l'incompatibilité thermodynamique entre les constituants du mélange qui s'excluent et se concentrent mutuellement dans le système. De tels phénomènes d'incompatibilité en solution entre l'amidon et d'autres polysaccharides se traduisant par des séparations de phase ont été déjà décrits (Closs et al., 1999; Tecante et Doublier, 2002; Chaudemanche, 2007). Ainsi, Chaudemanche a décrit le diagramme de phase d'un mélange amylopectine hydroxypropylée /  $\kappa$ -carraghénane, donc assez proche des nôtres. Ce point sera plus amplement développé dans le chapitre discussion.

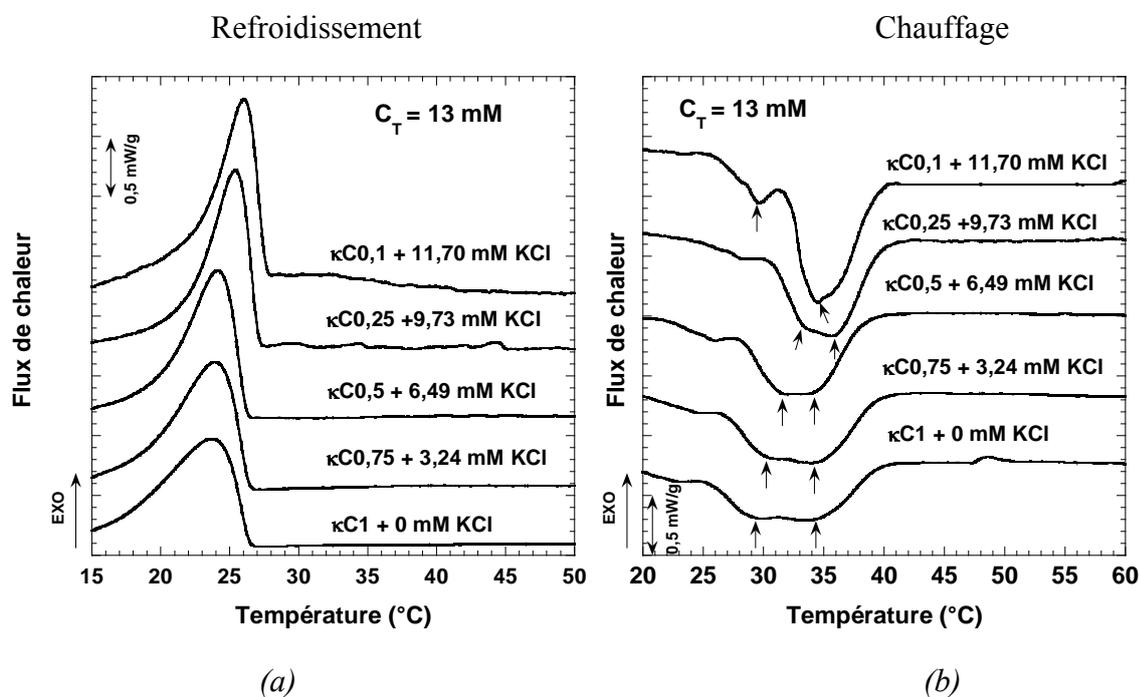
### III.2.2 Gélification-fusion

#### III.2.2.1 Mesures microcalorimétriques

Quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane seul ou dans le mélange, la concentration ionique totale  $C_T$  (KCl +  $\kappa$ -carraghénane) du système est maintenue constante à  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l (13 mM) en ajustant la teneur en KCl dans le milieu, l'objectif étant d'atteindre une température de gélification au refroidissement pour le  $\kappa$ -carraghénane seul d'environ  $25^\circ\text{C}$ , en se basant sur le diagramme d'état de Rochas (1982) ( $C_T = T^{-1}$ ) (cf. matériels et méthodes Tableau II.2-1).

La Figure III.2-8 représente les thermogrammes du  $\kappa$ -carraghénane seul aux différentes concentrations étudiées. La Figure III.2-8 (a) représente le refroidissement et la Figure III.2-8 (b), le chauffage. Au cours du refroidissement, le  $\kappa$ -carraghénane sous forme de pelote statistique subit une transition conformationnelle et passe sous forme ordonnée formant ainsi un réseau tridimensionnel responsable de la gélification. Par convention, la température de transition conformationnelle de type pelote-hélice (pic exothermique) est déterminée au

maximum du pic. Celle-ci est de l'ordre de 24°C quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane.



**Figure III.2-8.** Thermogrammes au refroidissement (a) et au chauffage (b) pour le  $\kappa$ C0,5. Cinétique de température 1°C/min.

Au cours du chauffage, l'endotherme de fusion associé à la transition de type hélice-pelote comporte deux pics, le premier vers 30°C et le second vers 35°C. L'ensemble des résultats est présenté dans le Tableau III.2-2. Les différences entre les températures de transition (hystérèse thermique) proviennent du phénomène d'agrégation des doubles hélices de  $\kappa$ -carraghénane au cours de la gélification (Rochas, 1982). Le pic se produisant à la température la plus faible ( $\approx 30^\circ\text{C}$ ) représente la fusion des dimères d'hélices libres. On note par ailleurs que celle-ci se produit à une température assez proche du pic observé au refroidissement. Le second pic se produisant à 35°C représente des dimères d'hélices agrégés (Rochas, 1982).

La prédominance de ce pic avec la diminution de la concentration en carraghénane, indiquerait que pour de faibles concentrations en polymère, la majorité des chaînes impliquées dans la formation du réseau sont présentes sous forme de dimères d'hélices agrégés. Les températures de transition et l'hystérèse thermique de 10°C que nous relevons

sont en accord avec les données de Rochas, pour une concentration ionique totale  $C_T$  de 13 mM, et ceci quelle que soit la concentration en polymère.

**Tableau III.2-2.** Température de transition conformationnelle  $T_{\text{pelote-hélice}}$  et  $T_{\text{hélice-pelote}}$  du  $\kappa$ -carraghénane seul et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 déterminées à partir des mesures microcalorimétrique. Concentration en amidon 25%. Cinétique de température : 1°C/min.

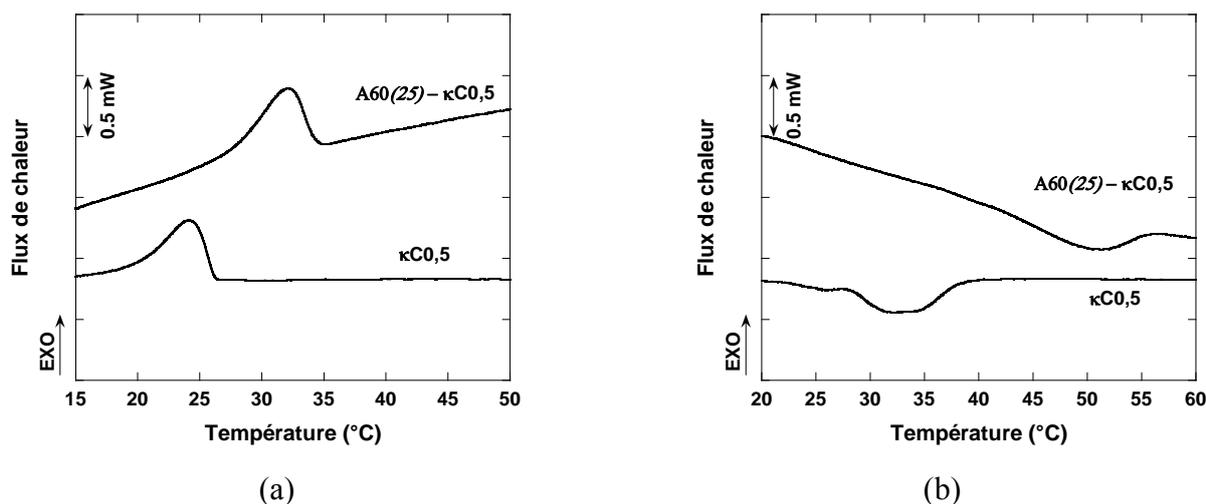
Compositions	KCl ajouté (mM)	$T_{\text{pelote-hélice}}$ (°C)	$T_{\text{hélice-pelote}}$ (°C)		$\Delta H_{\text{GEL}}$ (J/g)	$\Delta H_{\text{FUS}} \text{ totale}$ (J/g)
			$T_1$	$T_2$		
<u><math>\kappa</math>-carraghénane</u>						
$\kappa$ C1	0	23,8	29,2	33,9	30,9	23,3
$\kappa$ C0,75	3,24	23,9	30,4	34,1	32,7	24,9
$\kappa$ C0,5	6,49	24,0	31,5	33,8	32,7	21,9
$\kappa$ C0,25	9,73	25,0	32,6	35,8	33,8	25
$\kappa$ C0,1	11,70	26,0	30,2	34,6	32,0	26,3
<u>Mélanges</u>						
A60- $\kappa$ C1	0	34,0	-	54,6	34,1	20,0
A60- $\kappa$ C0,75	3,24	32,9	-	50,8	33,4	24,2
A60- $\kappa$ C0,5	6,49	32,0	-	50,2	33,7	27
A60- $\kappa$ C0,25	9,73	33,0	-	52,9	37,6	26,8
A60- $\kappa$ C0,1	11,70	33,7	-	55	43,6	33,2

$C_T$  constante :  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l.

Les thermogrammes du mélange A60(25%)- $\kappa$ C0,5 et du  $\kappa$ C0,5 sont montrées dans la Figure III.2-9. Au refroidissement, le pic de la transition se situe à 32°C pour le mélange au lieu de 24°C pour le  $\kappa$ C0,5. Au chauffage, nous observons également une augmentation de la température de transition : 50°C pour le mélange au lieu de 34°C pour le  $\kappa$ C0,5. Contrairement au  $\kappa$ -carraghénane seul, la transition conformationnelle des mélanges au cours du chauffage se manifeste par un seul pic. Ceci semble suggérer que la majorité des chaînes de  $\kappa$ -carraghénane sont sous forme d'hélices agrégées participant à la formation du réseau.

Refroidissement

Chauffage



**Figure III.2-9.** Thermogrammes au refroidissement (a) et au chauffage (b) pour le  $\kappa$ C0,5 et le mélange A60- $\kappa$ C0,5. Concentration en amidon : 25%. Cinétique de température :  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .

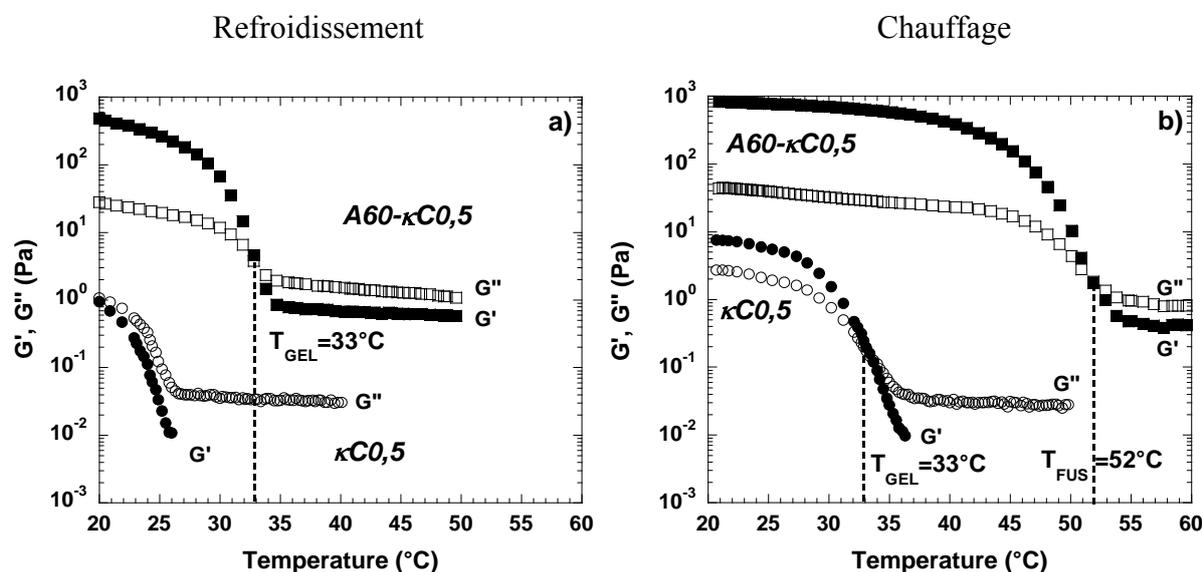
Malgré une concentration ionique totale  $C_T$  identique, les températures de transition des mélanges augmentent donc de  $10^{\circ}\text{C}$  au refroidissement et d'environ  $20^{\circ}\text{C}$  au cours du chauffage par rapport au  $\kappa$ -carraghénane seul. Cette augmentation des températures de transition ainsi que l'accroissement de l'hystérèse thermique pourraient refléter une augmentation de  $C_T$  et indiquer que des effets de concentration du  $\kappa$ -carraghénane se produisent dans le mélange.

### III.2.2.2 Mesures rhéologiques

Les variations des modules  $G'$  et  $G''$  entre  $20^{\circ}\text{C}$  et  $60^{\circ}\text{C}$  pour le  $\kappa$ -carraghénane à une concentration de 0,5% ( $\kappa$ C0,5) et le mélange A60- $\kappa$ C0,5 à une concentration en amidon de 25%, sont présentées dans la Figure III.2-10 (concentration en amidon : 25%). Les cinétiques sont les mêmes que pour les mesures calorimétriques ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ).

Pour l'échantillon de  $\kappa$ C0,5, il n'a pas été possible de déterminer  $G'$  pour des températures supérieures à  $27^{\circ}\text{C}$  au cours du refroidissement et à  $36^{\circ}\text{C}$  au cours du chauffage, celui-ci étant très faible ( $< 10^{-2}$  Pa). Au cours du refroidissement du  $\kappa$ C0,5 (Figure III.2-10 a), pour des températures supérieures à  $27^{\circ}\text{C}$ , le module  $G''$  est constant. Dans cette zone de température, le  $\kappa$ -carraghénane a un comportement de solution macromoléculaire comme nous l'avons

décrit. À partir de 27°C, les modules augmentent rapidement et atteignent finalement une valeur identique de 1 Pa à 20°C. Si, comme pour la gélatine nous définissons la température de gélification du système ( $T_{\text{GEL}}$ ) par  $G' = G''$ , nous pourrions considérer que  $T_{\text{GEL}}$  du  $\kappa\text{C}0,5$  est de 20°C.



**Figure III.2-10.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température pour le  $\kappa\text{C}0,5$  ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), et le mélange A60- $\kappa\text{C}0,5$  ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$  : symboles pleins ;  $G''$  : symboles vides. Cinétique :  $1^\circ\text{C}/\text{min}$ . Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%. (a) refroidissement de  $60^\circ\text{C}$  à  $20^\circ\text{C}$ . (b) chauffage de  $20^\circ\text{C}$  à  $60^\circ\text{C}$ .

Pour le mélange A60- $\kappa\text{C}0,5$ ,  $G''$  est légèrement supérieur à  $G'$  (fréquence de mesure 1rad/s), reflétant le comportement de dispersion précédemment décrit sur la base des spectres mécaniques. À partir d'environ  $35^\circ\text{C}$ , les modules augmentent et se croisent à une température de  $33^\circ\text{C}$  ( $T_{\text{GEL}}$ ). A  $20^\circ\text{C}$ ,  $G'$  est d'environ 500 Pa et  $G''$  est d'environ 30 Pa.

Au début du chauffage (Figure III.2-10 b), les modules du  $\kappa\text{C}0,5$  et du mélange A60- $\kappa\text{C}0,5$  à  $20^\circ\text{C}$ , sont nettement supérieurs aux valeurs obtenues à la fin du refroidissement.  $G'$  et  $G''$  sont d'environ 10 Pa et 3 Pa pour le  $\kappa\text{C}0,5$ , et de 800 Pa et 40 Pa, pour le mélange A60- $\kappa\text{C}0,5$ . Cette différence reflète l'évolution du gel au cours du temps à  $20^\circ\text{C}$  (environ 30 minutes). Les températures de fusion ( $T_{\text{FUS}}$ ) sont de  $33^\circ\text{C}$  pour le  $\kappa\text{C}0,5$  et de  $52^\circ\text{C}$  pour le mélange (Tableau III.2-3). La thermoréversibilité des gels à base des mélanges a été observée comme pour les gels de  $\kappa$ -carraghénane.

Pour le  $\kappa$ C0,5, les différences observées entre les températures de transition déterminées par les mesures rhéologiques et les mesures microcalorimétriques, représentées dans le Tableau III.2-3, indiquent que la méthode de détermination du point de gel ( $G'=G''$ ) est limitée. Néanmoins, l'objectif de notre étude est avant tout de comparer les températures de gélification des mélanges amidon-carraghénane à celles de la gélatine. Le critère de transition  $G'=G''$ , obtenu par des rampes de températures à une fréquence fixe, pour les mélanges et le  $\kappa$ -carraghénane seul à des concentrations supérieures à 0,5%, peut se justifier par les variations rapides de  $G'$  et  $G''$  au moment de la transition, et la similitude des températures de transition avec celles obtenues par microcalorimétrie.

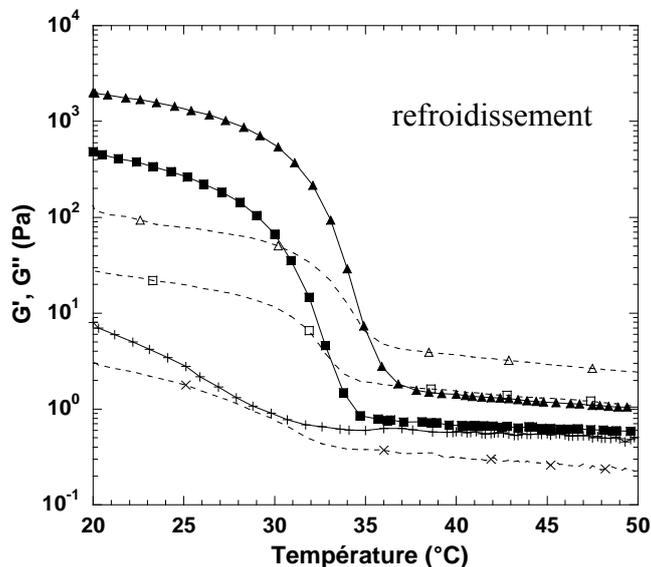
**Tableau III.2-3.** Température de gélification  $T_{\text{GEL}}$  et de fusion  $T_{\text{FUS}}$  du  $\kappa$ -carraghénane seul et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 déterminées à partir des rampes de température au refroidissement et au chauffage par des mesures rhéologiques à 1rad/s et des analyses microcalorimétrique. Cinétique de température : 1°C/min.

Compositions	Rhéologie : $G'=G''$		Microcalorimétrie		
	$T_{\text{GEL}}$	$T_{\text{FUS}}$	$T_{\text{pelote-hélice}}$ (°C)	$T_{\text{hélice-pelote}}$ (°C)	
				$T_1$	$T_2$
<u><math>\kappa</math>-carraghénane</u>					
$\kappa$ C1	23	34	23,8	29,2	33,9
$\kappa$ C0,75	22	33	23,9	30,4	34,1
$\kappa$ C0,5	20	33	24,0	31,5	33,8
$\kappa$ C0,25	-	-	25,0	32,6	35,8
$\kappa$ C0,1	-	-	26,0	30,2	34,6
<u>Mélanges</u>					
A60- $\kappa$ C1	35	53	34,0	-	54,6
A60- $\kappa$ C0,75	34	52,5	32,9	-	50,8
A60- $\kappa$ C0,5	33	52	32,0	-	50,2
A60- $\kappa$ C0,25	32	52	33,0	-	52,9
A60- $\kappa$ C0,1	-	52	33,7	-	55

$C_T$  constante :  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l.

### III.2.2.2.1 Influence de la teneur en $\kappa$ -carraghénane

Nous avons représenté dans la Figure III.2-11, l'influence de la concentration en  $\kappa$ -carraghénane sur la gélification du mélange à base de l'échantillon A60 à une concentration de 25% pour des concentrations en  $\kappa$ -carraghénane de 0,1%, 0,5% et 1%.

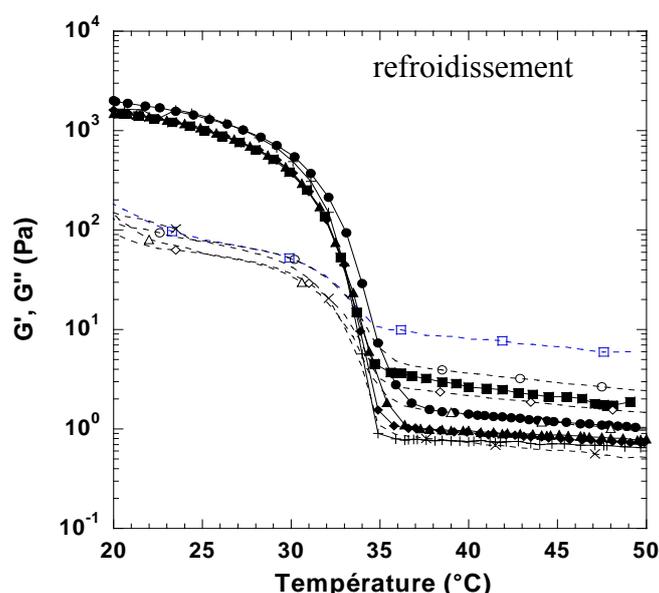


**Figure III.2-11.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température au refroidissement de 50°C à 20°C pour les mélanges A60- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), A60- $\kappa$ C0,5 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ), A60- $\kappa$ C0,1 ( $+$ ,  $\times$ ). Concentration en amidon de 25%.  $G'$  : lignes continues;  $G''$  : lignes pointillées. Cinétique : 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%.

Aux températures élevées (supérieures à  $T_{\text{GEL}}$ ),  $G'' > G'$ , et on note que les modules augmentent avec la concentration en  $\kappa$ -carraghénane. On observe néanmoins que pour le mélange A60- $\kappa$ C0,1,  $G'$  est supérieur à  $G''$  sur toute la gamme de température. Comme nous l'avons déjà observé, le comportement rhéologique des mélanges à des teneurs en  $\kappa$ -carraghénane de 0,1% est identique à celui de l'amidon seul. À cette fréquence de mesure (1 rad/s),  $G'$  est supérieur à  $G''$ . Le critère  $G'=G''$  ne peut être appliqué dans ce cas. Cependant, les mesures microcalorimétriques indiquent que la température de transition est similaire quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane dans le mélange (Tableau III.2-3). Les modules à 20°C augmentent largement avec l'ajout de  $\kappa$ -carraghénane jusqu'à  $2 \times 10^3$  Pa pour une concentration en  $\kappa$ C de 1%. L'ajout de 0,1% de  $\kappa$ -carraghénane permet au système de gélifier mais avec des modules assez faibles,  $G'$  étant d'environ  $10^1$  Pa.

#### III.2.2.2.2 Influence de la masse molaire de l'amidon

La gélification des mélanges composés de 1% de  $\kappa$ -carraghénane avec les différents amidons (25%) est représentée dans la Figure III.2-12. Aux températures élevées (supérieures à  $T_{\text{GEL}}$ ), on observe une augmentation des modules avec la masse molaire de l'amidon. Ceci reflète le rôle prédominant de l'amidon dans le comportement viscoélastique des mélanges que nous avons par ailleurs signalé à 50°C. Cependant, quelle que soit la masse molaire de l'amidon, la température de gélification est de 34°C, et les modules à 20°C sont très proches ( $2 \times 10^3$  Pa). Ceci indique que, malgré le rôle prépondérant de l'amidon dans le comportement rhéologique des mélanges à 50°C, la gélification des mélanges est déterminée par le  $\kappa$ -carraghénane.



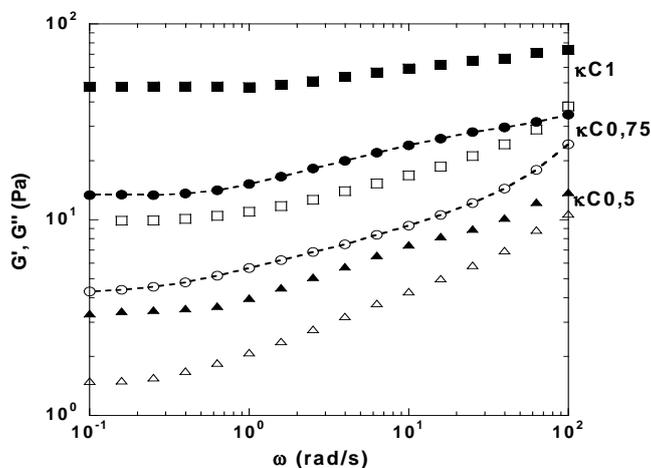
**Figure III.2-12.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température au refroidissement de 50°C à 20°C pour les mélanges A160- $\kappa$ C1 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ), A60- $\kappa$ C1 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), A30- $\kappa$ C1 ( $\diamond$ ,  $\blacklozenge$ ), A15- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), et A5- $\kappa$ C1 ( $+$ ,  $\times$ ).  $G'$  : lignes continues;  $G''$  : lignes pointillées. Rampe de température 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%.

### III.2.3 Propriétés viscoélastiques des gels à 20°C

#### III.2.3.1 Gels de $\kappa$ -carraghénane

Les spectres mécaniques à 20°C du  $\kappa$ -carraghénane à 1% ( $\kappa$ C1), 0,75% ( $\kappa$ C0,75) et 0,5% ( $\kappa$ C0,5) sont représentés dans la **Figure III.2-13**. Pour  $\kappa$ C1 et  $\kappa$ C0,75, le comportement de gel est clairement mis en évidence avec  $G'$  supérieur à  $G''$ , et une faible dépendance des modules avec la fréquence. Pour  $\kappa$ C0,5,  $G''$  est assez proche de  $G'$ , ce qui indique qu'à cette

concentration la température de gélification est assez proche. Ceci est cohérent avec les courbes de gélification du  $\kappa$ C0,5 (Figure III.2-10 a). De plus, pour des concentrations inférieures,  $\kappa$ C0,25 et  $\kappa$ C0,1, aucune transition n'a été détectée par des mesures rhéologiques.

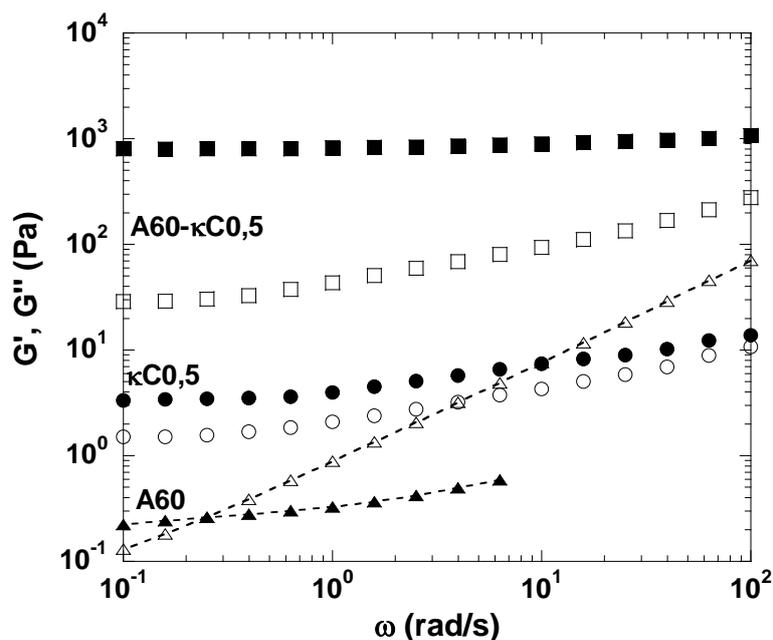


**Figure III.2-13:** Spectres mécaniques du  $\kappa$ C1 (■, □),  $\kappa$ C0,75 (pointillées avec ●, ○) et  $\kappa$ C0,5 (▲, Δ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  : symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 1%.

### III.2.3.2 Mélanges gélifiés

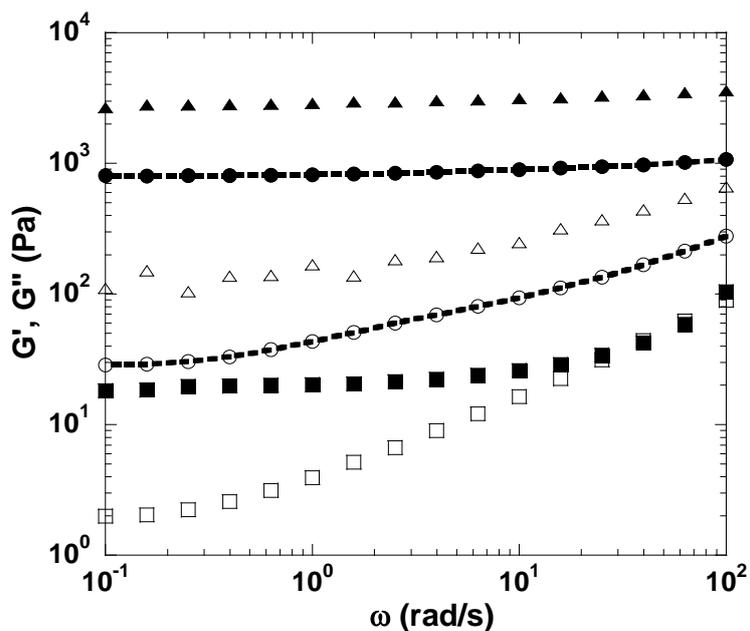
Le spectre mécanique du mélange A60- $\kappa$ C0,5 est présenté dans la Figure III.2-14 en comparaison avec ceux des constituants seuls :  $\kappa$ C0,5 et amidon A60 (25%).

Pour l'échantillon A60, le comportement à 20°C est très semblable à celui observé à 50°C. Ceci est cohérent avec le fait qu'il n'y a pas de gélification. Le comportement viscoélastique du mélange A60- $\kappa$ C0,5 est caractéristique d'un gel avec  $G' = 800$  Pa et  $G'' = 30$  Pa (à 0,1 rad/s).



**Figure III.2-14.** Spectres mécaniques du  $\kappa$ C0,5 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), du A60 (lignes pointillées avec  $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  : symboles vides. Concentration de l'amidon seul et dans le mélange : 25%. Température de mesure 20°C. Amplitudes de déformation : 0,1% pour les mélanges et 1% pour les constituants seuls.

La Figure III.2-15 représente l'influence de la concentration en  $\kappa$ -carraghénane sur les propriétés des gels des mélanges A60- $\kappa$ C1, A60- $\kappa$ C0,5 et A60- $\kappa$ C0,1. Pour les différents mélanges, un comportement de gel est observé, même pour de faibles concentrations en  $\kappa$ -carraghénane.  $G'$  à 0,1 rad/s est de 20Pa pour A60- $\kappa$ C0,1, 800Pa pour A60- $\kappa$ C0,5, et environ 2700Pa pour A60- $\kappa$ C1. On observe donc que le mélange gélifie à des concentrations où le  $\kappa$ -carraghénane seul ne forme pas de gel. Cependant, pour les faibles concentrations en  $\kappa$ -carraghénane (mélange A60- $\kappa$ C0,1), la dépendance des modules aux fréquences élevées et le fait que  $G'$  soit proche de  $G''$  indique qu'il s'agit d'un gel « faible ». Les valeurs de  $G'$  et  $G''$  déterminées à partir des spectres mécaniques à 20°C et à 0,1 rad/s pour les mélanges A60- $\kappa$ C en comparaison avec le  $\kappa$ -carraghénane seul, sont représentées dans le Tableau III.2-4.



**Figure III.2-15.** Spectres mécaniques des mélanges A60- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), A60- $\kappa$ C0,5 (lignes pointillées avec  $\bullet$ ,  $\circ$ ), et A60- $\kappa$ C0,1 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  : symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 0,1%.

**Tableau III.2-4.**  $G'$  et  $G''$  du  $\kappa$ -carraghénane seul et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 déterminées à partir des rampes de température au refroidissement et au chauffage par des mesures rhéologiques à 1rad/s. Cinétique de température 1°C/min.

Compositions	$G'$ (Pa)	$G''$ (Pa)
<u><math>\kappa</math>-carraghénane</u>		
$\kappa$ C1	47.0	9.9
$\kappa$ C0.75	13.2	4.3
$\kappa$ C0.5	3.3	1.5
$\kappa$ C0.25	-	-
$\kappa$ C0.1	-	-
<u>Mélanges</u>		
A60- $\kappa$ C1	2680	110
A60- $\kappa$ C0.75	1135	88.3
A60- $\kappa$ C0.5	803	28.7
A60- $\kappa$ C0.25	332	12.6
A60- $\kappa$ C0.1	20.3	2.0

### III.2.4 Conclusion sur le comportement à 20°C

Comme les amidons ne forment pas de gels, la gélification du mélange ne peut être attribuée qu'à la présence de  $\kappa$ -carraghénane qui malgré sa présence en faible quantité est capable de former un réseau continu. L'augmentation très importante des modules des mélanges gélifiés à 20°C par rapport au  $\kappa$ -carraghénane seul ainsi que leur gélification dans des conditions où le  $\kappa$ -carraghénane seul ne forme pas de gel ( $\leq 0,25\%$ ) paraissent cohérentes avec l'augmentation sensible des températures de transition de 10°C au refroidissement et d'environ 20°C au cours du chauffage par rapport au  $\kappa$ -carraghénane seul.

Le renforcement du gel et l'augmentation des températures de transition ne peuvent s'expliquer que par une augmentation de la concentration ionique totale du système  $C_T$  ( $C_T = C_S + \bar{\gamma} C_P$ ). Comme la concentration en sel est constante, le comportement des mélanges gélifiés ne peut être attribué qu'à des effets de concentration du  $\kappa$ -carraghénane en raison de l'incompatibilité entre les constituants, provoquant de ce fait une augmentation artificielle de  $C_T$ . Celle-ci pourrait provenir d'un phénomène de séparation de phase avec la formation d'une zone enrichie en  $\kappa$ -carraghénane et donc une augmentation de  $C_P$  dans cette zone. Les phénomènes d'incompatibilité entre les polysaccharides lorsque l'un des constituants est gélifiant peuvent entraîner des modifications spectaculaires des propriétés des gels, avec notamment un renforcement des modules et une diminution du seuil critique de gélification (Zasytkin et al., 1997), comme cela a été observé pour nos mélanges.

Les températures de gélification des mélanges sont similaires quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane et quelle que soit la masse molaire de l'amidon dans le système. Dans les mêmes conditions de concentrations, la température de gélification  $T_{GEL}$  des mélanges est comparable à celle de la gélatine, à environ 30-35°C. Cependant, malgré un ajustement possible de la concentration en  $\kappa$ -carraghénane, le module  $G'$  des gels des mélanges reste inférieur ( $\approx 10^3$  Pa) à celui la gélatine ( $\approx 10^4$  Pa).

### III.3 STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS MÉCANIQUES DES FILMS

Avant de décrire le comportement des films à base des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane, les propriétés des films à base d'amidons hydroxypropylés seuls seront tout d'abord présentées. Nous montrerons par la suite que la présence de  $\kappa$ -carraghénane a peu d'influence sur la structure et les propriétés physiques des films.

#### III.3.1 Influence de la masse molaire

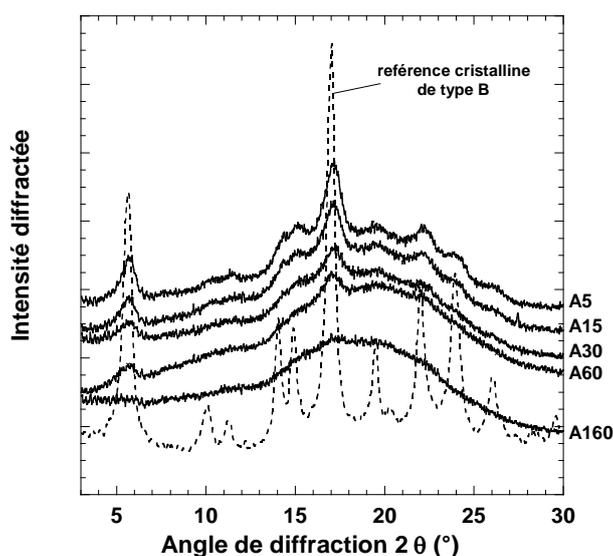
Les films d'amidons de différentes masses molaires ont été préparés par casting dans les mêmes conditions que celles employées précédemment pour les films de gélatine, 25°C et 40% d'HR. Il faut remarquer que nous n'avons pas obtenu de films avec l'amidon A5 ( $\overline{M}_w$  :  $4,7 \times 10^4$  g/mol), dans les conditions de casting utilisées. Seuls des fragments de film sont récupérés à la fin du séchage. Les autres amidons forment des films transparents relativement souples. Les échantillons sont ensuite conditionnés pendant environ deux semaines à 25°C et 58% d'H.R avant d'être caractérisés.

##### III.3.1.1 Cristallinité

Les diagrammes de diffraction des Rayons-X (DRX) des différents amidons A160, A60, A30, A15, et A5 sont représentés dans la Figure III.3-1. La teneur en eau des films est la même pour tous les échantillons à environ 13,5% ( $\pm 0.2$ ) (base humide, b.h.). Les spectres de diffraction sont caractéristiques d'une structure cristalline de type B, sauf pour l'échantillon A160 qui est amorphe. Le diagramme de diffraction de la référence cristalline de type B (amylose recristallisée sous forme de sphérolite) est également représenté dans cette figure. Les pics de diffraction caractéristiques de cette structure cristalline apparaissent aux angles  $2\theta = 5,6^\circ, 15^\circ, 17^\circ$  et  $22^\circ$ . On observe une augmentation de l'intensité des pics et de leur finesse avec la diminution de la masse molaire.

Le degré de cristallinité des films ainsi que la taille latérale des cristaux sont reportés dans le Tableau III.3-1. Le degré de cristallinité des échantillons est calculé en comparant l'intensité des échantillons à celles des références amorphes et cristallines. Le degré de cristallinité varie

de 6 % pour l'amidon A60 à 24% pour A5, les films A160 étant amorphes. La taille latérale des cristaux varie de 9 nm pour l'A5 à 5nm pour A60.



**Figure III.3-1.** Diagramme de diffraction des rayons X aux grands angles (DRX) pour les échantillons d'amidons obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR. Lignes continues de bas en haut : A160, A60, A30, A15, A5. Lignes pointillées : référence cristalline de type B. Conditionnement des films à 58% d'HR. Teneur en eau des films 13,5% ±0,2%.

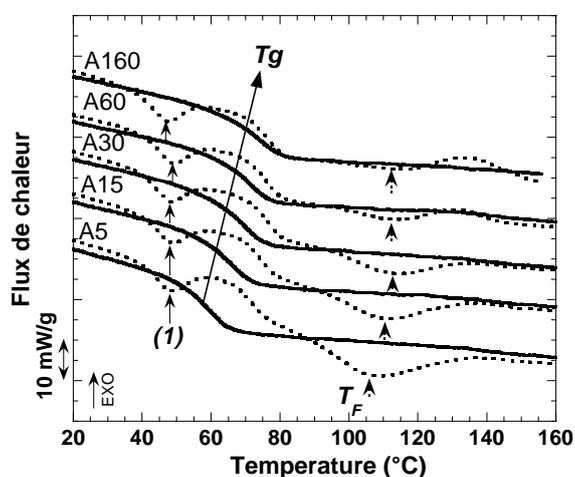
**Tableau III.3-1.** Degré de cristallinité des films d'amidon obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR. Teneur en eau des films : 13.5% (±0,2).

Échantillon	Masse molaire moyenne en poids	Degré de cristallinité (±3%)	Taille latérale des cristaux (nm)
	$\bar{M}_w \times 10^4$ g/mol		
A160	160,0	-	-
A60	59,0	6	5,0
A30	33,0	12	6,1
A15	15,0	16	8,0
A5	4,7	24	9,0

Il a été montré que les films d'amidon obtenus par casting ont une structure cristalline de type B (Rindlav et al., 1997; Rindlav-Westling et al., 2002). Ce phénomène de cristallisation n'a cependant jamais été décrit sur des films d'amidon hydroxypropylés. En effet, il est surprenant que de tels phénomènes de cristallisation se produisent en raison du degré de substitution relativement important des échantillons hydroxypropylés étudiés (0,2 soit 1 groupement hydroxypropyle pour 5 unités glucose).

## III.3.1.2 Caractérisation de la structure semi-cristalline

La Figure III.3-2 représente les thermogrammes d'AED des différents films. Au cours du premier passage, un endotherme apparaît à 50°C correspondant à la relaxation d'enthalpie associée au vieillissement physique des polymères au cours du stockage (Hutchinson, 1995). Ce phénomène a également été observé pour l'amidon (Shogren, 1992; Borde et al., 2002). Un second endotherme est observé à environ 110°C excepté pour le film A160 (non cristallin). En accord avec les analyses de DRX effectuées sur les films, nous pouvons attribuer cet endotherme à la fusion des zones cristallines dans nos échantillons. Cet événement se produit sur une plage de température relativement importante (environ 40°C) signifiant une large distribution de la taille des cristaux. L'absence d'endotherme observé sur l'échantillon A160 est donc liée au fait que cet échantillon est dans un état amorphe. La température de fusion  $T_F$  déterminée au maximum des pics est reportée dans le Tableau III.3-2. Elle diminue de 114°C pour A60 (degré de cristallinité de 6%) à 107°C pour A5 (degré de cristallinité de 24%). Les enthalpies de fusion correspondantes ( $\Delta H_F$ ) augmentent de 0,5 J/g pour l'A60 à 2,5 J/g pour l'A5.



**Figure III.3-2.** Thermogrammes d'AED des films obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR qui ont ensuite été stockés à 25°C et 58% d'HR. Teneur en eau des films : 13,5% ± 0.2 %. Le 1er scan est représenté en trait pointillé. (1) enthalpie de relaxation. Les flèches indiquées  $T_F$  représente la fusion. Le second scan est représenté en trait continu. Le déplacement de la  $T_g$  est indiqué par une flèche.

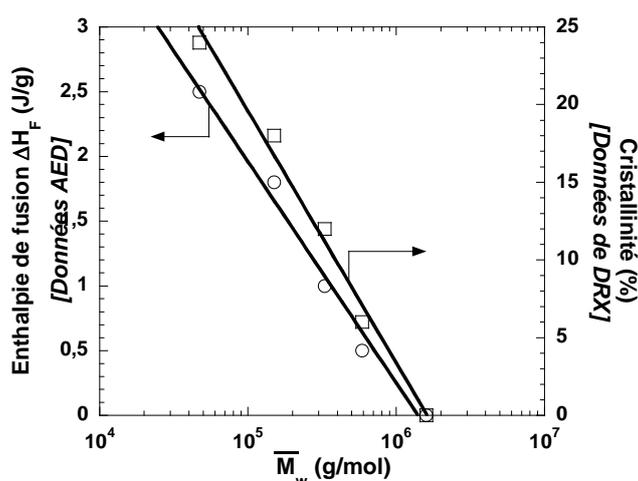
Les  $T_g$  déterminées au cours du second scan, caractérisant les échantillons dans un état amorphe, augmentent avec  $\bar{M}_w$  de 62°C pour A5 à 77°C pour l'A160. Une différence relativement importante entre la  $T_g$  mesurée au premier scan et la  $T_g$  mesurée au second scan

est observée (Tableau III.3-2). Elle s'accroît avec l'augmentation de la cristallinité. De telles différences sont observées pour de nombreux films à base de biopolymères semi-cristallins comme les films de gélatine (Sobral et al., 1999) et les films d'amidon non modifiés (Bizot et al., 1997; Rindlav et al., 1997). Ces effets sont généralement attribués à la présence de cristaux et à la distribution de l'eau dans les phases amorphes et cristallines.

**Tableau III.3-2.** Données obtenues par les mesures par AED des films A160, A60, A30, A15, et A5 obtenus par casting à 25°C et 40% de RH.

Échantillons	Degré de cristallinité ( $\pm 3\%$ )	Tg au premier scan (Tg1) (°C)	Tg au second scan (Tg2) (°C)	Température de fusion T <sub>F</sub> (°C)	Enthalpie de fusion $\Delta H_F$ (J/g)
A160	-	79	77	-	-
A60	6	77	73	114	0,5
A30	12	79	70	112	1,0
A15	16	75	65	109	1,8
A5	24	75	62	107	2,5

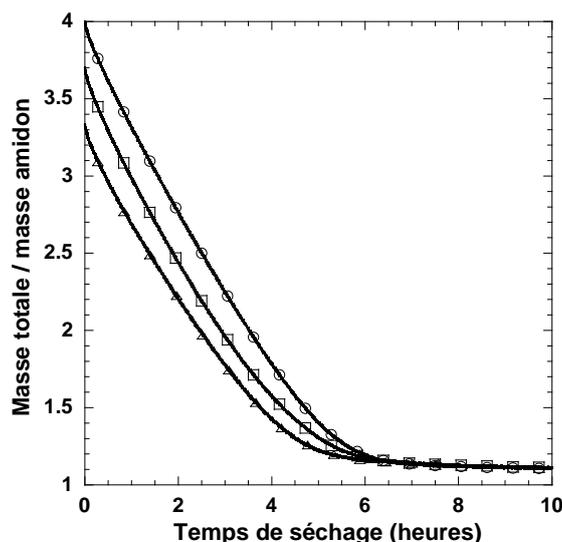
La Figure III.3-3 montre les variations de l'enthalpie de fusion  $\Delta H_F$  obtenues par AED et du degré de cristallinité obtenues par DRX en fonction de  $\bar{M}_w$  en échelle semi-logarithmique. Le degré de cristallinité et l'enthalpie de fusion diminuent linéairement avec le logarithme de la masse molaire dans la gamme considérée. Malgré une légère différence, l'enthalpie de fusion (calorimétrie) et le degré de cristallinité (DRX) varient de façon similaire.



**Figure III.3-3.** Variations de l'enthalpie de fusion  $\Delta H_F$  obtenue par AED et du degré de cristallinité obtenu par XRD en fonction de  $\bar{M}_w$  des films.

## III.3.1.3 Cinétiques de séchage

Les cinétiques de séchage de l'amidon A60 à des concentrations de 25%, 27%, et 30% sont représentées dans la Figure III.3-4. La vitesse de séchage des trois suspensions est comparable dans la première partie linéaire de la courbe. À la fin du séchage, les films d'amidon atteignent à l'équilibre une teneur en eau d'environ 11%. On note que l'équilibre est atteint plus tôt lorsque la concentration en amidon est plus élevée.



**Figure III.3-4.** Cinétique de séchage de l'amidon A60 à une concentration de 25% (▲), 27% (◻), et 30% (○). Conditions de séchage : 25°C et 40% d'HR.

Les mêmes cinétiques de séchage des films ont été observées pour tous les amidons à des concentrations de 25% à 30%, excepté pour l'amidon A5, qui ne forme pas de film dans les conditions étudiées.

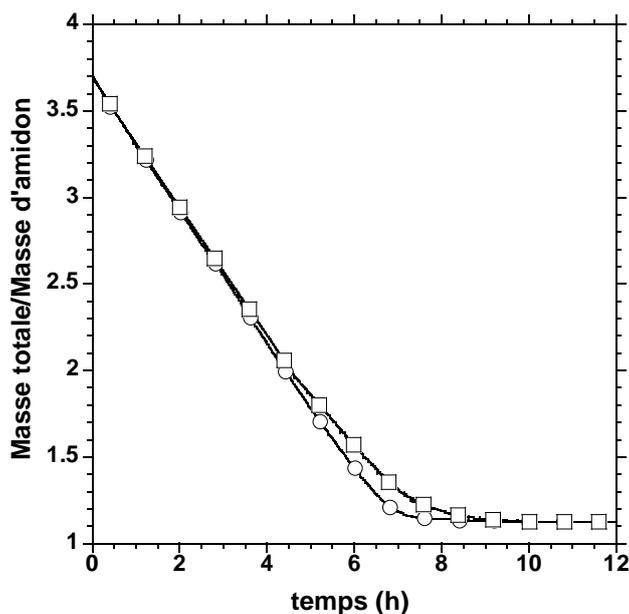
## III.3.1.4 Mise en place de la structure au cours du séchage

Nous avons reproduit ces cinétiques de séchage dans l'enceinte du diffractomètre à 25°C et 40% d'HR pour les échantillons A5 et A15. Ce dispositif a été mis en place afin de mettre en évidence une évolution de la structure au cours de la formation des films tout en mesurant la cinétique de séchage du film. La réalisation de cette mesure a nécessité une épaisseur de solution plus importante (environ 2 mm au lieu des 1 mm utilisés habituellement) pour

permettre le passage du faisceau laser dans l'échantillon. Les cinétiques de séchage ont donc été plus longues dans ces conditions (1 heure de plus).

La Figure III.3-5 représente les cinétiques de séchage des films A5 et A15 à une concentration de 27% réalisées dans ces conditions. La vitesse de séchage est la même dans la première partie de la courbe. Cependant, après 3 h de séchage, la vitesse de séchage diminue pour le film A15. La teneur en eau des films à l'équilibre est identique à environ 11% (b.h.).

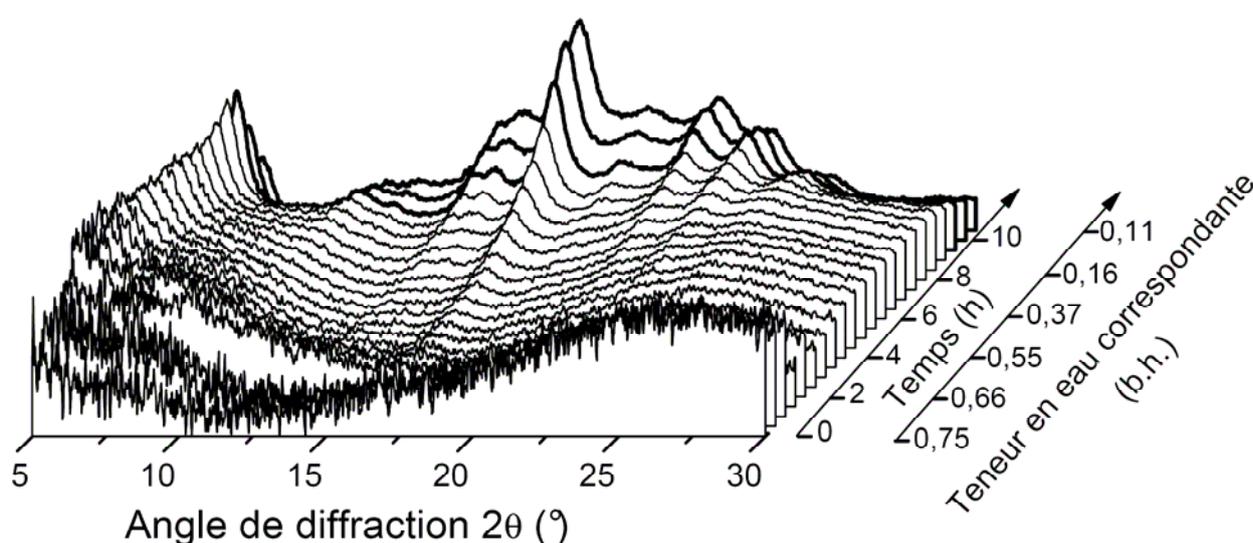
Des travaux concernant le casting relatent la formation d'une *peau* à la surface des films qui serait due à une vitesse d'évaporation du solvant plus élevée à la surface de la solution. Ce phénomène provoque des gradients de concentrations à l'origine d'un état vitreux en surface alors que le reste de l'échantillon est dans un état liquide limitant la diffusion du solvant (Crank, 1958; Ngui et Mallapragada, 1999b). Dans ce travail, nous négligerons ces effets étant données la faible épaisseur initiale de solution et la vitesse de séchage relativement lente.



**Figure III.3-5.** Cinétique de séchage de l'A5 (○) et de l'A15 (□) à 25°C et 40% d'H.R. (concentration initiale en amidon 27%).

Les diagrammes de DRX au cours du séchage sont représentés dans la Figure III.3-6 et la Figure III.3-7. Au début du séchage de A15 (Figure III.3-6), aucun pic de diffraction n'est détecté. Après environ 2h de séchage (teneur en eau de 66%), les principaux pics de diffraction caractéristiques d'une structure cristalline de type B apparaissent. La résolution du spectre devient plus importante avec le temps. Ceci est la conséquence non seulement du

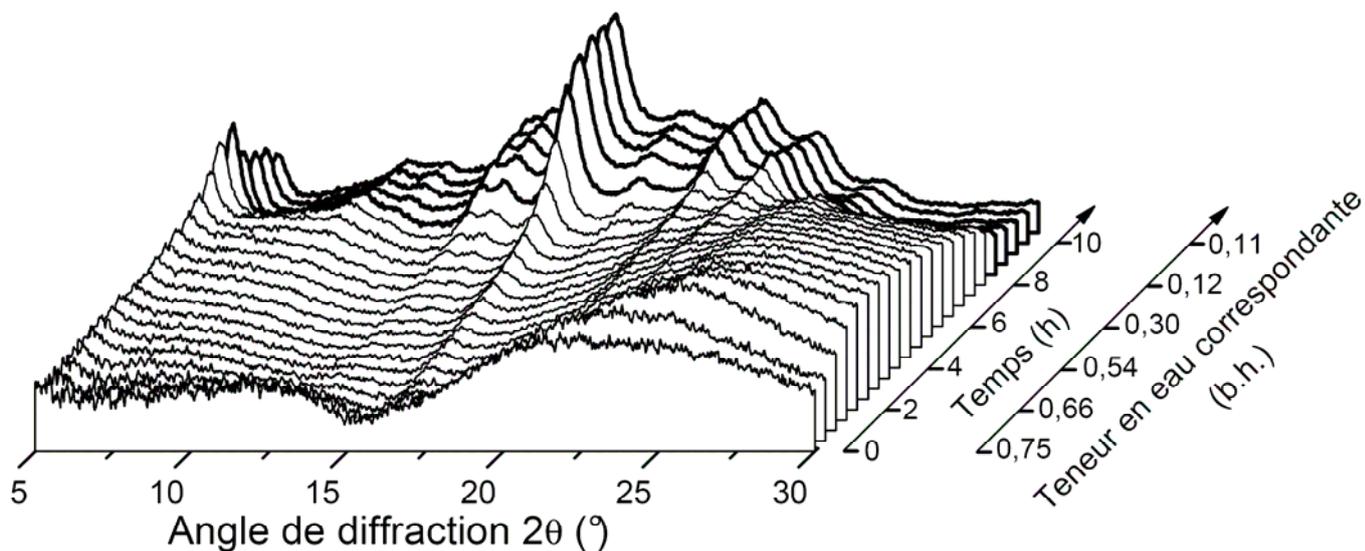
phénomène de cristallisation mais aussi de la réduction de la teneur en eau, l'eau faisant partie intégrante de la structure cristalline de type B et jouant un rôle très important sur la résolution du spectre. Il a ainsi été montré que la cristallinité des amidons de type B dépend de la teneur en eau et atteint un maximum à une teneur en eau de 33% (Buléon et al., 1982). Dans notre cas, la résolution spectrale de l'échantillon A15 s'améliore pour des teneurs en eau inférieures à 33% ce qui suggère un développement de la cristallinité en deçà de cette teneur en eau. Le maximum d'intensité est observé à environ 9,5h de séchage correspondant à une teneur en eau d'environ 16%. Au-delà, l'intensité des pics de diffraction reste constante excepté pour le pic à  $2\theta=5,6^\circ$  qui diminue. En raison de la forte sensibilité de ce pic à la teneur en eau, sa diminution pourrait s'expliquer par la perte d'eau se produisant à la fin du séchage.



**Figure III.3-6.** Cinétique de cristallisation du film A15 obtenu par casting à  $25^\circ\text{C}$  et 40% d'HR. Concentration initiale en amidon 27%. Les spectres de DRX sont représentés toutes les 30 min.

La cristallisation dans le film A5 est également illustrée dans la Figure III.3-7. On observe pour cette échantillon une évolution similaire à la précédente. Cependant, les premiers pics caractéristiques d'une structure cristalline de type B apparaissent plus tôt, après environ 1h de séchage. Le maximum d'intensité des pics se situe à environ 8,5h de séchage. Pour l'échantillon A5, qui a la masse molaire moyenne la plus faible, l'apparition de la cristallinité et son maximum se produisent donc environ 1h plus tôt que pour l'échantillon A15. La vitesse de cristallisation de l'amidon paraît donc dépendre de la masse molaire : elle serait d'autant plus rapide que la masse molaire est faible. Ceci pourrait être attribué à une plus grande

mobilité des chaînes lorsque leur longueur diminue, facilitant ainsi leur réorganisation sous forme de cristaux.

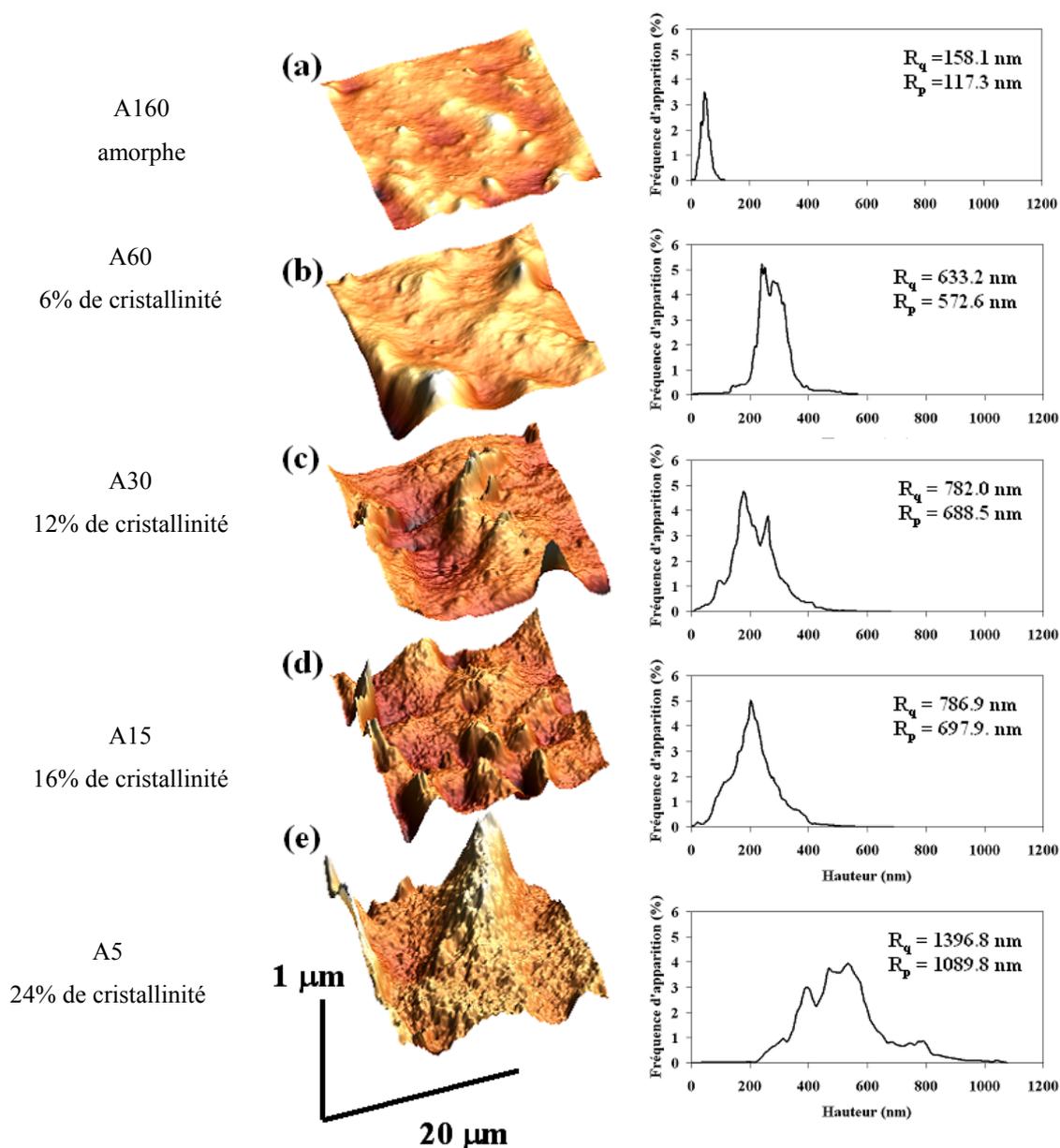


**Figure III.3-7.** Cinétique de cristallisation du film A5 obtenu par casting à 25°C et 40% d'HR. Concentration initiale en amidon 27%. Les spectres de DRX sont représentés toutes les 30 min.

Ces phénomènes ont été décrits pour des polymères comme le polyéthylène linéaire et l'amylose synthétique (Ergoz et al., 1972; Potocki-Veronese et al., 2005). Le temps de cristallisation est plus important pour les longues chaînes que pour de courtes chaînes qui sont plus aptes à se réorganiser. Les effets de la cristallisation au cours du séchage de films ont été peu étudiés en raison de la complexité des mécanismes mis en jeu. Cependant certains auteurs ont montré pour des films de polyalcool vinylique (PVA) obtenus par casting que la cristallisation au cours du séchage gêne la diffusion de l'eau et par conséquent ralentit le séchage (Nguï et Mallapragada, 1998, 1999a). Ces auteurs ont également mis en évidence que la diminution de la masse molaire accélère les cinétiques de séchage. Ils ont suggéré que ces effets proviendraient des effets d'enchevêtrement qui ralentissent la vitesse de séchage (Nguï et Mallapragada, 1998). Dans notre cas, l'accélération des cinétiques de séchage avec les effets couplés de la masse molaire et de la cristallinité suggèrent que la diminution la masse molaire est le paramètre qui influence le plus les cinétiques.

## III.3.1.5 Morphologie des films

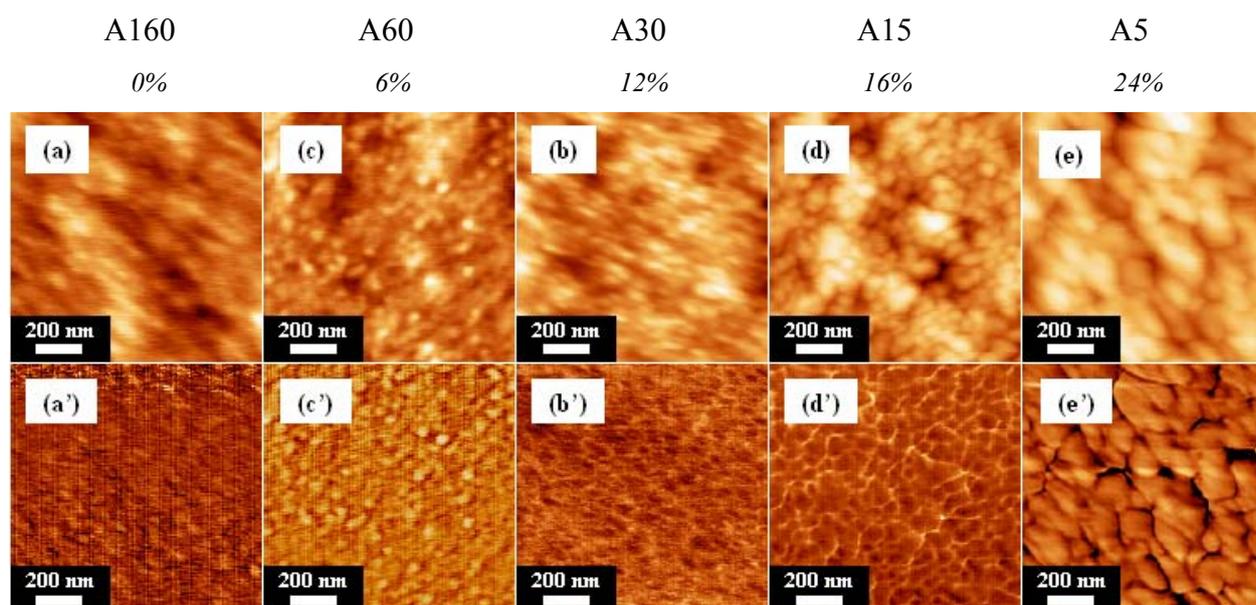
La **Figure III.3-8** représente des images topographiques d'AFM de la surface des films d'amidons de différentes masses molaires obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR (surface au contact de l'air). Les courbes de rugosité permettant de déterminer l'indice de rugosité  $R_q$  et la hauteur maximale des pics  $R_p$  sont représentées dans la partie droite de la figure.



**Figure III.3-8:** Images topographiques AFM en représentation 3D des surfaces des films d'amidon hydroxypropylés: (a) A160 : amorphe; (b) A60 : 6% de cristallinité ; (c) A30 : 12% de cristallinité ; (d) A15 : 16% de cristallinité ; A5 : 24% de cristallinité. Courbes correspondantes de rugosité donnant les hauteurs mesurées (abscisse) en fonction de leur fréquence d'apparition (ordonnée).  $R_q$ ,  $R_p$  sont, respectivement, les valeurs de la rugosité quadratique moyenne et de la hauteur maximale du pic.

Les films A160 (amorphe) sont peu rugueux avec un indice de rugosité  $R_q$  d'environ 158 nm et une hauteur maximale des pics  $R_p$  de 117 nm. L'augmentation de la cristallinité des films induit une augmentation de la rugosité et de la hauteur des pics à la surface des films. L'indice de rugosité varie de 633 nm pour le film A60 (6 % de cristallinité), à une valeur de 1300 nm pour l'échantillon A5 (24% de cristallinité), tandis que la hauteur maximale des pics augmente de 572 nm à 1100 nm.

Les images AFM des films en mode topographique (1<sup>er</sup> rangée) et en contraste de phase (2<sup>ème</sup> rangée) à fort agrandissement sont présentées dans la **Figure III.3-9**. Les images topographiques des différents films (a-e) mettent en évidence une évolution de la morphologie des films avec le type d'amidon. On observe l'apparition de nodules répartis de manière homogène avec des différences de hauteur. Le nombre et la taille de ces nodules semblent augmenter avec la diminution de la taille des chaînes.



**Figure III.3-9:** Images AFM à plus fort grandissement des surfaces des films d'amidon: (a)-(a') A160; (b)-(b') A60; (c)-(c') A30 ; (d)-(d') A15; (e)-(e') A5. Les séries d'images (a)-(e) et (a')-(e') correspondent, respectivement, à des images enregistrées en mode topographique et en contraste de phase.

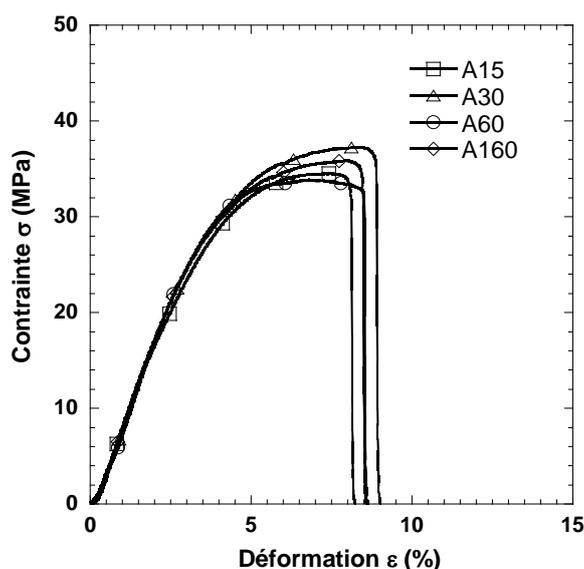
Les images en contraste de phase confirment cette évolution de la morphologie. Cette évolution est à mettre en rapport avec l'apparition de la cristallinité décrite précédemment. Les morphologies à la surface des films sont d'autant plus marquées que la masse molaire est faible et donc que la cristallinité est élevée. Elles se traduisent par l'apparition de nodules de

quelques dizaines de nanomètres pour le film A60 à des structures d'environ une centaine de nanomètres pour l'échantillon A5. Nous observons également que pour A5 (24% de cristallinité), ces structures semblent désolidarisées les unes des autres laissant apparaître des zones sombres (**Figure III.3-9 e'**). Ces morphologies ont été observées aussi bien sur la surface des films au contact avec l'air que sur la surface en contact avec le support. Des structures similaires ont été observées sur des coupes transversales de grains d'amidons (Baldwin et al., 1998; Ridout et al., 2004) et également à la surface des films d'amidon (Thire et al., 2003). Ces structures ordonnées assimilables à des protubérances à la surface des films ont été attribuées à la présence de cristallinité. Ceci est en accord avec le fait que le nombre et la taille de ces structures augmentent avec la cristallinité des films.

### III.3.1.6 Propriétés mécaniques

#### III.3.1.6.1 Traction

Comme il a été indiqué précédemment, l'amidon A5, qui a la masse molaire la plus faible ( $\bar{M}_w \approx 4,9 \times 10^4$  g/mol), n'est pas filmogène dans les conditions de casting utilisées. Les courbes de contrainte-déformation en traction, représentatives des propriétés mécaniques des différents films d'amidons sont représentées dans la Figure III.3-10. À des teneurs en eau similaires d'environ 13,5%, les propriétés mécaniques en traction sont comparables.



**Figure III.3-10.** Courbe de contrainte-déformation des amidons A160, A60, A30, et A15 à 25°C. Conditionnement : 25°C et 58% d'HR.

L'allure des courbes indique que les films ont un comportement fragile avec une légère déformation dans le domaine plastique. Les valeurs obtenues sont reportées dans le Tableau III.3-3 pour les différents amidons. Le module de Young ( $E$ ) est de l'ordre de 0,9 GPa, la contrainte à la rupture ( $\sigma_R$ ) est d'environ 35 MPa, et la déformation à la rupture ( $\epsilon_R$ ) est de 8-9%. Cependant, l'échantillon A15 s'est révélé être difficilement manipulable lors du démoulage malgré des propriétés mécaniques comparables aux autres amidons.

**Tableau III.3-3.** Caractéristiques mécaniques en traction des films d'amidons de différentes masses molaires stockés à 25°C et 58% d'HR (valeurs moyennes sur 10 éprouvettes).

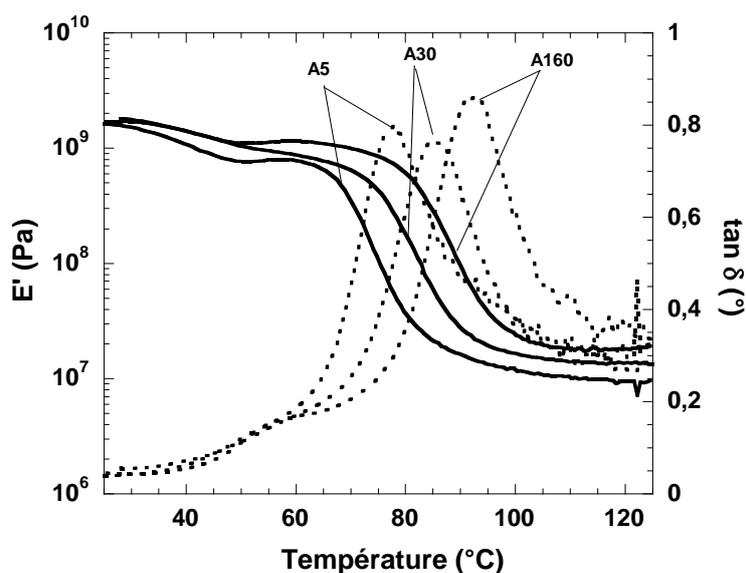
échantillon	Module de Young ( $E$ ) (GPa)	Contrainte à la rupture ( $\sigma_R$ ) (MPa)	Déformation à la rupture ( $\epsilon_R$ ) (%)
A160	0.83 ±0.08	35.4 ±3.2	8.5 ±1.9
A60	0.86 ±0.07	30.4 ±2.2	8.2 ±1.8
A30	0.90 ±0.05	38.4 ±4.5	8.6 ±1.8
A15	0.88 ±0.02	34.9 ±2.1	8.3 ±1.2

Il est cependant difficile de conclure sur les propriétés mécaniques des films puisque la cristallinité varie en même temps que la masse molaire. C'est pour cette raison que pour étudier uniquement l'influence de la masse molaire sur le comportement mécanique des films, nous avons réalisé des mesures thermo-mécaniques dynamiques (ATMD) sur des échantillons thermomoulés totalement amorphes.

#### III.3.1.6.2 Analyse thermo-mécanique dynamique (ATMD) : dual cantilever

Les propriétés thermomécaniques des films A160, A30, et A5 obtenus par thermomoulage ont été déterminées par ATMD de 25°C à 125°C. Les résultats sont représentés dans la **Figure III.3-11**. Les températures de moulage des films (120°C) ont été choisies afin que les films soient dans un état amorphe (vérifié par DXR). On note que dans ces conditions d'élaboration, l'échantillon A5 forme un film continu. A 25°C, le module de conservation  $E'$  est identique pour tous les échantillons avec une valeur d'environ 1,5 GPa. Au cours du chauffage, à une température de 65°C-85°C, le module  $E'$  diminue brutalement et  $\tan \delta$  atteint

un maximum. Cet événement correspond à la relaxation mécanique principale associée à la transition vitreuse. La température de transition diminue avec la masse molaire. Ceci est en accord avec ce que nous avons décrit précédemment par AED. Aux températures élevées (zone caoutchoutique) le module diminue avec la masse molaire de  $2 \times 10^7$  Pa pour A160 à  $10^7$  Pa pour A5. Le comportement mécanique des films à 25°C dans un état vitreux ne semble pas dépendre de la masse molaire. Cependant, la taille des chaînes paraît influencer la relaxation mécanique et également le module  $E'$  dans le domaine caoutchoutique. Les propriétés thermomécaniques des films A60 et A15 (non représentées) sont en accord avec ces résultats.



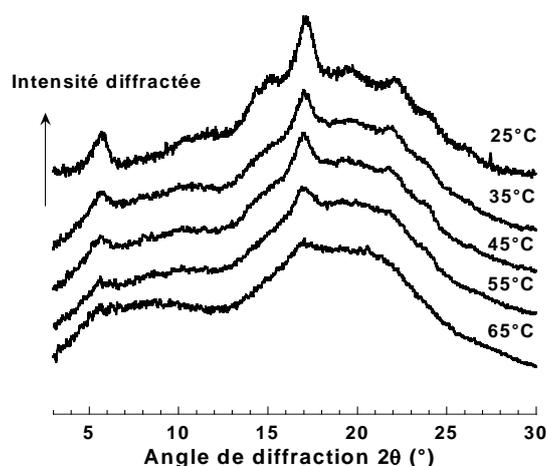
**Figure III.3-11** : Propriétés thermomécaniques dynamiques des films thermomoulés A160 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), A30 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), A5 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ). Variation du module de conservation ( $E'$ ) (ligne continue et symbole pleins) et de  $\tan \delta$  ( $\frac{E''}{E'}$ ) (lignes pointillée et symboles vides) en fonction de la température. Fréquence de mesure 1Hz ; amplitude déformation 0.1%.

### III.3.2 Influence de la cristallinité à masse molaire constante

#### III.3.2.1 Élaboration de films à différents degrés de cristallinité

Rindlav et al. (1997) ont montré pour des amidons de pomme de terre que la température de séchage est déterminante dans la cristallisation de l'amidon lors de l'élaboration de films par casting. Ainsi, les films formés à 50°C étaient amorphes et la cristallinité augmentait au fur et à mesure que la température diminuait. Ce comportement est attribué aux mécanismes de

cristallisation qui dépendent de la température. De la même manière, nous avons modulé la cristallinité des films A15 en ajustant la température de séchage au cours du casting de 25°C à 65°C. L'échantillon A15 a été choisi en raison de sa filmabilité dans ces conditions (contrairement à A5) et de sa cristallinité importante nous permettant ainsi d'obtenir une gamme de cristallinités relativement large. La Figure III.3-12 représente les diagrammes de DRX des films A15 obtenus à différentes températures entre 25°C et 65°C. La teneur en eau des films reportée dans le Tableau III.3-4 varie de 13,5% pour les films formés à 25°C à 11,5% pour les films formés à 65°C. Excepté pour les films formés à 65°C, tous les films ont une structure cristalline de type B qui varie avec la température de formation des films.



**Figure III.3-12.** Diagramme de DRX de l'amidon A15 obtenu par casting à différentes températures de 25°C à 65°C. Films conservés à 25°C et 58% d'HR.

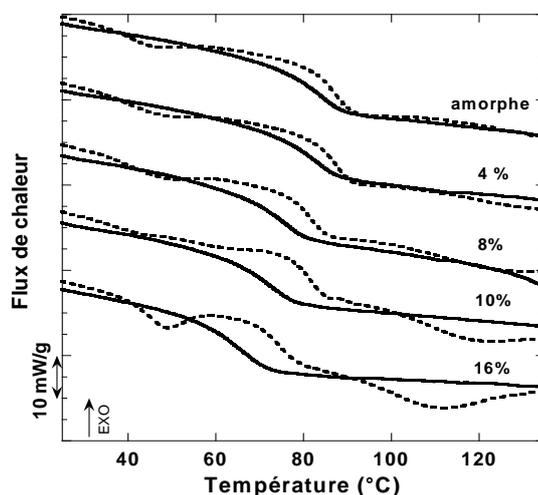
Le degré de cristallinité varie de 16% pour les films formés à 25°C à 4% pour les films formés à 55°C. La taille latérale des cristaux calculée est d'environ de 8 nm et ne varie pas avec la cristallinité des films. Ces valeurs sont reportées dans le Tableau III.3-4.

**Tableau III.3-4.** Degré de cristallinité des films d'amidon A15 obtenus à des température de 25°C à 65°C et leur teneur en eau après un stockage à 25°C et 58% d'HR.

Température de casting	Degré de Cristallinité (%)	Taille latérale des cristaux (nm)	Teneur en eau des films (%)
25	16		13,7
35	10		13,5
45	8	8	12,7
55	4		12,3
65	0		11,5

## III.3.2.2 Caractérisation de la structure semi-cristalline

Les thermogrammes des films A15 décrits ci-dessus sont représentés dans la Figure III.3-13. L'allure des thermogrammes est similaire à celle déjà décrite (Figure III.3-2). La température de fusion  $T_F$ , déterminée durant le premier scan, varie de 109°C pour les films avec une cristallinité de 16% à 125°C pour ceux avec une cristallinité de 4%. L'enthalpie de fusion associée  $\Delta H_F$ , diminue de 1,8J/g pour les films préparés à 25°C à 0,2 J/g pour ceux préparés à 55°C. Ces différentes valeurs sont reportées dans le Tableau III.3-5.  $T_g$  déterminée au cours du second scan diminue avec la cristallinité des films de 83°C (film amorphe) à 65°C (16 % de cristallinité). Les valeurs de  $T_g$  déterminées au cours du premier scan sont également indiquées dans ce tableau. Elles diminuent également avec l'augmentation de la cristallinité des films.



**Figure III.3-13.** Thermogrammes d'AED des films A15 obtenus par casting à 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, et 65°C. Le 1er scan est représenté en trait pointillé. Le second scan est représenté en trait continu. Films conditionnés à 25°C et 58% d'HR.

**Tableau III.3-5.** Données obtenues par AED des films A15 obtenus par casting à différentes températures.

Températures de séchage	Tg	Tg	Enthalpie de fusion $\Delta H_F$ (J/g)
	au premier scan Tg1) (°C)	au second scan (Tg2) (°C)	
25°C	74	65	1.8
35°C	80	71	1.6
45°C	80	74	0.75
55°C	86	81	0.16
65°C	87	83	-

### III.3.2.3 Propriétés mécaniques des films

Les propriétés mécaniques en traction sont reportées dans le Tableau III.3-6. Le comportement des films est ici également fragile avec une légère déformation plastique. Le module de Young ( $E$ ) est d'environ 0,9 GPa, la contrainte à la rupture  $\sigma_R$  d'environ 30-35 MPa et la déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  d'environ 6-8 %. Ces valeurs sont en tous points comparables à celles que nous avons indiquées dans le Tableau III-3.

Nous pouvons conclure que la cristallinité n'a pas d'influence significative sur les propriétés mécaniques en traction des films conditionnées à 25°C et 58% d'HR. Il en est de même quelle que soit la masse molaire.

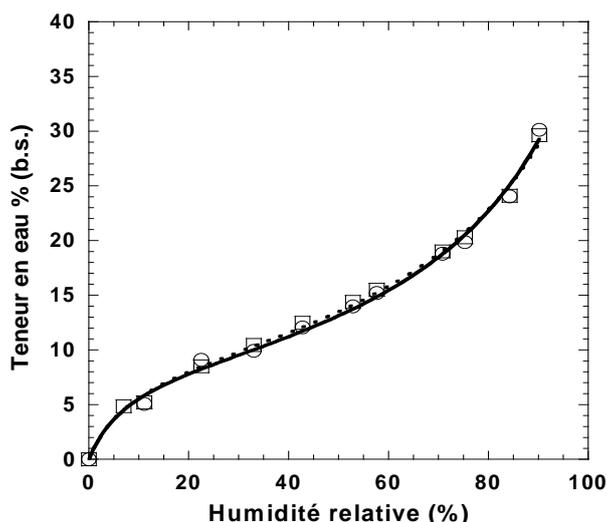
**Tableau III.3-6.** Propriétés mécaniques en traction des films A15 obtenus à différentes températures de séchage. Films conditionnés à 25°C et 58% d'HR.

Conditions de séchage	Degré de cristallinité ( $\pm 3\%$ )	Module de Young ( $E$ ) (GPa)	Contrainte à la rupture ( $\sigma_R$ ) (MPa)	Déformation à la rupture ( $\varepsilon_R$ ) (%)
25°C	16	0.88 $\pm$ 0.02	34.9 $\pm$ 2.1	8.3 $\pm$ 1.2
35°C	10	0.90 $\pm$ 0.10	35.3 $\pm$ 5.4	6.1 $\pm$ 2.0
45°C	8	0.86 $\pm$ 0.12	30.6 $\pm$ 5.6	7.0 $\pm$ 1.6
55°C	4	0.92 $\pm$ 0.09	33.0 $\pm$ 4.7	6.5 $\pm$ 1.7
65°C	-	0.95 $\pm$ 0.11	35.4 $\pm$ 4.9	7.1 $\pm$ 2.1

### III.3.3 Influence de la teneur en eau

#### III.3.3.1 Isothermes de sorption à 25°C

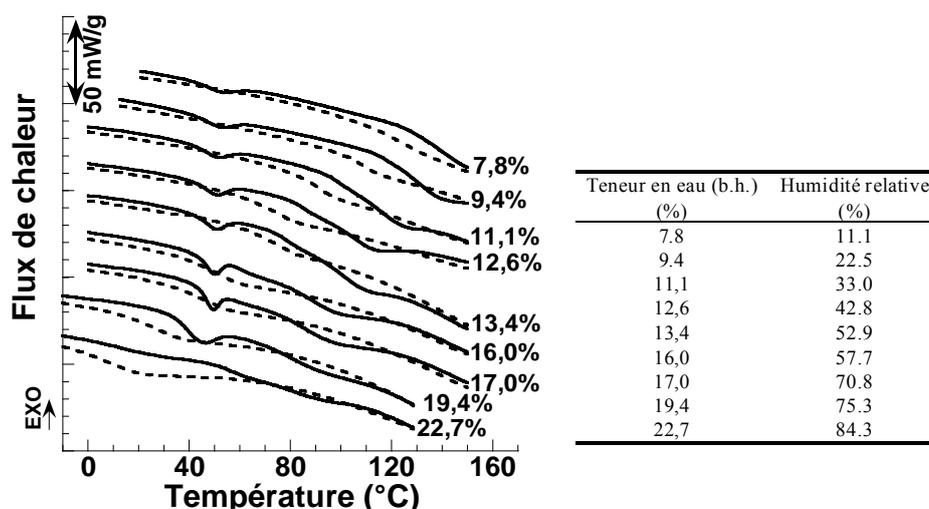
Les isothermes de sorption des films d'amidon A5 et A15 sont représentés dans la Figure III.3-14. Ils coïncident pour les deux échantillons. Les valeurs des paramètres de l'équation de GAB (Equation I.4-2) sont similaires avec  $X_m=9.3\%$ ,  $C_{GAB}=15,3$  et  $K_{GAB}=0.79$ .



**Figure III.3-14.** Isothermes de sorption des films A5 et A15 obtenus par casting conditionnés et à différentes humidités relatives. Température 25°C .

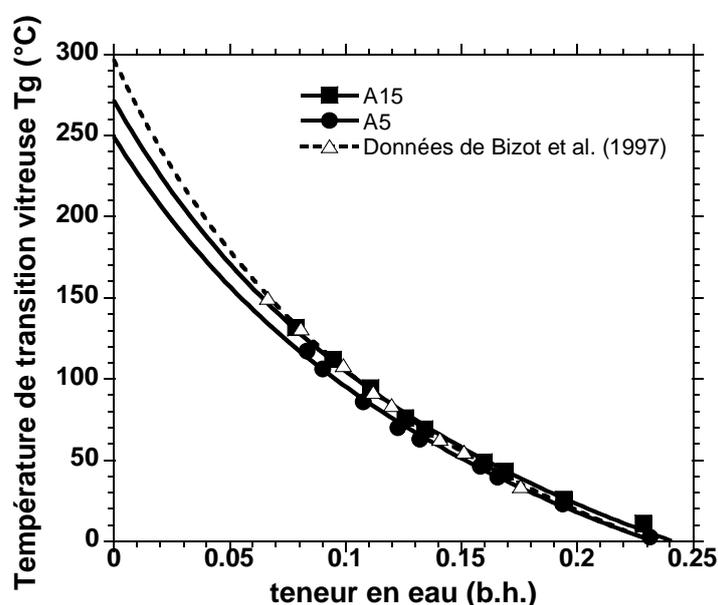
### III.3.3.2 Évolution de la Tg avec la teneur en eau

La Figure III.3-15 représente les thermogrammes de l'amidon A15 stocké à différentes HR dans la gamme 11-84%. Nous avons indiqué sur les thermogrammes les teneurs en eau correspondantes (b.h.). On note, au cours du premier scan, une diminution de la température de fusion lorsque la teneur en eau augmente. Elle varie de 120°C pour une teneur en eau de 11,1% à environ 85°C pour une teneur en eau de 23%. De même, la température de transition vitreuse Tg mesurée au second passage, diminue avec la teneur en eau.



**Figure III.3-15.** Thermogrammes d'AED des films A5 à différentes HR. 1<sup>er</sup> scan : lignes continues ; 2<sup>nd</sup> scan : lignes pointillées. Cinétique de température 3°C/min. Les teneurs en eau à différentes HR sont également présentées dans le tableau.

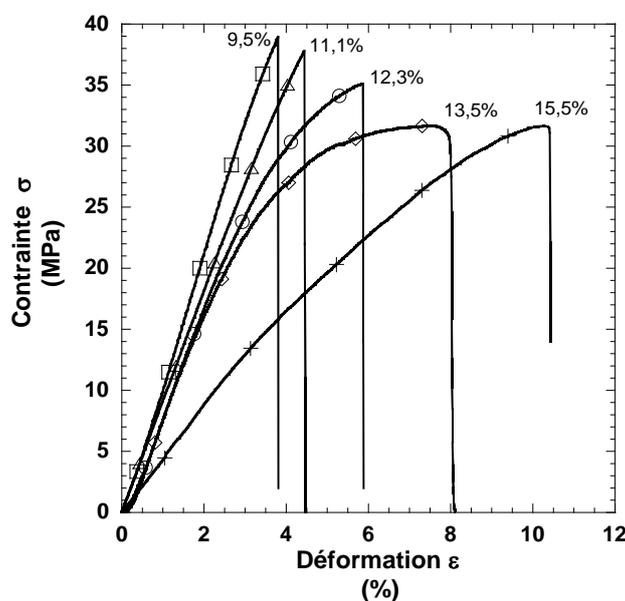
Les variations des températures de transition vitreuse  $T_g$  des échantillons A5 et A15 en fonction de la teneur en eau entre 7% et 25% (b.h.) sont indiquées dans la Figure III.3-16. Les résultats reportés par Bizot et al. (1997) sur des films d'amylopectine sont également indiqués dans cette figure. La détermination de la transition vitreuse à des teneurs en eau supérieures à 30% est impossible en raison de la formation de glace (Jouppila et Roos, 1997). Par ailleurs, à partir du modèle de Gordon et Taylor (1952), nous pouvons extrapoler la courbe expérimentale vers les faibles teneurs en eau pour finalement décrire les variations de  $T_g$  sur la gamme de teneurs en eau 0-25%. Ce modèle est couramment utilisé pour prédire l'influence de la teneur en eau sur la  $T_g$  des biopolymères. L'effet plastifiant de l'eau se traduit par une forte diminution de la  $T_g$  d'environ 10°C pour une augmentation de la teneur en eau de 1%. On remarque également que les variations de  $T_g$  pour les films d'amidons hydroxypropylés A15 et A5 sont comparables à celles des films d'amylopectine reportées par Bizot et al. (1997). Ces variations de  $T_g$  avec la teneur en eau sont également en accord avec d'autres travaux menés sur les films d'amidon de pomme de terre et des films d'amylopectine (Zeleznaek et Hosoney, 1987; Jouppila et Roos, 1997). On note une légère différence de  $T_g$  entre A5 et A15 sur toute la gamme de teneur en eau considérée, les valeurs obtenues pour l'échantillon de plus faible masse molaire (A5) étant légèrement inférieures à celle obtenues pour A15.



**Figure III.3-16.** Température de transition vitreuse  $T_g$  des films A5 (●) et A15 (■) en fonction de la teneur en eau. Les données de Bizot et al. (1997) sur des films d'amylopectine sont également représentées (Δ). Les lignes montrent les variations de la  $T_g$  calculées à l'aide du modèle de Gordon et Taylor.

## III.3.3.3 Évolution des propriétés mécaniques avec la teneur en eau

En raison des difficultés de manipulation des films A15 que nous avons décrites, nous avons étudié l'influence de la teneur en eau sur les propriétés mécaniques des films A30. Les films A30 obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR, ont été conditionnés dans une enceinte climatique à différentes humidités relatives à 25°C. Les courbes contraintes-déformations en traction des films sont représentées dans la Figure III.3-17. Pour des HR de 30% (teneur en eau : 9,5%), les films ont un comportement fragile caractérisé par une rupture dans le domaine élastique avec un module de Young  $E$  d'environ 1GPa, une contrainte à la rupture  $\sigma_R$  de 38 MPa et une déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  de l'ordre de 4%. Pour 40% d'HR (teneur en eau de 11,1%), les films ont également un comportement fragile. Le module de Young  $E$  est de 0,95 GPa, la contrainte à la rupture  $\sigma_R$  de 37 MPa et la déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  à environ 4,5%. Au maximum d'HR considérée (70%) avec une teneur en eau de 15,5%, le comportement mécanique des films est alors ductile avec une rupture dans le domaine plastique, avec un module de Young  $E$  d'environ 0,5GPa, une contrainte à la rupture  $\sigma_R$  de 32 MPa et une déformation à la rupture  $\varepsilon_R$  de l'ordre de 11%. De ces résultats, il apparaît nettement que selon les conditions de stockage, le comportement mécanique des films est très différent.

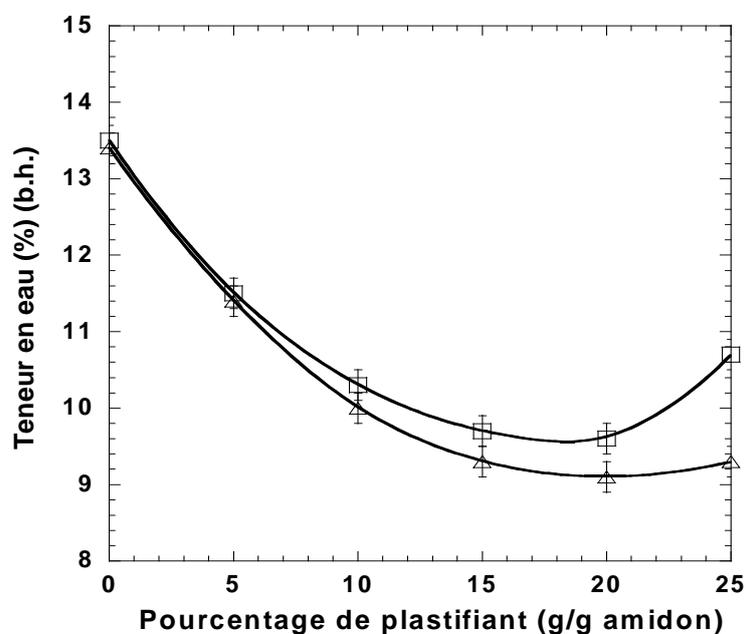


**Figure III.3-17.** Courbes de contrainte-déformation du film A30 après un stockage à différentes humidités relatives.

### III.3.4 Influence des plastifiants : glycérol et polysorb®

Nous avons indiqué dans la partie bibliographique le rôle important que jouent les plastifiants sur les propriétés des films à base d'amidon. Au cours de ce projet, nous nous sommes limités à l'étude de l'influence de deux d'entre eux sur les propriétés mécaniques en traction, le glycérol et le polysorb® qui est un mélange de glycérol et de sorbitol (50/50). L'objectif est d'améliorer l'allongement à la rupture des films.

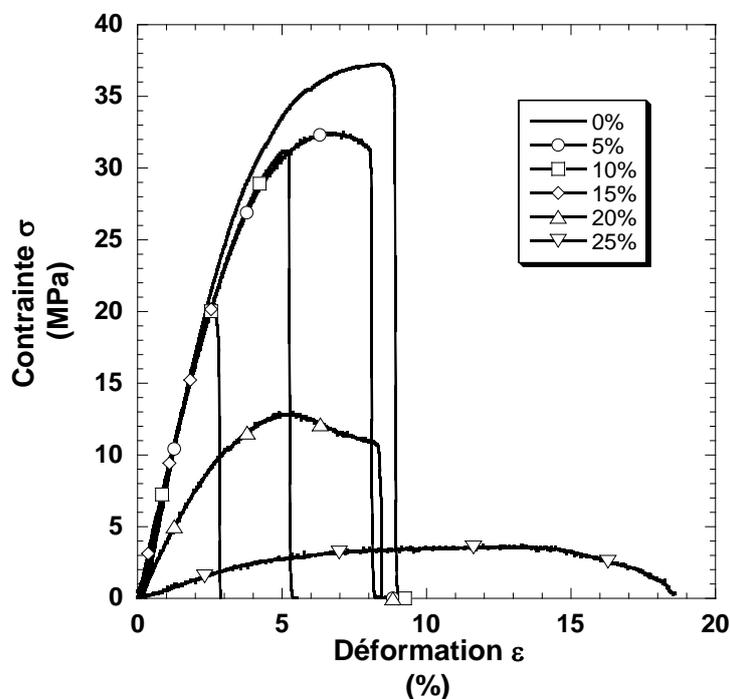
Nous avons représenté dans la Figure III.3-18 la teneur en eau des films A30 stockés à 58% d'HR en fonction de la teneur en glycérol et en polysorb®. Les teneurs en eau sont exprimées par rapport à la masse totale (eau+amidon+plastifiant). La teneur en plastifiant est, quant à elle, exprimée par rapport à la masse d'amidon. On observe deux domaines de variations : jusqu'à une teneur en glycérol de 20%, la teneur en eau diminue avec l'ajout de glycérol et atteint 9,7% à 20% de glycérol. Après avoir atteint un minimum, la teneur en eau des films augmente et atteint 10,7% à une concentration en glycérol de 25%. Dans le cas du polysorb®, la teneur en eau diminue et atteint 9,2% à une teneur en polysorb® de 25%. Une légère remontée de la teneur en eau est observée à cette concentration en polysorb® mais reste cependant faible.



**Figure III.3-18.** Variations de la teneur en eau des films A30 en fonctions des teneurs en glycérol (□) et en polysorb® (Δ). Films conditionnés à 25°C et 58% d'HR.

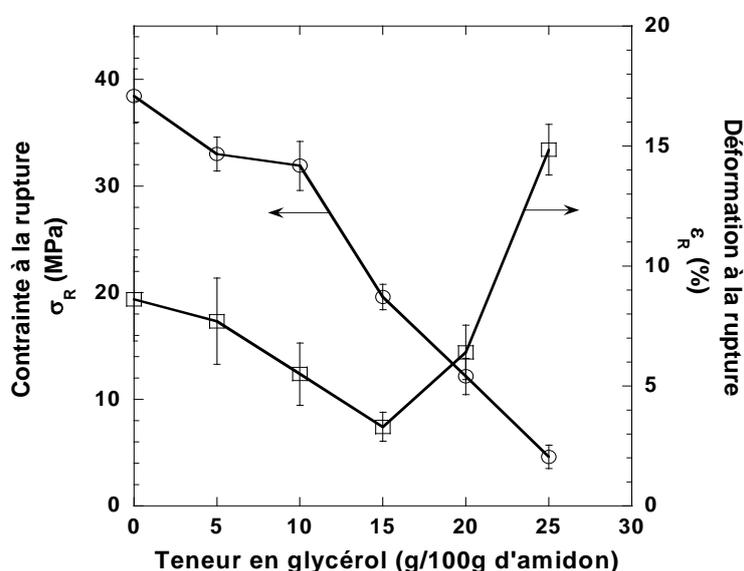
De telles variations de la teneur en eau en fonction de la teneur en plastifiant ont déjà été décrites pour des films d'amidon plastifiés obtenus par casting en présence de glycérol et/ou de sorbitol (Lourdin et al., 1997a; Lourdin et al., 1997b; Gaudin et al., 1999). Lourdin et al. (1997b) ont présenté des résultats similaires sur des films d'amidon de pomme de terre plastifiés avec du glycérol. La teneur en eau des films diminue de 13% à 11% pour des teneurs en glycérol de 0 et 10% respectivement puis augmente jusqu'à 15,4% pour environ 24% de glycérol. Un comportement similaire a également été observé par Gaudin et al. (1999) sur des films d'amidon de blé en présence de sorbitol, mais avec une augmentation de la teneur eau pour des teneurs en sorbitol supérieures à 30%. De travaux ont également mis en évidence l'influence des plastifiants sur les courbes de sorption de films d'amylose et d'amylopectine (Myllarinen et al., 2002). Ces auteurs ont montré que l'augmentation de la teneur en glycérol provoque une diminution de la teneur en eau à des HR faibles alors qu'elle provoque une augmentation de la teneur en eau aux RH élevées.

La Figure III.3-19 représente le comportement mécanique en traction du film A30 conservé à 58% d'HR à différentes teneurs en glycérol. La présence de glycérol diminue la contrainte maximale à la rupture, alors que la déformation à la rupture augmente sensiblement pour des teneurs en glycérol de 25%.



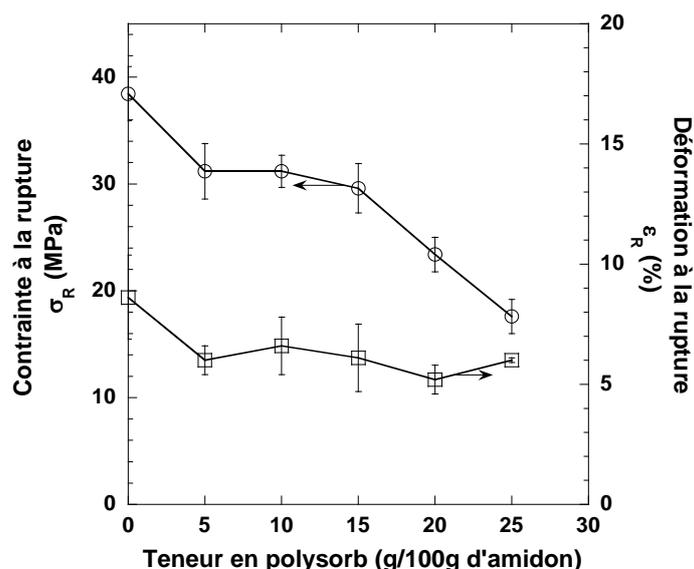
**Figure III.3-19.** Courbes de contrainte-déformation du film A30 en fonction de la teneur en glycérol. Films conditionnés à 58% d'HR.

Les variations de la contrainte à la rupture et de la déformation à la rupture des films A30 en fonction de la teneur en glycérol sont présentées dans la Figure III.3-20. Le comportement mécanique est partagé entre deux domaines, entre 0% et 15% de glycérol et au-delà de 15% de glycérol. Jusqu'à des teneurs en glycérol de 15%, l'ajout de glycérol induit une diminution de la contrainte et de la déformation à la rupture. Le matériau devient fragile et cassant. La contrainte diminue de 38 MPa à 21 MPa et la déformation à la rupture diminue de 8,5% à 4%. Pour des teneurs en glycérol supérieures à 15%, les films deviennent déformables et élastiques. La contrainte à la rupture continue de chuter et atteint 3 MPa pour les films contenant 25% de glycérol. Cependant, la déformation à la rupture augmente très fortement et atteint 15% pour 25% de glycérol. La valeur du module de Young diminue également pour des teneurs en glycérol supérieures à 15%.



**Figure III.3-20.** Contrainte à la rupture ( $\circ$ ) et déformation à la rupture ( $\square$ ) des films A30 en fonction de la teneur en glycérol. Films conditionnés à 58% d'HR.

La Figure III.3-21 représente l'influence de la teneur en polysorb® sur les propriétés mécaniques des films A30. Contrairement au glycérol, l'ajout de polysorb® provoque une modification continue du comportement mécanique des films. Jusqu'à une teneur de 25%, la contrainte à la rupture diminue progressivement et atteint 18 MPa. La déformation à la rupture est légèrement modifiée par l'ajout de polysorb® dans la gamme de concentrations et diminue progressivement pour atteindre une valeur de 6% à 25% de polysorb®.



**Figure III.3-21.**: Contrainte à la rupture ( $\circ$ ) et déformation à la rupture ( $\square$ ) des films A30 en fonction de la teneur en polysorb®. Films conditionnés à 58% d'HR.

Il a été montré que l'addition de plastifiant à des teneurs supérieures à environ 20% affecte le comportement mécanique des films en diminuant le module de Young, la contrainte à la rupture, et en augmentant la déformation à la rupture (Lourdin et al., 1997a; Mathew et Dufresne, 2002). Cependant, des effets d'antiplastification ont été décrits sur des films d'amidon plastifiés avec une diminution de la déformation à la rupture avec l'ajout de plastifiants pour des teneurs inférieures à 12% et 27% pour le glycérol (Lourdin et al., 1997a) et le sorbitol (Gaudin et al., 2000), respectivement. Ces effets ont été attribués à la modification des mobilités moléculaires locales à l'état vitreux en présence de plastifiant (Lourdin et al., 1997b).

### III.3.5 Conclusion sur la structure et les propriétés mécaniques des films d'amidons hydroxypropylés et hydrolysés

Un résultat essentiel est la cristallisation des amidons hydroxypropylés au cours du séchage par casting. Ce phénomène, jamais reporté pour ce type d'amidon, est assez surprenant puisque le degré de substitution est relativement élevé. En effet, la présence de groupements oxyde de propylène limite les possibilités d'association des macromolécules entre elles. Dans les conditions de casting choisies (identiques à celles employées pour les films de gélatine), le

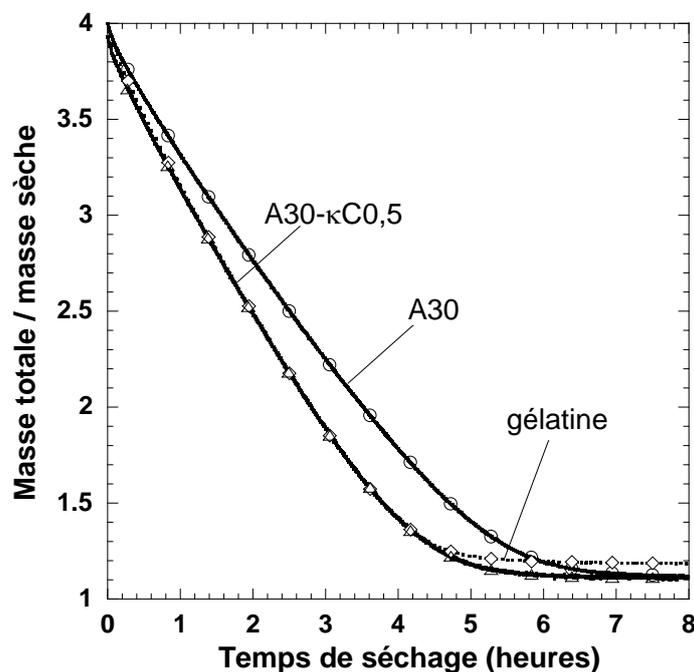
degré de cristallinité des films varie de 0% à 24% lorsque la masse molaire diminue. Cet effet est attribué à la réorganisation plus rapide des chaînes courtes alors que les chaînes longues enchevêtrées ont moins de mobilité. La concentration doit être plus importante pour que les chaînes courtes cristallisent par rapport aux chaînes longues. Lorsque cette concentration « critique » est atteinte au cours du séchage (liée à la solubilité et donc à la longueur de chaîne), les chaînes courtes se réorganisent plus vite grâce à leur mobilité supérieure et forment des cristaux plus nombreux et plus larges par rapport aux longues chaînes.

Un autre résultat surprenant est que les films présentent les mêmes caractéristiques mécaniques (en traction) indépendamment de la masse molaire de l'amidon. Pour tenter de distinguer l'effet de la cristallinité et l'effet de la masse molaire, nous avons préparé des films de différents degrés de cristallinité entre 0 à 16% pour une masse molaire constante (amidon A15). Ceci a été réalisé en faisant varier la température de casting entre 25 et 65°C. Les caractéristiques mécaniques des films en traction n'ont pas varié confirmant que la cristallinité n'intervient pas dans celles-ci dans les conditions de l'étude. Nous avons par ailleurs observé sur des films à l'état amorphe obtenus par thermomoulage et caractérisés par ATMD, que les propriétés mécaniques des différents échantillons d'amidon sont similaires à l'état vitreux. Cependant des différences ont été notées avec une diminution de la relaxation mécanique associée à  $T_g$  et des modules dans le domaine caoutchoutique lorsque la masse molaire diminuait. C'est finalement la teneur en eau qui joue un rôle essentiel sur les propriétés mécaniques des films, du fait de son effet plastifiant en abaissant la  $T_g$ . Les conditions de stockage détermineront le comportement mécanique des films. Ainsi, les propriétés mécaniques des films pourront correspondre à un comportement fragile aux faibles teneurs en eau pour passer progressivement à un comportement ductile avec l'augmentation de la teneur en eau. L'utilisation de plastifiant comme le glycérol à des teneurs supérieures à 15% (g/g d'amidon) permet également de stabiliser les propriétés mécaniques des films et d'apporter un comportement ductile.

### III.3.6 Effets du $\kappa$ -carraghénane

#### III.3.6.1 Séchage

L'influence du  $\kappa$ -carraghénane sur les cinétiques de séchage des mélanges a été étudiée pour tous les films d'amidon à des concentrations de 25% à 30%. La Figure III.3-22 présente la cinétique de séchage du mélange A30- $\kappa$ C0,5 à une concentration en amidon de 25% en comparaison de celle de l'amidon A30 et de la gélatine à une concentration identique. L'ajout de  $\kappa$ -carraghénane entraîne une accélération de la cinétique de séchage des films par rapport à l'amidon seul. On note que la vitesse de séchage des mélanges est alors comparable à celle de la gélatine. Cet effet a été observé pour toutes les concentrations en  $\kappa$ -carraghénane étudiées de 0,1 à 1%. Par ailleurs, les cinétiques sont identiques quelle que soit la teneur en  $\kappa$ -carraghénane dans le mélange. La teneur en eau à l'équilibre des mélanges est identique à celle de l'amidon, elle est de 11%. On note que la teneur en eau des films à base du mélange est inférieure à celle de la gélatine qui a une teneur en eau de 14% dans ces conditions.



**Figure III.3-22.** Cinétique de séchage de l'amidon A30 ( $\boxplus$ ) et du mélange A30- $\kappa$ C0,5 ( $\ominus$ ). La cinétique de séchage de la gélatine est également présentée. Conditions de séchage : 25°C et 40% d'HR.

## III.3.6.2 Teneurs en eau

Les teneurs en eau des films de  $\kappa$ -carraghénane, d'amidon, et des mélanges à la fin du séchage (40% d'HR), et après stockage à 58% d'HR sont reportées dans le Tableau III.3-7. Les films de  $\kappa$ -carraghénane ont une teneur de 17,5% à 40% d'HR et de 20% à 58% d'HR. Ces valeurs sont en accord avec les résultats d'isothermes de sorption reportés sur le  $\kappa$ -carraghénane (Mitsuiki et al., 1998).

Les films d'amidon de différentes masses ont une teneur en eau d'environ 11% à 40% d'HR et de 13,5% à 58% d'HR. Les teneurs en eau des mélanges sont similaires pour les différentes compositions étudiées et ne diffèrent pas de celles de l'amidon seul.

**Tableau III.3-7.** Teneurs en eau des films stockés à deux conditions d'humidité relative différentes.

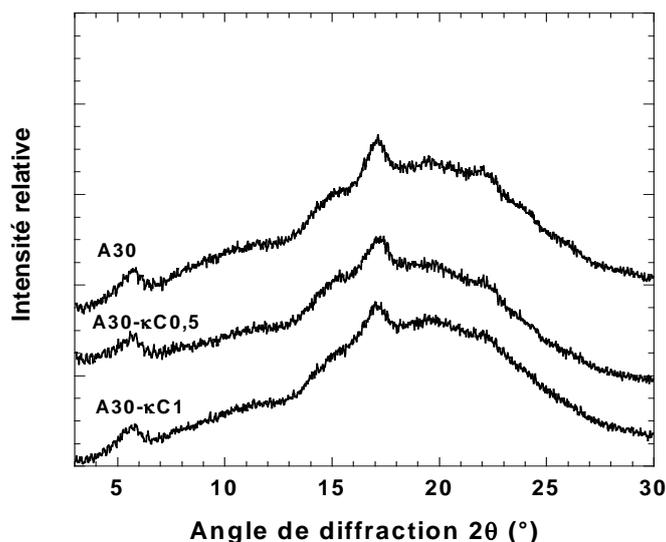
Humidité Relative	Teneur en eau dans les films $\pm 0,2\%$		
	$\kappa$ C	Amidons	Mélanges
40% <sup>i</sup>	17,5	11,0	11,2
58% <sup>ii</sup>	20,0	13,5	13,5

<sup>i</sup> obtenue après le séchage

<sup>ii</sup> après stockage à 58% d'HR.

## III.3.6.3 Cristallinité

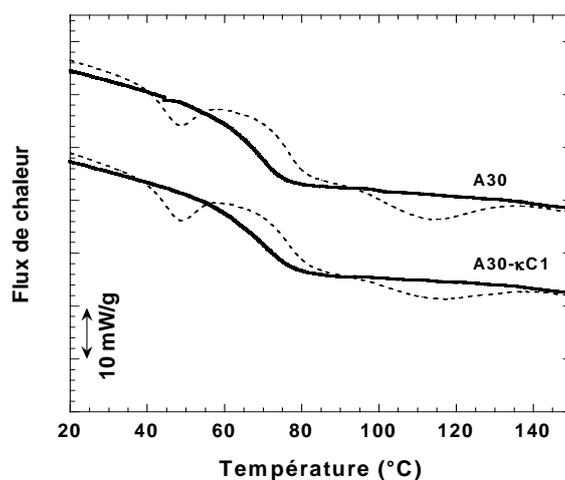
La **Figure III.3-23** représente les diagrammes de DRX des films à base des mélanges A30- $\kappa$ C1 et A30- $\kappa$ C0,5. Les spectres de diffraction des films A30 sont également représentés dans cette figure. On observe que les films à base du mélange ont une structure cristalline de type B comparable à celle décrite pour les films d'amidon. On observe que l'ajout de  $\kappa$ -carraghénane n'affecte pas de manière significative la cristallinité des films.



**Figure III.3-23** : Diagramme de diffraction des rayons X (DRX) pour les films A30- $\kappa$ C1, A30- $\kappa$ C0,5, et A30, obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR. Conditionnement des films à 58% d'HR. Teneur en eau des films 13,5%  $\pm$  0,2%.

#### III.3.6.4 Changements d'état et transitions de phase

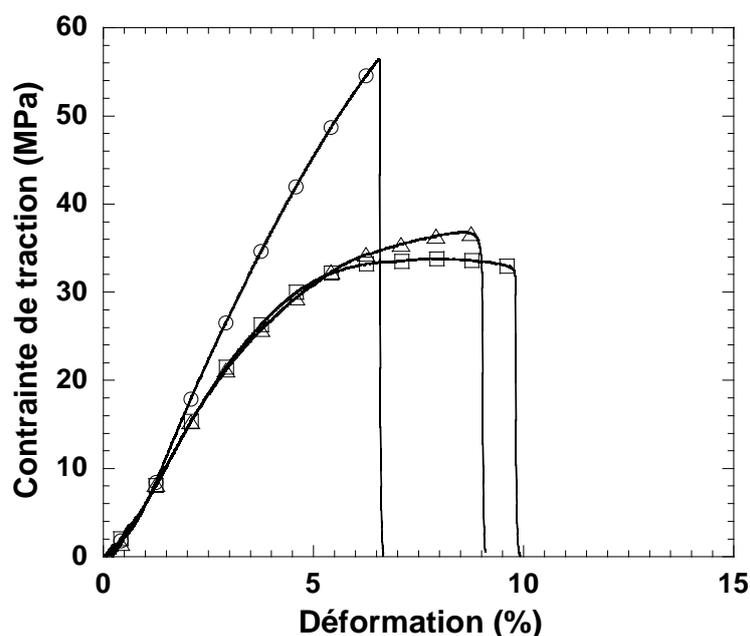
Le thermogramme d'AED du mélange A30- $\kappa$ C1 en comparaison avec l'amidon A30 sont présentés dans la figure Figure III.3-24. À une teneur en eau identique de 13,5%, aucune différence notable n'est observée entre les deux. L'ajout de  $\kappa$ -carraghénane n'a pas d'effet significatif sur la Tg des mélanges. Ceci a été observé sur tous les amidons filmogènes aux différentes concentrations en  $\kappa$ -carraghénane étudiées.



**Figure III.3-24**. Thermogramme d'AED des films A30- $\kappa$ C1 et A30 à une teneur en eau identique de 13,5%. 1<sup>er</sup> scan : ligne continues ; 2<sup>nd</sup> scan : ligne pointillées. Cinétique de température 3°C/min.

## III.3.6.5 Propriétés mécaniques

Les courbes représentatives de contrainte-déformation des films à base du mélange A60/ $\kappa$ -carraghénane sont représentées dans la Figure III.3-25. Les films de  $\kappa$ -carraghénane et d'amidon A30 sont également représentés dans cette figure. Les films de  $\kappa$ -carraghénane ont un comportement fragile avec une rupture dans le domaine élastique. Le module de Young (E) est de 1,1 GPa, la contrainte à la rupture ( $\sigma_R$ ) est d'environ 57 MPa, et la déformation à la rupture ( $\epsilon_R$ ) est de 7%. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature concernant les propriétés mécaniques en traction de films de  $\kappa$ -carraghénane obtenus par casting (Park et al., 2001; Briones et al., 2004). Les propriétés mécaniques des mélanges sont similaires à celles de l'amidon seul et ne sont pas modifiées de manière significative par l'ajout de  $\kappa$ -carraghénane dans la gamme de concentrations étudiée comme le montre le Tableau III.3-8.



**Figure III.3-25.** Courbe de contrainte-déformation des films de  $\kappa$ -carraghénane (O), d'amidon A30 ( $\Delta$ ), et du mélange A30- $\kappa$ C0,5 ( $\square$ ). Conditionnement : 25°C et 58% d'HR.

**Tableau III.3-8.** Caractéristiques mécaniques en traction des films stockés à 58% d'HR.

Échantillon	Module de Young (E) (GPa)	Contrainte à la rupture ( $\sigma_R$ ) (MPa)	Déformation à la rupture ( $\epsilon_R$ ) (%)
A60	0.89( $\pm$ 0.08)	32.4( $\pm$ 2.2)	9( $\pm$ 1.2)
$\kappa$ C	1.11( $\pm$ 0.04)	57.2( $\pm$ 1.3)	6.8( $\pm$ 2.1)
Mélanges	A60- $\kappa$ C1	0.90( $\pm$ 0.02)	9.2( $\pm$ 2.0)
	A60- $\kappa$ C0.1	0.91( $\pm$ 0.02)	9.4( $\pm$ 2.5)

### III.3.6.6 Conclusion sur l'effet du $\kappa$ -carraghénane

Malgré les effets de synergie entre les constituants en solution et lors de la gélification que nous avons décrit précédemment, les propriétés physiques des films à base des mélanges ne diffèrent pas de celles des films à base d'amidon seul. L'amidon, constituant majoritaire des mélanges, gouverne les propriétés physiques à l'état solide. Le seul effet notable de la présence de  $\kappa$ -carraghénane est une accélération de la cinétique de séchage par rapport à celle des dispersions d'amidon seul. L'hypothèse de l'incompatibilité thermodynamique entre les constituants que nous avons suggérée sur la base de mesures rhéologiques pourrait expliquer cet effet par la présence d'hétérogénéités dans le film lors de sa formation. C'est sur cette base qu'une diminution des temps de séchage de gels de gélatine en présence de sorbitol a été interprétée (Menagalli et al., 1999). Ces auteurs ont suggéré que la séparation de phase qui se produit entre la gélatine et le plastifiant (teneur en sorbitol > 35% g/g de gélatine) induit des hétérogénéités dans le système ce qui a pour effet de perturber les cinétiques et de provoquer une accélération du séchage. Nous suggérons que les effets de concentrations du  $\kappa$ -carraghénane et de l'amidon au cours de la formation du gel et lors du séchage provoqués par la séparation de phase induisent des hétérogénéités qui sont responsables de l'accélération de la vitesse de séchage.





## *CHAPITRE IV: DISCUSSION GÉNÉRALE*



## Discussion générale

Ce travail, axé sur des films amidon-carraghénane obtenus par casting, avait pour objectif principal de remplacer la gélatine pour la fabrication de gélules pharmaceutiques dures. L'intérêt était de combiner les propriétés filmogènes d'un amidon de pois hydroxypropylé hydrolysé facilement solubilisable dans l'eau à des concentrations importantes (25-30%) avec celles du  $\kappa$ -carraghénane sous forme  $K^+$  utilisé pour son aptitude à former des gels au refroidissement. La température de gélification du  $\kappa$ -carraghénane était contrôlée en ajustant la concentration ionique totale ( $C_T$ ) du système. Au cours de cette étude, la concentration ionique totale du système a été maintenue à  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l pour obtenir une température de gélification du  $\kappa$ -carraghénane seul de 25°C. Les propriétés des mélanges filmogènes ont été déterminées, d'une part, à l'état de solution et lors de la gélification par des mesures rhéologiques et, d'autre part, à l'état solide en terme de structure et de propriétés mécaniques en relation avec les phénomènes qui se produisent au cours de la formation des films.

### IV.1 EFFETS DE SYNERGIE EN SOLUTION ET À L'ÉTAT DE GEL

#### IV.1.1 Constituants seuls

Les amidons hydroxypropylés hydrolysés (HPPS), utilisés à des concentrations de 25% et plus, sont les constituants majoritaires des mélanges que nous avons étudiés. Ils présentent à 50°C et à 20°C un comportement de solution concentrée. La présence de quelques fragments de grains d'amidons, et de quelques particules insolubilisées, peut être à l'origine du seuil d'écoulement et de l'allure inhabituelle des spectres mécaniques au niveau de  $G'(\omega)$ . Des comportements rhéologiques assez comparables ont été observés sur des solutions concentrées d'amidons hydroxypropylés non hydrolysés à base de pois, de maïs, et de pomme de terre (Vorwerk *et al.*, 2004). Ces auteurs attribuent également ces comportements à la présence de quelques fragments de grains insolubilisés. Dans notre étude, le comportement viscoélastique avec  $G'' \propto \omega^{0,9}$  et la transparence des empois indiquent que la majorité des constituants des HPPS étudiés sont solubilisés. Les dispersions d'amidons peuvent être donc considérées comme une solution macromoléculaire aux températures de l'étude.

Concernant le  $\kappa$ -carraghénane, comme attendu, il présente à 50°C un comportement de solution macromoléculaire, les chaînes de  $\kappa$ -carraghénane étant dans une configuration de pelote statistique à cette température.

À 20°C, le  $\kappa$ -carraghénane se présente sous une forme ordonnée d'hélices qui ont la propriété de s'agréger et de former un réseau responsable de la gélification. Les températures de gélification et de fusion sont d'environ 23°C et 34°C, respectivement, quelle que soit la concentration en  $\kappa$ -carraghénane, la concentration ionique totale  $C_T$  du milieu étant maintenue constante à  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l en ajustant la concentration en KCl. Ces résultats sont par ailleurs en accord avec le diagramme d'état établi par Rochas (1982) sur le  $\kappa$ -carraghénane sous forme  $K^+$ . Toutefois, pour des faibles concentrations en  $\kappa$ -carraghénane (0,1% et 0,25%), les transitions n'ont pas été détectées par des mesures rhéologiques. La concentration en polymère est trop faible pour former un réseau bien que les transitions conformationnelles pelote-hélice et hélice-pelote aient été observées par microcalorimétrie.

#### IV.1.2 Mélanges

En raison de la concentration importante de l'amidon dans le milieu, le comportement rhéologique des mélanges à 50°C reflète la contribution majeure de l'amidon en solution. La viscosité apparente des mélanges est largement supérieure à celle des constituants seuls. De plus, le comportement rhéofluidifiant des mélanges est accentué par rapport à celui de l'amidon seul. Lors de la gélification, le comportement rhéologique des mélanges à 20°C est largement influencé par la présence de  $\kappa$ -carraghénane même à des concentrations très faibles. Ces effets ont été démontrés pour toutes les concentrations en  $\kappa$ -carraghénane étudiées, avec  $C_T$  égale à  $1,3 \times 10^{-2}$  eq/l, en ajustant la teneur en KCl. Les mélanges forment un gel dont les modules  $G'$  et  $G''$  sont largement supérieurs (plus d'une décade) à ceux des gels du  $\kappa$ -carraghénane seuls dans les mêmes conditions ioniques. Les amidons hydroxypropylés ne formant pas de gel, la gélification du système est attribuée à la présence du  $\kappa$ -carraghénane.

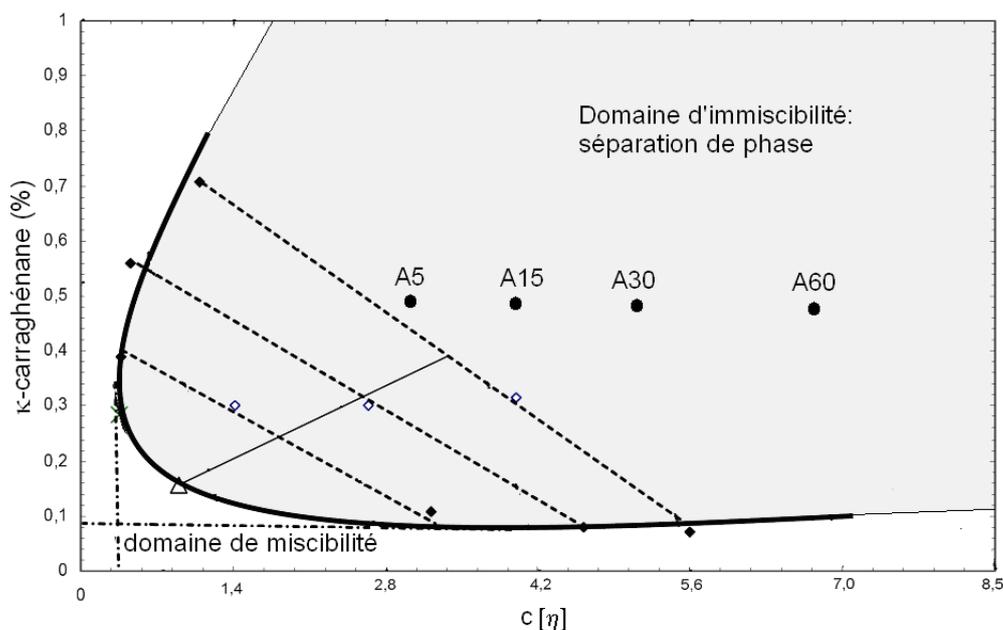
La température de gélification des mélanges est quasiment constante à 34°C et semble indépendante de la masse molaire de l'amidon. Les températures de transition  $T_{GEL}$  et  $T_{FUS}$  des mélanges sont supérieures de 10°C et d'environ 20°C, respectivement, par rapport à celles du  $\kappa$ -carraghénane seul. Pour des faibles concentrations en  $\kappa$ -carraghénane dans les mélanges

(0,1% et 0,25%), la gélification se produit dans des conditions où aucune transition n'a été détectée par des mesures rhéologiques pour le  $\kappa$ -carraghénane seul pour lequel la concentration est trop faible pour former un réseau. Les températures de transition déterminées par microcalorimétrie correspondent à la transition conformationnelle pelote-hélice et la transition hélice-pelote impliquant la fusion également des agrégats. Les données rhéologiques correspondent étroitement avec les températures de transition conformationnelle, confirmant que la gélification des mélanges est due à l'existence d'agrégats d'hélices de  $\kappa$ -carraghénane.

Ces effets de synergie entre les amidons hydroxypropylés et hydrolysés et le  $\kappa$ -carraghénane ont été observés aussi bien en solution que lors de la gélification. Il est largement reconnu que les propriétés rhéologiques de mélanges à base de biopolymères peuvent subir des modifications spectaculaires par rapport aux constituants seuls (Harding *et al.*, 1995). Le terme synergie est classiquement utilisé pour décrire les phénomènes dans lesquels les effets observés pour un mélange de deux constituants sont plus importants que la somme des effets de chacun des constituants pris séparément.

Les effets de synergie dont l'origine a été discutée en détail pour les mélanges polysaccharides/polysaccharides par Morris (1995) peuvent être décrits par deux types de mécanismes: l'existence d'interactions intermoléculaires (associations moléculaires), d'une part, et les phénomènes de séparations de phase (répulsions moléculaires), d'autre part. Les interactions intermoléculaires ont été proposées pour expliquer par exemple les phénomènes de synergie observés dans les mélanges xanthane-mannane (caroube, glucomannane) et  $\kappa$ -carraghénane-caroube (Morris, 1995; Morris, 1998). Ce phénomène impliquerait que les molécules dissimilaires formeraient des associations intermoléculaires ordonnées assimilables à des zones de jonction coopératives favorisant la formation d'un gel couplé (Dea *et al.*, 1977; Williams et Phillips, 1995). Les phénomènes de séparation de phase qui résultent de l'incompatibilité thermodynamique entre les constituants ont également été évoqués pour décrire les effets de synergie dans les mélanges de polysaccharides (Morris, 1995). Les travaux de Zasytkin *et al.* (1997) apportent également des informations sur la relation structure-propriété de nombreux gels à base de mélanges de polysaccharides. Ces auteurs montrent que les séparations de phase peuvent entraîner des modifications importantes du comportement rhéologique des gels avec notamment une augmentation des modules lorsque l'agent gélifiant se trouve concentré dans la phase continue.

Si l'augmentation de la viscosité, des modules  $G'$  et  $G''$ , et le déplacement des températures de transitions indiquent un effet de synergie, il nous faut discuter de ces deux mécanismes dans le cas présent. Les effets d'associations intermoléculaires ont été suggérés pour expliquer les phénomènes de synergie dans les mélanges amidon de maïs/ $\kappa$ -carraghénane mais n'ont cependant pas été clairement démontrés (Eidam *et al.*, 1995; Lai *et al.*, 1999). Par contre, les phénomènes d'incompatibilité entre les macromolécules d'amidon en présence d'autres polysaccharides ont souvent été décrits aussi bien en solution (Christianson *et al.*, 1981; Kalichevsky *et al.*, 1986; Kalichevsky et Ring, 1987; Closs *et al.*, 1999; Chaudemanche, 2007) que lors de la gélification (Kalichevsky *et al.*, 1986; Alloncle et Doublier, 1991; Tecante et Doublier, 2002). Un nombre important de polysaccharides (carboxyméthylcellulose, xanthane, gomme guar) induisent des augmentations importantes de la viscosité lorsqu'ils sont en présence de molécules d'amidons solubilisés (principalement de l'amylose) (Christianson *et al.*, 1981). Ces comportements ont été également attribués à des effets d'exclusion entre l'amylose, l'amylopectine et le polysaccharide ajouté qui se concentrent mutuellement dans le milieu. Nous avons indiqué que Chaudemanche (2007) a décrit le diagramme de phase à 25°C de mélanges  $\kappa$ -carraghénane/amidon de maïs waxy hydroxypropylé pour des compositions en amidon jusqu'à 10% et jusqu'à 1% pour le  $\kappa$ -carraghénane (Partie I : Figure I.3-1). Ce diagramme de phase est de nouveau présenté dans la Figure IV.1-1 en reportant en abscisses la concentration réduite  $c[\eta]$ . Même si le type d'amidon est différent de celui utilisé dans notre étude et que sa masse molaire est largement supérieure à celle de nos échantillons ( $1 \times 10^8$  g/mol;  $[\eta]: 141,2$  ml/g), nous pouvons considérer que ce système est relativement proche de celui étudié au cours de ce travail. Connaissant la viscosité intrinsèque des échantillons d'amidon hydroxypropylés, nous avons situé dans ce diagramme les compositions étudiées pour une concentration en amidon de 25% et de 0,5% de  $\kappa$ -carraghénane. On observe que nos systèmes se situent largement dans la zone d'immiscibilité. Nous avons tenté de mettre en évidence le caractère biphasique qui résulterait de ce processus dans le cas des mélanges amidons de pois hydroxypropylés et hydrolysés /  $\kappa$ -carraghénane au moyen de la microscopie confocale à balayage laser (MCBL) en marquant de manière covalente chacun des constituants à l'aide de fluorophores (RITC pour l'amidon, FITC pour le  $\kappa$ -carraghénane). Malheureusement, la concentration très importante de l'amidon par rapport au  $\kappa$ -carraghénane ne nous a pas permis dans ces gammes de concentrations d'observer une séparation de phase dans les gammes de concentrations étudiées.



**Figure IV.1-1.** Diagramme de phase de mélanges amidon de maïs waxy/-carraghénane à 25°C (Chaudemanche, 2007). L'axe des abscisses représente la viscosité réduite  $c[\eta]$ . Les mélanges à base des différents amidons de l'étude en présence de 0,5% de  $\kappa$ -carraghénane sont représentées dans le diagramme à titre de comparaison.

Lors de la gélification, Kalichevsky *et al.* (1986) ont mis en évidence l'effet du dextrane sur les gels d'amylose (3,2%). Une augmentation croissante de la rigidité du gel d'amylose a été observée (3 fois supérieure par rapport à l'amylose seule) jusqu'à des concentrations en dextrane de 3%. Ces auteurs ont montré qu'en maintenant ces mélanges à une température de 75°C pour éviter la gélification, le système se séparait progressivement en deux phases distinctes.

Sur la base des phénomènes d'incompatibilité reportés entre les molécules d'amidons et d'autres polysaccharides (Kalichevsky *et al.*, 1986; Kalichevsky *et Ring*, 1987; Morris, 1990; Closs *et al.*, 1999) et notamment le  $\kappa$ -carraghénane (Tecante *et Doublier*, 2002; Chaudemanche, 2007), nous suggérons que les effets de synergie observés pourraient être attribués à l'incompatibilité entre les molécules d'amylopectine et d'amylose avec le  $\kappa$ -carraghénane au sein du milieu. Ceci entraîne une concentration mutuelle de chacun des constituants dans le milieu expliquant l'augmentation spectaculaire de la viscosité apparente, le renforcement du comportement rhéofluidifiant et l'augmentation des modules viscoélastiques. Ces comportements sont d'autant plus importants que la concentration des constituants et la masse molaire des amidons sont élevées.

Dans le mélange à chaud, malgré leur très faible concentration dans le système, les molécules de  $\kappa$ -carraghénane seraient, du moins partiellement, exclues du volume occupé par l'amidon majoritaire. Ceci expliquerait la formation du réseau tridimensionnel au refroidissement, celui-ci étant enrichi en  $\kappa$ -carraghénane. Les écarts des températures de transition des mélanges par rapport à celles du  $\kappa$ -carraghénane seul sont, respectivement, de 10°C à la gélification et de 20°C à la fusion (Tableau III.2-3). Sur la base du diagramme de Rochas (Figure I.2-14), les températures obtenues correspondent à une concentration ionique totale  $C_T$  de  $1,84 \cdot 10^{-2}$  eq/l à partir des températures de gélification et de  $5,3 \cdot 10^{-2}$  eq/l à partir des températures de fusion. Cependant,  $C_T$  dépendant à la fois de la concentration en sel et de la concentration en carraghénane, sur la base de la relation  $C_T = C_S + \bar{\gamma} C_P$  (Rochas et Rinaudo, 1980), il nous est impossible d'estimer avec précision à quel point le  $\kappa$ -carraghénane est concentré du fait du processus de séparation de phase. Tout au plus, la différence constatée entre les valeurs de  $C_T$  à partir des températures de fusion et de gélification pourrait suggérer que la séparation de phase initiée dès que le mélange est préparé à 50°C, comme le montrent les mesures rhéologiques à cette température, se poursuit tout au long du refroidissement même au cours de la gélification. Finalement, les mélanges obtenus pourraient donc être considérés comme des gels remplis, le carraghénane formant un réseau structuré renforcé par la présence d'amidon.

## IV.2 CINÉTIQUE ET ÉVOLUTION DE LA STRUCTURE AU COURS DU SÉCHAGE

Les propriétés physiques et la structure des films obtenus par casting sont étroitement liées à la nature des macromolécules qui les constituent et également au procédé de fabrication du film. La mise en place de la structure résulte des phénomènes de gélification, de séparation de phase, de cristallisation au cours de la formation du film. Nous discuterons dans cette partie les réorganisations moléculaires qui se produisent au cours de la formation des films d'amidons de différentes masses molaires obtenus dans différentes conditions en relation avec les mobilités moléculaires.

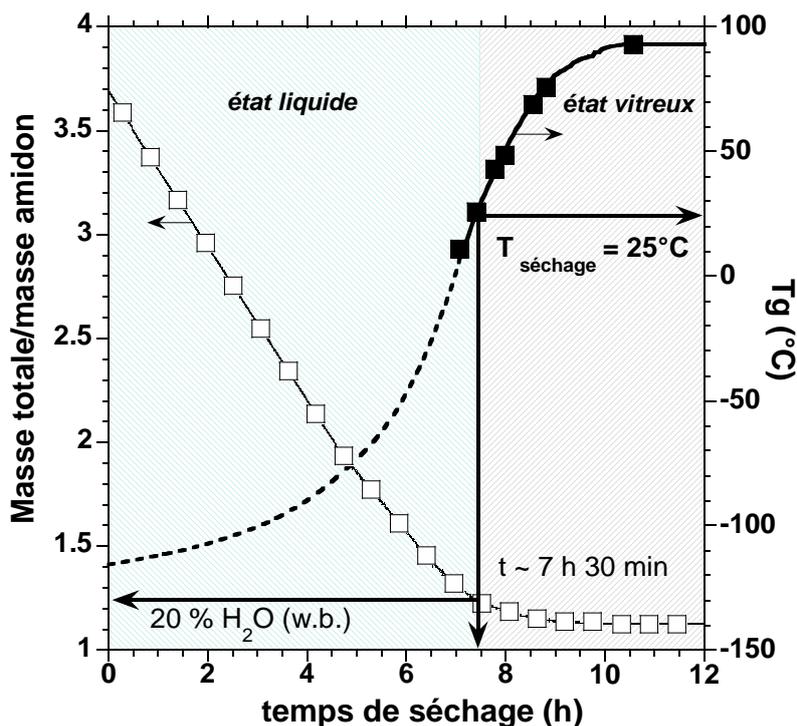
### IV.2.1 Réorganisations moléculaires au cours du séchage

#### IV.2.1.1 Mécanismes de cristallisation

La cristallisation d'amidons non modifiés, dans des conditions d'hydratation et de température proches de celles utilisées dans ce travail a été reportée dans des travaux antérieurs (Katz, 1930; Rindlav et al., 1997; Rindlav-Westling et al., 2002). En revanche, la cristallisation d'amidons hydroxypropylés sous forme B au cours du séchage est un fait assez surprenant qui sera développé un peu plus loin. Cette cristallisation se produit malgré la présence de groupements oxyde de propylène greffés sur les chaînes d'amidons et leur taux de substitution important (1 groupement oxyde de propylène pour 5 unités glucose) qui, théoriquement, sont introduits pour empêcher toute réorganisation et pour augmenter la solubilité.

Comme pour les polymères synthétiques, la cristallisation des biopolymères, est gouvernée par les mécanismes de nucléation / propagation qui se produisent entre la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) et la température de fusion ( $T_m$ ) (Slade et Levine, 1991; Jouppila et Roos, 1997). La première étape de nucléation est favorisée aux températures proches de  $T_g$  et donne de nombreux cristaux de petite taille alors que la seconde étape de propagation favorisée aux températures proches de  $T_m$  donne des cristaux moins nombreux et plus gros. La cinétique est maximum pour une température qui dépend de  $T - T_g$ . Dans un mécanisme de séchage de biopolymères, la température de cristallisation est constante (25°C dans ce travail), mais les  $T_g$  et  $T_m$  varient constamment avec la diminution de la teneur en eau. Les

mécanismes de réorganisation résultent probablement d'une combinaison des différents phénomènes au cours du temps de déshydratation. La  $T_m$  n'a pas été mesurée en fonction de la teneur en eau mais l'évolution de la  $T_g$  peut être évaluée. Celle-ci a été calculée à l'aide du modèle de Gordon et Taylor et des données expérimentales de  $T_g$  en fonction de la teneur en eau. Elle est combinée à une courbe typique de séchage sur la Figure IV.2-1 (amidon A15). La portion de courbe en pointillés à des teneurs en eau supérieures à 25% indique les  $T_g$  inaccessibles expérimentalement.



**Figure IV.2-1.** Variations de la  $T_g$  en fonction du temps de séchage pour A15. Données expérimentales de  $T_g$  (■). La variation de la  $T_g$  calculée à partir du modèle de Gordon et Taylor est représentée en traits continus pour des teneurs en eau inférieures à 25% et en traits pointillés pour des teneurs en eau supérieures à 25%. La teneur en eau critique et le temps correspondant au cours du séchage à  $25^\circ\text{C}$  sont représentés par des flèches. La cinétique de séchage est également indiquée (□).

Cette construction montre clairement l'augmentation de la  $T_g$  au cours du séchage. À partir de cette figure, le temps de séchage et la teneur en eau pour lesquels la  $T_g$  des échantillons est égale à  $25^\circ\text{C}$  sont déterminés. Cette teneur en eau d'environ 20% atteinte à environ 7h30 pour l'échantillon A15 marque le franchissement de la transition entre l'état liquide/caoutchoutique et l'état vitreux. À partir de cette concentration les mobilités moléculaires très limitées stoppent la cristallisation. De plus cette transition induit le ralentissement de la perte d'eau

observée à partir de ce temps de séchage. Ce temps de transition caoutchoutique-vitreux de l'ordre de 7h30 est du même ordre de grandeur que le temps d'arrêt de la cristallisation observé au cours des cinétiques de cristallisation par diffraction des rayons-X (Figure III.3-6). Peu de travaux font référence aux mécanismes de cristallisation qui se produisent au cours de la formation de films de polymères. Néanmoins, nos résultats sont en accord avec les travaux de Ngui et Mallapragada (1999) qui ont étudié les différents régimes qui se produisent au cours du séchage de films à base de polyalcool vinylique. Ces auteurs ont notamment montré par des mesures thermomécaniques dynamiques réalisées au cours du séchage que la diminution brusque de la vitesse de séchage est due à une transformation du polymère d'un état caoutchoutique à un état vitreux. À partir de cette transition, la vitesse de séchage est extrêmement lente en raison de la mobilité moléculaire réduite. Ceci conforte les observations que nous avons réalisées au cours de cette étude et suggère que la transition caoutchoutique-vitreux est un phénomène important dans la formation de films par casting.

#### IV.2.1.2 Effet de la température de séchage

La température de séchage de 25°C à 65°C gouverne le taux de cristallinité des films. Ainsi les films A15 ( $3,3 \times 10^4$  g/mol) qui ont un degré de cristallinité de 16% à une température de séchage de 25°C sont totalement amorphes à 65°C. En fait, l'augmentation de la température accélère le séchage ce qui limite le temps nécessaire à la cristallisation. Les macromolécules d'amidon ont moins de temps pour se réorganiser ; de plus le système franchit plus rapidement la transition vitreuse stoppant plus tôt les mobilités moléculaires. Des effets similaires de la température de séchage sur la structure des films d'amidon ont été observés sur des amidons de pomme de terre (Rindlav et al., 1997).

A température constante, le temps de séchage peut être modulé par l'humidité relative environnante et modifier la cristallinité de l'amidon comme l'ont montré Rindlav et al. (1997). L'augmentation de l'humidité relative augmente le temps de séchage ce qui induit une augmentation de la cristallinité des films.

#### IV.2.1.3 Effet de la masse molaire sur la cristallinité de l'amidon

Les variations de  $T_g$  au cours du séchage des échantillons A5 ont été déterminées sur les mêmes bases que celles employées précédemment pour les films A15. A 25°C le passage de la transition vitreuse se produit à 6h30, soit 1h plus tôt qu'avec l'amidon A15. Malgré une réorganisation qui serait stoppée plus tôt dans le processus de séchage, la diminution de la masse de l'amidon induit une augmentation importante de la cristallinité. En effet, les films A5 qui ont la masse molaire la plus faible ( $4,7 \times 10^4$  g/mol) ont un degré de cristallinité de 24% alors que les films A160 qui ont la masse molaire la plus importante ( $1,6 \times 10^6$  g/mol) sont amorphes. Un tel comportement se rencontre pour les polymères synthétiques (Ergoz et al., 1972) et a également été observé pour l'amylose (Potocki-Veronese et al., 2005). La réorganisation des chaînes longues requiert plus de temps en raison des effets d'enchevêtrement et de viscosité, alors que les chaînes courtes, plus mobiles, peuvent se réorganiser plus rapidement. Au cours du processus de séchage, cet effet est largement prépondérant devant l'effet de la transition vitreuse.

#### IV.2.2 Effet de la séparation de phase sur les cinétiques de séchage

Nous avons observé que l'ajout de  $\kappa$ -carraghénane accélère les cinétiques de séchage des mélanges par rapport aux solutions d'amidon seul. Un comportement similaire a été observé sur le séchage de gels de gélatine qui est accéléré en présence de 35% de sorbitol (g/g de gélatine) (Menagalli et al., 1999). Ces auteurs ont attribué ce phénomène à la séparation de phase qui se produit pour des teneurs en sorbitol élevées. La présence d'hétérogénéités au sein du milieu serait à l'origine des cinétiques plus rapides. Nous pouvons suggérer que les effets observés lors du séchage des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane pourraient également être attribués à la séparation de phase et à la présence d'hétérogénéités au sein du milieu favorisées par la concentration du  $\kappa$ -carraghénane dans la phase continue.

### IV.3 STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS DES FILMS

#### IV.3.1 Films à base des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane

À l'opposé du comportement des mélanges en milieu dilué, gouverné par des effets de synergie qui résultent de l'incompatibilité entre les constituants, et notamment par la présence de  $\kappa$ -carraghénane qui contrôle la gélification, les teneurs en eau et les propriétés physiques à l'état solide dépendent uniquement de la présence de l'amidon largement majoritaire. Ceci a été observé pour tous les amidons étudiés à différentes concentrations en  $\kappa$ -carraghénane.

#### IV.3.2 Films d'amidon

##### IV.3.2.1 Structure cristalline

La formation de cristaux dans le cas des amidons hydroxypropylés au cours du séchage n'a jamais été décrite. Il a été suggéré que lors de la réaction d'hydroxypropylation les groupements oxyde de propylène sont localisés préférentiellement au sein des régions amorphes du grain d'amidon composé majoritairement d'amylose (Blanshard, 1987). Ceci a été confirmé sur des amidons hydroxypropylés de maïs et de pomme de terre : l'amylose est plus substituée que l'amylopectine pour laquelle la modification est surtout localisée au niveau des points de branchement (Kavitha et BeMiller, 1998; Shi et BeMiller, 2000). Cette hétérogénéité du greffage pourrait expliquer la cristallisation des amidons hydroxypropylés qui impliquerait surtout les chaînes d'amylopectine et des portions de chaînes d'amylose non-substituées.

Les températures de fusion relevées sur tous les films d'HPSS (environ 110-120°C à une teneur en eau de 13,5%) sont comparables à celles reportées sur des films d'amidon cireux (waxy) (Kalichevsky et al., 1992) et de pomme de terre (Rindlav-Westling et al., 2002) à des teneurs en eau équivalentes. Cette température de fusion diminue avec la réduction de la masse molaire des films, alors que le degré de cristallinité augmente. Ce phénomène est généralement observé pour les polymères et s'explique par le fait que les chaînes courtes se réorganisent sous forme de cristaux plus gros et plus denses en comparaison avec les longues chaînes enchevêtrées qui forment de longs cristaux. Dans le cas des films A15,

l'augmentation de la température de fusion avec la température de séchage pourrait être attribuée à des effets de nucléation/propagation, la propagation étant favorisée aux températures élevées. Pour ce qui concerne les macromolécules engagées dans la structure cristalline, étant donné que la température de fusion de l'amylose recristallisée est habituellement largement supérieure à ce qui est observé dans ce travail (environ 160°C pour une teneur en eau de 13%) (Shogren, 1992), nous pourrions suggérer que les chaînes d'amylopectine sont responsables de la cristallisation. Cependant, les chaînes d'amylose étant les principales cibles lors de la réaction d'hydrolyse, des fragments courts cristallisés peuvent être présents. De plus, comme la température de fusion est dépendante de la taille des chaînes, il est difficile de confirmer cette hypothèse. Nous savons que la cristallisation de l'amylopectine est un processus très lent par rapport à celle de l'amylose qui se réorganise très rapidement. Ainsi, il a été montré que pour une température de casting de 25°C, les films d'amylopectine sont totalement amorphes alors que les films d'amylose ont un degré de cristallinité élevé (environ 35%) (Rindlav-Westling et al., 2002).

Des phénomènes de co-cristallisation entre l'amylose et l'amylopectine ont également été suggérés (Mestres et al., 1988). Hulleman et al. (1999) ont montré le rôle important que jouent les chaînes d'amylose lors de la cristallisation de films thermomoulés qui cristallisent sous forme de cristaux de type B : l'amylose déclencherait la cristallisation de l'amylopectine. La co-cristallisation impliquerait la présence de cristaux constitués de doubles hélices amylose-amylopectine ou d'ensembles de doubles hélices d'amylose et de doubles hélices d'amylopectine. La largeur des endothermes de fusion que nous avons constatée, pourrait être attribuée à cette hétérogénéité qui règne au sein des cristaux.

Nous pourrions également faire l'hypothèse que les groupements oxyde de propylène se trouvent à l'intérieur de la cavité centrale présente entre les doubles hélices formant la structure hexagonale de type B. Nous avons estimé la teneur en eau présente dans les cristaux à environ 20% alors que la modélisation indique que les cristaux de type B peuvent en contenir 27%. Ceci indiquerait que la cavité centrale n'est pas comblée uniquement par des molécules d'eau.

Il a été démontré dans le cas d'amidons de pomme de terre non-modifiés que des groupements phosphates peuvent être présents à l'intérieur de la cavité du cristal (Blennow et al., 2002). L'organisation de ces groupements à l'intérieur des domaines cristallins de l'amylopectine a

été déterminée à l'aide de modélisations moléculaires (O'Sullivan et Perez, 1999), permettant de définir un modèle qui décrit comment les groupements phosphates présents sur la fonction hydroxyle C-6 de l'unité glucose peuvent être alignés à l'intérieur de la cavité. Dans cette position ils ne perturbent pas la formation des hélices et leur association. Cependant, le manque d'information concernant la possibilité pour les groupements oxyde de propylène de pouvoir s'immiscer à l'intérieur de la cavité reste difficile à confirmer.

#### IV.3.2.2 Distribution de l'eau

Pour les films A15, nous avons constaté une diminution de la Tg avec l'augmentation du taux de cristallinité. Ces résultats sont en désaccord avec ceux reportés habituellement sur les polymères synthétiques (Jin et al., 1984) et également sur l'amidon (Slade et Levine, 1989; Roos, 1995). En effet, il est généralement reporté que la présence de cristaux augmente la Tg en raison d'une réduction de la mobilité dans la phase amorphe. Simultanément on observe que la teneur en eau augmente avec l'augmentation du degré de cristallinité des films. On note également une augmentation de la différence entre la Tg du matériau semi-cristallin (1<sup>er</sup> scan) avec la Tg du matériau totalement amorphe (2<sup>nd</sup> scan) avec l'augmentation du degré de cristallinité. Ces observations amènent à penser que l'eau n'est pas distribuée de façon homogène au sein du matériau semi-cristallin. Nous avons tenté d'estimer la teneur en eau dans la phase cristalline des films d'amidon A15, à l'aide des variations de Tg avec la teneur en eau à partir de l'équation suivante :

$$w_T = \chi_C w_C + (1-\chi_C) w_A \quad \text{Équation IV.3-1}$$

avec  $w_T$  : teneur en eau totale ;  $\chi_C$  : degré de cristallinité ;  $w_C$  : teneur en eau dans la phase cristalline,  $w_A$  : teneur en eau dans la phase amorphe.

Les teneurs en eau totales  $w_T$  ont été déterminées expérimentalement. Les teneurs en eau dans la phase amorphe  $w_A$  ont été calculées à partir des valeurs de Tg déterminées au premier scan en relation avec le modèle de Gordon et Taylor. Ces valeurs sont indiquées dans le Tableau IV.3-1.

**Tableau IV.3-1.** Teneurs en eau mesurée expérimentalement et teneurs en eau calculées à partir du modèle de Gordon et Taylor correspondantes à  $T_g$  au premier scan, pour A15.

Degré de cristallinité (%)	Teneur en eau mesurée $W_T$ (%)	Teneur en eau calculées $W_A$ (%)
16	13,7	12,6
10	13,5	12,4
8	12,7	12,4
4	12,3	11,7
0	11,5	11,7

À partir des différences entre les teneurs en eau mesurées et celles calculées au cours du premier scan (état semi-cristallin), nous pouvons estimer la teneur en eau présente dans la phase cristalline en utilisant l'équation III-1. La teneur en eau calculée  $w_C$ , est proche de 20%. Cette valeur est en accord avec celle déterminée par Imberty et Perez (1988) qui ont montré que les structures cristallines de type B peuvent contenir 36 molécules d'eau par unité glucose, correspondant à une teneur en eau dans les cristaux d'environ 27%.

Les différences de  $T_g$  observées entre le premier et le second scan pourraient alors être expliquées par la présence d'eau au sein des cristaux de type B. Au cours du second passage, l'eau présente initialement dans les cristaux est redistribuée et plastifie la phase amorphe expliquant la diminution de la  $T_g$  en accord avec les hypothèses de Rindlav et al. (1997). Ceci est d'autant plus important que la cristallinité est élevée.

Cependant, malgré la présence d'eau dans les cristaux, on observe tout de même une diminution de la  $T_g$  avec l'augmentation de la cristallinité au cours du premier passage. Ceci semble indiquer qu'une partie de l'eau présente dans les cristaux participe également à la plastification de la phase amorphe au cours du premier passage. La distribution de l'eau au sein des phases amorphes et cristallines semble être le paramètre le plus important qui détermine les propriétés physiques des films d'amidons hydroxypropylés.

### IV.3.2.3 Phase amorphe

Bien que nous possédons très peu d'information sur le taux de branchement et la longueur des parties linéaires, qui sont modifiées avec l'hydrolyse, globalement la diminution de la masse molaire entraîne une diminution de la Tg des films. Une telle variation est généralement observée pour les polymères linéaires synthétiques (Fox et Flory, 1950) et également pour l'amidon (Cowie et Henshall, 1976; Orford et al., 1989). Tg varie linéairement avec l'inverse de  $\bar{M}_w$ . D'autres études sur des oligomères et des polymères amorphes de l'amidon et de dérivés de cellulose (Cowie et Henshall, 1976) ont suggéré trois régimes de variation de Tg avec la masse molaire. Ces trois domaines correspondent à: (i) comportement d'oligomère, (ii) comportement de polymère (dépendance en  $\frac{1}{M_w}$ ) jusqu'au seuil d'enchevêtrement critique, et (iii) Tg atteint un plateau. Ainsi, Tg augmente linéairement avec l'augmentation de masse molaire en raison de la diminution du volume libre, puis atteint un plateau lorsque la masse molaire de l'échantillon est supérieure à la masse critique d'enchevêtrement. Bien que la Tg évolue avec la masse, tous les échantillons étudiés sont à l'état vitreux dans les conditions moyennes d'humidité et à température ambiante.

### IV.3.3 Propriétés mécaniques

On note que les échantillons A5 qui ont la masse molaire la plus faible ( $1,5 \times 10^4$  g/mol) et le degré de cristallinité le plus élevé (24%) ne forment pas de films dans les conditions de casting utilisées. Un résultat similaire a été observé sur des films d'amidon de pomme de terre ayant subi une hydrolyse acide ( $\bar{M}_w$ : 20000 g/mol) (Koskinen et al., 1996). Ces auteurs ont suggéré que la faible masse molaire des échantillons serait responsable de ce comportement non-filmogène. De plus Van Soest et al. (1996) ont montré sur des films d'amidon de pomme de terre obtenus par thermomoulage qu'un degré de cristallinité de l'ordre de 30% peut entraîner un comportement friable des films. Ces auteurs ont suggéré que l'augmentation de la cristallisation de l'amylopectine réduit les interactions dans la phase amorphe, provoquant l'apparition de fissures au sein des films. Les effets couplés de la faible masse molaire et de la cristallinité importante de cet échantillon A5 pourraient expliquer son caractère non filmogène.

#### IV.3.3.1 À l'état vitreux

Les films d'amidon sont transparents et ont un comportement mécanique fragile avec une légère déformation dans le domaine plastique. Le module de Young est de 0,9 GPa, la contrainte à la rupture d'environ 30-35 MPa, et l'élongation à la rupture d'environ 8%. Le caractère filmogène des amidons hydroxypropylés a été observé depuis de nombreuses années (Roth et Mehlretter, 1967). De plus, Vorwerg et al. (2004) ont décrit les propriétés filmogènes d'amidon hydroxypropylés non hydrolysés à base de pomme de terre et de pois. Ces auteurs ont montré que les propriétés mécaniques de ces films sont similaires quelle que soit leur origine botanique avec une contrainte à la rupture d'environ 40 MPa et une déformation à la rupture d'environ 6-7%. Dans cette même étude, l'ajout de sorbitol a permis d'obtenir des films dont le comportement mécanique, la flexibilité et la transparence les rendent potentiellement utilisables comme matériaux d'emballage.

Néanmoins au cours de ce travail, les propriétés mécaniques des amidons filmogènes déterminées par des mesures de traction à température ambiante montrent que le comportement mécanique des films à l'état vitreux est similaire quelles que soient la masse molaire et le degré de cristallinité. Il a été montré que la masse molaire a peu d'influence sur le comportement mécanique des films à l'état vitreux (Ferry, 1980). Le comportement viscoélastique de polymères de glucose de faible masse molaire a été discuté par Ferry (1980). La comparaison des variations des modules entre des polymères amorphes de différentes masses molaires a été établie et indique qu'à des températures inférieures à  $T_g$  la mobilité moléculaire est extrêmement réduite rendant négligeables les effets de la masse molaire. Les mesures de DMTA réalisées sur les films d'amidons hydroxypropylés à l'état amorphe (**Figure III.3-11**) montrent également que le module est indépendant de la masse molaire de l'échantillon dans le domaine vitreux.

#### IV.3.3.2 À l'état caoutchoutique

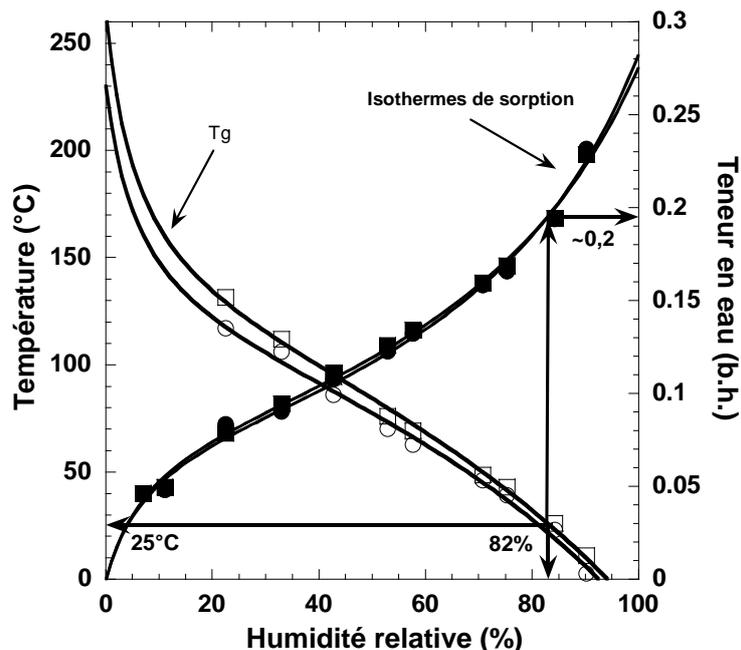
Les mesures de ATMD que nous avons menées sur les films à l'état amorphe obtenus par thermomoulage ont montré que bien que les propriétés mécaniques des films à l'état vitreux soient indépendantes de la masse molaire, la relaxation mécanique principale associée à  $T_g$  et le module dans le domaine caoutchoutique diminuent avec la réduction de la masse molaire.

Nous avons montré précédemment que la masse molaire est un des principaux facteurs qui affectent la  $T_g$ . Au-delà de  $T_g$ , la mobilité moléculaire qui augmente modifie sensiblement le comportement des polymères (Sperling, 1986). L'augmentation de la masse molaire va favoriser la création d'enchevêtrement qui vont jouer le rôle de nœud physique augmentant l'élasticité dans le domaine caoutchoutique. Ces effets ont été observés sur des films d'amidons de pomme de terre hydrolysés sollicités en traction (van Soest et al., 1996). Ces auteurs ont montré que malgré le rôle négligeable de la masse molaire à l'état vitreux, les propriétés mécaniques étant seulement modifiées à l'état caoutchoutique avec une augmentation de la déformation et de l'énergie à la rupture avec la masse molaire.

#### IV.3.3.3 Effet de l'humidité ambiante : stabilité des films

Le diagramme d'état des films au cours du stockage à l'équilibre à 25°C, présenté dans la Figure IV.3-1, a été construit à partir des isothermes de sorption et de la variation de la  $T_g$  avec la teneur en eau. Ce type de représentation permet de définir une humidité relative et la teneur en eau critique pour lesquelles la  $T_g$  de l'échantillon est inférieure à 25°C.

Ainsi la transition entre l'état vitreux et caoutchoutique se situe à une humidité relative de 82%, correspondant à une teneur en eau de 20%. Dans les conditions habituelles de stockage, par exemple celles que nous avons employées (HR : 58%, teneur en eau de 13,5%), les échantillons sont dans un état vitreux, les mobilités moléculaires sont réduites et les propriétés physiques des films sont relativement stables, et ce n'est que pour des HR supérieures à 82% que l'état caoutchoutique apparaît. Si les échantillons sont stockés à 25°C à des humidités relatives proches ou supérieures à 82%, des modifications physiques de type cristallisation, peuvent survenir en raison de l'augmentation de la mobilité moléculaire dans l'état caoutchoutique (Roos, 1995). Ces valeurs critiques sont en accord avec celles déterminées sur des amidons de maïs (Jouppila et Roos, 1997). On note également que malgré une diminution de  $T_g$  avec la masse molaire, les échantillons A5 et A15 ont un comportement similaire en fonction des conditions de stockage. Pour les autres échantillons de masses molaires plus élevée, sachant que leurs teneurs sont identiques, l'augmentation de la  $T_g$  induira une humidité relative critique plus importante augmentant le domaine de stabilité des films.



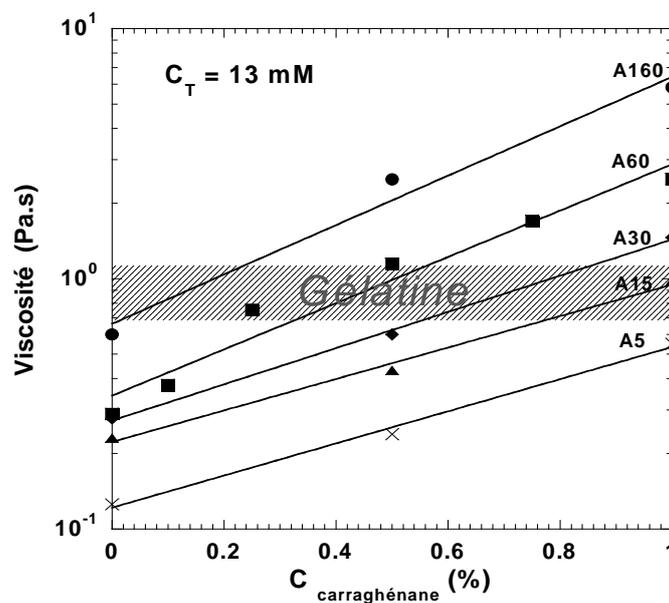
**Figure IV.3-1:** Diagramme d'état des films A5 et A15 représentant les variations de la Tg avec l'humidité relative (HR). Les isothermes de sorption montrent les variations de la teneur en eau avec HR. Les variations de Tg calculées à partir du modèle de Gordon et Taylor et les isothermes de sorption calculé à partir du modèle de GAB permettent de déterminer les valeurs critiques d'HR et de teneur en eau pour lesquelles la Tg est inférieure à 25°C.

Nous avons observé qu'en fonction des conditions de stockage, le comportement mécanique des films est sensiblement modifié en raison de l'effet plastifiant de l'eau sur la Tg (Figure III.3-17). La modification des conditions de stockage modifie la teneur en eau. Pour de faibles teneurs en eau la mobilité moléculaire sera réduite induisant un comportement fragile des films. À des teneurs en eau plus élevées, les films auront un comportement ductile favorisé par l'augmentation des mobilités moléculaires.

## IV.4 COMPARAISON AVEC LA GÉLATINE

## IV.4.1 En solution

Le comportement des mélanges à 50°C qui présentent un comportement rhéofluidifiant est sensiblement différent de celui des solutions de gélatine dont le comportement à cette température est newtonien avec des viscosités d'environ 0,7 à 1,1 Pa.s pour des concentrations variant de 25 à 30%. La viscosité est un paramètre important dans le cycle de fabrication des gélules dures qui détermine l'épaisseur de matière prélevée sur les doigts lors de l'étape de trempage. Cette étape de trempage se produisant à des taux de cisaillement relativement faibles, nous avons choisi de construire un diagramme à des vitesses de cisaillement équivalentes à celles employées industriellement pour le contrôle de la viscosité dans les bains de trempage. La Figure IV.4-1 présente les viscosités apparentes déterminées à  $1 \text{ s}^{-1}$  des différentes formulations à base des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane pour des concentrations en amidon de 25% en comparaison avec celles de la gélatine pour des concentrations de 25 à 30%.



**Figure IV.4-1.** Viscosités des différentes formulations étudiées (concentration en amidon de 25%), en comparaison de celles de la gélatine (domaine hachuré) à des concentrations de 25 à 30%. Température de mesure: 50°C. Viscosité apparente des mélanges déterminée à  $1 \text{ s}^{-1}$ .

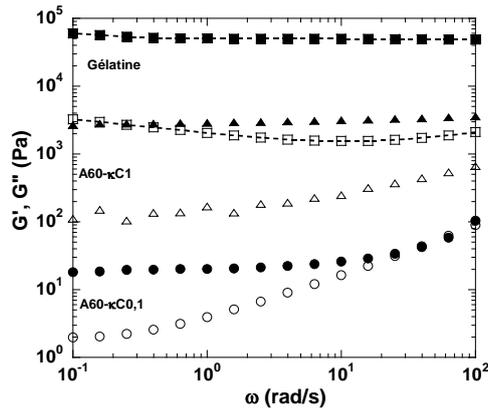
Excepté pour les mélanges à base d'amidon A5, les différents mélanges étudiés peuvent avoir des valeurs de viscosité apparente comparables à celles utilisées pour la fabrication de gélules à base de gélatine. Cependant, l'utilisation d'amidons de masses molaires élevées (A160,

A60) nécessitera l'ajout d'une faible quantité de  $\kappa$ -carraghénane pour limiter l'augmentation trop importante de la viscosité apparente des mélanges (concentration en  $\kappa$ -carraghénane inférieures à 0,5%). Au contraire, pour les amidons de plus faibles masses molaires (A30, A15), le  $\kappa$ -carraghénane pourra être utilisé à des concentrations allant jusqu'à 1% tout en conservant une viscosité apparente adaptable au procédé industriel.

#### IV.4.2 Gélification

La gélification est essentielle lors de l'étape de trempage, permettant de figer la matière au contact des doigts de moulage. La température de gélification et la force du gel sont les deux paramètres à prendre en compte. Dans les mêmes gammes de concentrations, les températures de gélification des gels à base des mélanges sont comparables à celles de la gélatine, à environ 35°C, et ceci quelle que soient la concentration en  $\kappa$ -carraghénane et la masse molaire de l'amidon. Ce comportement s'explique par le fait que la force ionique totale des formulations est maintenue constante en ajustant la teneur en KCl.

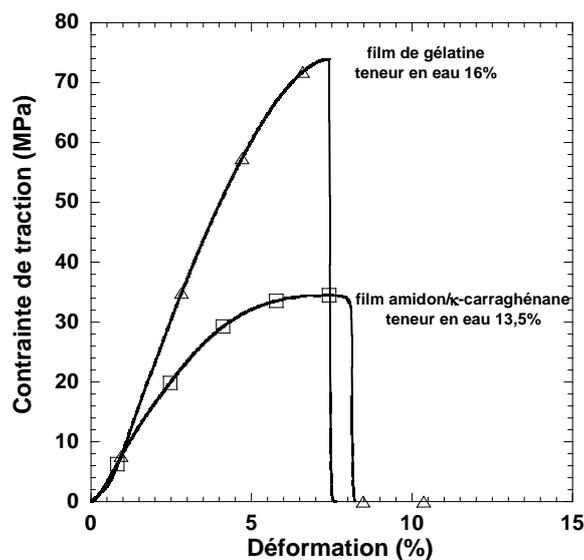
Malgré sa teneur très faible dans le mélange, le  $\kappa$ -carraghénane gouverne la gélification, l'amidon jouant seulement un rôle de renfort du gel. Les spectres mécaniques des mélanges A60 à une concentration de 25% en présence de 1% et de 0,1% de  $\kappa$ -carraghénane sont de nouveau présentés dans la Figure IV.4-2 en comparaison avec un gel de gélatine à 25%. On observe de manière évidente qu'en présence de 0,1% de  $\kappa$ -carraghénane, les gels obtenus sont très faibles ( $G' \approx 10^1$  Pa) en comparaison avec ceux de gélatine. Pour une teneur de 1% dans le mélange, le module  $G'$  est de l'ordre de  $2 \times 10^3$  Pa, ce qui est encore nettement plus faible que les gels de gélatine pour lesquels  $G'$  atteint environ  $10^4$  Pa. Afin d'obtenir des propriétés de gel les plus proches possibles de celles de la gélatine, il est nécessaire d'utiliser une formulation contenant une teneur en  $\kappa$ -carraghénane la plus élevée possible. Comme nous l'avons souligné précédemment, l'utilisation de  $\kappa$ -carraghénanes à ces niveaux de concentration provoquera une augmentation importante de la viscosité apparente à 50°C. Il s'agira donc de trouver un compromis entre deux effets contradictoires : viscosité apparente relativement faible tout en obtenant des gels de rigidité suffisamment élevés. Le meilleur compromis pourrait être l'utilisation d'amidons de faibles masses molaires comme l'échantillon A60 ou A30.



**Figure IV.4-2.** Spectres mécaniques des mélanges A60- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ) et A60 $\kappa$ -C0,1 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ) en comparaison avec la gélatine à 25% ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$ : symboles pleins,  $G''$ : symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 1% pour la gélatine et 0,1% pour les mélanges.

#### IV.4.3 Propriétés des films

Malgré le rôle très important de chacun des deux constituants du mélange en solution, puis principalement du  $\kappa$ -carraghénane lors de la gélification, nous avons montré que les propriétés physiques des films à base des mélanges dépendent uniquement de la présence majoritaire de l'amidon dans les conditions étudiées (25°C, 58% HR).

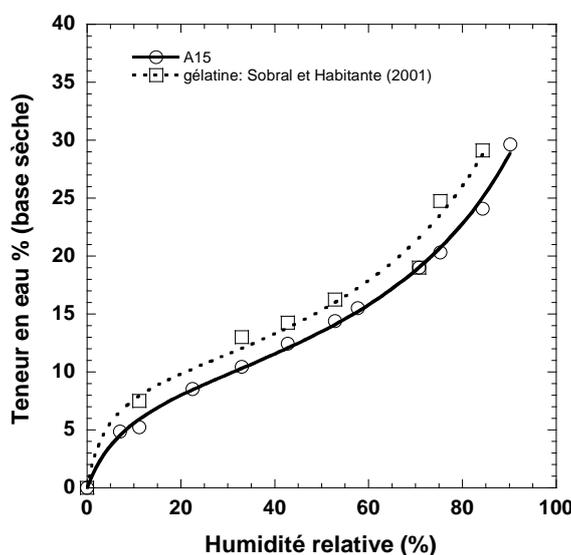


**Figure IV.4-3.** Courbes de contrainte-déformation représentatives des films de gélatine et des films à base des mélanges amidon/ $\kappa$ -carraghénane après un stockage à 25°C et 58% d'HR.

Les films d'amidon ont un comportement fragile avec des valeurs de contraintes à la rupture de 30-35 MPa, une elongation à la rupture d'environ 8%, et un module de Young de 0,9 GPa. Ces propriétés sont très différentes de celles des films de gélatine dont le module de Young est de 1,3 GPa, la contrainte à la rupture d'environ d'environ 74 MPa, et la déformation à la rupture d'environ 7%.

Les films à base des mélanges ont des teneurs en eau inférieures à celles de la gélatine. À la fin du séchage (25°C, 40% d'HR), les films de gélatine ont une teneur en eau de 14% alors que les films à base des mélanges ont une teneur en eau de 11%.

Nous avons représenté dans la Figure IV.4-4 l'isothermes de sorption des films d'amidon A15 en comparaison avec celui de la gélatine obtenu par Sobral et Habitante (2001) sur des films à base de gélatine porcine.



**Figure IV.4-4.** Isotherme de sorption à 25°C des films A15 en comparaison avec celui de Sobral et Habitante (2001) sur les films de gélatine porcine.

Sur toute la gamme d'humidités relatives considérée (0-90%), la teneur en eau des films à base de gélatine est supérieure à celle de l'amidon A15. Ceci indique que les films à base d'amidon sont moins hygroscopiques que la gélatine, ce qui peut être intéressant pour l'application de gélules pharmaceutiques contenant des principes actifs ou des excipients sensibles à l'eau.

D'un point de vue pratique, les films à base de gélatine sont plus résistants à un pliage manuel que les films à base des mélanges. Bien que les tests mécaniques en traction utilisés dans ce

travail n'aient pas permis de mesurer des différences, il semble que les films dont les masses molaires sont les plus élevées (A30, A60, A160) soient les plus résistants à ce type de sollicitation. L'utilisation d'amidon A30 dans les mélanges est vraisemblablement le meilleur compromis pour obtenir un comportement rhéologique et une filmabilité permettant sa mise en œuvre par le procédés de fabrication des gélules existant.





## *CONCLUSION ET PERSPECTIVES*



## *Conclusion*

Ce travail avait pour objectif une meilleure compréhension des propriétés filmogènes de mélanges à base d'amidon de pois hydroxypropylés et hydrolysés et de  $\kappa$ -carraghénane en vue de la fabrication de gélules pharmaceutiques d'origine végétale. Il s'insère dans une problématique plus générale de compréhension et de maîtrise des propriétés physiques de mélanges de polysaccharides. En se basant sur le comportement référence de la gélatine dans des conditions proches de celles utilisées industriellement pour la fabrication de gélules, la détermination des propriétés physiques des mélanges à différents degrés d'hydratation s'est révélée pertinente pour la compréhension des mécanismes moléculaires qui se produisent, de la solution jusqu'à l'état solide, en relation avec l'évolution de la structure au cours de la formation des films par casting. Les résultats expérimentaux obtenus ont permis d'ouvrir certaines perspectives:

La détermination des propriétés rhéologiques des mélanges a permis de mettre en évidence des effets de synergie entre l'amidon soluble et le  $\kappa$ -carraghénane aussi bien en solution que lors de la formation du gel. Ainsi, dans le domaine de concentrations étudiées (25-30% pour l'amidon et 0,1 à 1% pour le  $\kappa$ -carraghénane à concentration ionique totale constante), des augmentations spectaculaires de la viscosité apparente et un renforcement des gels ont été observées. Ces effets ont été attribués à l'incompatibilité thermodynamique entre les constituants qui induit une séparation de phase. Les molécules solubilisées d'amidon et de  $\kappa$ -carraghénane s'excluent mutuellement dans le milieu et entraînent des modifications importantes du comportement rhéologique des mélanges en comparaison avec les constituants seuls. Lors du refroidissement, les molécules de  $\kappa$ -carraghénane subissent une transition conformationnelle d'un état désordonné à un état ordonné constitué de dimères d'hélices agrégées qui sont responsables de la gélification. Les gels sont alors constitués d'un réseau de  $\kappa$ -carraghénane enrichi dans la phase continue et renforcé par la présence de l'amidon présent majoritairement. La détermination du comportement rhéologique des mélanges a été une étape primordiale pour comprendre les phénomènes macromoléculaires se produisant en solution et dans le gel. Elle pourrait être poursuivie par une caractérisation plus détaillée de la séparation de phase en utilisant d'autres techniques comme la diffusion de la lumière ou des

techniques microscopiques comme la microscopie confocale en utilisant des marqueurs fluorescents plus spécifiques permettant de localiser le  $\kappa$ -carraghénane dans le milieu.

Alors que les phénomènes de séparation de phase à l'état hydraté gouvernent les propriétés des mélanges, les propriétés physiques des films obtenus par casting dans des conditions contrôlées sont dominées par la présence majoritaire de l'amidon dans le milieu, quelle que soit la teneur en  $\kappa$ -carraghénane étudiées. Les films à base d'amidon hydroxypropylé et hydrolysé cristallisent au cours du séchage sous forme de type B. La cristallinité des films est contrôlée par la masse molaire des échantillons d'amidon et les conditions de séchage. La détermination des variations de la température de transition vitreuse au cours du séchage a permis de localiser le domaine de transition qui caractérise le passage d'un état liquide/caoutchoutique à un état vitreux. Le franchissement de cette transition induit une réduction de la mobilité moléculaire qui marque l'arrêt de la cristallisation et un ralentissement de la vitesse de séchage. La cristallisation des films est contrôlée par la compétition entre la vitesse de cristallisation et le passage de la transition vitreuse. L'augmentation du degré de cristallinité des films avec la diminution de la masse molaire est expliquée par l'aptitude des chaînes courtes à se réorganiser plus rapidement par rapport aux chaînes longues enchevêtrées. La modification de la température de séchage de 25°C à 65°C permet également de contrôler la structure des films. La cristallisation des films dépend de la compétition entre la vitesse de séchage et la vitesse de cristallisation qui dépend elle-même de la taille des chaînes. À des températures élevées, la vitesse de séchage est trop importante ne laissant pas la possibilité aux chaînes de se réorganiser en raison de la réduction de la mobilité moléculaire. Lors du séchage des gels à base des mélanges, la présence d'hétérogénéités au sein des mélanges induite par la séparation de phase, entraîne une accélération des cinétiques de séchage par rapport à l'amidon seul. Ce phénomène indiquerait que le passage de la transition vitreuse des mélanges se produit plus tôt et donc que les variations de Tg des mélanges avec la teneur en eau seraient différentes de celles de l'amidon. Ce point mérite d'être vérifié en déterminant les variations de Tg des mélanges avec la teneur en eau.

La cristallisation de type B des films à base d'amidon hydroxypropylés au cours du séchage n'avait jamais été observée. L'hydroxypropylation étant plus prononcée sur l'amylose que sur l'amylopectine qui est le composé majoritaire des amidons de pois, la cristallisation des films serait le résultat d'un greffage hétérogène impliquant la réorganisation des chaînes d'amylopectine et d'amylose sur des zones non substituées. Cependant, la présence des

groupements hydrophiles d'oxyde de propylène à l'intérieur de la cavité des cristaux de type B remplie de molécules d'eau pourrait expliquer la cristallisation des films au cours du séchage. L'importance de la distribution de l'eau au sein des phases amorphes et cristallines a été déterminée pour comprendre les différences observées entre les températures de transition vitreuse des films à l'état semi-cristallin et à l'état amorphe. La détermination de la teneur en eau dans les cristaux de type B a permis d'expliquer la diminution de la Tg des films au cours du 2<sup>nd</sup> passage (état amorphe). La redistribution de l'eau qui se produit après la fusion des domaines cristallins plastifie la phase amorphe. L'origine de la cristallinité pourrait cependant être examinée plus en détail en déterminant le taux de branchement des échantillons et le degré de substitution des chaînes d'amylose et d'amylopectine pour comprendre l'implication de ces macromolécules dans les mécanismes de cristallisation.

Les propriétés mécaniques en traction des films à l'état vitreux sont indépendantes de la cristallinité et de la masse molaire en raison de la mobilité moléculaire réduite. Cependant, à l'état caoutchoutique, les propriétés mécaniques dépendent de la taille des chaînes. Les chaînes longues ont une élasticité caoutchoutique plus importante en raison de l'existence d'enchevêtrements. Même si les propriétés mécaniques des films obtenus par casting sont comparables dans ces conditions de stockage (RH: 58%), nous pouvons supposer que le comportement mécanique pourrait être sensiblement modifié à des températures et des humidités relatives différentes. Les diagrammes d'état à l'équilibre à 25°C établissant le domaine de stabilité des films en fonction des conditions de stockage a permis de définir les conditions de stockage pour lesquelles l'augmentation des mobilités moléculaires pourrait induire des modifications de la structure et des propriétés mécaniques. Les propriétés mécaniques à différentes conditions de stockage montrent la fragilisation des films à des HR faibles et un comportement plus ductile à des HR élevée, reflétant le rôle plastifiant de l'eau.

L'ensemble de ces résultats fournit une base de compréhension des phénomènes physiques qui se produisent lors de la formation de films à base d'amidon hydroxypropylé/ $\kappa$ -carraghénane obtenus par casting. Les mélanges forment des gels thermoréversibles dans des conditions similaires à celles de la gélatine avec des températures de gélification équivalentes. Le couple viscosité en solution-rigidité des gels pourra être ajusté en utilisant des teneurs en  $\kappa$ -carraghénane élevées tout en utilisant un amidon dont la masse molaire n'est pas trop importante. Les cinétiques de séchage des mélanges sont identiques à celle de la gélatine dans les conditions utilisées. Les propriétés mécaniques des films à base des mélanges sont

inférieures à celle de la gélatine qui forme des films d'excellente qualité. Cependant, la transparence des films à base des mélanges et leurs propriétés mécaniques les rendent potentiellement utilisables pour la fabrication de gélules. L'utilisation de mélanges à base d'amidon A30 est un bon compromis entre des propriétés en solution, lors de la gélification et des propriétés filmogènes adaptables au procédé actuel. Le passage à l'échelle pilote permettra de déterminer l'aptitude de nos formulations à former des gélules. Des tests de choc et de compression, typiquement utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour contrôler leur fragilité, pourront être mis en place pour valider les propriétés des formulations sélectionnées en fonction des conditions de stockage et d'utilisation. L'ajout de plastifiant comme le glycérol à des teneurs d'environ 15% pourra si nécessaire apporter de la flexibilité aux films pour répondre aux contraintes mécaniques auxquelles sont soumises les gélules lors de leur fabrication. D'un point de vue général, ce travail a permis d'améliorer les connaissances sur les mécanismes impliqués dans le passage de l'état sol ou gel à l'état dense dans les systèmes de type amidon/ $\kappa$ -carraghénane. Ceci pourra contribuer à l'élargissement des domaines d'application de ces polysaccharides.

*RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*



---

*Références bibliographiques*

- Abdulmola, N. A., Hember, M. W. N., Richardson, R. K., et Morris, E. R. (1996).** Effect of xanthan on the small-deformation rheology of crosslinked and uncrosslinked waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 31(1-2), 65-78.
- Albertsson, P.-Å. (1962).** Partition methods for fractionation of cell particles and macromolecules. *Methods of Biochemical Analysis*, 10, 229–262.
- Alloncle, M., et Doublier, J. L. (1991).** Viscoelastic Properties of Maize Starch Hydrocolloid Pastes and Gels. *Food Hydrocolloids*, 5(5), 455-467.
- Anderson, N. S., Campbell, J. W., Harding, S. E., Rees, D. A., et Samuel, J. W. (1969).** X-ray diffraction studies of polysaccharide sulfates: double helix models for  $\kappa$ - and  $\iota$ -carrageenans. *Journal of Molecular Biology*, 85-89.
- Angellier, H., Molina-Boisseau, S., Dole, P., et Dufresne, A. (2006).** Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7(2), 531-539.
- Angles, M. N., et Dufresne, A. (2001).** Plasticized starch/tunicin whiskers nanocomposite materials. 2. Mechanical behavior. *Macromolecules*, 34(9), 2921-2931.
- Arvanitoyannis, I., et Biliaderis, C. G. (1999).** Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. *Carbohydrate Polymers*, 38, 47–58.
- Averous, L., Fringant, C., et Moro, L. (2001).** Starch-based biodegradable materials suitable for thermoforming packaging. *Starch-Stärke*, 53(8), 368-371.
- Bader, H. G., et Goritz, D. (1994).** Investigations on high amylose corn starch films 3. Stress-Strain behavior. *Starch-Stärke*, 46, 435-439.
- Baldwin, P. M., Adler, A. J., Davies, M. C., et Melia, C. D. (1998).** High resolution imaging of starch granule surfaces by atomic force microscopy. *Journal of Cereal Science*, 27, 255–256.
- Ball, S. G., van de Wal, M. H. B. J., et Visser, R. G. F. (1998).** Progress in understanding the biosynthesis of amylose. *Trends in Plant Science*, 3(12), 462-467.
- Banks, W., et Greenwood, C. T. (1975).** *Starch and its Components*. Edinburgh (England): Edinburgh University Press.
- Basquin, S., Darasse, F., Despre, D., et Messenger, A. (2003).** *Brevet. Composition filmogène d'hétéroxylanes pour la fabrication de capsules et de gélules*. FR 2 834 291.

- Bayley, S. T. (1955).** X-ray and infrared studies on carrageenan. *Biochim. Biophys. Acta.*, 17, 194-205.
- BeMiller, J. N. (1967).** Acid-catalyzed hydrolysis of glycosides. 5. Hydrolysis of polysaccharides. *Adv. Carbohydr. Chem*, 22, 85-108.
- Bertoft, E. (2004).** On the nature of categories of chains in amylopectin and their connection to the super helix model. *Carbohydrate Polymers*, 57(2), 211-224.
- Biliaderis, C. G. (1982).** Physical characteristics, enzymic digestibility and structure of chemically modified smooth pea and waxy maize starches. *J. Agric. Food Chem.*, 30(5), 925-930.
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., Maurice, T. J., et Juliano, B. O. (1986).** Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *J. Agric. Food Chem.*, 34(1), 6-14.
- Biot, J. B. (1844).** Note sur les phénomènes de polarisation produits à travers les globules féculacés. *C. R. Hebd. Scéances Ac. Sci.*, 18, 795-797.
- Bizot, H., Le Bail, P., Leroux, B., Davy, J., Roger, P., et Buléon, A. (1997).** Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds. *Carbohydrate Polymers*, 32(1), 33-50.
- Blanshard, J. M. V. (1987).** Starch granule structure and function: a physicochemical approach. In T. Galliard. *Starch: Properties and Potential* (pp. 16–54). Chichester: Wiley.
- Blennow, A., Nielsen, T. H., Baunsgaard, L., Mikkelsen, R., et Engelsen, S. B. (2002).** Starch phosphorylation: a new front line in starch research. *Trends in Plant Science*, 7(10), 445-450.
- Bond, C. M., Lees, K. A., et Packington, J. L. (1970).** Cephalixin: A new oral broad-spectrum antibiotic. *Pharmaceutical journal*, 205, 210-214.
- Borde, B., Bizot, H., Vigier, G., et Buléon, A. (2002).** Calorimetric analysis of the structural relaxation in partially hydrated amorphous polysaccharides. II. Phenomenological study of physical ageing. *Carbohydrate Polymers*, 48(2), 111-123.
- Borgström, J., Piculell, L., Viebke, C., et Talmon, Y. (1996).** On the structure of aggregated kappa-carrageenan helices. A study by cryo-TEM, optical rotation and viscometry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 18(3), 223-229.
- Boursier, B. (2005).** Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires. *Techniques de l'Ingénieur*(F4690).

- Briones, A. V., Ambal, W. O., Estrella, R. R., Pangilinan, R., De Vera, C. J., Pacis, R. L., Rodriguez, N., et Villanueva, M. A. (2004).** Tensile and Tear Strength of Carrageenan Film from Philippine Eucheuma Species. *Marine Biotechnology*, 6, 148-151.
- Buléon, A., Bizot, H., Delage, M., et Multon, J. (1982).** Evolution of crystallinity and specificity gravity of potato starch versus water ad- and desorption. *Starch-Stärke*, 32, 361-366.
- Buléon, A., Colonna, P., et Leloup, V. (1990).** Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries Alimentaires et Agro-Alimentaires*, 107(6), 515-532.
- Burchard, W., et Thurn, A. (1985).** Heterogeneity in branching: mathematical treatment of the amylopectin structure. *Macromolecules*, 18(10), 2072-2082.
- Cairns, P., Atkins, E. D. T., Miles, M. J., et Morris, V. J. (1991).** Molecular transforms of kappa carrageenan and furcellaran from mixed gel systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 13(2), 65-68.
- Cairns, P., Miles, M. J., Morris, V. J., et Brownsey, G. J. (1987).** X-Ray fibre-diffraction studies of synergistic, binary polysaccharides gels. *Carbohydrate Research*, 160, 411-423.
- Chandra, R., et Rustgi, R. (1998).** Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7), 1273-1335.
- Chaudemanche, C. (2007).** Les polysaccharides, une alternative pour le développement d'une nouvelle gélule végétale. *Centre de mise en forme des matériaux* (p. 269). Sophia Antipolis: Ecole des Mines de Paris.
- Christen, J. D., et Cheng, W. J. (1977).** *Brevet. Capsule shell*. US 4 026 986.
- Christianson, D. D., Hodge, J. E., Osborne, D., et Detroy, R. W. (1981).** Gelatinization of wheat starch as modified by xanthan gum, guar gum, and cellulose gum. *Cereal Chemistry*, 58, 513.
- Clark, A. H. (2000).** Direct analysis of experimental tie line data (two polymer-one solvent systems) using Flory-Huggins theory. *Carbohydrate Polymers*, 42, 337-351.
- Clark, A. H., et Ross-Murphy, S. B. (1987).** Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Advanced in Polymers Science*, 83, 57-192.
- Cleven, R., Van den Berg, C., et van der Plas, L. (1978).** Crystal structure of hydrated potato starch. *Starch-Stärke*, 30(7), 223-228.
- Closs, C. B., Conde-Petit, B., Roberts, I. D., Tolstoguzov, V. B., et Escher, F. (1999).** Phase separation and rheology of aqueous starch/galactomannan systems. *Carbohydrate Polymers*, 39(1), 67-77.

- Cowie, J. M. G., et Henshall, S. A. E. (1976).** The influence of chain length and branching on the glass transition temperature of some polyglucosans. *European Polymer Journal*, 12(4), 215-218.
- Crank, J. (1958).** Some mathematical diffusion studies relevant to dehydration. In S. o. C. Industry. *Fundamental Aspects of Dehydration of Foodstuffs* (pp. 37-41). London: Society of Chemical Industry.
- Dea, I. C. M., Moms, E. R., Rees, D. A., Welsh, E. J., Barnes, H. A., et Price, J. (1977).** Associations of like and unlike polysaccharides: mechanism and specificity in galactomannans, interacting bacterial polysaccharides, and related systems. *Carbohydrate Research*, 57, 249-272.
- Demirgoz, D., Elvira, C., Mano, J. F., Cunha, A. M., Piskin, E., et Reis, R. L. (2000).** Chemical modification of starch based biodegradable polymeric blends: effects on water uptake, degradation behaviour and mechanical properties. *Polymer Degradation and Stability*, 70(2), 161-170.
- Djabourov, M., et Lechaire, J. P. G., F (1993).** Structure and rheology of gelatin and collagen gels. *Biorheology*, 30(3-4), 191-205.
- Djabourov, M., et Papon, P. (1983).** Influence of thermal treatments on the structure and stability of gelatin gels. *Polymer*, 24(5), 537-542.
- Donovan, J. W. (1979).** Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers*, 18(2), 263-275.
- Doublier, J.-L. (1981).** Rheological studies of starch: flow behaviour of wheat starch pastes. *Starch-Stärke*, 33, 415-420.
- Doublier, J. L., et Cuvelier, G. (2006).** Gums and Hydrocolloids: Functional Aspects. In A. C. Eliasson. *Carbohydrates in Food 2nd edition* (pp. 233-303): Taylor & Francis.
- Doublier, J.-L., et Llamas, G. (1993).** A rheological description of amylose/amylopectin mixtures. In E. Dickinson, Walstra, P. *Food colloids and polymers: Stability and mechanical properties* (pp. 138-146). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Dufresne, A., et Vignon, M. R. (1998).** Improvement of starch film performances using cellulose microfibrils. *Macromolecules*, 31(8), 2693-2696.
- Eidam, D., Kulicke, W. M., Kuhn, K., et Stute, R. (1995).** Formation of Maize Starch Gels Selectively Regulated by the Addition of Hydrocolloids. *Starch-Stärke*, 47(10), 378-384.
- Ergoz, E., Fatou, J. G., et Mandelkern, L. (1972).** Molecular Weight Dependence of the Crystallization Kinetics of Linear Polyethylene. I. Experimental Results. *Macromolecules*, 5(2), 147-157.

- Fernandes, P. B., Goncalves, M. P., et Doublier, J. L. (1992).** Effect of galactomannan addition on the thermal behaviour of [kappa]-carrageenan gels. *Carbohydrate Polymers*, 19(4), 261-269.
- Ferry, J. D. (1948).** Mechanical Properties of Substances of High Molecular Weight. IV. Rigidities of Gelatin Gels; Dependence on Concentration, Temperature and Molecular Weight. *J. Am. Chem. Soc.*, 70(6), 2244-2249.
- Ferry, J. D. (1980).** *Viscoelastic properties of polymers. 3rd ed.* New York: John Wiley & Sons.
- Fishman, M. L., Coffin, D. R., Unruh, J. J., et Ly, T. (1996).** Pectin/starch/glycerol films: Blends or composites? *Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry*, 5, 639-654.
- Fox, T. G., et Flory, P. (1950).** Second-order transition temperatures and related properties of polystyrene. 1. Influence of molecular weight. *Journal of Applied Physics*, 21, 581-591.
- French, D. (1984).** *Starch, Chemistry and Technology.* R. L. Whistler, J. N. Bemiller, et E. F. Parschall. New York: Academic Press.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., et Baldwin, P. M. (1997).** Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. *Carbohydrate Polymers*, 32(3-4), 177-191.
- Garnier, C., Schorsch, C., et Doublier, J.-L. (1995).** Phase separation in dextran/locust bean gum mixtures. *Carbohydrate Polymers*, 28(4), 313-317.
- Gaudin, S., Lourdin, D., Forssell, P. M., et Colonna, P. (2000).** Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*, 43(1), 33-37.
- Gaudin, S., Lourdin, D., Le Botlan, D., Ilari, J. L., et Colonna, P. (1999).** Plasticisation and Mobility in Starch-Sorbitol Films. *Journal of Cereal Science*, 29(3), 273-284.
- Gordon, M., et Taylor, J. S. (1952).** Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers I. Noncrystalline copolymers. *Journal of Applied Chemistry*, 2, 493-500.
- Greener Donhowe, I., et Fennema, O. (1994).** Edible films and coatings; characteristics, formation, definitions, and testing methods. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, et M. Nisperos-Carriedo. *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 1-24). Lancaster: Technomic.
- Grosswald, R. R., Andrew, C. S., et Anderson, J. B. (2002).** *Brevet. Method for the manufacture of pharmaceutical cellulose capsules.* US 6 337 045.
- GS Technologies Inc (1998).** *Brevet. Method for the manufacture of pharmaceutical cellulose capsules.* US 5 750 157.
- Gu, Z. Y., et Alexandridis, P. (2005).** Drying of films formed by ordered poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymer gels. *Langmuir*, 21(5), 1806-1817.

- Harding, S. E., Hill, S. E., et Mitchell, J. R. (1995).** *Biopolymer Mixtures*. Nottingham: Nottingham University Press.
- Harrington, W. F., et Rao, N. V. (1970).** Collagen structure in solution. I. Kinetics of helix regeneration in single-chain gelatins. *Biochemistry*, 9(19), 3714.
- Hermansson, A. M., Eriksson, E., et Jordansson (1991).** Effects of Potassium, Sodium and Calcium on the microstructure and rheological behavior of Kappa-Carrageenan Gels. *Carbohydrate Polymers*, 16, 297-320.
- Huber, K. C., et BeMiller, J. N. (2001).** Location of sites of reaction within starch granules. *Cereal Chemistry*, 78, 173–180.
- Hutchinson, J. M. (1995).** Physical aging of polymers. *Progress in Polymer Science*, 20(4), 703-760.
- Imberty, A., Buléon, A., Tran, V., et Perez, S. (1991).** Recent advantages in knowledge of starch structure. *Starch-Stärke*, 43, 375-384.
- Imberty, A., Chanzy, H., Perez, S., Buléon, A., et Tran, V. (1988).** The double helical nature of the crystalline part of A-type. *Journal of Molecular Biology*, 201, 365-378.
- Imberty, A., et Perez, S. (1988).** A Revisit to the Three-dimensional Structure of B-Amylose. *Biopolymers*, 27, 1205-1221.
- Jackson, W. J., Jr., et Caldwell, J. R. (1967).** Antiplasticisation. II. Characteristics of antiplasticisers. *Journal of Applied Polymer Science*, 11, 211–226.
- Jenkins, P. J., et Donald, A. M. (1995).** The influence of amylose on starch granule structure. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17(6), 315-321.
- Jin, X., Ellis, T. S., et Karasz, F. E. (1984).** The effect of crystallinity and crosslinking on the depression of the glass transition temperature in nylon 6 by water. *J. polym. sci., Polym. phys. ed.*, 22(10), 1701-1717.
- Jouppila, K., et Roos, Y. H. (1997).** The physical state of amorphous corn starch and its impact on crystallization. *Carbohydrate Polymers*, 32(2), 95-104.
- Kalichevsky, M. T., Jaroszkiewicz, E. M., Ablett, S., Blanshard, J. M. V., et Lillford, P. J. (1992).** The glass transition of amylopectin measured by DSC, DMTA, and NMR. *Carbohydrate Polymers*, 18, 77-88.
- Kalichevsky, M. T., Jaroszkiewicz, E. M., et Blanshard, J. M. V. (1993).** A study of the glass transition of amylopectin-sugar mixtures. *Polymer*, 34(2), 346-358.
- Kalichevsky, M. T., Orford, P. D., et Ring, S. G. (1986).** The incompatibility of concentrated aqueous solutions of dextran and amylose and its effect on amylose gelation. *Carbohydrate Polymers*, 6(2), 145-154.

- Kalichevsky, M. T., et Ring, S. G. (1987).** Incompatibility of amylose and amylopectin in aqueous solution. *Carbohydrate Research*, 162, 323-328.
- Katz, J. (1930).** Abhandlungen zur physikalischen Chemie der Starke und der Brotbereitung. *Z. Physik. Chem.*, 150, 37-59.
- Kaur, L., Singh, N., et Singh, J. (2004).** Factors influencing the properties of hydroxypropylated potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 55(2), 211-223.
- Kavitha, R., et BeMiller, J. N. (1998).** Characterization of hydroxypropylated potato starch. *Carbohydrate Polymers*, 37(2), 115-121.
- Kim, H. R., Hermansson, A. M., et Eriksson, E. (1992).** Structural Characteristics of Hydroxypropyl Potato Starch Granules Depending on Their Molar Substitution. *Starch-Stärke*, 44(3), 111-116.
- Klug, H., et Alexander, L. (1954).** *X-ray procedures*. New York: Wiley-Interscience.
- Koskinen, M., Suortti, T., Autio, K., Myllarinen, P., et Poutanen, K. (1996).** Effect of pretreatment on the film forming properties of potato and barley starch dispersions. *Industrial Crops and Products*, 5(1), 23-34.
- Kuentz, M., et Rothlisberger, D. (2002).** Determination of the optimal amount of water in liquid-fill masses for hard gelatin capsules by means of texture analysis and experimental design. *International Journal of Pharmaceutics*, 236, 145-152.
- Labuza, T. P. (1968).** Sorption phenomena in foods. *Food Technology*, 22, 263-272.
- Lai, V. M.-F., Huang, A.-L., et Lii, C.-Y. (1999).** Rheological properties and phase transition of red algal polysaccharide-starch composites. *Food Hydrocolloids*, 13(5), 409-418.
- Lazaridou, A., et Biliaderis, C. G. (2002).** Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydrate Polymers*, 48(2), 179-190.
- Lefevre, P., Francois, A., Facon, P., Quettier, C., et Parissaux, X. (2005).** *Brevet. Film-forming starch composition*. WO2005/060944 A1.
- Leloup, V., Colonna, P., et Buléon, A. (1991).** Influence of amylose-amylopectin ratio on gel properties. *Journal of Cereal Science*, 13, 1-13.
- Leuenberger, B. H. (1991).** Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. *Food Hydrocolloids*, 5(4), 353-361.
- Levine, H., et Slade, L. (1986).** A polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs). *Carbohydrate Polymers*, 6, 213-244.
- Lourdin, D., Bizot, H., et Colonna, P. (1997a).** Anti-plasticisation in starch-glycerol films? *Journal of Applied Polymer Science*, 63, 1047-1053.

- Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H., et Colonna, P. (1997b).** Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, 38(21), 5401-5406.
- Lourdin, D., Della Valle, G., et Colonna, P. (1995).** Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydrate Polymers*, 27(4), 261-270.
- Marshall, A. S., et Petrie, S. E. B. (1980).** Thermal transitions in gelatin and aqueous gelatin solutions. *The Journal of Photographic Science*, 28, 128–134.
- Mathew, A. P., et Dufresne, A. (2002).** Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules*, 3(5), 1101-1108.
- McDougall, A. J., Rigby, N. M., et Ring, S. G. (1997).** Phase separation of plant cell wall polysaccharides and its implications for cell wall assembly. *Plant Physiology*, 114, 353–362.
- Medin, A. S., et Janson, J.-C. (1993).** Studies on aqueous polymer two-phase systems containing agarose. *Carbohydrate Polymers*, 22(2), 127-136.
- Menagalli, F. C., Sobral, P. J., Roques, M. A., et Laurent, S. (1999).** Characteristics of gelatin biofilms in relation to drying process conditions near melting. *Drying Technology*, 17(7-8), 1697-1706.
- Mestres, C., Colonna, P., et Buléon, A. (1988).** Gelation and crystallisation of maize starch after pasting, drum drying or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 7, 123-134.
- Michon, C., Cuvelier, G., et Launay, B. (1993).** Concentration dependence of the critical viscoelastic properties of gelatin at the gel point. *Rheologica Acta*, 32, 94-103.
- Miles, M. J., Morris, V. J., et Ring, S. G. (1985).** Gelation of amylose. *Carbohydrate Research*, 135(2), 257-269.
- Millane, R. P., Chandrasekaran, R., Arnott, S., et Dea, I. C. M. (1988).** The molecular structure of kappa-carrageenan and comparison with iota-carrageenan. *Carbohydrate Research*, 182(1), 1-17.
- Missaghi, S., et Fassihi, R. (2006).** Evaluation and comparaison of physicomechanical characteristics of gelatin and hypromellose capsules. *Drug development and industrial pharmacy*, 32, 829-838.
- Mitsuiki, M., Yamamoto, Y., Mizuno, A., et Motoki, M. (1998).** Glass transition properties as a function of water content for various low-moisture galactans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3528-3534.
- Mohammed, Z. H., Hember, M. W. N., Richardson, R. K., et Morris, E. R. (1998).** Co-gelation of agarose and waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 36, 37–48.

- Morris, E. R. (1990).** Mixed polymer gels. In P. Harris. *Food gels* (pp. 291-359). London: Elsevier Applied Food Science Series.
- Morris, E. R. (1995).** Polysaccharide Synergism-More Questions than Answers? In S. E. Harding, S. E. Hill, et J. R. Mitchell. *Biopolymer Mixtures* (pp. 247): Nottingham University Press.
- Morris, E. R., Rees, D. A., et Robinson, G. (1980).** Cation-specific aggregation of carrageenan helices: Domain model of polymer gel structure. *Journal of Molecular Biology*, 138(2), 349-362.
- Morris, V. J. (1998).** Gelation of polysaccharides. In S. E. Hill, D. A. Ledward, et J. R. Mitchell. *Functional properties of food macromolecules* (pp. 143-226). Gaithersburg, Maryland: Aspen.
- Morris, V. J., et Wilde, P. J. (1997).** Interactions of food biopolymers. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2(6), 567-572.
- Myllarinen, P., Partanen, R., Seppala, J., et Forsell, P. (2002).** Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50(4), 355-361.
- Nagata, S. (2002).** Advantages to HPMC capsules: a new generation's. *Drug delivery technology*, 2, 34-39.
- Ngui, M. O., et Mallapragada, S. K. (1998).** Understanding isothermal semicrystalline polymer drying: Mathematical models and experimental characterization. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, 36(15), 2771-2780.
- Ngui, M. O., et Mallapragada, S. K. (1999a).** Mechanistic investigation of drying regimes during solvent removal from poly(vinyl alcohol) films. *Journal of Applied Polymer Science*, 72, 1913-1920.
- Ngui, M. O., et Mallapragada, S. K. (1999b).** Quantitative analysis of crystallization and skin formation during isothermal solvent removal from semi-crystalline polymers. *Polymer*, 40, 5393-5400.
- Nisperos-Carriedo, M. (1994).** Edible coatings and films based on polysaccharides. In J. M. Krochta, E. A. Baldwin, et M. Nisperos-Carriedo. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality* (pp. 305-335). Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc.
- Nunez-Santiago, M. D., et Tecante, A. (2007).** Rheological and calorimetric study of the sol-gel transition of kappa-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 69(4), 763-773.
- Oostergetel, G. T., et van Bruggen, E. F. J. (1989).** On the origin of a low angle spacing in starch. *Starch-Stärke*, 41(9), 331-335.

- Orford, P. D., Parker, R., G., R. S., et Smith, A. C. (1989).** Effect of water as a diluent on the glass transition behaviour of malto-oligosaccharides, amylose and amylopectin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 11, 91-96.
- O'Sullivan, A. C., et Perez, S. (1999).** The relationship between internal chain length of amylopectin and crystallinity in starch. *Biopolymers*, 50(4), 381-390.
- Parandoosh, S., et Hudson, S. M. (1993).** The Acetylation and Enzymatic Degradation of Starch Films. *Journal of Applied Polymer Science*, 48(5), 787-791.
- Paris, L., et Viau, F. (2001).** *Brevet. Aqueous viscous compositions, whether clear or not, for making soft and hard capsules, and method for making films for such capsules.* US 6 231 205.
- Park, S. Y., Lee, B. I., Jung, S. T., et Park, H. J. (2001).** Biopolymer composite films based on kappa-carrageenan and chitosan. *Materials Research Bulletin*, 36(3-4), 511-519.
- Pereira, C. S., Cunha, A. M., Reis, R. L., Vazquez, B., et San Roman, J. (1998).** New starch-based thermoplastic hydrogels for use as bone cements or drug-delivery carriers. *Journal of materials science- materials in medicine*, 9(12), 825-833.
- Pfannemüller, B. (1987).** Influence of the chain length of short monodisperse amylose on the formation of A- and B-type x-ray diffraction patterns. *International Journal of Biological Macromolecules*, 9, 105-108.
- Piculell, L. (2006).** Gelling Carrageenans. In A. M. Stephen, G. O. Phillips, et P. A. Williams. *Food Polysaccharides and Their Applications. Second Edition* (pp. 239-287). Boca Raton, London, New York: Taylor & Francis.
- Piculell, L., Bergfeldt, K., et Nilsson, S. (1995).** Factors determining phase behaviour of multi component polymer systems. In S. E. Harding, S. E. Hill, et J. R. Mitchell. *Biopolymer Mixtures* (pp. 13-35). Nottingham: Nottingham University Press.
- Podczek, F., et Jones, B. (2004).** *Pharmaceutical Capsules Second Edition.* London: Pharmaceutical Press.
- Popov, D., Burghammer, M., Buleon, A., Montesanti, N., Putaux, J. L., et Riekkel, C. (2006).** A-amylose single crystals: Unit cell refinement from synchrotron radiation microdiffraction data. *Macromolecules*, 39(10), 3704-3706.
- Potocki-Veronese, G., Putaux, J.-L., Dupeyre, D., Albenne, C., Remaud-Siméon, M., Monsan, P., et Buléon, A. (2005).** Amylose Synthesized in Vitro by Amylosucrase: Morphology, Structure, and Properties. *Biomacromolecules*, 6, 1000-1011.
- Putaux, J.-L., Buléon, A., et Chanzy, H. (2000).** Network Formation in Dilute Amylose and Amylopectin Studied by TEM. *Macromolecules*, 33(17), 6416-6422.

- Rees, D. A. (1963).** The carrageenan systems of polysaccharides. Part I. The relation between the  $\kappa$  and  $\lambda$  components. *Journal of Chemical Society*, 340, 1821-1832.
- Rees, D. A. (1969).** Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and network. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 24, 267-332.
- Rees, D. A., Morris, E. R., Thom, D., et Madden, J. K. (1983).** Shapes and interactions of carbohydrate chains. In G. O. Aspinall. *The Polysaccharides* (pp. 196-290). New York: Academic Press.
- Richardson, S., Cohen, A., et Gorton, L. (2001).** High-performance anion-exchange chromatography-electrospray mass spectrometry for investigation of the substituent distribution in hydroxypropylated potato amylopectin starch. *Journal of Chromatography A*, 917(1-2), 111-121.
- Ridout, M. J., Gunning, A. P., Parker, M. L., Wilson, R. H., et Morris, V. J. (2002).** Using AFM to image the internal structure of starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 50(2), 123-132.
- Ridout, M. J., Parker, M. L., Hedley, C. L., Bogracheva, T. Y., et Morris, V. J. (2003).** Atomic force microscopy of pea starch granules: granule architecture of wild-type parent, r and rb single mutants, and the rrb double mutant. *Carbohydrate Research*, 338(20), 2135-2147.
- Ridout, M. J., Parker, M. L., Hedley, C. L., Bogracheva, T. Y., et Morris, V. J. (2004).** Atomic Force Microscopy of Pea Starch: Origins of Image Contrast. *Biomacromolecules*, 5(4), 1519-1527.
- Rindlav, A., Hulleman, S. H. D., et Gatenholma, P. (1997).** Formation of starch films with varying crystallinity. *Carbohydrate Polymers*, 34(1-2), 25-30.
- Rindlav-Westling, A., Stading, M., et Gatenholm, P. (2002).** Crystallinity and Morphology in Films of Starch, Amylose and Amylopectin Blends. *Biomacromolecules*, 3, 84-91.
- Rindlav-Westling, A., Stading, M., Hermansson, A.-M., et Gatenholm, P. (1998).** Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 36(2-3), 217-224.
- Ring, S. G., Colonna, P., l'Anson, K. J., Kalichevsky, M. T., Miles, M. J., Morris, V. J., et Orford, P. D. (1987).** The gelation and crystallisation of amylopectin. *Carbohydrate Research*, 162(2), 277-293.
- Robert, S., Cadé, D., et Xiongwei, X. (2000).** *Brevet. Composition de film d'amidon modifié.*

- Robert, S., Cadé, D., Xiongwei, X., et Cole, E. T. (2005).** *Brevet. Initial disintegration of gelatin and pullulan capsules as assessed via gamma scintigraphy in fasted volunteers.* WO 2005/105051 A1.
- Robin, J.-P., Mercier, C., Charbonniere, R., et Guilbot, A. (1974).** Lintnerized starches. Gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chemistry*, 51, 389-406.
- Rochas, C. (1982).** Etude de la transition sol-gel du Kappa-Carraghénane. (p. 159). Grenoble: Université Scientifique et médicale et Institut National Polytechnique de Grenoble.
- Rochas, C., et Landry, S. (1987).** Molecular organization of kappa carrageenan in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 7(6), 435-447.
- Rochas, C., et Rinaudo, M. (1980).** Activity Coefficients of Counterions and Conformation in Kappa-Carrageenan Systems. *Biopolymers*, 19, 1675-1687.
- Rochas, C., et Rinaudo, M. (1982).** Calorimetric determination of the conformational transition of kappa carrageenan. *Carbohydrate Research*, 105, 227-236.
- Rochas, C., et Rinaudo, M. (1984).** Mechanism of gel formation in kappa-carrageenan. *Biopolymers*, 23, 735-745.
- Rochas, C., Rinaudo, M., et Landry, S. (1990).** Role of the molecular weight on the mechanical properties of kappa carrageenan gels. *Carbohydrate Polymers*, 12(3), 255-266.
- Roos, Y. H. (1995).** *Phase Transitions in Foods*. S. L. TaylorSan Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press.
- Ross-Murphy, S. B. (1992).** Structure and rheology of gelatin gels : recent progress. *Polymer*, 33(12), 2622.
- Roth, W. B., et Mehlretter, C. L. (1967).** Some properties of hydroxypropylated amylo maize starch films. *Food Technology*, 21, 72-74.
- Santacruz, I., Ferrari, B., Nieto, M. I., et Moreno, R. (2004).** Graded ceramic coatings produced by thermogelation of polysaccharides. *Materials Letters*, 58(21), 2579-2582.
- Savary, C., Colonna, P., et Della Valle, G. (1993).** Matériaux d'emballage à base d'amidons et leurs dérivés. *Industrie des céréales*, 17-29.
- Schoch, T. (1945).** The fractionation of starch. *Advanced Carbohydrate Chemistry*, 1, 247-277.
- Shi, X., et BeMiller, J. N. (2000).** Effect of sulfate and citrate salts on derivatization of amylose and amylopectin during hydroxypropylation of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 43(4), 333-336.

- Shogren, R. L. (1992).** Effect of moisture content on the melting and subsequent physical aging of cornstarch. *Carbohydrate Polymers*, 19(2), 83-90.
- Simonet, F., Garnier, C., et Doublier, J.-L. (2000).** Partition of proteins in the aqueous guar/dextran two-phase system. *Food Hydrocolloids*, 14(6), 591-600.
- Simonet, F., Garnier, C., et Doublier, J.-L. (2002).** Description of the thermodynamic incompatibility of the guar-dextran aqueous two-phase system by light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 47(4), 313-321.
- Singh, J., Kaur, L., et McCarthy, O. J. (2007).** Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications--A review. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 1-22.
- Slade, L., et Levine, H. (1987).** Polymer-chemical properties of gelatin in foods. In A. M. Pearson, T. R. Dutson, et A. J. Bailey. *Advances in meat research, collagen as a food 4* (pp. 251-266). New York: AVI Publishers.
- Slade, L., et Levine, H. (1989).** A Food Polymer Science Approach to Selected Aspects of Starch Gelatinization and Retrogradation. In R. P. Millane, J. N. BeMiller, et R. Chandrasekaran. *Frontiers in Carbohydrate Research-1: Food Applications* (pp. 215-270). London: Elsevier Applied Science.
- Slade, L., et Levine, H. (1991).** Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30, 1 L-360.
- Slade, L., et Levine, H. (1995).** Water and the glass transition -- Dependence of the glass transition on composition and chemical structure: Special implications for flour functionality in cookie baking. *Journal of Food Engineering*, 24(4), 431-509.
- Smidsrød, O., Andresen, I.-I., Grasdalen, H., Larsen, B., et Painter, T. (1980).** Evidence for a salt-promoted "freeze-out" of linkage conformations in carrageenans as a prerequisite for gel-formation. *Carbohydrate Research*, 80(1), C11-C16.
- Sobral, P. J. A., et Habitante, A. M. Q. B. (2001).** Phase transitions of pigskin gelatin. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 377-382.
- Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., et Guilbert, S. (1999).** Phase transitions of bovine hide gelatin plasticized by water. In P. Colonna, et S. Guilbert. *Biopolymer Science: Food and non Food Applications. Ed. INRA. (Les Colloques n°91)* (pp. 111-123). Paris.
- Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D., et Roques, M. A. (2001).** Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 423-432.

- Sperling, L. H. (1986).** *Introduction to physical polymer science*. New York: John Wiley & Sons.
- Stainsby, G. (1977).** *The science and technology of gelatin*. A. G. Ward, et A. Courts London: Academic Press.
- Steward, P. A., Hearn, J., et Wilkinson, M. C. (2000).** An overview of polymer latex film formation and properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 86(3), 195-267.
- Takahashi, Y., Kumano, T., et Nishikawa, S. (2004).** Crystal structure of B-amylose. *Macromolecules*, 37(18), 6827-6832.
- Takeda, Y., Hizukuri, S., Takeda, C., et Suzuki, A. (1987).** Structures of branched molecules of amyloses of various origins, and molar fractions of branched and unbranched molecules. *Carbohydrate Research*, 165, 139-145.
- Tapia-Blacido, D., Sobral, P. J., et Menegalli, F. C. (2005).** Effects of drying temperature and relative humidity on the mechanical properties of amaranth flour films plasticized with glycerol. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 22(2), 249-256.
- te Nijenhuis, K. (1981).** Investigation into the ageing process in gels of gelatin/water systems by measurement their dynamic moduli. *Colloid and polymer science*, 259(522), 1017-1026.
- te Nijenhuis, K. (1997).** Thermoreversible Networks: Viscoelastic Properties and Structure of Gels. *Advances in Polymer Science*, 130, 203-218.
- Tecante, A., et Doublier, J. L. (2002).** Rheological investigation of the interaction between amylose and [kappa]-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 49(2), 177-183.
- Tharanathan, R. N. (2003).** Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78.
- Thire, R., Simao, R. A., et Andrade, C. T. (2003).** High resolution imaging of the microstructure of maize starch films. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 149-158.
- Trommsdorff, U., et Tomka, I. (1995).** Structure of Amorphous Starch. 2. Molecular Interactions with Water. *Macromolecules*, 28(18), 6138-6150.
- Turquois, T., Rochas, C., Taravel, F. R., Doublier, J.-L., et Axelos, M. A. V. (1995).** Small -angle X-ray scattering of kappa-carrageenan based system: sols, gels, and blends with carob galactomannan. *Biopolymers*, 36(5), 559-567.
- Unbehend, J. E., et Sarko, A. (1974).** Light scattering and X-ray characterization of amylose films. *Journal of Polymer Science*, 12, 545-554.
- van den Berg, C. (1984).** Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the GAB model of sorption. In B. M. MacKenna. *Engineering and Foods* (pp. 31 1-321). London: Elsevier.

- Van den Berg, C., et Bruin, S. (1981).** Water activity and its estimation in food systems. In L. B. Rockland, et G. F. Stewart. *Water activity: influences on food quality* (pp. 1-61). New York: Academic Press.
- van Soest, J. J. G., Benes, K., de Wit, D., et Vliegthart, J. F. G. (1996).** The influence of starch molecular mass on the properties of extruded thermoplastic starch. *Polymer*, 37(16), 3543-3552.
- Veis, A. (1964).** *The macromolecular chemistry of gelatin*. New York: Academic Press.
- Viebke, C., Piculell, L., et Nilsson, S. (1994).** On the Mechanism of Gelation of Helix-Forming Biopolymers. *Macromolecules*, 27(15), 4160-4166.
- Vorwerg, W., Dijksterhuis, J., Borghuis, J., Radosta, S., et Kroger, A. (2004).** Film properties of hydroxypropyl starch. *Starch-Stärke*, 56(7), 297-306.
- Wakelin, J. H., Virgin, H. S., et Crystal, E. (1959).** Development and comparison of two X-ray methods for determining the crystallinity of cotton cellulose. *Journal of Applied Physics*, 30, 1654-1662.
- Wilhelm, H. M., Sierakowski, M. R., Souza, G. P., et Wypych, F. (2003).** Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), 101-110.
- Williams, M. A. K., et Phillips, G. O. (1995).** Interactions in mixed polysaccharide systems. In A. M. Stephen. *Food polysaccharides and their applications* (pp. 463-500). New York: Marcel Dekker.
- Winter, H. H., et Chambon, F. (1986).** Analysis of Linear Viscoelasticity of a Crosslinking Polymer at the gel Point. *Journal of Rheology*, 30(2), 367-382.
- Wittwer, F., Tomka, I., Bodenmann, H.-U., Raible, T., et Gillow, L. (1998).** *Brevet. Method for forming pharmaceutical capsules from starch compositions*. US 4 738 724.
- Wolff, I. A., Davis, H. A., Cluskey, J. E., Gundrum, L. J., et Rist, C. E. (1951).** Preparation of films from Amylose. *Industrial and Engineering Chemistry*, 43(4), 915-919.
- Wootton, M., et Manatsathit, A. (1983).** The influence of molar substitution on the water binding capacity of hydroxypropyl maize starches. *Starch-Stärke*, 35, 92-94.
- Wulansari, R., Mitchell, J. R., Blanshard, J. M. V., et Paterson, J. L. (1998).** Why are gelatin solutions Newtonian? *Food Hydrocolloids*, 12(2), 245-249.
- Wurzburg, O. B. (1995).** Modified Starches. In A. M. Stephen. *Food polysaccharides and their applications* (pp. 67-97). New York: Marcel Dekker Inc.
- Yamaguchi, M., Kainuma, K., et French, A. (1979).** Electron microscopic observations of waxy maize starch. *Journal of Ultrastructure Research*, 69, 249-261.
- Yamamoto, T., Matsuura, S., et Kazukiyo, A. (1998).** *Brevet. Capsule shell*. US 5 756 123.

- Yu, L., Dean, K., et Li, L. (2006).** Polymer blends and composites from renewable resources. *Progress in Polymer Science*, 31(6), 576-602.
- Zasytkin, D. V., Braudo, E. E., et Tolstoguzov, V. B. (1997).** Multicomponent biopolymer gels. *Food Hydrocolloids*, 11(2), 159-170.
- Zeleznak, K. J., et Hosney, R. C. (1987).** The Glass Transition in starch. *Cereal Chemistry*, 64(2), 1211-1124.
- Zhai, M., Zhao, L., Yoshii, F., et Kume, T. (2004).** Study on antibacterial starch/chitosan blend film formed under the action of irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 57(1), 83-88.
- Zhang, W., et Furo, I. (1993).** I-NMR studies of anion binding to  $\kappa$ -carrageenan. *Biopolymers*, 33(11), 1709-1714.
- Zobel, H. F. (1988).** Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch-Stärke*, 40(1), 1-7.

## Liste des figures

<b>Figure I.1-1.</b> Formation des gélules dures de gélatine par moulage par trempage. ....	8
<b>Figure I.1-2.</b> Positionnement des doigts de trempage lors du passage dans les fours de séchage.....	8
<b>Figure I.1-3.</b> Étapes de démoulage (a), d'ébavurage (b), et d'assemblage des gélules (c).....	9
<b>Figure I.1-4.</b> Teneur en eau à l'équilibre de gélules pharmaceutiques dures vides à base de gélatine en lien avec le comportement mécanique. Les gélules sont stockées à différentes humidités relatives pendant deux semaines à 20°C. (Bond et al., 1970).....	11
<b>Figure I.1-5.</b> Isotherme de sorption-désorption de gélules dures à base de gélatine et d'HPMC à l'équilibre à 25°C (Nagata, 2002). ....	13
<b>Figure I.1-6.</b> Test de fragilité des gélules : pourcentage de gélules fracturées en fonction de leur teneur en eau. a: résistance à la pression avec des gélules remplies d'amidon de maïs. b: résistance au choc avec des gélules vides (Nagata, 2002).....	13
<b>Figure I.2-1.</b> Structure de l'amylose .....	16
<b>Figure I.2-2.</b> Structure de l'amylopectine.....	17
<b>Figure I.2-3.</b> Grains de différents amidons observés en microscopie électronique à balayage MEB (grossissement $\times 280$ ) (Boursier, 2005). ....	18
<b>Figure I.2-4.</b> Les différents niveaux d'organisation du grain d'amidon (Jenkins et Donald, 1995) .....	19
<b>Figure I.2-5.</b> Organisation du grain d'amidon en "blocklets" (Gallant et al., 1997). ....	20
<b>Figure I.2-6.</b> Diagramme de diffraction des rayons X pour des amidons cristallins de type A, B, et C. ....	21
<b>Figure I.2-7.</b> Cristallinité d'un amidon de pomme de terre: influence de la teneur en eau sur la résolution du diagramme de diffraction des rayons X (Buléon et al., 1982).....	21
<b>Figure I.2-8.</b> Arrangement cristallin de doubles hélices d'amylose de type A et B. ....	22
<b>Figure I.2-9.</b> Thermogrammes d'AED d'amidon de pomme de terre à différentes fractions volumiques d'eau (Donovan, 1979) .....	24
<b>Figure I.2-10.</b> Réaction d'hydroxypropylation.....	27
<b>Figure I.2-11.</b> Motif de répétition idéal du $\lambda$ -carraghénane (a) ( $R = H$ ou $SO_3^-$ ), et (b) du $\iota$ -carraghénane ( $R_1 = R_2 = SO_3^-$ ) et du $\kappa$ -carraghénane ( $R_1 = H$ ; $R_2 = SO_3^-$ ). ....	29
<b>Figure I.2-12.</b> Pourcentage d'ordre du $\kappa$ -carraghénane en solution par polarimétrie (O) et par des mesures de conductivité ( $\Delta$ ) (Rochas et Landry, 1987) .....	31

<b>Figure I.2-13.</b> Variation de la température de transition $T_m$ au refroidissement du $\kappa$ -carraghénane en fonction de la concentration totale $C_T$ de différents cations monovalents (1) $Rb^+$ , (2) $Cs^+$ , (3) $K^+$ , (4) $NH_4^+$ , (7) $N(CH_3)_4^+$ , (8) $Na^+$ , (9) $Li^+$ , et des cations divalents (5→6) $Ba^{2+}$ , $Ca^{2+}$ , $Sr^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $Co^{2+}$ (Rochas, 1982).....	32
<b>Figure I.2-14.</b> Diagramme de phase du $\kappa$ -carraghénane représentant la variation de la température de transition au refroidissement et au chauffage en fonction de la concentration totale en potassium (Rochas, 1982). .....	33
<b>Figure I.2-15.</b> Modèle de gélification du $\kappa$ -carraghénane. • Cation favorisant la gélification. (Morris et al., 1980) .....	34
<b>Figure I.2-16.</b> Variations de $G'$ et de $G''$ en fonction de la température pour une concentration en $\kappa$ -carraghénane de 1%. Fréquence 1 Hz. $T_g$ : température de gélification ; $T_m$ : température de fusion. Refroidissement : $G'$ (■), $G''$ (◆). Chauffage : $G'$ (□), $G''$ (◇). (Fernandes et al., 1992).....	37
<b>Figure I.2-17.</b> Cinétique d'évolution du $\kappa$ -carraghénane à une concentration de 1%. Température de mesure 25°C. Fréquence 1Hz. $G'$ (■), $G''$ (□). (Fernandes et al., 1992). .....	38
<b>Figure I.3-1.</b> Diagramme de phase à 25°C du mélange amidon waxy hydroxypropylé / $\kappa$ -carraghénane (Chaudemanche, 2007).....	41
<b>Figure I.4-1.</b> Propriétés mécaniques en traction de films à base d'amidon. (a) Contrainte à la rupture et (b) déformation à la rupture en fonction de la teneur en amylose (Lourdin et al., 1995).....	47
<b>Figure I.4-2.</b> Représentation schématique d'un isotherme de sorption avec un hystérésis entre l'isotherme d'absorption et de désorption. La teneur en eau est souvent exprimé en g/g. 48	
<b>Figure I.4-3.</b> Variation de la $T_g$ pour différentes fractions d'amidons en fonction de la teneur en eau (Bizot et al., 1997) .....	51
<b>Figure I.4-4.</b> Représentation schématique du diagramme de phase d'un amidon de pomme de terre montrant la diminution de la $T_g$ avec l'augmentation de l'humidité relative H.R. L'isotherme de sorption montre la variation de la teneur en eau en fonction de $A_w$ à 25°C extrapolée à l'aide du modèle de GAB. Les valeurs expérimentales de $T_g$ extrapolée à l'aide de l'équation de Gordon et Taylor et l'isotherme de sorption du modèle de GAB permettent de déterminer les valeurs critiques de teneur en eau et d'humidité relative (Jouppila et Roos, 1997). .....	52
<b>Figure I.4-5.</b> Variation de la température de transition vitreuse de l'amidon en fonction de la teneur en eau pour différentes concentrations en glycérol (Lourdin et al., 1997b). .....	54

<b>Figure I.4-6.</b> Influence de la teneur en glycérol sur la contrainte maximum (○) et la déformation à la rupture (□), pour des films d'amidon de pomme de terre à 25°C, conditionnés à 57% d'H.R. (Lourdin et al., 1997a).....	55
<b>Figure I.4-7.</b> Spectres de diffraction des rayons X aux grands angles (DRX) de films d'amidon de pomme de terre obtenus dans différentes conditions de séchage. De haut en bas : 20°C et 92%RH, 20°C et 58%RH, 20°C et 25%RH, 50°C, et 68°C (Rindlav et al., 1997).....	57
<b>Figure II.1-1.</b> Profil de répartition des masse molaire en poids des amidons de pois hydroxypropylés et hydrolysés (données Roquette).....	62
<b>Figure II.2-1.</b> Caractéristiques dimensionnelles des éprouvettes de traction.....	75
<b>Figure III.1-1.</b> Spectre mécanique de la gélatine à 27%. $G'$ : symboles pleins ; $G''$ : symboles vides. Température de mesure 50°C; amplitude de déformation 1%. .....	78
<b>Figure III.1-2.</b> Modules de conservation $G'$ et de perte $G''$ en fonction de la température au refroidissement pour un échantillon de gélatine à 27%. Rampe de température de 50°C à 25°C à 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation 1%.....	79
<b>Figure III.1-3.</b> Modules de conservation $G'$ et de perte $G''$ en fonction de la température au chauffage pour un échantillon de gélatine à 27%. Rampe de température de 25°C à 50°C à 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation 1%.....	80
<b>Figure III.1-4.</b> Spectre mécanique de la gélatine à 27%. $G'$ : symboles pleins ; $G''$ : symboles vides. Température de mesure 20°C; amplitude de déformation 1%. .....	81
<b>Figure III.1-5.</b> Évolution des modules $G'$ et $G''$ en fonction du temps pour un gel de gélatine à 27%. Température de mesure 23°C ; fréquence 1 rad/s ; amplitude de déformation : 1%. .....	82
<b>Figure III.1-6.</b> Variations de $G'$ (à 6h) en fonction de la concentration en gélatine. Données obtenues après 6 h de mesure à 25°C. Fréquence 1rad/s ; déformation 1%. .....	83
<b>Figure III.1-7.</b> Cinétique de séchage de gels de gélatine à 25°C et 40% H.R. ....	83
<b>Figure III.1-8.</b> Courbe contrainte-déformation d'un film de gélatine mesuré à 25°C. Film stocké à 25°C et 40% d'HR (□): teneur en eau : 14% $\pm$ 0,2%. Film stocké à 25°C et 58% d'HR (○) : teneur en eau 16% $\pm$ 0,2%. .....	85
<b>Figure III.1-9.</b> Thermogrammes d'AED de films de gélatine stockés à des humidités relatives de 40% et 58%. Le premier scan est représenté en ligne pointillée; le second scan est représenté en ligne continue. Cinétique de chauffage 3°C/min.....	86

- Figure III.2-1.** Courbes d'écoulement des dispersions d'amidon de pois hydroxypropylés à une concentration de 25% (g/g). A160 (●), A60 (■), A30 (◆), A15 (▲), et A5 (×). Température de mesure : 50°C. .... 89
- Figure III.2-2.** Courbes d'écoulement des dispersions de l'amidon de pois hydroxypropylé A60 à des concentrations de 25% (■), 27% (●), et 30% (▲). Température de mesure 50°C. .... 89
- Figure III.2-3.** Spectres mécaniques des différents empois d'amidon de pois hydroxypropylés et fluidifiés à une concentration de 25%. (a) A160, (b) A60, (c) A30, (d) A15, (e) A5.  $G'$ : symboles pleins;  $G''$ : symboles vides. Température de mesure : 50°C. Amplitude de déformation : 1%. .... 90
- Figure III.2-4.** Courbes d'écoulement du mélange A60(25%)- $\kappa$ C0,5 (◆), du  $\kappa$ -carraghénane à 0,5% ( $\kappa$ C0,5 ×), et des dispersions d'amidon A60 à 25% (□), 27% (○), et 30% (Δ), et Température de mesure : 50°C. .... 92
- Figure III.2-5.** Courbes d'écoulement des mélanges : amidon A60 (25%) à différentes concentrations en  $\kappa$ -carraghénane. A60- $\kappa$ C1 (×), A60- $\kappa$ C0,75 (■), A60- $\kappa$ C0,5 (◆), A60- $\kappa$ C0,25 (▲), A60- $\kappa$ C0,1 (●). La courbe d'écoulement de l'amidon seul A60 (25%) est également représentée (traits discontinus). Température de mesure : 50°C. .... 93
- Figure III.2-6.** Courbes d'écoulement des mélanges amidon/ $\kappa$ C0,5 pour des concentrations en amidon de 25%. A160- $\kappa$ C0,5 (●), A60- $\kappa$ C0,5 (■), A30- $\kappa$ C0,5 (◆), A15- $\kappa$ C0,5 (▲), et A5- $\kappa$ C0,5 (×). Température de mesure : 50°C. .... 94
- Figure III.2-7.** Spectres mécaniques du  $\kappa$ C0,5 (traits continus, ◆, ◇), de A60 (traits continus ●, ○), et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 (■, □). Concentration de l'A60 seul et dans le mélange : 25%.  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  symboles vides. Température de mesure : 50°C. Amplitude de déformation : 1%. .... 95
- Figure III.2-8.** Thermogrammes au refroidissement (a) et au chauffage (b) pour le  $\kappa$ C0,5. Cinétique de température 1°C/min. .... 97
- Figure III.2-9.** Thermogrammes au refroidissement (a) et au chauffage (b) pour le  $\kappa$ C0,5 et le mélange A60- $\kappa$ C0,5. Concentration en amidon : 25%. Cinétique de température : 1°C/min. .... 99
- Figure III.2-10.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température pour le  $\kappa$ C0,5 (●, ○), et le mélange A60- $\kappa$ C0,5 (■, □).  $G'$  : symboles pleins ;  $G''$  : symboles vides. Cinétique : 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%. (a) refroidissement de 60°C à 20°C. (b) chauffage de 20°C à 60°C. .... 100

- Figure III.2-11.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température au refroidissement de 50°C à 20°C pour les mélanges A60- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), A60- $\kappa$ C0,5 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ), A60- $\kappa$ C0,1 ( $+$ ,  $\times$ ). Concentration en amidon de 25%.  $G'$  : lignes continues;  $G''$  : lignes pointillées. Cinétique : 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%. 102
- Figure III.2-12.** Variations des modules  $G'$  et  $G''$  en fonction de la température au refroidissement de 50°C à 20°C pour les mélanges A160- $\kappa$ C1 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ), A60- $\kappa$ C1 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), A30- $\kappa$ C1 ( $\diamond$ ,  $\blacklozenge$ ), A15- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), et A5- $\kappa$ C1 ( $+$ ,  $\times$ ).  $G'$  : lignes continues;  $G''$  : lignes pointillées. Rampe de température 1°C/min. Fréquence : 1 rad/s. Amplitude de déformation : 1%..... 103
- Figure III.2-13: Spectres mécaniques du  $\kappa$ C1 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ),  $\kappa$ C0,75 (pointillées avec  $\bullet$ ,  $\circ$ ) et  $\kappa$ C0,5 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$ : symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 1%..... 104
- Figure III.2-14.** Spectres mécaniques du  $\kappa$ C0,5 ( $\bullet$ ,  $\circ$ ), du A60 (lignes pointillées avec  $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), et du mélange A60- $\kappa$ C0,5 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  : symboles vides. Concentration de l'amidon seul et dans le mélange : 25%. Température de mesure 20°C. Amplitudes de déformation : 0,1% pour les mélanges et 1% pour les constituants seuls. .... 105
- Figure III.2-15.** Spectres mécaniques des mélanges A60- $\kappa$ C1 ( $\blacktriangle$ ,  $\triangle$ ), A60- $\kappa$ C0,5 (lignes pointillées avec  $\bullet$ ,  $\circ$ ), et A60- $\kappa$ C0,1 ( $\blacksquare$ ,  $\square$ ).  $G'$  : symboles pleins,  $G''$  : symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 0,1%..... 106
- Figure III.3-1.** Diagramme de diffraction des rayons X aux grands angles (DRX) pour les échantillons d'amidons obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR. Lignes continues de bas en haut : A160, A60, A30, A15, A5. Lignes pointillées : référence cristalline de type B. Conditionnement des films à 58% d'HR. Teneur en eau des films 13,5%  $\pm$  0,2%. ..... 109
- Figure III.3-2.** Thermogrammes d'AED des films obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR qui ont ensuite été stockés à 25°C et 58% d'HR. Teneur en eau des films : 13,5%  $\pm$  0,2%. Le 1er scan est représenté en trait pointillé. (1) enthalpie de relaxation. Les flèches indiquées  $T_F$  représente la fusion. Le second scan est représenté en trait continu. Le déplacement de la  $T_g$  est indiqué par une flèche. .... 110
- Figure III.3-3.** Variations de l'enthalpie de fusion  $\Delta H_F$  obtenue par AED et du degré de cristallinité obtenu par XRD en fonction de  $\bar{M}_w$  des films. .... 111
- Figure III.3-4.** Cinétique de séchage de l'amidon A60 à une concentration de 25% ( $\ominus$ ), 27% ( $\boxminus$ ), et 30% ( $\boxplus$ ). Conditions de séchage : 25°C et 40% d'HR. .... 112

<b>Figure III.3-5.</b> Cinétique de séchage de l'A5 (○) et de l'A15 (□) à 25°C et 40% d'HR (concentration initiale en amidon 27%).	113
<b>Figure III.3-6.</b> Cinétique de cristallisation du film A15 obtenu par casting à 25°C et 40% d'HR. Concentration initiale en amidon 27%. Les spectres de DRX sont représentés toutes les 30 min.	114
<b>Figure III.3-7.</b> Cinétique de cristallisation du film A5 obtenu par casting à 25°C et 40% d'HR. Concentration initiale en amidon 27%. Les spectres de DRX sont représentés toutes les 30 min.	115
<b>Figure III.3-8:</b> Images topographiques AFM en représentation 3D des surfaces des films d'amidon hydroxypropylés: (a) A160 : amorphe; (b) A60 : 6% de cristallinité ; (c) A30 : 12% de cristallinité ; (d) A15 : 16% de cristallinité ; A5 : 24% de cristallinité. Courbes correspondantes de rugosité donnant les hauteurs mesurées (abscisse) en fonction de leur fréquence d'apparition (ordonnée). Rq, Rp sont, respectivement, les valeurs de la rugosité quadratique moyenne et de la hauteur maximale du pic.	116
<b>Figure III.3-9:</b> Images AFM à plus fort grandissement des surfaces des films d'amidon: (a)-(a') A160; (b)-(b') A60; (c)-(c') A30 ; (d)-(d') A15; (e)-(e') A5. Les séries d'images (a)-(e) et (a')-(e') correspondent, respectivement, à des images enregistrées en mode topographique et en contraste de phase.	117
<b>Figure III.3-10.</b> Courbe de contrainte-déformation des amidons A160, A60, A30, et A15 à 25°C. Conditionnement : 25°C et 58% d'HR.	118
<b>Figure III.3-11 :</b> Propriétés thermomécaniques dynamiques des films thermomoulés A160 (▲, △), A30 (●, ○), A5 (■, □). Variation du module de conservation ( $E'$ ) (ligne continue et symbole pleins) et de $\tan \delta \left( \frac{E''}{E'} \right)$ (lignes pointillée et symboles vides) en fonction de la température. Fréquence de mesure 1Hz ; amplitude déformation 0.1%.	120
<b>Figure III.3-12.</b> Diagramme de DRX de l'amidon A15 obtenu par casting à différentes températures de 25°C à 65°C. Films conservés à 25°C et 58% d'HR.	121
<b>Figure III.3-13.</b> Thermogrammes d'AED des films A15 obtenus par casting à 25°C, 35°C, 45°C, 55°C, et 65°C. Le 1er scan est représenté en trait pointillé. Le second scan est représenté en trait continu. Films conditionnés à 25°C et 58% d'HR.	122
<b>Figure III.3-14.</b> Isothermes de sorption des films A5 et A15 obtenus par casting conditionnés et à différentes humidités relatives. Température 25°C	124
<b>Figure III.3-15.</b> Thermogrammes d'AED des films A5 à différentes HR. 1 <sup>er</sup> scan : lignes continues ; 2 <sup>nd</sup> scan : lignes pointillées. Cinétique de température 3°C/min. Les teneurs en eau à différentes HR sont également présentées dans le tableau.	124

<b>Figure III.3-16.</b> Température de transition vitreuse $T_g$ des films A5 (●) et A15 (■) en fonction de la teneur en eau. Les données de Bizot et al. (1997) sur des films d'amylopectine sont également représentées ( $\Delta$ ). Les lignes montrent les variations de la $T_g$ calculées à l'aide du modèle de Gordon et Taylor. ....	125
<b>Figure III.3-17.</b> Courbes de contrainte-déformation du film A30 après un stockage à différentes humidités relatives. ....	126
<b>Figure III.3-18.</b> Variations de la teneur en eau des films A30 en fonctions des teneurs en glycérol ( $\square$ ) et en polysorb® ( $\Delta$ ). Films conditionnés à 25°C et 58% d'HR. ....	127
<b>Figure III.3-19.</b> Courbes de contrainte-déformation du film A30 en fonction de la teneur en glycérol. Films conditionnés à 58% d'HR. ....	128
<b>Figure III.3-20.</b> Contrainte à la rupture ( $\circ$ ) et déformation à la rupture ( $\square$ ) des films A30 en fonction de la teneur en glycérol. Films conditionnés à 58% d'HR. ....	129
<b>Figure III.3-21.</b> : Contrainte à la rupture ( $\circ$ ) et déformation à la rupture ( $\square$ ) des films A30 en fonction de la teneur en polysorb®. Films conditionnés à 58% d'HR. ....	130
<b>Figure III.3-22.</b> Cinétique de séchage de l'amidon A30 ( $\boxplus$ ) et du mélange A30- $\kappa$ C0,5 ( $\ominus$ ). La cinétique de séchage de la gélatine est également présentée. Conditions de séchage : 25°C et 40% d'HR. ....	132
<b>Figure III.3-23 :</b> Diagramme de diffraction des rayons X (DRX) pour les films A30- $\kappa$ C1, A30- $\kappa$ C0,5, et A30, obtenus par casting à 25°C et 40% d'HR. Conditionnement des films à 58% d'HR. Teneur en eau des films 13,5% $\pm$ 0,2%. ....	134
<b>Figure III.3-24.</b> Thermogramme d'AED des films A30- $\kappa$ C1 et A30 à une teneur en eau identique de 13,5%. 1 <sup>er</sup> scan : ligne continues ; 2 <sup>nd</sup> scan : ligne pointillées. Cinétique de température 3°C/min. ....	134
<b>Figure III.3-25.</b> Courbe de contrainte-déformation des films de $\kappa$ -carraghénane ( $\circ$ ), d'amidon A30 ( $\Delta$ ), et du mélange A30- $\kappa$ C0,5 ( $\square$ ).Conditionnement : 25°C et 58% d'HR. ....	135
<b>Figure IV.1-1.</b> Diagramme de phase de mélanges amidon de maïs waxy/-carraghénane à 25°C (Chaudemanche, 2007). L'axe des abscisses représente la viscosité réduite $c[\eta]$ . Les mélanges à base des différents amidons de l'étude en présence de 0,5% de $\kappa$ -carraghénane sont représentées dans le diagramme à titre de comparaison. ....	141
<b>Figure IV.2-1.</b> Variations de la $T_g$ en fonction du temps de séchage pour A15. Données expérimentales de $T_g$ (■). La variation de la $T_g$ calculée à partir du modèle de Gordon et Taylor est représentée en traits continus pour des teneurs en eau inférieures à 25% et en traits pointillés pour des teneurs en eau supérieures à 25%. La teneur en eau critique et le	

temps correspondant au cours du séchage à 25°C sont représentés par des flèches. La cinétique de séchage est également indiquée (□)..... 144

**Figure IV.3-1:** Diagramme d'état des films A5 et A15 représentant les variations de la Tg avec l'humidité relative (HR). Les isothermes de sorption montrent les variations de la teneur en eau avec HR. Les variations de Tg calculées à partir du modèle de Gordon et Taylor et les isothermes de sorption calculé à partir du modèle de GAB permettent de déterminer les valeurs critiques d'HR et de teneur en eau pour lesquelles la Tg est inférieure à 25°C..... 154

**Figure IV.4-1.** Viscosités des différentes formulations étudiées (concentration en amidon de 25%), en comparaison de celles de la gélatine (domaine hachuré) à des concentrations de 25 à 30%. Température de mesure: 50°C. Viscosité apparente des mélanges déterminée à 1s<sup>-1</sup>..... 155

**Figure IV.4-2.** Spectres mécaniques des mélanges A60-κC1 (▲, Δ) et A60κ-C0,1 (●, ○) en comparaison avec la gélatine à 25% (■, □). G': symboles pleins, G'': symboles vides. Température de mesure 20°C. Amplitude de déformation 1% pour la gélatine et 0,1% pour les mélanges..... 157

**Figure IV.4-3.** Courbes de contrainte-déformation représentatives des films de gélatine et des films à base des mélanges amidon/κ-carraghénane après un stockage à 25°C et 58% d'HR..... 157

**Figure IV.4-4.** Isotherme de sorption à 25°C des films A15 en comparaison avec celui de Sobral et Habitante (2001) sur les films de gélatine porcine..... 158

## **Study and elaboration of polysaccharides-based films for pharmaceutical capsules production**

### **Abstract**

Rheological properties of film-forming aqueous solutions based on hydroxypropylated pea starch with different molecular weight ( $4,7 \times 10^4$  g/mol to  $1,6 \times 10^6$  g/mol) and  $\kappa$ -carrageenan mixtures have been investigated at concentrations from 25 to 30%. Many different compositions have been selected for which the behaviour is close to the gelatin in industrial conditions used for the hard pharmaceutical capsules production.

The rheological behaviours of the mixtures highlight some synergism effects between components resulting in a spectacular increase of the viscosity and in a strengthening of the gels. These phenomena are explained by the thermodynamic incompatibility between starch and  $\kappa$ -carrageenan leading to a phase separated system, the concentrated  $\kappa$ -carrageenan being in the continuous phase. Despite of the dominant role of the  $\kappa$ -carrageenan during gelation, mechanical properties of blended cast-films (stress: 30-35MPa, strain: 8-9%) were governed by starch.

Crystallinity, morphology, water content, and phase transitions of the films were studied and related to molecular weight and film formation conditions. B-type crystallinity has been evidenced during the casting process, depending on molecular weight and film formation temperature. The water content is therefore dependant of the crystallinity and plays an important role on the physical properties of the films. Based on glass transition temperatures variations with the water content, the distribution of water into the amorphous and crystalline phases has been studied. In the glassy state, molecular weight and crystallinity do not modify the mechanical proprieties of the films.

**Keywords** : *starch - carrageenan - polysaccharide mixtures- rheological properties - drying - films - phase transitions - physical state - mechanical properties - structure - pharmaceutical capsules.*

## **Étude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques**

### *Résumé*

Les propriétés rhéologiques de solutions aqueuses filmogènes à base de mélanges amidons de poids hydroxypropylés de différentes masses molaires ( $4,7 \times 10^4$  g/mol à  $1,6 \times 10^6$  g/mol) et de  $\kappa$ -carraghénane ont été déterminées pour des concentrations entre 25 et 30%. Plusieurs formulations ont été sélectionnées dont le comportement est proche de celui de la gélatine dans les conditions employées industriellement pour la fabrication des gélules pharmaceutiques dures. Les comportements rhéologiques des mélanges révèlent des effets de synergie entre les constituants conduisant à des augmentations importantes de la viscosité et à un renforcement des gels. Ces phénomènes s'expliquent par l'incompatibilité thermodynamique entre l'amidon et le  $\kappa$ -carraghénane entraînant une séparation de phase du  $\kappa$ -carraghénane dans la phase continue d'amidon. Malgré le rôle dominant du  $\kappa$ -carraghénane lors de la gélification, les propriétés mécaniques des films à base des mélanges obtenus par casting (contrainte : 30-35 MPa ; déformation : 8-9 %) sont gouvernées par l'amidon.

La cristallinité, la morphologie, la teneur en eau, les changements d'état et les transitions de phase des films ont été étudiées en relation avec la masse molaire des amidons et les conditions de séchage. Les films forment une structure cristalline de type B au cours du séchage qui dépend de la masse molaire de l'amidon et de la température de formation des films. Les observations par microscopie à force atomique révèlent l'existence de nodules nanométriques dont la taille varie avec la cristallinité des films. La teneur en eau, également dépendante de la cristallinité des films, joue un rôle important sur les propriétés physiques de films. Sur la base des variations des températures de transition vitreuse en fonction de teneur en eau, la distribution de l'eau au sein des phases amorphes et cristallines a été étudiée. À l'état vitreux, la masse molaire et la cristallinité ne modifient pas les propriétés mécaniques des films.

**Mots clés :** *amidon -  $\kappa$ -carraghénane - mélanges de polysaccharides - propriétés rhéologiques - séchage - films - changements d'état - transitions de phase - propriétés mécaniques - structure - gélules pharmaceutiques*