

ISSN 1149 - 0039

Les Cahiers de Rhéologie



RHEOLOGIE DES MATERIAUX DU VIVANT

**34ème COLLOQUE ANNUEL
DU GROUPE FRANÇAIS DE RHEOLOGIE**

PARIS, 18-20 OCTOBRE 1999

Volume XVI, Numéro 3

GROUPE FRANCAIS DE RHEOLOGIE

La RHEOLOGIE (du grec rheô "couler" le suffixe logie désignant une science) est la science de la matière en écoulement, des contraintes qu'il faut lui appliquer et des modifications structurelles qui en résultent.

La matière simplement déformée est un cas particulier. Les phénomènes relevant de la mécanique des fluides Newtonienne, de l'élasticité Hookéenne, du simple transport électrons sont des cas limites

UNIVERSELLE, on la rencontre dans tous les domaines de l'activité humaine aussi bien que dans les phénomènes naturels. Ses applications vont de la mise en forme des produits industriels quelqu'en soit le matériau, aux comportements de la matière vivante, en passant par la tenue des pneumatiques ou la durabilité des constructions. Son impact économique est donc considérable.

INTERDISCIPLINAIRE, elle fait appel à la MECANIQUE, à la PHYSIQUE, à la CHIMIE, aux MATHEMATIQUES, à la BIOLOGIE qui lui fournissent ses instruments de base, et se montre utile à chacune de ces disciplines.

ASSOCIATION SANS BUT LUCRATIF à vocation purement scientifique Fondée en 1964 et régie par la Loi de 1901, le GROUPE FRANCAIS DE RHEOLOGIE a pour OBJECTIFS de contribuer au DEVELOPPEMENT des études et recherches relatives à la Rhéologie et de favoriser la DIFFUSION ou le TRANSFERT des progrès accomplis dans ses diverses branches.

Dans ce but, le GROUPE FRANCAIS DE RHEOLOGIE :

- Organise un COLLOQUE, NATIONAL ANNUEL.
- Edite des CAHIERS consacrés aux exposés scientifiques: (une soixantaine de numéros édités à ce jour), et un BULLETIN consacré aux informations courantes.
- Contribue à la clarification du langage par l'établissement dun DICTIONNAIRE.
- Favorise le développement de l'enseignement et de la recherche, le transfert des connaissances, dans les domaines de la Rhéologie.
- Offre une bourse et un prix annuel
- Est membre du COMITE INTERNATIONAL DE RHEOLOGIE et entretient des relations avec les SOCIETES DE RHEOLOGIE d'autres pays.
- S'associe avec d'autres sociétés savantes ou professionnelles, dans le but de mieux promouvoir la Rhéologie, science universelle et interdisciplinaire.



Les Cahiers de Rhéologie



GROUPE FRANÇAIS DE RHEOLOGIE

Président : R. GAUDU

Trésorier : J.L. CHEVALIER

Secrétaire : J.L. DOUBLIER

ENSCP

351 Cours de la Libération

33405 - TALENCE Cedex

Tél, Fax : 05 56 84 66 88

SOUSCRIPTIONS AUX CAHIERS ET ABONNEMENTS

Les Cahiers paraissent deux à trois fois par an

Les membres du G.F.R. les reçoivent gratuitement

Les non membres peuvent obtenir les numéros des Cahiers en s'adressant
au secrétariat du Groupe moyennant une participation aux frais

Les articles sont publiés sous la responsabilité de leurs auteurs

**34ème COLLOQUE ANNUEL
DU GROUPE FRANÇAIS DE RHEOLOGIE**

**RHEOLOGIE DES MATERIAUX DU VIVANT
PARIS, 18-20 OCTOBRE 1999**

Comité d'organisation

Coordinateur: P. Flaud

F. Amyot
C. Bachelet
I. Boucenna
D. Bourgoïn
J. Bouton
F. Chinesta
F.. Cros
C. Duval
R. Droz
D. Geiger
J.L. Grossiord
P. Peronneau
A. Ponton
V. Rouffiac
L. Royon
C. Wolff

Comité Scientifique

Président: P.G. de Gennes

C. Baquey
L. Dubertret
G. Couarraze
B. Launay
J.L. Morançais
C. Oddou
D. Quemada
J.F. Stoltz

SOMMAIRE

Pages

CONFERENCES PLENIERES

- Dynamique des pores dans des bicouches lipidiques et entrée passive de l'ADN dans un pore*.....1
P.G. de GENNES
ESPCI, PARIS
- Réponse cellulaire aux interactions adhésives*.....2
A. PIERRES, P. EYMERIC, A.M. BENOLIEL, P. BONGRAND
Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de Sainte Marguerite, MARSEILLE
- Colloidal synthetic biology*.....13
D. de ROSSI*, P. CHIARELLI**, A. MAZZOLDI*
*Centro "E Piaggio", **CNR ICF of Pisa, ITALIE
- Dynamique des agrégats en suspensions concentrées et rhéologie de la suspension sanguine*.....20
P. SNABRE*, L. HAIDER*, P. MILLS**
*IMP, FONT ROMEU, **LPMDI, MARNE LA VALLEE

COMMUNICATIONS

I - BIOPOLYMERES ET POLYMERES

- Polymères associatifs d'origine naturelle : mécanismes d'association et rôle de la structure macromoléculaire*.....30
J. DESBRIERES, M. RINAUDO
CERMAV - CNRS, GRENOBLE
- Dynamic-mechanical properties of biocompatible interpenetrating polymer networks*.....39
G. GALLEGO FERRER, M. MONLEON PRADAS, J.L. GOMEZ RIBELLES
Universitat Politècnica de Valencia, ESPAGNE
- Caractérisation rhéologique de gels fluides aux petites déformations et à la rupture*46
C. MICHON*, G. CUVELIER*, E. AUBREE**, B. LAUNAY*
*ENSIA, MASSY, **SKW Biosystems, CARENTAN
- Scaling of rheological properties of polymer blends : PVA (polyvinyl alcohol) and HPMC (hydroxypropylmethylcellulose)*.....54
A. EL GHZAOU, P. RAMEL, E. FABREGUES, G. CASSANAS
LPITI, Faculté de Pharmacie, Université MONTPELLIER I

Influence des associations interchaines sur le comportement rhéologique de solutions de hyaluronane..... 60
I. ROURE, M. MILAS, M. RINAUDO
CERMAV - CNRS, GRENOBLE

Caractérisation rhéologique de réseaux à base de chitosane d'intérêt pharmaceutique et biomédical..... 65
M. N. KHALID, F. AGNELY, J.L. GROSSIORD, G. COUARRAZE
LPP, CHATENAY-MALABRY

II - BIOMATERIAUX, MATERIAUX BIOLOGIQUES

Suivi de l'adhérence de cellules en culture par micro-rhéologie acoustique..... 73
H. DARBEIDA#, C. GABRIELLI**, M. GINDRE*, M. HOUMMADY‡, J.Y. Le HUEROU, H. PERROT**, W. URBACH†
*LIP- PARIS, **LPLE-PARIS, #LP-CERGY PONTOISE, ‡LPMO-BESANCON-
†LPS-PARIS

Modèle de tenségrité pour analyser le rôle de la tension interne dans le cytosquelette 76
V. LAURENT*, E. PLANUS*, C. ODDOU**, D. ISABEY*, S. WENDLING**
*INSERM U492, **LMP, Université PARIS 12 VAL DE MARNE

Rhéométrie du sang à bas cisaillement : étude des phénomènes de migration et de glissement sur des suspensions artificielles; application à la détermination de la contrainte seuil pour des patients sclérodermiques..... 81
.....
C. PICART*, P.H. CARPENTIER*, H. GALLIARD**, J.M. PIAU**
*Laboratoire de Médecine Vasculaire, **Laboratoire de Rhéologie, GRENOBLE

Comportement rhéologique de l'albumen du blé. Influence des facteurs génétiques et agronomiques..... 90
Y. HADDAD, J.C. BENET, A. MERMET
LMGC, Université MONTPELLIER II

Propriétés rhéologiques de solutions de hyaluronates associatifs destinées à la viscosupplémentation et au comblement de lésions du cartilage..... 103
L. CHOPLIN*, S. PELLETIER**, P. MARCHAL*, E. PAYAN***, P. HUBERT**
E. DELACHERIE**
*GEMICO/ENSIC, **LCPM/ENSIC, NANCY, ***LPPA, Université NANCY I,
VANDOEUVRE

Le muscle cardiaque : un matériau composite hyperélastique à fibres actives..... 112
J. OHAYON*, H. CAI*, P. TEPPAZ*, C. ODDOU**
*ESIGEC, Université de Savoie, LE BOURGET DU LAC, ** Université PARIS 12 VAL DE MARNE

De l'élaboration du bois dans l'arbre aux propriétés mécaniques du matériau : quelques éléments de réflexion confirmés par des calculs d'homogénéisation.....115
P. PERRE, E. BADEL
ENGREF/INRA, NANCY

III - MATERIAUX DIVISES (POUDRES, SUSPENSIONS, MATERIAUX GRANULAIRES)

Etude des propriétés rhéologiques en mode écoulement, fluage et oscillation de suspensions aqueuses concentrées de kaolin.....125
N. FOURATI, D. LEGER
LMM/CNAM, PARIS

Une approche dimensionnelle des écoulements granulaires.....135
P. COUSSOT
LMSGC, CHAMPS sur MARNE

Modélisation structurale du comportement rhéologique de poudres modèles non cohésives.....143
P. MARCHAL*, A. BAROIS-CAZENAVE**, L. CHOPLIN*
*GEMICO/ENSIC,** LSG/ENSIC, NANCY

Granulométrie, morphologie et propriétés mécaniques de la chapelure.....151
K. BOTTIN, E. VAN HECKE
IAA, LILLE

IV - AUTRES MATERIAUX MULTIPHASIQUES (GELS, MOUSSES, PATES, EMULSIONS)

Etude rhéologique de gels d'oxydes de titane.....158
A. PONTON*, S. BARBOUX-DOEUFF**, C. SANCHEZ**, P. FLAUD*
*LBHP, Université PARIS 7, **LCMC, Université PARIS 6

Etude du vieillissement du blé et de la farine par le suivi des propriétés rhéologiques des pâtes.....166
J. SCHER*, P. COUCHOT**, D. et K. LE QUOC**, V. MORINIERE**, A. FOISSY**
*LPGA/ENSAIA, VANDOEUVRE LES NANCY, **LESM, BESANCON

Suivi rhéologique de la coagulation présure du lait : aspects méthodologiques.....179
C. RENAULT*, C. DECARREAUX*, B. GOLDSCHMIDT*, J. LEFEBVRE**
*Fromagerie BEL, VENDOME, **LPCM/INRA, NANTES

Etude cinétique de la gélification enzymatique du lait.....187
B. LAUNAY
ENSIA, MASSY

*A comparative study on rheological behavior and drainage of microscopic foam films from natural surfactants.....*196
N. ANTONOVA, R. SEDEV, D. EXEROWA, YA. IVANOV
Bulgarian Academy of Sciences, SOFIA

*Etude de l'effet du cisaillement sur des globules d'émulsion multiple de type H/L/H.....*203
V. MUGUET*, M. SEILLER**, J.L. GROSSIORD***
*LDC, **LPCPB, ***LPP, Faculté de Pharmacie, CHATENAY-MALABRY

*Les graisses lubrifiantes : des systèmes à libération contrôlée d'huile, rhéologiquement complexes.....*211
B. PETITALOT, G. DANIEL, P. GALVIN, G. MULLER
Mobil Oil Française, NOTRE DAME DE GRAVENCHON

*Modélisation du comportement rhéologique d'émulsions huile/eau en présence de différentes concentrations en caséinate de sodium.....*221
D. QUEMADA
LBHP, Université PARIS 7

POSTERS

I - BIOPOLYMERES ET POLYMERES

*Comportements rhéologiques de solutions de polymères associatifs en présence de particules de talc.....*229
C. CHARNAY, S. LAGERGE, S. PARTYKA
LAMMI, Université MONTPELLIER II

*Propriétés viscoélastiques des protéines myofibrillaires bovines : influence de la concentration et du traitement haute-pression.....*237
N. CHAPLEAU, M. de LAMBALLERIE-ANTON
ENITIAA, NANTES

*Propriétés rhéologiques d'amidons modifiés : influence de traitements thermiques.....*244
I. DUBOIS, L. PICTON, G. MULLER, A. AUDIBERT-HAYET*
Université de ROUEN, *Institut Français du Pétrole, RUEIL MALMAISON

*Etude rhéologique de différents systèmes thermosensibles à base de poloxamers en vue d'une application cosmétique.....*251
A.G. GLEVAREC*, F. AGNELY*, S. GEIGER*, A. MURA**, J.F. TRANCHANT**, G. COUARRAZE*
*LPP, CHATENAY MALABRY, **LPC Parfums C. Dior, SAINT JEAN DE BRAYE

*Comportement rhéologique d'un produit laitier amylicé.....*259
C.LOISEL*, P. AUDRAIN*, P. CANTONI*, J.L. DOUBLIER**
*ENITIAA, **INRA, NANTES

II - BIOMATERIAUX, MATERIAUX BIOLOGIQUES

Caractérisation rhéologique du sang humain pour des malades du "diabetes mellitus".....267

M. BARRACO-SERRA, M.A. ADRIA-CASAS, R. TORRES-CAMARA, P. SURIA-LLADO
ETSEIB, Universitat Politecnica de Catalunya, BARCELONE

Etude de l'interaction cellule-matrice lors de la contraction d'un lattis de collagène peuplé de fibroblastes.....275

E. FERNANDES*, S. RAMTANI*, B. COULOMB**, L. DUBERTRET**, C. LEBRETON**, C. ODDOU*, D. GEIGER*
*LMP, Université PARIS 12 VAL DE MARNE, **INSERM, Hôpital Saint Louis, PARIS

Utilisation de la pénétrométrie pour la formulation et le contrôle d'ovules à libération modifiée.....282

C. CROS*, G. GRAY*, M. LANQUETIN*, P. MICHAUD**, F. RODRIGUEZ**
*Laboratoire Theramex, MONACO, **LPG, TOULOUSE

A new approach for the real-time simulation of tissue deformations.....290

C. MONTSERRAT*, U. MEIER*, M.C. JUAN*, M. ALCANIZ*, C. KNOLL*, V. GRAU*, F. CHINESTA**, C. DUVAL**
*Universidad politécnica de VALENCE, ESPAGNE, ** CNAM, PARIS

Aide à la conception de prothèses vasculaires de petits diamètres : approche expérimentale et théorique.....298

M. ZIDI, M. CHEREF, C. ODDOU
LMP, Université PARIS 12 VAL DE MARNE

The behavior of nasal sprays in shear and extension.....306

N. HUDSON*, J. ECCLESTON**, M. BAKHSHAE***, D. RICHARDS
*DPAC, **DPSSU, GLASGOW, ***Glaxo Wellcome, UXBRIDGE, UK

III - MATERIAUX DIVISES (POUDRES, SUSPENSIONS, MATERIAUX GRANULAIRES)

Influence des propriétés technologiques d'un grain sur les caractéristiques d'un comprimé à 5mg de glibenclamide.....314

A. GUELLOUR-BOUDOUKHA*, A. HADJ SADOK**, K. GUERROUACHE*, M. NOUAS*
*Groupe SAIDAL, ALGER, **Institut de Chimie Industrielle de BLIDA, ALGERIE

Rhéologie des mélanges de gelucire 50/02 et 50/13. Influence de la viscosité des suspensions sur la libération contrôlée de la proxiphylline à partir de gélules matricielles.....322

V. RATSIMBAZAFY*, E. BOURRET**, R. DUCLOS,*** C. BROSSARD*
*LPG, LIMOGES, **LPMS, MONTPELLIER, ***LPG, SAINT ETIENNE DU ROUVRAY

*Experimental analysis of sedimentation kinetics of concentrated suspensions in a centrifugal field flux density and viscosity function.....*330
D. LERCHE*, D. FRÖMER*, J. BOUTON**
*LUM GmbH, BERLIN, **Rheo s.a., CHAMPLAN

IV - MATERIAUX DIVISES (GELS, MOUSSES, PATES, GRAINS, EMULSIONS)

*Etude rhéologique d'un gel thermosensible contenant des liposomes destiné à l'administration oculaire de médicament.....*338
A. BOCHOT, E. FATTAL, P. COUVREUR, J.L. GROSSIORD
Faculté de Pharmacie, CHATENAY-MALABRY

*Etude des propriétés rhéologiques des pâtes de farine de variétés pures de blé par compression uniaxiale.....*343
N. BORNES, O. SUREL, D. KLEIBER, B. COUPLET
ESA de Purpan, TOULOUSE

*Comparaison par élongation biaxiale de mélanges de farine*351
C. DERAİL, A. de ROQUEFEUIL
ESA, ANGERS

*Rhéologie d'émulsions alimentaires huile/eau : influence du procédé d'émulsification.....*358
A. DESRUMAUX, D. DELLA VALLE
ENITIAA, Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires, NANTES

*Formulation d'un gel à base de principe actif médicamenteux miconazole nitrate à 2%. Approche rhéologique.....*364
A. DJEDOUR*, A. HADJ SADOK**, K. GUERROUACHE**
*Groupe SAIDAL, ALGER, **Institut de Chimie Industrielle de BLIDA, ALGERIE

*Rhéologie des pâtes de farine de blé : étude comparative.....*371
N. BORNES*, C. DERAİL**, R. KESTELOOT***, O. SUREL*, M. TCHOZATCHIS***
LA de l'ESAP, TOULOUSE, **ESA, ANGERS, ***ISA, LILLE

*Caractérisation de la transition sol-gel : comparaison d'une méthode rhéologique et d'une méthode acoustique.....*379
P. GRIESMAR*, B. SENOUCI*, A. PONTON**, S. SERFATY*, S. WARLUS*, M. GINDRE***, G. GOUEDARD*, P. FIGUIERE*
*LCMI, LMOSE, LPMS Université de CERGY-PONTOISE, **LBHP Université PARIS 7, ***LIP, Université PARIS 6

*Caractérisation rhéologique d'une crème antiseptique à 0,5% de cétrimide.....*387
A. HADJ-SADOK*, K. GUERROUACHE**, A. MOULAI-MOSTEFA*
*Institut de Chimie Industrielle de BLIDA, **Groupe SAIDAL, ALGER, ALGERIE

DYNAMIQUE DES PORES DANS DES BICOUCHES LIPIDIQUES ET ENTREE PASSIVE DE L'ADN DANS UN PORE

P.G. de Gennes

ESPCI
10 rue vauquelin
75005 - Paris

Résumé

Un travail récent de O. Sandre et al. a permis d'observer l'ouverture et la fermeture de pores des vésicules sous tension. Ces résultats seront rappelés, puis la question de l'entrée d'une longue chaîne d'ADN semi flexible dans un tel pore sera discutée dans un langage simple. La conclusion est plutôt optimiste : il n'est peut-être pas impossible de faire entrer un gène dans une cellule bien choisie par électroporation.



REPONSE CELLULAIRE AUX INTERACTIONS ADHESIVES

A. Pierres, P. Eymeric, A. M. Benoliel et P. Bongrand

Laboratoire d'immunologie, unité INSERM 387, Hôpital de Sainte-Marguerite, 13009
Marseille

RESUME

L'adhésion d'une cellule à une surface ou à une autre cellule peut influencer sa capacité de survie, de prolifération ou de différenciation ainsi que l'activation de fonctions spécifiques. Ces phénomènes semblent parfois liés à l'étendue de la zone de contact formée. Le but de cette revue est de discuter les mécanismes mis en jeu dans la formation de cette zone de contact. Après une brève description de quelques méthodes d'étude (microscopie électronique, de fluorescence, ou par interférence-réflexion), les paramètres influençant l'étendue et la cinétique de l'étalement sont successivement évoqués. Les données expérimentales conduisent à poser les questions suivantes : 1°) Est-il possible d'étudier l'étalement en termes d'équilibres entre des forces adhésives (interactions ligand-récepteur) et anti-adhésives (répulsion stérique et élasticité de la cellule), 2°) L'étalement de la cellule sur une surface est-il à la fois déterminé par des phénomènes passifs (fluctuations membranaires) et actifs (mettant en jeu la motilité cellulaire).

INTRODUCTION

L'adhésion d'une cellule à une surface comporte la formation d'une région de contact dont l'étendue peut varier considérablement. Comme le montrent les exemples suivants, de nombreux travaux suggèrent que cette étendue peut influencer de manière déterminante les conséquences de l'adhésion. Folkman et Moscona (1978) et, plus récemment, Chen et coll. (1997) ont montré que la capacité de survie et de prolifération de cellules cultivées sur des surfaces d'adhésivité variable était positivement corrélée à l'aire de contact apparente de ces cellules et du substrat. Mesher (1992) a étudié l'interaction de lymphocytes T cytotoxiques avec des particules de latex d'un diamètre variable (1 à 5 μm) recouvertes de molécules reconnues par les récepteurs lymphocytaires : cet auteur a retrouvé une relation inverse entre le diamètre des particules et leur capacité d'activer ces cellules, en particulier en induisant un processus de sécrétion. Il est intéressant de noter qu'il n'était pas possible de compenser la taille insuffisante des particules les plus petites en augmentant leur nombre, ce qui montre que l'activation cellulaire était réellement liée à la présence d'une zone de contact étendue et continue. Les données plus récentes permettent d'interpréter ces résultats en suggérant que les phénomènes d'activation cellulaire peuvent nécessiter le rassemblement dans une région donnée de la membrane de plusieurs populations de molécules dont la proximité pourra entraîner la génération de signaux biochimiques intracellulaires (Grakoui et coll., 1999).

En conséquence, l'étude des mécanismes de formation des régions de contact intercellulaire comporte un double intérêt : d'une part, si l'on veut prédire les conséquences des interactions adhésives, il peut être utile de prédire l'étendue de l'étalement que celles-ci vont déclencher. D'autre part, comme nous le verrons, la formation d'une zone de contact est un phénomène rapide et facile à quantifier. Ce processus se prête donc particulièrement bien à

une modélisation biophysique, et la mise à l'épreuve des modèles proposés peut conduire à poser des questions simples permettant d'améliorer sensiblement notre compréhension du comportement et de l'organisation cellulaire.

Dans cette brève revue, après avoir rapidement rappelé quelques définitions et quelques propriétés cellulaires fondamentales, nous évoquerons successivement les méthodes d'étude de formation d'une région de contact, les mécanismes susceptibles de déterminer la structure finale d'une région de contact et, enfin, les paramètres déterminant la cinétique de formation de ces régions.

DEFINITIONS ET PROPRIETES FONDAMENTALES

De nombreuses cellules en suspension ont une forme approximativement sphérique lorsqu'elles sont observées en microscopie optique classique. Aussitôt après leur dépôt sur une surface convenable, elles peuvent adhérer sans que leur aspect soit substantiellement modifié (Fig.1). Une étude structurale plus précise, par exemple une observation en microscopie confocale, pourrait révéler une déformation discrète ressemblant à celle d'une goutte de liquide déposée sur une surface (Fig.2). Cependant, l'adhésion peut conduire à une modification qualitative de la forme de la cellule (Fig.3) constituant le phénomène d'"étalement", dont on pense qu'il met en jeu des déformations actives telles que l'envoi de lamellipodes.

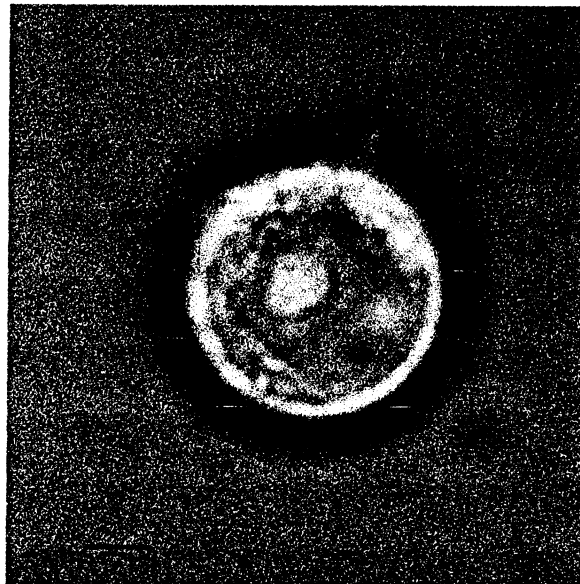


Figure 1 : Adhésion sans étalement. Une cellule de la lignée monocyttaire THP-1 est déposée sur une surface de verre couverte de fibronectine. Quelques minutes plus tard, la cellule adhère à la surface dont elle ne peut être séparée par un lavage doux. Cependant, la forme générale reste sphérique, comme le montre une observation en microscopie classique. La barre représente 5 μm .

Il convient de noter que l'adhésion et l'étalement sont des processus distincts qui peuvent être séparés expérimentalement. Ainsi, l'étalement de macrophages adhérents à une surface peut être diminué à basse température ou en présence de cytochalasine B, un inhibiteur de l'organisation du cytosquelette d'actine (Rabinovitch et DiStefano, 1973). De même, Runyan et coll. (1988) ont montré que des cellules de mélanome devenaient incapables de s'étaler sur des surfaces de laminine lorsque celles-ci avaient été traitées par une N-glycanase, alors que l'adhésion persistait.

Un deuxième point important concerne la nécessité de distinguer les aspects "microscopique" et "submicroscopique" de l'adhésion. Sur une image de microscopie optique, les contours d'une cellule apparaissent relativement réguliers et les aires de contact se présentent comme des lignes de faible courbure. Les déformations liées à l'adhésion semblent conduire à une augmentation de l'aire de la cellule. Cependant, les observations effectuées en microscopie électronique (Erickson et Trinkaus, 1976) montrent que les cellules sont entourées d'une membrane fortement plissée, ce qui leur confère un excès d'aire leur permettant de se déformer en présentant une augmentation de l' *aire apparente*, à l'échelle micrométrique, alors que l' *aire réelle* (submicrométrique) reste constante. De plus, l'observation en microscopie électronique des zones de *contact apparent* montre que l'accolement des membranes peut présenter des différences importantes, dépendant en particulier de l'importance du stimulus adhésif (Fig.4).

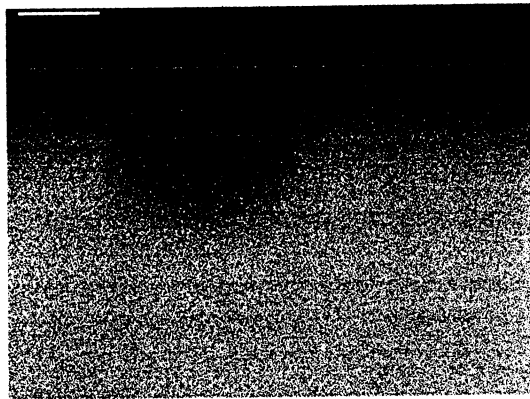


Figure 2 : Observation d'une région de contact en microscopie optique. Des cellules de la lignée phagocytaire P3881 ont été déposées sur une surface de verre dans un milieu rendu fluorescent par l'introduction d'un conjugué fluorescent (dextran-FITC). Des images de sections perpendiculaires à la lame ont été obtenues au moyen d'un microscope confocal. La barre représente une longueur de 2,5 μm .

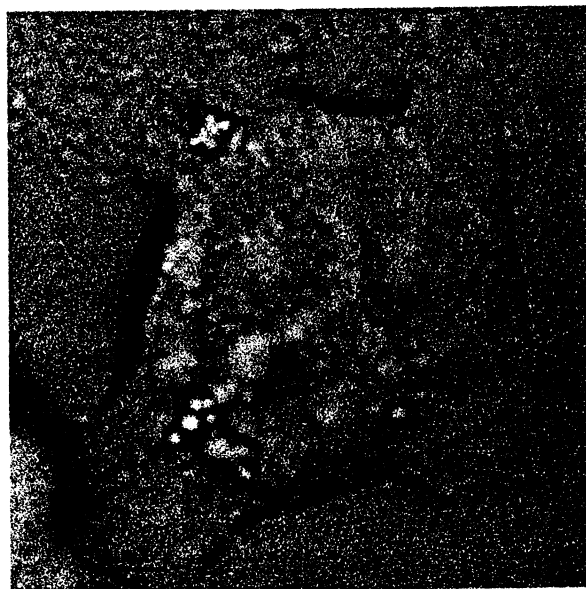


Figure 3 : Étalement cellulaire. Une cellule THP-1 incubée pendant quelques dizaines de minutes à 37°C sur une surface couverte de fibronectine présente une réorganisation morphologique caractéristique de l'étalement. La barre représente 5 μm .

METHODES D'ETUDE DES REGIONS DE CONTACT CELLULAIRE

Microscopie électronique.

La microscopie électronique constitue la méthode de choix pour étudier les détails morphologiques des régions de contact avec une résolution de quelques nanomètres (Fig. 4).

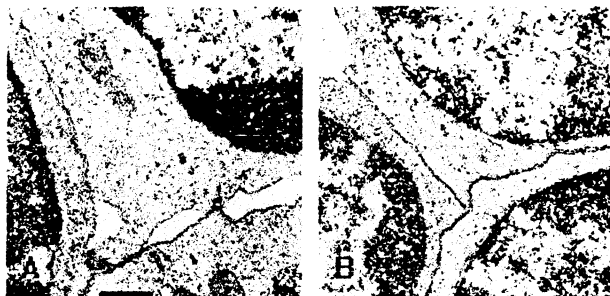


Figure 4 : observation en microscopie électronique des régions de contact intercellulaire. Des thymocytes de rat ont été agglutinés en présence de concentrations réduites (0,125 µg/ml, **A**) ou plus élevées (8 µg/ml, **B**) de concanavaline A et observées en microscopie électronique. L'accolement des membranes est incomplet et concerne des régions limitées en présence de la concentration la plus faible de lectine (**A**). Au contraire, en présence d'une concentration plus élevée, les membranes sont parfaitement accolées dans des régions atteignant plusieurs µm² (**B**). D'après Capo et coll. (1982). La barre noire représente 0,5 µm.

On peut citer les trois limitations suivantes :

- 1°) Cette technique ne permet pas de suivre de manière continue des cellules vivantes.
- 2°) Il est difficile d'exclure la possibilité que les échantillons soient déformés au cours de la fixation. Par exemple, l'espace intercellulaire pourrait être modifié par le processus de déshydratation. Certaines comparaisons avec d'autres méthodes permettent cependant de réduire l'importance de cette critique (Heath, 1982).
- 3°) Il persiste un certain degré d'incertitude dans la définition des contacts : le fait que la distance intermembranaire soit inférieure à une valeur seuil ne prouve pas que les membranes observées interagissent effectivement.

Microscopies de fluorescence.

Les techniques de fluorescence sont extrêmement versatiles et nous citons seulement trois exemples de réalisations :

La technique *d'éclairage par des ondes évanescentes* (TIRF : total internal reflection fluorescence) a été utilisée par Gingell et coll. (1985) pour étudier l'interaction de cellules d'embryon de coeur de poulet et d'une lamelle de verre sur laquelle elles avaient été déposées. La lamelle était éclairée par la face inférieure au moyen du faisceau lumineux d'un laser atteignant l'interface verre/milieu de culture avec une incidence correspondant à la réflexion totale. Il en résultait la formation d'une onde évanescente éclairant une région d'épaisseur submicrométrique au voisinage de l'interface. L'originalité du travail présenté consistait à introduire dans la solution des marqueurs de volume constitués de molécules de dextran de masse variable (4.000 ou 157.000 kda) couplées à la fluorescéine. Les auteurs ont constaté que seules des régions limitées de l'interface cellule/verre excluaient le marqueur le plus petit (et même des molécules de fluorescéine isolée), alors que le marqueur de fort poids moléculaire était exclu de l'ensemble de l'interface. Cette approche permettait donc de déterminer de manière relativement directe les régions de contact véritable. Une cartographie de la région de contact cellules-substrat reposant sur l'utilisation d'ondes évanescentes a plus récemment été reprise par Truskey et coll. (1992).

Alors que la génération d'ondes évanescentes a souvent nécessité la réalisation d'appareillages particuliers, la *microscopie confocale* peut permettre d'utiliser des marqueurs de volume suivant un principe analogue : Si le contact des cellules représentées sur la Fig. 2 avec leur substrat est imparfait, on peut espérer détecter la présence de marqueurs de volumes au niveau de l'interface. S'il est possible de détecter une intensité lumineuse de l'ordre de 10 % de celle de la région la plus brillante, on peut ainsi espérer détecter un espace cellule-substrat d'une épaisseur de l'ordre d'un dixième de pixel, soit quelques dizaines de nanomètres.

Une méthode extrêmement séduisante a récemment été développée par Dustin et coll. (1996) afin d'observer de manière directe les interactions moléculaires de cellules lymphoïdes et d'une surface modèle constituée d'une bicouche phospholipide plane déposée sur une lamelle de verre et contenant des molécules fluorescentes (LFA-3), qui étaient des ligands de récepteurs membranaires des cellules utilisées (CD2). Les molécules LFA-3 étaient mobiles dans la bicouche et se concentraient dans les régions de contact intercellulaire au fur et à mesure que l'adhésion se renforçait. Ce phénomène apportait pour la première fois la preuve de l'existence d'interactions moléculaires dans les régions supposées impliquées dans un contact cellule/substrat. Les cellules étaient observées en microscopie de fluorescence après avoir été déposées sur les lamelles. Cette approche a permis aux auteurs de déterminer une constante de dissociation effective de l'interaction CD2/LFA-3 sur une surface (soit 21 molécules/ μm^2). Le potentiel d'une telle approche devrait être renforcée par le développement de méthodes d'ingénierie génétique permettant d'induire l'expression de molécules fluorescentes fonctionnelles (marquées par des protéines GFP) dans des cellules vivantes (Wülfing et coll., 1998). Les deux problèmes techniques rencontrés au cours de la mise en oeuvre de ces méthodes sont essentiellement 1°) la réalisation de marquages ne perturbant pas le modèle et 2°) la nécessité de réduire l'intensité lumineuse afin de ne pas altérer les cellules faisant l'objet d'une observation prolongée.

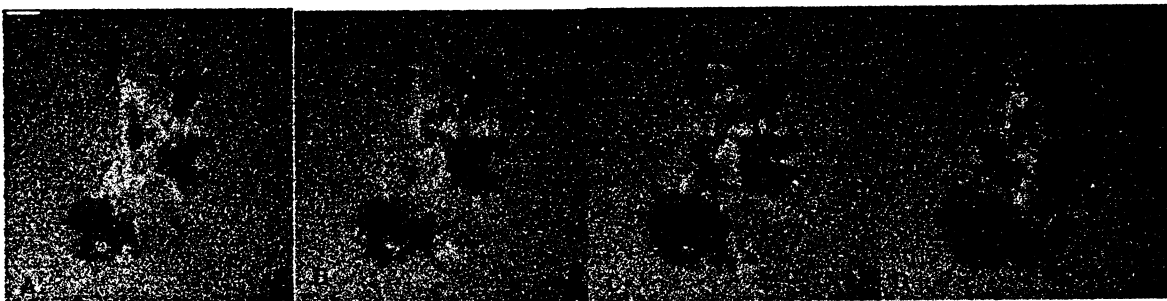


Figure 5 : Etude en microscopie par interférence-réflexion de l'étalement cellulaires. Des cellules monocytaires THP-1 ont été déposées sur une surface couverte de fibronectine. Une cellule a été suivie et les images obtenues après environ 1 minute (A), 2 minutes (B), 3 minutes (C) et 7 minutes (D) sont représentées. La barre blanche correspond à une longueur de 5 μm .

Microscopie par interférence-réflexion (IRM) ou contraste de réflexion.

Cette méthodologie fait l'objet d'un intérêt croissant depuis son application par Curtis (1964) à l'étude de l'adhésion cellulaire. La mise sur le marché d'objectifs bien adaptés et le développement des techniques de traitement d'image ont rendu son utilisation bien plus aisée (Verschuere, 1985). Le dispositif de base est constitué par un microscope à fluorescence inversé. On observe une préparation de cellules déposées sur une lamelle de verre (Fig. 5). On utilise la configuration classique en épiillumination, mais, à la différence de la fluorescence, l'éclairage et l'observation sont effectués à la même longueur d'onde. Le contraste est créé par les interférences entre les rayons réfléchis par l'interface lamelle-milieu et l'interface milieu-

cellule immédiatement sus-jacente. En première approximation (faible incidence), le décalage de phase entre les deux rayons est égal à $\pi(1+4\delta/\lambda)$, où δ est la distance séparant la membrane de la cellule de la lamelle au point considéré et λ est la longueur d'onde de la lumière dans la région considérée. Cette méthode a permis d'estimer avec une précision de l'ordre de 10 nm la distance séparant des vésicules lipidiques d'une surface de verre dans un domaine compris entre 0 et 100 nm environ (Feder et coll., 1995). Ce domaine convient tout parfaitement à une étude de l'adhésion. Il faut noter que la détermination absolue des distances est compliquée par certains artefacts, en particulier la contribution du bord supérieur de la cellule lorsque l'on observe un fin lamellipode. D'autre part, étant donné la complexité de la structure membranaire, les estimations absolues de la distance cellule/substrat ne sont pas totalement fiables et il est bon d'utiliser plusieurs approches complémentaires.

Les observations réalisées sur de nombreux systèmes cellulaires ont conduit à la définition classique des "*contacts focaux*" (focal contacts) se présentant comme des régions sombres localisées (par exemple, de courtes bandes d'une largeur inférieure à une fraction de micromètre), correspondant à un espace cellule/substrat de l'ordre de 15 nm. On a également défini des "*contacts étroits*" (close contacts) correspondant à une distance de l'ordre de 30 nm.

ETENDUE DE L'ÉTALEMENT À L'ÉQUILIBRE

Nous allons maintenant aborder la question suivante : quels sont les facteurs qui déterminent la structure d'une région de contact cellulaire lorsqu'un équilibre est atteint ? On peut imaginer au moins deux stratégies pour aborder cette question. Une approche biophysique peut s'appuyer sur des images ressemblant à la Fig. 2 et suggérer, par analogie avec l'étalement d'une goutte liquide sur la surface, que l'état d'équilibre correspond à un minimum d'énergie libre. Une conception plus proche du raisonnement biologique postulerait que le déclenchement et l'arrêt de l'étalement sont déterminés par des signaux probablement engendrés par la stimulation de récepteurs membranaires spécialisés. Dans ce paragraphe, nous décrirons successivement quelques données expérimentales et quelques modèles proposés pour répondre à la question abordée.

Données expérimentales.

De nombreux auteurs ont observé une corrélation positive entre l'étendue de l'étalement d'une cellule sur une surface et l'intensité du stimulus adhésif, ce qui constitue un argument en faveur d'une conception biophysique du phénomène observé. Folkman et Moscona (1978) ont observé (en microscopie optique) une diminution progressive de l'étalement de cellules endothéliales sur une surface de culture recouverte d'une quantité croissante d'un polymère anti-adhésif (le poly hydroxy éthyl méthacrylate ou polyHEMA). Capo et coll. (1982) ont rapporté une corrélation positive entre l'aire de contact intercellulaire (observée en microscopie électronique) de thymocytes agglutinés par la concanavaline A et la concentration de lectine. Cette aire était multipliée par 20 lorsque la concentration de concanavaline A passait de 0,125 $\mu\text{g/ml}$ à 8 $\mu\text{g/ml}$. Enfin, Mège et coll. (1987) ont analysé quantitativement des images de microscopie électronique représentant les aires de contact entre des macrophages péritonéaux de rat et des hématies modifiées par le glutaraldéhyde (ce traitement induit leur reconnaissance et leur ingestion par les phagocytes.). Lorsque la charge électrique (négative) des hématies était diminuée par un traitement à la neuraminidase (clivant des résidus négatifs d'acide sialique) ou la polylysine (un polycation), l'aire de contact était substantiellement augmentée, et l'on notait un "lissage" de la paroi des phagocytes au contact de la surface des hématies.

Cependant, d'autres résultats soulignent l'importance du métabolisme intracellulaire dans la détermination de l'étalement. On a constaté que l'étalement d'une cellule sur une surface pouvait être induit par des modifications métaboliques telles que l'inhibition de certaines kinases (Yoshimura et coll., 1995 ; Haller et al., 1998) ou l'acidification cytosolique (Demaurex et coll., 1996). Réciproquement, l'étalement cellulaire a pu être stimulé en augmentant l'activité de la molécule Rac (une petite protéine G impliquée dans le contrôle du cytosquelette) sans modification visible de la densité ou de l'activité des récepteurs d'adhésion (Dsouzaschorey et coll., 1998), en inhibant la polymérisation des microtubules (ce qui entraînait une augmentation de la tension corticale : Pletjushkina et coll., 1998), ou en stimulant la libération de calcium intracytosolique (Pettit & Hallett, 1998).

Modèles théoriques de l'étalement.

Une approche biophysique de l'étalement conduit à rechercher l'état conduisant à une minimisation de l'énergie d'un complexe cellule-cellule ou cellule substrat en fonction de trois paramètres :

- La **tension membranaire** susceptible de s'opposer à l'étalement. De multiples travaux ont été consacrés à la recherche d'un modèle mécanique de la cellule. A l'échelle des déformations importantes susceptibles d'être impliqués dans l'étalement, on peut mentionner le modèle de la goutte liquide entourée d'une membrane *sous tension constante*, s'appliquant particulièrement aux granulocytes neutrophiles (Evans et Kukan, 1984) et le modèle du cortex élastique présentant une tension croissante en fonction de l'accroissement de l'aire cellulaire apparente : ce modèle a été utilisé pour décrire le comportement de cellules myéloïdes (Mège et coll., 1987), lymphoïdes (Foa et coll., 1988) ou fibroblastiques (Thoumine et Ott, 1997). Cependant, on ne sait pas vraiment si la tension est directement produite par les replis membranaires ou par des structures cytoplasmiques (cytosquelette) sous-jacentes.
- L'interaction **ligand-récepteur** impliquant les molécules d'adhésion en présence.
- Les **interactions répulsives** engendrées par certains constituants de la membrane cellulaire qui doivent éventuellement être comprimés ou écartés des régions de contact pour permettre l'interaction des récepteurs des membranes cellulaires.

Plusieurs modèles ont été proposés pour prédire la structure d'équilibre des cellules adhérentes. Un modèle proposé par Bell et coll. (1984) considérait uniquement l'équilibre entre les interactions attractives de molécules d'adhésion diffusant librement dans la membrane (et tendant ainsi à étendre la région de contact) et la répulsion engendrée par des éléments répulsifs fixes. Evans (1985) a retrouvé l'équation classique de Young-Dupré en considérant l'équilibre entre la tension membranaire et l'énergie d'adhésion. D'autre part, en observant les déformations d'hématies qu'il séparait avec des micropipettes après avoir induit leur agglutination par une lectine (agglutinine de germe de blé ou WGA), le travail de séparation des membranes a pu être estimé à quelques mJ/m^2 (Evans et Leung, 1984). Mège et coll. (1987) ont proposé un modèle local du lissage membranaire en utilisant l'hypothèse suivant laquelle la tension membranaire évaluée à l'échelle du micromètre résultait du "déplissement" submicrométrique provoqué par l'extension membranaire. L'énergie d'adhésion des macrophages à des hématies altérées a été estimée à $0,084 \text{ mJ/m}^2$, et ce paramètre était augmenté jusqu'à $0,182 \text{ mJ/m}^2$ lorsque les charges négatives répulsives étaient réduites. Enfin, Simson et coll. (1998) ont étudié le détachement de *Dictyostelium* déposé sur une surface adhésive et soumis à des forces de détachement hydrodynamiques. La

forme cellulaire était obtenue en microscopie par interférence-réflexion : le travail de détachement obtenu était de l'ordre de $0,02 \text{ mJ/m}^2$.

Les données obtenues, dont nous avons cité quelques exemples, suscitent deux remarques :

D'une part, la notion d'énergie ou de travail d'adhésion doit être utilisée avec prudence pour plusieurs raisons : d'une part (Evans et Leung, 1984), L'adhésion cellulaire se comporte souvent comme un phénomène irréversible, et des paramètres très différents peuvent être obtenus suivant que l'on considère le travail d'adhésion ou de déadhesion. D'autre part, du fait de la mobilité des molécules membranaires, le travail de détachement dépend de l'aire d'interaction (Evans et Leung, 1984 ; Tozeren et coll., 1989). Enfin, les modèles mécaniques de la cellule supposent l'absence de mouvements actifs, alors même que des contraintes mécaniques peuvent suffire à stimuler les cellules étudiées (Horoyan et coll., 1990). Il reste à déterminer si le concept d'énergie d'adhésion peut se révéler utile (citons par exemple Reich et coll., 1984).

D'autre part, les récents progrès méthodologiques permettent d'espérer d'élaborer et de tester un modèle d'étalement qui prenne en compte à la fois les propriétés mécaniques de la cellule, la constante d'affinité des systèmes ligand-récepteur (Dustin et coll., 1996), la force engendrée par les structures répulsives membranaires (Kühner et Sackmann, 1996), la mobilité membranaire des récepteurs (McCloskey et Poo, 1986 ; André et coll., 1990 ; Wülfiging et coll., 1998) et des structures répulsives (Soler et coll., 1997). Il serait ainsi possible de déterminer de manière indépendante tous les paramètres ajustables. Cette approche serait nécessaire pour savoir si les phénomènes de signalisation régulant les phénomènes d'étalement agissent par l'intermédiaire d'une modulation des paramètres d'équilibre (tension membranaire, affinité des récepteurs et en particulier des intégrines) où si l'approche biophysique est insuffisante pour rendre compte du phénomène d'étalement.

ETUDE CINETIQUE DE L'ETALEMENT

Comme l'avaient souligné Bell et coll. (1984), les modèles thermodynamiques de l'adhésion n'apportent aucune information sur la cinétique de l'étalement. Il s'agit d'un phénomène relativement peu connu, et on ne peut affirmer actuellement si l'étalement d'une cellule sur une surface nécessite des mouvements coordonnés, ou bien si ce processus repose entièrement sur des mouvements aléatoires de la membrane, qui pourraient être liés à l'agitation thermique ou à une activité métabolique.

Etant donné le faible degré d'avancement de ce domaine, nous nous bornerons à décrire quelques données expérimentales préliminaires.

La microscopie à interférence réflexion met aisément en évidence les fluctuations membranaires des hématies (Zilker et coll., 1992) ou de vésicules modèles (Feder et coll., 1995). Cependant, ces modèles sont trop éloignés des cellules nucléées pour que les renseignements obtenus puissent être appliqués directement à l'étude de l'étalement cellulaire. Dunn et coll. (1997) ont utilisé une technique microinterférométrique originale pour étudier les fluctuations de la position du bord de fibroblastes étalés sur une surface de verre, ce qui leur a permis de démontrer l'importance de l'intégrité des microtubules. Yu et coll. (1990) ont décrit des fluctuations rapides (0,2-30 Hz) à la surface de différentes populations cellulaires : l'amplitude mesurée était beaucoup plus importante dans le cas des hématies (350-400 nm) qu'avec des fibroblastes, des monocytes ou des lymphocytes (20-30 nm). Des travaux ultérieurs ont montré que l'amplitude des fluctuations pouvaient être diminuée par des inhibiteurs de la polymérisation des microtubules ou augmentée par la dihydrocytochalasine B, connue pour interférer avec les microfilaments d'actine (Mittelman et coll., 1991). Enfin,

les fluctuations des membranes erythrocytaires ont été réduites par une déplétion en ATP (Tuvia et coll., 1997).

CONCLUSION

Le but de cette revue était de décrire les outils théoriques et expérimentaux actuellement disponibles pour étudier le phénomène d'étalement cellulaire. Si de nombreuses questions restent sans réponse, il semble maintenant possible de tester la validité d'une approche biophysique pour comprendre la cinétique et la thermodynamique de ce processus. Les résultats obtenus, outre leur intérêt théorique, devraient éclairer des phénomènes importants résultant de l'adhésion, en particulier la réorganisation du cytosquelette (qui peut influencer de manière importante les phénomènes de transduction) et le processus de déadhesion.

REFERENCES

- André P., Benoliel A. M., Capo C., Foa C., Buferne M., Boyer C., Schmitt-Verhulst A. M. & Bongrand P. (1990) Use of conjugates made between a cytolytic T cell clone and target cells to study the redistribution of membrane molecules in cell contact areas. *J. Cell Sci.* 97:335-347.
- Bell G. I., Dembo M. & Bongrand P. (1984). Cell Adhesion. Competition between nonspecific repulsion and specific bonding. *Biophys. J.* 45:1051-1064.
- Capo C., Garrouste F., Benoliel A. M., Bongrand P., Ryter A. & Bell G. I. (1982) Concanavalin A-mediated thymocyte agglutination : a model for a quantitative study of cell adhesion. *J. Cell Sci.* 56:21-48.
- Chen C. S., Mrksich, M., Huang S., Whitesides G.M. & Ingber D.E. (1997) Geometrical control of cell life and death, *Science* 276:1425-1428.
- Demaurex N, Downey G. P., Waddell T. K. & Grinstein S. (1996) Intracellular pH regulation during spreading of human neutrophils. *J. Cell Biol.* 133:1391-1402.
- Dsouzaschorey C., Boettner B. & Vanaelst L. (1998) Rac regulates integrin-mediated spreading and increased adhesion of T lymphocytes. *Mol. Cell. Biol.* 18:3936-3946.
- Dunn G. A., Zicha D. & Fraylich P. E. (1997) Rapid, microtubule-dependent fluctuations of the cell margin. *J. Cell Sci.* 110:3091-3098.
- Dustin M. L., Ferguson L. M., Chan P-Y, Springer T. A. & Golan D. E. (1996) Visualization of CD2 interaction with LFA-3 and determination of the two-dimensional dissociation constant for adhesion receptors in a contact area. *J. Cell Biol.* 132:465-474.
- Erickson C. A. & Trinkaus J. P. (1976) Microvilli and blebs as sources of reserve surface membrane during cell spreading. *Exp. Cell Res.* 99:375-384.
- Evans E. A. (1985) Detailed mechanics of membrane-membrane adhesion and separation. II. Discrete kinetically trapped molecular cross-bridges. *Biophys. J.* 48:185-192.
- Evans E. A. & Kukan B. (1984) Passive material behavior of granulocytes based on large deformations and recovery after deformation tests. *Blooe* 64:1028-1035.
- Evans E. A. & Leung A. (1984) Adhesivity and rigidity of erythrocyte membrane in relation to wheat germ agglutinin binding. *J. Cell Biol.* 98:1201-1208.
- Feder T.J., Weissmüller G., Zeks B. & Sackmann E. (1995) Spreading of giant vesicles on moderately adhesive substrates by fingering : a reflection interference contrast microscopy study. *Phys. Rev. E* 51:3427-3433.

- Foa C., Mège J. L., Capo C., Benoliel A. M., Galindo J. R. & Bongrand P. (1988) T-cell-mediated cytotoxicity : analysis of killer and target deformability and deformation during conjugate formation. *J. Cell Sci.* 89:561-573.
- Folkman J. & Moscona A. (1978) Role of cell shape in growth control, *Nature*, 273:345-349.
- Gingell D., Todd I. & Bailey J. (1985) Topography of cell-glass apposition revealed by total internal reflection fluorescence of volume markers. *J. Cell Biol.* 100:1334-1338.
- Grakoui A., Bromley S. K., Sumen C., Davis M. M., Shaw A. S., Allen P. M. & Dustin M. L. (1999) The immunological synapse : a molecular machine controlling T cell activation, *Science* 285:221-227.
- Haller H., Lindschau C., Maasch C., Olthoff H., Kurscheid D. & Luft F. C. (1998) Integrin-induced protein kinase C alpha and C epsilon translocation to focal adhesions mediates vascular smooth muscle cell spreading. *Circulation Res.* 82 : 157-165.
- Heath J. P. (1982) Adhesions to substratum and locomotory behaviour of fibroblastic and epithelial cells in culture. *in* "Cell Behaviour" (R. Bellairs, A. Curtis & G. Dunn eds) Cambridge University Press, Cambridge, pp. 77-108.
- Horoyan M., Benoliel A. M., Capo C. & Bongrand P. (1990) Localization of calcium and microfilament changes in mechanically stressed cells. *Cell Biophys* 17:243-254.
- Kühner M. & Sackmann E. (1996) Ultrathin hydrated dextran films grafted on glass : preparation and characterization of structural, viscous and elastic properties by quantitative microinterferometry. *Langmuir* 12:4866-4876.
- McCloskey M. A. & Poo M. M. (1986) Contact-induced redistribution of specific membrane components : local accumulation and development of adhesion. *J. Cell Biol.* 102:2185-2196.
- Mège J. L., Capo C., Benoliel A. M. & Bongrand P. (1987) Use of cell contour analysis to evaluate the affinity between macrophages and glutaraldehyde-treated erythrocytes. *Biophys. J.* 52:177-186.
- Mescher M. F. (1992) Surface contact requirements for activation of cytotoxic T lymphocytes. *J. Immunol.* 2402-2405.
- Mittelman L., Levin S. & Korenstein R. (1991) Fast cell membrane displacements in B lymphocyte. Modulation by dihydrocytochalasin B and colchicin. *FEBS Lett.* 293:207-210.
- Pettit E. J. & Hallett M. B. (1998) Release of "caged" cytosolic Ca²⁺ triggers rapid spreading of human neutrophils adherent via integrin engagement. *J. Cell Sci.* 111:2209-2215.
- Pletjushkina O. J., Belin, A. M., Ivanova O. J., Oliver T., Vasiliev J. M. & Jacobson K. (1998) Maturation of cell-substratum focal adhesions induced by depolymerization of microtubules is mediated by increased cortical tension. *Cell Adhesion Communication* 5:121-135.
- Rabinovitch M. & DeStefano M. J. (1973) Macrophage spreading in vitro. 1 - Inducers of spreading. *Exp. Cell Res.* 77:323-334.
- Reich S., Rosin H., Levy M., Karkash R. & Raz A. (1984) Cell-substrate interaction - A method for evaluating the possible correlation between metastatic phenotype and cell surface energy. *Exp. Cell Res.* 153:556-560.
- Runyan R. B., Versalovic J. & Shur B. D. (1988) Functionally distinct laminin receptors mediate cell adhesion and spreading : the requirement for surface galactosyltransferase in cell spreading. *J. Cell Biol.* 107:1863-1871.
- Simson R., Wallraff E., Faix J., Niewöhner J., Gerish G. & Sackmann E (1998) Membrane bending modulus and adhesion energy of wild-type and mutant cells of *Dictyostelium* lacking talin or cortexillins. *Biophys. J.* 74:514-522.

- Soler M., Merant C., Servant C., Fraternali M., Allasia C., Lissitzky J. C., Bongrand P. & Foa C. (1997) Leukosialin (CD43) behavior during adhesion of human monocytic THP-1 cells to red blood cells. *J. Leukocyte Biol.* 61:609-618.
- Thoumine O. & Ott A. (1997) Time scale dependent viscoelastic and contractile regimes in fibroblasts probed by microplate manipulation. *J. Cell Sci.* 110:2109-2116.
- Tözeren A., Sung K. L. P. & Chien S. (1989) Theoretical and experimental studies on cross-bridge migration during cell disaggregation. *Biophys. J.* 55:479-487.
- Truskey G. A., Burmeister J. S., Grapa E. & Reichert W. M. (1992). Total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) II. Topographical mapping of relative cell/substratum separation distances. *J. Cell Sci.* 103:491-499.
- Tuvia S., Almagor A., Bitler A., Levin S., Korenstein R. & Yedgar S. (1997) Cell membrane fluctuations are regulated by medium macroviscosity : evidence for a metabolic driving force. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:5045-5049.
- Verschueren H. (1985) Interference reflection microscopy in cell biology : methodology and applications. *J. Cell Sci.* 75:279-301.
- Wülfig C., Sjaastad M. D. & Davis M. M. (1998). Visualizing the dynamics of T cell activation : intracellular adhesion molecule 1 migrates rapidly to the T cell/B cell interface and acts to sustain calcium levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:6302-6307.
- Yoshimura M, Nishikawa A., Nishiura T, Ihara Y, Kanayama Y, Matsuzawa Y & Taniguchi N (1995) Cell spreading in colo 201 by staurosporin is alpha 3 beta 1 integrin-mediated with tyrosine phosphorylation of Src and tensin. *J. Biol. Chem.* 270:2298-2304.
- Yu A., Krol M. G., Levin S. V. & Smilgavichus A. D. (1990) Local mechanical oscillations of the cell surface within the range 0.2-30 Hz. *Eur. Biophys. J.* 19:93-99.
- Zilker A., Ziegler M. & Sackmann E. (1992) Spectral analysis of erythrocyte flickering in the 0.3-0.4 μm^{-1} regime by microinterferometry combined with fast image processing. *Phys Rev. A* 46:7998-8001.

COLLOIDAL SYNTHETIC BIOLOGY

Danilo De Rossi*, Piero Chiarelli[°], Alberto Mazzoldi*

*Centro "E. Piaggio", Faculty of Engineering, University of Pisa

Via Diotisalvi 2, 56126 Pisa, Italy,

phone +39-050-553639, fax 550650, e-mail:derossi@anaxagoras.piaggio.cci.unipi.it

[°]CNR Institute of Clinical Physiology of Pisa

Via Savi 8, 56126 Pisa, phone +39-050-583111

ABSTRACT

There is increasing evidence that mechanoreception, pseudo-muscular actuation and analog computation can be implemented using polyelectrolyte gels and extrinsic polymer conductors, which possess mechanical and actuation properties analog to living matter. For example, tactile sensing by skin-analogs made of weakly ionized polymer gels has been reported. Ionized polymer gels, extrinsic conducting polymers and polycarbon phase have been analyzed in detail and discussed in view of possible applications in pseudo-muscular actuation technology.

Introduction

Macromolecular materials of synthetic origin are of ubiquitous use in modern technology. The peculiar rheological properties and energy transduction characteristics of polymeric systems make them a high priority target for the development of functional materials. As a parallel scientific and technical endeavour, biomimetic materials, structures and systems are emerging as tools that will enable engineering sciences to broaden their classical methods and techniques.

This lecture reports tutorially about rheological behaviour and transduction properties of polymer hydrogels and π -electron conjugated conducting polymers with reference to selected implementations of biomimetic character.

A large variety of applications of these functional materials is under development and reasons of space dictate us to limit our discussion to the specific topic of mimicking biological function related to sensorimotor control, i.e., artificial muscles and artificial tactile and kinesthetic systems.

Polymer gels: rheology and mimicry of biostructures

Interest in synthetic hydrogels is stimulated by their remarkable physical, chemical and mechanical properties, their commercial applications and their ability to mimic biological gels. Hydrogels are sensitive to a wide range of environmental stimuli; they also exhibit a

wide range of responses (Tanaka, 1981). Their intrinsic compliance, high water content and ability to interconvert electrical, chemical and mechanical energy make them suitable for use as skin-like tactile sensors and muscle-like actuators. The sensitivity of their volume and hydraulic permeability to solvent composition, temperature, pH and ionic strength make them suitable as controllable macromolecular separation membranes and drug-delivery systems. Moreover, some synthetic hydrogels mimic the properties of biological hydrogels, making them useful to study organizing principles in biology.

Polymeric systems capable of chemical to mechanical energy transduction have been studied extensively after their discovery in the early fifties (Katchalsky et al., 1960) because of their scientific, biological and technical importance (Burchard and Murphy, 1990). Only recently, however, renewed interest in mechanochemistry (or, using current terminology, chemomechanics) has led to the preparation of chemomechanical gels sensitive to various stimuli with better mechanical properties and much shorter swelling time constants (Osada, 1987). Recent studies are motivated by the potential use of these polymers to build soft actuators for drug delivery systems, artificial organs and advanced robotics. "Environmentally sensitive hydrogels" will represent a class of macromolecular materials leading to intelligent systems and structures.

As a parallel effort, modeling and characterization techniques of equilibrium and transient response of synthetic and natural gels (mostly swollen connective tissues) under mechanical, chemical and electrical stimuli have experienced substantial advances (Grodzinsky, 1983). The complex interplay of coupled phenomena of chemical, electrical and mechanical nature occurring in ionized (charged) polymer networks makes description and characterization of these materials a challenging task, particularly when engineering design specifications and material processing constraints dictate the use of samples having strictly specified dimensional range and geometry.

Theoretical models to analyze transient electromechanochemical (ECM) response of polyelectrolyte gels have been formulated and their adequacy tested in experiments performed on samples of biological and synthetic origin. Kinetic equations for chemical and electrochemical reactions and ion transport have been coupled to formulae governing the contraction and swelling dynamics of gels.

The dynamics of swelling of a gel can be analyzed by recurring to continuum models which have their foundations in the poroelastic theory formulated by Biot in a series of papers (see Biot, 1955). This theory has been critically reviewed and its applicability to polymer gels examined by Johnson (1982). Eisenberg and Grodzinsky (1987) developed a continuum model which applies to charged gels, aimed at describing mechanical transients occurring in response to changes in the composition of the fluid permeating and surrounding the gel.

A simplified motion equation for diluted gels has also been proposed (Tanaka et al., 1973) and its validity assessed for some synthetic gels used ECM experiments (Chiarelli and De Rossi, 1988). The transient mechanical response of a gel element (usually in the form of a thin strip or fiber) to changes in spatial ionic distribution or composition can be calculated by using the model of Eisenberg and Grodzinsky.

Soft tissue modeling

Soft natural tissue are made of a solid polymeric matrix made up of collagen, elastin, muchopolysaccharides, whose interstices contains water with ions, nutrients, proteins and other solutes. This complex, interpenetrated "solid-liquid" structure endowes living tissues with solid rheological properties and to house diffusional and viscous processes as fluids: hence the bi-phasic structure is a distinctive element of biological systems. Moreover the

contemporary presence of a solid and fluid phase make possible the realization of new phenomena that cannot happen neither in a solid or in a fluid structure such as: compressive shock adsorption (e.g. in cartilage abruptly submitted to a load), streaming potentials such as in compressed dermis and bone, proteins filtration (lymphatic system), modulation of cardiac walls elasticity through its fluid component, etc.. All these phenomena can be ascribed to the relative motion of fluid within the solid matrix. Looking at the fluid component in soft biological tissue we observe that it ranges from 80% in cartilage, to 60-70% in dermis, arterial wall, tendons and ligaments, down to 20% in bone and to 10% in dentin. Other tissues have a very low cellular component and are basically natural gels; among those vitreous body, synovial fluid, cornea etc. Recently the properties of white and gray brain tissue and of chromosomes have been described by means of bi-phasic elasticity.

Basic Equations

Fluid-elastic phenomena of soft tissues are adequately described by elastodynamical equations of motion of a porous medium, filled by a fluid (Biot, 1956; Tanaka et al., 1979; Lee et al., 1981; Johnson, 1982; Peters et al., 1988; Mow et al., 1989; Chiarelli et al., 1992 a) and successfully applied to the viscoelastic behaviour of articular cartilage (Lee et al., 1981; Mow et al., 1989) and bone (Salzstein et al., 1987).

For sake of simplicity it is commonly assumed the case of an isotropic linearly elastic materials with solid and fluid constituents individually incompressible, where the inertial effects can be neglected. In this case the equation of motion reads:

$$f \partial \varepsilon_{\alpha\alpha} / \partial t = (k+4\mu/3) \partial^2 \varepsilon_{\alpha\alpha} / \partial x_i \partial x_i \quad (1)$$

Such a model, based upon general assumptions, has been applied to hydrogel systems with planar and cylindrical symmetry (Chiarelli et al., 1988, 1992 a).

In the case of dilute gels, where the fluid contents is much higher than the solid one, a simplified motion equations can be used:

$$f \partial U_i / \partial t = \partial \sigma_{ij} / \partial x_j \quad (2)$$

where U_i is the displacement vector of a gel element, f is a friction coefficient describing the viscous interaction of the interstitial fluid through the polymer network and σ_{ij} is the stress tensor of the gel that in the linear case can be written as

$$\sigma_{ij} = k \varepsilon_{\alpha\alpha} \delta_{ij} + 2\mu (\varepsilon_{ij} - \varepsilon_{\alpha\alpha} \delta_{ij} / 3) + \alpha \delta_{ij} \quad (3)$$

where k and μ are respectively the bulk and the shear elastic modulus of the gel, α is the chemically induced stress at zero strain (for isotropic materials), δ_{ij} is the Kroneker's delta, $\varepsilon_{\alpha\alpha}$ is the solid matrix dilatation given by the trace of the strain matrix ε_{ij}

The development of appropriate material characterization techniques is possible and it is based upon simple experiments.

We have also shown that for charged hydrogels the friction coefficient f (the inverse of hydraulic permeability of the porous medium) can be generalized as $(f^{-1} - K_{12} K_{21} / K_{22})^{-1}$ including the electro-osmotic Onsager coefficients K_{ij} (Katchalsky et. al., 1974).

By means of this continuous model we have investigated the response of charged hydrogels to several inputs: free swelling, stress relaxation (Chiarelli et al., 1992 b), creep, pH and temperature driven swelling.

By means of the above continuum model it can be also calculated the creep elongation, the streaming potential, the strain and the interstitial fluid pressure across the section of an arterial wall submitted to a pressure beat and the electromechanical coupling generated by the interstitial fluid motion in dermis (De Rossi et al., 1988).

At a glance with the theoretical model we observed that viscoelastic relaxation depends also from the energy dissipation due to the matrix-fluid friction and has a time decay proportional to the square of the characteristic thickness of the sample departing from the laws of the classical viscoelasticity (De Rossi et al., 1988).

Pseudomuscular actuators and tactile sensors

The majority of investigated gels undergo chemomechanical conversions by ionization, redox reaction, or photoisomerization. Other mechanisms such as ion-exchange and phase or order-disorder transitions also exist. Under direct chemomechanical conversion, polymer gels are characterized by yielding large displacements and force densities, comparable to those of muscles. However, in spite of almost two decades of research, the mechanical strength and response time of these materials still leave much to be desired.

CM conversion process is diffusion regulated, so that the response time may be increased by forming the gels into very thin fibers and assembling bundles composed of several fibers.

This process poses severe technical problems, not the least of which is breakage of the fibers. Present efforts in this field aim to provide polymer gels with some sort of electrical drive in order to render them useful for various applications. In earlier attempts (Hamlen et al., 1965), metal electrodes were positioned in the gels. More recently, the ECM properties of a polymer gel with interpenetrating polypyrrole (PPy) electrodes have been studied (Chiarelli et al., 1991). In both cases, although ECM conversion was achieved, the electrochemical coupling mechanism was inefficient. To date, no experimental evidence related to the feasibility of electrically triggered, chemically fueled ECM conversion has been reported endowed with acceptable performance.

Research on dexterous end-effectors and tactile sensors for complex manipulative tasks is of great interest in the field of advanced robotics (Dario et al., 1985) and to supplement lost afferent signals due to sensory dysfunction or amputation (De Rossi, 1991).

It has been proposed that a water-swollen polyelectrolyte gel could perform dynamic mechano-electrical conversion through streaming potentials, a transduction mechanism which also operates in human skin (De Rossi et al 1988). This class of materials exhibits rheological characteristics similar to those of human skin under compression.

However, a load sensor that operates by measuring streaming potentials can not detect static loads since these potentials vanish when mechanical equilibrium is reached. To circumvent this deficiency, we have conceived a sensor that exploits an equilibrium mechano-electrical conversion mechanism (Lazzeri et al. 1989.).

Conducting polymers: rheology and mimicry of biostructures

Conducting polymers (CPs) show, in addition to interesting electrical and optical properties, active mechanical behavior in response to appropriate electrochemical stimuli (Baughman, 1990).

The crucial event in energy conversion is the variation of ionic doping inside the polymer; this variation can take place if the polymer is forced by an electric potential to exchange ionic

species with its surrounding, typically an electrolyte bath, which permeates the polymer because of its porosity and wettability. During electrochemical doping or de-doping, CPs undergo length and elastic moduli changes typically associated with notable variations in their physico-chemical properties. The projected relatively large dimensional changes upon doping of CPs (from 1% to 10% linear), as compared with piezoelectric polymers, and the high stress developed (from 1 to 500 MPa) can provide a corresponding increase in work capacity per cycle (Baughman, 1990).

These changes can be obtained using voltages which can be more than an order of magnitude lower than those required to drive electrostatic or piezoelectric micromechanical actuators.

On the other hand, CP actuators typically show slow response; however, time response to electrical stimulus improves as much as their dimensions are scaled down, rendering microactuators development an achievable goal (Smela et al., 1995).

Among various CPs potentially showing electromechanical conversion properties, polypyrrole (PPy) and polyaniline (PANi) have been, by large, more extensively investigated in order to realize an actuator (Pei, et al. 1993; Otero et al., 1992).

To use CPs in engineering applications it is important to know their mechanical properties and the parameters governing them. This lecture reports an investigation on the passive mechanical properties of PPy saturated by a fluid, while an electromechanical characterization of its actuating properties has also been reported (Chiarelli et al., 1995). In order to define passive mechanical properties of PPy, we measured the tensile modulus and Poisson ratio of samples immersed in solution. In relation to the porous nature of the system we also considered porosity and a coefficient (f) which takes into account the friction between the solid matrix and fluid when in reciprocal motion.

Then, we proposed a continuum model already successfully used for hydrogels (Chiarelli et al., 1992 b) to describe the passive mechanical behavior of a conducting polymer film saturated by a fluid; the model is verified in the specific case of stress-relaxation and "free swelling" tests, comparing the predictions with experimental results. In order to describe the electro-mechanical active behavior, a discrete lumped parameter model has been already proposed by our group through experiments and measurements in stimulated condition (Della Santa et al., 1997).

The passive, continuum model predicts the evolution and distribution of the elastic strain, interstitial fluid pressure, total tensile stress and isometric force in the material during a stress-relaxation experiment. The observed decay in total stress, following a sudden stretch, is explained primarily by the mechanism of strain induced swelling, except in the early phase following the initial deformation when the intrinsic viscoelastic behavior of the solid component plays as important role.

Biomimetic case study: artificial kinesthetic systems and pseudo-muscular actuators

Polymeric semiconductors in the form of spun fibers and fiber coating possess electromechanical transduction properties suitable for the implementation of smart fabrics incorporating distributed strain and temperature sensors and contractile actuators.

The key elements for the construction of active polymer electromechanical systems are now at reach in a form which allows their integration onto wearable garments.

The fabrication of electronic and electromechanical systems onto substrates which are not only flexible, but ideally conformable to the human body represents a breakthrough in various areas of application and opens new design possibilities in man-machine interface technology related to virtual reality, teleoperation, ergonomics and rehabilitation engineering.

We reported piezo- and thermoresistive conducting polymer coated fabrics with remarkable transducing properties in terms of strain gauge factor and temperature coefficient of resistance (De Rossi et al., 1999).

They enable the realization of truly wearable instrumented garments capable of recording body surface temperature and proprioceptive maps with no discomfort for the subject and negligible motion artifacts caused by sensor-body mechanical mismatch.

A sensorized glove has been fabricated and its use as an artificial kinesthetic system is outlined.

Spun conducting polymer fibers capable of stiffening, shortening and relaxing under electrochemical stimuli have been fabricated and their actuation properties quantified.

The tensile isometric stress exerted by the contractile fibers can be higher than that typical of human skeletal muscles, while the linear isotonic strain is of the order of 1%, these performances being achieved by low voltage drive (< 2 volts) (Mazzoldi et al., 1998).

Incorporation of actuating fibers into the sensing fabric enables it tensing and relaxing and operating as a wearable exoskeleton.

Carbon nanotubes: new materials for mimicking muscles

Actuators based on carbon nanotubes are single walled nanotube (SWNT) arranged in felt strips and used as a working electrode in an electrochemical cell (Baughman et al., 1999).

The system uses dimensional changes in covalently bonded directions caused by the charge injection, which originate from quantum chemical and double layer effects.

When we applied a potential difference to the electrode, the electronic charge variation is compensated by the double layer charge. This behaviour does not require ion intercalation, which limits the life and rate of faradaic conducting polymer actuators.

We describe here our work on this promising new type of actuators based on non-faradaic electrochemical charge injection.

Operating these actuators in 1M NaCl at low voltages (-0.5 to 1.5 V vs. SCE) we obtain actuator strains of up to 1%. Although the generated stresses (up to some MPa) are larger than those generated by those of natural muscles, they are many orders of magnitude lower than would be obtained for nanotube sheets that fully utilize the mechanical properties of the individual nanotubes.

References

- R.H. Baughman, L.W. Schacklette, *Science and Application of Conducting Polymers*, W.R. Salaneck, D.T. Clark, E.J. Samuelsen ed., Adam Hilger, New York (1990), pp. 47-61.
- R.H. Baughman, Changxing Cui, A.A. Zakhidov, Z. Iqbal, J.N. Barisci, G.M. Spinks, G.G. Wallace, A. Mazzoldi, D. De Rossi, A.G. Rinzler, O. Jaschinski, S. Roth, M. Kertesz, *Science*, 284 (1999), pp. 1340-1344,
- M. A. Biot, *J. Appl. Phys.*, 26 (1955), pp. 182-185.
- M. A. Biot, *J. Acoustic Soc. Am.*, 28 (1956), pp. 168-178.
- W. Burcahrd, S.B. Ross-Murphy, *Physical Networks-Polymer Gels*, London: Elsevier Applied Science (1990).
- P. Chiarelli, D. De Rossi, *Progr. Colloid Polym. Sci.*, 78 (1988), pp. 4-8.
- P. Chiarelli, K. Umezawa, D. De Rossi, in *Polymer Gels: Fundamental and Biomedical Application*, D. De Rossi, Y. Osada, A. Yamauchi, K. Kijawara, eds. London: Plenum Press (1991).
- P. Chiarelli, D. De Rossi, *J. Intell. Mat. Syst. Struct.*, 3 (1992 a), pp. 398-417

- P. Chiarelli, P.J. Basser, D. De Rossi, S. Goldstein, *Biorheology*, vol. 29 (1992 b), pp. 383-398.
- P. Chiarelli, A. Della Santa, D. De Rossi, A. Mazzoldi, *J. of Int. Mat. Sys. & Str.*, vol.6, n.1 (1995), pp. 32-37.
- P. Dario, D. De Rossi, *IEEE Spectrum*, (1985), pp. 46-52
- D. De Rossi, A. Nannini, C. Domenici, *IEEE Trans Biomed Eng.*, 35 n. 4 (1988), pp. 83-92.
- D. De Rossi, *Concise Encyclopedia of Biological & Biomedical Measurement Systems*, P.A Payne ed., Pergamon Press - Oxford (1991), pp. 381-387.
- D. De Rossi, A. Della Santa, A. Mazzoldi, *Mat. Science & Eng. C*, 7 (1999)
- A. Della Santa, A. Mazzoldi, D. De Rossi, A. Frediani, *Smart Mater. Struct.*, 6 (1997), pp. 23-34.
- S.R. Eisenberg, A.J. Grodzinsky, *J. Biomech. Energy*, 109 (1987) pp. 79-89.
- A.J. Grodzinsky, *CRC Critical Review Biomed. Eng.*, 9 (2) (1983), pp. 133-199.
- R.P. Hamlen, C. E. Kent, S.N. Shafer, *Nature*, 206 (1965), pp. 1149-1150.
- D.L. Johnson, *J. Chem. Phys.*, 77 (1982), pp. 1531-1540.
- A. Katchalsky, S. Linfon, T. Michaeli, H. Zwick, in *Size and Shape Changes of Contractile polymers*, A. Wassermann, ed New York: Pergamon Press (1960).
- L. Lazzeri, C. Domenici, D. De Rossi, D. Nannini, P. Basser, *Sensors and Actuators*, 17 (1989), pp. 107-114.
- R.C. Lee, E.H. Franck, A.J. Grodzinsky, D.K. Roylance *Trans. ASME*, 103 (1981), pp. 280-292
- A. Mazzoldi, C. Degl'Innocenti, M. Michelucci, D. De Rossi, *Mat. Sci. & Techn. C*, 6 (1998), pp. 65-71
- V.C. Mov, M.C. Gibbs, W.M. Lai, W.B. Zhu, K.A. Ataniasious, *J. Biomec.*, 22 (1981), pp. 853-861
- Y. Osada, *Adv. Polym. Sci.*, 87 (1987), pp 1-46.
- T.F. Otero, E. Amgulo, J. Rodriguez, C. Santamaria, *J. Electroanal. Chem*, 341 (1992), pp. 369-375.
- Q. Pei, O. Inganas, I. Lundstrom, *J. of Int. Mat. Sys. & Str.*, vol.2, n.1 (1993).
- A. Peter, S.-J. Candau, *Macromolecules*, 21 (1988), pp. 2278-2282
- R.A. Salzstein, S.R. Pollak, A.F.T. Mak., W. Petrov, *J. Biomech.*, 20 (1987), pp. 261-270
- E. Smela, O. Inganas, I. Lundstrom, *Science*, 268 (1995) pp. 1684-1686.
- T. Tanaka, *Sci. Am.*, 244 (1) (1981), pp. 110-123.
- T. Tanaka, L.O. Hocker, G.B. Benedek, *J. Chem. Phys.*, 59 (1973), pp. 5151-5159.
- T. Tanaka, D.J. Fillmore. *J. Chem. Phys.*, 70 (1979), pp. 1214-1218

DYNAMICS OF REVERSIBLE AGGREGATES IN DENSE SUSPENSIONS RHEOLOGY OF BLOOD SUSPENSION

P. Snabre⁽¹⁾, L. Haider⁽¹⁾, and P. Mills⁽²⁾

⁽¹⁾I.M.P. UPR 8621 BP5 66122 FONT-ROMEUE France

⁽²⁾L.P.M.D.I. Université de Marne la Vallée. 77454 Marne la Vallée Cedex France

Les modèles microrheologiques autoconsistents décrivent la rhéologie des suspensions faiblement agrégées en fonction de grandeurs physiques directement accessibles par des méthodes expérimentales (dimension fractale des agrégats, énergie de surface, temps de relaxation viscoélastique des particules). Les méthodes rhéo-optique ou rhéo-ultrasonore constituent ainsi un outil puissant pour analyser les processus de rupture des agrégats sous cisaillement dans un milieu dense et examiner les hypothèses de milieu effectif. Les modèles microrhéologiques rendent alors compte de la rhéologie des suspensions de globules rouges agrégés en présence de dextrane. Les phénomènes de restructuration hydrodynamique peuvent cependant influencer sur la rhéologie de la suspension et induire des effets de mémoire (hystérésis rhéologique) en particulier pour les particules déformables et les fortes énergies de surface.

I INTRODUCTION

The prediction of suspension viscosity in concentrated systems is a long standing problem of important practical interest. Particulate suspensions and droplets dispersions such as paints, ink, food or biofluids show a variety of nonlinear rheological behavior in relation with the Brownian motion, the particle volume fraction, the interparticle forces or the deformation of particles in the flow. Repulsive interactions between particles may lead to quasi-crystal structures in concentrated systems while attractive forces induce the formation of clusters and continuous network above a gelation threshold. NonNewtonian behavior of weakly flocculated suspensions such as yield stress, shear thinning and thixotropy results from the rupture of the spanning network and finite clusters when increasing the shear stress [1]. During the four last decades, structural viscosity models involving an effective volume fraction and a shear dependent structure parameter were developed [2,3]. Structural models reasonably describe the non Newtonian behavior of complex fluids under steady state conditions through a rheological index such as the ratio of limiting viscosities, a characteristic shear stress and exponents accounting for the non linear shear dependence of the structure [4]. However, the prediction of the non Newtonian behavior requires knowledge of the structural variables. Fifteen years ago, statistical models of polymer entanglement [5] and random cluster growth [6,7] have initiated an upsurge of interest in the rheological properties of aggregated colloids. Within the framework of fractal aggregation, mean field theories of growth and rupture of fractal clusters were first proposed by Mills *et al* [8,9], Sonntag *et al* [10] and Patel *et al* [11] showing a power law dependence of the viscosity on the shear rate. For aggregated colloidal dispersions, the microrheological models usually consider the effective medium approximation (the viscosity of the medium around a cluster is the viscosity of the suspension) and differ from each other by the rheological law for hard sphere suspensions and the break-up process of aggregates [12-16]. Recent computer simulations [17,18] and experimental studies [19-22] about the break-up of aggregates in a shear or elongational flow are often limited to the diluted regime and neglect the hydrodynamic interactions between flocs.

In the present paper, an analysis of the nonNewtonian properties of dense suspensions of reversible clusters is proposed. The steady state viscosity of non Brownian red blood cell suspensions and the shear break-up of hardened or deformable red cell aggregates was investigated by rheo-optical and rheo-ultrasonic experiments [23,24]. Light and ultrasound scattering methods provide a way for examining the shear break-up of flocs in a dense suspension and the effective medium approximation. From a microrheological model [16] and measurements of the disaggregation shear stress, the shear-thinning behavior of aggregated red cell suspensions is described in the low shear regime. In a last section, the shear-induced restructuration of red cell aggregates is further discussed in relation with the shear history dependence of the viscosity.

II SHEAR BREAK-UP OF REVERSIBLE FLOCS

1. Equilibrium size of flocs in a shear flow

Above a critical yield stress, the shear thinning behavior of weakly aggregated suspensions results from the rupture of the spanning network and finite clusters when increasing the shear stress [1,8-16]. Reversible clusters can grow in a shear field until they reach a maximum stable size R corresponding to a dynamical equilibrium between formation and shear break-up of the aggregates. As shown by computer simulations [17,18] and experimental investigations [19,23], the shear stress dependence of the equilibrium radius $R(\tau)$ of an isolated fractal cluster obeys the power law:

$$\frac{R(\tau)}{a} \approx (\tau^* / \tau)^m \quad \text{with} \quad 0.3 < m < 1/2 \quad (1)$$

where the critical shear stress $\tau^* \approx \Gamma / a$ for cluster break-up is related to the surface adhesive energy Γ (adhesive energy per unit contact area) and the characteristic radius a of elementary particles. The Break-up criterion $R^3(\tau) \approx C k a^2 / \tau$ used by Potanin *et al* [14] involves an unknown fragility parameter C and the spring constant k of the bond between the particles (second derivative of the pair potential). The fragility of bonds depends on the reversibility of cluster deformation under the action of external stresses. Soft and rigid clusters represent extremes possible behavior of aggregates. Rigid clusters are more likely broken into secondary aggregates of approximately equal parts (*large scale fragmentation*) since elastic deformations are transmitted over the whole structure. In the case of soft aggregates, outer chains of size $\approx a$ are stretched and broken one by one until the cluster reaches a stable size (*surface erosion*). A mean field approach gives a scaling law similar to the phenomenological equation (1) with $m = 1/3$ for rigid clusters and $m = 1/2$ for deformable aggregates [16,17]. As a consequence, irreversible flocculation results in loose and rigid clusters with $m \approx 1/3$ while weak bonding energy (reversible flocculation) leads to more compact and deformable aggregates with $m \approx 1/2$.

2. Rheo-optical study of red cell aggregates

For human red cells of characteristic size $a \approx 4 \mu\text{m}$ much larger than the wavelength λ of visible radiations, waves are multiply scattered from a dense suspension and the fractal dimension of red cell clusters further influences light propagation.

In the weak scattering limit ($\lambda \ll a$), the photon diffusion approximation can be used and the diffuse reflectivity r of optically thick and weakly absorbing random suspension scales as the ratio of the absorption mean free path l_o and the scattering mean free path l . For Mie scatterers, the elastic mean free path l can be approximated to good accuracy as the inverse of the particle area S per unit volume. In the case of red cell clusters, the contact area between adjacent cell surfaces no longer contribute to light scattering since the intercellular distance of about 200 \AA is

much less than the light wavelength [25]. The scattering mean free path l_a in an aggregated suspension then scales as the inverse of the scattering area $S - S_c$ per unit volume (S_c is the contact area per unit volume between red cells). As the cluster size weakly influences the absorption cross section per unit volume and the phase diagram of scatterers, we may estimate the diffuse reflectivity r_a of an aggregated suspension from the relation [24]:

$$r_a \approx \frac{l_o}{l_a} \approx l_o (S - S_c) \quad \text{with} \quad r \approx \frac{l_o}{l} \approx l_o S \quad \text{and} \quad l/\lambda \gg 1 \quad (2)$$

The reflectometric index $G = 1 - r_a / r \approx S_c / S$ then scales as the contact area S_c per unit volume between aggregated particles and directly reflects the aggregation extent. For fractal clusters of fractal dimension D and size $R \approx aN^{1/D}$, the total contact area scales as $2A_c (R/a-1)^D$ (A_c is the contact area between two particles) and the reflectometric index takes the form [24]:

$$G(R) \approx \frac{S_c}{S} \approx \frac{2A_c \left(\frac{R}{a} - 1\right)^D}{NA} \approx \frac{2A_c}{A} \left(1 - \frac{a}{R}\right)^D \quad (3)$$

where A is the particle area. Equations (1) and (3) finally gives the shear stress dependence of the reflectometric index:

$$G(\tau) \approx \frac{2A_c}{A} \left(1 - \left(\frac{\tau}{\tau^*}\right)^m\right)^D \quad (4)$$

The shear stress dependence of the diffuse reflectivity $r_a(\tau)$ of aggregated red cell suspensions in a Couette flow was investigated with a normally incident He-Ne laser light ($\lambda = 0.633 \mu\text{m}$) [23]. Dextran macromolecules induces reversible and weak aggregation of red cells [24]. Heat treatment of red cells further causes irreversible alterations of the endoface membrane proteins and reduces the membrane deformability without significant change in the surface adhesive energy [23]. Figure 1 show the shear stress dependence of the reflectometric index $G(\tau) = 1 - r_a(\tau) / r$ for normal and heat treated red cell clusters in dextran polymer solution.

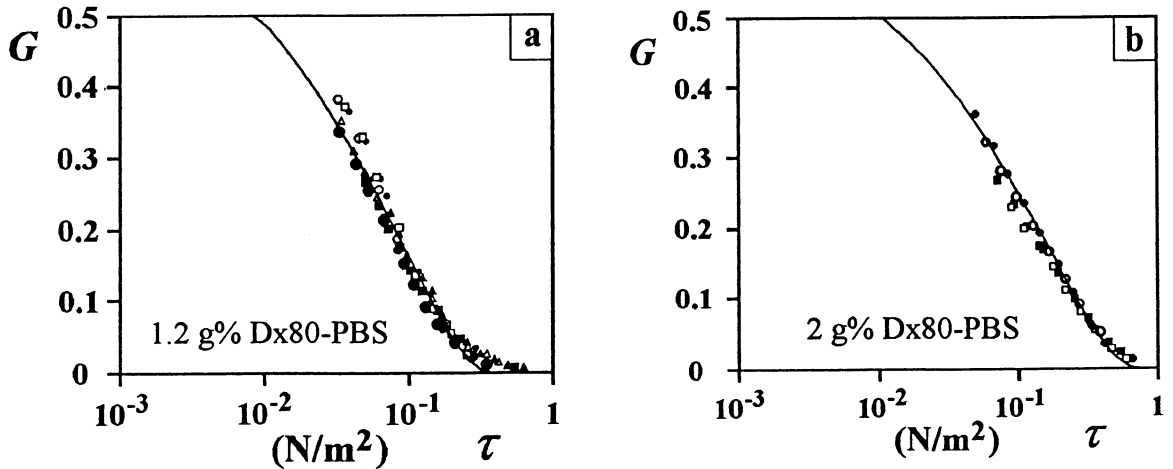


Figure 1: Shear stress dependence of the reflectometric index $G(\tau)$ for normal red cells in 1.2g% Dx80-PBS ($0.15 < \phi < 0.75$) (a) or heat-treated red cells in 2g% Dx80-PBS ($\phi = 0.45$) (b). Solid curves are calculated from equation (4) with $D = 2$, $m = 1/2$, $A_c/A = 0.35$, $\tau^* = 0.37 \text{ dyn/cm}^2$ for 1.2g% Dx80-PBS and $\tau^* = 0.65 \text{ dyn/cm}^2$ for 2g% Dx80-PBS.

The reflectometric curves $G(\tau)$ display no significant dependence on particle volume fraction ϕ or cell deformability since the local shear stress determines the equilibrium size of interacting flocs in a dense suspension (effective medium approximation).

The fractal dimension of two-dimensional red cell aggregates was determined from optical imaging of clusters between two glass plates after previous dispersion of the suspension [16]. The fractal dimension $D = 1.59 \pm 0.03$ and $D = 1.56 \pm 0.04$ respectively for normal or hardened red cell clusters in 3g% Dx80-PBS well agrees with the predictions of the RLA model ($D \approx 1.55$ for two dimensional clusters) predicting a fractal dimension $D \approx 2$ for three dimensional aggregates [7]. Red cell aggregates undergo irreversible deformation under shear because of the weak bonding energy and the deformability of biological membranes. In the case of hardened red cells, clusters likely remain soft since the biconcave shape of erythrocytes allows particles to roll at their contact points.

Considering soft aggregates ($m = 1/2$) of fractal dimension $D = 2$, equation (4) then describes the reflectometric data with $A_c / A \approx \pi a^2 / A = 0.35$ ($a \approx 4 \mu\text{m}$ and $A \approx 145 \mu\text{m}^2$ for the mean area of human red cells). Rheo-optical experiments further provide a way to determine the critical disaggregation shear stress τ^* ($\tau^* = 0.37 \text{ N/m}^2$ for red cells in 1.2 g% Dx80-PBS, $\tau^* = 0.65 \text{ N/m}^2$ for 2g% Dx80-PBS). The surface adhesive energy $\Gamma \approx \tau^* a$ is consistent with earlier estimations based on the equilibrium shape of deformable red cell doublets ($\Gamma \approx 2 \cdot 10^{-6} \text{ N/m}$ for red cells in 2g% Dx80) [26].

The large contact area between aggregated deformable particles makes the light reflectometry very sensitive to red cell aggregation. However, light scattering becomes insensitive to cluster growth for rigid Mie scatterers only establishing contact points during adhesion ($r_a \approx r$ for $S_c \approx 0$ (2)). Fortunately, ultrasound scattering provides an alternative way to study the flocculation process of red cells. Indeed, scattering from particles smaller than the wavelength becomes more sensitive to cluster size and less influenced by the internal structure of aggregates.

3. Rheo-ultrasonic study of red cell aggregates

We consider weakly scattering particles or aggregates of size much less than the ultrasound wavelength λ (Rayleigh scattering regime) and acoustic properties close to those of the surrounding liquid. Therefore, the attenuation of the incident ultrasound wave due to viscous losses is negligible and ultrasound scattering mainly results from the mismatches in the mechanical properties of continuous and particle phases. In the single scattering regime, the scattering coefficient χ_a defined as the power scattered per unit solid angle from a unit volume then scales as the inverse of the scattering mean free path l_a [24]:

$$\chi_a \approx \frac{1}{l_a} \quad \text{with} \quad l_a = \frac{1}{n_a \sigma_a W_a} \quad \text{and} \quad \sigma_a = N^2 \sigma \quad (5)$$

where n_a is the average cluster number per unit volume, σ and σ_a the scattering area of a particle or a cluster respectively and N the mean particle number in a cluster. The packing factor W_a accounts for dependent scattering in dense systems since the increase in correlation among Rayleigh particles or clusters induces destructive interference of the far field scattered waves and a decay in the scattered power [27]. From statistical arguments, the packing factor W_a scales as the variance of single particles in a voxel of size $\approx \lambda$ and increases linearly with the cluster volume fraction ϕ_a (the packing factor increases during cluster growth because each voxel can gain or lose a larger number of elementary particles) [24]. The dimensionless scattering coefficient χ_a/χ then scales as the average volume R^3 of clusters:

$$\frac{\chi_a}{\chi} = \frac{n_a N^2 W_a}{n W} = \frac{R^3}{a^3} \approx 1 + \left(\frac{\tau^*}{\tau} \right)^{3m} \quad \text{with} \quad \frac{W_a}{W} = \frac{\phi_a}{\phi} = \frac{n_a R^3}{n a^3} \quad \text{and} \quad \frac{n_a}{n} = \frac{1}{N} \quad (6)$$

In the Rayleigh scattering regime ($R \ll \lambda$), one can indeed expect no influence of the fractal dimension upon the shear stress dependence of the scattering coefficient $\chi_a/\chi \approx 1 + (\tau^*/\tau)^{3m}$ (6) because the wave cannot resolve the internal structure of clusters smaller than a voxel. Far field coherence effects determine the cluster volume dependence of the scattering coefficient χ_a/χ thus providing an aggregation index for a suspension of Rayleigh clusters.

Rheo-acoustical experiments were performed for red cells in dextran saline solution. A 8 MHz piezoelectric ceramic both emits acoustic bursts and detects the backscattered waves from red cell clusters in a plane-plane flow device (figure 2). Red cells are weak Rayleigh scatterers when probed with an 8 MHz ultrasound wave of wavelength $\approx 200 \mu\text{m}$ because of the likeness of the acoustic properties of cells and saline solution (density and compressibility) [28].

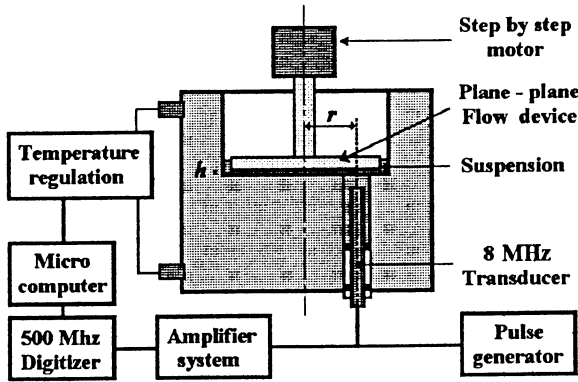


Figure 2 : Schema of the ultrasonic technique to investigate the ultrasound backscattering from a flocculated red cell suspension in a plane - plane flow device.

The shear rate dependence of the backscattering coefficient χ_a is weakly dependent upon the gap width which indicates both a linear velocity profile between the plates and a weak influence of the marginal layers clear of particles near the walls. The previous dispersion of the suspension in a rapid flow further cancels out any memory effects. From the measurement of the shear viscosity, the backscattering coefficient was determined as a function of shear stress and particle volume fraction for normal or hardened red blood cells in dextran saline solution (figure 3) [24].

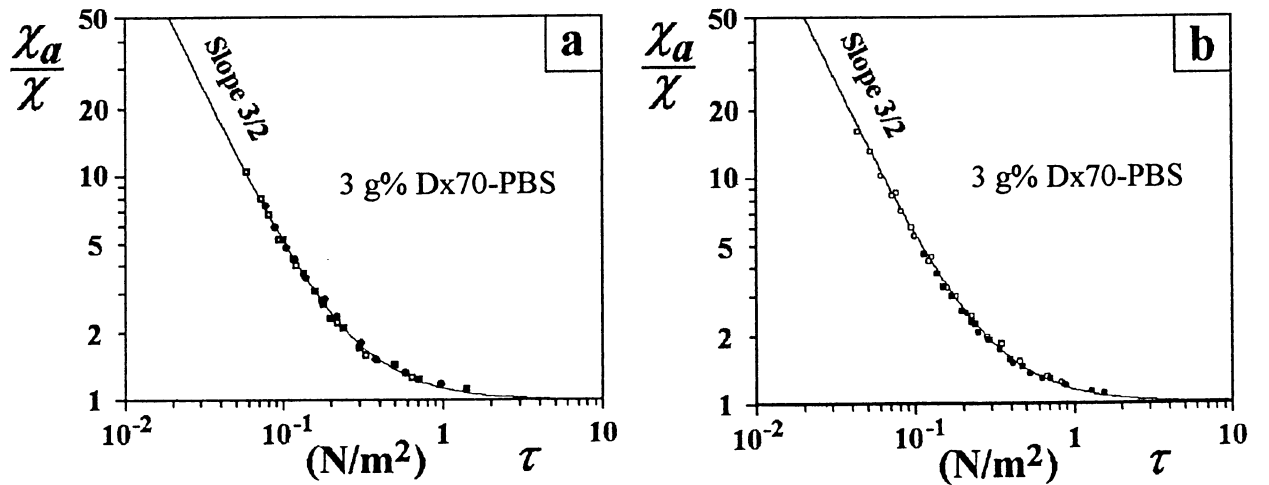


Figure 3 : Dimensionless ultrasonic backscattering coefficient χ_a/χ versus the shear stress τ for deformable (a) or hardened red cells (b) in 3g% Dx70-PBS ($0.15 < \phi < 0.35$). The solid curve is calculated from equation (6) with $m = 1/2$ and $\tau^* = 0.255 \text{ N/m}^2$ (a) or $\tau^* = 0.28 \text{ N/m}^2$ (b) [24,29].

Experimental data $\chi_a(\tau)/\chi$ lie on a single curve since the shear stress $\tau = \mu(\gamma)\gamma$ correctly accounts for the microrheological conditions around the clusters whatever the particle density or deformability. Moreover, the master curve $\chi_a(\tau)/\chi$ indicates that coherence effects among scatterers only involve the average particle volume fraction since the transducer cannot resolve the structure of aggregates smaller than a voxel. The scattering coefficient further obeys the scaling law $\chi_a/\chi \approx 1 + (\tau^*/\tau)^{3m}$ with an exponent $m = 1/2$ representative of soft clusters either for deformable or hardened red cells (figure 3) [29].

III SHEAR VISCOSITY OF WEAKLY AGGREGATED SUSPENSIONS

1. Microrheological model

Microrheological models introduce a Newtonian viscosity law $\mu(\phi, \phi^*)$ for hard spheres in purely hydrodynamic interactions [8-16]. Changes in the effective volume fraction or the maximum packing fraction ϕ^* of structural units then determine the non Newtonian behavior of the suspension.

In the case of particle aggregation, fractal structures fill space and reach a maximum size $\hat{R}(\phi)$ above the gelation threshold ϕ_g as a consequence of cluster interpenetration. The infinite spanning network displays a solid like viscoelasticity behavior and roughly consists in a dense collection of fractal subclusters or « blobs » of size $\hat{R}(\phi) \approx a (\phi/\phi^*)^{1/(D-3)}$ packed with a volume fraction ϕ^* [5]. The shear break-up of « blobs » determines the yield shear stress τ_o through the rupture criterion (1) and the condition $R(\tau_o) = \hat{R}(\phi)$ [8,16]:

$$\tau_o \approx \tau^* \left(\left(\frac{\phi}{\phi^*} \right)^{\frac{1}{D-3}} - 1 \right)^{-\frac{1}{m}} \quad \text{for } \phi > \phi_g \quad (7)$$

For a fractal dimension $D > 2$, clusters may be considered as unpermeable with strong hydrodynamic screening inside the aggregates. The shear viscosity $\mu_a(\phi_a, \phi^*)$ of a weakly aggregated suspension then follows from the reference rheological law $\mu(\phi, \phi^*)$ for hard spheres, the effective volume fraction $\phi_a(\tau) \approx \phi (R/a)^{3-D}$ of clusters and the break-up criterion (1). The effective medium approximation $\tau = \mu_a(\tau)\gamma$ established from rheo-optical or rheo-ultrasonic experiments finally gives a nonlinear expression of the shear viscosity. Considering soft clusters ($m = 2$) of fractal dimension $D = 2$ and the reference law $\mu_a(\phi_a, \phi^*) = \mu_o (1-\phi)/(1-\phi/\phi^*)^2$ proposed by Mills and Snabre [8,9], the microrheological model leads to a Casson like behavior [16]:

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_o} + \sqrt{\mu\gamma} \left(1 - \frac{\phi}{1-\phi} \left(\frac{\tau^*}{\tau} \right)^{1/2} \right)^{1/2} \quad \text{with} \quad \mu = \mu_o \frac{1-\phi}{(1-\phi/\phi^*)^2} \quad (8)$$

In the case of deformable particles, the formation of transient anisotropic structures with a higher maximum packing volume fraction ϕ^* enhances the nonNewtonian behavior. On the basis of a Kelvin - Voigt model and a linear expansion of the structure parameter $\phi^*(\gamma)$ in terms of the shear strain gradient in the flow direction, a self consistent approach then gives a non linear expression of the shear viscosity as a function of a Deborah number $\Omega = \gamma\theta$ (θ is a characteristic viscoelastic relaxation time of structural units) [16]. Accounting for the non linear viscoelastic properties of red cell membranes ($\theta(\gamma)/\theta_o = (\theta_o\gamma)^{-3/4}$), the shear viscosity $\mu(\phi, \gamma)$ of a dense suspension of deformable red cells is given by [16]:

$$\mu(\phi, \gamma) = \frac{\mu_o (1 - \phi)}{\left[1 - \frac{\phi}{\phi_o^*} \left(1 + \frac{\mu(\phi, \gamma) \beta \lambda^{-1} (\theta_o \gamma)^{1/2}}{\mu_o} \right)^{-1} \right]^2} \quad \text{with } \lambda = \mu_i / \mu_o \quad (9)$$

where ϕ_o^* is the maximum packing fraction around the zero shear rate limit, μ_i the viscosity of the intracellular medium and β a constant. The variable $(\theta_o \gamma)^{1/2}$ arises from the specific viscoelastic nature of the red cell membrane and appears in a phenomenological law proposed by Quemada [3] and often used to describe blood rheology.

2. Shear viscosity of red cell suspensions

The shear viscosity $\mu_a(\phi, \gamma)$ of hardened or deformable red cells in dextran saline solution was measured in a Couette flow. The suspension is previously dispersed in a rapid flow and then allowed to relax for 5 minutes. Steady shear experiments were performed by increasing the shear rate step by step and waiting for steady state before the measurement. Figure 4 shows the shear rate dependence of the relative viscosity μ_a/μ_o for red cell volume fraction $0.15 < \phi < 0.55$. Considering the disaggregation shear stress τ^* determined from optical or ultrasonic experiments, equations (7-9) describe the rheology of red cell suspensions (figure 4) [16]. The yield stress scales as $\tau^* (\phi/\phi_o^*)^2$ for soft clusters of fractal dimension $D = 2$.

In the case of highly concentrated suspensions of deformable red cells ($\phi > 0.55$), the rheological behavior becomes dominated by the viscoelastic properties of particles [30] and the shear viscosity is less influenced by the aggregation phenomena since the characteristic size of the clusters is close from the particle radius. Under high particle concentrations ($0.55 < \phi < 0.93$), experiments from Picart *et al* [31] then show a cubic dependence of the yield stress on red cell volume fraction.

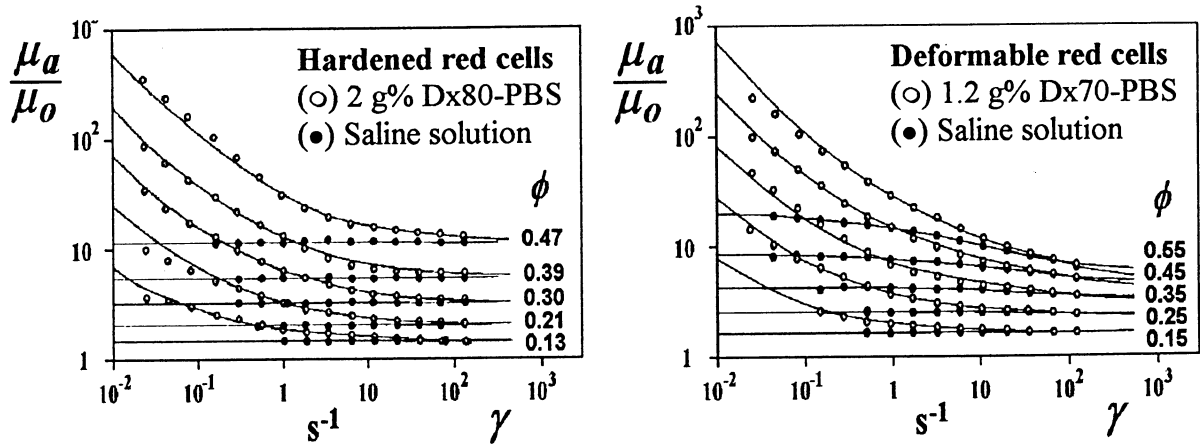


Figure 4: Relative shear viscosity μ_a/μ_o for hardened or deformable red cells in saline solution (●) or dextran-PBS (○). Solid curves are calculated from equations (7-9) with $D = 2$, $m = 1/2$, $\theta_o = 5 \cdot 10^{-2}$ s, $\beta = 0.3$, $\mu_i = 6$ cP, $\tau_c = 0.55$ N/m² for 2 g% Dx80-PBS and $\tau_c = 0.2$ N/m² for 1.2 g% Dx70-PBS (ϕ_o^* is derived from the low shear viscosity $\mu(\phi, \gamma \approx 0)$ of unaggregated red cells).

3. Shear induced restructuration

Shear induced restructuration of clusters may influence the rheological behavior of a weakly aggregated suspension [15,32,33]. For deformable red cells, a significant increase of the diffuse reflectance $r_a(\gamma)$ is observed in the intermediate shear stress regime $\tau \approx 10^{-3}$ dyn/cm² (figure 5) because of a shear compaction of the aggregates. Hydrodynamic stresses indeed may induce particle rearrangement in the growing soft fragments and formation of less porous aggregates [20,33].

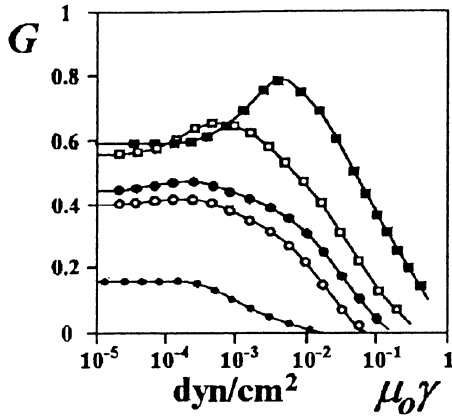


Figure 5: Steady state reflectometric index $G = 1 - r_a / r$ versus the shear stress $\mu_0\gamma$ for deformable red cells in 2g% Dx40-PBS (\bullet), 2g% Dx70-PBS (\circ), 2g% Dx80-PBS (\circ), 2g% Dx110-PBS (\square) or 2g% Dx500-PBS (\blacksquare). Red cell volume fraction $\phi = 0.45$ [16].

A rapid restructuring process requires a significant increase of the internal energy of the aggregates and a large adhesive area between adjacent cell membranes [16]. As a consequence, particle deformability as well as cell adhesiveness are promoting factors in the shear induced restructuring of clusters. Indeed, the restructuring is no longer observed at short time scale (≈ 10 mn) for hardened red cell. However, a shear induced compaction of clusters becomes obseravable with rigid silica particles after application of the shear for one hour [15].

The restructuring processes lead to time dependent and memory effects in the rheological behavior of aggregated suspensions [16]. When decreasing step by step the shear rate, the flow induced compact aggregates persist at low shear stresses (figure 6a) and then result in a low apparent viscosity (figure 6b). On the other hand, the viscosity in the low shear regime is higher when the suspension is first dispersed in a rapid flow since a preshearing period eliminates any memory effects (figure 6).

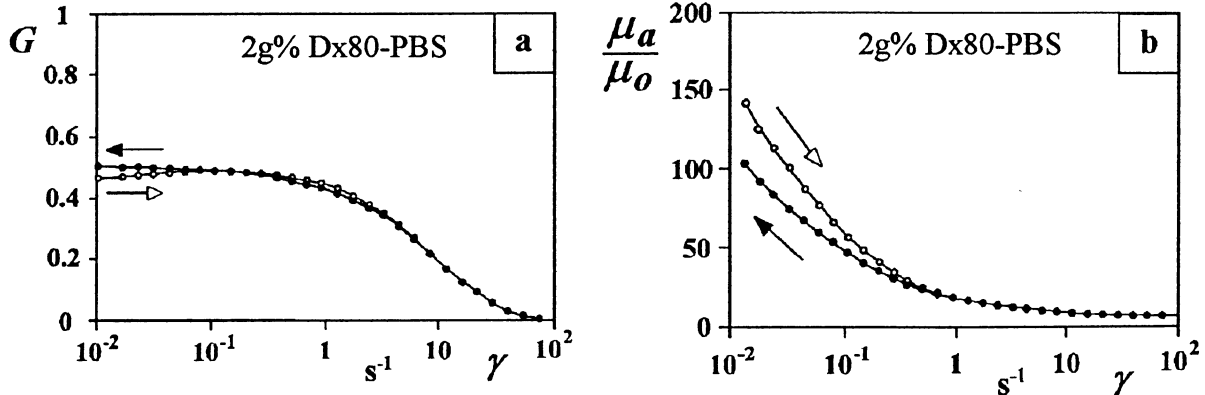


Figure 6: Shear rate dependence of the steady state reflectometric index $G(\gamma)$ (a) and relative viscosity $\mu_a(\gamma)/\mu_o$ (b) for deformable red cells in 2g% Dx80-PBS ($\phi = 0.45$). The shear rate is either increased (\circ) or decreased (\bullet) step by step.

A shear induced synaeresis process (network contraction) is further expected for deformable particles and strong adhesive energy. Both the shear induced restructuring of clusters and the appearance of a marginal layer clear of particles near the walls then influence the rheology of red cell suspensions in the low shear regime, as evidenced by Thomas [34] in narrow capillary tubes or by Cokelet et al [35] in a Couette viscometer. However, the choice of a suitable experimental procedure cancelling the memory effects strongly reduces space inhomogeneities in the viscometer gap [16]. For moderate red cell adhesiveness, the shear restructuring of clusters and the formation of a marginal layer by contraction of the spanning network then remain negligible. On the other hand, low shear viscosity measurements become very sensitive both to the rheological history of the suspension and the viscometer geometry for a strong aggregation of deformable red cells (pathological blood).

IV CONCLUSION

Rheo-optical or rheo-ultrasonic methods provide a powerful way to study the shear break-up of fractal aggregates in a flow and describe the rheological behavior of weakly aggregated suspensions from microrheological models. However, particle deformability and strong adhesiveness favor a shear induced restructuration of clusters and a contraction of the spanning network in the low shear regime. The formation of more compact aggregates and the simultaneous appearance of a region free of particles near the viscometer walls result in shear history and viscometer geometry dependence.

REFERENCES

- [1] CASSON N., A flow equation for pigment-oil suspensions of printing ink type. In *Rheology of disperse systems*, C.C.Mills, Ed. Pergamon, 84-102 (1959).
- [2] KRIEGER I.M., Rheology of monodisperse lattices. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 3, 111-136 (1972).
- [3] QUEMADA D., Rheology of concentrated dispersed systems. *Rheol Acta*, 17, 632-642 (1978).
- [4] QUEMADA D., Rheological modelling of complex fluids. I. The concept of effective volume fraction revisited. *Eur. Phys. J. AP*, 1, 119-127 (1998). IV Thixotropic and thixoelectric behaviour. *Eur. Phys. J. AP*, 5, 191-207 (1999).
- [5] DE GENNES P.G., *Scaling concepts in polymer physics*. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, (1981).
- [6] KOLB M. and JULLIEN R., Chemically limited versus diffusion limited aggregation. *J. Phys. Lett.*, 45, L977-981 (1984).
- [7] JULIEN R and BOTET R., *Aggregation and fractal aggregates*, World scientific, Singapore (1987).
- [8] MILLS P., NonNewtonian behavior of flocculated suspensions. *J. Phys. Lett.* 46, L301-309 (1985).
- [9] MILLS P., SNABRE P., The fractal concept in the rheology of concentrated suspensions *Rheol. Acta*, 26, 105-108 (1988).
- [10] SONNTAG R.C. and RUSSEL W.B., Structure and breakup of flocs subjected to fluid stresses. *J. Colloid Interface Sci.*, 115, 378-389 (1987).
- [11] PATEL P.D. and RUSSEL W.B., A mean field theory for the rheology of phase separated or flocculated dispersions. *Colloid surf*, 31, 355-383 (1988).
- [12] POTANIN A.A. and URIEV N.B., Microrheological models of aggregated suspensions in shear flow. *J. Colloid interface Sci.*, 142, 385-395 (1991).
- [13] WESSEL R. and BALL R.C., Fractal aggregates and gels in shear flow. *Phys. Rev. A*, 46, R3008-3011 (1992).
- [14] POTANIN A.A., DE ROOIJ R., VAN DEN ENDE D. and MELLEMA J., Microrheological modelling of weakly aggregated dispersions. *J. Chem Phys.*, 102, 5845-5853 (1995).
- [15] WOLTHERS W., DUITTS M.H.G., VAN DEN ENDE D. and MELLEMA J., Shear history dependence of the viscosity of aggregated colloidal dispersions. *J. Rheol.*, 40, 799-811 (1996).
- [16] SNABRE P. and MILLS P., Rheology of weakly flocculated suspensions of rigid particles. *J. Physique III*. 6, 1811-1834 (1996). Rheology of weakly flocculated suspensions of viscoelastic particles. *J. Physique III*. 6, 1835 - 1855 (1996).
- [17] POTANIN A.A., On the computer simulation of the deformation and breakup of colloidal aggregates in shear flow. *J. Colloid Interface Sci.*, 157, 399-410 (1993).
- [18] HIGASHITANI K and IIMUA K, Two-dimensional simulation of the breakup process of aggregates in shear and elongational flows. *J. Colloid Interface Sci.*, 204, 320-327 (1997).

- [19]TORRES F.R., RUSSEL W.B., SCHOWALTER W.R., Simulations of coagulation in viscous flows. *J. Colloid Interface Sci.*, 145, 73-85 (1991).
- [20]OLES V., Shear-induced aggregation and breakup of polystyrene latex particles. *J. Colloid Interface Sci.*, 154, 351-358 (1992).
- [21]YEUNG A.K.C. and PELTON R., Micromechanics: a new approach to studying the strength and breakup of flocs. *J. Colloid Interface Sci.*, 184, 579-585 (1996).
- [22] SERRA T., COLOMER J. and CASAMITJANA X., Aggregation and breakup of particles in a shear flow. *J. Colloid Interface Sci.*, 187, 466-473 (1997).
- [23]SNABRE P., BITBOL M. and MILLS P., Cell disaggregation behavior in shear flow. *Biophys. J.*, 51, 795-807 (1987).
- [24]SNABRE P., L. HAIDER and BOYNARD M., Ultrasound and light scattering from a suspension of reversible fractal clusters in shear flow. *Eur. Phys. J. B* (1999) In press.
- [25]CHIEN S. and JAN K.M., Red cell aggregation by macromolecules. Roles of surface adsorption and electrostatic repulsion. *J. Sup. Structure*, 1, 385-409 (1975).
- [26]SKALAK R., ZARDA P.R., JAN K.M. and CHIEN S., Mechanics of rouleau formation. *Biophys. J.*, 35, 771-881 (1981).
- [27]TWERSKY V., Low-frequency scattering by correlated distributions of randomly oriented particles. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1609-161 (1987).
- [28]SHUNG K.K., SIGELMANN R.A. and REID J.M., Scattering of ultrasound by blood, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 23, 460-467 (1976).
- [29]HAIDER L., BOYNARD M., SNABRE P., Dynamics of deformable or hardened red cell clusters in a shear flow. *Biophys. J.* (1999) submitted.
- [30]MASON T.G., BIBETTE J. and WEITZ D.A., Yielding and flow of monodisperse emulsions, *J. Colloid Interface Sci.*, 179, 439-448 (1996).
- [31]PICART C., PIAU J.M. and GALLIARD H., Human blood shear yield stress and its hematocrit dependence. *J. Rheol.*, 42, 1-12 (1998).
- [32]P.MILLS, P.SNABRE, J.DUFAUX and D.QUEMADA, Enhancement of red blood cell aggregation in shear flow. *Phys. Chem. hydrodynamics*, 3, 80-86 (1981).
- [33] LIN M.Y., KLEIN R., LINDSAY H.M., WEITZ D.A., BALL R.C. and MEAKIN P.J., Shear-induced restructuration of aggregates. *J. Colloid Interface Sci.*, 137 (1990) 263-280.
- [34] THOMAS H.W., The wall effect in capillary instruments: an improved analysis suitable for application to blood and other particulate suspensions. *Biorheology*, 1, 41-56 (1961).
- [35] COKELET G.R. and SMITH J.H., The effect of concentric-cylinder viscometer gap size on the experimental rheological properties of human blood. *Biorheology*, 10, 51-56 (1973).

POLYMERES ASSOCIATIFS D'ORIGINE NATURELLE : MECANISMES D'ASSOCIATION ET ROLE DE LA STRUCTURE MOLECULAIRE

J. Desbrières, M. Rinaudo
CERMAV-CNRS, associé à l'Université Joseph Fourier, Grenoble I
BP 53, 38041 GRENOBLE Cedex 9

Résumé

Les polymères amphiphiles présentent des propriétés intéressantes en solution aqueuse; certains d'entre eux donnent une augmentation importante de viscosité en solution semi-diluée et d'autres forment un gel non covalent. La balance hydrophile-hydrophobe joue un rôle prédominant dans les interactions interchaînes, dépendant de la densité de charge du polymère (caractère électrostatique), de la température, de la nature de la substitution hydrophobe ou de la concentration en sel extérieur.

Dans ce travail nous avons étudié deux systèmes :

- * les méthylcelluloses qui forment un gel dans des conditions thermodynamiques données lorsque des zones hydrophobes fortement substituées sont présentes dans la chaîne macromoléculaire (copolymères de type à blocs),

- * les alkylchitosanes obtenus par substitution de chaînes alkyle sur un squelette de poly-D-glucosamine.

Les relations entre la structure chimique des polysaccharides modifiés et les propriétés physiques de leurs solutions aqueuses sont discutées.

INTRODUCTION

Les polymères hydrosolubles autoassociatifs représentent une nouvelle classe de macromolécules importante d'un point de vue industriel. Ils possèdent des caractéristiques rhéologiques inhabituelles provenant de l'association intermoléculaire de substituants hydrophobes [1] incorporés dans la chaîne macromoléculaire soit par greffage chimique [2,3] ou par copolymérisation [4]. Ces associations hydrophobes mènent à la formation d'un réseau polymère tridimensionnel.

Pour les polymères synthétiques, les divers comportements observés sont maintenant compris, qualitativement, en termes de nature, nombre et longueur des substituants hydrophobes et aussi en termes de distribution des substituants le long de la chaîne macromoléculaire. Par contre les polysaccharides souffrent encore d'un manque d'études fondamentales. La difficulté provient principalement de l'absence de molécules modèles avec une distribution précise des substituants. La balance hydrophile-hydrophobe joue un rôle prépondérant dans les interactions interchaînes dépendant de la densité de charge du polymère (caractère électrostatique) ou de la solubilité des polymères neutres, de la température, de la nature de la substitution hydrophobe ou de la concentration en sel extérieur.

Dans ce travail nous avons étudié deux types de polymère, l'un étant neutre avec une structure de type copolymère à blocs (les méthylcelluloses) et l'autre étant ionique et possédant des chaînes hydrophobes latérales (les alkylchitosanes). La balance hydrophile-hydrophobe peut être ajustée par de nombreux paramètres tels que la densité de charge, la longueur et le nombre de groupements hydrophobes...

GELIFICATION DES METHYLCELLULOSES

Les échantillons industriels de méthylcellulose (MC) préparés selon un procédé en phase hétérogène présentent une structure hétérogène constituée de zones fortement substituées appelées "zones hydrophobes" (formées d'unités tri- ou disubstituées) et de zones moins substituées appelées "zones hydrophiles" (formées d'unités mono- ou non substituées) [5]. Cette structure se rapproche de celle des copolymères à blocs. Ils présentent la particularité de former un gel, sous l'effet d'un chauffage, qui disparaît en refroidissant. Le comportement de ce polymère n'est pas monotone quand la température varie : la viscosité d'une solution semi-diluée décroît quand la température augmente jusqu'à une valeur critique au-delà de laquelle la viscosité augmente. Ensuite il est observé la formation d'un gel et ce phénomène est associé à l'apparition d'une turbidité indiquant une séparation de phase [6]. Tous ces phénomènes sont réversibles.

Le diagramme de phase de l'échantillon A4C est très complexe (figure 1). Un point de trouble est observé signifiant que la solution aqueuse de méthylcellulose présente une séparation de phase de type LCST et cette courbe peut être considérée comme la courbe binodale avec un minimum correspondant au point critique [7]. Au-dessous de cette courbe une phase homogène claire est présente alors qu'au dessus la séparation de phase est incomplète due à la superposition du processus de gélification. La gélification est d'autant plus ralentie que l'écart à la courbe binodale est faible. Il a été démontré [8] qu'il y a compétition entre la séparation de phase menant à des régions riches en polymère, et la gélification qui empêche la mobilité des chaînes et donc la croissance des zones denses. Une grande partie du domaine situé au-dessus de cette courbe binodale peut être représentée comme étant celle d'un gel turbide homogène à l'échelle macroscopique. En outre le domaine homogène apparaît comme étant très complexe lui aussi. Il est constitué de deux phases gel séparées par une phase sol. En régime dilué il n'y a pas de formation de gel, mais pour de hautes températures (supérieures à 70°C) il y a directement une séparation de phase. Par diffusion de la lumière nous avons démontré [9] qu'il n'existait qu'une seule population de molécules isolées de rayon hydrodynamique de 20 nm pour des températures inférieures à la température critique au-delà de laquelle un autre type de molécules ayant un rayon hydrodynamique de 200 nm apparaît. Pour une concentration de polymère de 0,2 g/L la température critique est de 55°C environ, et à 60°C le nombre d'agrégation est estimé à 200 indiquant qu'environ 5% en masse du polymère est agrégé. Pour des solutions de faible concentration ($c < 20$ g/L) des expériences rhéologiques ont été menées sur des solutions de méthylcellulose à l'équilibre et dans le régime linéaire de manière à déterminer la transition sol-gel. Pour une concentration donnée il a été trouvé que la transition sol-gel, lorsque la température augmente, est bien décrite par un processus de percolation [7]. En effet, à basse température, le spectre mécanique est caractéristique d'une solution visqueuse : le module de stockage $G'(\omega)$ croît comme ω^2 et le module de perte $G''(\omega)$ comme ω^1 . A plus haute température, $G'(\omega)$ amorce un plateau dans le domaine des basses fréquences et coupe $G''(\omega)$ à la fréquence ω_0 pour laquelle $G'(\omega_0) = G''(\omega_0) = G_x$. Lorsque la température augmente, G' croît et ω_0 se déplace vers les hautes

fréquences. La variation $G_x(\omega_0)$ obéit à une loi en puissance avec un exposant Δ égal à 0,76 et $\omega_0=f(T)$ est décrite par une loi en puissance avec une valeur de l'exposant z égale à 2,6. Les valeurs de Δ et de z sont très voisines des valeurs obtenues avec des systèmes aussi différents que les alcoolates de silice [10] ou les pectines [11]. Dans le domaine des fortes concentrations (89 g/L) la transition sol-gel est un procédé dépendant du temps. Il n'est plus possible de déterminer la transition car les spectres mécaniques, dans le domaine de fréquence testé, sont complexes et dominés par le temps de relaxation des molécules enchevêtrées. Dans le domaine intermédiaire de concentration, quelle que soit la température en-dessous de la température de séparation de phase, le comportement viscoélastique est gouverné par un seul temps de relaxation dans le domaine de fréquence étudié. La transition sol-gel I serait due à l'apparition d'hétérogénéités qui, en générant de fortes concentrations locales de polymère, mènent le système en-dessous du seuil de percolation des agrégats formés. La transition est complètement réversible en température aussi bien qu'en concentration à une température fixée.

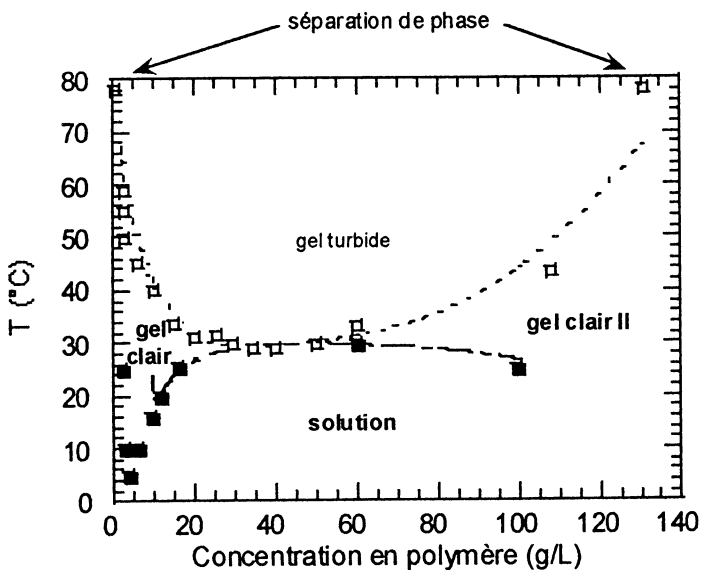


Figure 1 : diagramme de phase de méthylcellulose A4C (DS=1,7) (ref 8)

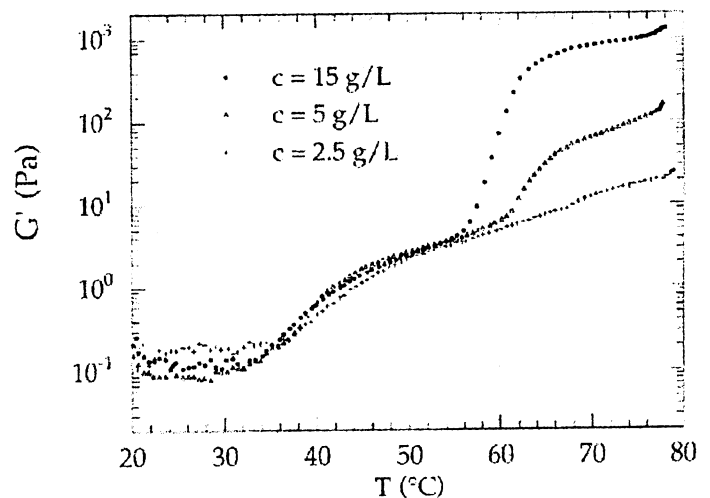


Figure 2 : Influence de la concentration en polymère et de la température sur le module élastique de solutions de A4C

Afin d'obtenir des informations complémentaires nous avons complété ces tests rhéologiques par des tests oscillatoires à une fréquence donnée (1 Hz) durant une rampe de température. Pour l'échantillon A4C (figure 2), pour une concentration supérieure à 2,5 g/L l'évolution du module de conservation G' présente deux vagues distinctes. A basse température la solution est claire, et dans la gamme 30-50°C un gel faible apparaît. Dans cette gamme de température la solution devient progressivement turbide (dépendant de la concentration en polymère). Ensuite un gel élastique, turbide apparaît accompagné d'une forte croissance de la viscosité au-delà de 60°C, dans l'échelle de temps de l'expérimentation. La seconde vague, à haute température, est plus prononcée avec les solutions de plus forte concentration en polymère. La concentration de 2,5 g/L (qui correspond à un produit $c[\eta]$ de 1,27 à 25°C) peut être considérée, pour cet échantillon, comme la concentration critique nécessaire à l'apparition de la gélification. Le phénomène de gélification est dépendant du temps [9] et réversible. Après gélification lors du chauffage de la solution, les valeurs des modules rhéologiques obtenues

après refroidissement de la solution sont exactement les mêmes à 20°C avant et après le traitement thermique.

Pour déterminer le rôle de la structure (c'est à dire la répartition des substituants le long de la chaîne macromoléculaire) nous avons préparé des échantillons de méthylcellulose en utilisant un procédé homogène [12] afin de permettre une meilleure accessibilité des groupements hydroxyle au réactif et ainsi obtenir une distribution statistique des substituants le long du squelette macromoléculaire [13] (tableau I).

Tableau I : Caractérisation des échantillons de méthylcellulose

	A4C	M12	M18
DS ^a	1.7	1.5	2.2
% Non S	10	5	9
% MonoS	29	51	12
% DiS	39	29	36
% TriS	22	15	43
M _w (g/mol)	149,000		

^a Détermination par ¹³C n.m.r. dans du DMSO-d₆ (353K); DS est le degré de substitution moyen par unité glucose

En utilisant la même procédure rhéologique nous avons étudié le comportement des échantillons de polymère préparés de manière homogène. Avec les échantillons de faible degré de substitution (DS<1,5) une seule vague est observée, avec une faible augmentation de G' avec la température. De plus la température à laquelle G' devient égal à G'' est déplacée vers les plus hautes températures d'une valeur de 10 degrés environ. Nous avons observé le même phénomène pour un échantillon de méthylcellulose préparé de manière homogène ayant un degré de substitution semblable à celui de l'A4C (M12, DS=1,5, figure 3). Mais pour l'échantillon de plus fort degré de substitution (M18, DS=2,2) un comportement analogue à celui de l'A4C est observé avec la présence deux vagues lors de l'évolution de G' avec la température. Avec ce degré de substitution (2,2) la proportion d'unités trisubstituées est relativement importante et la présence de blocs de telles unités est très envisageable. Des conclusions similaires pourraient être formulées à partir des expériences de calorimétrie pour lesquelles un déplacement de la température de gélification est observé, ce phénomène étant relié à l'hétérogénéité de la distribution des substituants [14]. Enfin quand des cycles de température sont comparés pour les échantillons de A4C (DS=1,7) et M18 (DS=2,2) un hystérèse est toujours présent mais la largeur du cycle est plus importante pour le A4C, démontrant des interactions plus fortes.

La nature hydrophobe des interactions peut être prouvée en utilisant par exemple la spectroscopie de fluorescence. Le pyrène est utilisé comme sonde car la structure vibrationnelle de son spectre d'émission de fluorescence est très sensible à la polarité de son environnement. Nous montrons, pour l'échantillon A4C, qu'à une température de 10°C et une concentration de 2 g/L (figure 4) le pyrène est dans un environnement polaire et qu'au delà de 50°C des domaines hydrophobes se forment dans lesquels le pyrène vient se placer. Le comportement rhéologique de cette solution est comparé et une augmentation de viscosité est observée simultanément. Un déplacement de 10 degrés, entre les observation de

l'apparition de ces interactions selon ces deux techniques, est observé et il peut être dû au cisaillement qui perturbe les interactions faibles [15].

Figure 3 : Modules rhéologiques de solution de méthylcellulose homogène dans l'eau en fonction de la température (fréquence 1Hz, G' (●), G'' (○))

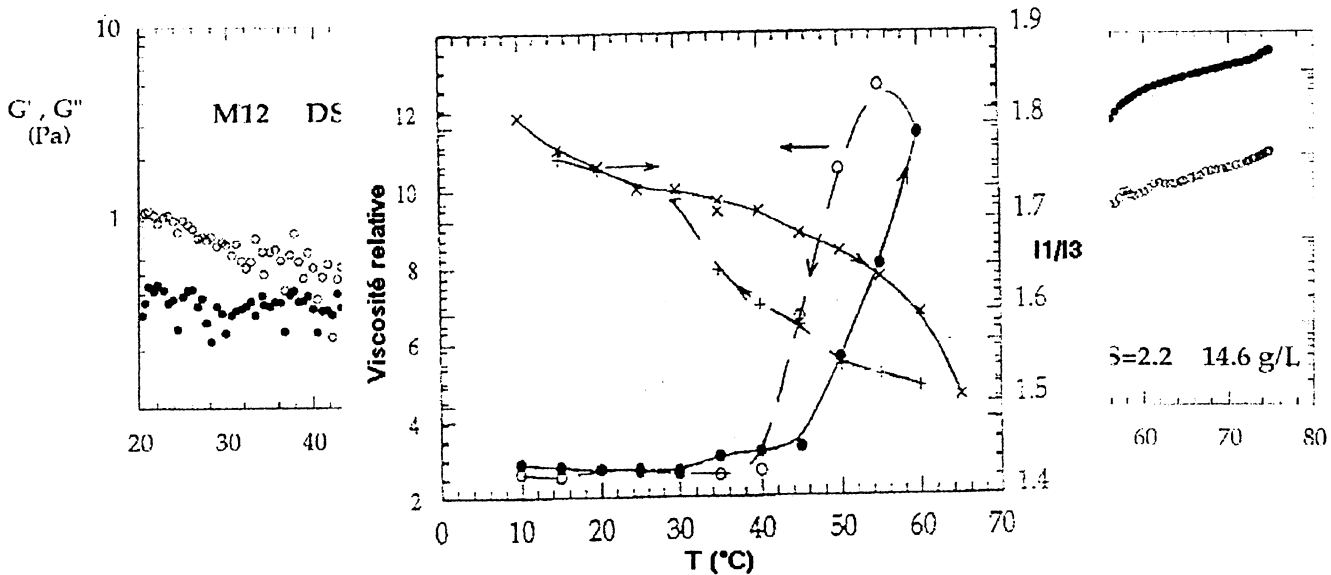


Figure 4 : Influence de la température sur la fluorescence (rapport I1/I3) et la viscosité relative de solutions de méthylcellulose A4C (solvant : eau, $c=2\text{g/L}$) durant un cycle de température (● et X au chauffage, ○ et + au refroidissement)

A partir de ces résultats nous pouvons affiner le mécanisme de gélification proposé [15]. A basse concentration et basse température la méthylcellulose est bien dissoute dans l'eau et des solutions sans agrégats sont obtenues. Quand la température et la concentration augmentent, pour tous les échantillons de méthylcellulose, des interactions hydrophobes dues à la présence des groupements méthyle apparaissent. Selon la structure (répartition des substituants et présence ou non d'unités fortement substituées) ces interactions mènent à une augmentation de viscosité et quelquefois (dans le cas de présence de zones fortement substituées) à la formation d'agrégats de percolation menant à un gel clair. A partir des expériences de calorimétrie [8, 15] il est conclu que les chaînes faiblement substituées ne participent pas aux zones de jonction, mais favorisent leur connection menant à un réseau tridimensionnel. A forte concentration de polymère des zones pseudo-cristallines se forment lentement à l'intérieur des zones de jonction. La diffraction des rayons X montre que la structure de ces "cristallites" est très proche de celle de cristaux de triméthylcellulose et confirme que les unités fortement substituées sont impliquées dans ces jonctions [8]. Ceci avait été observé précédemment par Kato [16] et il semble qu'il soit nécessaire d'avoir de 4 à 8 unités répétitives pour former ces zones de jonction. Quand la température augmente au delà de la courbe binodale les fluctuations de concentration générées par la séparation de phase mènent à la formation d'agrégats denses. La croissance de ces agrégats est limitée par la gélification concomitante qui décroît la mobilité des chaînes et donc forme des gels rigides. La température à laquelle la séparation de phase se forme (ou le gel turbide est observé) dépend de la concentration en polymère, de la structure chimique mais aussi de la masse molaire [17]. Quels que soient les échantillons, les mêmes étapes sont observées mais les observations physicochimiques dépendent des caractéristiques de la substitution. Les températures critiques des changements d'état physique sont déplacées vers les plus hautes températures quand la répartition des substituants est plus homogène, ou le degré de substitution est plus

faible, ceci étant dû à une quantité plus faible de zones fortement substituées. Dans tous les cas la présence d'unités trisubstituées est indispensable pour observer le processus de gélification.

ALKYLCHITOSANE

Le chitosane est dérivé de la chitine par une désacétylation partielle et il est ainsi soluble dans des conditions acides par protonation du groupement amino présent sur la position C-2. La charge nette du polymère est contrôlée par le pH de la solution. Mais les propriétés peuvent être modifiées par alkylation de ce polymère sur la position C-2 (avec différentes densités de substitution et différentes longueurs de la chaîne alkyle) (tableau II). Ainsi la balance entre les interactions électrostatique et hydrophobe peuvent être contrôlées par la modification chimique, le pH de la solution et la température.

Tableau II : Caractérisation du chitosane et des dérivés alkylés

	Chitosane	CC12	CC8	CC10
DA	12	12	2	2
M _v	190,000			
DS		0.04	0.12	0.12
[η] (mL/g)	765**	1990**	1250*	1200*
k _H	0.35	1.52	1.50	1.92

CCx : chitosane alkylé avec une chaîne alkyle en Cx

DA : degré d'acétylation

DS : degré de substitution

* : solvant AcOH 0.3M / AcOH 0.05M, T=20⁰C

** : sous forme chlorhydrate dans l'eau, T=5⁰C

Nous avons démontré qu'au minimum six atomes de carbone sont nécessaires le long de la chaîne alkyle afin d'observer un effet hydrophobe (gélification, augmentation de viscosité) [18]. Le rôle des interactions hydrophobes sur la viscosité des solutions apparaît même en solution diluée [19] et à plus fortes concentrations les rôles de la concentration en polymère, du degré d'alkylation et de la longueur des chaînes alkyle sont clairement démontrés [20]. Un exemple est donné sur la figure 5a pour différents dérivés alkylés. L'augmentation de la viscosité indique clairement la présence d'interactions jusqu'à un comportement de type gel comme nous l'avons montré à partir de mesures rhéologiques [18]. En outre quand des interactions hydrophobes existent un comportement non newtonien des solutions de chitosane modifié est observé en comparaison des solutions originales de chitosane (figure 5b). La nature hydrophobe de ces interactions est confirmée par les mesures de spectroscopie de fluorescence. Ces expériences mettent en évidence l'existence d'une concentration critique au-delà de laquelle la viscosité des solutions augmente rapidement et la fluorescence indique la formation de domaines hydrophobes dans lesquels le pyrène est localisé; cet effet est spécifique de la présence de chaînes alkyle. Les points de jonction pour la formation du réseau tridimensionnel sont constitués des agrégats de chaînes alkyle très semblables à la micellisation. La nature hydrophobe de ces interactions est confirmée par leur renforcement lorsque la température augmente [21] ou addition de sel extérieur [22]. Spécifiquement en

présence de sel extérieur il est bien connu que pour les polyélectrolytes la viscosité décroît à cause de l'écrantage des charges électrostatiques; c'est la situation du chitosane protoné en milieu acide. En présence de sel extérieur, à cause de la diminution des répulsions électrostatiques et de l'augmentation des interactions hydrophobes, les propriétés de type gel sont renforcées [18].

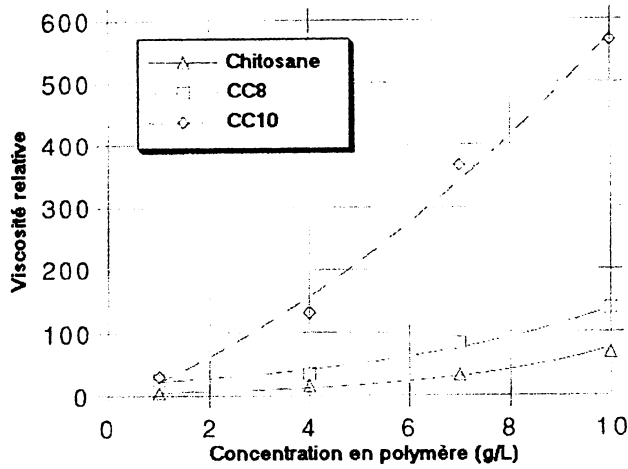
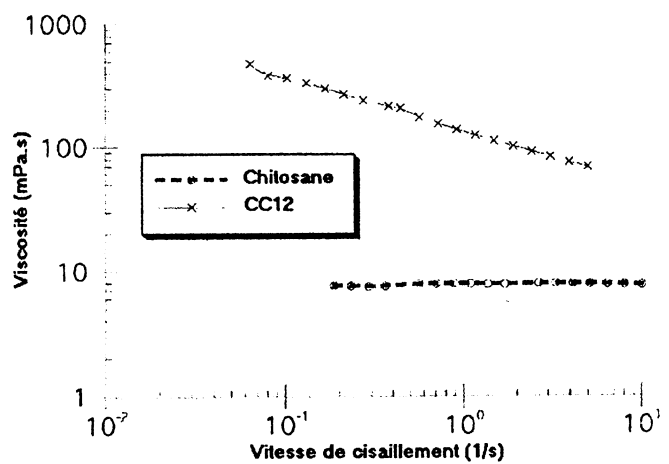


Figure 5a

Figure 5b

Figure 5 : Influence de l'alkylation sur le comportement rhéologique de solutions de dérivés



hydrophobes du chitosane :

- influence de la concentration de polymère et de la longueur de chaîne alkyle (degré de substitution DS=0,12, solvant AcOH 0,2M)
- influence de la vitesse de cisaillement (solvant AcOH 0,2M, c=1,5 g/L, T=20°C)

Le degré de charge peut être aussi diminué par des additions contrôlées de solution d'hydroxyde de sodium. Le rôle de la fraction de charge nette et de la température a été étudié (figure 6). Cela permet de moduler la balance électrostatique-hydrophobe. Quand la charge est diminuée à basse température, la viscosité augmente quand $\alpha < 0,5$ et les interactions hydrophobes prédominent; la viscosité passe par un maximum puis décroît jusqu'à la séparation de phase quand $\alpha \sim 0,1 - 0,2$ pour un polymère CC12. Quand la température augmente, les interactions hydrophobes sont renforcées, la viscosité est moins affectée et la séparation de phase provient de plus en plus rapidement; un système plus interactif est observé. A partir de ces données le diagramme de phase de ces polymères peut être déduit à

une concentration donnée (figure 7). Cette courbe dépend très largement de la concentration en polymère et de la substitution.

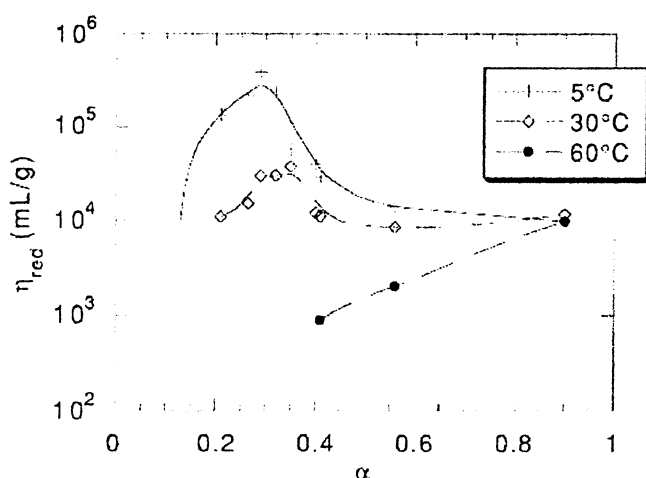


Figure 6 : Influence de la densité de charge et de la température sur la viscosité réduite de solutions de CC12 (forme chlorhydrate dans l'eau, DS=0,04, c=0,9 g/L)

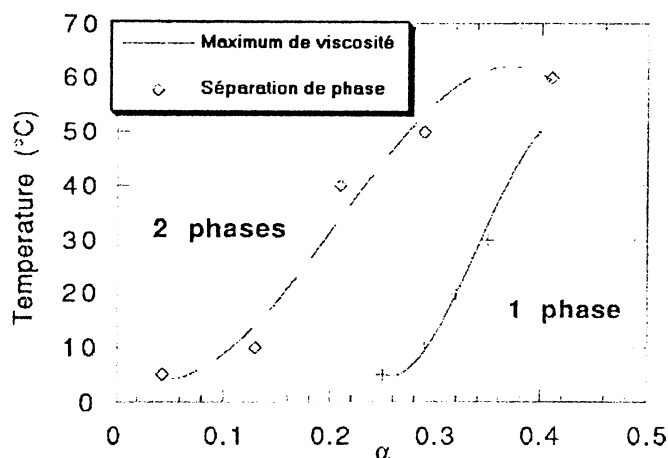


Figure 7 : Diagramme de phase de l'alkylchitosane CC12 (forme chlorhydrate, DS=0,04, c=0,9 g/L)

CONCLUSION

Il est possible de préparer des dérivés de polysaccharide amphiphiles en contrôlant leur structure chimique permettant ainsi de contrôler la balance hydrophile-hydrophobe. Ceci peut être obtenu en ajustant les propriétés hydrophiles à partir de la densité de charge (en modifiant le pH de la solution par exemple) ou le caractère hydrophobe à partir de la longueur, de la nature et du nombre de groupes hydrophobes que l'on a substitué le long de la chaîne macromoléculaire. En outre nous pouvons préparer des polymères de type copolymère à blocs (tel que la méthylcellulose) ou des polymères greffés (tels que les dérivés du chitosane). Les propriétés physicochimiques de tels polymères ont été étudiés. En particulier nous avons montré qu'une répartition non homogène des substituants hydrophobes le long de la chaîne macromoléculaire diminuait la température de gélification. La nature hydrophobe des interactions a été démontrée et les caractéristiques structurales des zones de jonction présentes dans les réseaux tridimensionnels ainsi formés ont été déterminées. En conséquence il est possible d'ajuster la structure chimique de ces dérivés afin d'atteindre les propriétés requises pour des applications spécifiques. En particulier nous avons démontré l'utilisation des ces dérivés comme agents tensioactifs [23] ou stabilisants d'émulsion [24].

BIBLIOGRAPHIE

1. Tanaka, R.; Meadows, J.; Phillips, G.O.; Williams, P.A. *Carbohydr. Polym.* **1990**, *12*, 443
2. Landoll, L.M. *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* **1982**, *20*, 443
3. San, A.C. *Polym. Mater. Sci. Eng.* **1987**, *57*, 497
4. Schulz, D.N.; Kaladas, J.J.; Marner, J.J.; Block, J.; Pace, S.J.; Schulz, W.W. *Polymer* **1987**, *28*, 2110

5. Arisz, P.; Kauw, H.H.J.J.; Boon, J.J. *Carbohydr. Res.* **1995**, *127*, 1
6. Heymann, E. *Trans. Faraday Soc.* **1935**, *31*, 846
7. Chevillard, C.; Axelos, M.A.V. *Colloid Polym. Sci.* **1997**, *275*, 537
8. Chevillard, C. Thèse (Strasbourg, France), 1997
9. Vigouret, M.; Rinaudo, M.; Desbrières, J. *J. Chim. Phys.* **1996**, *93*, 858
10. Deveux, F.; Boilot, J.P.; Malier, L.; Axelos, M.A.V. *Phys. Rev.E.* **1993**, *47*, 2689
11. Axelos, M.A.V.; Kolb, M. *Phys. Rev. Lett.* **1990**, *64*, 1457
12. Hirrien, M.; Desbrières, J.; Rinaudo, M. *Carbohydr. Polym.* **1996**, *31*, 243
13. Hirrien, M. Thèse (Grenoble, France), 1996
14. Desbrières, J.; Hirrien, M.; Rinaudo, M. *Carbohydr. Polym.* **1998**, *37*, 145
15. Hirrien, M.; Chevillard, C.; Desbrières, J.; Axelos, M.A.V.; Rinaudo, M. *Polymer* **1998**, *39*, 6251
16. Kato, K.; Yokoyama, M.; Takahashi, A. *Colloid and Polymer Sci.* **1978**, *256*, 15
17. Nishinari, K.; Hofmann, K.E.; Moritaka, H.; Kohyama, K.; Nishinari, N. *Macromol. Chem. Phys.* **1997**, *198*, 1217
18. Desbrières, J.; Martinez, C.; Rinaudo, M. *Int. J. Biol. Macromol.* **1996**, *19*, 21
19. Desbrières, J.; Rinaudo, M. *Advances in Chitin Sciences, vol II*, J. Andre Publ., Lyon (France), A. Domard, G.A.F. Roberts, K.M. Varum Edts, 1998, p. 339
20. Desbrières, J.; Rinaudo, M.; Chtcheglova, L. *Macromol. Symp.* **1997**, *113*, 135
21. Ben Aim, A. *Hydrophobic Interactions*, Plenum Press, New York, 1980
22. Barley, F.E.; Callard, R.W. *J. Appl. Polym. Sci.* **1959**, *1*, 56
23. Desbrières, J.; Rinaudo, M.; Babak, V.; Vikhoreva, G. *Polym. Bull.* **1997**, *39*, 209
24. Desbrières, J., Rinaudo, M., Klein, J.M., Mahler, B. Patent FR 9408314, EU 95420177.8

DYNAMIC-MECHANICAL PROPERTIES OF BIOCOMPATIBLE INTERPENETRATING POLYMER NETWORKS

Gloria Gallego Ferrer, Manuel Monleón Pradas, José Luis Gómez Ribelles
Centro de Biomateriales, Universidad Politécnica de Valencia
P O Box 22012, E-46071 Valencia, Spain

Résumé. On étudie dans ce travail les propriétés mécano-dynamiques des réseaux polymériques interpénétrés (RPI) formés par un composant hydrophobe et un composant hydrophilique, qui forment hydrogels quand gonflées en eau. Ces matériaux ont été employées comme matrices pour une prothèse synthétique expérimentale de tendon, qui a été essayée avec succès en animaux d'expérimentation (lapins). Les mesures mécano-dynamiques permettent caractériser la densité des chaînes élastiquement actives dans le réseau et conclure la nature biphasique du système. Pour concentrations du composant hydrophilique plus élevées que 0.4 la phase hydrophile est continue dans le RPI, et son comportement est essentiellement identique à celui du polymère pur.

Introduction

Tendons are formed by parallelly aligned collagen fibers embedded in a gel-like mucopolysaccharide/hyaluronic acid matrix. This constitution determines their unique mechanical features [1]. In order to reproduce these characteristics in a synthetic material we have made use of polymer composites consisting in a core of threaded, mechanically resistant fibers, embedded in a surrounding polymer rubber matrix [2]. Recently we have successfully implanted and tested a prototype of tendon prosthesis in experimentation animals. The polymer matrix surrounding the fiber core is made out of a hydrogel, some of whose properties are presented in this paper.

Polymer hydrogels are well known for their medical applications [3]. Their biocompatibility is determined to a great extent by their ability to imbibe large amounts of water : this serves as *medium* for the transport of gases and nutrients, and it confers the surface of implants adequate interfacial properties by matching the difference of surface energies between the polymer and the living tissue. However, polymer hydrogels have poor mechanical properties and thus it becomes imperative to reinforce these materials. Many efforts are directed towards polymers with microphase-separated morphologies, such as block copolymers, in which hydrophobic and hydrophilic domains alternate. These multidomain structures seem to favor blood compatibility, and possess improved mechanical properties since the hydrophobic domains act as additional physical crosslinks. The alternating hydrophobic/hydrophilic morphology can be obtained also with interpenetrating polymer networks, IPNs in what follows. These polymeric systems are composed by two chemically independent polymer networks which spatially interpenetrate [4]. The phase morphology in these systems depends on a variety of thermodynamical and kinetic factors affecting their formation process [5], but once produced it is stable against environmental changes because it is fixed by the crosslinks. In the present paper we study hydrogels composed by a hydrophilic poly(hydroxyethyl

acrylate) network which interpenetrates a hydrophobic poly(ethyl acrylate) network. In these IPNs the properties sought for in applications, which rest upon water uptake and transport inside the hydrogel, may be affected by the phase micromorphology (size, distribution and connectivity of the domains) of the system. We analyze the effect of changing the proportion of both IPN components upon this morphology and the mechanical properties of the resulting materials.

Experimental

The networks of poly(ethyl acrylate), PEA in the sequel, and poly(hydroxyethyl acrylate), PHEA in what follows, were block copolymerized with a 0.01 weight fraction of ethylenglycol dimethacrylate, EGDMA, serving as crosslinker. Polymerization was UV initiated (0.0013 w/w benzoin as initiator) at ambient temperature. The sol fraction was extracted in boiling ethanol, and the samples were dried *in vacuo* to constant weight. To produce the IPNs, samples of PEA network were swollen to equilibrium with mixtures of HEA monomer and ethanol to different concentrations, with added crosslinker and initiator to the same proportions as in the pure networks. The monomer/solvent mixture completely swells the first network. Polymerization of the second, PHEA, network was then carried out *in situ* as described above. Again, the resulting samples were washed and dried to constant weight. The weight fraction of PHEA in the IPN was determined by weighing, and is denoted in the sequel by x_{PHEA} . Samples with PHEA weight fraction of 0.37, 0.61, 0.72, and 0.78 were thus obtained, besides both pure homonetworks.

Differential scanning calorimetry experiments were performed on dry samples (xerogels) in a Mettler TA3000 apparatus, ramping temperature at a rate of 5 K/min from -120°C to 60°C . Previously, the sample had been cooled from room temperature to -130°C at a speed of 40 K/min inside the measuring cell.

Dynamic-mechanical measurements were performed in a Seiko DMS210 apparatus at the frequency of 1 Hz, in a temperature scan from -130°C to 100°C at a rate of 1 K/min.

Refractive index was measured with a Shibuya Abbe-type refractometer.

Densities of the dry IPNs and of the pure PEA and PHEA homonetworks was determined by weighing a sample in air and in n-octane. A Mettler AE240 balance with ME33360 accessory was used.

Equilibrium water sorption isotherms were measured at 40°C by letting the samples equilibrate in thermostated sealed desiccators over saturated water solutions of different salts, which produced known ambient relative humidities, rh [6]. Assuming ideal gas behaviour for the vapour phase, rh can be identified with the activity of water, a . This is done throughout this paper. The weight of water absorbed by the hydrogels referred to the unit of mass of the dry xerogel (dry polymer) is denoted by h , and was determined gravimetrically.

Results and discussion

The sequential IPNs produced in the way just described were macroscopically homogeneous and transparent, both in their xerogel and hydrogel states. Both facts suggested a good

interpenetration of the component networks and the homogeneity of the resulting system. Figure 1 shows the refractive index n of the samples at room temperature, which varies almost linearly with the IPN composition. The same Figure shows the densities of the samples, also at room temperature. Here a slight departure from linearity is detected, indicating the existence of some steric mixing effect (excess specific volume).

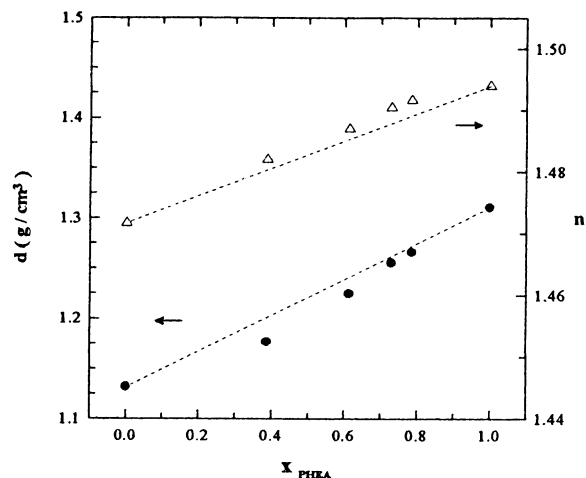


FIGURE 1. Density d (full circles) and refractive index n (open triangles) as a function of IPN composition for the different dry samples, at room temperature.

A closer analysis, however, revealed that the IPNs were phase-separated. On Figure 2 the DSC thermograms of the dry samples, xerogels and pure polymers, are displayed.

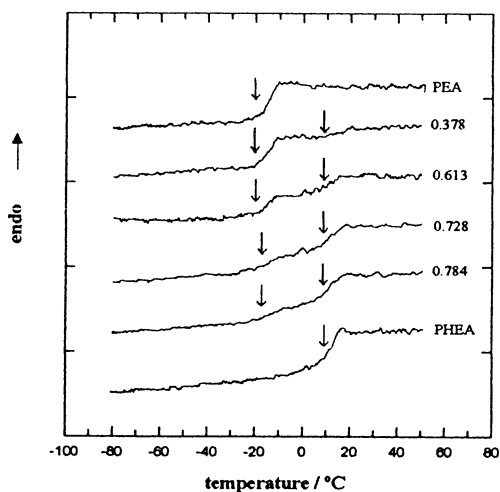


FIGURE 2. Differential scanning calorimetry thermograms of the dry homonetworks and of the IPNs. The arrows identify the glass transition of both phases, and the number on the thermogram gives the PHEA weight fraction of the IPN.

On the thermograms of the IPNs two clearly defined glass transitions are detected, in the same temperature intervals where the respective glass transition of each pure homonetwork occurs (-16°C for PEA, 11°C for PHEA). The IPNs are thus phase-separated systems, and the thermal behaviour of each phase corresponds closely to that of each one of the pure components. This is further supported by the dynamic-mechanical spectra of the samples. Figure 3 shows the isochronal (1 Hz) thermograms of pure PEA and PHEA, and Figure 4 those of the different IPNs.

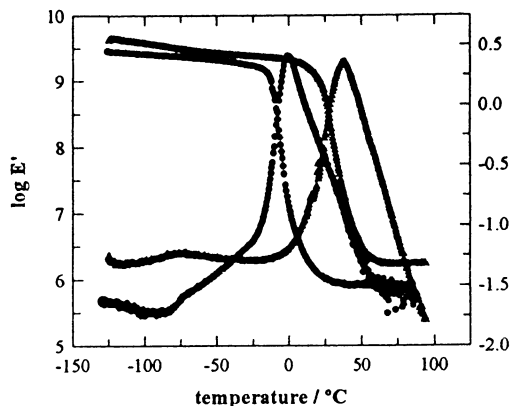


FIGURE 3. Logarithm of the storage modulus, $\log E'$, and of the tangent of the loss angle, $\log \tan \delta$, as a function of temperature, at 1 Hz. Pure PEA homonetwork (full circles), and pure PHEA homonetwork (full triangles).

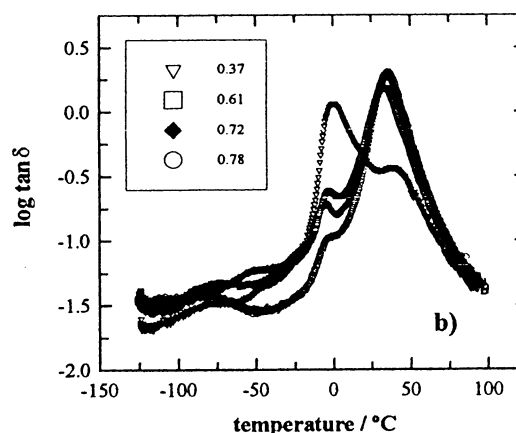
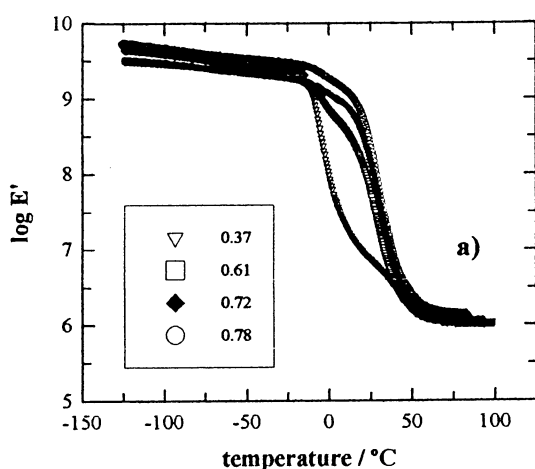


FIGURE 4. (a) Logarithm of the storage modulus, $\log E'$, and (b) logarithm of the tangent of the loss angle, $\tan \delta$, as a function of temperature, at 1 Hz, for the different dry IPNs, identified by the insert.

Only the higher temperature dispersion (the α relaxation, corresponding to the glass transition) is of our interest here, because it characterizes the immediate environment of the cooperatively relaxing units and thus, indirectly, the homogeneity of the system. The main dynamic-mechanical relaxation of PEA is located at around 5°C , that of PHEA around 45°C . The thermograms of the IPNs show each two clearly resolved relaxation peaks in the same temperature intervals, whose intensities are proportional to the content of the respective component. The biphasic nature of the IPNs can thus be safely established. One of the phases should be thought of as rich in PEA, the other as rich in PHEA. Moreover, some indications about the morphology of these phases can be further extracted from the results. Figure 5 shows the molar refraction (according to Looyenga's definition [7]) of the different samples. This magnitude is a 'chemical constant' (independent of temperature) of each substance, and is seen to remain almost constant for sample compositions greater than $x_{\text{PHEA}} = 0.4$, suggesting the continuity of the PHEA-rich phase from that composition onwards.

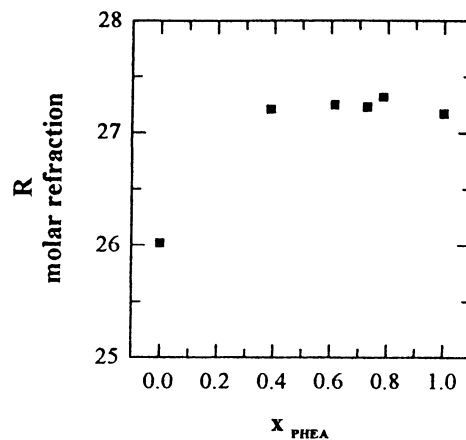


FIGURE 5. Molar refraction R as a function of sample composition.

This conclusion is further supported by the constant value of the water desorption diffusion coefficient inside the hydrogels of these compositions [8], and by the sorption results presented in Figure 6.

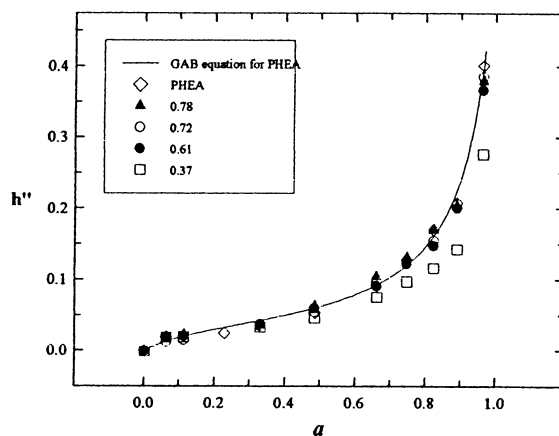


FIGURE 6. Water sorption isotherms at 40°C of pure PHEA and the different IPNs, displayed as mass of absorbed water per unit PHEA mass in the IPN, h'' , against water activity (relative humidity) a . Samples are identified in the insert. The full line corresponds to the behaviour predicted by the Guggenheim-Anderson-de Boer equation fitted to the data of pure PHEA.

If the mass of absorbed water is referred to the unit mass of PHEA in the IPN, the results show that the isotherms of the different IPNs coincide with that of pure PHEA if $x_{\text{PHEA}} > 0.4$, which can be very satisfyingly described by the equation of Guggenheim, Anderson and de Boer [9,10]. This means that the specific hydrophilicity of PHEA is not affected by its interpenetration with the hydrophobic PEA network. Phase continuity of the hydrophilic phase and its essential identity with pure PHEA is also consistent with the constant value from $x_{\text{PHEA}} = 0.4$ onwards which can be inferred from Figure 1 for the partial specific volume of PHEA in the IPNs (the relevant points all lie on a straight line). All these experimental

findings suggest that the phase separation process which must be expected during the polymerization of the second (PHEA) network because of thermodynamical reasons [5] cannot be completely impeded by the topological constraints of the first network. Indeed, a simple calculation based on the mass ratios of crosslinker and monomers permits an estimation of a mean number of monomeric units between network junctions of 98 in the case of the PEA network, and 84.5 in the case of the PHEA network. It is clear thus that these 98 monomers between crosslinks of the network polymerized in the first place confer the chains of this network enough flexibility to be pushed apart by the growing chains of the second network as the polymerization of this last proceeds. The chains of the first network are thus forced together into threads and nodules (PEA-rich domains), leaving vacancies occupied by the chains of the second network (PHEA-rich domains). Because of the mentioned numbers of monomers between junctions, both types of domains exceed the size of the smallest cooperatively rearranging region needed to give rise to a polymer's glass transition, which can be estimated to be in the order of 2 to 3 nm for many polymers, or, alternatively, of the order of 4 to 10 kinetic segments [11,12]. In this way, both types of domains exhibit a behaviour which is essentially similar to that of the corresponding pure polymers.

Conclusions

Polymerization of HEA solutions in a solvent with different concentrations of monomer inside a PEA network yields sequential IPNs with controllable hydrophilicity, determined by the final concentration of PHEA in the material. The resulting xerogel is heterogeneous, with a hydrophobic and a hydrophilic phase. This is reflected by the calorimetric and dynamic-mechanical thermograms of the IPNs, which show clearly resolved main transitions in the temperature intervals of both components. The experimental results suggest, moreover, that the hydrophilic phase is continuous throughout the IPN for weight fractions of PHEA greater than 0.4, and that it behaves in essentially the same way as does the pure PHEA polymer: it has the same degree of hydrophilicity, and its partial properties in the IPN (specific volume, molar refraction) are the same as those of the pure polymer. The inferred micromorphology of the IPNs, consistent with these experimental findings, is a finely dispersed structure of hydrophobic (essentially PEA) and hydrophilic (essentially PHEA) microdomains, these last interconnected for compositions greater than 0.4. These domains arise during the polymerization of the second network, whose growing chains distort the originally homogeneously swollen hydrophobic network by pushing apart its chains. The number of monomeric units between junctions of the network allows for this distortion and the consequent creation of domains which are each populated mostly by one of the two component polymers. The size of these domains exceeds the size of the minimal cooperatively rearranging region giving rise to the glass transition of both homopolymers, and thus the behaviour of each phase in the IPN resembles closely that of the corresponding pure polymer. It can be said that such IPNs are locally in thermodynamic equilibrium (because they are in their rubbery state), but are globally in a metastable, constrained non-equilibrium state, because of their formation process.

Acknowledgements. Financial support through projects CICyT MAT096-601 and IMTEFA/1998/63 is acknowledged.

References

- [1] M. Monleón Pradas, R. Díaz Calleja, *J. Biomechanics* 23 (1990) 773
- [2] M. Monleón Pradas, R. Díaz Calleja, *Composite Sci. & Technol.* 36 (1989) 227
- [3] N.A. Peppas (ed.), *Hydrogels in Medicine and Pharmacy* vols. 1& 3. CRC Press, Boca Raton, FL, 1986 & 1989.
- [4] L.H. Sperling, *Interpenetrating Polymer Networks and Related Materials*. Plenum Press, NY, 1981.
- [5] Yu.S. Lipatov, in *Interpenetrating Polymer Networks*, D. Klemperer, L.H. Sperling, L.A. Utracki (eds.), American Chemical Society, ACS Symp. Series vol. 239, Washington, 1994.
- [6] L. Greenspan, *J. Res. Nat. Bur. Stand. (US)* 81 A (1977) 89
- [7] D.W. van Krevelen, *Properties of Polymers*, 3rd ed. Elsevier, NY, 1990.
- [8] G. Gallego Ferrer, M. Monleón Pradas, J.L. Gómez Ribelles, P. Pissis, *J. Non-Cryst. Solids* 235-237 (1998) 692
- [9] R.B. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1946) 686
- [10] J.L. Gómez Ribelles, M. Monleón Pradas, G. Gallego Ferrer, N. Peidro Torres, V. Pérez Giménez, P. Pissis, A. Kyritsis, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* 37 (1999) 1587
- [11] E.-J. Donth, *Relaxation and Thermodynamics in Polymers. Glass Transition*. Akademie-Verlag, Berlin, 1992.
- [12] J.L. Gómez Ribelles, A. Vidaurre Garayo, J.M.G. Cowie, R. Ferguson, S. Harris, I.J. McEwen, *Polymer* 40 (1998) 183

CARACTERISATION RHEOLOGIQUE DE GELS FLUIDES AUX PETITES DEFORMATIONS ET A LA RUPTURE

C. Michon*, G. Cuvelier*, E. Aubrée** & B. Launay*

*Ensia, Dpt Science de l'Aliment, 1 av. des Olympiades, 91744 Massy Cedex - France

** SKW Biosystems, Division Systèmes de texture. Centre de Service Applications, Baupte 50500 Carentan - France.

RESUME

Les propriétés de "gels fluides" à base de mélanges alginates/pectines (stabilisant pour boissons acides contenant des particules) et xanthane/caroube, sont étudiées en cisaillement. Des mesures de propriétés viscoélastiques en régime harmonique permettent à la fois de caractériser l'existence du réseau de faible module et son évolution éventuelle au cours du temps ou du refroidissement. L'attention est attirée sur le comportement non linéaire de ce type de gel aux grandes déformations, mis en évidence aussi bien en régime harmonique que lors d'essais de déformation à vitesse constante. Ce dernier type de test permet de caractériser les propriétés du gel à la rupture. La contrainte à la rupture est directement utilisable pour estimer le pouvoir stabilisant du réseau formé. Le comportement non linéaire peut être modélisé par une relation de type équation en puissance ($\sigma = k\gamma^n$, $n > 1$).

INTRODUCTION

De très nombreux produits alimentaires présentent une structure gélifiée, c'est à dire qu'en dessous de certaines limites de contrainte et de déformation, ils ont les propriétés d'un solide, au moins aux échelles de temps correspondant à leur usage. Il s'agit de gels physiques structurés par liaisons de faible énergie. Ils mettent en œuvre des biopolymères de nature protéique ou glucidique, le plus souvent employés en tant qu'agents de texture, seuls ou en mélange. Une classification des gels obtenus est parfois proposée (voir par exemple Clark & Ross-Murphy, 1987; Edwards *et al.*, 1987, Ross-Murphy & Shatwell, 1993, Doublie & Cuvelier, 1996) suivant la nature des interactions impliquées dans la formation du réseau : établissement de zones de jonctions à partir de segments de chaînes étendues ou agrégation de particules élémentaires plus denses. Certains gels sont parfois qualifiés de "gels faibles" dès l'instant où leur module d'élasticité est bas (quelques 10^{aines} de Pa ou moins). Ils sont alors difficilement démoulables puisqu'ils s'effondrent sous leur propre poids jusqu'à une déformation supérieure à leur limite de rupture. La gélification du milieu est recherchée dans ce cas pour la texture obtenue ou pour la stabilisation du milieu vis à vis de la sédimentation ou du crémage d'éléments dispersés. Cette propriété de stabilisation est notamment mise à profit dans certaines boissons contenant de la pulpe ou d'autres particules ajoutées en suspension. Les polyosides utilisés dans ce cas en tant qu'agent de texture conduisent à l'obtention d'un réseau suffisamment résistant pour éviter la sédimentation ou le crémage des objets dispersés, mais qui n'empêche pas l'écoulement du produit. Celui-ci garde l'apparence d'un liquide de faible viscosité. De tels produits, dont le marché se développe depuis quelques années, sont parfois qualifiés de "gels fluides". La caractérisation de ces gels fluides, et donc la quantification des propriétés fonctionnelles des biopolymères employés pour les obtenir,

nécessite l'utilisation de techniques sensibles, adaptées au faible niveau de contrainte concerné. Il s'agit de mettre en œuvre les méthodes adaptées à la caractérisation des propriétés stabilisantes.

Dontula & Macosko (1998) ont présenté récemment quelques résultats portant sur la caractérisation d'une boisson de ce type par des mesures en régime harmonique et en écoulement. Nous présentons ici une étude des propriétés de "gels fluides" obtenus à partir d'un mélange alginates/pectines (Flanogen QST 200) particulièrement adapté à la stabilisation des boissons acides (Barey P., brevets SKW 1997, 1999) et d'un autre type de gel faible obtenu avec un mélange xanthane/caroube en milieu neutre. Il s'agit à la fois d'illustrer l'intérêt des mesures en régime harmonique pour caractériser le réseau dans le domaine des petites déformations, mais également de rechercher la caractérisation des propriétés dans le domaine des grandes déformations jusqu'à la rupture.

MATERIELS ET METHODES

Les essais ont été réalisés à l'aide d'un viscolélasticimètre à déformation imposée Rheometric Scientific RFS II, équipé de cylindres coaxiaux ($R1/R2 = 0,95$). Les mesures sont effectuées à $20,5^{\circ}\text{C}$. Les produits sont préparés à l'avance dans des conditions correspondant à l'usage. Ils sont prélevés et mis en place dans l'entrefer du corps de mesure à l'aide d'une pipette (7 ml), de façon à rendre l'opération la plus répétable possible. L'appareil a été utilisé pour des mesures en régime harmonique, mais aussi pour des essais de cisaillement à vitesse de cisaillement constante.

RESULTATS

Le produit mis en place peut être caractérisé par une mesure des propriétés viscoélastiques en régime harmonique. La figure 1 montre l'évolution, G' , G'' (t), au repos à $20,5^{\circ}\text{C}$ d'un mélange alginates/pectines à 0,07%p/p et pH 3.1. Dès les premières mesures, réalisées à 1 rad/s, avec une amplitude de déformation de 20%, G' est supérieur à G'' , ce qui traduit l'existence d'un réseau structuré. Cette structure se renforce au cours du temps, G' augmente, G'' diminue, l'évolution se poursuit toujours après 6h. Le produit, cisailé au cours de sa mise en place dans le corps de mesure, montre sa capacité à récupérer très rapidement puis plus lentement au repos.

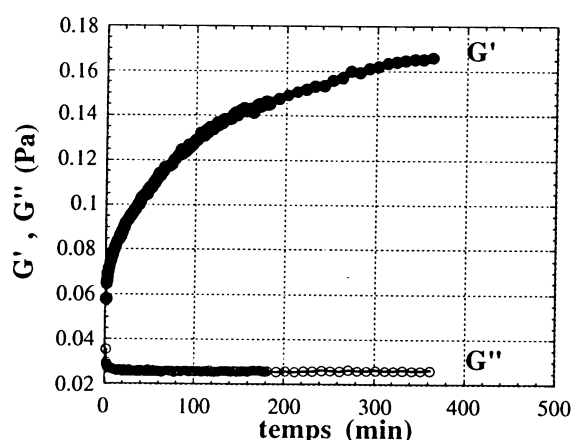


Figure 1 : Flanogen 0,07%p/p, pH3,1. Evolution de G' , G'' au repos. Pulsation 1rad/s. Amplitude de déformation : 20%.

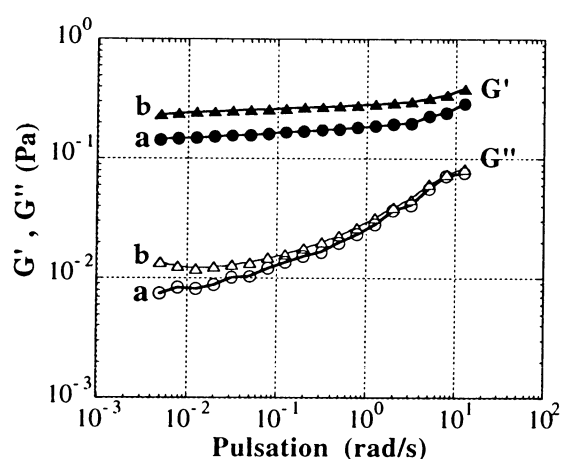


Figure 2 : Flanogen 0,07%p/p, pH3,1. Spectre en fréquence. Influence de l'amplitude de déformation [a) 20% et b) 60%].

Un spectre en fréquence, réalisé après environ 7 h 30 de repos (Fig. 2, spectre a) met bien en évidence l'existence du réseau. L'évolution du système est alors lente au regard du temps nécessaire à la réalisation du spectre. G' est très supérieur à G'' et très peu dépendant de la fréquence. L'allure du spectre correspond à ce qui est classiquement observé pour un gel physique. La structure du milieu est très ténue puisque le niveau de module atteint est de l'ordre de 0,15 Pa. Le produit reste très facilement "versable", une mesure des propriétés d'écoulement conduit à une viscosité apparente d'environ 8 mPa.s à 100 s⁻¹.

Pour obtenir un signal mesurable, le suivi de l'évolution du milieu au repos (Fig. 1), comme le spectre (Fig. 2), ont été réalisés à une amplitude de déformation de 20%. La question se pose alors de l'existence et de l'étendue du domaine linéaire des propriétés viscoélastiques. Or un balayage en déformation, réalisé à la fréquence de 1 rad/s (Fig. 3), montre une nette tendance à une augmentation du module dès les premières mesures. Le système présente donc des propriétés non linéaires, sa résistance à la déformation est d'autant plus forte que celle-ci est élevée, comportement que l'on peut qualifier de rhéodurcissant, même si ce terme est employé habituellement pour des systèmes beaucoup plus rigides.

Le domaine linéaire, où la valeur du module est indépendante de l'amplitude de la contrainte ou de la déformation, est ainsi limité aux faibles déformation (< 10%). Au delà, l'allure générale du spectre reste la même, mais le niveau du module dépend de l'amplitude de la déformation comme le montre le spectre effectué à 60% (Fig. 2, spectre b), logiquement décalé vers le haut, le vieillissement du produit entre les deux spectres ne peut à lui seul expliquer la différence observée.

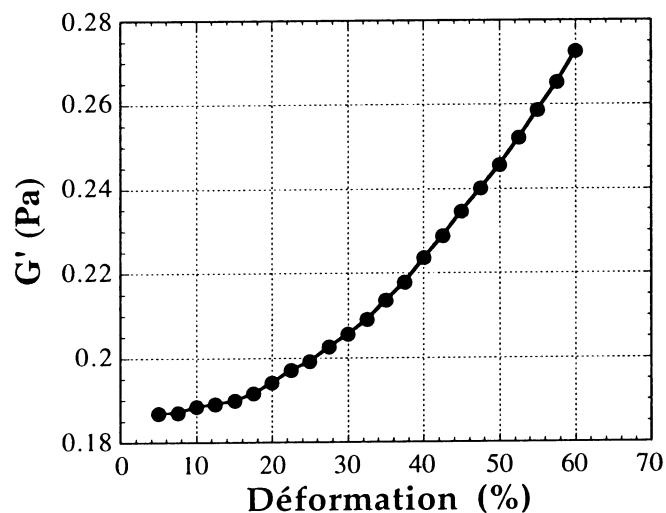


Figure 3 : Flanogen 0,07%p/p, pH3,1. Evolution de G' en fonction de l'amplitude de déformation . Pulsation : 1 rad/s.

Le même échantillon a également été soumis à un cisaillement à vitesse constante faible (0,05 s⁻¹). L'évolution de la contrainte est suivie en fonction du temps, c'est à dire en fonction de la déformation (Fig. 4). Le réseau gélifié est progressivement mis sous tension jusqu'à sa rupture. Dans l'exemple choisi, celle-ci se produit pour une contrainte de 0,77 Pa et une déformation d'environ 110% ($\gamma = 1,07$). Les mesures en régime harmonique on montré que le comportement élastique du produit domine ($G' \gg G''$, déphasage < 10 degrés). La rupture du gel est nette.

Le comportement non linéaire se manifeste lors de la mise sous tension du réseau avant rupture et il est possible de comparer l'évolution de la contrainte lors de cet essai à vitesse de cisaillement constante à l'évolution de l'amplitude de la contrainte en régime harmonique lors

du balayage en déformation. Une bonne superposition des résultats est observée (Fig. 4). Le repos du produit dans le corps de mesure lors de l'essai de rupture est d'environ 10h30.

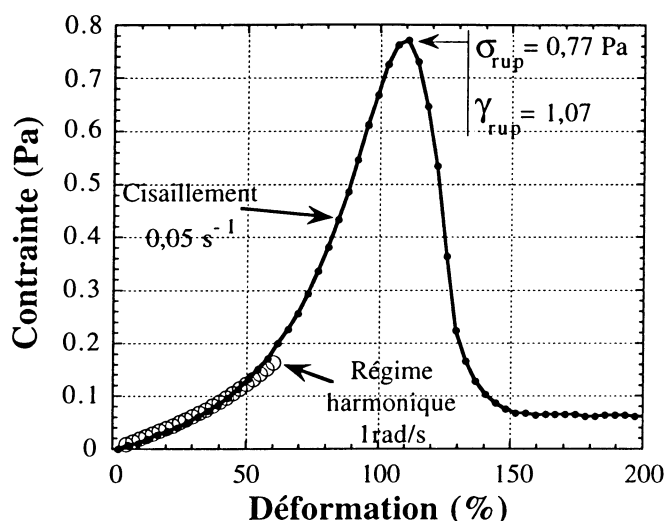


Figure 4 : Flanogen 0,07%p/p, pH3,1. Evolution de la contrainte en fonction de la déformation : (—●—) contrainte mesurée au cours d'un cisaillement à $0,05\text{ s}^{-1}$, (○) contrainte calculée à partir des mesures en régime harmonique à 1 rad/s (même données que Fig. 3).

La contrainte et la déformation limites correspondant à la rupture peuvent également être évaluée à partir d'un essai en régime harmonique à une fréquence donnée en augmentant progressivement l'amplitude de la déformation (test de linéarité jusqu'à la rupture). Des résultats du même ordre sont obtenus pour un produit ayant subi la même histoire préalable. Un exemple est donné figure 5. La mesure a été réalisée sur le produit pour un temps de repos moins long après mise en place (2h30), ce qui explique le niveau de module et la contrainte à la rupture (0,2 Pa) plus faibles. Les propriétés à la rupture dépendent de l'histoire du produit et notamment du cisaillement subi et du temps repos.

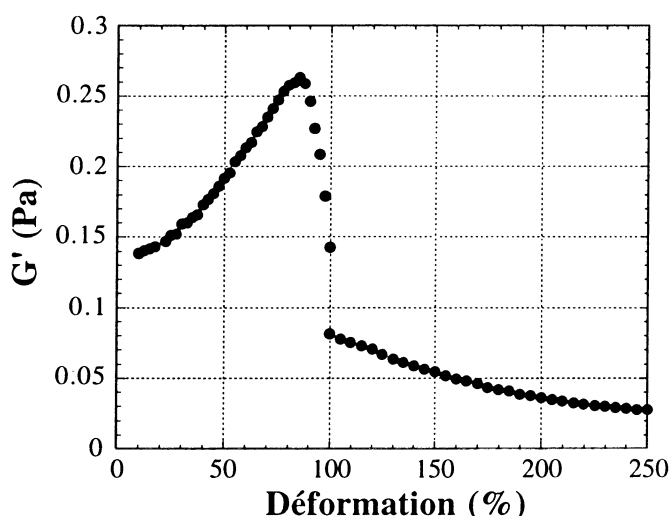


Figure 5 : Flanogen 0,07%p/p, pH3,1. Evolution de G' à 1 rad/s en fonction de l'amplitude de déformation jusqu'à rupture; après 2h30 de repos dans le corps de mesure.

Deux autres exemples d'essai à la rupture sont donnés ci-dessous pour le même mélange de biopolymères alginates/pectines (Flanogen QST 200), mais préparé à un pH de 2,9. Le produit

a également subi une histoire mécanique différente liée à son utilisation (agitation dans le flacon), il a ensuite été laissé au repos 24h après mise en place. Deux concentrations sont comparées, 0,07 et 0,05% p/p, la seconde choisie volontairement comme faible par rapport à la fonctionnalité recherchée. Les spectres en fréquence obtenus sont présentés figure 6. Ils mettent bien en évidence la différence de niveau de structure obtenue pour les deux concentrations. Le réseau pour 0,05% p/p est à la limite des possibilités de la mesure. Pour 0,07% p/p, l'allure du spectre est comparable à celle qui était observée à pH 3,1, mais le niveau de G' est plus faible.

Un essai de cisaillement à vitesse constante, réalisé consécutivement au spectre, pour cette même concentration permet de déterminer les propriétés à la rupture. Le gel est très déformable puisque la limite de rupture est de près de 4 (380%). La contrainte de cisaillement correspondante de 1,3 Pa est plus élevée que dans le cas du gel à pH 3,1 bien que le niveau de module soit plus faible aux petites déformations ($G' = 4 \cdot 10^{-2}$ Pa contre de l'ordre de 0,2 Pa à pH 3,1). L'essai à la rupture permet également de caractériser le produit à la concentration de 0,05% p/p (Fig. 7) malgré le niveau de contrainte très faible. La déformation est également très élevée (2,15) pour une contrainte d'environ $4 \cdot 10^{-2}$ Pa.

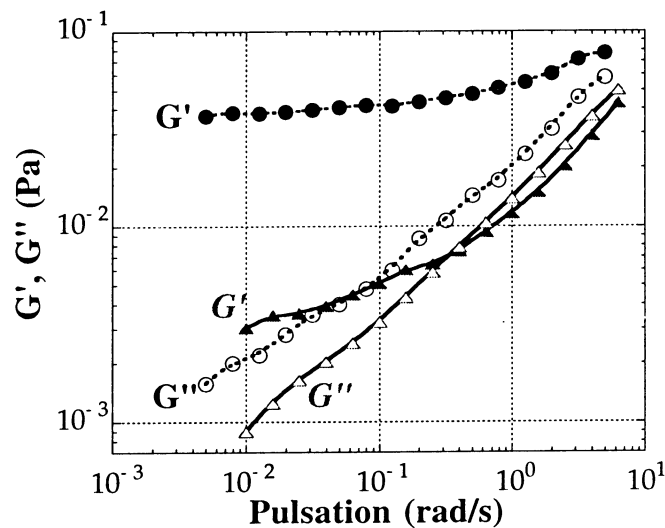


Figure 6 : Flanogen pH2,9. Influence de la concentration totale en polymère [(●, ○) 0,07% p/p, (▲, △) 0,05% p/p] sur les spectres en fréquence. Amplitude de déformation : 50%.

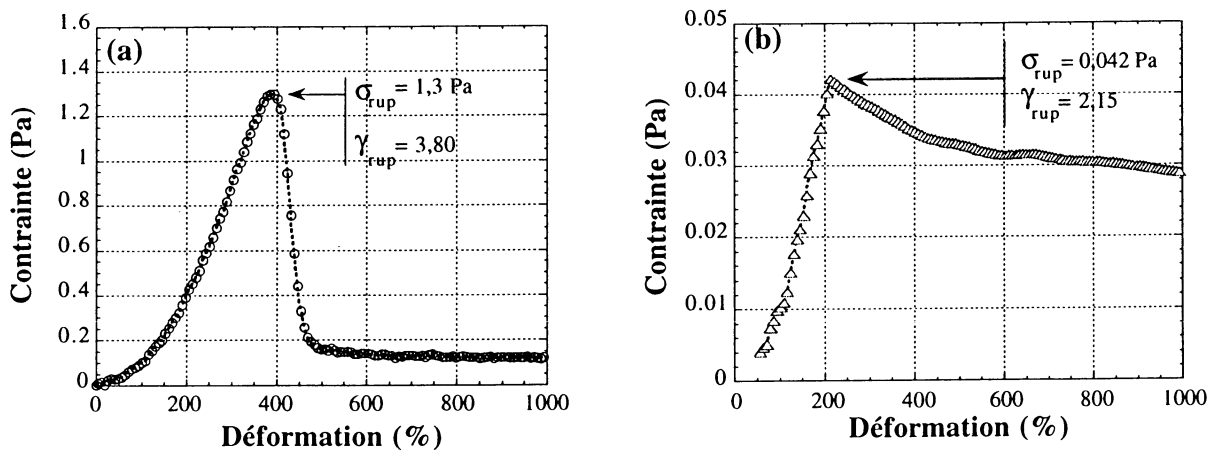


Figure 7 : Flanogen pH2,9. Evolution de la contrainte en fonction de la déformation au cours d'un cisaillement à $0,05s^{-1}$. Concentration : a) 0,07% p/p, b) 0,05% p/p.

Pour tous les produits étudiés, un comportement non linéaire de même nature est observé aussi bien lors des mesures en régime harmonique qu'en cisaillement à vitesse constante.

L'utilisation du modèle simple de type relation en puissance entre contrainte (σ) et déformation (γ) : $\sigma = A.\gamma^n$, permet de décrire les résultats expérimentaux comme le montre la figure 8 pour les deux produits décrits précédemment (Fig. 7). Il est à noter que le comportement est linéarisé par l'équation en puissance depuis les faibles déformation jusqu'à la rupture. L'exposant $n > 1$ permet de quantifier le caractère rhéodurcissant du réseau. Les valeurs de n observées pour l'ensemble des gels étudiés varient entre 1,5 et 2.

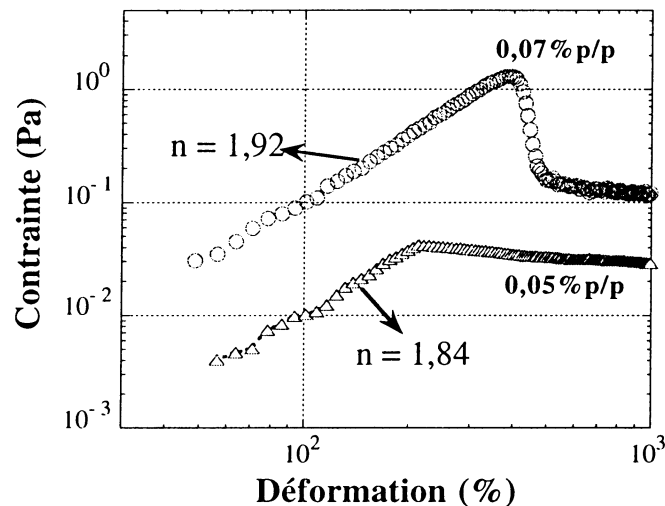


Figure 8 : Mise en évidence d'une relation en puissance entre contrainte et déformation jusqu'à la rupture. Même données que figure 7.

D'autres types de gels faibles peuvent être obtenus à partir de biopolymères et caractérisés de la même façon. Les résultats présentés ci-après illustrent les propriétés d'un mélange xanthane/caroube dans les proportions 60/40 à la concentration totale de 0,02% p/p. Les gels obtenus avec les mélanges xanthane/caroube sont thermoréversibles et peuvent conduire à la formation d'un réseau gélifié jusqu'à des concentrations très faibles (0,005% p/p) (Cuvelier & Launay, 1986, 1988).

La figure 9 présente les spectres en fréquence observés après mise en place du produit à chaud et après refroidissement dans le corps de mesure. L'établissement d'un réseau gélifié, de niveau comparable à ceux des gels fluides étudiés par ailleurs, est bien mise en évidence. La gélification ou la fusion du gel avec la température peuvent être suivies sans difficulté particulière avec cette technique.

Un essai de déformation de cisaillement à vitesse constante pratiqué sur le gel à froid permet de déterminer ses propriétés à la rupture (Fig. 10). La déformation est de l'ordre de 2 (200%) pour une contrainte à la rupture de 0,3 Pa. Le milieu montre également un comportement non linéaire et la relation contrainte-déformation suit une équation en puissance dont l'exposant est ici de l'ordre de 1,6.

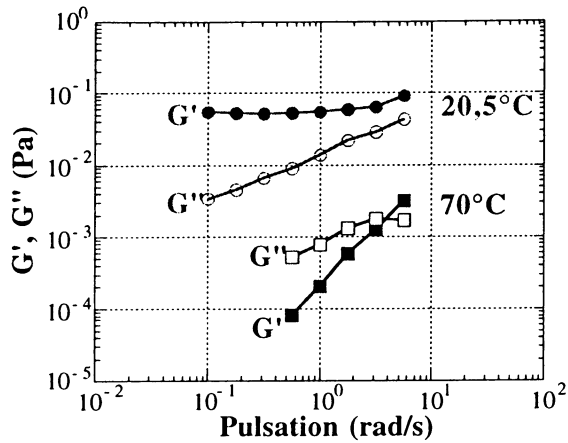


Figure 9 : Spectre en fréquence à 70°C et 20,5°C pour un mélange xanthane/caroube de concentration totale 0,02 % p/p en proportion X/C=60/40.

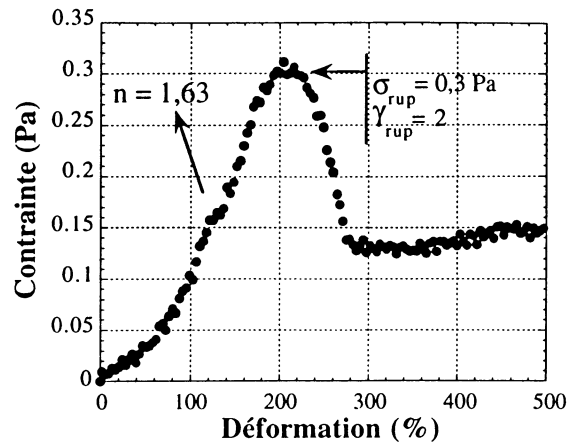


Figure 10 : Evolution de la contrainte en fonction de la déformation au cours d'un cisaillement à 0,05s⁻¹ à 20.5°C pour un mélange xanthane/caroube de concentration totale 0,02% p/p en proportion X/C=60/40.

CONCLUSION

Les gels fluides peuvent être caractérisés par des mesures en cisaillement, leur mise en place étant extrêmement facile. Les propriétés du produit dépendent toutefois de son histoire mécanique et il est très important de contrôler celle-ci, y compris lors des manipulations liées à la mise en place. La mesure des propriétés rhéologiques en régime harmonique permet de déterminer le niveau de structure atteint en fonction de l'histoire subie et de suivre le cas échéant la reprise de structure au cours du temps. La limite des possibilités de caractérisation est simplement liée à la sensibilité du système de mesure.

L'existence d'un comportement non-linéaire dès les faibles déformation doit être prise en compte.

L'essai de cisaillement à vitesse constante faible permet de caractériser les propriétés du produit à la rupture. Le niveau de contrainte à la rupture (σ_{rup}) permet d'estimer la capacité du réseau à résister aux contraintes qu'exercerait une particule en suspension dans le milieu. Si l'on considère une particule sphérique de rayon R , dont la différence de densité avec le milieu est $\Delta\rho$, la particule exerce une force égale à $4\pi R^3 \Delta\rho \cdot g/3$, la contrainte limite exerce sur la particule une force égale à $\sigma_{rup} \cdot \pi R^2$. La taille maximale que peut avoir une particule restant en suspension est donc : $R = 3 \cdot \sigma_{rup} / 4 \cdot \Delta\rho \cdot g$ (voir Dontula & Macosko, 1999).

Cette approche de la mesure du seuil de rupture est parfois qualifiée de "statique" par rapport au seuil d'écoulement "dynamique" déterminé par extrapolation de mesures en écoulement. Elle paraît bien adaptée à la caractérisation du pouvoir de suspension du milieu, comme le décrit un article récent de Rao & Steffe (1997) pour les produits alimentaires. La méthode "vane" (Dzuy & Boger, 1986) est basée sur la réalisation de ce type de test à vitesse constante faible avec un mobile en forme d'ailette. Dans la mesure où le produit adhère aux parois (ce qui est le cas des gels fluides du type de ceux étudiés ici) et où il ne contient pas de particules (de grande taille par rapport à la taille de l'entrefer), une géométrie à cylindres coaxiaux est tout aussi adaptée et permet un meilleur contrôle du cisaillement du produit. Un double entrefer permettrait d'augmenter la sensibilité de la mesure.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barey P., Composition pour la stabilisation de boissons acides. Brevet INPI n° 95 03066; 1997.
- Barey P., Composition for the stabilization of acid drinks. US Patent n° 5,866,190; 1999.
- Clark A.H. & Ross-Murphy S.B., Structural and mechanical properties of biopolymers gels. *Adv. Polymer Sci.*, 1987, 83, 57-192.
- Cuvelier G. & Launay B., Viscoelastic properties of xanthan/carob mixed gels in *Gums and Stabilisers for the Food Industry 3* (G.O. Phillips, D.J. Wedlock & P.A. Williams, eds), Elsevier Applied Sci. Pub., 1986, 147-158.
- Cuvelier G. & Launay B., Xanthan/carob interactions at very low concentration. *Carbohydrate Polymers*, 1988, 271-284.
- Dontula P. & Macosko C.W., Yield stress in Orbitz™, *Rheology Bulletin*, 1999, 68(1), 5-7.
- Doublier J.L. & Cuvelier G., Gums and hydrocolloids : functional aspects, in *Carbohydrates in Food* (A.C. Eliasson, ed), Marcel Dekker, Inc., New York, 1996, 283-317.
- Dzuy N.Q. & Boger D.V., Direct yield stress measurement with the vane method, *J. of Rheology*, 1985, 29(3), 335-347.
- Edwards S.F., Lillford P.J. & Blanshard J.M.V., Gels and networks in practice and theory, in *Food Structure and Behaviour* (J.M.V. Blanshard and P.J. Lillford, eds), Food Science and Technology, A serie of monographs, Academic Press, London, 1987, 1-12.
- Rao M.A. & Steffe J.F., Measuring yield stress of fluid foods, *Food Technology*, 1997, 51(2), 50-52.
- Ross-Murphy S.B. & Shatwell, Polysaccharide strong and weak gels, *Biorheology*, 1998, 30 (3/4), 217-227.

SCALING OF RHEOLOGICAL PROPERTIES OF HYDROGELS FROM POLYMER BLENDS : PVA-K15M.

A. El Ghzaoui, P. Ramel, E. Fabregue and G. Cassanas

Laboratoire de Physique Industrielle et Traitement de l'Information, Faculté de Pharmacie, 15 Avenue Charles Flahault, 34060 Montpellier, France

Abstract

Polymer blends have been studied to improve the physical properties of the individual components for industrial applications. In addition to opening up the possibilities for the applied field, the miscibility of each component polymer is also of interest and importance. One of the driving forces for the thermodynamic miscibility is, for example, interchain hydrogen bonds or van der Waals forces. The nature of interchain hydrogen bonds in cellulosic blends has been extensively studied [1-4]. Because of the environmental issues for nonbiodegradable polymer wastes have arisen, conventional biodegradable polymers such as cellulose and its derivatives, polyvinyl alcohol have again started to attract attention and interest. The nature of interchain hydrogen bonds in cellulosic blends has been extensively studied [1-3]. In chemical gelation, a three-dimensional network forms through permanent covalent bonds, therefore the obtained gel is not thermoreversible [4]. A physically gelling material (for example, when the junctions between polymers are hydrogen bonds) also forms a three-dimensional network. However, the junctions in physical gels are not composed of permanent chemical bonds, and they are of a thermoreversible nature.

In the present investigation, we have chosen a thermoreversible gel composed with PVA (polyvinyl alcohol) and HPMC (hydroxypropylmethylcellulose) as the two component polymers for the solution-cast film blend to investigate the role of interchain hydrogen bonds on the rheological properties of the polymer blend. The entire rheological image of this physically gelling system as a function of the temperature, the molecular weights, the concentration and the ionic strength has been studied. Increasing the concentration of HPMC in the polymer blend induces a decrease of the gel point frequency determined using the crossover of the shear storage modulus G' and loss modulus G'' . The same trend is observed when the ionic strength is increased. Useful information was obtained from the critical frequency of crossover ω_c (where G' and G'' are equal). A critical time, τ_c , is associated with ω_c ($\tau_c = 1/\omega_c$) which corresponds to a lifetime of the junction of the network at fixed stress [5]. This lifetime seems to be longer as the concentration of HPMC is raised while the concentration of PVA is remained constant. As increasing the ionic strength, the lifetime of the junction increases. Therefore the properties of the gel network are modified and strengthened in the presence of water structure makers like NaCl which was used to range the ionic strength.

Introduction

Les hydrogels constitués de polymères biocompatibles d'origine naturelle ou synthétique trouvent leur application dans de nombreux domaines industriels, et en particulier dans l'industrie pharmaceutique. Ces hydrogels peuvent être à la base de matrices pour la préparation de formes à libération contrôlée. Du fait de leur aptitude à gonfler en présence

d'eau ou de liquides biologiques, ils présentent des textures semblables à celle des tissus humains. La diffusion du principe actif est liée au réseau tridimensionnel de l'hydrogel et donc aux interactions entre les chaînes macromoléculaires. La modification de la nature de ces interactions peut favoriser ou altérer la diffusion d'un principe actif. Les applications industrielles de ces gels dépendent de leurs propriétés viscoélastiques. Si la forme gel apparaît comme le matériau du futur, le développement de ses applications dans les sciences médicales est limité par le faible nombre de polymères biocompatibles. L'étude de gels mixtes, qui peuvent présenter des caractéristiques uniques, peut déboucher sur de nouvelles applications.

Les hydrogels physiques mixtes sont, dans la majorité des cas, formés par l'association physique de groupes fonctionnels, entre les chaînes macromoléculaires. Les interactions peuvent se réaliser entre des chaînes macromoléculaires de même type ou de nature différente. Elles mettent en jeu des liaisons de faible énergie telles que les interactions de Van der Waals, les interactions hydrophobes, les liaisons hydrogènes... Ce type de liaisons implique que les connexions ou les jonctions inter-chaînes ne soient pas ponctuelles, mais étendues dans l'espace et de structure plus ou moins ordonnée. Ces liaisons physiques entre des macromolécules de nature différente permettent d'améliorer la miscibilité entre les polymères en solution. Cependant, les mélanges de polymères peuvent montrer un comportement complexe : transition de phase, séparation de microphases, cristallisation liquide... L'énergie des jonctions étant faible, les forces assurant la cohésion du réseau sont faibles. Par conséquent, le réseau peut être détruit soit par une agitation mécanique, soit par la température. De ce fait, la plupart des gels physiques sont thermoreversibles.

Dans le travail, ici présenté, le comportement rhéologique d'un gel mixte constitué de PVA (polyvinylalcool) et de HPMC (hydroxypropylméthylcellulose), K15M, a été étudié en fonction des concentrations respectives des deux constituants et de la force ionique.

Matériel et méthodes

L'hydrogel mixte constitué de PVA (Aldrich) et de K15M (Colorcon) a été obtenu en mélangeant à chaud les deux polymères et en faisant subir au mélange un cycle de congélation-décongélation. Les mesures rhéologiques ont été réalisées avec un rhéomètre à contrainte imposée Carri-Med CSL 100 travaillant en régime dynamique. Les gels ont été étudiés à 20 °C en utilisant un système de mesure plan-cone de 4 cm de diamètre, d'angle 2 °, avec un entrefer de 56 µm. Les gels ont été étudiés dans un intervalle de fréquence allant de 0,01 à 10 Hz.

Résultats et Discussion

Les tableaux 1 et 2 présentent l'évolution des modules de conservation G' , et de perte G'' , ainsi que la fréquence à laquelle apparaît le point gel, dans les gels mixtes, en fonction des concentrations relatives des deux constituants. Ces évolutions mettent clairement en évidence les interactions entre les deux polymères.

On peut observer une diminution brutale des deux modules lorsqu'on passe du gel de PVA au gel mixte PVA-K15M. On assiste ensuite à une augmentation progressive des deux modules, lorsque la concentration en K15M augmente de 1% à 2,5%. De la même manière, la fréquence du point gel augmente brutalement en passant du gel de PVA au gel mixte PVA-K15M. Cette fréquence diminue ensuite, avec la concentration en K15M.

L'étude des gels de PVA montre que le déphasage $\delta \rightarrow 0$ quand la fréquence $f \rightarrow \infty$ soulignant ainsi l'importance de la composante élastique dans ces gels. Le caractère élastique des hydrogels de PVA est attribué à la structure ordonnée de leur réseau. L'élasticité se manifeste comme la tendance que possède un matériau soumis à une déformation à réagir

et à s'opposer à cette déformation. Les matériaux réels présentent simultanément deux types de déformation élastique :

⇒ sans modification de l'entropie du matériau (caractéristique des matériaux cristallins, la contrainte ne modifie pas l'ordre cristallin), seule l'énergie interne du système augmente par variation des longueurs cristallines et des angles entre ces liaisons. C'est une élasticité instantanée.

	PVA7%	PVA 7% K15M 1%	PVA 7% K15M 1,5%	PVA7% K15M 2%	PVA 7% K15M 2,5%
Fréquence du point gel (Hz)	0,6	7	5	3	1,4
G'(1 Hz)	104	2	6	15	35
G''(1 Hz)	56	5	10	19	38
G' (5 Hz)	140	13	23	49	89
G''(5 Hz)	57	15	23	45	75

Tableau 1.

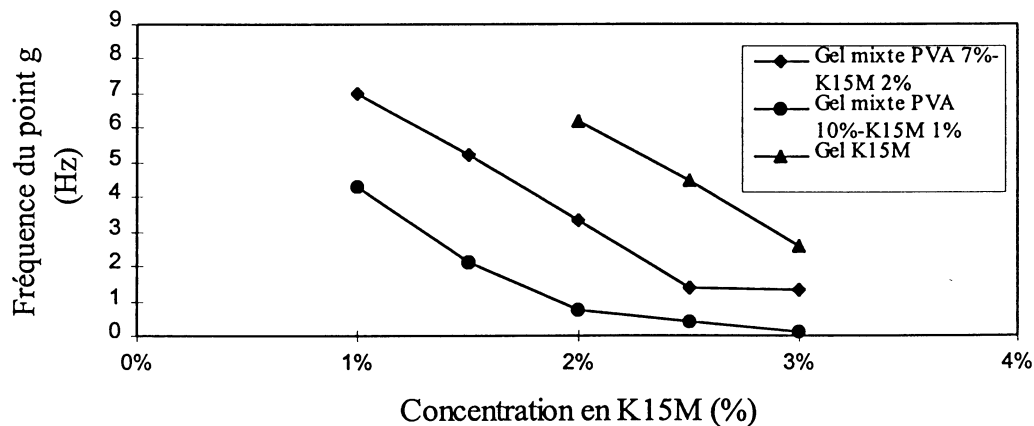
	PVA10%	PVA 10% K15M 1%	PVA 10% K15M 1,5%	PVA10% K15M 2%	PVA 10% K15M 2,5%
Fréquence du point Gel (Hz)	-	4	2	1	0,4
G'(1 Hz)	309	14	24	47	130
G''(1 Hz)	130	18	29	43	95
G' (5 Hz)	408	34	66	108	143
G''(5 Hz)	119	31	55	76	92

Tableau 2.

⇒ avec modification de l'entropie (caractéristique des polymères amorphes constitués par des chaînes macromoléculaires indépendantes). L'énergie interne de telles chaînes est approximativement constante, quelle que soit leur configuration. La contrainte ne modifie pas l'énergie interne mais provoque une diminution de l'entropie, qui correspond à un effet d'orientation des chaînes. La résultante s'oppose à la diminution d'entropie en tentant de rétablir l'entropie maximum primitive par un effet thermique de désorientation. En fait l'état initial n'est jamais totalement récupéré, le système retrouve un équilibre à un état intermédiaire après un laps de temps. L'élasticité est dite retardée ou différée.

Dans la plupart des cas un comportement prédomine sur l'autre. Les gels de PVA sont partiellement cristallins, l'ordre moléculaire y est élevé. On y observe clairement la prédominance d'une élasticité instantanée. L'addition de la K15M au PVA perturbe et modifie le réseau organisé du PVA : la K15M provoquerait un certain désordre dans la structure du gel de PVA. Cette modification est certainement le résultat d'une interaction entre les chaînes macromoléculaires de PVA et de K15M. On peut penser que ces interactions se réalisent par l'intermédiaire de liaisons secondaires caractéristiques des gels physiques, et notamment des liaisons hydrogènes.

Figure 1. Variation de la fréquence du point gel en fonction de la concentration en K15M.



Le point gel est déterminé par l'intersection de G' et G'' . Il traduit un changement de comportement du gel : à partir du point gel, le gel exalte des propriétés élastiques supérieures aux propriétés visqueuses. La figure 1 présente la variation de la fréquence du point gel des gels de K15M et des gels mixtes en fonction de la concentration en K15M. L'augmentation de la concentration en K15M est à l'origine d'une diminution de la fréquence du point gel. Dans le cas des gels mixtes, un plateau semble être atteint au voisinage d'une concentration de 2,5% en K15M. A la fréquence du point gel, on peut associer un temps de vie des jonctions physiques entre les chaînes macromoléculaires. Ce temps de vie est défini comme étant l'inverse de la fréquence du point gel. Dans ce cas, une diminution de la fréquence du point gel implique nécessairement une augmentation du temps de vie des jonctions. La variation de la fréquence du point gel, du gel mixte, est intermédiaire entre les gels des deux polymères pris séparément. Cette variation va dans le sens de la formation d'un réseau mixte PVA-K15M ayant des propriétés viscoélastiques intermédiaires entre le PVA et la K15M. Ce réseau

ne peut exister que grâce aux interactions physiques secondaires, de type liaisons hydrogènes, entre les chaînes macromoléculaires des deux polymères.

Figure 2. Variation des modules G' et G'' du gel mixte PVA 7%-K15M 2% en fonction de la concentration en NaCl

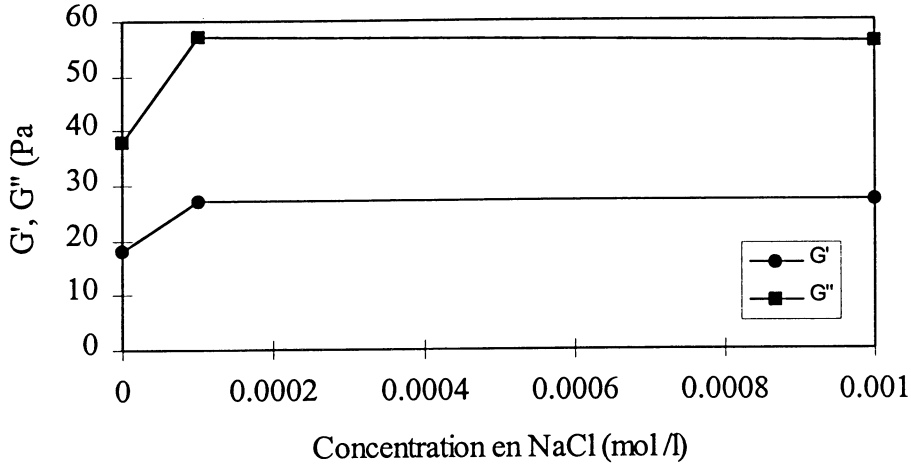
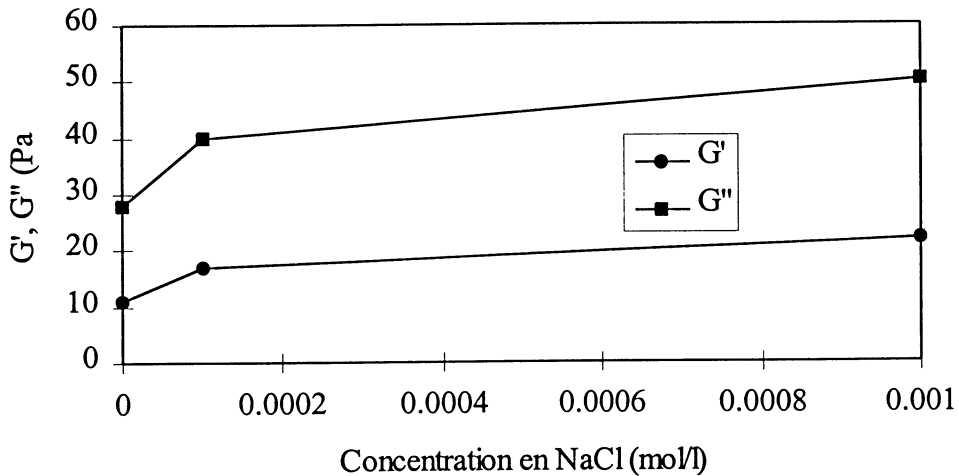


Figure 3. Variation des modules G' et G'' du gel mixte PVA 10%-K15M 1% en fonction de la concentration en NaCl



Les figures 2 et 3 montrent l'évolution des modules G' et G'' à 1 Hz, de deux gels mixtes en fonction de la concentration en NaCl. On peut noter une augmentation progressive de ces deux modules lorsque la concentration en NaCl passe de 0 à 0,001 mol l⁻¹, pour le gel mixte PVA 10%-K15M 1%, tandis que dans le cas du gel mixte PVA 7%-K15M 2%, cette augmentation semble atteindre un plateau à partir d'une concentration en NaCl de 0,0001 mol l⁻¹. On observe également une diminution de la fréquence à laquelle apparaît le point gel. Cette fréquence varie de 4,3 à 1,7 Hz pour le gel mixte PVA 10%-K15M 1%, lorsque la concentration en sel varie de 0 à 0,001 mol l⁻¹. Dans le cas du gel mixte PVA 7%-K15M 2%, la fréquence du point gel varie de 3,3 à 1,7 Hz quand la concentration en sel passe de 0 à 0,001 mol l⁻¹. On constate donc une augmentation du temps de vie des liaisons secondaires

responsables de la formation et de la structure du réseau mixte. Le chlorure de sodium possède des propriétés structurantes, il a tendance à structurer les molécules d'eau à cause de sa forte enthalpie d'hydratation. Cette structuration du solvant aqueux est probablement à l'origine de l'augmentation du temps de vie des jonctions entre les chaînes macromoléculaires.

Conclusion

L'étude des propriétés rhéologiques du gel mixte PVA-K15M en fonction de la concentration en K15M montre que ce gel possède un comportement viscoélastique intermédiaire entre les deux polymères pris séparément. La formation du réseau du gel mixte est principalement due à l'établissement de liaisons hydrogènes entre les chaînes macromoléculaires des deux polymères. Le temps de vie de ces liaisons augmente en fonction de la concentration en K15M et en fonction de la force ionique.

Références

- [1] T. Kondo, C. Sawatari, R. Manley, D. G. Gray, *Macromolecules*, 1994, 27, 210.
- [2] T. Kondo, C. Sawatari, *Polymer*, 1994, 35, 4423.
- [3] J. H. Shin, T. Kondo, *Polymer*, 1998, 39, 6899.
- [4] L. Lin, U. Hisao, A. Yuji, Y. Ming Long, *Macromolecules*, 1997, 30, 7842.
- [5] P. S. Leung, E. D. Goddard, *Langmuir*, 7, 608.

INFLUENCE DES ASSOCIATIONS INTERCHAINES SUR LE COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE DE SOLUTIONS DE HYALURONANE

I. Roure, M. Milas et M. Rinaudo

Centre de recherches sur les Macromolécules Végétales, CNRS,
associé à l'Université J. Fourier B.P. 53 - 38041 Grenoble Cedex 9

Résumé

Nous avons cherché à mettre en évidence l'influence d'associations interchaînes sur le comportement rhéologique de solutions de hyaluronane. Pour cela, des mesures rhéologiques en écoulement et en dynamique ont été effectuées en fonction de la concentration en polymère, de la masse molaire et de l'origine des échantillons. A partir de ces résultats, nous avons obtenu les lois de variation des principales grandeurs qui caractérisent le comportement rhéologique des solutions de hyaluronane en fonction de ces paramètres. Ces lois sont en bon accord avec celles prédites par le modèle de de Gennes. Nous avons aussi pu montrer que les associations interchaînes, qui augmentent la masse molaire apparente, modifient en conséquence les propriétés rhéologiques sans un impact spécifique dû aux associations

Introduction

Le hyaluronane est un polysaccharide présent dans de nombreux tissus d'origine animale : cordon ombilical, crête de coqs, fluide synovial. Sa biocompatibilité, ses interactions avec l'eau et les protéines ainsi que ses propriétés viscoélastiques sont très importantes pour les applications dans les secteurs tels que la pharmacotechnie et la cosmétologie (1). Il est actuellement en grande partie produit par voie fermentaire ce qui permet d'obtenir une plus grande pureté à un moindre coût. Cependant, la masse molaire de ces échantillons est généralement inférieure à celle obtenue à partir de hyaluronanes extraits de crêtes de coq ou cordons ombilicaux. Ceci peut être un handicap dans certaines applications. De plus, afin d'améliorer encore les propriétés viscoélastiques de ces derniers, Balazs *et al.* (2) ont proposé un dérivé faiblement réticulé par du formol lors de son extraction des crêtes de coq.

Dans ce travail, nous présentons une étude rhéologique comparative de différents échantillons d'origine bactérienne ou extraits de crêtes de coq avec et sans réticulation. Ce travail fait suite à une étude systématique de la viscosité Newtonienne en fonction de la masse molaire, de la concentration en hyaluronane d'origine bactérienne et de la température (3-4).

Caractéristiques des échantillons et comportement en solution diluée.

Les caractéristiques des différents échantillons de hyaluronane sont données dans le tableau 1. Les hyaluronanes (HA) d'origine bactérienne sont produits par la société ARD (Pomacle, France). Le hyaluronane (HE), isolé à partir des crêtes de coq (Healon GV), est fourni en solution à 1,4 % (w/v) dans un tampon physiologique (chlorure de sodium, phosphate) par Kabi-Pharmacia A.B. (Suède). Son dérivé, faiblement réticulé par du formol,

le hylane (HY), est fourni à l'état solide par Biomatrix (Ridgefield, N.J.). La présence d'associations interchaînes (agrégats) dans les échantillons a été estimée, par filtration des solutions, à 0,4 g/L dans NaCl 0,1M, à travers des membranes dont les porosités vont de 8 à 0,2 μm . L'ensemble des solutions de hyaluronane d'origine bactérienne filtre sur membranes de 0,2 μm sans perte de viscosité. Pour les solutions de hylane (HY), une perte de viscosité et de concentration est obtenue pour des porosités inférieures à 1,2 μm , ce qui permet d'estimer les dimensions des agrégats de chaînes et leur concentration respective (Tableau 2). Les solutions de healon (HE) ont un comportement intermédiaire avec une filtration difficile à travers 0,45 μm mais sans perte sensible de viscosité et de concentration.

Echantillons	M_w ($\times 10^{-6}$)	$[\eta]$ (mL/g)	k'	$C^*[\eta]$
HA	0,3	680	0,40	4,0
	0,35	750	0,33	4,5
	0,8	1 502	0,45	3,6
	1	1 850	0,51	3,9
	1,3	2 100	0,57	3,4
	2,2	3 400	0,44	3,9
HY	7-8 ^a	8 200	0,2	1,2
HE	5 ^a	6 400	0,6	3,6

Tableau 1 : Caractéristiques des échantillons utilisés dans NaCl 0,1M et 25°C.

a: valeurs données par le fabricant et confirmées par la relation de Mark-Houwink ($K = 0,0336 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ et $a = 0,79$) (5)

Diamètre des pores (μm)	viscosité après filtration (mPas)	concentration après filtration	pourcentage en masse retenu sur le filtre
8	9	0,39	~ 0
3	7,9	0,39	~ 0
1,2	7,8	0,38	3
0,8	7,6	0,34	10
0,45	3,5	0,19	38
0,22	1,5	0,09	25

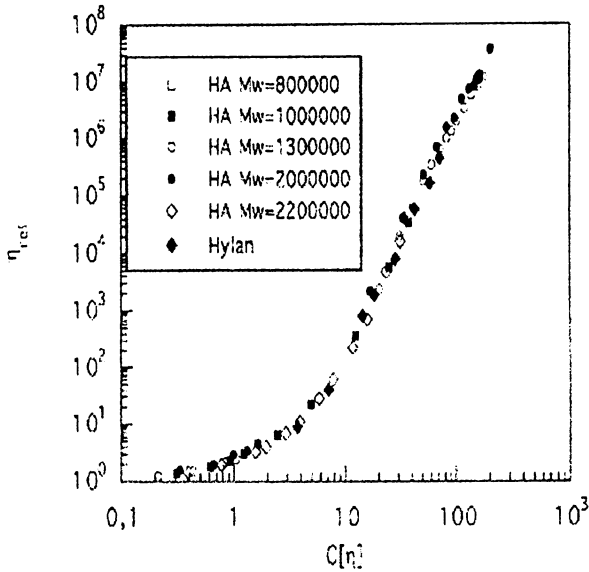
Tableau 2 : Effet de la filtration d'une solution de HY à 0,4g/L dans NaCl 0,1M sur des membranes de différentes porosités.

Pour les trois sortes d'échantillons, HA, HE et HY, nous avons reporté dans le tableau 1 la constante de Huggins et le paramètre de recouvrement critique $C^*[\eta]$ à partir duquel la relation du Huggins ne s'applique plus et qui est estimé comme la limite du régime dilué. Les échantillons HA et HE ont, à la précision des mesures près un comportement semblable; la constante de Huggins est comprise entre 0,33 et 0,6 et $C^*[\eta]$ entre 3,4 et 4,5. Le hylane se différencie des autres échantillons par des valeurs plus faibles de k' et $C^*[\eta]$. Nous avons attribué cette différence à la présence des agrégats de grandes dimensions dans cet échantillon (Tableau 2).

Mesures en écoulement

La viscosité des solutions des différents échantillons a été étudiée en fonction du gradient de cisaillement et de la concentration dans NaCl 0,1M et à 25°C. La quantité disponible d'échantillon HE, fourni à 14 g/L, n'a permis de réaliser des mesures qu'à 10 g/L. A partir des courbes $\log \eta$ en fonction de $\log \dot{\gamma}$ ($\dot{\gamma}$ la vitesse de cisaillement), nous avons déterminé la valeur de η_0 au plateau Newtonien, le gradient de cisaillement critique du début

du comportement viscoélastique, γ_c , et la pente dans le domaine viscoélastique. Ces valeurs



ont été utilisées pour tracer les figures 1 à 4.

Figure 1 : Variation de la viscosité relative sur le plateau Newtonien en fonction de $C [\eta]$.

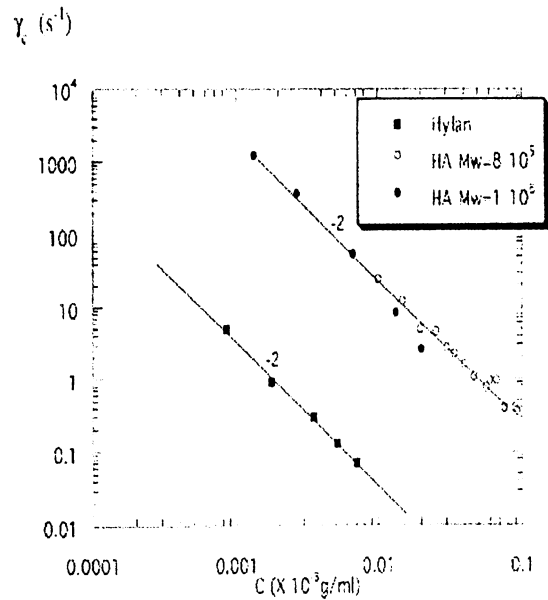


Figure 2 : Variation du gradient de cisaillement critique du début du comportement viscoélastique (γ_c) avec la concentration en polymère

Quel que soit l'échantillon, la viscosité au palier Newtonien est une fonction de $C[\eta]$. En effet, pour HE, la viscosité relative Newtonienne obtenue à 10 g/L est égale à $5,5 \times 10^5$ ce qui correspond à $C[\eta] = 64$, valeur qui caractérise cette solution puisque $[\eta] = 6\,400$ mL/g.

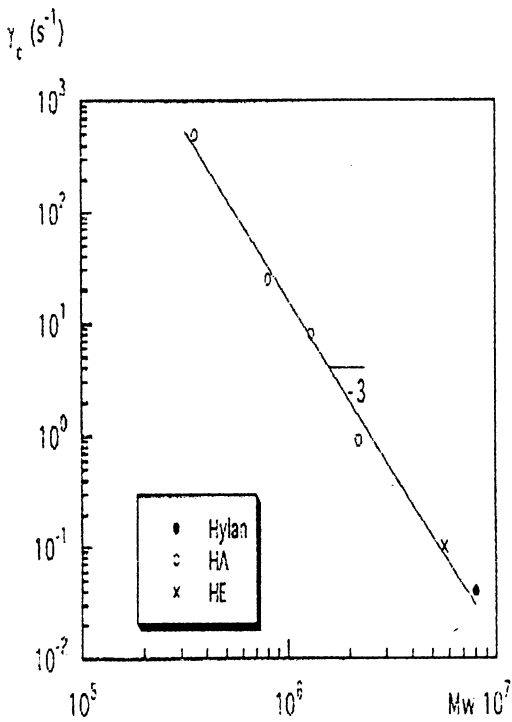


Figure 3 : Variation de γ_c avec la masse molaire

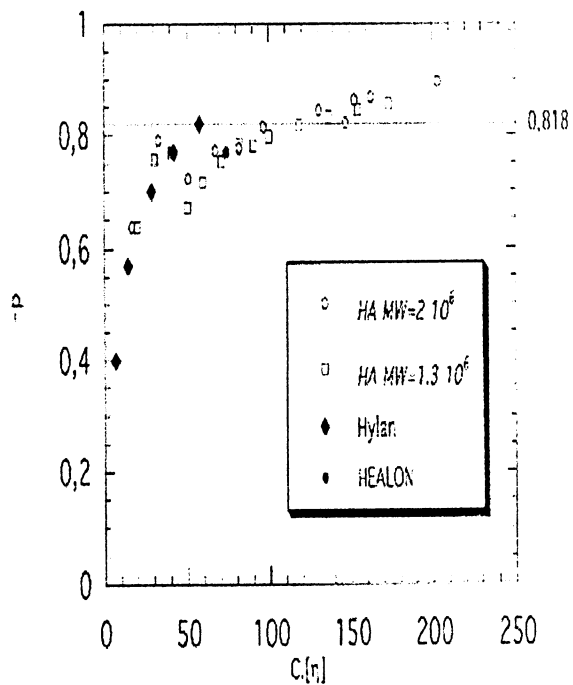


Figure 4 : Variation de la pente des courbes $\log \eta$ en fonction de $\log \gamma$ dans le domaine viscoélastique.

Dans ce comportement, les échantillons sont donc caractérisés uniquement par la valeur de leur viscosité intrinsèque et non par leur origine. Nous trouvons ainsi dans le domaine semi-dilué une variation moyenne de la viscosité en $C^{4,1}$. La valeur de l'exposant, plus élevée que celle prévue par le modèle de reptation de de Gennes : 3,75 (6,7), peut être expliquée par le phénomène décrit précédemment, à savoir l'augmentation de la longueur de persistance des chaînes avec la concentration en hyaluronane, pour interpréter la forte diminution trouvée de l'énergie d'activation viscosimétrique avec la concentration dans le régime semi-dilué (3,4). D'ailleurs pour des valeurs de $C[\eta]$ supérieures à 50, où l'énergie d'activation viscosimétrique redevient indépendante de la concentration en polymère, nous remarquons une diminution de la pente qui tend alors vers la valeur théorique attendue. La figure 2 donne un exemple de la variation de γ_c en fonction de C . Une variation en C^{-2} est obtenue aussi bien pour les échantillons HA que pour le HY. La figure 3 représente la même grandeur mais en fonction de la masse molaire à la concentration de 10 g/L. Nous obtenons une variation en M^{-3} en incluant le HY et HE. Par suite γ_c varie en $C^2 M^{-3}$ quels que soient les échantillons. Cette variation est à rapprocher de celle prédite par de Gennes en bon solvant (7) si on assimile γ_c^{-1} au plus long temps de relaxation de la solution : $\tau_r \sim C^{1,5} M^3$. De nouveau, la différence trouvée sur l'exposant de concentration peut être liée au phénomène décrit précédemment (3,4). Nous remarquons (figure 4) que la pente dans le domaine viscoélastique, fonction de $C[\eta]$, montre un comportement semblable pour les trois types d'échantillons.

Comportement sous oscillation

Les figures 5 et 6 représentent les courbes maîtresses obtenues respectivement avec les HA et le HE et les HA et le HY. Alors que les courbes du HE sont totalement superposées avec celles du HA obtenues à 30 g/L (fig. 5), une différence marquée apparaît au-dessous du point de croisement des courbes entre le HY et les HA. (fig.6). Les valeurs des modules pour le HY sont supérieures. Ce comportement est à relier à celui trouvé dans le domaine dilué et est attribué à la présence d'agrégats de grandes dimensions, par conséquent aussi à une plus grande polymolécularité de cet échantillon. A partir de ces courbes maîtresses, il a été possible de déterminer la variation des coefficients de translation a_x et a_y en fonction de la concentration et de la masse molaire. Nous obtenons, quels que soient les échantillons, une variation unique de a_y en $C^{-2,15}$ et de a_x en C^2 en prenant pour origine a_y et $a_x = 1$ pour le spectre mécanique du HA à 39 g/L.

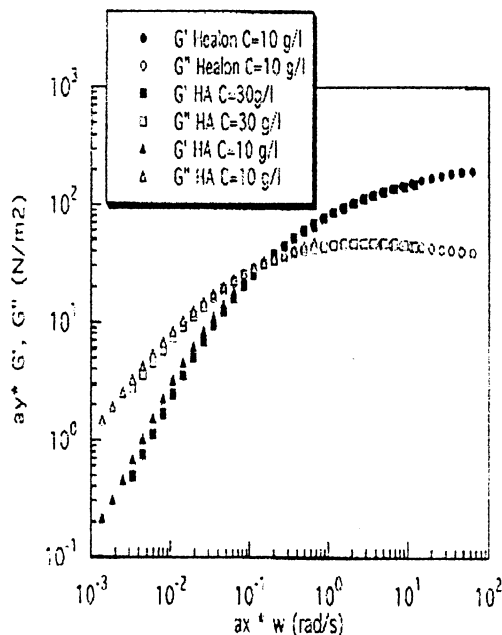


Figure 5 : Superposition des spectres mécaniques du HE avec ceux des HA

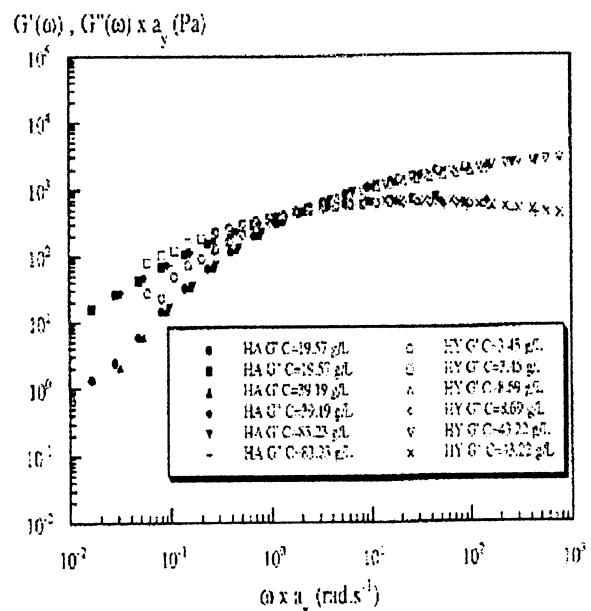


Figure 6 : Superposition des spectres mécaniques du HY avec ceux du HA

Les valeurs de a_x et a_y appliquées aux courbes obtenues pour le HE à 10 g/L vérifient ces variations. De même, les valeurs des modules G'_p et G''_p au point de croisement sont trouvées à concentration donnée en polymère, indépendantes de la masse molaire des échantillons alors que la fréquence ω_p en ce même point varie en M^{-3} . Pour cette dernière variation, nous n'avons pas pu positionner le HE car, à la concentration de 10 g/L utilisée, nous n'avons pas de mesure pour les HA.

A partir de ces variations, nous pouvons déduire que ω_p varie en $C^{-2}M^{-3}$ comme γ_c . Les interprétations proposées pour γ_c s'appliquent aussi à ω_p . La valeur des modules au point de croisement, donc aussi celle au plateau, varie en $C^{2.15}M^0$; de nouveau, cette variation est en accord avec celle prévue par le modèle de de Gennes en bon solvant, $G^0_e \sim C^{2.25}M^0$. A partir de ces mesures il est aussi possible de déterminer les caractéristiques du réseau, la masse molaire moyenne entre deux points d'enchevêtrement et la distance moyenne entre les enchevêtrements, en utilisant le module de Schurz (9). Ainsi nous obtenons pour cette dernière grandeur une variation en $C^{-0.72}$ de nouveau en accord avec le modèle proposé par de Gennes en $C^{-0.75}$. Il faut remarquer que ces variations s'appliquent aux échantillons de HA, HE et HY, si l'on considère pour ces deux derniers les masses molaires moyennes déduites de la valeur de la viscosité intrinsèque ou celles du fabricant. Nous pouvons donc en déduire que le comportement rhéologique en solutions semi-diluées est globalement imposé par la masse molaire apparente et la viscosité intrinsèque des échantillons sans référence à la présence ou non d'associations interchaînes dans ces échantillons au moins tant que celles ci restent faibles devant les enchevêtrements.

Conclusion

Les résultats décrits dans ce travail montrent que le hylane, qui comporte un faible taux de liaisons interchaînes covalentes, peut être assimilé à un hyaluronane linéaire de très forte masse molaire, supérieure à celle de l'échantillon équivalent sans réticulation (Healon). Cette faible réticulation permet d'élargir et améliorer les applications des hyaluronanes lorsque le caractère viscosifiant et viscoélastique est recherché, ou de réduire la concentration en hyaluronane à utiliser pour obtenir un même effet.

Références

- 1) L. Lapcik, S. de Smedt et J. Demeester, "Hyaluronan: Preparation, structure, properties and application", Chemical Reviews 1998, **98**, 2663-2684.
- 2) E. A. Balazs, E. A. Leshchiner, A. Leshchiner et P. Band, "Chemically modified hyaluronic acid, preparation and method of recovery thereof from animal tissues", U.S. Patent 1987, 4, 713-448.
- 3) M. Milas, I. Roure et G.C. Berry, "Cross-over behavior in the viscosity of semiflexible polymers: Solutions of hyaluronan as a function of concentration, molecular weight and temperature", J. Rheol. 1996, **40**, 1155-1166.
- 4) I. Roure, N. Berriaud, M. Milas et M. Rinaudo, "Viscosité des solutions de hyaluronane : influence de la concentration, masse molaire, température et rigidité des chaînes", Les Cahiers de Rhéologie, XV, 1997, 4, 458-466.
- 5) N. Berriaud, M. Milas, M. Rinaudo, "Characterization and properties of hyaluronan", dans « Polysaccharides in medicine and biotechnology », S. Dimitriu, Ed. Marcel Dekker Inc, N.Y. 1998, pp. 313-334.
- 6) P.G. de Gennes, "Dynamics of entangled polymer solutions. I. The Rouse model", Macromolecules, 1976, **9**, 587-593.
- 7) P.G. de Gennes, "Dynamics of entangled polymer solutions. II. Inclusion of hydrodynamic interactions", Macromolecules, 1976, **9**, 594-598.
- 8) P.G. de Gennes, "Scaling concepts in polymer physics", Cornell University Press, Ithaca et Londres, 1979.
- 9) J. Schurz, "Rheology of polymer solutions of the network type", Prog. Polym. Sci. 1991, **16**, 1-53.

CARACTERISATION RHEOLOGIQUE DE RESEAUX A BASE DE CHITOSANE D'INTERET PHARMACEUTIQUE ET BIOMEDICAL

M.N. Khalid, F. Agnely, J.L. Grossiord, G. Couarraze
Laboratoire de Physique Pharmaceutique UMR 8612, 5 rue J. B. Clément.
92296 Châtenay-Malabry Cedex

L'objectif de ce travail est d'évaluer et de comparer les performances de gonflement et les propriétés mécaniques de différents réseaux à base de chitosane.

Dans un premier temps nous avons synthétisé un réseau covalent de chitosane, ainsi qu'un réseau semi-interpénétré (semi-IPN) chitosane polyoxyéthylène (POE). Ce semi-IPN est constitué d'un réseau covalent de chitosane dans lequel s'interpénètrent les chaînes de POE. Ce dernier polymère interagit avec le réseau covalent de façon strictement physique.

Nous avons ensuite étudié les propriétés de gonflement en milieu aqueux de ces systèmes. Puis, une étude rhéologique a été menée sur les hydrogels gonflés en fluage et en oscillation. D'autre part, le module d'Young de ces systèmes a été déterminé en compression uniaxiale et en indentation. La comparaison des propriétés mécaniques et de gonflement du semi-IPN et du gel simple de chitosane montre l'intérêt de l'ajout du POE.

I. INTRODUCTION

Le chitosane est un polymère naturel qui suscite actuellement un vif intérêt en raison de ses propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes et de son faible coût. Sa biocompatibilité, son action cicatrisante et ses propriétés d'ionisation en milieu acide en font un candidat de choix pour des systèmes de libération contrôlée de médicaments au niveau de l'estomac ainsi que pour le développement d'implants pour des applications biomédicales [1,2,3].

Récemment, plusieurs travaux [4-7] ont montré qu'il est encore possible d'améliorer ces propriétés en synthétisant des réseaux semi-interpénétrés (semi-IPN chitosane-polyoxyéthylène (POE)). Il s'agit de réseaux mixtes constitués d'un réseau covalent de chitosane dans lequel s'interpénètrent les chaînes de POE. Il a été montré que le gonflement de ces réseaux et leurs propriétés de libération d'un principe actif peuvent être alors modulés par la teneur et par la masse molaire du POE. Une teneur (en masse) en POE de 20 % et une masse molaire élevée de 10^6 g/mol semblent conduire à des résultats optimaux [5].

Dans cette étude, nous avons synthétisé un réseau semi-interpénétré chitosane-POE et un réseau covalent chitosane de référence. Nous avons étudié leurs propriétés de gonflement, et, pour la première fois, nous avons évalué leurs propriétés mécaniques. Pour cela, nous avons mené une étude rhéologique sur des hydrogels gonflés en fluage et en oscillation. D'autre part, le module d'Young de ces systèmes a été évalué en compression uniaxiale et en indentation.

II. Matériel et méthodes

II. 1. Caractérisation du chitosane

Le chitosane fourni par Sigma, a été caractérisé par son degré de déacétylation et par sa masse molaire moyenne viscosimétrique.

Le degré de déacétylation du chitosane a été déterminé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, à l'aide d'un appareil Nicolet impact 420 en utilisant la méthode de Miya [8]. Cette méthode est particulièrement bien adaptée aux chitosanes faiblement acétylés et nous permet de déterminer le taux de déacétylation du chitosane utilisée par le rapport des absorbances de la bande amide à 1662 cm^{-1} et de la bande d'élongation -CH à 2878 cm^{-1} .

La masse molaire du chitosane a été déterminée par viscosimétrie capillaire en utilisant un viscosimètre capillaire SCHOTT-GERÄTE AVS 400 et un capillaire 53203, AppNr : 90961, $K=0.003134$.

Nous avons préparé des solutions de chitosane à 0,1-0,25-0,4-0,5-0,75mg/ml à partir d'une solution mère de 1 mg/ml, le solvant correspondant au mélange acide acétique 0,1M/NaCl 0,2M.

La solution mère est filtrée sur filtre millipore $0,22\ \mu\text{m}$ avant utilisation. La variation de la viscosité réduite (η_{red}) est enregistrée, en fonction de la concentration C en chitosane pour des temps d'écoulement t et t_0 correspondant respectivement à la solution de polymère et au solvant.

$$\eta_{\text{red}} = \frac{t - t_0}{t_0 C} \quad \text{Eq.1}$$

L'extrapolation de η_{red} à dilution infinie nous permet de déterminer la viscosité intrinsèque $[\eta]$. La masse molaire moyenne viscosimétrique M_v est alors calculée à partir de la loi de Mark-Houwink. Nous avons utilisé les coefficients déterminés par Roberts et Domzky [9], 1982 (obtenus avec le même solvant que dans notre étude).

$$[\eta] = K. (M_v)^a, \text{ où } K= 1,81.10^{-3}\text{dL/g et } a = 0,93 \quad \text{Eq.2}$$

Dans cette étude, il est important de tenir compte de la teneur en eau du chitosane dans le calcul des concentrations. Pour notre échantillon, elle est de 11,3%, taux déterminé par dessiccation à 100°C jusqu'à poids constant.

II. 2. Synthèse du semi-IPN et du gel de référence

Le POE de formule générale $\text{H}-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ est fourni par Aldrich et a une masse molaire de 10^6g/mol . Pour la préparation du semi-IPN, le chitosane est dissous dans l'acide acétique 0,1M afin d'obtenir une solution à 2% (p/p). La solution de chitosane est filtrée sur un support switness 25 équipé d'un papier filtre puis placée pendant une nuit dans un dessiccateur pour éliminer les bulles d'air. Une solution de POE 0,8% (p/p) est préparée dans l'acide acétique 0,1M. 20 g de la solution de chitosane sont mélangés avec 10 g de la solution de POE. Ce mélange est placé sous faible agitation pendant 2 heures.

La solution de glyoxal est obtenue après chauffage à $60\ ^\circ\text{C}$ du glyoxal dans l'acide acétique à 0,1M, puis est additionnée goutte à goutte dans le mélange chitosane-POE sous faible agitation pendant 30 à 35 minutes.

Le mélange obtenu est placé dans des moules en téflon à température ambiante, jusqu'à l'obtention d'un gel (pendant environ 2 jours). Le gel obtenu est ensuite découpé en carrés de 20 mm de côté et de 5 mm d'épaisseur, pour l'étude de gonflement, et de 10 mm de côté et 8 mm d'épaisseur pour les essais en oscillation. Pour les essais en indentation le gel est cylindrique avec un diamètre de 70 mm et une épaisseur de 20 mm. Dans tous les cas le gel est alors neutralisé avec une solution de NaOH 0,1M pendant une journée puis lavé avec de l'eau déionisée pendant deux jours.

Pour l'étude de gonflement, le gel est séché pendant 12 heures à température ambiante puis pendant 5 heures à l'étuve à 100 °C. Pour l'étude rhéologique le gel est séché pendant 4 jours à température ambiante dans un dessiccateur contenant du gel de silice.

Le gel de chitosane de référence se prépare de la même manière que le semi-IPN mais sans ajout de POE (en particulier la même concentration en glyoxal est utilisée).

II. 3. Etude des propriétés de gonflement

Les propriétés de gonflement des gels (gel de référence et semi-IPN) ont été étudiées à 37°C, en solution tampon, à pH =1,2 (HCl) ou à pH =7,2 (KH₂PO₄).

Le degré de gonflement G(t) est évalué à l'aide de la formule :

$$G(t) = \frac{M(t) - M_0}{M_0} \quad \text{Eq.3}$$

M(t) : masse du gel après un temps t de gonflement.

M₀ : masse de l'échantillon à l'état xérogel

La cinétique de gonflement est suivie grâce à la variation de G en fonction du temps. Pour chaque point de cette courbe de cinétique, 3 échantillons de gel sont évalués.

II. 4. Etude des propriétés rhéologiques

Dans cette étude deux tests ont été réalisés :

- Une analyse viscoélastique oscillatoire
- Une analyse en fluage

Un rhéomètre Haake RS 100 ((Rhéo) muni d'une géométrie plateau-plateau (diamètre = 20 mm, entrefer = 3 mm) a été utilisé. Ces essais ont été réalisés sur des hydrogels gonflés en milieu acide à pH =1,2, coupés pour obtenir un diamètre de 20 mm et une épaisseur de 5 mm.

II. 4. 1. Analyse viscoélastique oscillatoire

Ce test consiste à soumettre l'échantillon à un cisaillement sinusoïdal de pulsation $\omega=2\pi N$ (N fréquence de cisaillement). Les paramètres rhéologiques étudiés sont :

- G, le module de cisaillement
- δ , le déphasage de la contrainte par rapport à la déformation.

II. 4. 2. Analyse en fluage

Ce test consiste à soumettre l'échantillon à l'instant $t=0$, à une contrainte τ_0 constante, et à suivre au cours du temps l'évolution de la déformation résultante $\gamma(t)$. La fonction fluage ou complaisance $J(t)$ est définie par la relation : $J(t) = \gamma(t) / \tau_0$.

II. 5. Etude des propriétés mécaniques

Un analyseur de texture TA-XT2 (SMS, Rhéo) a été utilisé en mode de compression, pour des essais en compression uniaxiale et en indentation.

II. 5. 1. Compression uniaxiale

Les valeurs du module d'Young des hydrogels gonflés à $\text{pH}=1,2$ sont obtenues en compression uniaxiale à l'aide de l'analyseur de texture TA-XT2. L'appareil est équipé d'un cylindre de 20 mm de diamètre se déplaçant avec une vitesse de compression de 0,1 mm/s. Les hydrogels gonflés ont un diamètre et une épaisseur de 20 mm. L'échantillon est soumis à une compression, caractérisée par un déplacement de 2 mm, au cours duquel on enregistre les résultats force-déplacement. La déformation appliquée ($<10\%$) est suffisamment faible pour que l'on reste dans le domaine linéaire. Le module d'Young est déterminé par la relation :

$$E = \frac{F \cdot l_0}{S \cdot \Delta l} \quad \text{Eq. 4}$$

F : force subie par le mobile

l_0 : épaisseur initiale de l'échantillon

Δl : déplacement (enfoncement du cylindre)

S : surface échantillon en contact avec le mobile

II. 5. 2. Analyse en indentation

Ce test est réalisé dans le but de confirmer les résultats obtenus en compression uniaxiale. Il consiste à appliquer sur un échantillon un mobile indenteur (sphère rigide). Parallèlement, la force de compression nécessaire pour maintenir une indentation constante est enregistrée. Le diamètre de la sphère est de 12 mm et le gel a 40 mm de diamètre et 20 mm d'épaisseur. Le module d'Young est calculé par la relation de Waters [10] :

$$E^{2/3} = \frac{K \cdot F^{2/3}}{R^{1/3} \cdot d} \cdot f(h/r) \quad \text{Eq. 5}$$

$f(h/r)$: fonction adimensionnelle, qui dépend de l'épaisseur h de l'échantillon et du rayon r du cercle de contact.

d : enfoncement de l'indenteur

R : rayon de l'indenteur

K: constante = $(81/256)^{1/3}$

F : force subie par l'indenteur

Dans le cas de notre étude l'échantillon pourra être considéré comme semi-infini, ($h/r > 10$ et $d/r > 10$). Dans ces conditions $f(h/r)=1$ et l'équation 5 se simplifie :

$$E^{2/3} = \frac{K \cdot F^{2/3}}{R^{1/3} \cdot d} \quad \text{Eq 6}$$

III. Résultats et discussion

III. 1. Caractérisation du chitosane

Le degré de déacétylation de notre échantillon de chitosane, déterminé par la méthode de Miya [8] est de 77 %. Par l'extrapolation de la viscosité réduite à dilution infinie, la viscosité intrinsèque du chitosane dans l'acide acétique 0,1M/NaCl 0,2M, est $[\eta] = 981.05 \text{ cm}^3/\text{g}$. La masse molaire moyenne viscosimétrique, calculée à l'aide de la loi de Mark-Houwink, est $M_v = 1,46 \cdot 10^6 \text{ g/mol}$.

III. 2. Structure du semi-IPN et du réseau de référence

Dans le semi-IPN, le chitosane est réticulé chimiquement par le glyoxal (réaction entre les groupements amine du chitosane et les groupements aldéhyde du glyoxal) et les chaînes de POE s'interpénètrent dans ce réseau covalent. Si on compare les valeurs de la masse molaire moyenne du POE (10^6 g/mol) et de la masse molaire moyenne des segments de chitosane entre deux points de réticulation ($46 \cdot 10^3 \text{ g/mol}$) on peut envisager que les chaînes de POE forment des enchevêtrements autour des chaînes de chitosane. A pH neutre, des liaisons hydrogène pourraient également se former entre les groupements D-glucosamines du chitosane et les groupements éthers du POE. En effet ce type d'association a été rapporté par Yao et al. [11, 12] pour des semi-IPN chitosane-polyoxypropylène. En milieu acide, ces associations hydrogène disparaissent en raison de l'ionisation des groupements amine du chitosane. On peut supposer que la densité de réticulation chimique du réseau chitosane de référence et du semi-IPN sont similaires car la même quantité de glyoxal a été utilisée. De plus, les synthèses ont été réalisées en milieu acide où les associations hydrogène entre le chitosane et le POE, si elles existent, sont dissociées en raison de l'ionisation des groupements amine du chitosane [11, 13]. Par conséquent, la même quantité de groupements amine devrait donc être disponible pour réagir avec le glyoxal dans les deux systèmes conduisant à des réseaux covalents de structure similaire. Néanmoins il peut se produire une diminution de la cristallinité de la matrice de chitosane dans le semi-IPN en raison des associations hydrogène entre le chitosane et le POE pendant l'étape de séchage du réseau (à pH neutre).

III. 3. Propriétés de gonflement

Les résultats obtenus durant l'étude de gonflement montrent que le semi-IPN gonfle plus que le réseau de référence pour les deux pH (1,2 et 7,2) (voir figure 1 et 2).

Ces résultats peuvent s'expliquer par les effets suivants :

- l'effet osmotique du POE, qui est un polymère très hydrophile
- une réduction de la cristallinité de la matrice de chitosane, qui pourrait être provoquée par des associations intermoléculaires entre le chitosane et le POE.

La comparaison des résultats obtenus aux deux pH, montrent que le degré de gonflement est fortement dépendant du pH. Le degré de gonflement diminue considérablement quand le pH varie de 1,2 à 7,2, pour les deux types de gels. D'autre part, la cinétique de gonflement est également influencée par le pH. A pH=7,2 l'équilibre est atteint assez rapidement, alors que,

pour le semi-IPN à pH=1,2, le gonflement n'atteint pas d'état d'équilibre car après environ 600 minutes de gonflement on observe une rupture de l'hydrogel. L'influence du pH sur les propriétés de gonflement des deux types de réseaux peut s'expliquer par les propriétés suivantes :

- A pH=1,2, les fonctions amines du chitosane sont protonées. Cette ionisation induit des répulsions électrostatiques entre les chaînes du polymère. En même temps la présence de contreions crée une pression osmotique au sein du réseau. Ces deux effets expliquent les valeurs très élevées du degré de gonflement observé. Pour le semi-IPN, l'ionisation des fonctions amine du chitosane peut induire la dissociation des éventuelles liaisons hydrogène entre le chitosane et le POE et la relaxation des chaînes macromoléculaires.

- A pH=7,2, en l'absence de l'ionisation des groupements amines le gonflement est nettement moins important.

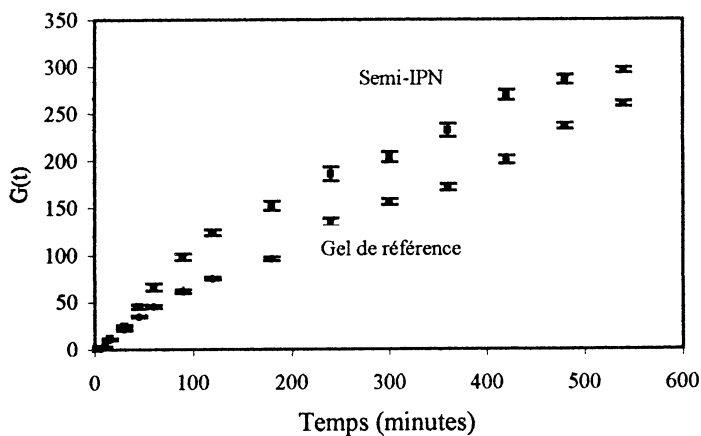


Figure 1. Courbe de gonflement à pH=1,2

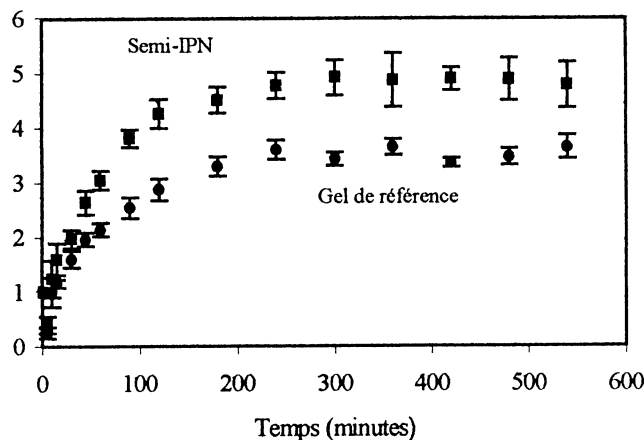


Figure 2. Courbe de gonflement à pH=7,2

III. 4. Propriétés mécaniques

Les essais mécaniques, réalisés en cisaillement et en compression ont permis de caractériser le comportement viscoélastique des deux gels. Dans cette étude, les échantillons du gel de référence et du semi-IPN ont le même taux de gonflement ($G \approx 200$).

L'ensemble des résultats obtenus montrent que le semi-IPN a un comportement élastique quasi parfait tandis que le réseau de référence se comporte comme un échantillon élastique mais possède également des propriétés visqueuses. Ainsi, les résultats des essais réalisés en indentation montrent que $F^{2/3}$ est une fonction linéaire du déplacement (figure 3 et 4). En se basant sur le modèle théorique de Waters, ceci traduit le caractère élastique prononcé des deux types de gels. On constate néanmoins que la qualité de la régression linéaire est légèrement meilleure pour le semi-IPN ($R^2=0,996$) que pour le gel de référence ($R^2=0,987$). Ceci peut suggérer que le caractère élastique du gel de référence est moins idéal que pour le semi-IPN.

Les essais réalisés en cisaillement ont permis de confirmer et de préciser ces résultats. Ainsi, lors des essais en oscillation, les valeurs du déphasage δ mesurées à une fréquence de 1 Hz est

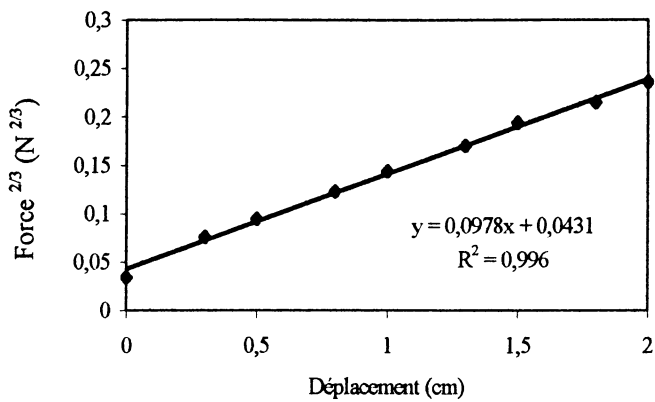


Figure 3. Variation de la force en fonction du déplacement, en indentation, pour le semi-IPN

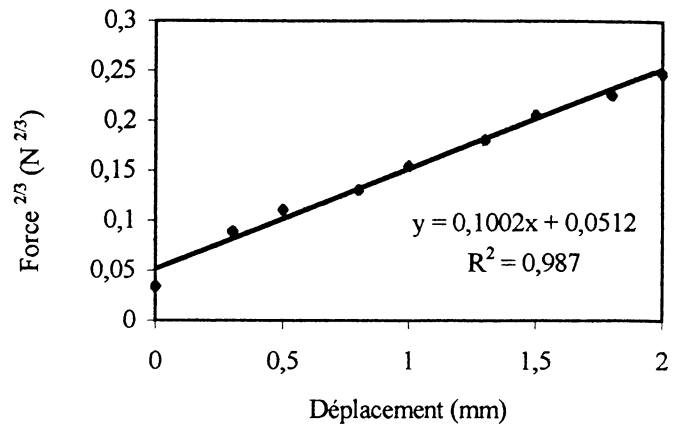


Figure 4. Variation de la force en fonction du déplacement, en indentation, pour le réseau de référence

de $0,8^\circ$ pour le semi-IPN et de $3,8^\circ$ pour le gel de référence. D'une manière équivalente, l'analyse en fluage-recouvrance montre que le semi-IPN est un réseau élastique quasi parfait tandis que le réseau de référence ne l'est pas. Par exemple, la recouvrance est totale pour le semi-IPN tandis qu'elle est incomplète de façon significative pour le réseau de référence.

Dans le tableau I, sont reportées les valeurs du module d'Young E déterminées en compression uniaxiale et en indentation, et celle du modules de cisaillement G déterminé en fluage et oscillation. Si on utilise la relation $G=E/3$, applicable dans le cas d'échantillons élastiques, pour lesquels le coefficient de Poisson est égal à 0,5, nous obtenons un bon accord entre les analyses en cisaillement et en compression.

Hydrogel	G (Pa) Oscillation	E (Pa) Indentation	E/3 (Pa)
Référence	$3.8 \cdot 10^2$	$1.2 \cdot 10^3$	$4.0 \cdot 10^2$
Semi-IPN	$1.0 \cdot 10^3$	$4.0 \cdot 10^3$	$1.0 \cdot 10^3$

Tableau I. Grandeurs rhéologiques obtenues en oscillation et en indentation

Le semi-IPN présente donc des propriétés élastique améliorées par rapport au réseau de référence. Comme le réseau covalent de chitosane est similaire dans les deux systèmes (même densité de réticulation même degré de gonflement), le renforcement mécanique observé avec le semi-IPN est dû à la présence des chaînes de POE interpénétrées.

IV. CONCLUSION

Un gel semi-IPN chitosane-POE et un gel de chitosane de référence ont été synthétisés. Les propriétés mécaniques et de gonflement du semi-IPN ont été étudiées et comparées à celles du gel de référence. La présence du réseau physique formé par le chaînes de POE augmente le caractère élastique du réseau par rapport au gel de référence. Ceci a été mis en évidence par exemple par la valeur très faible du déphasage ($\delta < 1^\circ$) lors des expériences réalisées en oscillation et par des valeurs plus élevées du module d'Young. D'autre part, le semi-IPN présente des propriétés de gonflement, modulables par le pH, accrues par rapport au réseau de

référence. Ce système présente donc un grand potentiel pour des applications en tant qu'implant ou comme système de libération contrôlée d'un principe actif au niveau de l'estomac.

Références bibliographique

- 1 - RICCARDO A. and MUZZARELLI A. - Chitine - Pergamon Press, Oxford, 1977, Chapter 2.
- 2 - DENUZIERE A. - Etude physico-chimique des interactions chitosane-glycosaminoglycannes (chondroïtine sulfate et acide hyaluronique). Applications biologiques. - Thèse de doctorat, Université Paris XI, Faculté de pharmacie de Châtenay-Malabry, 1996.
- 3 - CHANDY T. and SHARMA C. P. - Biodegradable chitosan matrix for the controlled release of steroids - *Biomat. Art. Cells & Immob. Biotech.*, 19(4), 745-760, 1991.
- 4 - M. M. AMIJI and PATEL V. R. - Chitosan-poly(ethylene oxide) hydrogels for pH-sensitive oral drug delivery- *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater*, 22, 330-331, 1995.
- 5 - PATEL V. R. and AMIJI M. M. - pH-sensitive swelling and drug-release properties of chitosan-poly(ethylene oxide) semi-interpenetrating polymer network - In : *Hydrogels and biodegradable polymers for application*, OTTENBRITE R., HUANG S. J. and PARK K. Eds., ACS Symposium Series, 627, American Chemical Society, Washington, 1996, pp. 209-220.
- 6 - BEENA M. S., CHANDY T. and SHARMA C. P. - Heparin immobilized chitosan - polyethylene glycol interpenetrating network : antithrombogenicity - *Art. Cells, Blood Subs. , and Immob. Biotech.*, 23(2), 175-192, 1995.
- 7 - PATEL V. R. and AMIJI M. M. - Preparation and characterisation of freeze-dried chitosan-poly(ethylene oxide) hydrogels for site-specific antibiotic delivery in the stomach - *Pharmaceutical Research*, 13(4), 588-593, 1996.
- 8 - MIYA, M., IWAMOTO, R., YOSHIKAWA, S. and MIMA, S. - IR spectroscopic determination of CONH content in highly deacetylated chitosan - *Int. J. Biol. Macromol.* 2, 323-324, 1980.
- 9 - ROBERTS G. A. F. and DOMSZY J. G. - Determination of the viscometric constants for chitosan - *Int. J. Biol. Macromol.*, 4, 374-377, 1982.
- 10 - WATERS N. E. - The indentation of thin rubber sheets by spherical indentors - *Br. J. Appl. Phys.*, 16, 557-563, 1965.
- 11 - YAO K., PENG T., GOOSEN M. F. A., MIN J. M. and HE Y. Y. - pH-sensitivity of hydrogels based on complex forming chitosan : polyether interpenetrating polymer network - *J. of Appl. Polym. Sci.*, 48, 343-354, 1993.
- 12 - YAO K., PENG T., XU M.X, YUAN C., GOOSEN M. F. A., ZHANG Q. Q. and REN L. - pH-dependent hydrolysis and drug release of chitosan / polyether interpenetrating polymer network hydrogel - *Polymer International*, 34, 213-219, 1994.
- 13 - YAO K., PENG T., FENG H.B. and HE Y. Y. - Swelling kinetics and release characteristic of crosslinked chitosan : polyether network (semi-IPN) hydrogels - *J. of Polym. Sci. : Part A : Polymer Chemistry*, 32, 1213-1223, 1994.

SUIVI DE L'ADHERENCE DE CELLULES EN CULTURE PAR MICRO-RHEOLOGIE ACOUSTIQUE

Darbeida H.³, Gabrielli C.², Gindre M.¹, Hoummady M.⁴, Le Huérou J.-Y.¹, Perrot H.², Urbach W.⁵

1-Laboratoire d'Imagerie Paramétrique Université Paris 6 CNRS UMR 7623 F-75270 Paris cedex 6

2-Laboratoire de Physique des Liquides et Electrochimie Université Paris 6 CNRS UPR 15 F-75252 Paris cedex 5

3-Laboratoire des protéines Université de Cergy Pontoise F-95031 Cergy Cedex

4-Laboratoire de Physique et Métrologie des Oscillateurs CNRS UPR 3203 F-25044 Besançon

5- Laboratoire de Physique Statistique CNRS URA 1302 Ecole Normale Supérieure F 75005 Paris.

Nous présentons une méthode d'étude des micro-environnements cellulaires, et plus particulièrement le processus d'adhérence de cellules biologiques sur un support. Le dispositif mis au point utilise des techniques ultrasonores, et se distingue des méthodes les plus courantes, toujours destructives [1-2]. Notre méthode, non destructive, non invasive, autorise le suivi en temps réel du mécanisme d'adhésion. Elle permet ainsi de caractériser les propriétés des cellules adhérentes en fonction :

- de la nature du support et,
- des modifications biologiques induites dans des cellules en culture.

Principe des mesures

Les propriétés électro-acoustiques d'un système piézo électrique, tel un résonateur à quartz, sont modifiées en fonction des paramètres mécaniques du film immobilisé sur sa surface. L'onde acoustique de cisaillement en volume permet d'explorer les propriétés viscoélastiques au voisinage de l'interface du résonateur [3-4]. La profondeur de pénétration de cette onde, de l'ordre de 2 μm , est inférieure à l'épaisseur de la cellule. De ce fait, la méthode proposée fournit des informations sur l'adhésion de la cellule sur son support.

Culture cellulaire

Les cellules sont issues d'une lignée d'adénocarcinome ovarien humain. Elles sont cultivées en milieu RPMI 1640 (Eurobio) complété avec 10% de sérum de veau foetal, 2 mM de glutamine, 2,7 g/l de bicarbonate de sodium et des antibiotiques, dans une étuve à atmosphère humide à 37°C et 5% de CO₂ (95% d'air). Les cellules sont ensuite décollées par un traitement enzymatique (0,1% de trypsine 1 mM EDTA Eurobio) durant 5 mn puis lavées, centrifugées à 150 g et comptées (hématimètre de Malassez). Les cellules sont ensuite ensemencées dans la cellule de mesure.

Système expérimental

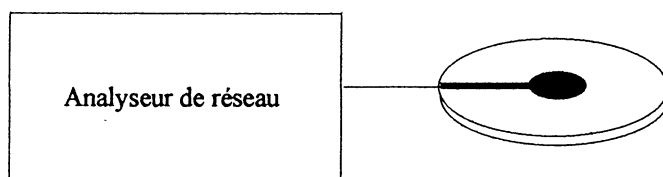


Figure 1 : schéma de principe de la mesure à l'aide d'un résonateur à quartz.

Les premières mesures ont été effectuées à l'aide d'un résonateur à quartz, de coupe AT, dont la fréquence de résonance nominale est 6 MHz (CQE, Troyes). Les électrodes circulaires, en or, ont un diamètre de 5 mm. Le liquide de culture (200 μl) avec ses cellules en suspension (600 000 environ) est déposé sur le résonateur à quartz. Le système de mesure est placé dans une chambre de culture à 37°C, dans une atmosphère à 5% de CO₂ afin de permettre le

développement des cellules ensemencées. L'admittance électrique du résonateur est mesurée à l'aide d'un analyseur de réseau (HP 4195A) en fonction du temps, l'instant de remplissage étant pris comme référence des temps.

Résultats et discussions

Les propriétés mécaniques du milieu exploré sont déduites de la théorie de Martin [5] et du modèle électrique de Butterworth Van Dyke (BVD) équivalent au résonateur. La résistance motionnelle R , reflète l'amortissement du quartz chargé par le film.

Pour un film uniforme de masse volumique ρ et de viscosité η , R se met sous la forme :

$$R = A\sqrt{\rho\eta} + B,$$

où A et B sont des constantes. La valeur R est estimée par un ajustement au modèle théorique de BVD.

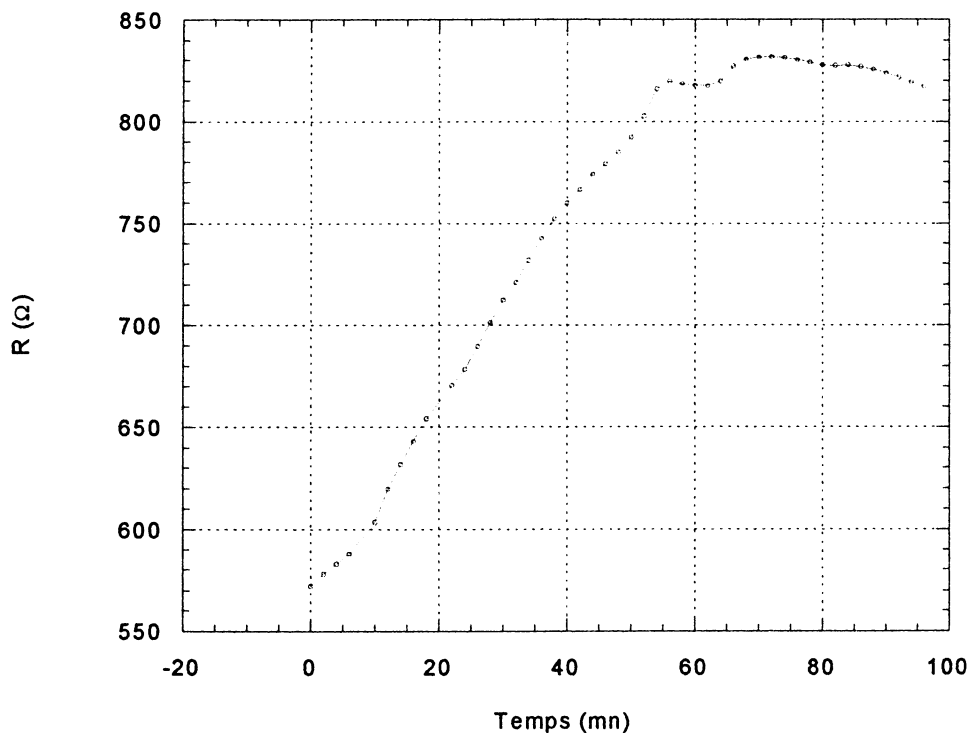


Figure 2 : Evolution de la résistance motionnelle en fonction du temps.

La figure 2 montre une évolution typique de R en fonction du temps. On remarque deux zones :

- la première, où R varie linéairement en fonction du temps,
- suivi d'un plateau au bout d'une heure environ.

Dans les conditions expérimentales, l'épaisseur du milieu de culture est d'environ 2 mm, la phase de sédimentation est très rapide et n'a pas été représentée sur la figure. La partie croissante représente le phénomène d'accrochage des cellules initialement sphériques, et leur étalement progressif sur le support.

Après cette phase (une heure environ), la monocouche de cellules est devenue homogène ce qui se traduit par une valeur constante de R .

Conclusion

Ces résultats préliminaires montrent la pertinence de la méthode pour l'étude de l'adhérence des cellules sur un support. Nous présenterons les résultats obtenus en remplaçant l'or en contact avec les cellules biologiques par un matériau tels que les polymères biocompatibles ou des surfaces métalliques habituellement utilisées dans la fabrication de prothèses.

Remerciements

Cette étude est financée par le CNRS et l'INSERM dans le cadre des programmes « microsystèmes » et « adhésion cellules-matériaux ». La lignée des cellules nous a été gracieusement fournie par le Dr J. Bénard (Centre Anticancéreux de Caen).

Bibliographie

- 1 Simson D. A., Ziemann F., Strigl M. and Merkel R. Micropipet-Based Pico Force Transducer: In Depth Analysis and Experimental verification. *Biophys. J.* 74, p 2080-2088, 1998.
- 2 Bausch A. R., Möller W., and Sackmann E. Measurement of local Viscoelasticity and Forces in Living Cells by Magnetic Tweezers. *Biophys. J.* 76, p 573-579, 1999.
- 3 Wegeber J., Janshoff A., Galla H.J. Cell adhesion monitoring using a quartz crystal microbalance : comparative analysis of different mammalian cell lines *Eur Biophys J.* 28, p26-37, 1998
- 4 Gabrielli C., Keddam M., Perrot H. Characterization of a quartz crystal microbalance in liquid. *Soumis à Anal. Chem.*
- 5 Martin S.J. Granstaff V.E., Frye G.C. Characterization of a quartz crystal microbalance with simultaneous mass and liquid loading. *Anal Chem.* 63, p2272-2281, 1991

MODELE DE TENSEGRITE POUR CARACTÉRISER LE RÔLE DE LA TENSION INTERNE DANS LE CYTOSQUELETTE

V. Laurent[°], E. Planus[°], C. Oddou*, D. Isabey[°], S. Wendling*

*Laboratoire de Mécanique Physique, CNRS ESA 7052

[°]INSERM U492, Faculté de Médecine ; Université Paris12-Val de Marne, 94010 Créteil.

Résumé

Plusieurs auteurs ont montré le rôle fondamental du cytosquelette dans le comportement mécanique de la cellule vivante. Nous avons étudié l'influence de la tension interne cellulaire sur la rigidité du cytosquelette (CSQ). Dans le modèle biologique, la tonicité de la cellule en culture est modifiée en dépolymérisant par la cytochalasine D le réseau de filaments d'actine constituant le CSQ. Dans le modèle théorique où une structure de tensegrité à 30 éléments est utilisée, la modification de la tension interne a été obtenue en changeant l'allongement initial des câbles prétendus de la structure (absence de forces extérieures). L'effet des variations de tension interne sur la rigidité de la cellule a été étudié en comparant (i) la rigidité de cellules dont le réseau d'actine était dépolymérisé ou non à la cytochalasine D mesurée par magnétocytométrie et (ii) la rigidité de la structure calculée par le modèle théorique. Ces résultats biologiques sont en accord avec ceux obtenus par le modèle théorique en considérant que l'état de déformation des câbles traduit l'état de tension interne de la structure. Ces hypothèses se justifient avec les observations faites par microscopie confocale sur la cellule.

Introduction

De nombreux travaux ont montré l'importance du comportement mécanique de la cellule vivante dans les processus biologiques tels que la prolifération, la migration et la morphogenèse [1,2]. Les plus récentes études montrent que la réponse mécanique de la cellule est étroitement liée aux propriétés mécaniques et géométriques du cytosquelette (CSQ). Ce dernier forme un réseau dense de filaments prétendus interconnectés de façon dense. La forme et la rigidité cellulaires dépendent de la réorganisation des filaments cytosquelettiques qui interagissent entre eux ainsi qu'avec la matrice extracellulaire et les cellules voisines. Dans cette étude, nous proposons d'analyser l'influence de la prétension interne sur la rigidité globale du cytosquelette. Pour ce faire, nous avons développé un modèle biologique qui consiste à modifier la tonicité de la cellule en culture en dépolymérisant le réseau de filaments d'actine avec de faibles concentrations de cytochalasine D (cyto D). Un modèle théorique basé sur une structure de tensegrité à 30 éléments permet de prendre en compte les grandeurs géométriques caractéristiques du cytosquelette, l'arrangement spatial et l'équilibre entre les éléments en tension et ceux en compression (notamment les filaments d'actine et les microtubules).

Méthode

** Modèle théorique*

Une structure élémentaire composée de 6 barres rigides comprimées par 24 câbles prétendus constitue le modèle théorique étudié (voir Fig. 1). Ce modèle a déjà été utilisé pour analyser le comportement mécanique en quasi-statique des cellules à petites et grandes

déformations [3,4]. La structure est attachée à un support rigide par 3 extrémités des éléments barres formant le plan de base inférieur (nœuds {1,2,3}). Dans ces conditions de liaison, nous étudions la déformation de la structure en appliquant des efforts extérieurs sur les 3 nœuds formant le plan supérieur de la structure (nœuds {10,11,12}).

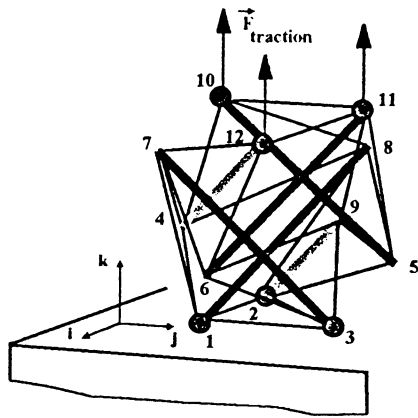


Figure 1 : Structure de tensegrité à 6 barres comprimées par 24 câbles élastiques prétendus. La structure est fixée à sa base par 3 nœuds ($N=3$), simulant des conditions constantes d'attachement de la cellule à la matrice extracellulaire. La simulation de différentes conditions d'attachement avec les cellules avoisinantes est obtenue en imposant dans le modèle la non-mobilité des nœuds {4,5,6} ($N=6$), et {7,8,9} ($N=9$).

La structure à 30 éléments de longueurs initiales constantes a été testée en petites déformations en imposant dans le modèle un nombre varié de nœuds non-mobiles ($N=3$: nœuds {1,2,3} fixés, $N=4$: nœuds {1,2,3,4} fixés, $N=6$: nœuds {4,5,6} fixés, $N=9$: nœuds {7,8,9} fixés), simulant ainsi différentes conditions d'attachement avec les cellules avoisinantes et/ou la matrice extracellulaire. La tension interne de la structure provient de l'état d'extension des câbles. La tension initiale définie à l'état de référence de la structure (avant application des forces extérieures) varie dans cette étude linéairement avec l'extension initiale des câbles ϵ_{c0} . La rigidité de la structure globale définie par un module d'élasticité équivalent est déterminée par le rapport entre une contrainte extérieure appliquée et la déformation globale de la structure. De par leurs définitions, le module d'élasticité équivalent et la tension interne de la structure sont deux grandeurs physiquement indépendantes.

* *Modèle biologique*

Le modèle biologique utilisé consiste à cultiver des cellules épithéliales alvéolaires A549 (American Type Culture Collection, Rockville, MD) à sub-confluences, traitées à la cytochalasine D (concentration : $1\mu\text{g/ml}$) dans le but de modifier la tension interne du cytosquelette. En effet, cette drogue qui se lie spécifiquement aux extrémités à croissance rapide des filaments d'actine, empêche leur polymérisation, provoquant une rupture du réseau d'actine. A l'instar d'autres auteurs [5,6], nous postulons dans cette étude que l'effet de doses modérées de cyto D se traduit essentiellement par une diminution de la tension interne associées à la rupture du réseau, sans pour autant affecter fortement les conditions d'attachement et donc la forme cellulaire.

La rigidité des cellules en culture a été évaluée au moyen d'une nouvelle méthode de micromanipulation appelée magnétocytométrie [1,7]. Cette méthode utilise des billes ferromagnétiques spécifiquement fixées sur les récepteurs transmembranaires de type intégrine en relation avec le cytosquelette. Les billes étant au préalable magnétisées dans un champ de forte intensité (0,15 Tesla), la déformation du cytosquelette résulte de la mise en rotation des billes qui subissent un couple magnétique produit par un champ perpendiculaire de plus faible amplitude (6 mTesla).

Résultats et Discussion

Les résultats théoriques de la figure 2 montrent la relation existant entre (1) le module d'élasticité équivalent de la structure de tensegrité normalisé par le module d'Young des câbles et (2) le nombre de nœuds fixes, pour différentes valeurs d'extension initiale des câbles. Il apparaît une tendance à l'augmentation de la rigidité globale lorsque le nombre de nœuds fixes augmente. Cette augmentation de la rigidité globale cesse à partir d'un seuil correspondant à six nœuds fixes $N=6$. Par ailleurs, la rigidité de la structure augmente avec l'extension initiale des câbles (ϵ_{c0}) qui définit l'état de tension de la structure de tensegrité avant l'application d'efforts extérieurs. Nous avons montré dans une précédente étude une augmentation modérée de la rigidité associée à des augmentations importantes de l'extension initiale des câbles [4].

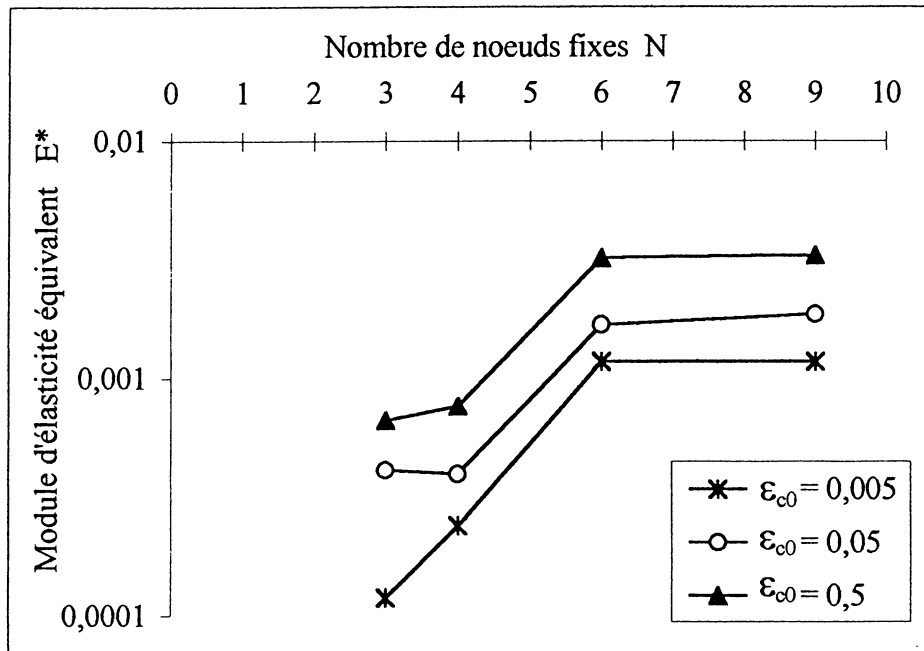


Figure 2 : Relation logarithmique (E^*-N) d'une structure de tensegrité à 6 barres et 24 câbles pour différent nombre de nœuds non mobiles.

Les résultats biologiques de la figure 3, obtenus sur des cellules épithéliales, montrent une diminution de la rigidité ainsi que de la rigidification du cytosquelette après dépolymérisation du réseau de filaments d'actine. La rigidité de la cellule est définie par le rapport entre la contrainte appliquée et la déformation cellulaire et la rigidification est définie par la pente de la relation « rigidité-contrainte ».

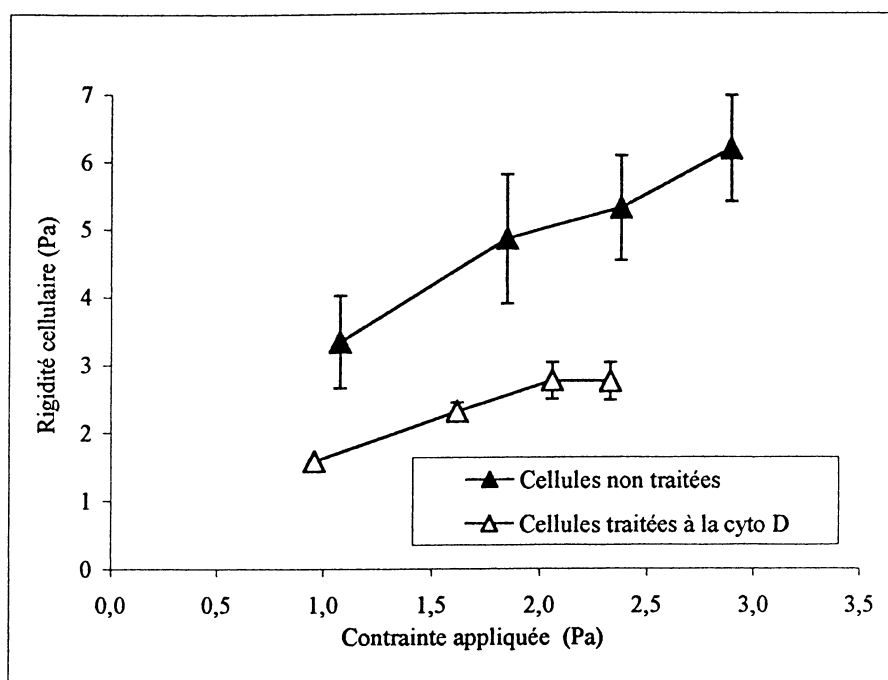


Figure 3 : Résultats expérimentaux comparant la rigidité cellulaire de cellules épithéliales traitées et non traitées à la cytochalasine D.

Dans les deux modèles, l'augmentation de la rigidité structurale est associée à une augmentation de la tension interne et à un plus grand degré de dépendance avec l'environnement. La dépendance avec l'environnement (résultats biologiques non montrés) est représentée dans le modèle théorique par un nombre croissant de nœuds fixes.

Le traitement à la cytochalasine D des cellules épithéliales effectué à de faibles concentration et temps d'incubation, provoque la dépolymérisation des filaments d'actine avec un effet minimal sur la taille cellulaire et les conditions d'attachement cellule-matrice extracellulaire. De ce fait, l'altération de la rigidité et de la réponse mécanique des cellules traitées à la cyto D résulteraient de la rupture du réseau d'actine bien que les réseaux de microtubules et de filaments intermédiaires gardent leur intégrité. L'effet de la cyto D semble essentiellement réduire la tension interne du cytosquelette par la rupture de continuité du réseau d'actine.

Si on considère que le cytosquelette ne change pas de taille et que les conditions d'attachement à la matrice extracellulaire sont peu altérées par le traitement à la cyto D, il nous est permis d'analyser la rigidité globale de la structure de tenségrité dans une condition de liaison donnée et en variant uniquement l'extension initiale des câbles. La longueur initiale des éléments dans le modèle théorique était gardée constante. Le module d'élasticité équivalent de la structure augmentant avec la prétension des câbles, permet d'interpréter la baisse de rigidité globale des cellules vivantes.

Conclusion

Nous avons montré dans la présente étude que le modèle de tenségrité permettait d'interpréter les variations de la rigidité cellulaire en fonction de la tension interne du cytosquelette. Cependant le modèle développé dans cette étude utilisant une structure de tenségrité à 30 éléments est très simplifié comparée à la complexité de l'architecture

cytosquelettique. D'autres études basées sur des structures plus proches de la morphologie cellulaire sont nécessaires pour justifier les hypothèses émises et prendre en compte la dynamique de la cellule. Le modèle de tensegrité peut ainsi être utilisé comme un modèle de connaissance permettant de définir les grandeurs caractéristiques pertinentes, d'associer les propriétés locales des éléments aux propriétés globales de la structure et de décrire la mécanique des cellules vivantes.

Références

1. Wang, N., J. Butler, and D. Ingber. *Science*, Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. **260**, pp. 1124-1127, (1993)
2. Ingber, D.E. and J. Folkman. *The Journal of Cell Biology*, Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-simulated angiogenesis in vitro: role of extracellular matrix. **109**, pp. 317-330, (1989)
3. Stamenovic, D., et al. *Journal of Theoretical Biology*, A Microstructural Approach to Cytoskeletal Mechanics based on Tensegrity. **181**, pp. 125-136, (1996)
4. Wendling, S., C. Oddou, and D. Isabey. *Journal of Theoretical Biology*, Stiffening response of a cellular tensegrity model. **196**(3), pp. 309-325, (1999)
5. Ting-Beall, H.P., A.S. Lee, and R.M. Hochmuth. *Annals of biomedical engineering*, Effect of cytochalasin D on the mechanical properties and morphology of passive human neutrophils. **23**, pp. 666-671, (1995)
6. Thoumine, O. *Journal of Physics III*, Control of Cellular Morphology by Mechanical Factors. **6**, pp. 1555-1566, (1996)
7. Laurent, V., et al. *Archives of Physiology and Biochemistry*, Mesure de la rigidité cellulaire par magnétocytométrie. **106**, pp. 183, (1998)

RHEOMETRIE DU SANG A BAS CISAILLEMENT : ETUDE DES PHENOMENES DE MIGRATION ET DE GLISSEMENT SUR DES SUSPENSIONS ARTIFICIELLES; APPLICATION A LA DETERMINATION DE LA CONTRAINTE SEUIL POUR DES PATIENTS SCLERODERMIQUES.

C. Picart ^{1,2,*}, P.H. Carpentier ¹, H. Galliard ², et J.M. Piau ².

(1) Laboratoire de Médecine Vasculaire, Université Joseph Fourier, Centre Hospitalier Universitaire, BP 217X, 38 043 Grenoble Cedex 9;

(2) Laboratoire de Rhéologie, Université Joseph Fourier, Institut National Polytechnique de Grenoble et Centre National de la Recherche Scientifique, UMR 5520, BP53, 38 041 Grenoble Cedex 9.

* : Adresse actuelle : INSERM U424, Faculté de Médecine, Bât. 3, 11 rue Humann, 67 085 Strasbourg cedex.

RESUME

L'agrégation des globules rouges joue un rôle important in vivo et in vitro dans des conditions de bas taux de cisaillement. Celle-ci peut être estimée par rhéométrie à bas cisaillement, mais les mesures expérimentales sont perturbées et présentent une décroissance de la contrainte mesurée, au cours du temps, due aux effets de glissement et de migration. Après avoir mis au point un système de mesure à parois intérieures et extérieures rugueuses (170 μm de rugosité), les influences de l'hématocrite, des taux de cisaillement et de fibrinogène ont été examinées (de 10^{-3} s^{-1} à 3.10^{-2} s^{-1}). Une étude systématique a été également réalisée sur 10 patients sclérodermiques, la microstructure des échantillons au repos étant observée en microscopie optique. Les résultats obtenus renforcent l'hypothèse qu'un processus anormal d'organisation des globules rouges pourrait être responsable de complications circulatoires in vivo.

INTRODUCTION

L'intérêt clinique de la rhéométrie à bas cisaillement s'est considérablement accru depuis le travail de Chien et al. (1970) qui ont attribué l'augmentation de viscosité à bas cisaillement à l'agrégation des globules rouges en présence de macromolécules plasmatiques. Le sang peut être considéré comme un gel physique percolant, au sein duquel les amas bi-dimensionnels (rouleaux) ou tridimensionnels (agrégats) formés à bas cisaillement peuvent être désagrégés quand le taux de cisaillement augmente. Le fibrinogène a souvent été considéré comme la protéine la plus importante dans l'agrégation (Maeda et al., 1986; Shiga et al., 1983; Game et al., 1996) car elle a une large taille (48 nm).

Plusieurs techniques expérimentales ont été proposées pour étudier l'agrégation, dont la transmission de lumière (Schmidt-Schönbein et al., 1972), la rétrodiffusion (Donner et al., 1988). Ces techniques donnent des indices d'agrégation et des seuils de désagrégation, mais sont limitées à des cisaillements supérieurs à 5 s^{-1} et sont représentatives de processus

d'agrégation rapide. Une meilleure compréhension du mécanisme de formation des rouleaux a pu être faite par rhéoscopie (Shiga et al., 1983; Chen et al., 1996) mais à bas hématicrite. A plus bas cisaillement et à hématicrite physiologique, la formation de larges agrégats et d'un réseau continu a été observée (Copley et al., 1975). Ces mesures ont un intérêt physio-pathologique, puisqu'on peut penser, à partir de ces observations, que le sang possède un seuil d'écoulement, directement relié à sa microstructure et à la formation d'agrégats. Cependant, les mesures rhéométriques avec des surfaces conventionnelles (parois lisses) présentent une décroissance de contrainte durant la durée du cisaillement (Cokelet et al., 1963; Cokelet 1972; Merrill et al., 1969), dont l'origine a été attribuée à la formation d'une couche plasmatique aux parois du rhéomètre. Plus largement, ces problèmes expérimentaux sont rencontrés sur de nombreuses suspensions (Barnes et al., 1995) et sont représentatifs du glissement de l'échantillon le long des parois du rhéomètre et de la migration des particules sous cisaillement. Après avoir proposé un dispositif expérimental permettant de limiter les effets du glissement, en utilisant des parois rugueuses (Picart et al., 1998), l'étude de l'importance relative de différents facteurs, tels que l'hématicrite et la concentration en fibrinogène (suspensions artificiellement préparées), puis l'application à des cas cliniques, sur 10 patients sclérodermiques sont ici présentées. Le but de la présente étude est de tester la dépendance de la décroissance de contrainte au taux de fibrinogène et à l'hématicrite, puis, après avoir trouvé les conditions optimales d'étude de sangs pathologiques, d'appliquer la méthode sur des sangs de patients sclérodermiques. Des observations microscopiques des échantillons ont été faites au repos afin de mieux comprendre les résultats sur la base de la microstructure.

METHODES EXPERIMENTALES.

Préparation des échantillons sanguins. Le sang des donneurs sains (CTS Grenoble) a été prélevé par vénipuncture et anticoagulé avec de l'EDTA. Le plasma était prélevé après centrifugation à 3000 tr.min pendant 10 min. Pour les suspensions artificielles, les globules étaient lavés deux fois dans du tampon phosphate (PBS, pH=7.4) et suspendues à deux nouvelles concentrations fixées à 0.45 et 0.60, dans du tampon contenant de l'albumine (50 g/l) et du fibrinogène (4, 7, 10 g/l). Ces hématicrites ont été choisis pour représenter i) l'hématicrite physiologique ii) une suspension plus concentrée au sein de laquelle les interactions individuelles sont augmentées. L'albumine et le fibrinogène étaient dilués dans le PBS avant la mise en suspension des globules rouges et la concentration en fibrinogène était vérifiée à la fin de l'opération par la méthode de thermocoagulation (Foster et al., 1959). Les valeurs finales (3.0, 4.5, 6.5 g/l) étaient de 25 à 30 % plus basses que prévues, probablement en raison d'une absorption du fibrinogène sur les globules ou sur les parois du tube. Les hématicrites finaux, contrôlés par un appareil Coulter (Coultronics) étaient de 44% \pm 1% et 57% \pm 1%.

En ce qui concerne l'étude sur les sangs pathologiques, les 10 patientes étaient atteintes de sclérodermie systémique et présentaient des capillaires péri unguéaux anormaux (pathologie atteignant le territoire microcirculatoire). Les échantillons étaient préparés par resuspension des globules dans le plasma natif, à 0.45 et 0.60. De hautes concentrations sont suspectées être présentes lors de stases microcirculatoires (zones d'écoulement ralenti). Des mesures à bas hématicrites auraient été intéressantes mais n'ont pas été possibles en raison de la limite en sensibilité du rhéomètre.

Rhéométrie. Les mesures de contraintes ont été faites en utilisant un rhéomètre coaxial de type Contraves Low shear 40, à vitesse imposée. Toutes les mesures ont été acquises avec des outils fabriqués sur mesure, et rendus rugueux par le collage de carbure de silicium sur les parois internes et externes. L'évaluation du dispositif a déjà été présentée en détail (Picart et al., 1997). La rugosité de surface, mesurée à l'aide d'un profilomètre, était de 170 μm . Pour cette géométrie, la contrainte théorique minimale mesurable est de 0.57 mPa. La calibration a été réalisée à l'aide d'huile silicone de viscosité connue. La température était réglée à 25°C. L'acquisition des données à bas cisaillement était automatisée.

Méthodologie. Après centrage du cylindre avec de l'eau distillée, les mesures étaient faites à haut cisaillement ($> 0.3 \text{ s}^{-1}$) par cisaillement décroissant de 100 à $3 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ en huit pas, en lisant la valeur stationnaire à chaque palier. Pour les cisaillements inférieurs, la procédure était accomplie : i) pré-cisaillement à 30 s^{-1} ; ii) courte période de repos (10s); iii) application d'un taux de cisaillement donné pendant une période donnée (Table 1). L'échantillon était agité entre chaque acquisition. Les résultats étaient analysés en terme de déformation totale et non en fonction du temps (déformation totale = taux de cisaillement que multiplie la durée ; $\gamma = \dot{\gamma} \times t_0$), paramètre adimensionnel. Deux paramètres étaient extraits des courbes expérimentales : σ_m et p_D (Fig. 1).

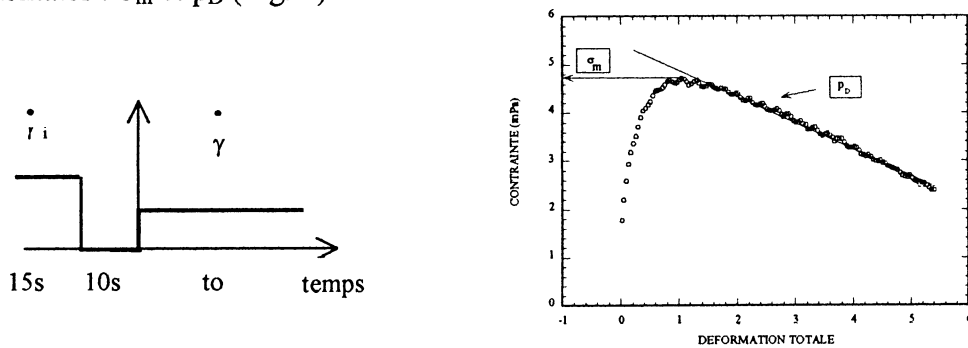


Fig 1. (A) Procédure d'acquisition des données avec un pré-cisaillement de 30 s^{-1} (les valeurs du taux de cisaillement sont données dans le tableau 1). (B) Courbes expérimentales tracées en terme de contrainte en fonction de la déformation totale. Les paramètres σ_m et p_D pouvaient être ainsi déduits (contrainte maximale et pente de décroissance)

$\dot{\gamma} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	Durée (t_0 en min)	Déformation ($\dot{\gamma} \times t_0$)
10^{-3}	20	1.2
3×10^{-3}	15	2.7
10^{-2}	5	3
3×10^{-2}	3	5.9

Table 1. Conditions expérimentales d'acquisition des données à bas cisaillement. Le temps d'acquisition et la déformation totale correspondante ($\gamma = \dot{\gamma} \times t_0$) ont été choisis de telle sorte que le temps total de procédure n'excède pas 50 min.

Paramètres biochimiques. Les concentrations en protéines ont été mesurées par la méthode standard d'électrophorèse de protéines.

Observations microscopiques. Les échantillons ont été observés avec un microscope (Zeiss, Axioskop) et des objectifs x10 (0.25 NA), et x40 à immersion (1.0 NA). Une goutte était déposée entre lame et lamelle. Des résultats préliminaires après traitement d'image ont permis de quantifier les structures formées et d'évaluer la largeur des branches du réseau.

Les analyses statistiques ont été menées avec le logiciel SPSS (7.01) et les différences évaluées avec un test Mann-Whitney. Pour évaluer la relation entre la contrainte seuil et les protéines plasmatiques, le coefficient de détermination (carré du coefficient de corrélation) a été considéré comme la proportion de variance totale expliquée par le taux de protéines.

RESULTATS

Influence de la concentration en fibrinogène. Les courbes de contrainte en fonction de la déformation présentaient de grandes différences en fonction de la concentration en fibrinogène, à 0.57 et 0.44 (Fig.2). La courbe correspondant à [Fb]=6.5 g/l présentait la plus forte décroissance au cours du temps.

Influence du taux de cisaillement. Aux hématocrites étudiés, aucune décroissance n'était observée pour une [Fb]= 3.0 g/l sur la gamme de cisaillement étudiée. Pour la [Fb]= 4.5 g/l, la décroissance de contrainte était significative aux cisaillements inférieurs à 10^{-2} s^{-1} mais non au dessus. En revanche, un cisaillement de $3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ était nécessaire pour que les effets de migration et de glissements soient limités pour la [Fb]=6.5 g/l (Fig. 3).

Validité des mesures rhéométriques.

L'acquisition des courbes contrainte-déformation en fonction des différents paramètres a permis de construire la table de validité des mesures rhéométriques. La mesure de contrainte était considérée fiable quand la décroissance était inférieure à 0.2 mPa par unité de déformation. La tableau 2 résume les conditions de validité des mesures en fonction de l'hématocrite, du taux de fibrinogène, du taux de cisaillement, pour le système à parois rugueuses utilisé dans cette étude. Par exemple, les mesures à hématocrite 0.57 et [Fb]=6.5 g/l étaient fiables pour des cisaillements supérieurs à 10^{-2} s^{-1} , alors qu'à 0.44, un taux de cisaillement de $3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ était requis.

H (%)	Fb g/L	10^{-3} s^{-1}	$3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	10^{-2} s^{-1}	$3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$
44	3	NM	NM		
	4.5	NM	NM		
	6.5	NM	NM		
57	3				
	4.5				
	6.5				

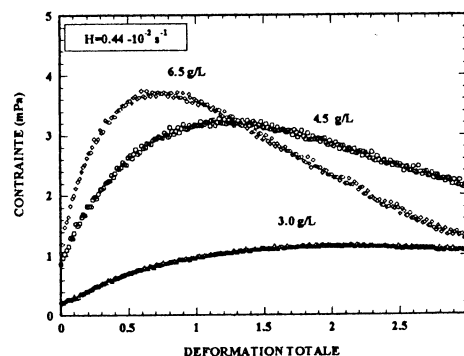


Table 2. Domaines de validité de la mesure de contrainte pour une surface de rugosité $170 \mu\text{m}$ en fonction du taux de cisaillement, de l'hématocrite, de la concentration en fibrinogène. Les cases grises représentent les mesures pour lesquelles la décroissance est supérieure à 0.2 mPa par unité de déformation, les cases NM (non mesuré) représentent la gamme dans laquelle aucune mesure n'était possible en raison des limites en sensibilité du rhéomètre.

Fig. 2. Contrainte en fonction de la déformation à 10^{-2} s^{-1} pour un échantillon à hématocrite 0.44 et trois concentrations en fibrinogène 3.0 , 4.5 et 6.5 g/L. Une décroissance de contrainte significative était présente pour [Fb]=4.5 et 6.5 g/L.

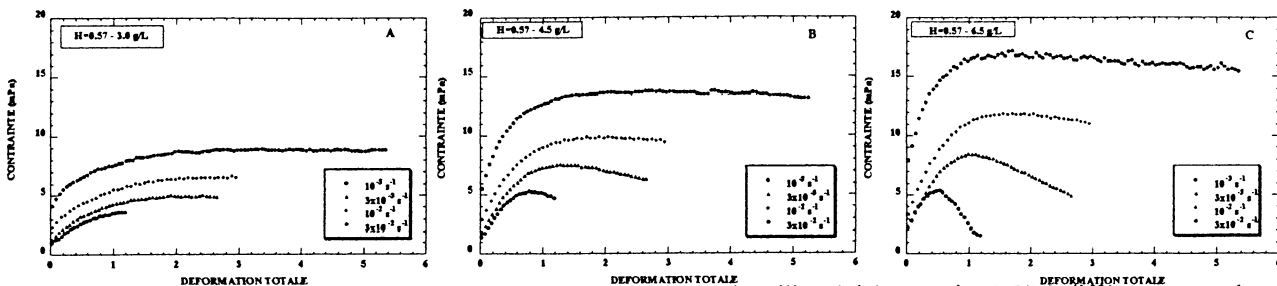
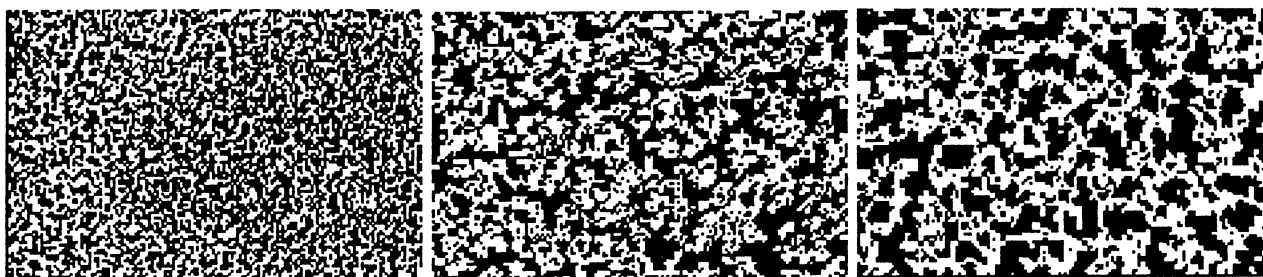


Figure 3. Contrainte en fonction de la déformation pour un échantillon à hémocrite 0.57 à différents taux de cisaillement (●) 10^{-3} s^{-1} , (▲) $3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, (◆) 10^{-2} s^{-1} , et (○) $3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, pour trois concentrations 5A) 3g/l (B) 4.5 g/l; (C) 6.5 g/l.

Les observations microscopiques au repos ont donné des informations sur la microstructure des échantillons (Fig. 4). Pour une concentration en fibrinogène de 3.0 g/l, l'échantillon était formé de petit rouleaux épars très peu connectés. Leur longueur était de l'ordre de 10 à 20 μm . A 4.5 g/l, les rouleaux étaient plus longs et interconnectés. Des structures en branches étaient visibles, de longueur 30 à 50 μm . A 6.5 g/l, l'échantillon avait percolé et un réseau continu de larges amas était formé (de taille 50 à 100 μm).



[Fb]= 3g/l – index de structure = 2.05 [Fb]=4.5 g/l – index de structure = 3.2 [Fb]= 6.5 g/l – index de structure = 4.2

Figure 4. Images binaires (grossissement x160) pour trois échantillons à différentes concentrations en fibrinogène.

Courbes de contrainte-déformation pour des patients sclérodermiques. Les valeurs de contrainte maximale étaient significativement plus élevées chez les sclérodermiques. Pour la quasi-totalité des sujets, la contrainte atteignait une valeur stable, y compris au cisaillement de 10^{-3} s^{-1} ; c'est cette valeur de contrainte que nous avons considérée pour estimer le seuil de contrainte. Cependant, chez quelques patients, la décroissance de contrainte était prononcée aux deux plus bas cisaillements (Fig. 5). Par conséquent, dans ce cas, la contrainte seuil a été estimée comme étant la valeur extrapolée à déformation 0.

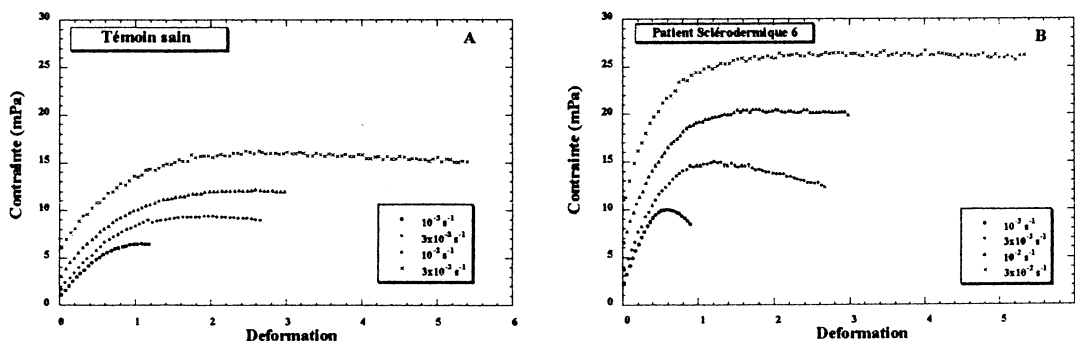


Figure 5. Contrainte en fonction de la déformation à hémocrite 0.60 pour les cisaillements inférieurs à $3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour (A) un témoin sain (B) un patient sclérodermique. Pour ce patient, les effets de migration et de glissement étaient très prononcés mais limités aux taux de cisaillement supérieurs à $3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

La valeur du seuil de contrainte était supérieure de 56% chez les sclérodermiques ($p=0.03$; Fig. 6A). La corrélation entre les protéines plasmatiques et la contrainte seuil était significative, la meilleure corrélation étant obtenue pour le rapport albumine / globulines ($R=-0.81$, Fig. 6B). Les observations microscopiques ont mis en évidence des organisations structurales différentes pour les sangs dont le comportement rhéologique était anormal. La figure 7 présente quatre échantillons (A) un témoin, (B) le patient 7 dont le comportement rhéométrique est proche de celui des témoins, (C) le patient 6 et (D) le patient 9 dont les courbes contrainte-déformation présentaient les plus fortes décroissances. Pour ces échantillons, contrairement aux rouleaux linéaires observés pour les sangs témoins, les structures formées étaient plus cohésives et non linéaires. Les amas étaient reliés par plusieurs connexions.

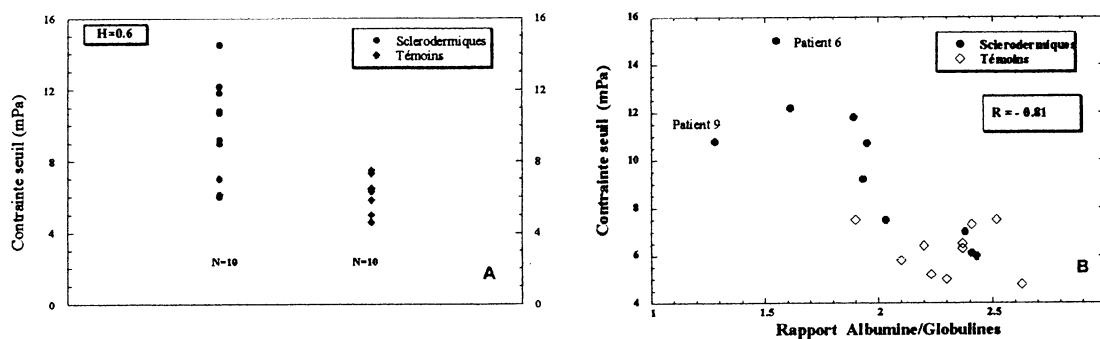


Figure 6. (A) Contrainte seuil à 0.60 pour les patients sclérodermiques et les témoins. Chaque point représente un sujet. contrainte seuil était significativement plus élevée pour les sclérodermiques (N, nombre de sujets). (B) Corrélation entre le taux de protéines plasmatiques (rapport albumine sur globulines) et la contrainte seuil ($R=-0.81$).

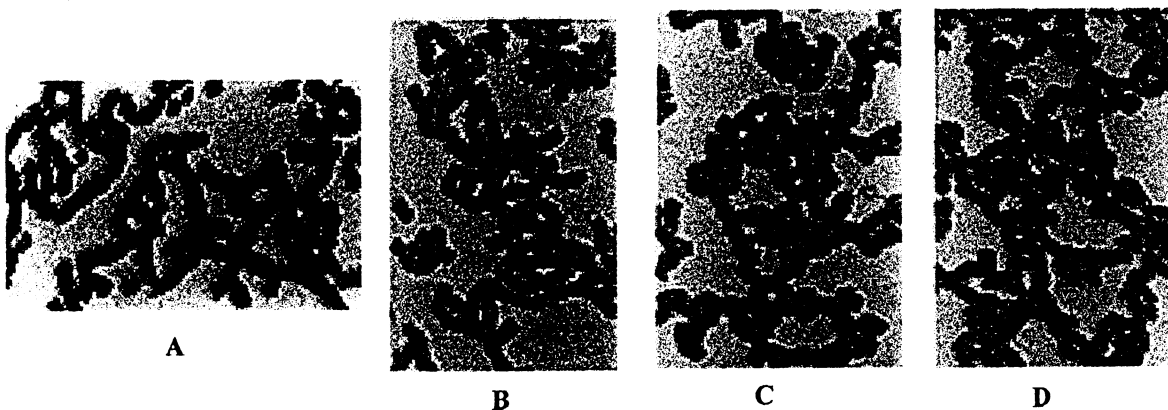


Figure 7. Photographie d'échantillons sanguins au grossissement $\times 640$. (A) témoin 5 à hématocrite 0.37. (B) patient sclérodermique 7 à 0.38. (C) patient sclérodermique 6 à 0.40. Des amas de globules rouges compactés sont visibles. (D) patient 9 à hématocrite 0.45. Les agrégats sont compacts.

DISCUSSION

Validité des mesures. L'étude de la décroissance de contrainte au cours de la période de cisaillement a permis de définir la zone de validité des mesures pour des suspensions artificielles (Table 2) ainsi que pour des sangs pathologiques. La décroissance de contrainte a été attribuée, dans le passé, à la sédimentation (Quemada et al., 1981) et à la migration sous cisaillement (Cokelet, 1972). Ainsi, il est important de comparer la constante de temps de la

formation d'agrégats au constante de temps des différents phénomènes physiques présents. A 0.60, la sédimentation est négligeable, et ne peut être responsable de la décroissance de contrainte observée pour les échantillons à fort taux de fibrinogène. Par ailleurs, il a été montré que cette décroissance dépend de la nature de la surface (Picart, 1997), suggérant que d'autres facteurs interviennent. Le rôle des interactions globules-globules et globules-parois dans ces conditions semble être crucial. Les résultats suggèrent que l'exclusion physique des structures près des parois, conduisant à la décroissance de contrainte, dépend de l'échelle de longueur de la microstructure par rapport à la rugosité de paroi. Cette échelle de longueur, dans l'échantillon, dépend de son hématoците, du taux de fibrinogène, et du taux de cisaillement. Cela implique que les études réalisées sur des échantillons à concentration élevée en protéines doivent être conduites très prudemment.

Pour une concentration en fibrinogène donnée, les effets perturbateurs diminuaient quand le taux de cisaillement est augmenté, ce qui peut expliquer pourquoi d'autres études se sont limitées à des taux de cisaillement bien supérieurs (Rampling, 1990). Ceci va dans le sens d'une diminution de la taille des agrégats et des rouleaux quand le taux de cisaillement augmente, ainsi qu'il l'a été montré à bas hématoците (Chen et al., 1996) et par modélisation (Murata et Secomb, 1988).

Une augmentation d'hématoците contribue également à limiter les effets instationnaires. Pour les patients sclérodermiques, ceci a permis une estimation de la valeur de la contrainte seuil à 0.57. Ce seuil peut être légèrement sous-estimé comparé à sa valeur au repos, car une plus longue période d'acquisition peut être requise pour atteindre une valeur stationnaire (> 20 min).

Rôle des facteurs plasmatiques et cellulaires. Les résultats montrent que la contrainte seuil et les niveaux de contrainte étaient plus élevés chez les patients sclérodermiques et pour des sangs à forte concentration en fibrinogène. Parallèlement, les observations microscopiques ont montré la présence de gros agrégats et amas, comparativement aux rouleaux linéaires observés pour les sangs témoins. Ces résultats, certes préliminaires, demandent à être approfondis.

Le rôle exact des protéines plasmatiques est difficile à évaluer. Bien que le rôle primordial du fibrinogène ait été évoqué (Maeda et Shiga, 1986), sa concentration n'explique que 25% de la variance de la contrainte seuil chez les sclérodermiques, alors que le rapport albumine/globuline en explique 64%. Ces protéines avaient déjà été pressenties pour jouer un rôle important (Donner et al., 1988).

De plus, les différences entre groupes étaient plus prononcées à concentration 0.60 qu'à 0.45, indiquant que les facteurs cellulaires peuvent également affecter les propriétés des globules rouges et influencer leur agrégation. Récemment, une étude *in vivo* (Pries et al., 1997) indiquait que la couche macromoléculaire (glycocalyx) à la surface du globule, contribue significativement à la résistance au flux microcirculatoire *in vivo* et qu'elle pourrait être affectée par la modification de la composition protéique.

Importance de l'agrégation in vivo. Bien qu'il soit difficile d'extrapoler le processus se produisant dans un rhéomètre à celui présent dans de petits vaisseaux, où le cisaillement et la contrainte seuil pourraient être supérieurs (Lipowsky et al., 1978). Même si la formation de réseau ne peut se produire en raison des contraintes géométriques, une étude récente a mis en évidence que l'agrégation est le facteur principal influençant la conductance vasculaire et qu'il

la réduit de 50% pour un flux normal (Cabel et al., 1997). De plus, des observations in vivo ont montré la présence d'une couche centrale de globules rouges entourée d'une couche pariétale déplétée en cellules (Tateishi et al., 1994), ce qui signifie que le taux de cisaillement effectif au sein de la couche centrale est bien plus bas. Si la formation d'agrégats est favorisée, telle qu'il l'apparaît pour des échantillons à forte concentration en fibrinogène (Fig. 4), des problèmes d'écoulement pourraient survenir.

En ce qui concerne les patients sclérodermiques, une agrégation accrue pourrait initier le ralentissement circulatoire, puis conduire à une stase. In vivo, de telles complications microcirculatoires ont été observées chez des sclérodermiques, chez lesquels les capillaires sont anormaux et géants (Carpentier et Maricq, 1990 ; Hahn et al., 1995). Ainsi, si des désordres rhéologiques s'ajoutent aux anomalies vasculaires, on peut penser qu'une contrainte seuil élevée sera un facteur contribuant à la réduction de perfusion tissulaire conduisant à l'ischémie. Ainsi, il paraît important de prendre en compte la dimension rhéologique dans le traitement de cette pathologie.

CONCLUSIONS

L'influence de plusieurs paramètres (hématocrite, taux de fibrinogène et de cisaillement) a été évaluée sur les mesures rhéométriques à bas cisaillement, faites avec des cylindres à parois rugueuses. Les courbes de contrainte – déformation ont permis de caractériser la décroissance de la contrainte au cours de la période de cisaillement, quand celle-ci était présente, et de définir une zone de validité des mesures rhéométriques. Deux applications ont été présentées : la première concerne des suspensions artificielles à forte concentration en fibrinogène, pour lesquelles différents états d'agrégations ont été observés, la deuxième a porté sur l'étude de cas cliniques (patients sclérodermiques); il a été montré que ceux-ci présentaient un seuil de contrainte à hématocrite 0.60 significativement plus élevé que pour les témoins et que la variation du seuil était bien corrélée au rapport des protéines albumine / globulines. Ces résultats renforcent l'hypothèse d'un processus anormal d'organisation des globules rouges chez les sclérodermiques, qui pourrait être responsable de complications ischémiques de la maladie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barnes, HA. A review of the slip (wall depletion) polymer solutions, emulsions and particle suspensions in viscometers : its cause, character and cure. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* . 54: 221-251, 1995.
- Cabel, M., Meiselman H.J, Popel A.S, et P.C. Johnson. Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 272: H1020-H1032, 1997.
- Carpentier, P.H, et H.R. Maricq. Microvasculature in systemic sclerosis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 16(1): 75-91, 1990.
- Chen S, Eldor A, Barshtein G, Zhang S, Goldfarb A, Rachmilewitz E, et S.Yedgar. Enhanced aggregability of red blood cells of β -thalassemia major patients. *American Journal of Physiology*. 270 (Heart Circulation Physiology 39): H1951-H1956, 1996.
- Chien S, Usami S, Dellenback R.J, et M.I Gregersen. Shear dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood. *American Journal of Physiology*; 219:136-142, 1970.
- Chien S, et L.A. Sung. Physical basis and clinical implications of red blood cell aggregation. *Clin. Hemorheology* 7: 71-91, 1987.
- Cokelet G.R., Merrill E.W, Gilliland E.R, et H. Shin. The rheology of human blood - Measurement near and at zero shear rate. *Trans. Soc. Rheol.* 7: 303-317, 1963.
- Cokelet, G.R. The rheology of human blood. In Biomechanics, its foundations and objectives. Y.C. Fung, N. Perrone, and M. Anliker, editors. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA, 1972, 63-103.
- Copley A.L, King R.G, Chien S, Usami S, Skalak R, et CR Huang. Microscopic observations of viscoelasticity of human blood in steady and oscillatory shear. *Biorheology*.12:257-263, 1975.

- Donner M., Mills P, et J.F. Stoltz. Influence des protéines plasmatiques sur l'agrégation érythrocytaire. In Hemorheology and red blood cells aggregation : clinical applications - Volume 2. J.F. Stoltz, Editor. E.M. Inter, Paris, 1988, 3-9.
- Foster J.B.T, DeNatale A, et L.B. Botti. Determination of plasma fibrinogen by means of centrifugation after heating. *Am. J. clin. Pathol.* 31(1):42-45, 1959.
- Game L, Voegel J.C, Schaaf P, et J.F Stoltz. Do physiological concentrations of IgG induce a direct aggregation of red blood cells : comparison with fibrinogen. *Biochemica Biophysica Acta.* 1291:138-142, 1996.
- Hahn M., Klyszcz Th., Junger M., et G. Rassner. Local cold exposure test as therapy control in patients with Raynaud's phenomenon : comparison between laser Doppler fluxmetry and simultaneous red blood cell velocity measurements in nailfold capillaries. *Br. J. Dermatol.* 133: 704-709, 1995.
- Lipowsky H.H, Kovalcheck S, et B. Zweifach. The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circulation Research.* 43(5):738-749, 1978.
- Maeda N., et T. Shiga. Opposite effect of albumin on the erythrocyte aggregation. *Biochim. Biophys. Acta.* 855: 127-135, 1986.
- Merrill E.W. Rheology of blood. *Physiological Review.* 49(4):863-888, 1969.
- Murata T, et T.W Secomb. Effects of shear rate on rouleau formation in simple shear flow. *Biorheology.* 8;25:113-122, 1988.
- Picart C. Rhéométrie de cisaillement et microstructure du sang. These de Génie Biologique et Médical, Université Joseph Fourier, Grenoble, Novembre 1997.
- Picart C., Piau J.M, Galliard H., et P.H Carpentier. Blood yield stress and its hematocrit dependence. *J. Rheol.* 42(1): 1-12, 1998.
- Pries A.R, Secomb T.W, Jacobs H, Sperandio M, Osterloh K, et P. Gaehtgens. Microvascular blood flow resistance : role of endothelial surface layer. *Am. J. Physiol.* 273(5): H2272-H2279, 1997.
- Quemada D, Mills P, Dufaux J, Snabre P, et M. Lambert. Sedimentation effects in viscometric measurements. Application to normal and pathological human blood studies. In Hemorheology and diseases. Proceeding of the first European conference on clinical hemorheology (Nancy 17-19 October 1979) . J.F. Stoltz and P. Drouin Eds., Doin, Paris, 1981:31-42.
- Rampling M.W. Blood viscosity characteristics and red cell aggregation. In: Rheology of food and biological materials with general rheology. R.E. Carter, ed. Elsevier:London and New York, 1990:101-112.
- Schmid-Schonbein H, Volger E, et H.J Klose. Microrheology and light transmission of blood. II - Photometric quantification of red blood cell aggregate formation and dispersion in flow. *Pflügers Archives.* 2,354:299-307, 1972.
- Shiga T, Imaizumi K, Harada N, et M Sekiya. Kinetics of rouleaux formation using TV image analyzer. I. Human erythrocytes. *American Journal of Physiology.* 245:H252-H258, 1983.
- Tateishi N, Suzuki I, Soutani M, et N Maeda. Flow dynamics of erythrocytes in microvessels of isolated rabbit mesentery : cell-free plasma layer and flow resistance. *Journal of Biomechanics.* 27(9):1119-1125, 1994.

COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE DE L'ALBUMEN DU BLE. INFLUENCE DES FACTEURS GENETIQUES ET AGRONOMIQUES

Y. Haddad, J.C.Benet, A.Mermet

Laboratoire de Mécanique et Génie Civil, UMR 5508 CNRS, Université Montpellier II,
cc 034, Place E. Bataillon, 34 095 Montpellier cedex 5, France

Résumé

A partir d'une méthode simple et rapide d'usinage d'éprouvettes parallélépipédiques dans un grain, on propose une étude du comportement rhéologique de l'albumen du blé à partir d'essais de compression jusqu'à rupture, d'essais de fluage et de relaxation.

Les essais de compression ont été menés pour analyser l'effet de la variété (Soft, hard, dur), de la vitrosité (vitreux ou farineux) et de la teneur en eau

Les essais de fluage et relaxation ont été effectués afin de préciser le comportement viscoplastique de certaines variétés de blé (hard vitreux et dur vitreux). Cette étude conduit à l'élaboration de modèles d'écoulement viscoplastique lorsque se manifeste un fluage secondaire ou primaire. La teneur en eau influe fortement sur la ductilité et joue un rôle d'agent plastifiant.

Introduction

La dureté et la vitrosité sont des propriétés de l'albumen utilisées pour caractériser sa texture. La vitrosité est une propriété optique déterminée par le degré de translucidité de l'albumen. Les grains vitreux apparaissent avec un albumen compact et translucide alors que les grains farineux se présentent avec un albumen blanc d'apparence farineuse et opaque. La dureté est une caractéristique mécanique traduisant l'état de cohésion du grain, elle se manifeste à travers le degré de friabilité de l'albumen et se mesure par la taille des fragments résultants d'un broyage d'un lot de grains dans des conditions normalisées [1]. C'est ainsi que l'on peut distinguer les blés durs des blés tendres et, au sein de ces derniers, le blé hard du blé soft. La vitrosité est liée aux conditions de culture alors que la dureté est contrôlée par le patrimoine génétique de la plante.

A partir d'une série d'essais de compression sur l'albumen farineux et vitreux de différentes variétés de blés (soft, hard et dur), nous avons tenté de clarifier les notions de vitrosité et de dureté à partir des caractéristiques mécaniques de l'albumen.

L'albumen vitreux de certaines variétés de blé présente parfois une grande ductilité avant la rupture. La présence de ductilité, qui permet de retarder la fissuration dans l'albumen est un phénomène de plasticité à grande déformation et nous avons voulu préciser davantage la nature de cette plasticité par des essais de fluage et de relaxation.

Matériels et Méthodes

Variétés de blés utilisées

Pour cette étude nous avons sélectionné deux variétés de blé tendre : une soft (*Triticum aestivum* cv.Scipion) et une hard (*T.aestivum* cv. Baroudeur) et une variété de blé dur (*T.durum* cv. Nefer).

Usinage des éprouvettes

A partir d'une méthode simple et rapide d'usinage par abrasion d'éprouvettes dans un grain de blé décrite en [3], nous avons tiré des échantillons d'albumen farineux et vitreux des différentes variétés. Les éprouvettes parallélépipédiques qui correspondent à la dernière étape d'usinage (figure 1) sont utilisés par la suite pour tous les essais. La figure 1 présente également la position des éprouvettes dans le grain de blé.

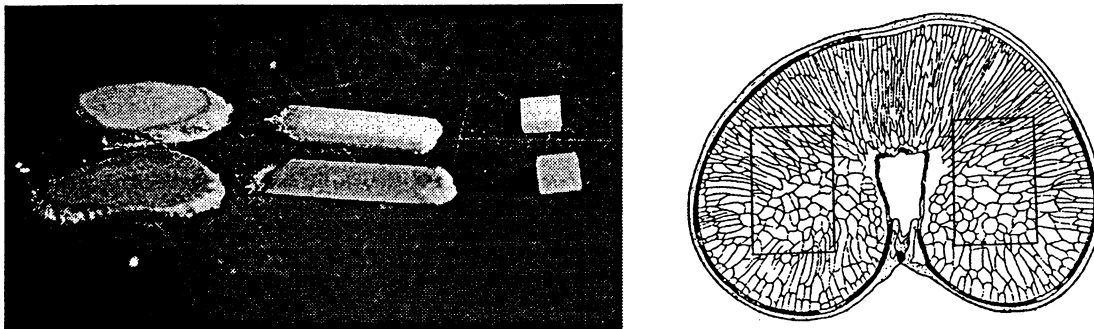


figure 1 : Différentes étapes dans l'usinage d'éprouvettes d'albumen vitreux et farineux.
Position des éprouvettes à l'intérieur du grain

Conditionnement des éprouvettes en teneur en eau

Pour réguler la teneur en eau, les éprouvettes sont placées dans des enceintes fermées, régulées en température, au-dessus de solutions saturées de sels régulant l'humidité relative de l'air. Nous avons conditionné les échantillons à une température de 30°C pour des valeurs de l'humidité relative (HR) suivante : 52% (Na₂Cr₂O₇), 63% (NaNO₂), 75% (NaCl) et 85% (KCl), ce qui correspond à des teneurs en eau de l'albumen de 12, 15, 17 et 22 %.

Machine d'essai et essais mécaniques

Pour l'ensemble des essais quasi-statiques, nous avons utilisé l'analyseur de texture TAXT2/25, qui peut supporter une charge maximale de 25 daN. Des essais de compression uniaxiale non confinée, des essais de fluage et des essais de relaxation ont été réalisés sur des échantillons parallélépipédiques.

Présentation des résultats

Essais de compression : influence de l'origine génétique et des conditions culturales

Sur les figures 2 et 3 les courbes sont paramétrées par la dureté : D(dur), H(hard), S (soft). Ces courbes correspondent à une teneur en eau de 12%. La figure 2 correspond à de l'albumen farineux alors que la figure 3 à de l'albumen vitreux.

A 12% les figure 2 et 3 montrent clairement que les propriétés rhéologiques de l'albumen du grain sont influencées à la fois par l'origine génétique et par la vitrosité des grains.

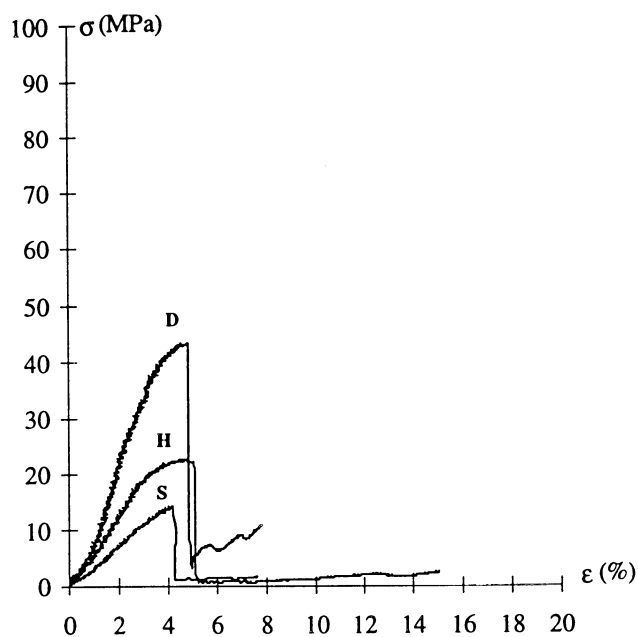


Figure 2 : Courbes moyennes de compression de l'albumen **farineux** des différentes variétés de blé (D :dur (Nefer), H : hard (Baroudeur) et S : soft (Scipion).
w =12%

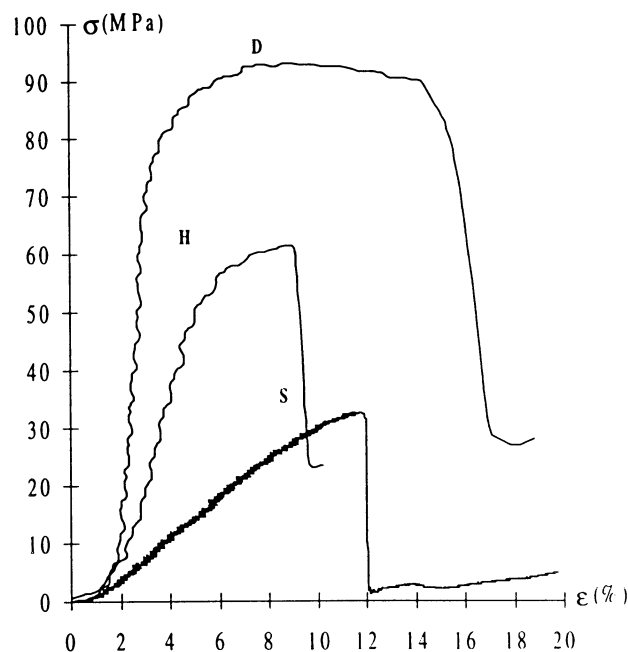


Figure 3 : Courbes moyennes de compression de l'albumen **vitreux** des différentes variétés de blé (D :dur (Nefer), H : hard (Baroudeur) et S : soft (Scipion).
w =12%

Dans les deux cas, albumen farineux ou albumen vitreux, il y a une nette influence de l'origine variétale du blé sur les courbes de compression. C'est ainsi que le module d'élasticité (E) d'un blé soft (Scipion) varie du simple au double par rapport à un blé hard (Baroudeur) et du simple au triple par rapport à un blé dur (Nefer). La contrainte maximale de rupture (σ_{rup}) et l'énergie de rupture (W_{rup}) sont influencées de manière très significative à la fois par l'origine génétique et par l'état de vitrosité (tableau I).

Quel que soit son état de vitrosité, le blé soft (Scipion) se caractérise par un comportement élastique avec une rupture de type fragile. Les blés farineux présentent une rupture fragile quelle que soit la dureté. L'albumen vitreux du blé hard (Baroudeur) et l'albumen vitreux du blé dur (Nefer) présentent un domaine plastique bien marqué et la rupture est de type ductile.

L'albumen possède des caractéristiques mécaniques propres à sa variété et ceci qu'il soit dans un état farineux ou vitreux. Ainsi le module d'élasticité de l'albumen d'un blé hard entièrement vitreux est toujours inférieur au module d'élasticité de l'albumen d'un blé dur même entièrement farineux, il en est de même entre blés soft et hard. Par ailleurs le blé dur se différencie des autres variété par l'allure de la courbe de compression qui développe une plage de plasticité beaucoup plus importante.

variété	vitrosité	W (%)	E (Gpa)	σ_{rup} (MPa)	W_{rup} (MJ/m ³)	ϵ_{rup} (%)	σ_s (MPa)
Soft (Scipion)	Farineux	12%	0,25	13,3	0,32	4,5	10
		17%	0,2	11	0,54	6,7	9
	vitreux	12%	0,3	32,5	1,78	11	30
		17%	0,4	23	0,71	5	19
hard (Baroudeur)	Farineux	12%	0,55	22,5	0,7	5,5	18
		17%	0,45	22	0,44	6	18
	vitreux	12%	0,8	62	3,26	9	35
		15%	0,55	42	3	13	25
		17%	0,5	41	2,94	13	25
		22%	0,4	20	1,05	15	9
dur (Nefer)	Farineux	12%	1,25	43	1,1	5,5	35
		17%	0,9	26	0,84	4	25
	vitreux	12%	4,6	93	7,35	10	45
		17%	2,2	49	2,89	8	25

σ_s : limite élastique

σ_{rup} : Contrainte de rupture

E : module d'élasticité

ϵ_{rup} : déformation à la rupture

W_{rup} : énergie de rupture

Tableau I : Valeurs moyennes des différentes caractéristiques mécaniques de l'albumen (la moyenne est prise sur 4 à 8 essais)

Essais de compression : influence de la teneur en eau

Pour étudier l'influence de la teneur en eau sur les propriétés mécaniques de l'albumen nous avons effectué des essais de compression sur l'albumen vitreux du blé hard à 12, 15, 17 et 22% de teneur en eau (figure 4).

La courbe moyenne de compression de l'albumen vitreux à 12% montre une partie linéaire jusqu'à une limite élastique de l'ordre de 35 MPa, ensuite le matériau présente un état de déformation plastique jusqu'à la rupture. A 15 et 17% on observe un comportement similaire à celui de 12% avec une légère augmentation du domaine plastique. Il n'y a pas de différences significatives entre les courbes à 15 et à 17 %. Par contre à 22% on observe un comportement à la compression complètement différent qui se traduit par un écoulement important ainsi qu'une chute des valeurs des autres caractéristiques. Le matériau a tendance à s'écouler.

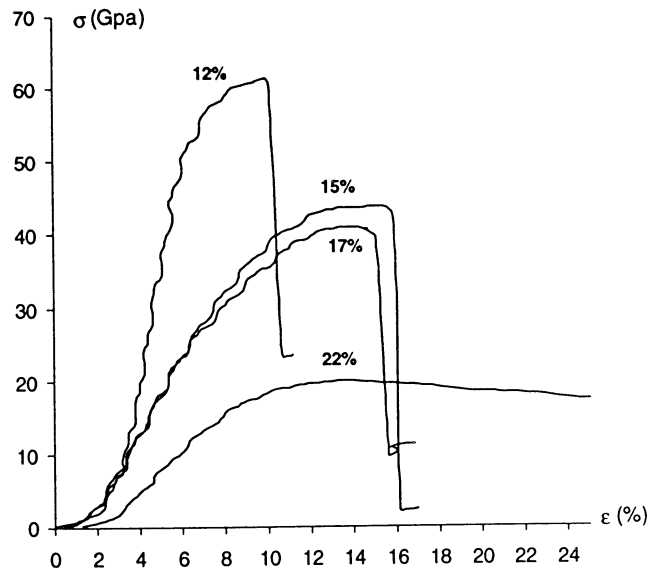


Figure 4 : Courbes moyennes de compression de l'albumen vitreux du Baroudeur (hard) à 12, 15, 17 et 22 % de teneur en eau.

Pour cette variété les essais effectués permettent de donner une évolution de caractéristiques mécaniques avec la teneur en eau entre 12 et 22% (figure 5). Les lois expérimentales exprimées en puissance de la teneur en eau sont les suivantes :

$$E = 12.22 W^{-1.12} \text{ (W en \%)}$$

$$\sigma_{rup} = 5851 W^{-1.81} \text{ (W en \%)}$$

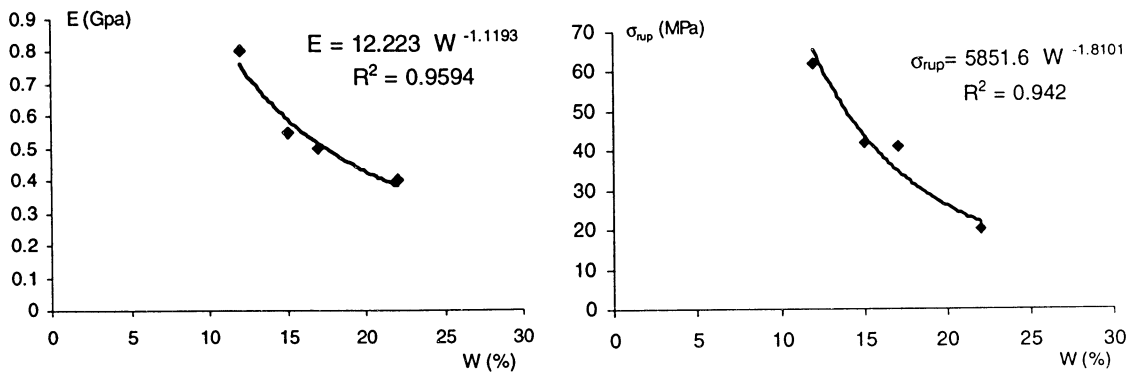


Figure 5 : Variation de E et σ_{rup} en fonction de la teneur en eau

L'eau possède un rôle classiquement lubrifiant ou plastifiant, traduit par une baisse de la contrainte de rupture et du module d'élasticité et un accroissement de la déformation à la rupture.

Essais de fluage et de relaxation – Lois de comportement

Les essais de compression ont mis en évidence la présence d'une plasticité importante de l'albumen vitreux du blé hard et dur (figure 3). Dans ce qui suit on va essayer d'une part, établir des lois de comportement de l'albumen à travers des essais de fluage et de relaxation et, d'autre part, étudier l'influence de la teneur en eau sur ces lois de comportement.

Essais de fluage

Dans le cas de la viscoplasticité, qui est le point de vue adopté ici, la courbe de fluage présente généralement trois phases

- Une première phase de fluage primaire au cours de laquelle la vitesse de fluage $\dot{\epsilon}_{vp}$, initialement très grande, diminue.
- Une phase de fluage secondaire (ou stationnaire) pendant laquelle la vitesse de fluage $\dot{\epsilon}_{stat}$ est pratiquement constante
- Une phase de fluage tertiaire où la vitesse augmente jusqu'à la rupture.

Par la suite on abordera essentiellement le fluage secondaire pour établir les lois expérimentales et nous les généraliseront aux états transitoires grâce au concept de la contrainte interne (σ_i) [4].

Sur la figure 6 sont présentés les différents réseaux de fluage concernant les blés hard vitreux et dur vitreux à 12 et 17 % de teneur en eau. Ces courbes expérimentales sont paramétrées par la contrainte appliquée (σ_a).

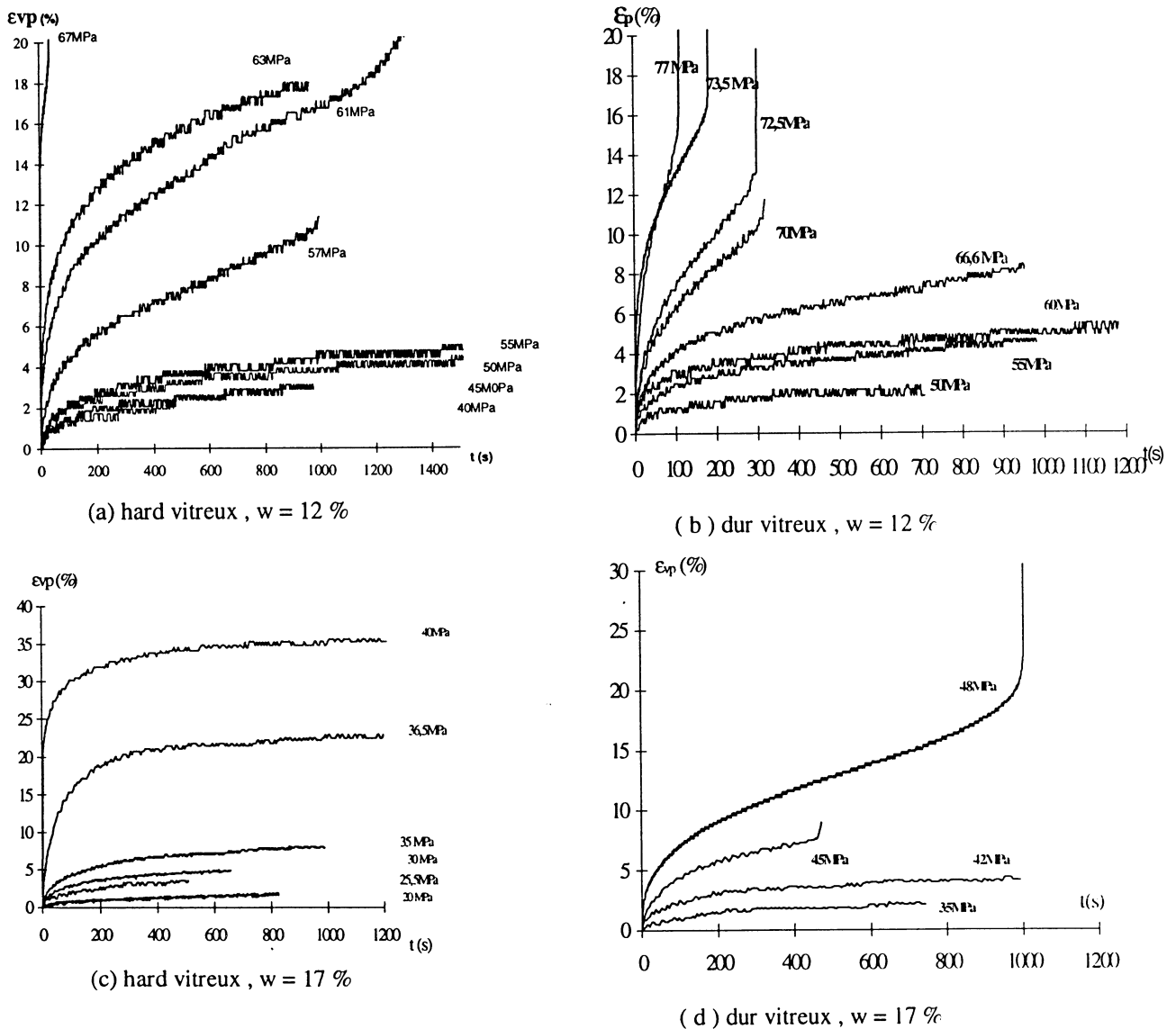


Figure 6 : Courbes de fluages pour le blé hard vitreux à 12% (a) et 17% (c) et pour le blé dur vitreux à 12 % (b) et 17% (d).

Les essais de fluage effectués sur les deux variétés à 12% (figures 6(a) et 6(b)) montrent le même type de réseau à savoir la persistance d'un fluage primaire aux faibles charges et l'apparition d'états stationnaires aux fortes charges. Le réseau du blé dur est mieux défini que celui du blé hard, cependant aux fortes charges les états stationnaires sont limités par du fluage tertiaire qui amène le matériau à rupture. Notons qu'aux faibles charges la déformation ne dépasse pas 5% alors qu'aux fortes charges elle peut atteindre 15%, ce seuil de type viscoplastique est cependant plus marqué pour le blé hard.

Les réseaux de courbes de fluage obtenues pour les deux variétés à 17% (figures 6(c) et 6(d)) montrent que le comportement du blé dur n'est pas modifié, il y a toujours apparition d'états stationnaires. Le blé hard présente un réseau de fluage à 17% différent du 12% : le fluage primaire persiste tout au long de l'essai même aux fortes charges. Le réseau est marqué par un seuil viscoplastique avec apparition d'une déformation plastique instantanée importante de l'ordre de 20% à 40MPa.

Essais de relaxation

La courbe de relaxation représente l'évolution en fonction du temps de la contrainte appliquée pour une déformation constante imposée. Cette courbe ne présente pas généralement de rupture de pente qui pourrait permettre de situer des phases caractéristiques. On constate en général que la contrainte tend vers une limite, caractéristique du matériau et de la déformation imposée appelée contrainte interne relaxée (σ_i) [4]. Les essais de relaxation effectués sur de l'albumen du blé dur à 17% (figure 7) montrent que la contrainte interne est évolutive en fonction du chargement et qu'ensuite elle se stabilise à la valeur de 34MPa.

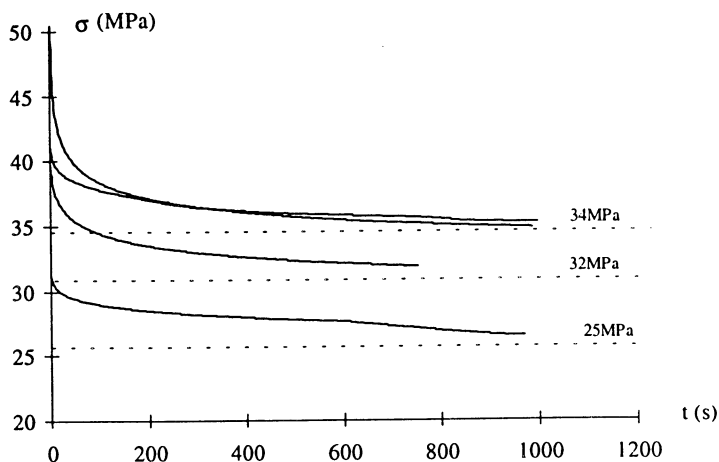


Figure 7 : Courbes de relaxation du blé dur vitreux à 17%

Le matériau subit un durcissement durant la déformation qui évolue en fonction du chargement, il rentre ensuite dans un état d'équilibre où la structure se restaure autant qu'elle durcit, la contrainte interne devient alors constante. Ce comportement en relaxation justifie une loi cinématique, qui tient compte de l'évolution de l'état de dureté de la structure [4] :

$$\dot{\sigma}_i = h \dot{\epsilon} - r$$

avec h : terme qui dépend du niveau de déformation et qui traduit le durcissement structurale

r : terme qui dépend du niveau de la contrainte interne et qui traduit la restauration

Lois de comportement

A partir des essais de fluage et de relaxation nous allons tenter d'établir des lois permettant de décrire de manière quantitative le comportement du matériau dans le domaine viscoplastique. L'analyse des réseaux de fluages représentés figures 6-a, 6-b et 6-d montre qu'aux faibles charges on observe essentiellement du fluage primaire. Pour les fortes charges l'écoulement stationnaire est nettement plus marqué, en effet la période de fluage primaire a diminué et le fluage stationnaire s'étale sur de longues périodes. La figure 7 montre qu'aux faibles charges la structure subit un durcissement isotrope qui engendre un état de contrainte interne σ_i évolutif tandis qu'aux fortes charges, où les états stationnaires sont possibles, la structure est en équilibre ce qui correspond à une contrainte interne constante [4]. Les points expérimentaux sont représentés figure 8.

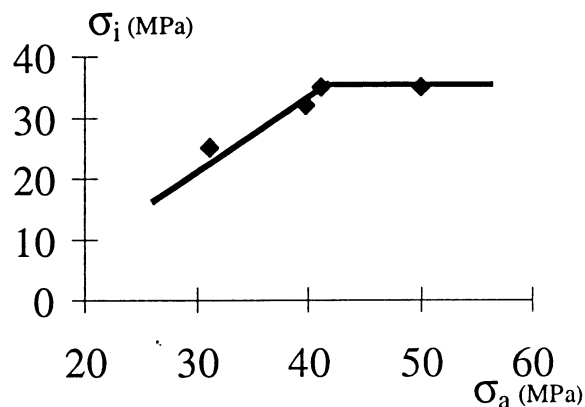


Figure 8 : Evolution de la contrainte interne en fonction de la contrainte appliquée. (albumen du blé dur à 17%)

Dans les deux cas, fortes ou faibles charges, la vitesse d'écoulement au fluage n'est pas contrôlée par la contrainte appliquée (σ_a), mais par la contrainte dite effective (σ_{eff}) définie par :

$$\sigma_{eff} = \sigma_a - \sigma_i$$

Nous avons représenté figure (9) l'évolution de la vitesse de déformation en fluage stationnaire en fonction de la contrainte effective. Une loi d'écoulement viscoplastique unique apparaît, elle est de la forme :

$$\dot{\epsilon}_{stat} = 2.07 \times 10^{-11} (\sigma_{eff})^6 \quad \text{avec} \quad \dot{\epsilon}_{stat} \text{ (s}^{-1}\text{) et } \sigma_{eff} \text{ (MPa)}$$

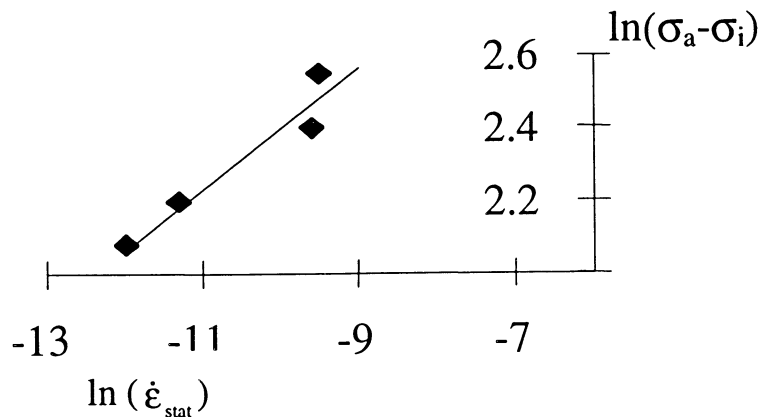


Figure 9 : Loi d'écoulement en régime stationnaire en σ_{eff}

Pour ce type de blé on peut donc utiliser pour tous les états viscoplastiques une loi constitutive du type cinématique à une seule variable interne prenant en compte le paramètre de dureté :

$$\dot{\epsilon}_{vp} = 2.07 \times 10^{-11} (\sigma_{eff})^6 \quad \text{avec} \quad \dot{\sigma}_i = h \dot{\epsilon}_{vp} - r$$

Les termes h et r n'ont pu être identifiés à ce jour par nos expériences, seule l'existence de σ_i variable de dureté a été mise en évidence ainsi que son évolution (figure 7).

De la même manière on obtient pour

- le blé hard à 12% :

$$\dot{\epsilon}_{vp} = 9.21 \times 10^{-8} (\sigma_{eff})^4$$

- le blé dur vitreux à 12% :

$$\dot{\epsilon}_{vp} = 3.3 \cdot 10^{-10} (\sigma_{eff})^{4.2}$$

Avec des expressions identiques pour la contrainte interne

$$\dot{\sigma}_i = h \dot{\epsilon}_{vp} - r$$

Sur la figure 6-c on peut constater à travers le réseau de fluage du blé hard vitreux à 17% l'importance du fluage primaire, qui semble se manifester tout au long de l'essai. On ne voit pas apparaître d'états stationnaires comme pour les autres structures d'albumen.. Comme on peut le voir sur la figure 10, dans une représentation en échelle logarithmique, la déformation viscoplastique varie linéairement en fonction du temps. Ce comportement peut être traduit par une loi du type Andrade [4]:

$$\epsilon_{vp} = \left[\frac{M+N}{M} \left(\frac{\sigma_a}{K} \right)^N t \right]^{\frac{M}{M+N}}$$

Par dérivation, cette loi peut se mettre sous la forme :

$$\sigma_a = K \epsilon_{vp}^{\frac{1}{M}} \dot{\epsilon}_{vp}^{\frac{1}{N}}$$

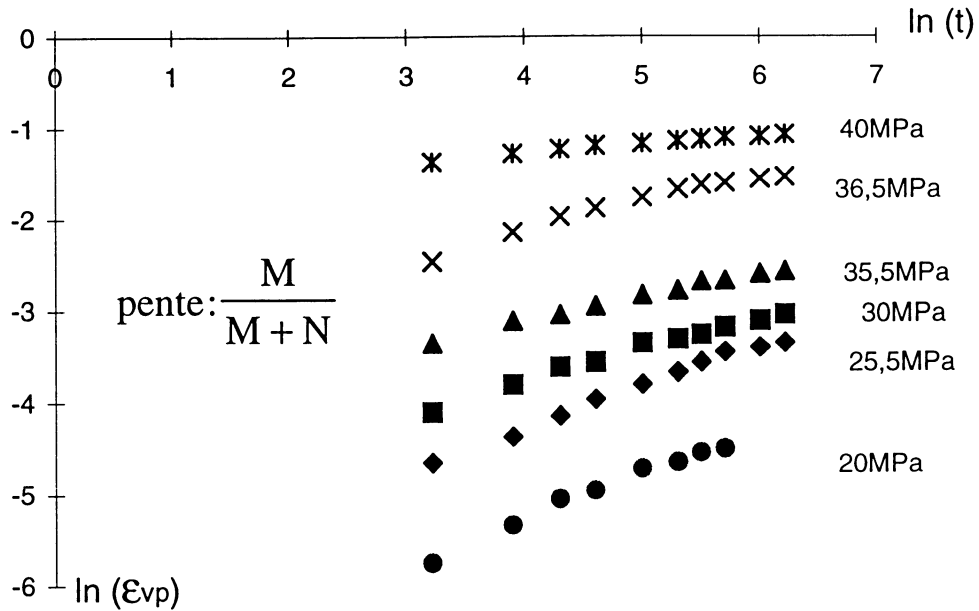


Figure 10: Courbes isochrones du blé hard vitreux à 17%

Les pentes des différentes droites de la figure 10 donnent accès au terme $M/(M+N)$. Ce réseau montre qu'il est nécessaire de tenir compte de l'évolution de l'exposant $M/(M+N)$ en fonction du chargement, comme cela est représenté sur la figure 11 :

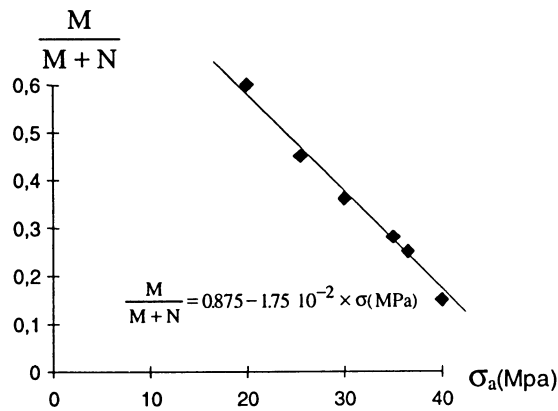


Figure 11 : Evolution du coefficient $\frac{M}{M+N}$ en fonction du chargement

La loi obtenue est de la forme :

$$\frac{M}{M+N} = 0.875 - 1.75 \cdot 10^{-2} \times \sigma_a$$

La loi de type Andrade peut s'écrire :

$$\ln\left(\frac{\epsilon_{vp}}{t^{M/(M+N)}}\right) = \frac{MN}{M+N} \ln(\sigma_a) + \text{cst}$$

de sorte que la représentation du premier membre en fonction de $\ln(\sigma_a)$ donne le coefficient $(M*N)/(M+N)$. La figure 12 fait apparaître deux droites dont l'intersection donne une contrainte seuil de 30MPa déjà mise en évidence sur le réseau de fluage.

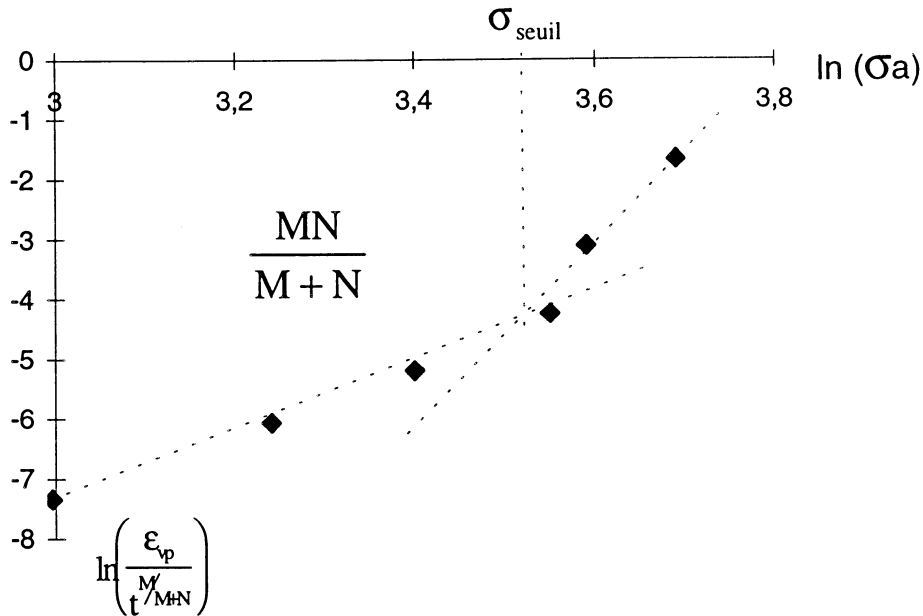


Figure 12 : Mise en évidence de la contrainte seuil de type viscoplastique

L'exposant $(M*N)/(M+N)$ est de l'ordre de 5 au dessous de la contrainte seuil et de l'ordre de 15 au dessus de cette contrainte. Pour décrire par une loi unique le fluage primaire, pour les fortes charges, on effectue le changement de variable σ_a en $\sigma_a - \sigma_{seuil}$. Pour les fortes charges, la loi de comportement s'écrit alors :

$$\epsilon_{vp} = \left[\frac{M+N}{M} \left(\frac{\sigma_a - \sigma_{seuil}}{K} \right)^N t \right]^{\frac{M}{M+N}}$$

avec cette forme de loi, l'exposant $(M*N)/(M+N)$ est égale à 5, c'est à dire du même ordre de grandeur qu'aux faibles charges. On déduit de la figure 13 les expressions de M et N :

$$N = \frac{5}{0.875 - 1.75 \times \sigma_a} \quad \text{et} \quad M = \frac{5}{0.125 + 1.75 \times 10^{-2} \times \sigma_a}$$

Rappelons que N exprime la sensibilité de la contrainte à la vitesse de déformation et M la sensibilité de la contrainte à la déformation visqueuse.

On peut considérer que l'albumen vitreux du blé hard Baroudeur à 17 % développe une déformation visqueuse importante surtout à forte charge au delà du seuil de 30MPa. A faible charge il s'agit plutôt d'une viscoplasticité conduisant à des déformations plus faibles (figure 6-b). La loi du type d'Andrade représente bien le fluage primaire à condition de tenir compte des variations de M et N en fonction du chargement et d'introduire un seuil de viscoplasticité.

Conclusion

Les essais de compression présentés dans ce travail constituent une base de données originale sur les propriétés mécaniques de l'albumen du blé. Pour la simulation du fractionnement, on dispose de valeurs numériques : module d'élasticité, limite élastique, limite de rupture. Il a été mis en évidence deux comportements type en compression : fragile et ductile. Le comportement fragile est à associer à une structure farineuse de l'albumen alors que le comportement ductile est à relier à une structure vitreuse. Notons une exception pour le blé soft (Scipion) qui présente un comportement fragile quel que soit son état de vitrosité. La vitrosité est associée à la porosité de l'albumen ; nous pensons que le caractère fragile observé est à relier à la surface de liaisons entre amidon et protéines. La ductilité qui est à associer à une structure plus homogène joue un rôle important dans la répartition de la taille des fractions. Un blé ductile conduit à des particules plus grosses qu'un blé fragile.

Pour une variété de blé donnée pour laquelle on peut supposer que la liaison amidon-protéines est la même quel que soit le degré de vitrosité, on observe une différence de comportement liée à la compacité. L'albumen de blé farineux présente une structure peu compacte avec une plus faible surface d'adhésion amidon-protéines. Son comportement fragile constaté lors des essais de compression, peut être attribué à la rupture quasi simultanée des liaisons, ce qui élimine pratiquement le domaine plastique.

Par contre pour la même variété à l'état vitreux, du fait de la compacité, même après rupture de certaines liaisons, il y a, pour une sollicitation en compression, transmission des efforts entre les différents composants ce qui permet à la structure de développer de la ductilité. Il serait intéressant d'analyser le comportement en traction, car dans ce cas, les efforts de traction ne peuvent être transmis à travers une fissure.

L'effet simultané de la vitrosité et de la dureté semble difficile à déterminer par des essais de compression car les effets de la force surfacique (liée à la dureté) et de la surface de liaisons (liée à la vitrosité) peuvent se combiner.

La teneur en eau joue un rôle central dans le comportement aussi bien dans le domaine élastique que dans le domaine plastique. Une augmentation de teneur en eau abaisse les caractéristiques mécaniques et augmente la ductilité en compression simple. Dans le domaine plastique on observe un changement marqué de comportement au voisinage de 17% pour le blé hard.

Les essais viscoplastiques montrent deux types de comportement :

- apparition d'un état stationnaire avec une contrainte interne évolutive, c'est le cas du blé hard à 12% et du blé dur à 12 et 17%.
- persistance d'un état transitoire qui correspond au cas du blé hard à 17%.

Dans le cas de la présence d'un état stationnaire, le comportement en fluage primaire est à attribuer à la présence de microdéfauts [2]. Durant la phase de fluage primaire, la structure se consolide, les microdéfauts se réduisent ce qui s'accompagne d'un durcissement de la structure et d'une baisse de la vitesse de déformation. Aux faibles charges la contrainte interne n'atteint pas un niveau suffisant pour se stabiliser. Aux fortes charges la contrainte interne se stabilise à une valeur seuil de saturation et les contraintes dans les constituants et les forces d'adhésion sont alors sollicitées. C'est le cas du blé dur à 12% et 17% et du blé hard à 12%.

Dans le cas où le matériau reste dans un état transitoire, observé pour le blé hard à 17%, l'influence de la teneur en eau est prépondérante et modifie de façon sensible le comportement ; la contrainte interne évolue sans atteindre un seuil, on rentre dans un état plastique où la déformation importante est due simultanément aux microdéfauts et aux déformations de la matrice de protéines.

Références

- [1] Abecassis J., Mabilie F., Haddad Y., Autran J.C., Bénét J.C., 1997, La dureté des blés : état des connaissances actuelles, *Communication aux journées de l'ENSMIC, Ind. céréales*, 101, pp 11-18.
- [2] Clauer A.H., Wilcox B.A., 1969, Structure sensitive creep behaviour of crystalline solids, Inelastic behaviour of solid, *Ed. Mc Graw-Hill series in materials sciences*.
- [3] Haddad, Y., Benet, J.C., Abecassis, J.1998. A rapid general method for the appraisal of the rheological properties of the starchy endosperm of cereal grains. *J. Cereal chem.* 75(5), pp 673-676.
- [4] Lemaître J., Chaboche J.L., 1988, Mécanique des matériaux solides, *Dunod, Paris*.

PROPRIETES RHEOLOGIQUES DE SOLUTIONS DE HYALURONATES ASSOCIATIFS DESTINEES A LA VISCOSUPPLEMENTATION ET AU COMPLEMENT DE LESIONS DU CARTILAGE

L. Choplin¹, S. Pelletier², P. Marchal¹, E. Payan³, P. Hubert² et E. Dellacherie²

- 1 - Laboratoire de Génie Chimique des Milieux Rhéologiquement Complexes (GEMICO), Groupe ENSIC, Nancy
- 2 - Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire, Groupe ENSIC, Nancy
- 3 - Laboratoire de Physiopathologie et Pharmacologie Articulaires, Faculté de Médecine, Univ. Nancy I, Vandoeuvre

Résumé

Des dérivés amphiphiles d'un polysaccharide polyanionique naturel, le hyaluronate de sodium, constituant majeur de la matrice cartilagineuse, ont été préparés en fixant chimiquement des chaînes alkyle longues (12 et 18 carbones) sur le squelette polymère par l'intermédiaire de liaisons ester. Le comportement en solution aqueuse de ces dérivés a été étudié par rhéologie, principalement en régime semi-dilué. En solution aqueuse (NaCl 0.15 N) à 8g/l et à 37°C, le hyaluronate modifié HA-C₁₂-5 présente un comportement rhéologique comparable à celui du liquide synovial sain et peut être considéré comme candidat à une utilisation en tant que fluide de viscosupplémentation. Dans les mêmes conditions, le hyaluronate modifié HA-C₁₈-2 présente un comportement de type hydrogel compatible avec une utilisation en tant que biomatériau de comblement de lésions du cartilage. Ces systèmes ont démontré une bonne stabilité dans des conditions typiques d'utilisation, malgré une certaine sensibilité à la stérilisation.

Introduction

Le cartilage est un tissu conjonctif avascularisé et non innervé dont le rôle est d'assurer le glissement harmonieux entre les pièces osseuses articulaires. Il est constitué d'une matrice extracellulaire composée d'eau, de collagène (qui détermine sa forme et son volume) et de protéoglycanes fixés sur des chaînes de hyaluronates (qui déterminent ses caractéristiques viscoélastiques), matrice dans laquelle sont éparpillées des cellules appelées chondrocytes qui assurent tant la dégradation que le renouvellement de ses constituants. Le cartilage est en contact avec le liquide synovial qui assure la lubrification et l'absorption des chocs. Ce liquide est principalement constitué d'une solution aqueuse de chaînes de hyaluronate de haute masse molaire ($2 \cdot 10^6$ - $7 \cdot 10^6$ g/mol) et de protéines [1].

Les pathologies ostéoarticulaires, dont l'arthrose, aboutissent généralement à une dégradation progressive du cartilage et du liquide synovial se traduisant par une dégénérescence osseuse irréversible. Parmi les traitements récents de la pathologie arthrosique, figure la viscosupplémentation de l'articulation [2] qui consiste en une injection intra-articulaire d'un fluide visqueux à base de hyaluronate ou de ses dérivés réticulés (hylanés) pour des effets à plus long terme [3]. La viscosupplémentation ne permet cependant qu'un soulagement à un

stade précoce de la pathologie, lorsqu'il n'y a pas encore de lésion cartilagineuse. Dans ce dernier cas, il convient de recourir à des biomatériaux de comblement.

Depuis quelques années, les recherches de biomatériaux de comblement sont axées sur l'utilisation d'hydrogels synthétiques ou d'origine naturelle qui présentent l'avantage d'utiliser l'eau de la même façon que le cartilage : sous l'action d'une contrainte mécanique, l'hydrogel relargue de l'eau et absorbe le choc ; lors de la relaxation de la contrainte, l'eau est réabsorbée et le volume initial récupéré. Sur le plan biologique, les hydrogels d'alginate obtenus par gélification de l'alginate en présence d'ions calcium sont malheureusement peu biodégradables dans l'organisme. C'est pourquoi il est préférable d'envisager d'utiliser des polymères naturels déjà présents dans l'articulation, comme les hyaluronates qui sont totalement biocompatibles et biorésorbables.

L'intérêt des hyaluronates dans l'élaboration d'un fluide de supplémentation ou dans la conception d'un biomatériau de comblement est double car, d'une part ce polysaccharide possède de remarquables propriétés rhéologiques en solution aqueuse, et d'autre part sur le plan biologique il agit sur l'activité de synthèse et de prolifération des chondrocytes par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques [4].

Les hyaluronates peuvent être obtenus de deux façons :

- par extraction de différents tissus conjonctifs auquel cas la molécule possède une masse molaire élevée compatible avec son utilisation dans un fluide de viscosupplémentation et avec l'élaboration d'un hydrogel de comblement, cependant cette molécule reste associée à des protéines animales ;
- par fermentation à partir de la bactérie *Streptococcus Zooepidemicus* [5]. Cette méthode permet un rendement d'extraction important (6 à 10g de hyaluronate de sodium par kg de moût de fermentation) et un polysaccharide dépourvu de protéines. Les masses molaires sont cependant beaucoup plus faibles, de l'ordre de $0.5 \cdot 10^6$ g/mol, ce qui constitue un inconvénient significatif.

L'objectif de ce travail consiste à modifier chimiquement des hyaluronates de masse molaire équivalente à celle des polysaccharides produits par fermentation, pour obtenir des dérivés amphiphiles de ces hyaluronates possédant un caractère associatif qui leur confère des propriétés rhéologiques en solution aqueuse compatibles avec leur utilisation en tant que fluide de viscosupplémentation et biomatériau de comblement des lésions du cartilage.

Synthèse et caractérisation des dérivés associatifs du hyaluronate de sodium

Le hyaluronate de sodium utilisé est fourni par ACROS Organics (USA). Sa masse molaire moyenne en masse, $\overline{M}_w = 480\,000$ g/mol, avec un indice de polymolécularité de l'ordre de 2, a été déterminée par chromatographie d'exclusion stérique couplée à un photodiffusiomètre laser multiangle SEC-MALLS. Sa viscosité intrinsèque, $[\eta] = 930$ ml/g, dans NaCl 0.15 N à 37°C, a été déterminée par viscosimétrie capillaire. Le pH d'une solution de hyaluronate de sodium à 10 g/l dans ce même solvant est de 6.7. Le taux d'humidité de la poudre de hyaluronate de sodium est d'environ 15% en masse.

La synthèse utilisée pour modifier chimiquement le hyaluronate de sodium est très largement inspirée des brevets de Della Valle et al. [6] :

- traitement par résine Dowex 50*8 échangeuse de cations conditionnée en H^+ (2.5 meq H^+ /g). Une solution aqueuse du hyaluronate de sodium à 10 g/l est mise en contact avec la résine (stoechiométrie 6/1 en mol H^+ /mol de fonctions carboxylate) pendant 15 minutes, puis filtrée pour récupérer le polymère sous forme acide ;
- la forme acide est ensuite neutralisée par l'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH) jusqu'à pH 7, puis lyophilisée ;
- le sel de tétrabutylammonium du hyaluronate est dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à raison de 1% m/v . Les chaînes alkyle longues bromées ($C_{12}H_{25}Br$ ou $C_{18}H_{37}Br$) sont ajoutées en quantité adéquate selon le taux de substitution recherché. La réaction d'estérification a lieu en milieu homogène dans le DMSO, ce qui augmente la réactivité des espèces en présence et conduit, en principe, à une répartition statistique des groupements hydrophobes sur le squelette polysaccharidique [7]. Le temps de réaction est fixé arbitrairement à 24 heures.
- Le mélange réactionnel est ensuite dialysé, à l'aide d'une membrane en cellulose régénérée de seuil de coupure 6000-8000 g/mol, pendant 5 jours contre de l'eau distillée contenant un bactéricide (NaN_3 , 0.04% m/v), puis 2 jours contre de l'eau distillée seule. La dialyse permet d'éliminer les traces de dérivé bromé n'ayant pas réagi ainsi que le solvant polaire aprotique DMSO. Elle permet également l'échange cationique TBA^+/Na^+ par l'intermédiaire de l'azide de sodium NaN_3 .
- Le dérivé final, sous forme de sel de sodium, obtenu après lyophilisation, est stocké à 4°C.

La figure 1 ci-dessous illustre de façon schématique la voie de synthèse utilisée.

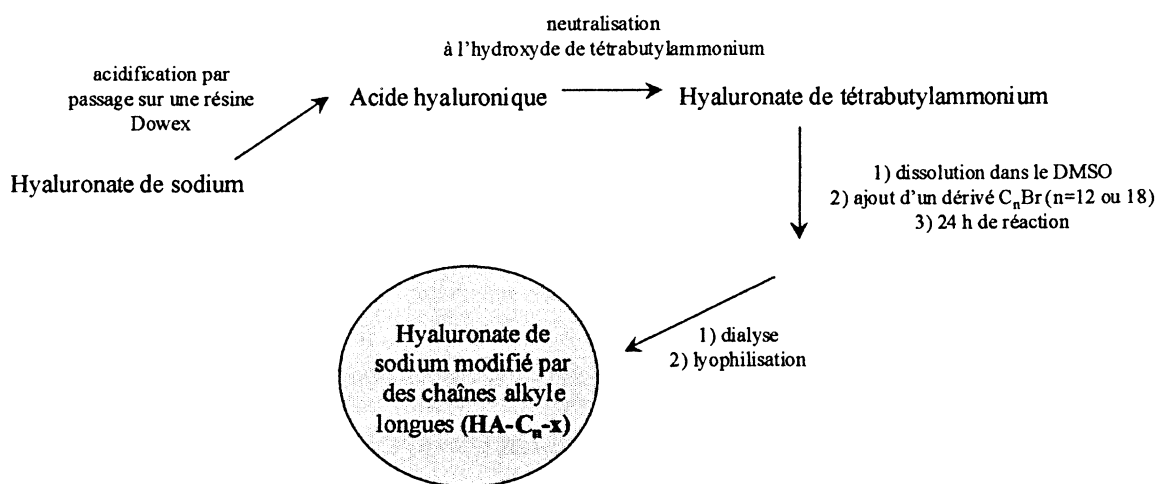


Figure 1 : Voie de synthèse des hyaluronates de sodium associatifs

Afin d'évaluer l'influence des conditions opératoires sur la stabilité chimique et conformationnelle du squelette polysaccharidique, une synthèse sans ajout de dérivé bromé a été effectuée et a fourni ce que nous avons convenu d'appeler un polymère contrôle HA_C par opposition au polymère parent HA . La masse molaire a été réduite de 10% environ, soit $\overline{M}_w = 440\ 000$ g/mol , et l'indice de polymolécularité est réduit à environ 1.7 . Parmi les différents polymères associatifs que nous avons obtenus, nous n'en retiendrons que deux ,

HA-C₁₂-5 (chaîne alkyle en C₁₂ et taux de fixation de 5%) et HA-C₁₈-2 (chaîne alkyle en C₁₈ et taux de fixation de 2%). Le taux de fixation a été déterminé par une méthode basée sur un dosage par chromatographie en phase gazeuse [8]. Le tableau 1 rapporte les viscosités intrinsèques et les coefficients de Huggins correspondants de ces polymères, déterminés par viscosimétrie capillaire, dans les mêmes conditions (solutions aqueuses, NaCl 0.15 N, 37°C).

	Viscosité intrinsèque [η] en ml/g	Coefficient de Huggins k_H	Masse molaire \overline{M}_w en g/mol	Indice de polymolécularité
HA	930	0.4	480 000	2.0
HA _C	820	0.3	440 000	1.7
HA-C ₁₂ -5	270	5.7	440 000	1.7
HA-C ₁₈ -2	170	4.5	440 000	1.7

Tableau 1.- Caractéristiques moléculaires des hyaluronates

La diminution de la viscosité intrinsèque du polymère contrôle par rapport à celle du polymère parent est due à la dégradation chimique subie par le polymère lors de la synthèse, et confirme les résultats obtenus sur les masses molaires. Les conditions de synthèse ne semblent cependant pas affecter les interactions de paires, comme l'indiquent les valeurs des coefficients de Huggins, caractéristiques d'un polymère en bon solvant. En ce qui concerne les polymères modifiés, leur viscosité intrinsèque dans les mêmes conditions sont nettement inférieures à celles des polymères parent ou contrôle. Ce résultat classique est dû aux associations hydrophobes intramoléculaires qui tendent à stabiliser les macromolécules dans des conformations plus compactes. D'autre part, les valeurs élevées des coefficients de Huggins sont le reflet d'interactions préférentielles de type polymère/polymère, éventuellement combinées à des associations intermoléculaires [9].

La concentration C^* correspondant à la transition entre les régimes dilués et semi-dilués a été évaluée à environ 1 g/l pour les hyaluronates parents et contrôles. En revanche, pour les hyaluronates modifiés, le changement de régime intervient à une concentration critique nettement plus faible : pour les solutions aqueuses à 0.15 N NaCl et 37°C, la concentration critique avec HA-C₁₂-5 est de 0.05 g/l, tandis qu'avec HA-C₁₈-2, elle est de 0.01 g/l.

Propriétés rhéologiques en régime semi-dilué

Les propriétés rhéologiques ont été déterminées à l'aide d'un rhéomètre RFS II (Rheometric Scientific, USA), en écoulement de cisaillement en régimes permanent et oscillatoire.

La figure 1 illustre les comportements visqueux comparés de liquides synoviaux sain, dégénéré et inflammatoire, ainsi que ceux de solutions aqueuses de hyaluronates de sodium de

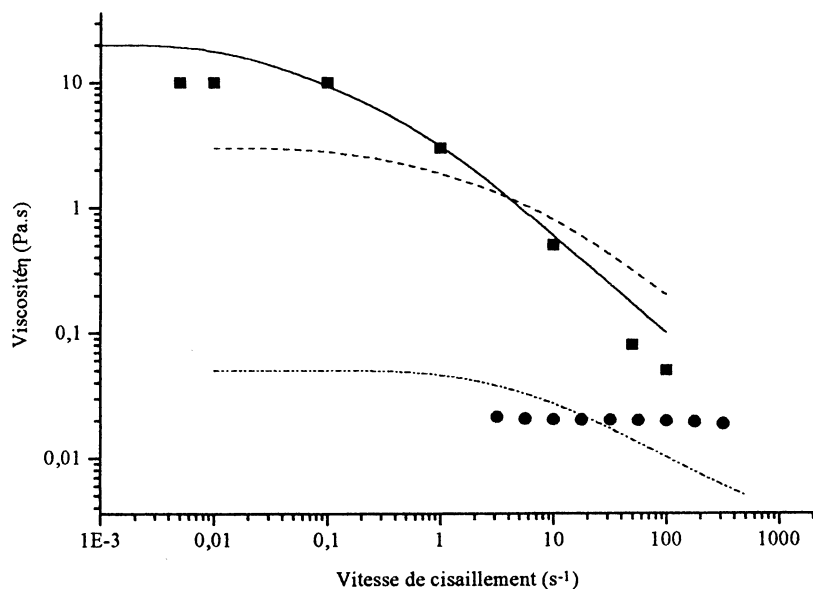


Figure 1.- Comportements visqueux comparés : liquide synovial sain (—),dégénéré(---), inflammatoire(...)[10]. Solutions aqueuses,NaCl 0.15 N et 37°C, de hyaluronate de masse molaire 480 000g/mol à 8 g/l (ρ) [ce travail], de hyaluronate de masse molaire $2 \cdot 10^6$ g/mol à 10 g/l (ω)[11].

différentes masses molaires. La dégradation du comportement visqueux occasionnée par les pathologies est particulièrement prononcée. Il est clair que les hyaluronates de masse molaire modérée ne sont pas capables de générer des viscosités suffisantes à des concentrations d'environ 8 à 10g/l, alors que les hyaluronates de haute masse molaire seraient adaptés si ce n'était de la présence de protéines animales associées. A titre de comparaison, la viscosité à faible vitesse de cisaillement d'une solution aqueuse (NaCl 0.15 N, 37°C) de HA-C₁₂-5 est de 40 Pa.s, soit tout à fait équivalente à celle du liquide synovial sain, d'où son choix en vue de l'élaboration d'un fluide de viscosupplémentation, alors qu'une solution aqueuse, dans les mêmes conditions de salinité et de température, de HA-C₁₈-2 présente une viscosité à faible vitesse de cisaillement de 5000 Pa.s. La figure 2 présente quant à elle les spectres mécaniques en cisaillement oscillatoire de faible amplitude, c'est-à-dire dans le domaine de viscoélasticité linéaire, pour les mêmes fluides. Là encore la dégradation du spectre mécanique due aux pathologies arthrosiques est significative. Les fréquences approximatives de marche et de course correspondant aux mouvements de l'articulation du genou sont indiquées afin de permettre de mieux apprécier les variations des valeurs des modules élastique (G') et visqueux (G'') lorsque le liquide synovial se dégrade. Comme dans le cas du comportement visqueux, les hyaluronates de masse molaire modérée ne sont pas adaptés, contrairement aux hyaluronates de masse molaire élevée, ces derniers ayant l'inconvénient d'être associés avec des protéines animales.

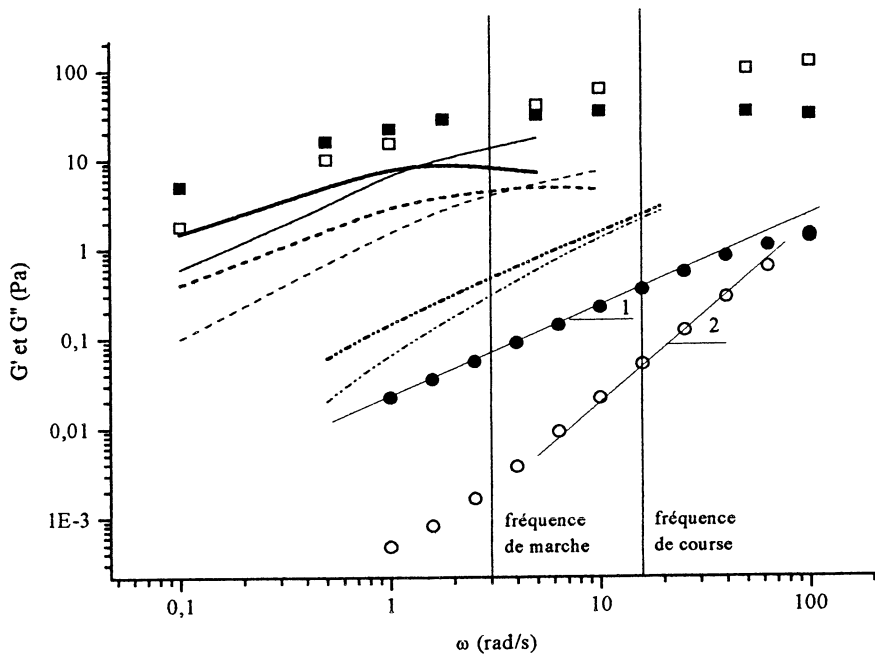


Figure 2.- Spectres mécaniques comparés : liquide synovial sain (G' —, G'' —), dégénéré (G' ---, G'' - - -), inflammatoire (G' ..., G'' ...) [12]. Solutions aqueuses, NaCl 0.15 N et 37°C, de hyaluronate de masse molaire 480 000 g/mol à 8 g/l (G' ■, G'' ★) [ce travail], de hyaluronate de masse molaire $2 \cdot 10^6$ g/mol à 10 g/l (G' □, G'' ▣) [13].

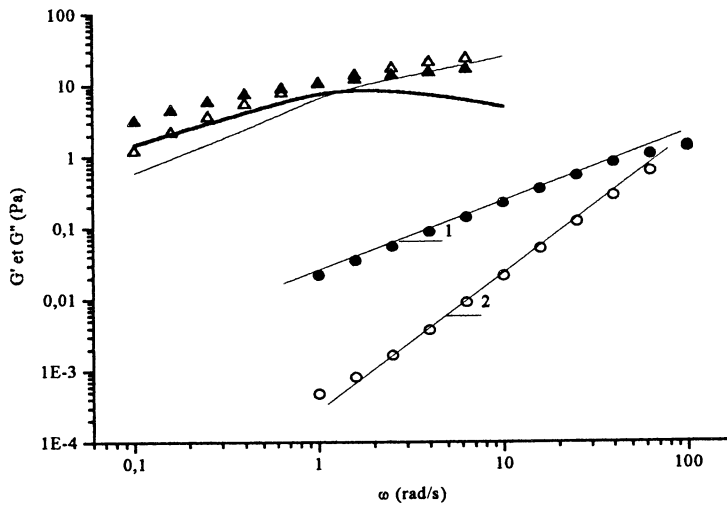


Figure 3.- Spectres mécaniques comparés : liquide synovial sain (G' —, G'' —) [12]. Solutions aqueuses, NaCl 0.15 N et 37°C, de hyaluronate HA de masse molaire 480 000 g/mol à 8 g/l (G' ■, G'' ★), de hyaluronate associatif HA-C₁₂-5 à 8 g/l (G' ρ, G'' π).

La figure 3 montre qu'une solution aqueuse (NaCl 0.15 N et 37°C) à 8 g/l de hyaluronate de sodium d'une masse molaire de 440 000 g/mol modifié hydrophobiquement par greffage de

chaînes alkyle en C₁₂ et avec un taux de fixation de 5% présente un spectre mécanique tout à fait comparable à celui du liquide synovial sain. Cette même solution, ayant une viscosité à faible vitesse de déformation elle aussi comparable à celle du liquide synovial sain (voir plus haut), peut donc être considérée comme candidat potentiel pour devenir un liquide de viscosupplémentation. Ce n'est pas le cas pour le même type de solution préparée avec un hyaluronate de sodium auquel on a greffé des chaînes alkyle plus longues et en moins grande quantité, c'est-à-dire le HA-C₁₈-2, comme l'indique la figure 4. Le spectre mécanique, dans la plage de fréquence considérée, est caractéristique d'un comportement de type gel, avec un module élastique indépendant de la fréquence et beaucoup plus important que le module visqueux. Compte tenu de la valeur de la viscosité de cette « solution » à faible vitesse de cisaillement (voir plus haut), il est envisageable de l'utiliser plutôt comme matériau de comblement.

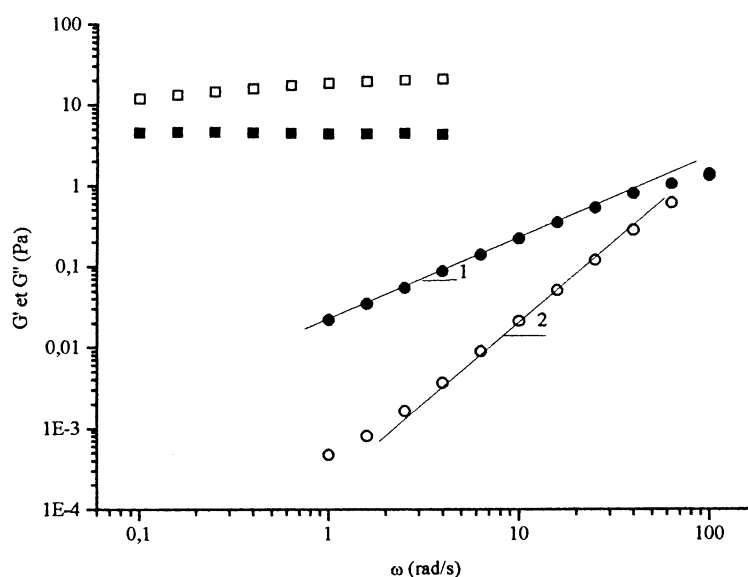


Figure 4.- Spectres mécaniques comparés : liquide synovial sain (G' —, G'' —) [12]. Solutions aqueuses, NaCl 0.15 N et 37°C, de hyaluronate HA de masse molaire 480 000 g/mol à 8 g/l (G' ■, G'' ★), de hyaluronate associatif HA-C₁₈-2 à 8 g/l (G' □, G'' ▣).

Les fluides de viscosupplémentation et les biomatériaux de comblement doivent non seulement pouvoir s'éliminer de l'organisme en un temps compatible avec le processus de réparation, mais aussi être facilement conservés, avant utilisation, sous une forme prête à l'emploi. Les tests de vieillissement que nous avons réalisés tant dans des conditions d'usage (37°C pendant 40 jours) que de stockage (4°C pendant 1 an) n'ont montré que très peu de modifications des caractéristiques rhéologiques. Outre ces aspects de stabilité, un point important du cahier des charges de ces systèmes concerne leur stérilisation, par exemple par autoclavage (20 minutes à 121°C sous une atmosphère saturée d'eau). La figure 5 montre l'effet de l'autoclavage sur les propriétés rhéologiques et en particulier sur le spectre mécanique de la solution de HA-C₁₂-5 à 8 g/l ; le déplacement du point de croisement des modules vers les fréquences plus élevées témoigne d'une diminution de la masse molaire sans changement de l'indice de polymolécularité. Dans les mêmes conditions d'autoclavage, une solution de hyaluronate parent subit la même modification de spectre ; dans ce dernier cas, nous avons pu vérifier que la masse molaire avait été divisée par 2, alors que l'indice de polymolécularité était resté inchangé [8]. Pour ce qui est de l'hydrogel de hyaluronate de

sodium HA-C₁₈-2, non montré ici, l'autoclavage occasionne une diminution substantielle des modules, cependant les caractéristiques de gel semblent perdurer [8]. Nous avons pu vérifier que l'autoclavage provoquait la rupture de liaisons de la chaîne principale du polysaccharide et que les liaisons ester n'étaient pas affectées. Par conséquent, il est permis de penser que, pour pallier les effets de l'autoclavage, il serait possible de moduler les comportements rhéologiques en faisant varier certains paramètres comme les concentrations par exemple.

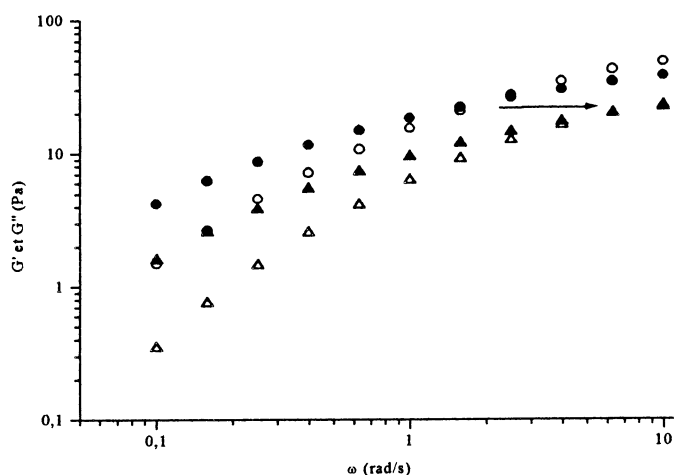


Figure 5.- Effet de l'autoclavage sur le spectre mécanique d'une solution aqueuse (NaCl 0.15 N et 37°C) de hyaluronate HA-C₁₂-5 à 8 g/l : avant autoclavage (G' ■, G'' ★), après autoclavage (G' ○, G'' π).

Conclusions

Deux dérivés amphiphiles du hyaluronate de sodium ont été obtenus par immobilisation covalente par l'intermédiaire de liaisons ester de chaînes hydrophobes de 12 et 18 carbones sur le squelette polysaccharidique hydrophile. Une solution aqueuse à 8 g/l (régime semi-dilué) du dérivé amphiphile en C₁₂ s'est révélée susceptible de pouvoir être utilisée en tant que fluide de viscosupplémentation dans les pathologies arthrosiques, alors qu'une solution aqueuse à 8 g/l (régime semi-dilué) du dérivé amphiphile en C₁₈ s'est révélée plus apte à jouer le rôle d'un biomatériau de comblement des lésions du cartilage. La stérilisation par autoclavage causant une dégradation sensible des propriétés de ces systèmes, il convient d'y remédier, soit par une modification des niveaux de concentration, soit par l'utilisation d'une technique stérilisatrice moins dégradante. Après des études *in vitro* qui ont démontré leur caractère biocompatible et non toxique [8], il reste à entreprendre les études *in vivo*.

Références

- 1.- Schurz, J., *Pure Appl. Chem.*, **A33**, 1249 (1996)
- 2.- Asari, A., Miyauchi, S., Matsuzaka, S., Ito, T., Kominami, E., and Uchiyama, Y., *Arch. Histol. Cytol.*, **61**, 125 (1998)
- 3.- Balasz, E.A., Leshchiner, E., Larsen, N.E., and Band, P., in *Biotecnological Polymers*, C.G.Gebelein (Ed.), 41 (1993)

- 4.- Oerther, S., Payan, E., Lopicque, F., Presle, N., Hubert, P., Muller, S., Netter, P., and Lopicque, F., *Biochim. Biophys. Acta*, 1426, 185 (1999)
- 5.- Roure, I., Thèse de Doctorat, Univ. Joseph Fourier, Grenoble (1997)
- 6.- Della Valle, F., Crescenzi, V., and Callegaro, L., *European Patent N° 92400352-8* (1992)
- 7.- Magny, B., Thèse de Doctorat, Univ. Pierre et Marie Curie, Paris (1992)
- 8.- Pelletier, S., Thèse de Doctorat, INPL, Nancy (1999)
- 9.- Bataille, I., Huguet, J., Muller, G., Moceanu, G., and Carpov, A., *Int. J. Biol. Macromol.*, 20, 179 (1997)
- 10.- Schurz, J., and Ribitsch, V., *Biorheology*, 24, 385 (1987)
- 11.- Bothner, H., and Wik, O., *Acta Oto-Laryngol.*, 442, 25 (1987)
- 12.- Balasz, E.A., and Gibbs, D.A., in Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, Balasz, E.A. (Ed.), Academic Press, N.Y. (1970)
- 13.- Yanaki, T., and Yamaguchi, T., *Biopolymers*, 30, 415 (1990)

LE MUSCLE CARDIAQUE : UN MATÉRIAU COMPOSITE HYPERÉLASTIQUE À FIBRES ACTIVES

J. Ohayon, H. Cai , P. Teppaz, et C. Oddou*

Université de Savoie, ESIGEC, LaMaCo, Le Bourget du Lac, France

**Université Paris 12 Val-de-Marne, LMP, Créteil, France.*

E.mail: ohayon@univ-savoie.fr

Résumé

Nous proposons un modèle mathématique pour décrire le comportement du muscle cardiaque, structure qui est constituée d'un matériau actif, orthotrope, quasi-incompressible et hyperélastique et dont la dynamique relève de la mécanique des grandes déformations. Une telle formulation permet une approche quantitative des phénomènes physiologiques liés aux processus d'activations électrique et biochimique des fibres musculaires dans les tissus biologiques mous, mais plus généralement s'avère bien adaptée à l'analyse des effets liés à la croissance, au remodelage et à la réparation tissulaires.

I Introduction

Les lois de comportement hyperélastique proposées actuellement pour décrire le comportement des tissus biologiques contractiles (Taber, 1991; Oddou et Ohayon, 1998) utilisent un tenseur de transfert Φ_{PA} pour caractériser la cinématique de la contraction musculaire. L'utilisation d'une telle transformation s'avère être source d'erreur car "non élastique". En effet, cette formulation, basée sur des concepts intuitifs, ne traduit pas le champ des déplacements de particules matérielles d'un milieu élastique à propriétés rhéologiques maintenues constantes. Afin d'y remédier, nous proposons une nouvelle approche qui peut être vue comme une extension en théorie des grandes déformations de la loi de comportement active écrite en élasticité linéaire par Ohayon et Chadwick (1988) et qui traduit les variations de rhéologie de la fibre musculaire durant son activation au cours du cycle cardiaque. Il est à remarquer que dans l'approche ici présentée, l'accent est porté sur la description de la dynamique à l'échelle temporelle du battement cardiaque et ne prend pas en compte les effets spécifiques liés à la genèse ou au remodelage du matériau, ceux-ci induisant un état de référence dont la configuration est due à l'histoire antérieure de l'organe considéré et est par ailleurs caractérisé par la présence de contraintes résiduelles.

II Modèle rhéologique proposé

II.1 Interprétation physique du modèle

La figure 1 schématise les différentes configurations présentées par le muscle lors de son fonctionnement en contraction. Partant du muscle dans sa configuration passive à

contraintes nulles (état P où $\tau_p = 0$), l'activité électrique musculaire est modélisée par deux transformations: la première (donnant l'état virtuel A_0) modifie uniquement la rhéologie du myocarde tout en conservant la configuration géométrique ($\Phi_{PA_0} = I$) et la valeur des contraintes internes ($\tau_{A_0} = 0$) et la deuxième ($F_{A_0A} = \Phi_{PA} \Phi_{PA_0}^{-1} = \Phi_{PA}$) contracte les fibres musculaires sans variation de rhéologie (passage de A_0 à $A(t)$). A l'inverse de la première transformation Φ_{PA_0} , la deuxième F_{A_0A} est "élastique".

Enfin, la pressurisation de la structure creuse induit un chargement en traction de l'échantillon musculaire activé à l'état A et conduit à la configuration C où $\tau_C \neq 0$. Remarquons que dans cette approche nous utilisons aussi un tenseur de transfert Φ_{PA_0} , mais ce dernier est complètement défini ($\Phi_{PA_0} = I$) car la modification géométrique de l'échantillon due à la contraction des fibres est entièrement prise en charge par la transformation élastique F_{A_0A} . De plus, la transformation non élastique Φ_{PC} utilisée doit être vue comme la transformation élastique F_{A_0C} car $\Phi_{PC} = F_{A_0C} \Phi_{PA_0} = F_{A_0C}$. Cette dernière remarque est importante puisqu'elle nous permet de définir le tenseur des contraintes de Cauchy à partir de la transformation non élastique Φ_{PC} (Eq.2).

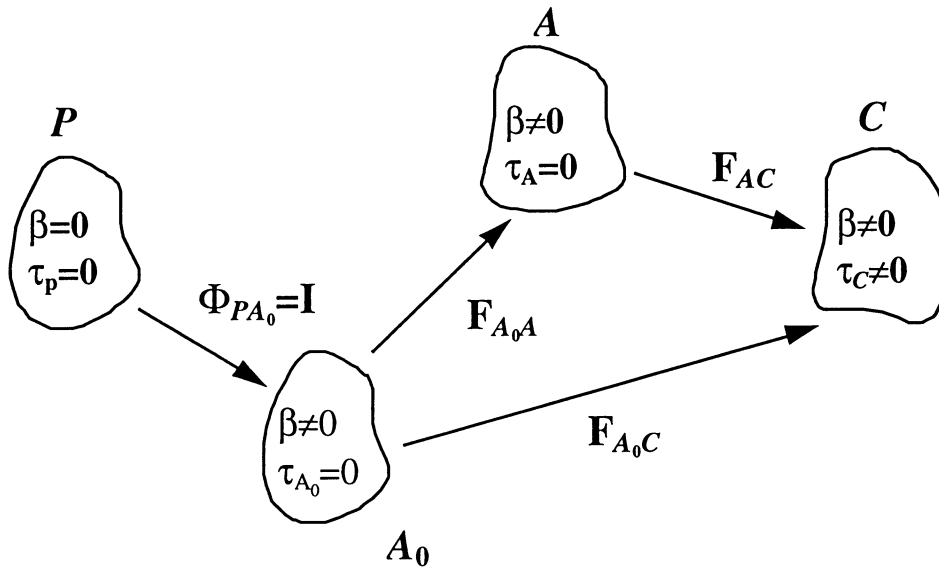


Figure 1

Schématisme des différentes configurations considérées pour simuler la contraction d'un échantillon de muscle cardiaque

II.2 Expression mathématique de la loi de comportement

La rhéologie du myocarde (ou muscle cardiaque) actif que nous utilisons est caractérisée par une seule fonction d'énergie $W(E_{PC})$ exprimée par unité de volume du seul état de référence P (état passif et libre de contraintes). Cette fonction s'exprime en fonction des composantes du tenseur des déformations de Green-Lagrange E_{PC} où C est la configuration du muscle dans son état actif et chargé. De plus nous distinguons bien dans cette fonction la contribution des différents constituants :

$$W(t) = W_{\text{pas}}^{\text{mat}} + W_{\text{pas}}^{\text{fib}} + \beta(t) W_{\text{act}}^{\text{fib}} \quad (1)$$

où les termes $W_{\text{pas}}^{\text{mat}}$, $W_{\text{pas}}^{\text{fib}}$ et $W_{\text{act}}^{\text{fib}}$ sont dus respectivement à la présence de la matrice de collagène et des composantes passive et active des fibres myocardiques. L'équation 1 tient compte d'une fonction d'activation $\beta(t)$ bornée ($0 \leq \beta(t) \leq 1$, où t est le temps) qui n'est autre que le degré d'activation électrique du muscle. Ainsi le dernier terme de l'Eq.(1) traduit la variation de la loi de comportement durant le cycle cardiaque et ne représente qu'une partie du phénomène physique engendré par l'activation électrique du myocarde. La deuxième partie apparaît directement dans l'expression du tenseur des contraintes de Cauchy τ_C à l'état C :

$$\tau_C = \Phi_{PC} \frac{\partial W}{\partial E_{PC}} T_{\Phi_{PC}} - p_C I + \beta(t) T_0 f_C f_C \quad (2)$$

où Φ_{PC} est le tenseur gradient de la transformation pour le passage de l'état P à l'état C , $T_{\Phi_{PC}}$ est sa transposé, p_C est le multiplicateur de Lagrange qui permet d'assurer l'incompressibilité du milieu ($\det \Phi_{PC} = 1$), I est le tenseur identité, T_0 est la tension maximale que peut délivrer la fibre à son zéro d'élongation, f_C est le vecteur directeur unitaire de la fibre à l'état C , et le symbole \cdot représente le produit tensoriel. Le dernier terme du membre de droite de l'équation précédente traduit le deuxième phénomène physique lié à l'activation des fibres musculaires qui est la contrainte engendrée par la contraction de ces dernières dans leurs directions.

III Domaines d'application

Cette approche a été utilisée avec succès sur les modélisations des comportements mécaniques du cœur adulte et fœtal (Cai, 1998), et des vaisseaux sanguins (Teppaz, 1999). Elle est applicable à tous les tissus biologiques contractiles afin de mieux comprendre le fonctionnement mécanique de la structure en condition physiologique.

Références

Cai H., *Loi de comportement en grandes déformations du muscle à fibres actives: Application à la mécanique du cœur humain*, Thèse de Mécanique de l'université de Savoie, 1998.

Oddou C. et Ohayon J., *Mécanique de la structure cardiaque*, dans: *Biomécanique des fluides et des tissus biologiques*. Ed. Jaffrin M.Y., édition Masson, 1998.

Ohayon J. et Chadwick R.S., *Effects of collagen microstructure on the mechanics of the left ventricle*, *Biophys. J.*, 54: 1077-1088, 1988.

Taber L., *On a nonlinear theory for muscle shells*, *J. of Biomech. Eng.*, 113: 56-62, 1991.

Teppaz P., *Comportement mécanique de la plaque d'athérome et simulations numériques de l'angioplastie dans les coronaires humaines*, Thèse de Mécanique de l'université de Savoie, 1999.

DE L'ELABORATION DU BOIS DANS L'ARBRE AUX PROPRIETES DU MATERIAU : QUELQUES ELEMENTS DE REFLEXION CONFIRMES PAR DES CALCULS D'HOMOGENEISATION.

Patrick Perré et Eric Badel
ENGREF/INRA, équipe Produits Forestiers
14, rue Girardet
54 042 Nancy Cedex
e-mail : perre@engref.fr

Résumé

Au sein d'un cadre de développement déterminé par l'espèce, appelé plan ligneux, l'anatomie d'un arbre s'exprime différemment selon le génotype, la sylviculture, la vitesse de croissance, les besoins de réorientation... L'enjeu de l'approche déterministe est de comprendre afin de prédire les changements de propriétés liés à ces modifications. Elle situe l'anatomie à la charnière entre forêt (résultat du mode de production) et bois matériau (déterminisme des propriétés).

Cette approche requiert la description de la morphologie du milieu poreux et la mesure, grâce à des dispositifs spécifiques, des propriétés des constituants microscopiques.

Afin de se rapprocher au mieux de la structure réelle du matériau, les calculs d'homogénéisation sont effectués sur des maillages générés à partir d'images réelles d'échantillons (microscope optique et imagerie X). Les résultats présentés ici sont limités au retrait et au comportement élastique orthotrope. Deux changements d'échelle sont abordés : de la paroi cellulaire aux tissus et des tissus à l'accroissement annuel.

1. INTRODUCTION

Les arbres sont des végétaux à croissance secondaire : les méristèmes primaires mettent en place la structure et l'architecture de l'arbre (croissance primaire de la plante) à la suite de quoi un méristème secondaire, le cambium, présent sur toute la périphérie de la tige, forme des couches successives par division cellulaire et met en place un système vasculaire par différenciation cellulaire. La plupart des cellules ainsi formées vivront quelques semaines seulement, à la suite de quoi la paroi lignifiée est mise en place. Seules les cellules de parenchyme resteront vivantes de nombreuses années. Elles seront responsables de la duraminisation du bois qui est souvent marquée par un changement de couleur et qui confère à certaines essences leur durabilité naturelle. Le bois matériau est le produit de cette croissance secondaire (Fig. 1).

Chaque essence ligneuse a un mode de développement spécifique de ses tissus, appelé plan ligneux, qui permet à l'anatomiste averti de reconnaître une essence parmi plusieurs milliers d'espèces répertoriées. Par ailleurs, au sein du même plan ligneux, la proportion et la répartition de tissus varient en fonction du génotype et des conditions de développement de la plante.

Les travaux présentés ici s'inscrivent dans une thématique générale de prédiction du comportement macroscopique du bois à partir de ces mécanismes d'élaboration dans l'arbre. En

plus d'une meilleure maîtrise de la variabilité inter et intra spécifique du bois, l'enjeu de cette approche est une meilleure compréhension du déterminisme des propriétés du matériau produit par l'arbre.

L'objectif est de procurer aux scientifiques et aux gestionnaires une possibilité de simulation particulièrement bienvenue pour traiter l'échelle de temps propre à la forêt (effet d'un choix de sylviculture, sélection génétique, caractérisation d'essences tropicales...). Rappelons qu'il faut environ deux siècles pour obtenir un chêne en âge d'exploitation.

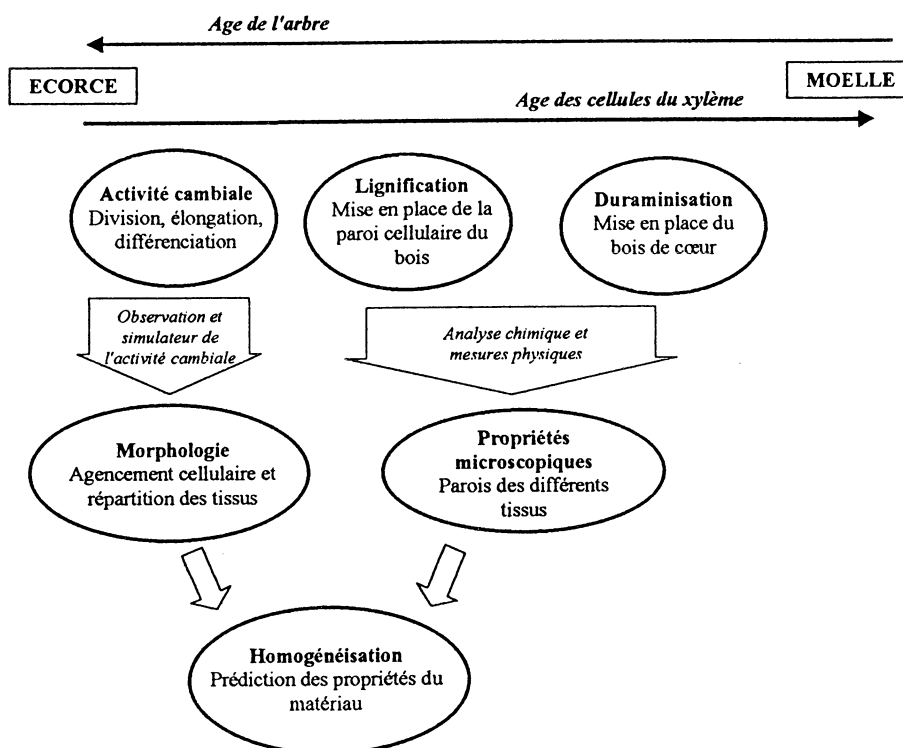


Figure 1 – De l'élaboration du bois dans l'arbre au matériau d'ingénieur.

2. CHANGEMENT D'ECHELLE

L'approche présentée brièvement en introduction situe l'anatomie du bois à la charnière entre le fonctionnement biologique de l'arbre et les propriétés du matériau et utilise le changement d'échelle comme outil de prédilection. Parmi les nombreuses échelles d'observation possibles du matériau bois, la figure 2 illustre les deux changements abordés ci-après.

A quelques nuances près, la technique utilisée dans ce travail est l'homogénéisation appliquée à un milieu hétérogène supposé périodique [Suquet 1985, Sanchez-Hubert et Sanchez-Palencia 1992, Hornung 1997]. Bien entendu, en dépit de la régularité de sa structure imposée par le fonctionnement du cambium, le bois n'est pas exactement périodique : la détermination de la cellule unité (le volume élémentaire représentatif du milieu poreux) est l'une des questions importantes. Le milieu est défini classiquement à partir de deux coordonnées d'espace supposées indépendantes : x pour la position macroscopique et y pour la position microscopique.

En gardant à l'esprit que le retrait/gonflement du bois est un caractère technologique très important, la formulation classique d'équilibre mécanique prend le gonflement en considération [Perré, 1998]. A l'échelle de la cellule de base représentative, les conditions aux limites font intervenir la périodicité du problème qui peut donc être formulé comme suit :

$$\begin{cases} \sigma_{ij,j} = 0 \\ \sigma_{ij} = a_{ijkl} \{e_{kl}(u) - s_{kl}H\} \\ \sigma \cdot n \text{ anti - periodique} \\ e(u) \text{ periodique} \end{cases} \quad [1]$$

σ : tenseur de contraintes
 a : tenseur des propriétés élastiques
 e : tenseur des déformations résultant du champ de déplacement u
 s : tenseur des déformations dues au gonflement
 n : vecteur unité normal aux bords
 H : teneur en eau liée (eau responsable du retrait)

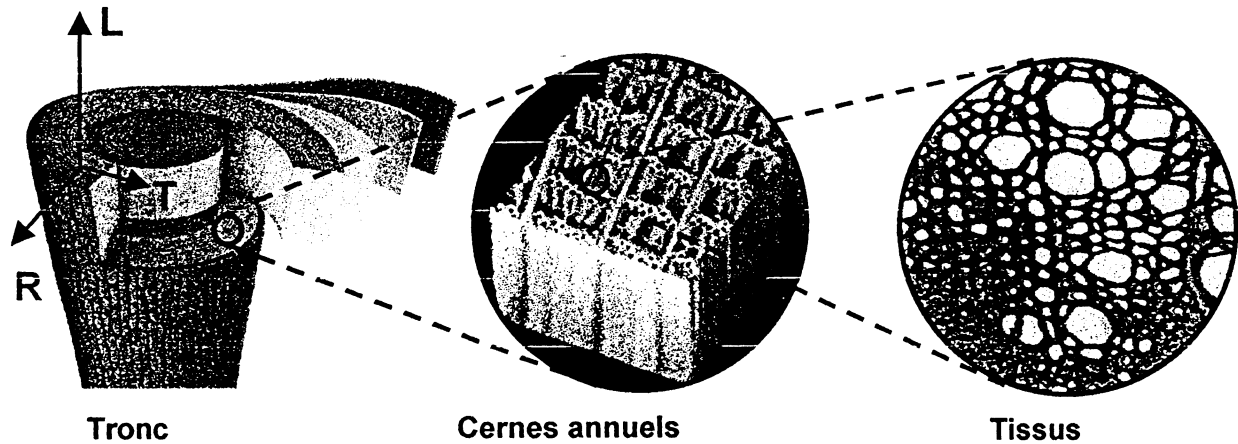


Figure 2 - Exemple de différentes échelles d'observation du matériau bois (chêne).

Les problèmes à résoudre sur la cellule de base et l'expression des propriétés macroscopiques sont obtenus en identifiant les puissances de ε , petit paramètre, rapport entre dimension macroscopique et dimension microscopique. L'hypothèse d'élasticité linéaire permet de rechercher le champ de déplacement à l'ordre 1, $u^{(1)}$ sous la forme d'une combinaison linéaire des champs macroscopiques $u^{(0)}$ et H :

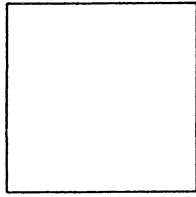
$$u^{(1)} = \xi^{\lambda m} e_{x\lambda m}(u^{(0)}) + wH \quad [1]$$

Grâce à la linéarité de la formulation, les solutions élémentaires $\xi^{\lambda m}$ et w ne dépendent pas de la variable macroscopique x . Chacune est calculée par la résolution d'un problème correspondant à un champ macroscopique sans dimension :

$$e_{xij}(u^{(0)}) = \Pi_{ij}^{\lambda m} = \frac{1}{2}(\delta_{i\lambda}\delta_{jm} + \delta_{im}\delta_{j\lambda}) \text{ et } H^{(0)} = 0 \text{ pour les problèmes } \lambda m \text{ associés à } \xi^{\lambda m}$$

$$e_{xij}(u^{(0)}) = 0 \text{ et } H^{(0)} = 1 \text{ pour le problème associé à } w$$

Finalement, il faut résoudre les problèmes suivants sur la cellule unitaire représentative :



[2]

$$\frac{\partial}{\partial y_j} [a_{ijk\lambda} e_{k\lambda}(w)] = -\frac{\partial}{\partial y_j} [a_{ijk\lambda} s_{k\lambda}] \quad [3]$$

La connaissance de chacune de ces solutions permet de calculer les propriétés macroscopiques; la plus commune des formules concerne les propriétés élastiques :

$$\begin{aligned} A_{ijkh} &= \langle a_{ijkh} \rangle + \langle a_{ij\lambda m} e_{y\lambda m}(\xi^{kh}) \rangle \\ \text{Coefficient} &= \text{Moyenne des coefficients} + \text{Terme} \\ \text{homogénéisé} &= \text{microscopiques} + \text{correcteur} \end{aligned} \quad [4]$$

L'équation 5 montre que les propriétés macroscopiques sont les moyennes des propriétés microscopiques sur la cellule de base auxquelles il faut ajouter un terme correcteur défini par les solutions élémentaires $\xi^{\lambda m}$. Ce dernier représente l'effet de la morphologie sur les propriétés macroscopiques considérées.

La solution élémentaire relative au gonflement ne fournit pas directement le gonflement macroscopique mais le champ de contraintes macroscopiques Q_{ij} qui l'accompagne en considérant que le champ de déformation, lui, reste nul :

$$Q_{ij} = \langle a_{ijkh} e_{ykh}(w) \rangle - \langle a_{ijkh} s_{kh} \rangle \quad [5]$$

Le gonflement macroscopique S_{ij} est alors obtenu par inversion en supposant que le tenseur des contraintes macroscopiques reste nul :

$$S_{kh} = (A_{ijkh})^{-1} Q_{ij} \quad [6]$$

Dans le cadre de ce travail, cette formulation est traitée en deux dimensions. Dans le cas de milieux cellulaires (premier changement d'échelle), les vides ne sont pas maillés. Pour éviter de traiter les nombreuses charges linéiques qui apparaissent aux interfaces, nous avons utilisé une formulation en champs de déplacement à déformation périodique [Léné, 1984] en considérant deux plans de symétrie sur la cellule de base (le plan est pavé par symétrie, en "dépliant" la cellule). Le cas du retrait sur milieu cellulaire, juste abordé ci-dessous, étend ce principe à des cellule de base incapables de paver le plan.

Ces techniques permettent donc de prédire les propriétés macroscopiques d'un matériau à partir de la morphologie et des propriétés des éléments constitutifs microscopiques. Cependant, en dépit de son apparence séduisante, il faut garder à l'esprit que cette approche a deux exigences :

- Décrire la morphologie des hétérogénéités microscopiques,
- Obtenir les propriétés des constituants de base.

Par rapport à ces deux exigences, le matériau bois a deux caractéristiques majeures :

- **Un avantage** : son anatomie est telle qu'il est assez facile de passer d'une image à la structure tridimensionnelle : pour de nombreuses propriétés, une bonne approximation de la structure est simplement obtenue en négligeant les variations longitudinales du plan ligneux.
- **Un inconvénient** : les propriétés des constituants de base ne sont pas connues (contrairement aux matériaux composites artificiels par exemple). Ces propriétés doivent être mesurées, le plus souvent en développant des dispositifs spécifiques.

Un code d'éléments finis, nommé *MorphoPore*, a été écrit spécialement développé en Fortran 90 afin de calculer les solutions des différents problèmes à résoudre sur la cellule de base [Perré 1998]. Ce code se présente sous la forme d'une application Windows. Il permet de visualiser les maillages et les solutions et calcule les propriétés macroscopiques. Des conditions aux limites de symétrie sont utilisées pour les problèmes cellulaires et des conditions périodiques pour le calcul d'un accroissement annuel.

3. DE LA PAROI CELLULAIRE AU TISSU

L'étude des tissus, c'est-à-dire de leur agencement cellulaire, est une échelle clé qui permet de relier les travaux effectués au niveau de la paroi, échelle encore proche des macromolécules constitutives du bois et l'échelle des constituants anatomiques, qui permet déjà de deviner à quoi ressemble le matériau macroscopique.

Le maillage de la structure est construit directement à partir d'images microscopiques de bois et les problèmes mathématiques sont résolus par la méthode des éléments finis. Dans cette partie, le maillage est simplement construit en transformant chaque pixel situé dans la partie solide en un élément Q4 du maillage. Cette approche conduit à des maillages gigantesques (jusqu'à 200 000 degrés de liberté) et à des temps de calculs de l'ordre de l'heure, mais permet de passer assez simplement d'images microscopiques au calcul numérique.

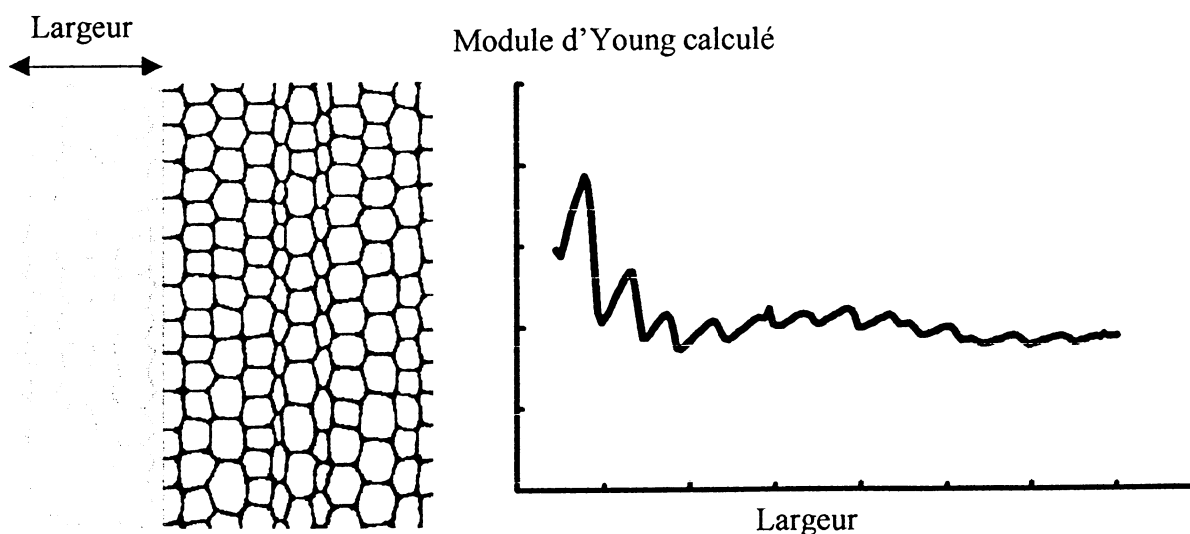


Figure 3 – Effet de la taille de la cellule unité sur la propriété macroscopique calculée. Le champ de l'image est de $800 \times 800 \mu\text{m}^2$. (d'après Farruggia 1998)

Tout d'abord, des calculs préliminaires ont permis de préciser la taille de la cellule de base. En maillant une partie plus ou moins grande d'une image, il est possible de constater la convergence des propriétés macroscopiques en fonction de la taille (Fig. 3). Les propriétés deviennent stables pour une extension radiale relativement faible, tandis que l'extension tangentielle doit être plus importante (une dizaine de rangées de trachéides est nécessaire).

Parmi les résultats importants, mentionnons la très bonne prédiction par le calcul des rapports d'anisotropie transverse mesurés par essais de traction sur des micro-échantillons dans la zone initiale d'épicea. Les coefficients de Poisson sont également très bien prédits :

$$\frac{E_R}{E_T} \approx 4 \quad \nu_{RT} \approx 1.1 \quad \nu_{TR} \approx 0.3$$

Sachant que tous ces calculs sont effectués en supposant que le comportement des parois cellulaires est isotrope dans le plan RT, la qualité de la prédiction peut surprendre. Elle dénote en fait l'importance de l'agencement cellulaire sur les propriétés macroscopiques. L'important rapport d'anisotropie ainsi que les différences de coefficient de Poisson résultent d'un agencement ordonné dans la direction radiale (toutes les trachéides proviennent de la division cellulaire de la même cellule initiale du cambium) et d'un agencement plutôt aléatoire dans la direction tangentielle (l'observation d'une coupe anatomique montre que les rangées voisines ne semblent pas synchronisées, sauf dans le bois final).

Porosité	Densité (kg m ⁻³)	$\frac{E_R^{0.4}}{E_R^{0.1}}$	$\frac{E_T^{0.4}}{E_T^{0.1}}$	$\nu_{RT}^{0.1}$	$\nu_{RT}^{0.4}$	$\frac{\nu_{RT}^{0.4}}{\nu_{RT}^{0.1}}$	$\nu_{TR}^{0.1}$	$\nu_{TR}^{0.4}$	$\frac{\nu_{TR}^{0.4}}{\nu_{TR}^{0.1}}$	$\frac{G_{RT}^{0.4}}{G_{RT}^{0.1}}$
0.8	300	1.15	1.19	1.09	1.02	0.93	0.34	0.33	0.97	1.23
0.4	900	1.08	1.06	0.08	0.14	1.75	0.11	0.18	1.71	1.17

Tableau 1 - Influence du coefficient de Poisson de la paroi(0,1 et 0,4) sur les propriétés homogénéisées transverses notées $E^{V_{paroi}}$, $G^{V_{paroi}}$ et $\nu^{V_{paroi}}$

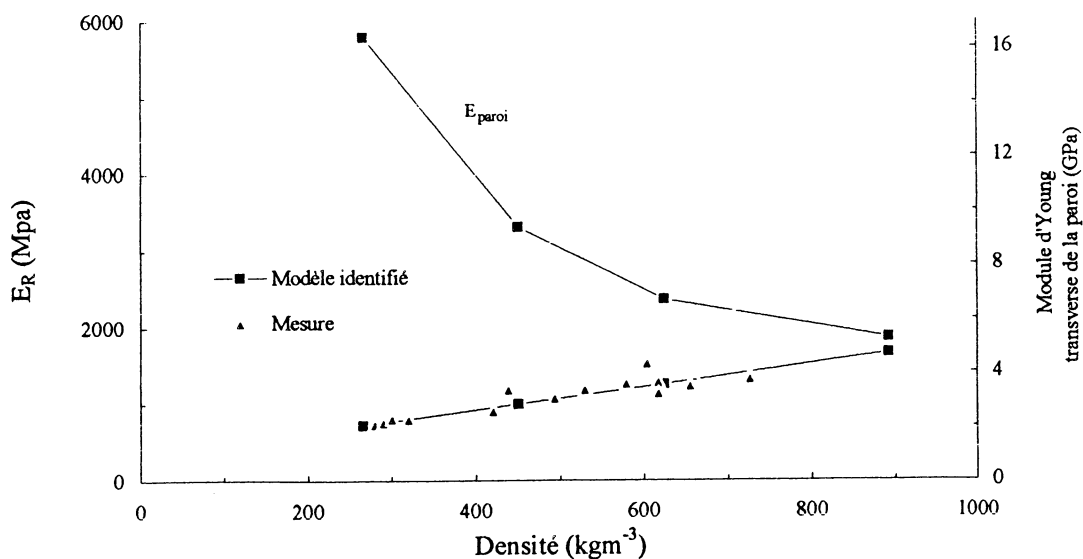


Figure 4 - Identification du module d'Young transverse de la paroi sur un cerne de 12 mm (d'après Farruggia 1998)

Enfin, puisque les propriétés macroscopiques dépendent très peu du coefficient de Poisson de la paroi (ceci est particulièrement vrai pour une forte porosité, c'est-à-dire dans le bois initial, tableau 1), toutes les propriétés élastiques macroscopiques dépendent d'un seul paramètre microscopique : le module d'Young de la paroi. Ainsi, en utilisant à la fois les mesures effectuées sous microscope et les calculs d'homogénéisation, il est possible de définir le **module d'Young microscopique** qui permet d'obtenir les bonnes valeurs au niveau de l'agencement cellulaire (Fig. 4). Du fait de l'isotropie supposée de la paroi cellulaire, les valeurs indiquées doivent être considérées comme "**valeurs équivalentes**" pour des parois sollicitées essentiellement en flexion.

Le cas du retrait d'un agencement cellulaire ne peut pas être traité avec de telles hypothèses : l'hypothèse d'un retrait homogène et isotrope de la phase solide se traduit directement par un retrait isotrope de la même valeur au niveau macroscopique. Les outils de passage de l'image au maillage ont été modifiés afin de prendre en considération une structure qui aurait deux constituants homogènes (lamelle mitoyenne et paroi), isotrope pour la première et anisotrope pour la seconde. La direction locale d'anisotropie est calculée de proche en proche à partir de la tangente au contour des cellules. L'anisotropie de la seconde couche a un effet inattendu : en conséquence à l'agencement ordonné selon la direction radiale, elle oblige les cellules à changer de forme durant le retrait. Ceci constitue une nouvelle explication de l'anisotropie macroscopique.

4. DES TISSUS A L'ACCROISSEMENT ANNUEL

Un second changement d'échelle permet de passer d'un assemblage de tissus à quelques accroissements annuels, c'est à dire au bois massif dit "parfait", celui qui est utilisé pour caractériser les propriétés technologiques. Une essence au plan ligneux très hétérogène, le chêne, est utilisée pour illustrer la méthode.

✓ **la nature et la répartition des tissus** sont obtenues grâce à un dispositif d'imagerie X conçu et développé dans notre laboratoire,

✓ **les propriétés microscopiques** des principaux éléments constitutifs du plan ligneux du chêne ont été mesurés. Pour chacun des tissus considérés, les propriétés élastiques (modules d'Young, coefficients de Poisson) sont mesurées grâce à une machine de traction placée sous un microscope [Badel et Perré, 1999]. Le champ local de déformation est calculé par comparaison d'images. Les coefficients de retrait sont déterminés par imagerie X d'échantillons microscopiques conditionnés à différents états hydriques.

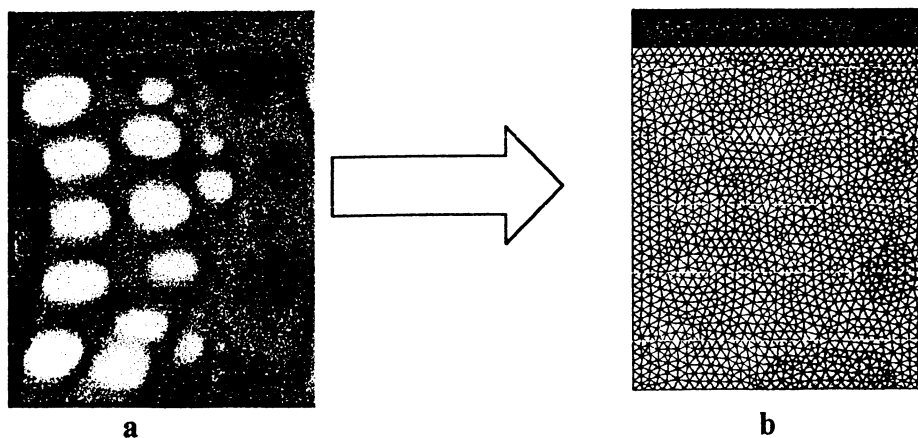


Figure 5 : Après distinction des différentes plages de tissus sur l'image (a), leur contour est vectorisé. Le maillage par éléments finis (b) est généré à partir de cette information.

L'image par rayons X de l'échantillon renseigne directement sur la densité locale du bois. Ainsi, le contour des tissus est-il assez facile à repérer. Le maillage numérique est obtenu par segmentation d'image et transfert des contours à un mailleur (Fig. 5). Nous avons utilisé EASYMESH, logiciel écrit par Bojan Niceno. Sa souplesse d'utilisation en fait un outil très adapté à la structure complexe du bois.

La figure 6 montre un exemple de calcul d'homogénéisation effectué sur un accroissement annuel de chêne par le programme *MorphoPore*. 4 problèmes d'homogénéisation sont calculés (3 pour la mécanique et 1 pour le gonflement). Bien entendu, les propriétés microscopiques (propriétés élastiques et coefficients de retrait) affectées à chacun des constituants sont issues de mesures microscopiques.

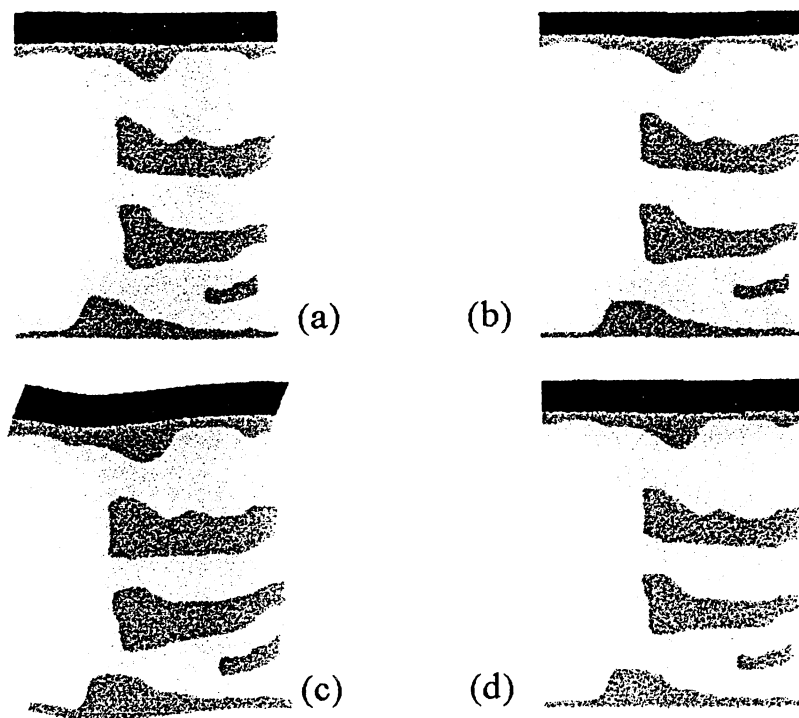
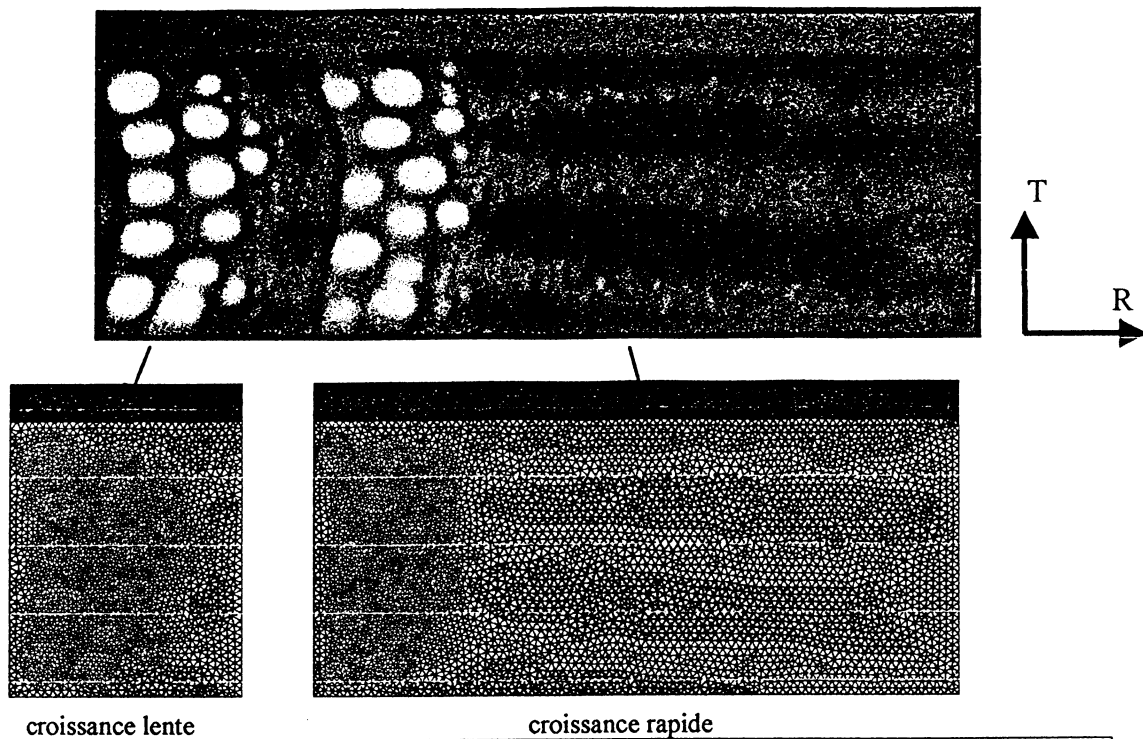


Figure 6 : Représentation des 4 termes correcteurs calculés. Les trois premiers (a, b, c) correspondent aux problèmes mécaniques (respectivement : 11, 22 et 12) et le dernier (d) au problème du retrait.

Les outils présentés ici ont été développés dans le souci de s'adapter à la variabilité naturelle de différents plans ligneux (variabilité inter-spécifique), mais aussi à la variabilité naturelle de l'expression du même plan ligneux (variabilité intra-spécifique). Afin d'illustrer l'une des applications possibles, nous proposons la comparaison de deux cernes élaborés dans le même arbre sur deux années successives. Le premier accroissement annuel a une largeur couramment rencontrée chez le chêne, de l'ordre de 1.4 mm, alors que celui produit l'année suivante montre une vitesse de croissance environ 3 fois plus importante, probablement à la suite d'une forte éclaircie du peuplement forestier (Fig. 7).



		Croissance lente	Croissance rapide (+ 190%)
Propriétés mécaniques	E_R (MPa)	1517	1856 (+22%)
	E_T (MPa)	771	1201 (+55%)
	E_R / E_T	1.97	1.54 (-21%)
Coefficients de gonflement	α_R (% / %)	0.1728	0.2152 (+26%)
	α_T (% / %)	0.3230	0.3985 (+24%)
	α_T / α_R	1.87	1.85 (-0.9%)

Figure 7 : Calcul des propriétés homogénéisées de deux cernes annuels du même arbre à vitesse de croissance très différente. Les propriétés des tissus sont supposées identiques dans les deux cas.

Dans cet exemple, la différence de structure est due à la vitesse de croissance. L'ensemble des propriétés augmente lorsque la vitesse de croissance augmente. Cette tendance est bien connue chez le chêne, puisque c'est essentiellement la partie de bois d'été, plus dense, qui augmente lorsque l'accroissement augmente. Le principal intérêt du calcul est de quantifier ces tendances. Le retrait augmente de l'ordre de 25%, tant en radial qu'en tangential. L'ordre de grandeur est le même pour le module d'Young radial, tandis que le module d'Young tangential augmente de plus de 50%. Cet effet doit être attribué au rôle de renfort joué dans cette direction par les plages de fibre. Le rôle de ces tissus est moindre dans la direction radiale parce qu'ils sont placés en série avec les gros vaisseaux, zone peu dense et peu rigide.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Une approche déterministe est appliquée au bois afin de mieux comprendre le rôle des mécanismes d'élaboration de la matière ligneuse dans l'arbre sur les propriétés macroscopiques du matériau. L'anatomie se situe au cœur de l'approche, à la fois résultat du fonctionnement du cambium dans l'arbre et description morphologique du matériau. Deux changements d'échelle ont été présentés : de la paroi cellulaire au tissu et des tissus à l'accroissement annuel.

Au niveau cellulaire, la mise en place des cellules par division cellulaire d'une initiale conduit à des arrangements de cellules ordonnés dans la direction radiale. Il en résulte une anisotropie marquée de la structure, mesurée sur micro-échantillons et prédit par le calcul d'homogénéisation. Au niveau de l'accroissement annuel, nous avons montré sur un exemple l'effet de la vitesse de croissance de l'arbre (accroissement en rayon dû à la croissance secondaire) sur les propriétés du bois.

L'application de ce type de méthode au bois est récente. De nombreuses études sont encore nécessaires avant de pouvoir exprimer son potentiel. Vers l'amont, le développement d'un outil de simulation de l'activité cambiale, simple outil d'aide à la réflexion, est envisagé. Vers l'aval, une validation expérimentale de la méthode et l'étude d'autres propriétés, notamment de transfert, est envisagée. Enfin, il ne faut pas oublier que le comportement mécanique différé du bois est d'une importance capitale pour les procédés de transformation. Il est donc envisagé d'étendre cette approche à des comportements non linéaires : viscoélastique et mécano-sorptif. Il est d'ailleurs probable que cette approche nous oblige à aborder un autre changement d'échelle, afin de se rapprocher des macromolécules constitutives du bois.

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Badel E. et Perré P. "Caractérisation des propriétés mécaniques des éléments du plan ligneux du chêne par des essais sous microscope " *Annals of Forest Science*, 56(6) 476-478 (1999).
- Farruggia F. "Détermination du comportement élastique d'un ensemble de fibres de bois à partir de son organisation cellulaire et d'essais mécaniques sous microscope" Thèse ENGREF, Nancy (1998).
- Hornung U. "Homogenization and porous media", edited by, Springer Verlag (1997).
- Léné F., "Contribution à l'étude des matériaux composite et de leur endommagement", thèse d'état, Université Pierre et Marie Curie, Paris (1984).
- Perré P. "The Use of Homogeneisation to Simulate Heat and Mass Transfer in Wood: Towards a Double Porosity Approach" Plenary lecture, International Drying Symposium, published in *Drying'98*, 57-72, Thessaloniki, Grèce (1998).
- Perré P. "Effets de la composition chimique, de l'ultra-structure et de la structure anatomique sur quelques propriétés de base du matériau bois" Rapport final de la première tranche du projet de recherche MicMac, convention DERF/ENGREF n°01.40.30/96, 138 pages (1998).
- Sanchez-Hubert, J. Sanchez-Palencia E. "Introduction aux méthodes asymptotiques et à l'homogénéisation" Masson, Paris (1992).
- Suquet, P.M., "Element of homogenization for inelastic solid mechanics" in *Homogenization Techniques for Composite media*, Lecture Notes in Physics, 272, Sanchez-Palencia and Zaoui Editors, Springer-Verlag (1985).

ETUDE DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES EN MODE ECOULEMENT, FLUAGE ET OSCILLATION DE SUSPENSIONS AQUEUSES CONCENTREES DE KAOLIN

N. Fourati et D. Léger

Laboratoire des Matériaux Minéraux, Conservatoire National des Arts et Métiers,
292, Rue Saint Martin, 75141 Paris cedex 03, FRANCE

Résumé

Notre étude entreprise à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée porte sur l'analyse du comportement rhéologique en mode écoulement, fluage et oscillation de suspensions aqueuses concentrées de kaolin.

L'allure des rhéogrammes d'écoulement et les variations des seuils associés renseignent sur les modes d'association et la nature des liaisons interparticulaires. L'évolution des seuils en fonction de la force ionique avant le point isoélectrique des bords, PIB, passe par un maximum dans un intervalle de concentration en électrolyte pour lequel la floculation est maximale.

Les résultats des essais en fluage ont permis de montrer que selon la valeur de la contrainte appliquée, le comportement des suspensions est de type viscoélastique solide ou liquide.

Les essais dynamiques à fréquence imposée ont permis d'identifier la plage de viscoélasticité linéaire, et de mieux appréhender l'effet de la force ionique sur les paramètres viscoélastiques G' et G'' .

I – Introduction

Les Kaolins sont des aluminosilicates hydratés qui se présentent sous la forme de particules lamellaires hexagonales résultant de l'empilement de feuillets élémentaires constitués d'une couche de tétraèdres de silice reposant sur une couche d'octaèdres d'alumine. La cohésion entre feuillets est assurée par des liaisons hydrogène stables. Les surfaces basales (faces) portent des charges négatives tandis que les surfaces latérales (bords) peuvent présenter des charges à la fois positives et négatives entre pH 3 et pH 9.

Dans cet article, nous analysons le comportement des suspensions aqueuses concentrées de kaolin par le biais de mesures rhéologiques en mode écoulement, fluage et oscillation sans pré-cisaillement donc sans destruction préalable du matériau.

Dans une première partie nous analysons les rhéogrammes en mode écoulement à savoir l'existence d'un seuil d'écoulement, suivi d'une rhéofluidification puis d'un comportement rhéologique apparemment antithixotrope aux forts cisaillements. Nous montrons ensuite que l'application de i cycles successifs de charge – décharge sur un même échantillon met en évidence deux « types » de seuils : - un seuil de charge τ_{Ci} , et - un seuil de décharge τ_{Di} . En étudiant par la suite la variation des seuils d'écoulement en fonction de force ionique (Ref. 1), il apparaît qu'avant le PIB, une augmentation de la force ionique entraîne

d'abord un accroissement des valeurs des seuils d'écoulement puis ensuite leur diminution. Ce résultat peut s'interpréter par la prise en compte du caractère collectif ou localisé des forces d'interactions entre les doubles couches.

L'analyse des courbes de fluage pour des taux de contraintes croissants a permis de révéler trois régimes distincts. Leur étude permet de caractériser la destruction progressive des agrégats par des lois d'écoulement simples et par l'introduction d'un coefficient de friction.

Dans la dernière partie nous examinons le comportement des suspensions concentrées de kaolin à travers des mesures rhéologiques en mode oscillation. Les balayages en contrainte à fréquence imposée ont permis d'identifier la plage de viscoélasticité linéaire et de mieux appréhender l'effet de la force ionique sur les modules d'élasticité G' et de perte G'' . En étudiant ensuite les variations de G' et de G'' en fonction de la fréquence à contrainte oscillante constante et à différentes forces ioniques, nous corroborons les résultats obtenus en mode écoulement à savoir que selon la valeur de la force ionique les forces d'interaction entre doubles couches peuvent avoir soit un caractère collectif soit un caractère localisé.

II - Préparation du kaolin, Appareillage et méthode expérimentale.

Le Kaolin d'Arvor utilisé dans cette étude est initialement aggloméré sous forme de granules de diamètre de l'ordre du cm. L'analyse chimique et minéralogique indique une composition moyenne de 47,15% de silice, 37,6% d'alumine, ainsi que quelques traces d'oxydes minéraux tels que l'oxyde de potassium et l'oxyde de fer III.

L'appareil employé dans notre étude est un rhéomètre rotatif plan cône à contrainte imposée (TA Instruments CSL₁₀₀²). La tête de mesure a été équipée d'un cône en acier inoxydable de 2°00'29'' d'ouverture et de 6 cm de diamètre pour un entrefer de 65 μm .

Afin d'obtenir des caractéristiques reproductibles, les échantillons de poudre ont subi un délaminage pendant 3 minutes. Le diamètre médian des particules est de 5 μm . Les suspensions ont été préparées avec de l'eau ultra pure selon le protocole suivant : - dégazage de la poudre dans une enceinte à vide munie d'une pompe à eau ; - imbibition puis homogénéisation durant 20 mn sous vide à l'aide d'un agitateur magnétique; - mise au repos dans un bain thermostaté ($20 \pm 0,05^\circ \text{C}$) pendant 20 mn.

III - En mode écoulement

Les résultats présentés dans cette partie concernent des essais effectués sur des suspensions aqueuses fraîchement préparées de kaolin ($C = 40\%$ en poids de matière sèche). Les rhéogrammes $\tau = f(\dot{\epsilon})$ enregistrés correspondent à des cycles de charge - décharge appliquées de 0 à 40 Pa pendant 2 mn, et inversement.

III - 1 - Rhéogrammes d'écoulement en milieu acide

III - 1 - a - Résultats expérimentaux

En milieu acide les suspensions sont floculées. Les rhéogrammes en charge présentent systématiquement un seuil d'écoulement suivi par une rhéofluidification (fig. 1). Le comportement rhéologique global dépend de la valeur de la vitesse de cisaillement $\dot{\epsilon}$ atteinte. A faible cisaillement, on observe un caractère rhéologique thixotrope qui se manifeste par l'existence d'une boucle dextrogyre sur le graphe $\tau = f(\dot{\epsilon})$. A fort cisaillement, (fig. 1), le comportement rhéologique est apparemment antithixotrope (boucle lévogyre).

III - 1 - b - Interprétation

Les propriétés de surface des particules de kaolin et leur morphologie ont une grande importance pour la compréhension des anomalies observées dans le comportement rhéologique de leurs suspensions. Le comportement rhéofluidifiant (fig.1) est généralement attribué à la désagrégation progressive de la suspension floculée puis à l'alignement des particules (Ref. 1). A faible cisaillement on observe un caractère rhéologique thixotrope (fig. 1) qui indique le passage réversible d'un état structuré à un état déstructuré. A fort cisaillement l'équilibre dynamique se déplace dans le sens d'une rupture rapide et continue des agrégats, ce qui conduit à une forte individualisation des particules leur conférant aussi une forte capacité d'association.

III - 2 - Structuration et déstructuration d'une suspension de kaolin sous contrainte.

III - 2 - a - Résultats expérimentaux

Des travaux antérieurs réalisés par J. F. QUILFEN (Ref. 2) sur des suspensions concentrées de kaolin ($C = 40\%$ en poids de matière sèche) en milieu acide, ont permis de montrer que l'application de six charges successives sur un même échantillon provoque d'abord une augmentation du seuil d'écoulement et ensuite une stabilisation de celui-ci.

Le graphe de la fig. 2 présente les résultats d'un essai de charge 1/décharge 1/charge 2 aux petits temps. Il apparaît que le seuil de la charge 2, τ_{C2} , est légèrement supérieur au seuil de la décharge 1, τ_{D1} , et que ces deux seuils sont inférieurs à τ_{C1} .

Un essai de trois cycles successifs de charge - décharge portés sur un même échantillon (fig. 3) montre que chaque cycle est caractérisé par deux seuils : - un seuil de charge τ_{Ci} , et - un seuil de décharge τ_{Di} , $1 \leq i \leq 3$. La fig. 3 révèle que $\tau_{D1} = \tau_{D2} = \tau_{D3}$ et que $\tau_{C2} \approx \tau_{C3} < \tau_{C1}$.

III - 2 - b - Interprétation

Au cours d'un essai de charge, la suspension se déstructure progressivement ce qui induit la formation d'agrégats de plus en plus petits mais ayant un potentiel d'association de plus en plus élevé. En conséquence la charge induit une *structuration potentielle*, les particules individualisées interagissant davantage entre elles que les gros agrégats, c'est ce qui fait que l'application de charges successives augmente le seuil d'écoulement (Ref. 3).

En appliquant un cycle de charge - décharge de 0 à τ Pa et inversement, on rompt d'abord la structure quasi - continue de la suspension, caractérisée par un seuil τ_C , jusqu'à ce qu'elle soit réduite à l'état de particules, ou de flocs, élémentaires, en relâchant ensuite la contrainte les particules s'agrègent peu à peu en formant des flocs interconnectés de tailles croissantes. Ce réseau nouvellement formé n'est pas quasi - continu comme à l'origine, il correspond donc à un nouvel état d'organisation caractérisé par un seuil τ_D inférieur à τ_C .

L'essai de charge1 / décharge1 / charge2 (fig. 2) permet de confirmer l'existence d'une nouvelle organisation des particules. En effet, la charge 2 sollicite un matériau qui n'a pas eu le temps nécessaire pour retrouver sa structure initiale, c'est ce qui fait que τ_{C2} soit inférieur à τ_{C1} . D'autre part cette charge 2, appliquée immédiatement après la décharge 1, induit une *structuration potentielle* de la suspension cisailée ce qui se traduit par $\tau_{C2} > \tau_{D1}$.

Les variations des seuils d'écoulement après trois cycles successifs de charge/décharge (fig. 3) confirment les résultats antérieurs et permettent de distinguer trois structures de la suspension :

- une structure initiale continue de type « château de cartes » caractérisée par une valeur élevée du seuil, τ_{C1} ,
- une structure beaucoup moins rigide que la première ; qui se forme à la suite de chaque décharge et qui est caractérisée par un seuil τ_D constant (on a en effet $\tau_{D1} = \tau_{D2} = \tau_{D3}$)
- une structure intermédiaire caractéristique des matériaux ayant subi un cycle de charge/décharge, son seuil est tel que : $\tau_D < \tau_{C_{i,i \neq 1}} < \tau_{C1}$.

Les boucles d'hystérésis successives portées sur un même échantillon sont donc d'un grand intérêt puisqu'elles permettent de mettre rapidement en évidence les phénomènes de restructuration et le caractère réversible (ou irréversible) des destructions.

III - 3 - Influence de la force ionique

D'après nos travaux antérieurs (Ref. 1), l'influence croissante de la force ionique I sur la stabilité des suspensions aqueuses de kaolin entraîne un comportement complexe avant le PIB, marqué par un seuil maximal dans le domaine $4.10^{-3} - 10^{-2} M$ (fig. 4). Nous avons interprété ceci par le fait que pour $I \approx 10^{-2} M$, la force ionique est forte et la compression des doubles couches importante ce qui favorise les forces attractives de Van-der-Waals ajoutées à l'interaction bord-face. Au delà une augmentation de I ne provoque plus le rapprochement des particules mais écrante les charges de bords et de faces ; le seuil diminue avec I . Au contraire, en deça de $I \approx 4.10^{-3}$ le seuil augmente avec I . Nous avons aussi mentionné (Ref. 1) qu'à faible force ionique la liaison interparticulaire est de type collectif. L'augmentation de I génère une compression des doubles couches électriques, donc favorise les interactions de Van-der-Waals. De plus le caractère localisé des liaisons augmente et avec lui la capacité de réassociation des particules et des agrégats libérés par le cisaillement. Ces deux circonstances font que le seuil augmente avec I .

IV - En mode Fluage

IV - 1 - Résultats expérimentaux

Les résultats présentés dans cette section concernent des essais effectués sur des suspensions aqueuses à $C = 35, 38$ et 40% en poids de matière sèche. L'étude a porté sur l'analyse du comportement rhéologique de ces suspensions cisillées chaque fois à de faibles niveaux de contrainte (typiquement $\tau < 20$ Pa). Les conclusions se rapportent à ce domaine de contrainte. Les courbes de déformation $\varepsilon(t)$ sont caractérisées par une contrainte τ_f qui fixe la limite entre un comportement de type solide et un comportement de type liquide (Ref. 4, Fig. 5). Pour $\tau < \tau_f$, la suspension cisillée se comporte comme un solide viscoélastique : la déformation prend une valeur finie quand $t \rightarrow \infty$. Pour $\tau > \tau_f$, le comportement rhéologique du matériau peut se décomposer en trois étapes successives (Fig. 6) auxquelles on peut conventionnellement associer trois segments de droite d_0, d_1 , et d_2 .

Afin d'interpréter le comportement en fluage et de le relier à la déstructuration progressive du matériau, nous avons étudié trois régions spécifiques de ces courbes correspondant aux droites d_0, d_1 , et d_2 . Leur pente donne la vitesse de déformation instantanée $\dot{\varepsilon}$ des suspensions immédiatement après le seuil (pente p_0), dans la région intermédiaire (pente p_1), et dans la limite asymptotique de l'écoulement (pente p_2). Ces pentes ont été analysées en fonction de la contrainte appliquée.

Etape 1 :

Le tracé de p_0 en fonction de τ (Fig. 7) montre que p_0 varie linéairement avec τ ; cependant la droite $p_0(\tau)$ coupe l'axe des contraintes en une valeur finie τ_0 non nulle, avec $\tau_0 < \tau_f$.

Etape 2 :

L'analyse de la courbe $p_1(\tau)$ (Fig. 8) montre que le comportement rhéologique du matériau sous charge n'est plus linéaire, mais rhéofluidifiant. Les données ont été analysées avec une loi de puissance de type $p_1(\tau) = p_1^0(\tau - \tau_f)^m$.

Etape 3 :

La courbe $p_2(\tau)$ (Fig.9) redevient celle d'une droite, qui coupe l'axe des contraintes en une valeur finie τ'_0 qui est sensiblement du même ordre que τ_f . Les droites $p_2(\tau)$ pour différents taux de matière sèche ont la même pente qui correspond à l'inverse de la viscosité instantanée.

IV – 2 – Interprétations

Les pentes des diverses droites d_0, d_1 , et d_2 donnent la vitesse de déformation instantanée $\dot{\epsilon}$ des suspensions. Ces pentes ont été analysées en fonction de la contrainte appliquée. Cette méthode indirecte permet de s'affranchir des effets de cinétique de mise en charge que l'on aurait par exemple dans les essais d'écoulement.

Etape 1 :

Le tracé de p_0 en fonction de τ (Fig. 7) montre qu'immédiatement après le seuil en fluage τ_f , le comportement du matériau est pseudo-newtonien : $p_0 \equiv \dot{\epsilon}_0$ varie linéairement avec τ ; cependant la droite $p_0(\tau)$ coupe l'axe des contraintes en une valeur finie τ_0 non nulle, avec $\tau_0 < \tau_f$. Ce paramètre τ_0 tire son origine de la friction entre les gros agrégats qui se sont formés lors de la rupture de la suspension.

Etape 2 :

L'analyse de la courbe $p_1(\tau)$ (Fig. 8) montre que le comportement rhéologique du matériau sous charge n'est plus linéaire, mais rhéofluidifiant. Ceci correspond bien à l'image d'une destructuration progressive de la suspension. En identifiant p_1 à $\dot{\epsilon}$, et en notant que τ_f traduit la limite entre le comportement solide et le comportement liquide, ce qui implique $p_1(\tau_f) = 0$, on aboutit à $p_1(\tau) = p_1^0(\tau - \tau_f)^m$ (Ref. 4)

Etape 3 :

Les agrégats pendant la phase 2 ont pratiquement tous été détruits. A l'étape 3, la suspension consiste en une dispersion de particules très individualisées dans le solvant. Ces particules interagissent entre elles mais les interactions ne concourent plus statistiquement à la recréation d'agrégats. Pendant cette phase, l'écoulement est caractéristique d'un système qui ne subit plus d'évolution structurale : la courbe $p_2(\tau)$ (Fig.9) redevient celle d'une droite comme dans la phase 1. Les droites $p_2(\tau)$ pour différents taux de matière sèche ont la même pente qui correspond à l'inverse de la viscosité instantanée. Ceci traduit le fait que cette viscosité est entièrement gouvernée par l'interaction entre les particules individualisées dans la suspension complètement déstructurée.

V - En mode oscillation

V – 1 – Résultats expérimentaux

V - 1 – a - Balayage en contrainte

En dehors des expériences de fluage, il existe, en viscoélasticité linéaire, un autre type d'expérience qui présente un intérêt fondamental et qui consiste à étudier les suspensions de

façon dynamique en leur imposant une contrainte $\tau = \tau_{os} \sin(\omega t)$ qui varie de manière sinusoïdale au cours du temps avec une pulsation $\omega = 2\pi f$ fixée. Ainsi, pour caractériser le comportement viscoélastique on a commencé par étudier les variations des modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de τ_{os} par le biais d'un balayage logarithmique en contrainte (de 0.1 à 50 Pa) à fréquence imposée, $f = 1\text{Hz}$, et à force ionique contrôlée $I = 10^{-2} \text{M}$ (fig. 10). Au cours de cet essai les temps de mesure et d'équilibrage sont constants et sont égaux à 5s. Nous constatons que pour $\tau_{os} \leq \tau_c$, les propriétés rhéologiques du matériau sont indépendantes de la contrainte, les modules évoluent peu et $G' > G''$. Au delà de ce niveau de contrainte critique et pour $\tau_c < \tau_{os} \leq \tau_c'$, τ_c' étant le point de croisement pour lequel $G' = G''$, le comportement du matériau n'est plus linéaire et les modules de conservation et de perte diminuent, mais on a toujours $G' > G''$. Lorsque $\tau_c' < \tau_{os} \leq \tau_c''$, le module de perte G'' devient supérieur au module d'élasticité G' ; l'évolution de ces deux modules se fait comme suit : une chute suivit par un palier (secondaire). Au delà de τ_c'' et sur tout le domaine de contrainte étudié les modules G' et G'' chutent brusquement et deviennent quasiment nuls.

L'influence de la force ionique sur le comportement rhéologique a été étudiée à partir des résultats présentés dans les figures 11 -a, 11 - b et 12 qui montrent qu'une augmentation de la force ionique du milieu entraîne : - un accroissement des modules G' et G'' (figs. 11 -a et 11 - b), - une diminution de l'amplitude de la déformation (fig. 12).

V - 1 - b - Balayage en fréquence

En se plaçant dans le domaine viscoélastique linéaire, on a effectué un balayage logarithmique en fréquence (de 30 à 0.03 Hz) à contrainte oscillante imposée ($\tau_{os} = 0.8 \text{Pa}$) et à force ionique constante $I = 10^{-2} \text{M}$ (fig. 13). Les mêmes temps de mesure et d'équilibrage ont été conservés. Cette expérience nous a permis de vérifier le caractère à dominance élastique de la suspension à savoir que $G' > G''$ et que les spectres obtenus sont peu sensible à la fréquence (fig. 13).

La caractérisation de l'influence du contenu ionique sur le comportement rhéologique a été aussi étudiée (figs. 14 et 15). Ces figures montrent tout d'abord qu'un accroissement de la force ionique entraîne une augmentation des valeurs de G' et de G'' .

Elles montrent aussi qu'à faible force ionique $I \leq 10^{-2} \text{M}$, les variations de G' (fig. 14) et de G'' (fig. 15) sont pratiquement indépendantes de la fréquence. Au delà de $I = 10^{-2} \text{M}$, on observe des oscillations marquées sur l'ensemble de la gamme de fréquence étudiée. Ces oscillations s'atténuent au fur et à mesure que la force ionique baisse.

Remarquons aussi que le graphe de G'' présente une combinaison de ces deux aspects à $I = 10^{-2} \text{M}$.

V - 2 - Interprétations

Les expériences réalisées en mode oscillation ont pour but de mieux comprendre l'évolution de la structure des suspensions de kaolin. Par structure, on entend une association de particules (des plaquettes de kaolin en l'occurrence) interconnectées en un réseau continu tridimensionnel susceptible de transmettre des forces élastiques en réponse à une déformation (Ref. 15). Parmi les fonctions rhéologiques adaptées à la caractérisation de la structure d'une suspension à caractère viscoélastique on cite le module élastique G' et le module de perte G'' dont la fig. 10 présente les évolutions en fonction de la contrainte oscillatoire à fréquence et à force ionique constante. Cette figure permet de montrer que : - lorsque $0 \leq \tau_{os} \leq \tau_c$, G' et G''

sont indépendants de l'amplitude de la contrainte appliquée et le système se comporte comme un solide viscoélastique linéaire caractérisé par $G' > G''$, - le régime de contrainte intermédiaire $\tau_c < \tau_{os} \leq \tau_c'$, marque la transition entre le comportement viscoélastique solide linéaire et le comportement viscoélastique solide non linéaire. Le second palier observé au delà de τ_c' (fig. 10), correspond à la stabilisation de la structure cisailée. Ce comportement est le résultat d'un équilibre dynamique entre la rupture des agrégats sous contrainte et leur réagrégation. Au delà du second palier et pour $\tau_{os} > \tau_c''$ la suspension se fluidifie de manière irréversible. Le comportement est alors viscoélastique liquide.

Les balayages en contrainte ont montré aussi que l'augmentation de la force ionique entraîne une augmentation importante des modules G' (fig. 11-a) et G'' (fig. 11-b). Un tel comportement a déjà été observé sur les suspensions de bentonite (Ref. 5). La fig. 12 montre parallèlement qu'une augmentation de la force ionique entraîne une diminution de l'amplitude de la déformation. Ces résultats corroborent nos interprétations antérieures à savoir qu'à faible force ionique la liaison interparticulaire est de type collectif, elle autorise par conséquent une plus grande aptitude à la déformation (comportement analogue à celui des caoutchoucs). L'augmentation de I génère un caractère localisé des liaisons, la structure de la suspension est alors plus dense et plus rigide ce qui explique le fait que les déformations sont moins importantes.

Les balayages en fréquence à contrainte oscillatoire constante (figs. 14 et 15) montrent que : - à faible force ionique, les valeurs de G' et de G'' sont peu sensibles à la fréquence et que $G'' \ll G'$, ce qui caractérise les systèmes structurés (Ref. 5), - aux fortes forces ioniques, les spectres de G' et de G'' présentent des oscillations caractéristiques des systèmes non structurés.

L'aspect particulier du graphe de G'' à $I = 10^{-2}M$ (fig. 15) est dû à ce que cette force ionique ($I = 10^{-2}M$) marque le passage entre le caractère localisé et le caractère collectif des liaisons interparticulaires. Ce résultat est en parfait accord avec celui présenté en mode écoulement (fig. 4).

Conclusion

L'étude du comportement rhéologique de suspensions aqueuses concentrées de Kaolin par le biais des rhéogrammes d'écoulement, de fluage et d'oscillation nous a permis d'analyser leur comportement microstructural sous charge et la nature des liaisons interparticulaires.

En mode écoulement, nous avons montré qu'une charge induit une *structuration potentielle*, et que des boucles d'hystérésis successives portées sur un même échantillon sont d'un grand intérêt puisqu'elles permettent de mettre rapidement en évidence les phénomènes de restructuration et le caractère réversible (ou irréversible) des destructions. Nous avons montré aussi qu'aux pH acides, la courbe de variation des seuils en fonction de la force ionique n'est pas monotone mais passe par un maximum dans un domaine bien défini. Ce comportement a été attribué à la modification progressive de la nature des liaisons interparticulaires qui passe d'un état globalement collectif à un état individualisé et localisé.

Les courbes de fluage sont caractérisées par une transition entre un régime viscoélastique solide et un régime viscoélastique liquide. Dans ce dernier cas, le comportement du matériau peut se décomposer en trois étapes successives pour lesquelles nous avons déterminé des lois d'écoulement simples. Chaque étape correspond à une transformation progressive de la suspension.

Les résultats obtenus en mode oscillation corroborent les interprétations déjà présentées dans les modes écoulement et fluage. Les balayages en contraintes ont permis de

définir trois contraintes critiques, τ_c qui correspond au seuil d'écoulement de la suspension, τ_c' qui traduit le passage à un état d'équilibre dynamique caractérisé par une succession de ruptures et de réformation de liaisons au sein de la suspension et τ_c'' qui marque la fluidification de manière irréversible de la suspension. En étudiant ensuite les variations de G' et de G'' en fonction de la fréquence à contrainte oscillante constante et à différentes forces ioniques, nous corroborons les résultats obtenus en mode écoulement à savoir que selon la valeur de la force ionique les forces d'interaction entre doubles couches peuvent avoir soit un caractère collectif soit un caractère localisé.

Bibliographie

- (1) N. FOURATI, D. LEGER et Z. FAKHFAKH, *Influence des paramètres physico-chimiques sur les propriétés rhéologiques des suspensions concentrées de kaolin en milieu aqueux*. Proceedings du Colloque Franco - Ibérique de Rhéologie, Les Cahiers de Rhéologie, volume XVI, n°1, octobre 1998.
- (2) J. F. QUILFEN, *Application de mesures rhéologiques à contrainte imposée à l'analyse des mécanismes de floculation du kaolin d'Arvor*, Mémoire d'ingénieur CNAM, Paris (1992).
- (3) D. LEGER, J. F. QUILFEN, M. DESCAMPS and P. CHAMPION, *Application of stress-controlled rheology measurements to the analysis of flocculation mechanisms in aqueous Kaolin suspensions*. Silicates Industriels., 60, N° 1-2, (1995).
- (4) D. LEGER et N. FOURATI, *Etude et modélisation du comportement rhéologique en fluage de suspensions aqueuses floculées de Kaolin au seuil d'écoulement*, Les Cahiers de Rhéologie, Vol XV, n°3, Mai 1998.
- (5) P. MARCHAL, M. MOAN et L. CHOPLIN, *Rhéologie structurale et percolation dans des dispersions argileuses*, Les Cahiers de Rhéologie, Vol XIII, n°4, Décembre 1996.

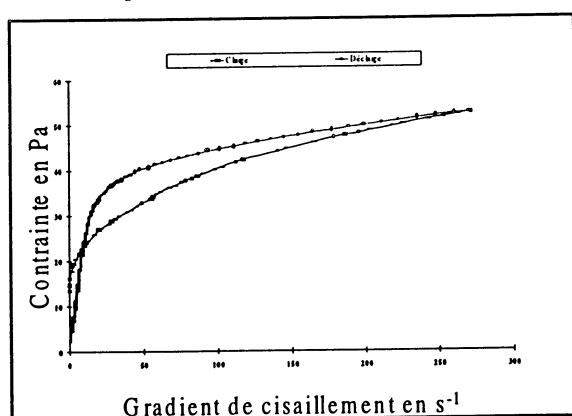


Fig. 1 : Courbe d'écoulement d'une suspension aqueuse concentrée de kaolin, pH = 4.8. $I = 10^{-2}$ M

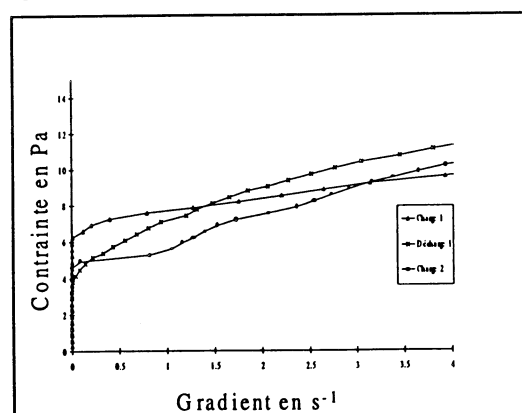


Fig. 2 : Charge1/Décharge1/Charge2 portés sur le même échantillon

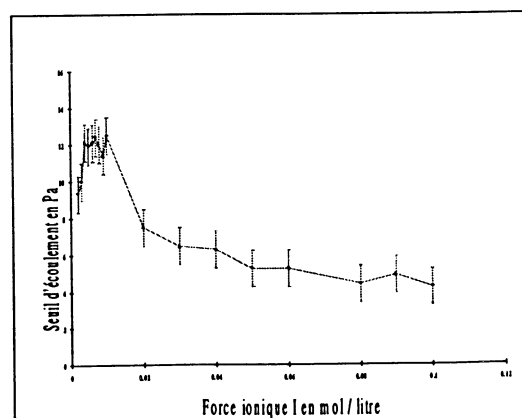
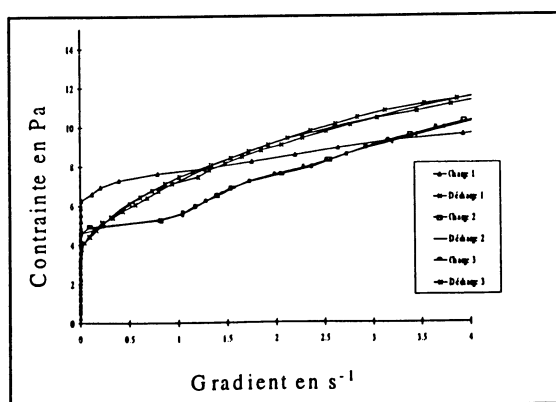


Fig. 3 : 3 cycles de Charge/Décharge portés sur le même échantillon

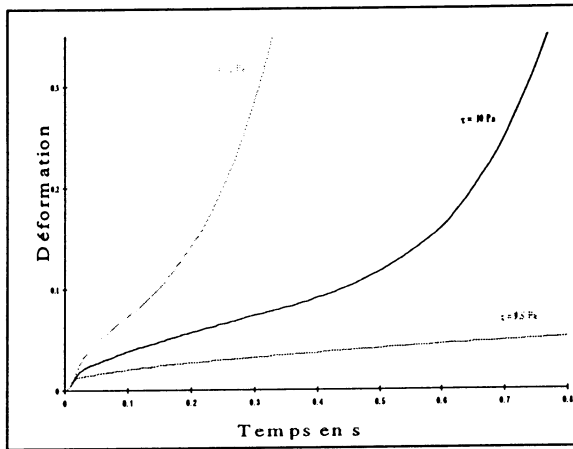


Fig. 5 : Comportement viscoélastique solide et viscoélastique liquide

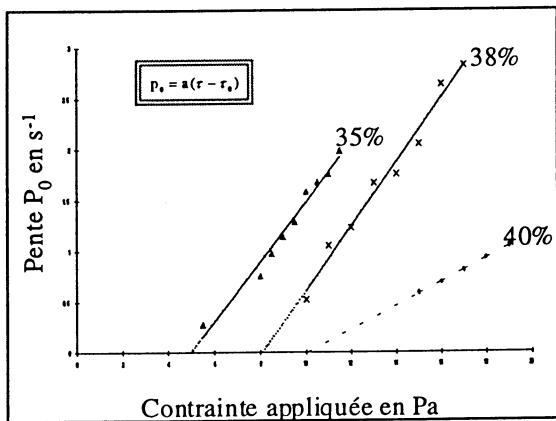


Fig. 7 : Evolution de la pente p_0 en fonction de la contrainte de fluage appliquée

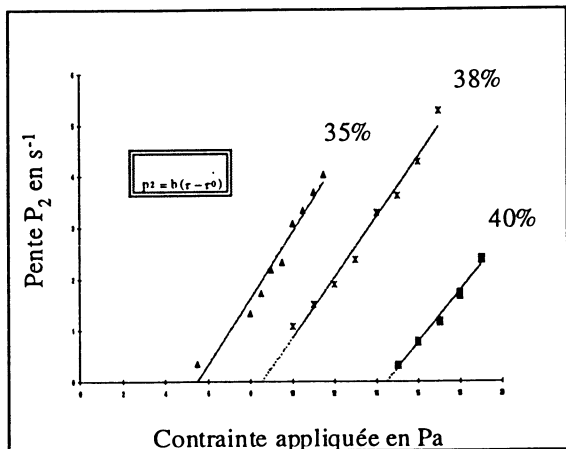


Fig. 9 : Evolution de la pente p_2 en fonction

Fig. 4 Evolution des seuils d'écoulement en fonction de la force ionique avant le PIB

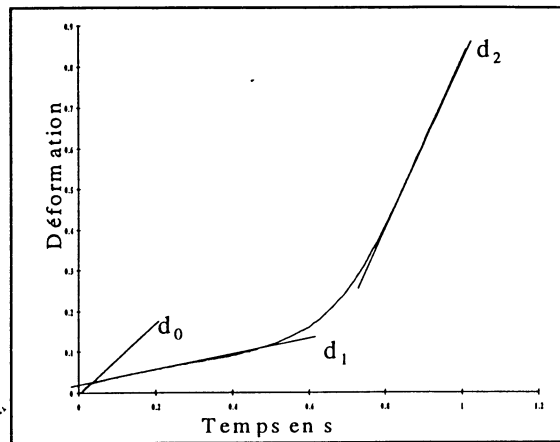


Fig. 6 : Paramétrisation d'une courbe de fluage

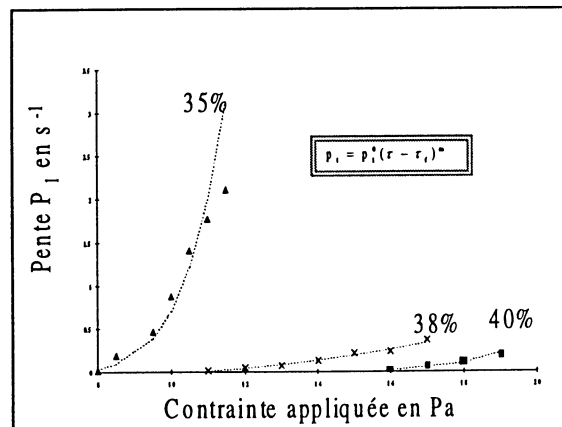


Fig. 8 : Evolution de la pente p_1 en fonction de la contrainte de fluage appliquée

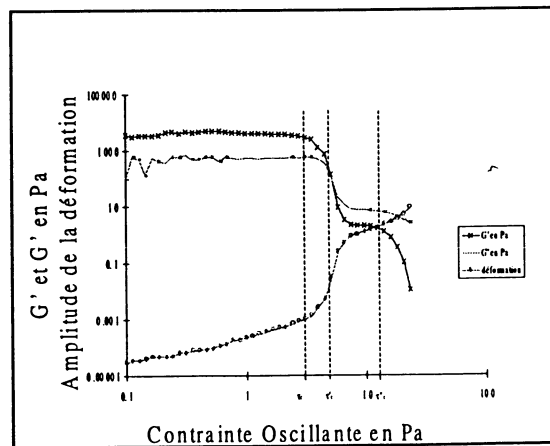


Fig. 10 : Evolution de G' , de G'' et de

de la contrainte de fluage appliquée

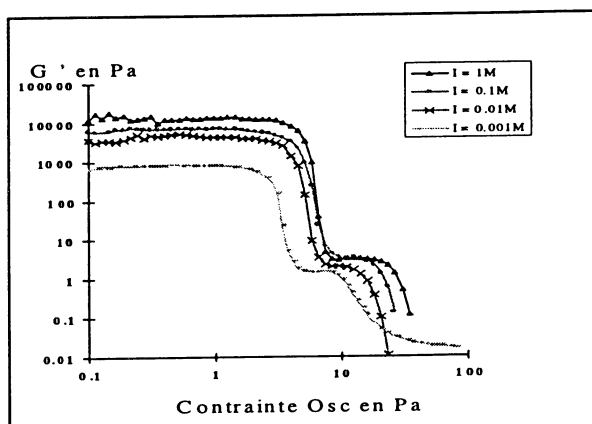


Fig. 11 - a - Evolution de G' en fonction de la contrainte Osc à différentes forces ioniques, $f = 1\text{Hz}$

l'amplitude de la déformation en fonction de la contrainte Oscillante.
 $f = 1\text{Hz}$ et $I = 0.01\text{ mol/litre}$

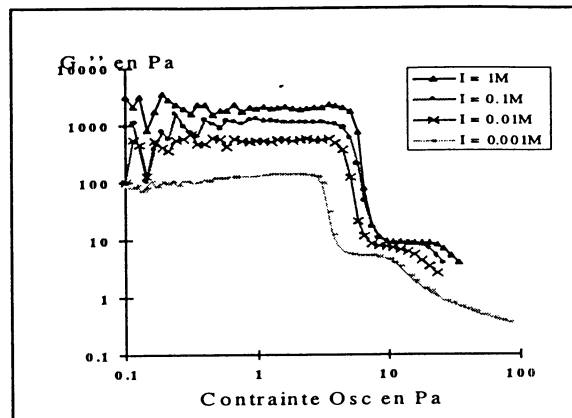


Fig. 11 - b - Evolution de G'' en fonction de la la contrainte Osc à différentes forces ioniques, $f = 1\text{Hz}$

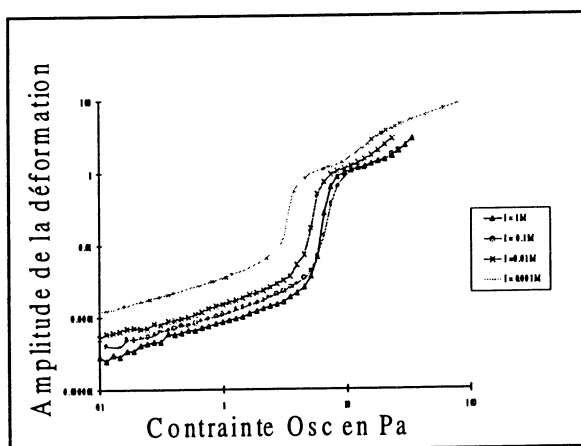


Fig. 12 : Evolution de l'amplitude de la déformation en fonction de la contrainte Osc $f = 1\text{Hz}$

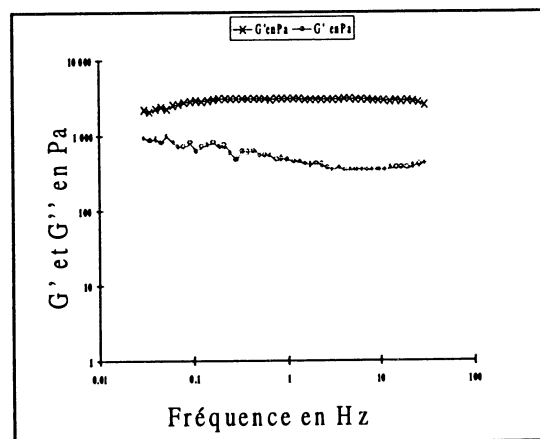


Fig. 13 : Evolution de G' et de G'' en fonction de la fréquence
Contrainte Osc = 0.8 Pa et $I = 0.01\text{M}$

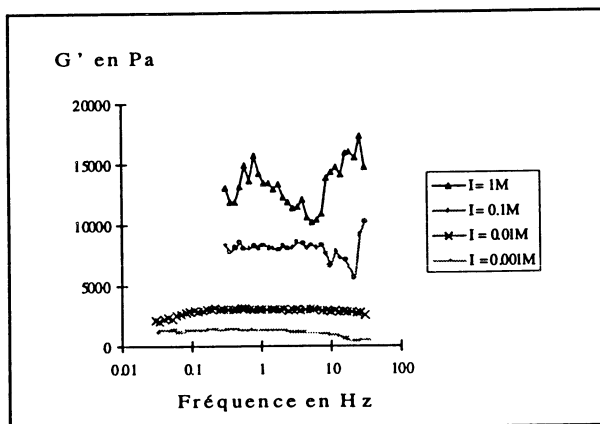


Fig. 14 : Evolution de G' en fonction de la fréquence à différentes forces ioniques I .
Contrainte Osc = 0.8 Pa

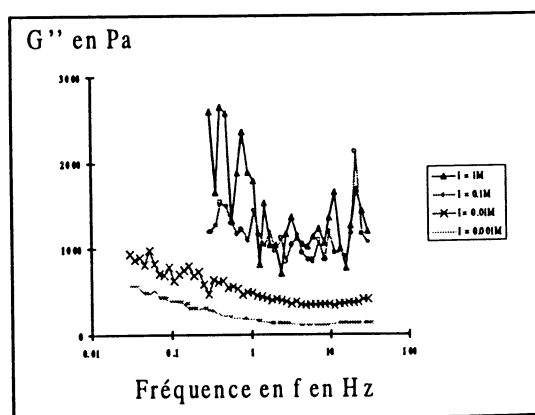


Fig. 15 : Evolution de G'' en fonction de la fréquence à différentes forces ioniques I .
Contrainte Osc = 0.8 Pa

UNE APPROCHE DIMENSIONNELLE DES ECOULEMENTS GRANULAIRES

P. Coussot

Laboratoire des Matériaux et des Structures du Génie Civil, 2 Allée Kepler, 77420
Champs sur Marne, France

Tel: 01 40 43 65 41 Fax: 01 40 43 54 85 email: philippe.coussot@lcpc.fr

Résumé : On propose ici une approche dimensionnelle permettant de modéliser le comportement des écoulements à surface libre de matériaux granulaires secs non-modèles. A partir de considérations purement géométriques on identifie d'abord trois régimes d'écoulement correspondant à différentes gammes de concentrations solides. On montre ensuite que pour les régimes non statiques la loi de comportement peut s'écrire sous une forme simple mais dépendante de la fraction solide au sein de l'écoulement, dont la valeur résulte alors de l'équilibre entre les forces de pesanteur et les forces dispersives. Ce modèle prédit des expressions pour la vitesse moyenne et des conditions pour les transitions (abruptes) entre régimes conformes aux résultats expérimentaux. Dans ce cadre l'épaisseur critique en dessous de laquelle le matériau ne s'écoule pas constitue une caractéristique intrinsèque du matériau pouvant être utilisée pour prédire la vitesse d'écoulement.

1. Introduction

Les écoulements granulaires possèdent des caractéristiques macroscopiques proches des écoulements de liquides ordinaires. Pourtant on ne dispose pas à l'heure actuelle de modèles ou de techniques capables de déterminer, comme pour un fluide, la loi de comportement d'une poudre dans une gamme de vitesses relativement large, loi qui pourra ensuite être injectée dans les équations du mouvement afin de prédire les caractéristiques d'un écoulement quelconque. Les poudres font en effet partie de la famille des suspensions granulaires [1] pour lesquelles la loi de comportement est fondamentalement non locale, c'est-à-dire qu'elle dépend des contraintes externes (notamment normales), des conditions de drainage aux interfaces et de la dilatance du milieu granulaire en cours d'écoulement. Ces phénomènes, qui sont habituellement pris en compte pour les solides, résultent des interactions fortes entre grains d'un bout à l'autre de l'échantillon. Cependant le caractère déformable à volonté de ce réseau d'interactions lui procure aussi un caractère fluide. Seuls des régimes extrêmes sont pour l'instant bien maîtrisés, soit d'un point de vue essentiellement empirique, c'est le cas des écoulements très lents (quasi-statiques) dans le cadre de la mécanique des sols, soit d'un point de vue théorique, c'est le cas des écoulements très agités souvent décrits par la théorie cinétique des gaz. Les écoulements dans les régimes intermédiaires sont pourtant ceux qui sont le plus souvent rencontrés en pratique. De nombreux travaux expérimentaux ou numériques se sont intéressés à des écoulements de matériaux modèles (disques ou sphères de taille uniforme) mettant en jeu des contacts relativement simples. On propose ici un modèle simple fondé sur des considérations physiques qui permet de prédire les propriétés générales des écoulements granulaires à surface libre. Ce modèle fournit une justification physique aux résultats de Pouliquen [2] indiquant que

l'épaisseur critique (h_s) en dessous de laquelle le matériau ne s'écoule pas constitue une caractéristique intrinsèque du matériau pouvant être utilisée pour prédire la vitesse d'écoulement. La courbe $h_s(i)$ pourrait alors constituer l'équivalent, pour le matériau granulaire, de la loi de comportement pour un fluide.

2. Les différents régimes

Contrairement à la plupart des travaux théoriques précédents on considère un matériau granulaire non-modèle, c'est-à-dire tel que la taille et la forme des particules ne sont pas uniformes. On perd ainsi la possibilité de décrire les arrangements locaux des particules. En revanche, pour une concentration solide donnée au cours d'un écoulement bien développé et permanent, toutes les configurations de particules interviennent de la même façon (le désordre est total) au sein d'un volume suffisamment large, ou de manière équivalente pendant une période suffisamment longue en un point donné. Dans ces conditions la moyenne (spatiale ou temporelle) de la fraction solide (ϕ) est le seul paramètre pertinent pour décrire l'état du matériau d'un point de vue géométrique. Paradoxalement il peut ainsi être plus facile d'interpréter les propriétés macroscopiques à partir des propriétés physiques pour des milieux granulaires non-modèles. Notre approche dimensionnelle requiert tout de même l'utilisation d'une taille caractéristique des particules (r) et d'une distance caractéristique entre les centres des particules ($b = r(\phi_m/\phi)^{1/3}$ où ϕ_m est la concentration d'entassement maximale). Puisque $b = r$ pour $\phi = \phi_m$ la valeur de r dépend de la définition de ϕ_m , qui sera donnée plus loin. En fait ces définitions ne sont pertinentes que si la taille et la forme des particules ne varient pas trop largement autour de leurs valeur moyennes, ce qui constitue aussi une hypothèse essentielle pour éviter la ségrégation en cours d'écoulement. On admet que les particules sont rigides et que la masse volumique et la viscosité du fluide sont négligeables. On suppose en outre que les particules sont suffisamment grosses et les conditions d'écoulement telles que les contacts entre particules induisent seulement des frottements ou des chocs et que ces deux phénomènes peuvent être clairement distingués.

On s'intéresse ici uniquement à des écoulements en cisaillement simple (gradient de vitesse $\dot{\gamma}$) sous l'action de la pesanteur (g). Toute déformation du milieu granulaire est associée au mouvement relatif de particules voisines, ce qui induit des effets frictionnels ou collisionnels. Dans ces conditions le comportement mécanique du matériau est directement lié aux évolutions des positions relatives des grains dans l'espace, qui peuvent être correctement décrites au travers des évolutions de ϕ . Notons au passage que ceci est vrai parce que l'écoulement est bien développé, ce qui n'est pas le cas en général en mécanique des sols où la configuration des particules joue aussi un rôle crucial. Cependant notre description reste valable pour le régime statique (A) atteint après l'arrêt naturel d'un écoulement granulaire en cisaillement simple bien développé : l'état du matériau peut encore être décrit par un seul paramètre ϕ_A . Il semble alors naturel de définir ϕ_m comme ϕ_A .

Durant la phase ultime d'écoulement avant ce régime les particules tendent à tomber dans des vides formés par les particules voisines situées en dessous d'elles. Inversement, quand un matériau au repos est (même très lentement) cisailé, les particules situées dans une couche parallèle au plan incliné doivent en permanence surmonter des particules de la couche située en dessous. Il en résulte que ϕ doit être supérieur à une valeur critique ϕ_B ($< \phi_A$) pour qu'un écoulement puisse se produire [3]. Au minimum une énergie spécifique doit donc être fournie au milieu granulaire initialement au repos (régime A) pour que celui-ci se dilate légèrement malgré les forces de pesanteur. Lorsqu'une énergie suffisamment grande est fournie la fraction

solide moyenne peut se maintenir à une valeur plus faible que ϕ_B et le matériau continue de s'écouler. Si en outre cette valeur est plus grande que ϕ_C , les particules en contact direct forment un réseau continu (régime B) [4]. Un certain nombre de valeurs de ϕ_C ont été suggérées dans la littérature. En pratique la gamme de ϕ dans le régime B semble relativement étroite [2, 5-6].

3. Expression de la loi de comportement pour les régimes B et C

Quand ce réseau de particules se déforme les particules voisines sont séparées et de nouveaux contacts se forment. A vitesse finie il apparaît donc des phénomènes collisionnels associés à l'énergie cinétique transmise lors de la mise en contact. Ce contact est ensuite maintenu pendant un temps plus ou moins long durant lequel de l'énergie est dissipée sous forme frictionnelle. Lorsque ces deux phénomènes peuvent être correctement distingués l'un de l'autre on peut montrer [4] que le tenseur des contraintes est la somme d'une contribution frictionnelle (τ_f) et d'une contribution collisionnelle (τ_c). Puisque le réseau de contacts existe toujours dans le régime B on sait d'après des expériences principalement menées en mécanique des sols que τ_f suit en général une loi de Coulomb, c'est-à-dire $\tau_f = k_f \sigma$ où σ est la contrainte normale et k_f un coefficient (de frottement). Bien entendu cette loi trouve son origine dans la loi de Coulomb pour deux particules solides en contact et en mouvement relatif mais aucune relation claire n'a pu être établie entre les deux coefficients correspondants. Dans le cas de notre matériau non-modèle des mouvements relatifs complexes interviennent de toute façon à l'échelle de la particule. La relation entre k_f et le coefficient de frottement interne (angle de repos) du milieu granulaire n'est pas non plus encore très claire. Il semble nécessaire de prendre au moins en compte des variations de la valeur de k_f avec la fraction solide, qui résultent de l'augmentation de la durée des contacts avec ϕ . Puisque ce temps est approximativement proportionnel à r/b on peut écrire $k_f = kf(r/b)$ où k est une constante du matériau et f une fonction telle que $f(1) = 1$ et $f' > 0$.

Par ailleurs, puisque la configuration des particules est constante en moyenne τ_c est proportionnel au nombre de collisions par unité de temps et à la quantité de mouvement échangée lors de chaque collision, chacun de ces termes étant proportionnel à la vitesse relative des particules situées dans deux couches voisines ($b\dot{\gamma}$). Finalement, en suivant cette approche inspirée de celle de Bagnold pour une suspension modèle [7], on trouve que τ_c est au premier ordre proportionnel à $\rho b^2 \dot{\gamma}^2$ où $\rho = \phi \rho_p$ est la masse volumique moyenne de la suspension (ρ_p étant la densité des particules). Il est encore difficile d'établir la forme exacte du coefficient de proportionnalité (K) à partir des mécanismes à l'échelle de la particule mais on sait que K dépend au moins de la forme et du coefficient de restitution des particules. De plus on suppose que les fluctuations de vitesse des particules sont négligeables, c'est-à-dire que l'on exclut les écoulements très agités pour lesquels la théorie cinétique des gaz [8] pourrait s'appliquer en s'appuyant notamment sur le concept de température granulaire. Dans ces conditions, tous les arguments dimensionnels ont été pris en compte ci-dessus et K ne dépend donc pas de ϕ . Finalement la contrainte tangentielle totale dans le régime B s'écrit :

$$\tau = kf(r/b)\sigma + K\rho b^2 \dot{\gamma}^2 \quad (1)$$

Notons que dans le cadre d'un tel modèle une force normale (dispersive) résulte des effets collisionnels. Des formes analogues de la loi de comportement pour des écoulements granulaires denses ont déjà été proposées [5-6, 9]. Le présent modèle est notamment une

expression macroscopique plus directe de certains des concepts de Jaeger et al. [10], et permet de mieux cerner dans quelles conditions les variations de la fraction solide interviennent.

Lorsque $\phi < \phi_c$ (régime C) le réseau de particules est maintenant discontinu. Au cours de l'écoulement les particules continuent d'entrer en contact, ce qui peut encore conduire à des dissipations d'énergie de type frictionnelle. Cependant la force normale qui s'applique maintenant lors de ces contacts ne provient plus comme dans le régime B du poids de l'ensemble des grains situés au dessus des deux particules et la contribution frictionnelle est donc nettement plus faible. Une manière de décrire ce phénomène consiste à utiliser l'expression τ_f ci-dessus en supposant que la fonction f est discontinue (ou rapidement variable) autour de $b = b_c = r(\phi_m/\phi_c)^{1/3}$. Tant que l'écoulement n'est pas trop rapide la contribution collisionnelle peut être exprimée de la même manière que précédemment. Cette approche du régime C correspond à des écoulements relativement denses et il est probable que pour être complet, il faudrait prendre en compte un régime dilué agité à des concentrations encore plus faibles. En tenant compte de cette remarque notre séparation grossière actuelle entre les régimes B et C correspond plus ou moins à la distinction usuelle entre un régime dense et un régime dilué [5, 11].

4. Loïs d'écoulement

Considérons maintenant un écoulement à surface libre permanent uniforme sur un plan incliné, avec une épaisseur h . Nous négligerons ici les variations éventuelles de ϕ avec y (la distance entre le plan et le point courant). Même si pour des écoulements denses cette hypothèse semble assez réaliste [5] elle signifie tout de même que dans la suite seuls les résultats concernant des quantités moyennes sur la hauteur sont pertinents. L'effet des parois latérales est supposé négligeable. Dans ce cas des expressions générales pour les contraintes tangentielles et normales résultent des équations du mouvement :

$$\tau = \rho g(h - y)\sin i ; \sigma = \rho g(h - y)\cos i \quad (2)$$

En l'absence de glissement à la paroi ($v(0) = 0$) on déduit facilement de (1) et (2) le profil des vitesses dans le régime B :

$$v = \frac{2}{3}U[h^{3/2} - (h - y)^{3/2}] \quad (3)$$

où $U(i, \phi) = (g/Kb^2)^{1/2}(\sin i - kf(r/b)\cos i)^{1/2}$ et la vitesse moyenne :

$$V = 2Uh^{3/2}/5 \quad (4)$$

Le résultat est formellement analogue pour le régime C en utilisant, à la place de U , un coefficient noté U^* . Il est particulièrement intéressant de noter que la dépendance de la vitesse par rapport à i et ϕ est entièrement contenu dans le facteur U . De plus, puisque ϕ_B reste proche de ϕ_c , b est à peu près constant dans le régime B et U pratiquement indépendant de ϕ si bien que $U \approx U(\phi_B)$. En termes de variations de vitesse avec h ces résultats sont en très bon accord avec les données expérimentales correspondant probablement au régime B [5, 12]. Cependant les variations de V avec i diffèrent légèrement de celles observées expérimentalement [2, 5, 11].

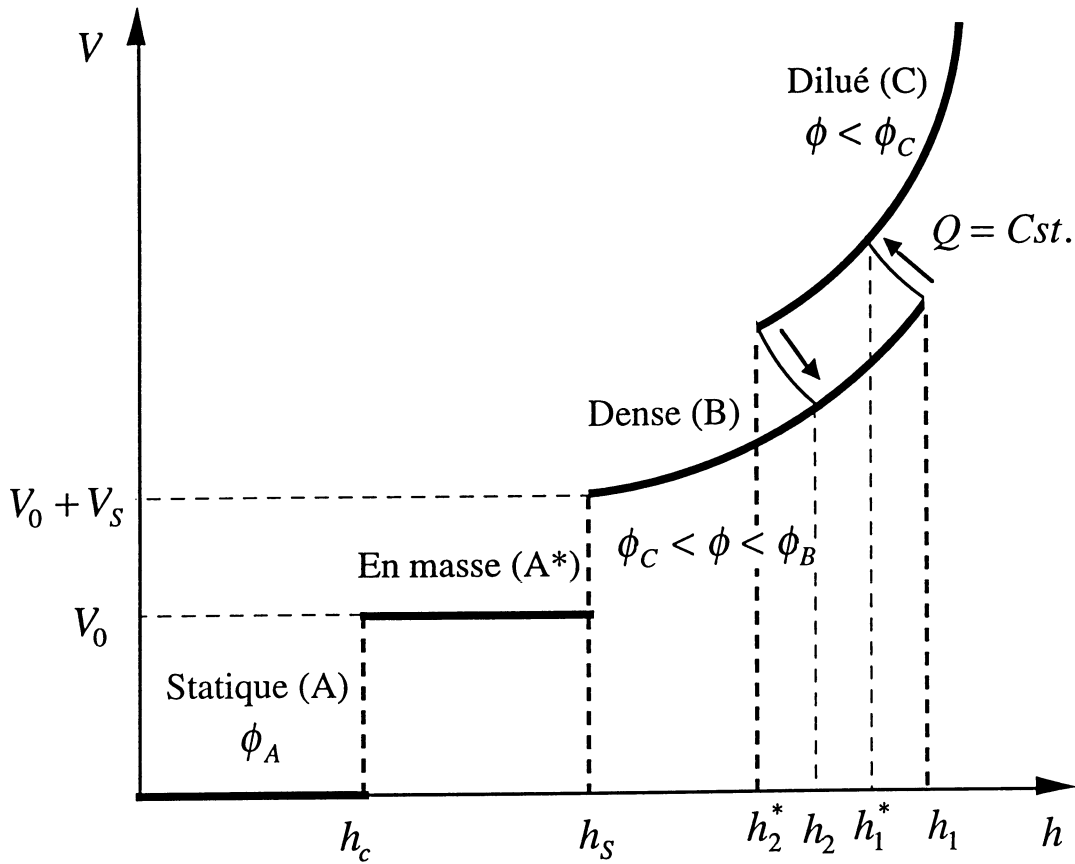


Figure 1 : Classification conceptuelle des régimes d'écoulement (vitesse moyenne en fonction de l'épaisseur) d'un milieu granulaire non-modèle. Les écoulements "en masse" sont ceux pour lesquels il y a glissement au fond sans cisaillement interne, une approche théorique de ces écoulements est proposée dans la référence [13]. Les autres régimes et les variables associées en terme de concentration, épaisseur et vitesse sont décrits dans le texte.

On doit maintenant, comme pour un fluide thixotrope dont l'état évolue en fonction de l'histoire de l'écoulement, établir une équation donnant les évolutions de ϕ en fonction des caractéristiques de l'écoulement. L'approche simplifiée que nous proposons dans ce but consiste à écrire que l'énergie (αE_k) dissipée pour maintenir le matériau dans un certain état de dilatance (à travers les forces dispersives résultant des collisions) est égale à la différence d'énergie potentielle (ΔE_p) entre l'écoulement actuel et le régime statique. Ici α est un coefficient qui dépend seulement des caractéristiques des particules (forme et coefficient de restitution) et doit être de l'ordre de 1/2. L'énergie cinétique de l'écoulement par unité de surface peut être calculée à l'aide de (3) : $E_k = \int_0^h \rho v^2 dy/2 = \rho U^2 h^4/10$; et la différence

d'énergie potentielle (par unité de surface) entre les deux régimes s'écrit : $(1-x)\rho g h^2 \cos i/2$ où $x = \phi/\phi_A$. On obtient finalement la condition générale de dilatance suivante :

$$hU\sqrt{\alpha} = \sqrt{5(1-x)g \cos i} \quad (5)$$

Ce modèle prédit d'abord que dans le régime B, pour une valeur donnée de i , il n'y a pas d'écoulement lorsque h est plus faible qu'une valeur critique (cf. Fig.1). Cette valeur

($h_s \approx b\sqrt{5K(1-x)/\alpha(\tan i - k)}$), qui est déduite de (5) en prenant $\phi = \phi_B$, correspond à la hauteur critique pour laquelle l'écoulement s'arrête sur une pente donnée. Il est particulièrement intéressant de noter que cette épaisseur critique est associée à une vitesse critique ($V_s(h_s)$) donnée par (4). Lorsque h devient plus petit que h_s le modèle prédit que la vitesse doit rapidement s'annuler. Ce phénomène de "gélification brutale" de l'écoulement est couramment observé expérimentalement avec des poudres [2, 14]. Lorsque, partant du régime A, on augmente h juste au-delà de h_s (par exemple en augmentant i), cette théorie prédit en outre que V devrait brutalement atteindre V_s , ce qui est en accord avec les observations qualitatives classiques concernant le début d'écoulement d'une poudre (au-delà de la phase d'avalanches éventuelle). Un phénomène analogue qualifié de transition de dilatance a aussi été mentionné pour des cisaillements simples confinés [15].

L'expression de h_s est en accord qualitatif avec les simulations numériques existantes [5] et les résultats expérimentaux [2, 14] avec divers systèmes : pour une pente donnée des écoulements permanents uniformes peuvent être obtenus seulement pour $h > h_s$ où h_s tend vers l'infini lorsque i tend vers une valeur critique ($i_c = \arctan k$) et tend vers zéro pour des valeurs croissantes de i . De plus, en accord avec les résultats de Pouliquen [2], h_s dépend de la taille des particules mais la vitesse moyenne peut être réécrite sous la forme générale suivante :

$$V = C\sqrt{g} \frac{h^{3/2}}{h_s} \quad (6)$$

où $C \approx \sqrt{4(1-x)/5\alpha}$ ne dépend ni de la taille des particules ni de la pente (à 5% près pour $i < 25^\circ$). En prenant par exemple les valeurs raisonnables suivantes $\alpha = 1/2$, $\phi_A = 61\%$ et $\phi_B = 60\%$, on trouve $C = 0,16$ ce qui est proche de la valeur empirique (0,136) obtenue par Pouliquen. Remarquons que l'on peut aussi facilement prendre en compte dans le même cadre conceptuel un glissement à la paroi [13] (cf. Fig.1). Les écarts de ce modèle avec des données expérimentales relatives à des écoulements canalisés [16] concernant notamment l'expression de la vitesse pourraient provenir d'une forte influence des parois qui retarderaient ou perturberaient les processus de dilatance verticaux.

Notre modèle prédit une transition analogue entre le régime B et le régime C (cf. Fig.1). Dans ce cas l'épaisseur de l'écoulement (h^*) et la vitesse moyenne (V^*) dans le régime C sont reliés à l'épaisseur et la vitesse dans le régime B au moyen de la conservation du débit ($Q = Vh = V^*h^*$) au cours de la transition, ce qui, avec l'aide de (4), donne $h^* = h(U/U^*)^{2/5}$ et $V^* = V(U^*/U)^{2/5}$. Puisqu'en général $U^* > U$ la nouvelle épaisseur est plus faible que l'ancienne alors que la vitesse est plus grande. Cette transition survient lorsque $h_1 = D/U$ qui est associé à h_1^* (où $D = \sqrt{5g(1-x)/\alpha}$). Une transition du régime C au régime B doit aussi se produire dans des conditions analogues et l'épaisseur initiale $h_2^* = D/U^*$ devient alors h_2 . Il est particulièrement intéressant de remarquer que $h_2^* < h_1^*$ ce qui signifie qu'il existe une gamme de vitesses pour lesquelles les deux régimes peuvent être obtenus, probablement selon les conditions aux limites et les conditions initiales. Ce phénomène a notamment été observé par Johnson [6]: au delà d'une valeur critique de débit deux régimes (dense ou dilué) étaient obtenus selon les conditions d'entrée du matériau à l'amont du canal. Une transition analogue pour un nombre de Froude (V/\sqrt{gh}) critique [9, 17] a été traitée comme un ressaut hydraulique. Cependant la transition ci-dessus semble constituer un effet beaucoup plus puissant puisqu'il peut survenir à la suite d'une petite perturbation d'un écoulement uniforme [9].

On peut prolonger l'analyse locale des régimes en adimensionnalisant la contrainte tangentielle par la contrainte normale ($T = \tau/k\sigma$), on obtient alors une expression sans dimension de la loi de comportement :

$$T = f\left(\frac{r}{b}\right) + \frac{K}{k}N \quad (7)$$

dans laquelle intervient uniquement la concentration solide (au travers de r/b) et un nombre adimensionnel $N = \rho b^2 \dot{\gamma}^2 / \sigma$, qui est à un facteur près le rapport de l'énergie cinétique des particules et de l'énergie dissipée lors d'un contact prolongé. Lorsque $N \rightarrow 0$ un régime quasi-statique frictionnel est atteint, c'est le domaine couvert par la mécanique des sols. Notons cependant que ce régime n'a pas d'équivalent dans le cas des écoulements (gravitaires) à surface libre. En effet, dans ce cas la force appliquée par la gravité est constante et un mouvement ne peut s'accélérer que si on autorise une certaine dilatance du matériau. Comme on l'a vu plus haut la mise en mouvement se prolonge alors nécessairement à une vitesse finie (régime B) parce qu'un équilibre s'instaure entre les frottements et les chocs. A l'autre extrême, lorsque $N \rightarrow \infty$ l'énergie des particules est telle que les frottements sont certainement négligeables, on atteint alors un régime C ou un régime fortement agité.

5. Conclusion

Même si un certain nombre de paramètres restent inconnus cette approche semble relativement puissante en vue de la description des écoulements granulaires denses. Elle fournit en effet une justification physique claire aux résultats expérimentaux de Pouliquen, ce qui montre que la relation (6) doit pouvoir être généralisée à n'importe quel type de matériau granulaire non-modèle. Ceci présente un intérêt pratique certain puisque la vitesse moyenne sur une pente quelconque peut être prédite en fonction de h à partir de mesures indépendantes de la fonction $h_s(i)$, ce qui constitue l'équivalent d'une loi de comportement pour les milieux granulaires en écoulement à surface libre.

6. Références

- [1] P. Coussot and C. Ancey, 1999. Rheophysical classification of concentrated suspensions and granular pastes. *Phys. Rev. E*, 59, 4445-4457.
- [2] O. Pouliquen, 1999. Scaling laws in granular flows down rough inclined planes. *Phys. Fluids*, 11, 542-548.
- [3] O. Pouliquen and N. Renaut, 1996. Onset of granular flows on an inclined rough surface: dilatancy effects. *J. Phys. II (France)*, 923-935.
- [4] P. Coussot et C. Ancey, *Rhéophysique des pâtes et des suspensions*, EDP Sciences, Les Ulis (1999), 260p.
- [5] E. Azanza, 1998. *Écoulements granulaires bidimensionnels sur un plan incliné*. Thèse de l'ENPC, Champs-sur-Marne, France.
- [6] P.C. Johnson, P. Nott and R. Jackson, 1990. Frictional-collisional equations of motion for particulate flows and their application to chutes. *J. Fluid Mech.*, 210, 501-535.
- [7] Bagnold, R.A. 1954. Experiments on a gravity-free dispersion of large solid spheres in a Newtonian fluid under shear. *Proc. R. Soc. London, A* 225, 49-63.
- [8] J.T. Jenkins and S.B. Savage, 1983. A theory for the rapid flow of identical smooth, nearly elastic, spherical particles. *J. Fluid Mech.*, 130, 187-202; Lun et al. 1984. Kinetic theories for granular flow: inelastic particles in Couette flow and slightly inelastic particles in a general flowfield. *J. Fluid Mech.*, 140, 223-256.
- [9] C. Ancey, 1997. *Rhéologie des écoulements granulaires en cisaillement simple*. Thèse de l'Ecole Centrale de Paris, Chatenay-Malabry, France.

- [10] H.M. Jaeger et al., 1990. Friction in granular flows. *Europhys. Lett.*, 11, 619-624.
- [11] K. Takahasi, 1937. On the dynamical properties of granular mass. *Geophys. Mag.*, 11, 165-176.
- [12] D.A. Augenstein and R. Hogg, 1978. An experimental study of the flow of dry powders over inclined surfaces. *Powder Technol.*, 19, 205-215; H. Ahn, C.E. Brennen and R.H. Sabersky, 1991. Measurements of velocity, velocity fluctuation, density, and stresses in chute flows of granular materials. *J. Appl. Mech.*, 58, 792-803.
- [13] P. Coussot, 1999. A scaling approach of granular flow regimes. soumis à *Phys. Rev. Lett.*
- [14] S. Douady and A. Daerr, 1998. Formation of sandpiles, avalanches on an inclined plane. in H.J. Hermann et al. (eds.), *Physics of dry granular media*, 339-346, Kluwer Academic Publ., Netherlands.
- [15] P.A. Thompson and G.S. Grest, 1991. Granular flow: friction and the dilatancy transition. *Phys. Rev. Lett.*, 67, 1751-1754.
- [16] C. Ancey, P. Coussot and P. Evesque, 1996. Examination of the possibility of a fluid-mechanics treatment of dense granular flows. *Mech. Cohesive-Frictional Mater.*, 1, 385-403.
- [17] S.B. Savage, 1979. Gravity flow of cohesionless granular materials in chutes and channels. *J. Fluid Mech.*, 92, 53-96; C.E. Brennen, K. Sieck and J. Paslaski, 1983. Hydraulic jump in granular material flow. *Powder Technol.*, 35, 31-37.

MODELISATION STRUCTURALE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE DE POUDRES MODELES NON COHESIVES

Ph. Marchal*, A. Barois-Cazenave**, L. Choplin*

*Centre de Génie Chimique des Milieux Rhéologiquement Complexes
GEMICO / ENSIC - 1, rue Grandville, BP 451, 54001 Nancy Cedex, France

** Laboratoire des Sciences du Génie Chimique
LSGC / ENSIC - 1, rue Grandville, BP 451, 54001 Nancy Cedex, France

RESUME

Ce travail porte sur le développement d'un modèle structurel visant à décrire le comportement rhéologique de poudres soumises à des vibrations d'amplitudes et de fréquences variables. Celui-ci permet, notamment, de rendre compte de l'évolution de la viscosité en régime permanent en fonction de la vitesse de cisaillement, de la fréquence et de l'amplitude de vibration. Il est fondé sur une analyse comparée des temps de réorganisation caractéristiques du système, les transitions étant induites soit par les vibrations (température granulaire) soit par les sollicitations mécaniques générées par le rhéomètre (champs de contraintes et de déformations).

Introduction

Les propriétés rhéologiques des matériaux granulaires sont d'un intérêt majeur dans de nombreux secteurs industriels impliquant leur mise en œuvre tels que la cosmétologie, la pharmacologie ou l'agro-alimentaire. Or, ces propriétés sont liées pour une large part à la configuration spatiale adoptée par les grains lors de leur conditionnement, notamment au sein des appareils de caractérisation. Il en résulte une grande variabilité des mesures due à la multiplicité des configurations possibles. La caractérisation intrinsèque d'une poudre passe ainsi par la prise en compte d'une moyenne sur toutes les configurations accessibles. Sous l'effet du mouvement brownien (énergie thermique), un système moléculaire explore spontanément ces différentes configurations et il suffit d'effectuer une moyenne temporelle pour les intégrer au cours de la mesure (ergodicité). En raison du caractère généralement macroscopique des particules constitutives des milieux pulvérulents, le mouvement brownien d'origine thermique est inapte à assurer une réorganisation efficace du système qui perd ainsi son caractère ergodique.

A partir de ce constat nous avons élaboré une cellule de mesure vibrante susceptible de générer un mouvement "macro-brownien" au sein de la poudre [Hobbel *et al.*, 1985], [Barois-Cazenave *et al.*, 1999]. Ces vibrations engendrent une agitation granulaire quantifiable par l'énergie cinétique moyenne des grains ou, en d'autres termes, par sa température granulaire [Edwards, 1990; Astarita *et al.*, 1994]. La source de vibration agit ainsi comme une sorte de thermostat avec lequel la poudre est en équilibre. Il en résulte deux avantages majeurs : d'un point de vue expérimental on améliore considérablement la reproductibilité des mesures; d'un point de vue théorique il devient possible d'appliquer les méthodes de la physique statistique dans le cadre de la distribution canonique.

Matériel et méthode

Matériel et méthode

Sur la base d'une géométrie cylindrique, la cellule vibrante comprend un outil de mesure de type "vane" (scissomètre) et une cuve cylindrique dont le fond est constitué d'une membrane semi-rigide en téflon. La membrane est heurtée périodiquement par le noyau d'un électroaimant susceptible de vibrer à des fréquences f comprises entre 1 Hz et 100 Hz pour des tensions d'alimentation de 10 V, 15 V et 20 V. L'ensemble est implanté au sein d'un rhéomètre à contrainte imposée de type SR200 (Rheometric Scientific) à la place des outils de mesure standards [Barois-Cazenave *et al.*, 1999]. Les expériences ont été réalisées sur des poudres modèles non cohésives constituées de billes de verre monodisperses de $600\mu\text{m}$ ($\pm 60\mu\text{m}$).

Afin de quantifier l'énergie transmise aux particules par les vibrations, nous avons réalisé des expériences préliminaires sur des éprouvettes cylindriques de verre, téflon et acier de différentes masses (m). Chacune de ces éprouvettes, astreinte à se déplacer verticalement au sein de la cellule de mesure, a été soumise à des vibrations de fréquences variables pour les différentes tensions d'alimentation. Le mouvement résultant des éprouvettes a été enregistré à l'aide d'une caméra rapide afin de déterminer la hauteur (h) à laquelle elle étaient projetées et d'en déduire ainsi l'énergie potentielle de percussion $E_p = mgh$ qui leur était communiquée en fonction de la tension d'alimentation. Les résultats obtenus, indépendants de la fréquence de vibration dans la gamme explorée, sont rassemblés dans le tableau 1.

Tableau 1 : énergie potentielle de vibration en fonction de la tension d'alimentation.

tension (Volts)	10	15	20
énergie E_p (μJ)	82 ± 10	200 ± 10	420 ± 10

Le caractère brownien de l'agitation granulaire peut être mis en évidence par l'analyse spectrale des fluctuations libres du scissomètre lorsque la poudre est soumise à des vibrations, en l'absence de contrainte imposée. La figure 1 illustre une telle analyse.

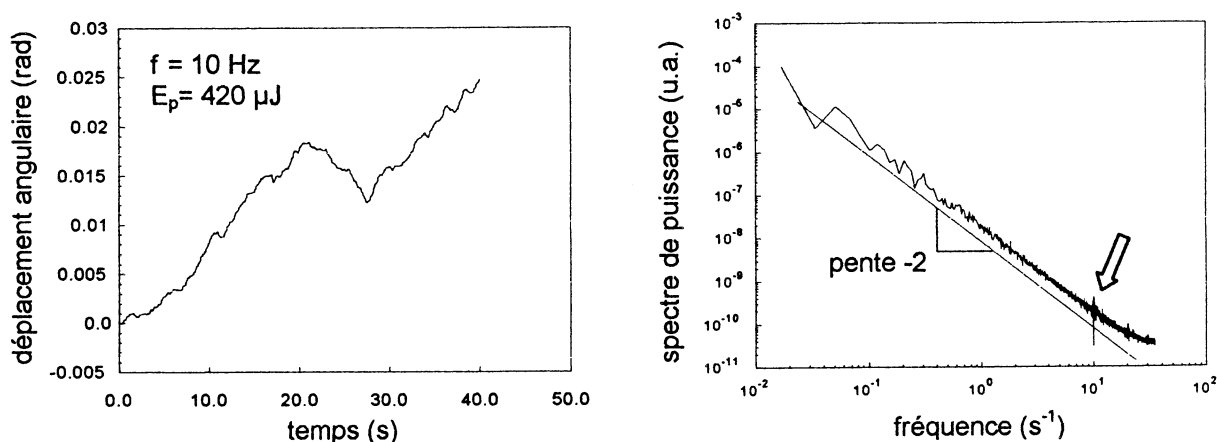


Figure 1 : analyse spectrale des fluctuations libres du scissomètre.

Le spectre de puissance du déplacement angulaire du scissomètre évolue selon l'inverse du carré de la fréquence d'apparition des fluctuations. Ce résultat, confirmé pour d'autres valeurs de f et de E_p , est indicatif de la nature brownienne du mode de réorganisation spatiale des billes [Press, 1978]. Ainsi, tout se passe comme si le mobile test était soumis à des perturbations aléatoires de nature essentiellement brownienne en dépit d'une légère corrélation de ces fluctuations avec le mouvement de vibration à 10 Hz de la membrane. Cette corrélation est mise en évidence par le pic à 10 s^{-1} sur le spectre de puissance.

Résultats expérimentaux et modélisation

Les rhéogrammes présentés à la figure 2 ont été reconstruits à partir d'expériences en régime transitoire au cours desquelles on a imposé des créneaux de contrainte croissants et enregistré la vitesse de cisaillement résultante, pour une fréquence et une énergie de vibration données. Ce type de test permet de suivre l'évolution de la viscosité granulaire en temps réel en s'assurant ainsi de la qualité du signal. Pour chaque créneau de contrainte, après établissement du régime permanent, la vitesse de cisaillement et la viscosité moyennes ont été reportées sur un graphe afin d'établir les rhéogrammes de la figure 2. Cette procédure a été réitérée pour différentes fréquences et énergies de vibration. Pour une question de clarté seuls quelques graphes sont présentés sur les figures 2a et 2b. L'ensemble des résultats apparaît sous la forme d'une courbe maîtresse à la figure 2c. Celle-ci a été normée sur la base des paramètres η_0 et t_b du modèle développé ci-dessous et dont l'ajustement aux points expérimentaux est matérialisé par les lignes continues du graphe des figures 2a et 2b.

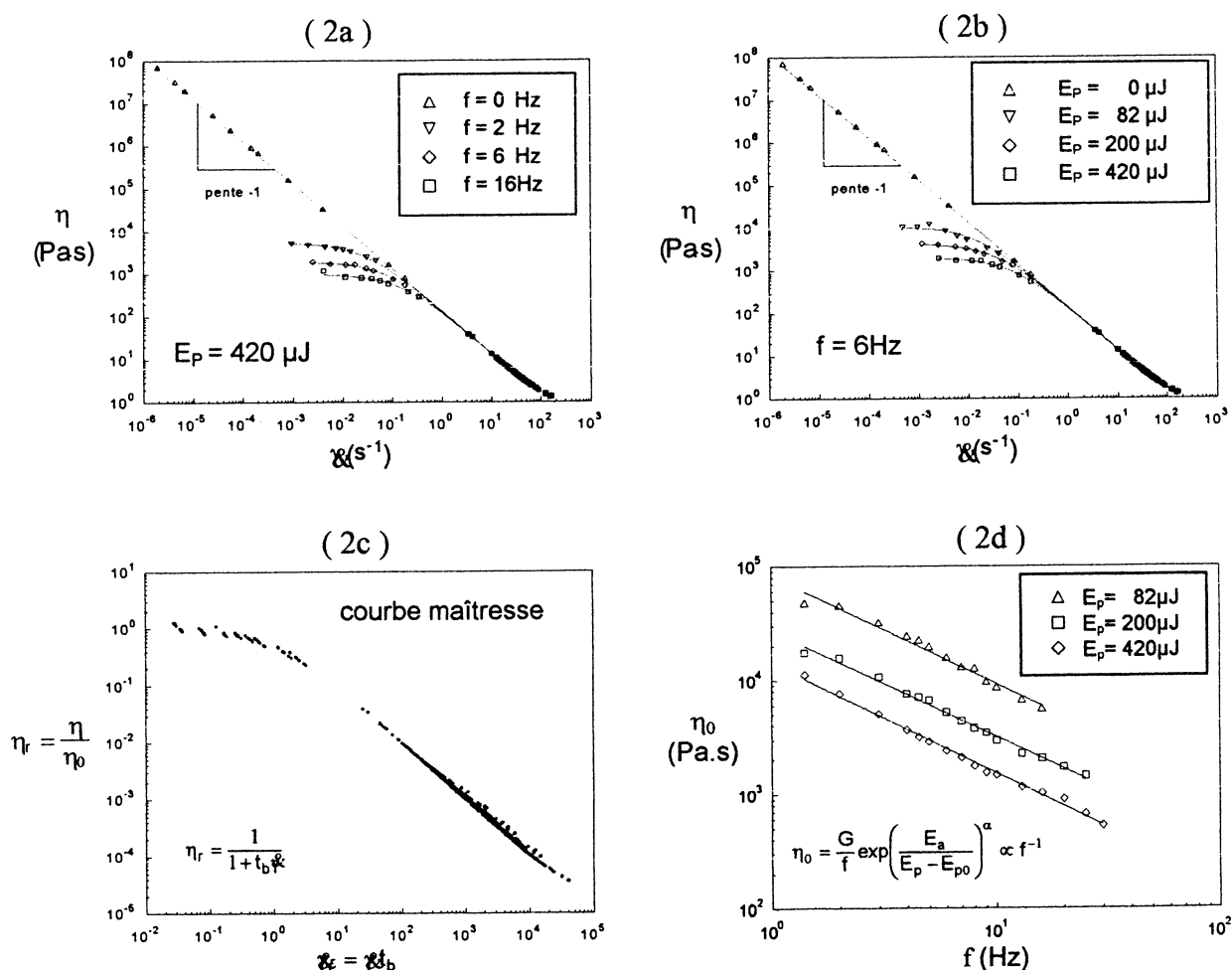


Figure 2 : résultats expérimentaux et modélisation du comportement rhéologique (traits continus) des poudres modèles sous vibrations d'énergie E_p et de fréquence f .

- (2a) viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement et de la fréquence à énergie constante.
 (2b) viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement et de l'énergie à fréquence constante.
 (2c) courbe maîtresse établie à partir des paramètres d'ajustement du modèle (tableau 2).
 (2d) viscosité de plateau en fonction de la fréquence et de l'énergie de vibration.

Lorsque la fréquence de vibration ou en d'autres termes la température granulaire est nulle (figure 2a, $f = 0\text{Hz}$) la seule source de réorganisation spatiale des particules est la sollicitation mécanique induite par le scissomètre. Le régime d'écoulement est alors de type frictionnel et obéit à la loi de Coulomb selon laquelle la contrainte de friction est indépendante de la vitesse de sollicitation, ce dont il résulte une évolution en $1/\dot{\gamma}$ de la viscosité. En revanche, pour une température granulaire non nulle, les vibrations induites par la membrane constituent une seconde source de réorganisation des grains et les rhéogrammes obtenus présentent deux zones caractéristiques de la dualité solide/liquide des systèmes granulaires [Radjai, 1997]. On distingue un comportement de type "fluide newtonien" aux faibles vitesses de déformation suivi d'une zone de type "fluide à seuil" pour laquelle la viscosité tend vers un comportement en $1/\dot{\gamma}$ dans la limite des hautes vitesses.

Ce comportement limite est similaire à celui observé lorsque la poudre est soumise à un cisaillement en l'absence de vibrations. On peut donc en déduire, qu'au-delà d'une certaine valeur, se sont les contraintes mécaniques imposées au système qui gouvernent son comportement. Inversement, lorsque ces contraintes sont faibles, le mouvement macro-brownien devient le moteur dominant de l'agitation particulaire et la réponse du système est linéaire, comme en témoigne le caractère newtonien de son comportement. D'une manière très générale, ce résultat est conforme à l'origine microscopique du comportement linéaire d'un système de particules en équilibre thermique. En effet, selon le théorème de "fluctuation-dissipation" la réponse macroscopique d'un système soumis à un stimulus extérieur est linéaire, si celui-ci est de suffisamment faible intensité pour ne pas altérer les temps de relaxation propres du système, induits par l'agitation brownienne [Strobl, 1996].

Ces rhéogrammes montrent également que la viscosité décroît lorsque l'on accroît la température granulaire. Celle-ci étant liée à la composante fluctuante de l'énergie cinétique des grains par analogie avec les systèmes moléculaires [Astarita *et al.*, 1998], elle peut être accrue soit en augmentant la fréquence de vibration f (figure 2a), soit en augmentant l'énergie de percussion E_p (figure 2b). Ainsi, dans les conditions expérimentales considérées, ce milieu granulaire modèle se comporte comme un fluide condensé, par opposition aux systèmes à l'état gazeux dont la viscosité est une fonction croissante de la température.

Par analogie avec les systèmes moléculaires [Astarita *et al.*, 1998] on peut résumer le comportement (pseudo)thermo-mécanique ce système granulaire en le considérant comme un fluide condensé non newtonien. En regard d'une telle analogie il est tentant de s'appuyer sur les concepts de la physique statistique pour les transposer à l'étude des milieux granulaires dans un cadre théorique adapté. Un certain nombre d'auteurs ont proposé de telles transpositions conceptuelles combinant les équations de conservation à l'échelle macroscopique aux distributions statistiques à l'échelle microscopique, en adoptant des points de vue thermodynamique [Edwards, 1990] ou mécanique [Campbell, 1990]. En alliant ces considérations théoriques aux résultats expérimentaux actuels et antérieurs [Marchal *et al.*, 1998; Barois-Cazenave *et al.*, 1999], nous avons envisagé une modélisation du comportement rhéologique de ces poudres modèles fondée sur une analyse comparée des temps caractéristiques de réorganisation spatiale des grains en adoptant un point de vue local.

Partant de ce point de vue, on considère une particule donnée et ses interactions avec son environnement immédiat. En raison du caractère condensé du milieu, celle-ci est engagée par ses plus proches voisins (figure 3), ce dont il résulte des interactions répulsives à courte distance : si une particule donnée est légèrement écartée de sa position d'équilibre elle a tendance à y revenir sous l'influence de la barrière de potentiel dressée par son environnement immédiat. Si l'on prend en compte une situation moyenne, en considérant un ensemble

statistique de telles particules engagées, il devient possible de quantifier cette situation sous la forme d'un puits de potentiel tridimensionnel. Celui-ci est caractérisé par sa forme qui peut être, en première approximation, assimilée localement à un arc de parabole et sa profondeur, en termes d'énergie potentielle d'activation E_a . Cette énergie correspond au travail qu'il faut fournir, en moyenne, à une particule test pour l'extraire de sa cage.

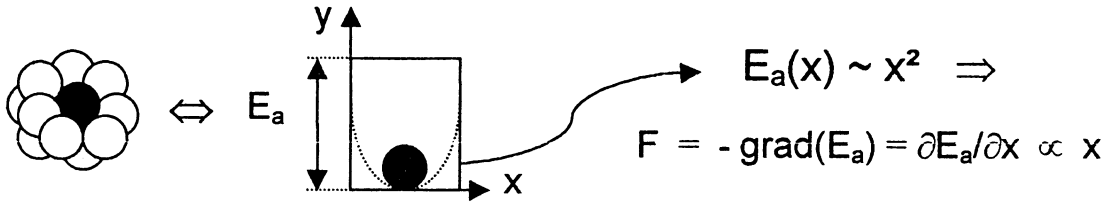


Figure 3 : puits de potentiel résultant de l'encagement d'un grain par ses plus proches voisins.

Ainsi, à un déplacement de faible amplitude de la particule test correspond une force de rappel F proportionnelle au gradient de l'énergie potentielle et par conséquent à ce déplacement. La force de rappel appliquée à cette particule est donc de nature élastique. En termes rhéologiques, on doit donc s'attendre à un comportement de type hookéen du système de particules tel que :

$$\sigma \propto \gamma \Leftrightarrow \sigma = G \gamma \quad (1)$$

où σ est la contrainte, γ la déformation appliquées à l'échantillon et G une constante de proportionnalité. Cependant, en raison de l'agitation brownienne (vibrations) et des contraintes de cisaillement (scissomètre) subies par l'échantillon, la situation n'est pas statique. Au niveau local, les interactions inter-particulaires demeurent de nature élastique mais leur durée est limitée dans le temps. Par conséquent, en raison de ce caractère éphémère des configurations spatiales, la contrainte macroscopique σ donnée par les mesures rhéologiques n'est pas proportionnelle à la déformation macroscopique γ . Elle est proportionnelle à l'écart moyen à l'équilibre au moment de la mesure. Au niveau macroscopique, σ est donc proportionnelle à la déformation moyenne locale γ_{loc} subie par des particules voisines, à l'échelle microscopique, entre deux perturbations :

$$\sigma \propto \gamma_{loc} \Leftrightarrow \sigma = G \gamma_{loc} \quad (2)$$

Afin d'évaluer γ_{loc} , considérons une situation d'écoulement en régime permanent telle que la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ soit constante. La contrainte qui en résulte dépend, à chaque instant, de l'écart à l'équilibre de chaque particule. L'écart maximum que l'on est susceptible d'atteindre est égal au produit de la vitesse à laquelle on sollicite l'échantillon par la durée moyenne $\langle t \rangle$ d'existence d'une configuration spatiale. Il vient :

$$\gamma_{loc} = \langle t \rangle \dot{\gamma} \quad (4)$$

Cette durée $\langle t \rangle$ dépend elle même de deux temps caractéristiques :

- un temps caractéristique de l'agitation macro-brownienne t_b . Il correspond à la durée moyenne entre deux fluctuations d'énergie supérieure à l'énergie E_a .
- un temps caractéristique de la déformation de cisaillement t_c défini par : $t_c = \gamma_c / \dot{\gamma}$. Il correspond à la durée pendant laquelle on peut déformer l'échantillon à la vitesse $\dot{\gamma}$ sans dépasser une certaine déformation γ_c au-delà de laquelle la particule change de plus proches voisins. Il est aisé de constater que pour un ensemble de particules sphériques monodisperses cette déformation critique est voisine de l'unité. Nous poserons donc $\gamma_c = 1$.

La durée dont on dispose sera évidemment bornée par le temps le plus court. On est ainsi confronté à une situation où c'est la quantité la plus faible qui tend à gouverner le comportement du système. Si on établit une analogie formelle avec un système électrique constitué de deux résistances R_1 et R_2 placées en parallèle il est possible de proposer une forme "physiquement raisonnable" de la fonction $\langle t \rangle$ telle que :

$$\langle t \rangle = t_b t_c / (t_b + t_c) = 1 / (t_b^{-1} + \phi) \quad (5)$$

Nous sommes maintenant en mesure d'écrire une expression de la viscosité en régime permanent :

$$\eta(\phi) = \sigma / \phi = G / (t_b^{-1} + \phi) = G t_b / (1 + t_b \phi) \quad (6)$$

Afin de compléter l'équation (6) nous devons maintenant déterminer une expression de t_b . La durée d'existence d'une configuration spatiale donnée est, a priori, égale au temps écoulé entre deux percussions successives soit à $1/f$. Cependant, au sein du système granulaire la distribution de l'énergie de percussion E_p n'est pas homogène en raison, notamment, de son caractère désordonné. Ainsi, tous les chocs ne sont pas efficaces et toutes les particules ne reçoivent pas une énergie suffisante pour passer la barrière de potentiel. Cette durée doit donc être modulée par la proportion de particules d'énergie cinétique E_c supérieure à E_a ou, en d'autres termes par la probabilité qu'une particule possède une énergie $E_c > E_a$. Il vient :

$$t_b = f^{-1} \text{Pr}^{-1}(E_c > E_a) \quad (7)$$

Dans les théories moléculaires classiques, le temps caractéristique du mouvement brownien t_b est en général relié à l'énergie thermique du système par une loi de type "Arrhénius" :

$$t_b = v^{-1} \exp(E_a/E_c) = v^{-1} \exp(E_a/kT) \quad (8)$$

où v est la fréquence de redistribution de l'énergie entre une particule et son environnement [Glasstone *et al.*, 1941]. Dans le cadre de la distribution canonique, la proportion de particules d'énergie supérieure à E_a est donnée par le facteur de Boltzmann $\exp(-E_a/kT) = \text{Pr}(E_c > E_a)$.

Dans le cas des systèmes granulaires il faut tenir compte de certaines particularités comme le caractère inélastique des collisions inter-particulaires. Il en résulte, notamment, des déviations par rapport à la distribution de Maxwell-Boltzmann [Haff, 1983; Campbell, 1990] mettant en défaut le théorème d'équipartition de l'énergie [Astarita *et al.*, 1998]. De tels écarts peuvent être pris en compte en remplaçant le facteur de Boltzmann par une exponentielle étendue [Richert *et al.*, 1994], il vient :

$$\text{Pr}^{-1}(E_c > E_a) = \exp(E_a/E_c)^\alpha \quad (9)$$

En outre, il est raisonnable de supposer qu'il existe un seuil d'énergie cinétique E_{co} en deçà duquel le système reste figé (des vibrations sonores de quelques décibels n'induisent aucune réorganisation spatiale à caractère ergodique en dépit de quelques réarrangements locaux). La température granulaire associée à E_{co} peut être considérée comme l'analogue d'une température de transition vitreuse. La prise en compte d'un tel seuil conduit à :

$$\text{Pr}^{-1}(E_c > E_a) = \exp[E_a/(E_c - E_{co})]^\alpha \quad (10)$$

Ainsi, le modèle proposé se résume à :

$$\eta(\phi) = G t_b / (1 + t_b \phi) \quad \text{où} \quad t_b = f^{-1} \exp[E_a/(E_c - E_{co})]^\alpha \quad (11)$$

Considérons quelques cas limites afin d'évaluer la cohérence de ce modèle. Lorsque ϕ est suffisamment faible ($t_b \ll 1/\phi$) le mouvement macro-brownien est le moteur dominant de la réorganisation particulière et on doit s'attendre à un comportement de type newtonien du fluide. Or, pour $t_b \ll 1/\phi$ l'équation (11) se réduit à :

$$\eta(\phi) \approx G t_b = \eta_0 = \text{cte} \quad (12)$$

Ce résultat est effectivement conforme au comportement attendu et en accord avec les rhéogrammes des figures 2a et 2b. Inversement dans la limite des hautes vitesses ($1/\phi \ll t_b$) la sollicitation mécanique devient le moteur dominant de la réorganisation du système qui apparaît figé et on doit tendre vers un régime de type frictionnel. Or pour $1/\phi \ll t_b$ on a :

$$\eta(\phi) \approx G/\phi \quad (13)$$

Ainsi, le modèle prédit effectivement une évolution en $1/\phi$ de la viscosité qui apparaît, en outre, indépendante de la température granulaire puisque G est une constante du modèle. Une fois encore ce résultat est en accord avec l'expérience comme en témoigne la convergence des courbes des figures 2a et 2b quelles que soient la fréquence et l'amplitude des vibrations. Un autre point de vérification concerne le caractère constant du paramètre G pour un milieu granulaire donné. Ce caractère est effectivement en accord avec les résultats de l'ajustement du modèle aux points expérimentaux rassemblés dans le tableau 2.

Tableau 2: *paramètres d'ajustement du modèle en fonction de E_p et f .*

E_p (μJ)	82			200			420		
f (Hz)	2	6	16	2	6	16	2	6	16
G (Pa)	136.4	136.2	140.0	140.4	138.8	139.7	140.2	139.5	140.0
t_b (s)	264.3	79.12	24.83	97.61	30.07	12.91	38.39	13.98	7.10

Une dernière vérification concerne le terme exponentiel $t_b f = \exp[E_a/(E_c - E_{co})]^\alpha$ des équations (10) et (11). Dans des expressions telles que les équations (7) à (11) le terme E_c représente normalement la moyenne (spatiale ou temporelle) de la composante fluctuante de l'énergie cinétique des particules considérées. Dans le cas d'un milieu granulaire soumis à des vibrations cette énergie cinétique moyenne dépend à la fois de la fréquence et de l'amplitude des vibrations liée à la valeur de E_p . Or les courbes de la figure 2d montrent un comportement en $1/f$ de la viscosité de plateau $\eta_0 = G t_b$ sur l'ensemble de la gamme de fréquence explorée. Cette évolution en $1/f$ est en accord avec l'équation (12) à condition que le facteur exponentiel donc l'énergie cinétique E_c soient indépendants de la fréquence de vibration.

Cette apparente contradiction est liée au mode de vibration des poudres et à son efficacité. Celle-ci peut être estimée par le "nombre de gravité" $\Gamma = E_p/mhg$ qui compare l'accélération communiquée à une masse m de poudre projetée à une hauteur h par une impulsion d'énergie E_p à l'accélération de la pesanteur g . En raison de la quantité de poudre qui alimente la cellule de mesure et de la nature du dispositif on a $\Gamma \leq 1$ dans les conditions expérimentales considérées. Il en résulte une influence non négligeable de la pesanteur qui, combinée au caractère inélastique des collisions, provoque une relaxation extrêmement rapide du système granulaire. En conséquence, chaque impulsion communiquée à la poudre est indépendante des précédentes. Aussi, le paramètre énergétique pertinent à prendre en considération dans l'équation (11) n'est pas l'énergie cinétique moyenne des grains mais l'énergie potentielle "instantanée" E_p qui leur est communiquée à chaque impulsion.

En modifiant le terme exponentiel en accord avec cette remarque il vient :

$$t_b f = \exp[E_a/(E_p - E_{po})]^\alpha \quad (14)$$

La figure 4 montre le résultat de l'ajustement de cette expression aux points expérimentaux. Le nombre de points expérimentaux est évidemment insuffisant pour s'assurer de la validité d'une telle expression d'autant plus que, sur le plan théorique, les phénomènes de relaxation dans les milieux désordonnés sont l'objet de recherches très actuelles dont les conclusions sont loin d'être définitives [Richert *et al.*, 1994].

Il n'en demeure pas moins que c'est une expression "physiquement acceptable" en regard des résultats expérimentaux obtenu et du cadre théorique envisagé au cours de cette étude.

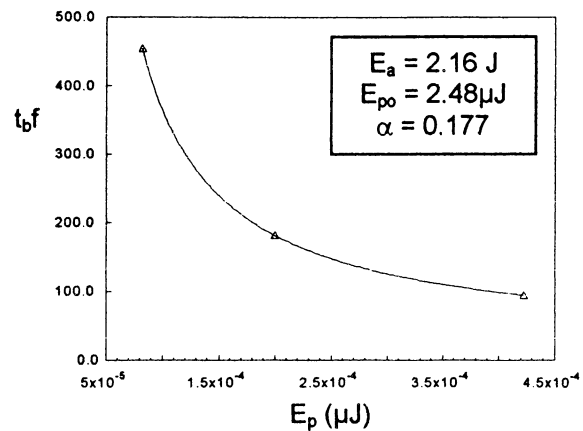


Figure 4 : évolution du facteur exponentiel avec l'énergie potentielle de percussion.

Conclusions et perspectives

En résumé, ce travail montre que, dans les conditions considérées, les poudres vibrées se comportent comme des fluides condensés non newtoniens et qu'il est possible de modéliser ce comportement ne tenant compte que d'une seule propriété structurale à l'échelle particulaire, à savoir, le temps d'existence moyen d'une configuration spatiale des particules constitutives du milieu. Par analogie avec les systèmes moléculaires désordonnés un tel modèle peut s'inscrire dans un cadre théorique s'appuyant sur des concepts de physique statistique. En perspectives, nous envisageons de perfectionner le dispositif expérimental afin de poursuivre cette étude dans des conditions opératoires plus étendues et mieux maîtrisées et d'améliorer ainsi le modèle. De manière plus pragmatique nous envisageons une application de ces travaux à la caractérisation de poudres éventuellement cohésives, polydispersées et de morphologies variées c'est à dire telles qu'elles se présentent généralement en contexte industriel.

Références bibliographiques

- ◆ Astarita G., Ocone R., Ind. Eng. Chem. Res., vol.33, 2280-2287(1994)
- ◆ Astarita T., Ocone R. and Astarita G., J. Non-Newtonian Fluid. Mech., vol.76, 5-25(1998)
- ◆ Barois-Cazenave A., Ph. Marchal, V. Falk, L. Choplin, Powder Tech., vol.103, 58-64(1999)
- ◆ Campbell C.S., Annu. Rev. Fluid. Mech., vol.22, 57-92(1990)
- ◆ Edwards S.F., Rheol. Acta, vol.29, 493-499(1990)
- ◆ Glasstone S., Laidler K.J., Eyring H., The Theory of Rate Processes, McGraw-Hill, © 1941
- ◆ Haff P.K., J. Fluid. Mech., vol.134, 401-430(1983)
- ◆ Hobbel E.F., Scarlett B., Part. Charact., vol.2, 154-159(1985)
- ◆ Marchal Ph., A. Barois, V. Tréguer, D. Tondeur and L. Choplin, Progress and Trends in Rheology V, (Ed. : I. Emri), Steinkopff-Darmstadt, 206-207(1998)
- ◆ Press W.H., Comments Astrophys., vol.7, n°4, 103-119(1978)
- ◆ Radjai F., La Recherche, vol.304, 44-46(1997)
- ◆ Richert R., Blumen A. (Eds), Disorder Effects on Relaxational Processes, Springer, © 1994
- ◆ Savage S.B., Jeffrey D.J., J. Fluid. Mech., vol. 110, 255-272(1981)
- ◆ Strobl G.R., The Physics of Polymers, Springer-Verlag, © 1996

GRANULOMETRIE, MORPHOLOGIE ET PROPRIETES MECANIQUES DE LA CHAPELURE

K. Bottin, E. Van Hecke
Institut Agro-Alimentaire de Lille
Cité Scientifique
59655 Villeneuve d'Ascq Cédex

RESUME

Afin d'essayer de caractériser la texture de la chapelure, deux méthodes complémentaires ont été utilisées : l'analyse informatique d'images et la compression en vrac. L'analyse informatique d'images a permis de quantifier "l'aspect" du produit par des paramètres concrets de taille (aire projetée, diamètres de Féret,...) et de forme (élongation, rugosité,...). Une analyse factorielle discriminante sur quatre lots de chapelure a montré que les trois paramètres d'aspect les plus discriminants étaient des paramètres de forme. Parallèlement, à partir des courbes force-temps obtenues en compression, trois paramètres mécaniques (la force moyenne d'écrasement, la fréquence et l'amplitude des pics) ont été extraits. L'analyse des coefficients de corrélation entre paramètres mécaniques et paramètres de forme a montré que des relations de dépendance peuvent être envisagées.

INTRODUCTION

La chapelure existe sur le marché industriel alimentaire sous de nombreuses formes. Elle fait partie de ces solides divisés plutôt hétérogènes et est caractérisée en termes mécaniques, par sa fragilité, sa friabilité. Peu d'instruments sont aujourd'hui utilisés par les industriels pour caractériser la texture de ce produit pourtant de plus en plus diversifié. Ainsi, la simple tamiseuse ne suffit plus et c'est bien souvent à l'évaluation sensorielle qu'ils ont recours. La caractéristique essentielle de la chapelure est alors la "croustillance".

Plusieurs travaux scientifiques ont déjà été menés sur les produits alimentaires croustillants. Les biscuits et les snacks, extrudés ou non, ont souvent été pris en exemple (Vickers et Bourne, 1976 ; Katz et Labuza, 1981 ; Ulbricht et coll., 1994; Van Hecke et coll., 1998) ; Puis, ce sont les céréales pour petit-déjeuner (Sauvageot et Blond, 1991 ; Nixon et Peleg, 1995). La méthode instrumentale la plus utilisée s'apparente toujours à une compression uniaxiale. La croustillance est alors mise en évidence par l'aspect très "accidenté" de la courbe réponse force-déformation reflétant une succession de multiples fractures au sein du produit. Plus récemment, les produits instantanés, tels que le café, ont été étudiés par cette même méthode (Nuebel and Peleg, 1994, Gerhards et coll, 1998). On ne peut pas dire que ces produits sont croustillants car on ne les déguste pas tel qu'ils sont, mais ils ont néanmoins un caractère fragile, friable, semblable à la chapelure tout comme leur aspect.

En ce qui concerne la caractérisation de l'aspect de ces produits, peu de travaux ont été publiés. L'analyse informatique d'images apparaît pourtant comme une technique prometteuse car de plus en plus utilisée pour l'analyse granulométrique et morphologique des

poudres. Les paramètres décrivant la taille et la forme des particules devraient alors pouvoir être mis en relation avec le comportement mécanique afin d'expliquer celui-ci.

L'objectif de ce travail est donc double : d'une part, mettre en place une méthode d'analyse informatique d'images pour quantifier l'aspect de différentes chapelures et, d'autre part, essayer d'établir des relations entre les propriétés mécaniques et l'aspect de ces produits.

MATERIELS ET METHODES

Quatre lots de chapelure (fournis par la société Kerry Ingredients Coating Systems) ont été étudiés. Ces lots représentent les quatre principaux types de chapelure présents sur le marché : "chapelure traditionnelle", "chapelure élaborée", "chapelure japonaise", cette dernière étant déclinée en deux catégories : "à grains ronds" et "à grains effilés". Ces chapelures résultent de formulations différentes (composition et/ou procédé de fabrication).

L'analyse informatique d'images a été réalisée grâce à une caméra CCD munie d'un zoom et reliée à un micro-ordinateur par l'intermédiaire d'une carte d'acquisition Matrox Meteor et d'une carte video Matrox Millennium. Les particules à analyser étaient éparpillées sur une surface noire, sous la caméra qui était en position verticale. La scène était éclairée par deux spots halogènes en vis à vis. Les images en 256 niveaux de gris ont été traitées par le logiciel Matrox Inspector 2.0. Une binarisation de l'image avec, pour seuil, le niveau de gris 128 a été systématiquement effectuée avant tout calcul. 14 paramètres ont été retenus a priori (Tableau 1) dont 12 proposés et calculés automatiquement par le logiciel.

PARAMETRES :	COMMENTAIRES :
<i>de taille :</i>	
- Aire (A)	
- Périmètre (P)	
- Diamètre minimal de Féret (Fmin)	= distance la plus petite séparant 2 tangentes parallèles
- Diamètre maximal de Féret (Fmax)	= distance la plus grande séparant 2 tangentes parallèles
- Diamètre moyen de Féret (Fmoy)	= distance moyenne séparant 2 tangentes parallèles
- Périmètre convexe (Pconv)	= longueur de la corde englobant l'objet
- Diamètre équivalent (Déquiv)	= $2\sqrt{(A/\pi)}$
- Longueur (L)	calculés tel que :
- Largeur (l)	$A = L.l$ et $P = 2(L+l)$
<i>de forme :</i>	
- Compacité (C)	= $P^2/4\pi A$
- Rugosité (R)	= P/P_{conv}
- Elongation (E)	= L/l
- Elongation de Féret (Félong)	= F_{max}/F_{min}
- Facteur de forme (FD)	= $F_{max}/Déquiv$

Tableau 1 : Paramètres d'analyse informatique d'images retenus

Le comportement mécanique a été étudié à l'aide d'un analyseur de texture TA-XT2. Environ 50 ml de chapelure étaient introduits dans un bécher de 4,7 cm de diamètre. La compression était réalisée à vitesse constante (0,1 mm/s), sur une profondeur de 10 millimètres, par un cylindre de 1 cm de diamètre. Il ne s'agissait donc pas d'une réelle

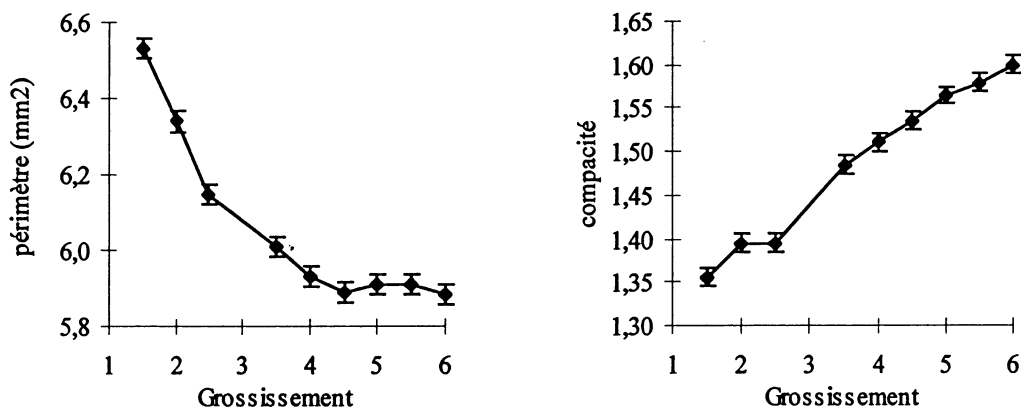
compression. Les courbes force-temps obtenues ont été exploitées selon Van Hecke et coll. (1998) : la force moyenne de compression par millimètre (F_m/mm), la fréquence spatiale des fractures (N_{wr}) et la force spécifique moyenne des fractures (f_{wr}) sont les trois paramètres mécaniques retenus.

RESULTATS ET DISCUSSION

Recherche du grossissement optimal pour l'analyse informatique d'images

Le grossissement utilisé pour analyser une scène par analyse informatique d'images est un facteur déterminant car la précision des résultats en dépend, surtout lorsqu'il s'agit d'analyser des particules au contour peu régulier.

Les figures 1a et 1b montrent l'évolution de deux paramètres, l'un de taille (le périmètre), l'autre de forme (la compacité) en fonction du grossissement (de 1,5x à 6x).



Figures 1a et 1b : Evolution du périmètre moyen et de la compacité moyenne d'un ensemble de 64 particules de chapelure élaborée, choisies au hasard, en fonction du grossissement.

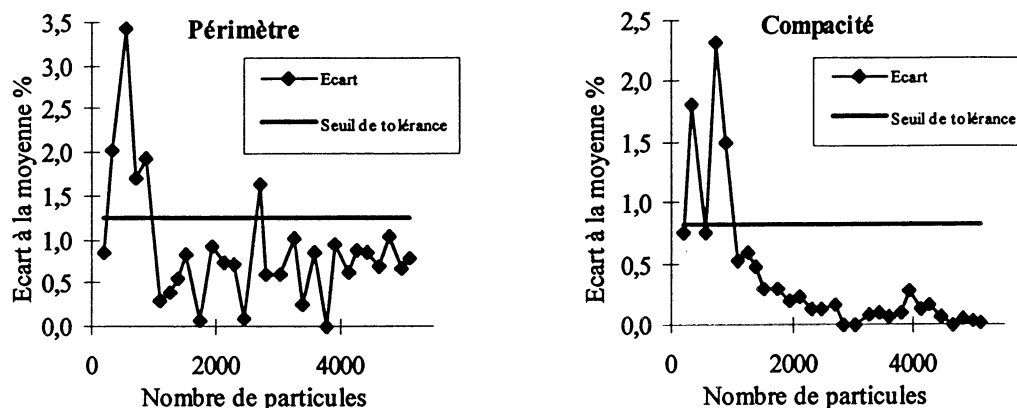
Si le périmètre (comme tous les paramètres de taille) a tendance à diminuer avec une augmentation du grossissement, c'est parce que la netteté de l'image augmente. Ce résultat sera d'autant plus marqué que les particules auront, à l'origine, des contours très irréguliers. Pour la même raison, pour des grossissements croissants, les paramètres de forme, tels que la compacité, auront tendance à augmenter car ces paramètres reflètent l'aspect non parfaitement circulaire des particules (un cercle a la compacité minimale, égale à 1).

Le grossissement optimal sera donc un compromis entre la précision souhaitée sur les résultats ("qualité") et le nombre maximal de particules analysables par image ("coût"). Nous avons donc choisi, par la suite de travailler au grossissement 4x, ce qui permettait d'analyser une petite centaine de particules par image avec une bonne précision sur les résultats.

Recherche du nombre optimal de particules à soumettre à l'analyse informatique d'images

La méthode d'échantillonnage par partage a été choisie afin de diviser un échantillon primaire d'environ 2 kg en échantillons secondaires aussi petits que possibles pour pouvoir être analysés en une ou deux images. Nous avons ainsi défini l'"échantillon de base", constitué d'environ 180 particules (analysables en deux images), ce qui correspond à une masse de

produit d'environ 50 mg. Nous avons alors recherché le nombre minimal d'échantillons de base à analyser pour avoir une bonne représentativité du lot d'origine. En partant de 30 échantillons de base, nombre que nous avons jugé suffisamment grand pour représenter le lot, nous avons alors associé les échantillons par deux, puis par trois, etc... et analysé l'évolution de l'écart des moyennes des paramètres par rapport à la moyenne globale des 30 échantillons de base (Figures 2a et 2b).



Remarque : Le seuil de tolérance représenté ici est le coefficient de variation (=écart-type/moyenne) obtenu en remplaçant 5 fois sous la caméra un même échantillon de 120 particules. Il prend en compte les variations possibles des paramètres moyens sur un ensemble de particules, en raison de leur positionnement dans l'espace. Quelque soit le paramètre considéré, ce coefficient de variation est toujours de l'ordre de 1%.

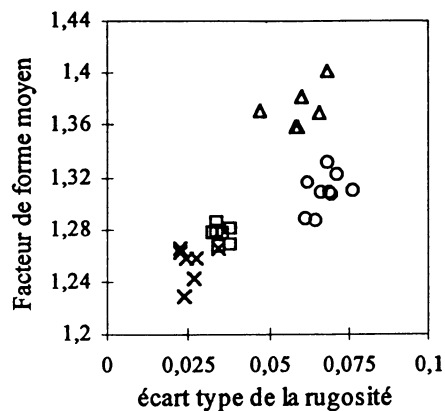
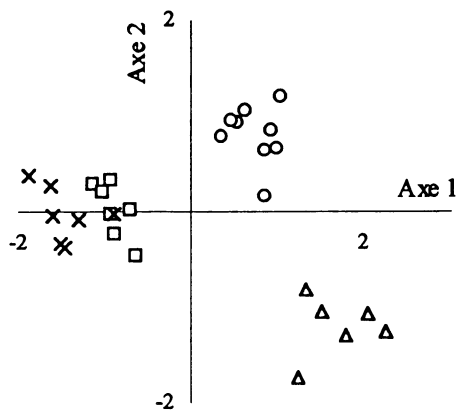
Figures 2a et 2b : Evolution de l'écart à la moyenne pour un paramètre de taille (le périmètre) et un de forme (la compacité), en fonction du nombre de particules.

Cette étude met en évidence qu'il faut au minimum analyser environ 1000 particules, soit 6 à 7 échantillons de base, pour que les moyennes des paramètres soient assez proches des valeurs réelles. Ce nombre paraît élevé par rapport à ce que l'on trouve habituellement en bibliographie sur l'analyse des poudres par analyse d'images, mais cela s'explique par le caractère très hétérogène et très irrégulier de nos produits qui, de plus, ne sont pas vraiment des poudres.

Caractérisation de l'aspect des quatre lots de chapelure

Les conditions expérimentales étant fixées, les quatre lots de chapelure ont pu être caractérisés. Sur chaque image ont alors été calculés les valeurs moyennes des 14 paramètres, mais aussi les écarts types correspondants, reflétant ainsi l'hétérogénéité des grains à l'intérieur des lots. Des analyses de variance à une dimension sur chacun des 28 paramètres ont montré que tous étaient très significativement discriminants ($\alpha < 5\%$) à des degrés plus ou moins marqués.

Une analyse factorielle discriminante (AFD) pas-à-pas (avec le logiciel Statgraphics) a alors permis de sélectionner les paramètres qui, associées en combinaison linéaire, forment la fonction la plus discriminante. Un paramètre moyen (le facteur de forme moyen) et deux paramètres d'hétérogénéité (l'écart-type de la rugosité et l'écart-type de l'élongation de Feret) se sont avérés les meilleurs. Les figures 3a et 3b nous montrent la position des différents échantillons de base dans le plan formé des deux principaux axes discriminants d'une part, et dans un plan [écart type de la rugosité/facteur de forme moyen].



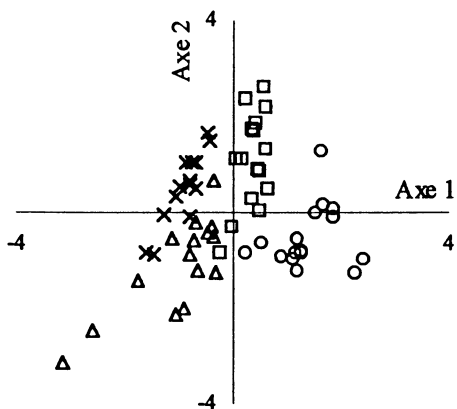
Légende : × = Chapelure traditionnelle, □ = Chapelure élaborée,
 ○ = Chapelure japonaise ronde, Δ = Chapelure japonaise effilée

Figures 3a et 3b : Discrimination des quatre lots de chapelure par AFD sur les résultats d'analyse d'images

Nous pouvons souligner la très bonne discrimination des lots grâce à seulement deux caractéristiques de forme. Les paramètres de taille, bien que significativement discriminants lorsqu'ils sont pris individuellement, ne viennent que très peu renforcer l'intérêt des paramètres de forme.

Analyse du comportement mécanique des quatre lots de chapelure. Recherche de corrélations avec l'aspect

Au minimum 14 essais de pseudo-compression ont été réalisés par lot de chapelure. Là encore, chacun des trois paramètres mécaniques retenus (F_m/mm , f_{wr} , N_{wr}) s'est montré discriminant par analyse de variance. Une analyse factorielle discriminante sur ces trois paramètres a conduit au plan de représentation repris sur la figure 4.

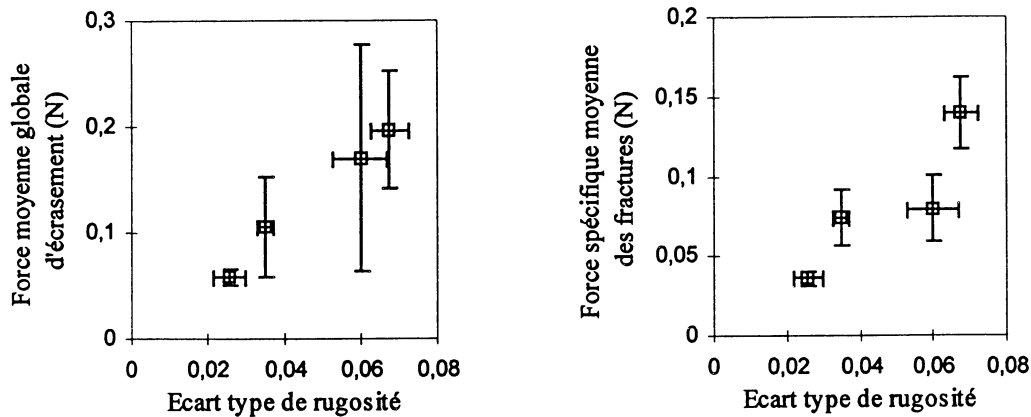


La dispersion des résultats à l'intérieur des lots semble ici plus grande et la discrimination s'avère un peu moins bonne qu'avec les paramètres d'aspect. Chaque lot occupe néanmoins une région particulière du plan.

Légende : × = Chapelure traditionnelle, □ = Chapelure élaborée,
 ○ = Chapelure japonaise ronde, Δ = Chapelure japonaise effilée

Figure 4 : Discrimination des quatre lots de chapelure par AFD sur les résultats de pseudo-compression

Afin de tenter d'expliquer le comportement mécanique des lots de chapelure par leurs caractéristiques d'aspect, nous avons considéré, pour chaque lot, les moyennes des 3 paramètres d'aspect retenus (FD moyen, R écart-type, Félong écart-type) ainsi que celles des 3 paramètres mécaniques, puis calculé la matrice des coefficients de corrélation entre ces 6 variables. Une corrélation significative ($R^2 = 0,993$) est apparue entre la force moyenne globale d'écrasement (F_m/mm) et l'écart-type de la rugosité (R écart-type) (Figure 5a).



Remarque : Les intervalles représentés correspondent à la dispersion possible des résultats, estimée par un calcul classique d'écart-type sur les différents essais

Figure 5a et 5b : Corrélations entre l'écart type de la rugosité et la force moyenne globale d'écrasement ou la force spécifique moyenne des fractures

Cette corrélation linéaire signifierait que, plus les particules sont hétérogènes en termes de rugosité, plus la force moyenne nécessaire à l'écrasement d'un ensemble de ces particules est importante. On peut penser en effet que l'hétérogénéité de rugosité permettrait aux particules de s'imbriquer plus facilement les unes dans les autres, formant ainsi un édifice plus difficile à écraser.

Quant à la force spécifique moyenne des fractures, elle semble aussi croître avec l'écart-type de rugosité (figure 5b). Le coefficient de corrélation n'est, dans ce cas, que de 0,873. Par contre, la fréquence spatiale des fractures serait plutôt dépendante de l'écart-type de l'élongation de Féret ($R^2 = 0,748$), ce qui signifierait que, plus les particules sont hétérogènes en termes d'élongation, moins il y a de fractures lors d'un écrasement.

Il faut cependant être prudent dans l'interprétation de ces résultats car le calcul des coefficients de corrélation n'est basé que sur 4 points (= 4 lots de chapelure) et, comme on peut le constater sur les figures 4 et 5a, la dispersion des résultats mécaniques est relativement grande.

On pourrait aussi rechercher par la méthode de régression multilinéaire des modèles qui expliqueraient chacun des paramètres mécaniques par des combinaisons linéaires des paramètres d'aspect. Mais pour cela, il est absolument indispensable de compléter notre base de données par de nouveaux lots de produits.

CONCLUSION

En portant nos efforts sur le développement d'une méthode d'échantillonnage et d'analyse informatique d'images, nous avons montré qu'il était parfaitement possible de caractériser l'aspect de produits alimentaires granulaires tels que la chapelure. En couplant

cette approche à l'analyse du comportement mécanique des mêmes produits, nous avons voulu ébaucher des relations de dépendance entre l'aspect et la résistance ou la fragilité des produits. Nos résultats nous conduisent à envisager l'amélioration du pouvoir discriminant de la méthode de caractérisation mécanique en introduisant, par exemple, de nouveaux paramètres extraits des courbes force-temps. D'autre part, il s'avère indispensable d'enrichir notre base de données en testant d'autres lots de produits similaires pour confirmer ou compléter les relations de cause à effet suspectées.

BIBLIOGRAPHIE

- GERHARDS C., ULBRICHT D.M., PELEG M., 1998, Mechanical characterization of individual instant coffee agglomerates, *J. Food Science*, 63(1), 140-142.
- KATZ E. and LABUZA T., 1981, Effect of water activity on the sensory crispness and mechanical deformation of snack food products, *J. Food Sci.*, 46, 403-409.
- NIXON R. and PELEG M., 1995, Effect of sample volume on the compressive force-deformation curves of corn flakes tested in bulk, *J. Text. Studies*, 26, 59-69.
- NUEBEL C and PELEG M., 1994, A research note : Compressive stress-strain relationships of agglomerated instant coffee, *J. Food Process Engin.*, 17, 383-400.
- SAUVAGEOT F. and BLOND G., 1991, Effect of water activity on crispness of breakfast cereals, *J. Text. Studies*, 22, 423-442.
- ULBRICHT D., NORMAND M.D., PELEG M., HOROWITZ J., 1994, Assessment of the crumbliness of individual fragile particulates from that of their assemblies, *Powder Technol.*, 81, 83-91.
- VAN HECKE E., ALLAF K., BOUVIER J.M., 1998, Texture and structure of crispy-puffed food products. Part II : Mechanical properties in puncture, *J. Text. Studies*, 29, 617-632
- VICKERS Z. and BOURNE M., 1976, A psychoacoustical theory of crispness, *J. Food Science*, 41, 1158-1164.

ETUDE RHEOLOGIQUE DE GELS D'OXYDE DE TITANE

A. Ponton (*), S. Barboux-Doeuff (**), C. Sanchez (**), P. Flaud (*)

(*) Laboratoire de Biorhéologie et d'Hydrodynamique Physico-chimique, ESA CNRS 7057, Université Denis Diderot, 4 place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05, France

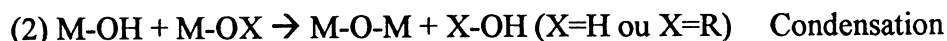
(**) Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée, UMR CNRS 7574, Université Pierre et Marie Curie, 4 place Jussieu, 75252 PARIS Cedex 05, France

Résumé:

Nous avons étudié la prise en gel de solutions alcooliques hydrolysées de butoxyde de titane complexées par l'acétylacétone à l'aide de mesures rhéologiques. Le temps de gélification t_g a été déterminé à partir des variations du module complexe de cisaillement en fonction du temps et à plusieurs fréquences en utilisant le critère de Winter. Nous avons pu déterminer des dimensions fractales très proches de celles d'exposants auto similaires obtenus par des mesures de diffusion de rayons X et qui correspondent à des structures arborescentes. Les effets de la température et du taux d'hydrolyse ont été aussi étudiés. Une augmentation de la température et/ou du taux d'hydrolyse accélère les cinétiques des réactions d'hydrolyse-condensation et donc diminue t_g . Nous avons calculé une énergie d'activation ($\sim 120 \text{ kJmol}^{-1}$) indépendante du taux d'hydrolyse à partir des valeurs de t_g à plusieurs températures.

I. Introduction

Durant ces deux dernières décennies, les techniques sol-gel en relation avec la chimie des matériaux ont été utilisées en tant qu'approches nouvelles pour obtenir des matériaux oxyde aux propriétés améliorées [1]. La chimie des processus sol-gel est basée sur des réactions d'hydrolyse et de condensation [2] (Eqs 1 et 2) de composés métallo-organiques tels que les alcoxydes métalliques $(M(OR)_n)$.



La structure et la morphologie du réseau macromoléculaire d'oxyde résultant dépendent fortement de la contribution relative de ces réactions [3]. L'association de ces oxo-polymères métalliques peut conduire à des structures arborescentes formant des gels quand ils atteignent des tailles macroscopiques.

La connaissance de l'évolution des propriétés rhéologiques des systèmes sol-gel est très importante aussi bien sur le plan fondamental que sur le plan expérimental pour l'utilisation de ces matériaux dans les procédés industriels.

La rhéologie est un outil efficace pour mesurer les changements de viscosité et d'élasticité au seuil de gélification où un réseau tridimensionnel se forme et pour suivre les évolutions de structure des gels. De plus, cette technique est complémentaire d'autres méthodes d'investigation comme la résonance magnétique nucléaire et la diffusion de rayons X.

La plupart des travaux sur les matériaux sol-gel ont été consacrés au réseau de silice formé à partir d'alcoxyde de silice [4-11]. Très peu de données sont disponibles sur les gels d'oxyde de métaux de transition obtenus à partir de l'hydrolyse d'alcoxydes de métaux de transition [12-14] car leur processus sol-gel est plus complexe que celui de la silice.

Parmi les réseaux formés à partir d'oxydes de métaux de transition, les oxo-polymères de titane sont des précurseurs pour les matériaux à base d'alcoxyde de titane dont l'importance technologique est bien connue depuis de nombreuses années. Les applications des colloïdes de titane en films minces sont nombreuses incluant des capteurs photovoltaïque, électrochimique, photochromique... [1].

On peut obtenir les oxo-polymères de titane à partir de l'hydrolyse d'alcoxyde $Ti(OR)_4$. Cependant le principal problème est de contrôler les réactions d'hydrolyse-condensation qui sont en général rapides et conduisent à la formation de précipités avec un désordre élevé de microstructure. Un moyen efficace est d'utiliser des ligands complexants qui diminuent la réactivité des précurseurs.

Ce travail concerne l'étude rhéologique de polymères obtenus à partir de l'hydrolyse-condensation d'alcoxyde de titane en présence d'acétylacétone (AcacH) utilisé comme complexant. Nous nous sommes principalement intéressés aux effets de la température et du taux d'hydrolyse sur le processus de gélification.

II. Partie expérimentale

III. Préparation des échantillons

Le précurseur utilisé dans cette étude est le butoxyde de titane complexé par l'acétylacétone. Les produits commerciaux sont utilisés sans purification supplémentaire. Nous avons toutefois vérifié par spectroscopie infra rouge que le butoxyde de titane n'était pas hydrolysé. L'acétylacétone dilué dans du butanol est ajouté goutte à goutte sous agitation magnétique à une solution butanol/ $Ti(OBu^n)_4$. Ensuite on réalise l'hydrolyse en ajoutant une solution de butanol/eau (19 w% d'eau).

Parmi les nombreux paramètres expérimentaux nécessaires à contrôler pour obtenir des phases sol et gel, nous définirons le taux d'hydrolyse $H = [H_2O]/[Ti]$ et le taux de complexation $A = [AcacH]/[Ti]$.

Dans ce travail, nous avons étudié deux taux d'hydrolyse ($H = 9$ et $H = 12$) et un taux de complexation ($A = 0.4$). Toutes les solutions ont la même concentration en titane : 0.47 mol l^{-1} . Nous avons fait varier la température de $T = 20^\circ\text{C}$ à $T = 30^\circ\text{C}$.

II2. Protocoles expérimentaux

Nous avons réalisé les mesures rhéologiques en utilisant un rhéomètre à contrainte imposée (Haake RS150) avec une géométrie cône/plan. Les dimensions du cône sont 60mm pour le diamètre et 4° pour l'angle. La distance minimale entre le plan et le cône tronqué est de 0.145 mm.

Le contrôle de température est assuré par un bain thermostaté. Nous avons utilisé un piège à solvant rempli de butanol pour obtenir une atmosphère saturée et éviter la possible évaporation du solvant de l'échantillon pendant la mesure rhéologique.

Nous avons effectué des mesures dynamiques en appliquant une contrainte sinusoïdale pour cinq fréquences comprises entre 0.1 et 0.464 Hz. Nous avons utilisé une plage étroite de fréquences car le temps de mesure doit être très inférieur au temps de gélification et les fréquences élevées peuvent perturber le processus de gélification.

L'amplitude de la contrainte est fixée à 0.02 Pa dans le domaine viscoélastique linéaire.

Après le remplissage de la cellule de mesure, l'échantillon est laissé au repos sous contrainte nulle de façon à le laisser évoluer vers le début de la transition sol-gel. En effet, les modules

de cisaillement aux temps très courts sont faibles et en dehors des limites de mesures de la géométrie. Le temps de repos varie de 45 min ($T = 20^{\circ}\text{C}$) à 3 min ($T = 30^{\circ}\text{C}$) pour $H = 12$ et de 170 min ($T = 20^{\circ}\text{C}$) à 45 min ($T = 30^{\circ}\text{C}$) pour $H = 9$.

Le balayage en fréquence est ensuite réalisé durant un temps court (57s) suivi par un temps de repos (120s ou 180s selon les échantillons) de façon à limiter au maximum les effets perturbateurs des mesures rhéologiques sur le processus de prise en gel. Cette séquence est répétée une dizaine de fois.

III. Contexte théorique

La notion de temps de gélification et sa définition sont fondamentales et ont été l'objet de nombreux débats. De plus sa détermination n'est pas une procédure simple.

Les observations qualitatives ont été les premières utilisées pour déterminer ce temps critique comme l'instant à partir duquel le matériau perd sa fluidité [15]. Cette méthode arbitraire présente les inconvénients d'être subjective et souvent peu reproductible. Aussi différentes mesures rhéologiques ont été effectuées depuis quelques années mais quelques unes n'ont pas toujours été faites dans des conditions appropriées.

Certains auteurs [16] ont proposé d'obtenir la valeur du temps de gélification par l'observation de la divergence de la viscosité de cisaillement stationnaire mesurée en fonction du temps. Le temps de gélification est alors défini comme le temps où la viscosité augmente brusquement et s'obtient par extrapolation. Cette méthode présente en outre l'inconvénient de perturber le matériau tout au long de la mesure.

Il a été aussi suggéré [17] que l'on pouvait associer le temps de gélification au point de croisement des variations des parties réelle G' et imaginaire G'' du module de cisaillement G^* en fonction du temps. Tout d'abord cette suggestion n'est pas compatible avec les relations de Kramers Kronig qui relient sous forme intégrale les parties réelle et imaginaire du module de cisaillement, excepté pour le cas où les modules sont proportionnels à la racine carrée de la fréquence [18]. Ensuite ce point d'intersection dépend de la fréquence de la sollicitation de la mesure rhéologique [4]. Enfin on peut observer un croisement des variations temporelles de G' et de G'' dans des polymères non réticulés, associé à la présence d'enchevêtrements des chaînes macromoléculaires sans formation de gel [19]. En conséquence on peut confondre deux mécanismes différents.

Il y a quelques années, Winter et al [20] ont proposé une détermination plus précise du temps de gélification. Ces auteurs ont montré que l'on pouvait déterminer le temps de gélification par l'étude de l'évolution en fréquence de G' et de G'' pendant le processus de gélification près de la transition sol-gel. Cette méthode qui présente l'avantage d'accéder en continu à l'évolution des propriétés viscoélastiques lors de la transition sol-gel, a d'abord été proposée pour des gels chimiques mais a aussi été utilisée pour des gels physiques [4].

On peut décrire le comportement viscoélastique linéaire de systèmes chimiques réticulés [20] par une équation du type:

$$\tau(t) = S \int_{-\infty}^t (t - t')^{-\Delta} \dot{\gamma}(t') dt' \quad (1)$$

où τ est le tenseur des contraintes, S est défini comme l'amplitude de gel dépendant de la densité de réticulation et de la flexibilité des chaînes macromoléculaires et $\dot{\gamma}$ le tenseur de déformation. Les valeurs de l'exposant de relaxation Δ dépendent de plusieurs paramètres discutés ci après et sont comprises entre 0 et 1 indiquant respectivement un comportement de gel très élastique ($\Delta = 0$) ou de gel plus visqueux ($\Delta = 1$) [21].

On peut montrer que les variations des modules G' et G'' en fonction de la fréquence d'oscillation $f = 2\pi\omega$ sont décrits dans le domaine de réponse linéaire et au voisinage du temps de gélification par une loi de puissance avec le même exposant Δ :

$$G'(\omega) \propto G''(\omega) \propto \omega^\Delta \quad (2)$$

De l'équation (2) et avec les relations de Kramers Kronig, on en déduit que l'angle de perte δ ne dépend pas de ω au temps de gélification [20] mais est proportionnel à l'exposant de relaxation Δ :

$$\tan \delta = G''(\omega) / G'(\omega) = \text{cst} = \tan(\Delta\pi / 2) \quad (3)$$

Ainsi on peut déterminer le seuil de la transition sol-gel à partir de l'évolution de $\tan\delta$ en fonction du temps à plusieurs fréquences. Les différentes courbes se coupent en un point critique qui définit le temps de gélification. L'indépendance de δ en fonction de ω a été reliée aux propriétés auto-similaires du gel à partir desquelles on peut calculer une dimension fractale [21].

Récemment certains auteurs ont développé une autre méthode de détermination du temps de gélification basée sur une modification de la méthode auto-similaire (critère de Winter). Cette méthode est très utile pour les systèmes dans lesquels les courbes ne se coupent pas mais aussi peut être appliquée aux systèmes qui présentent un chevauchement des courbes. Le point de gélification est calculé à partir d'une méthode statistique qui définit le temps de gélification par le minimum de la courbe représentant $\log(s/\langle \tan \delta \rangle)$ en fonction du temps où s la déviation standard de $\tan\delta$ lors d'un balayage en fréquence.

IV. Résultats et discussion

Nous avons représenté les variations de $\tan\delta = G''(f)/G'(f)$ en fonction du temps pour $H= 12$

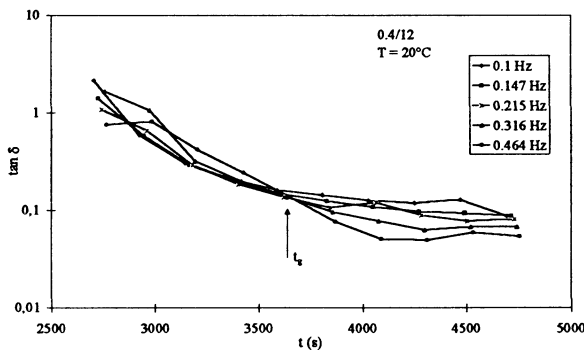


figure1: Détermination du temps de gélification pour $H = 12$ et $T = 20^\circ\text{C}$ à partir des variations de $\tan\delta$ en fonction du temps.

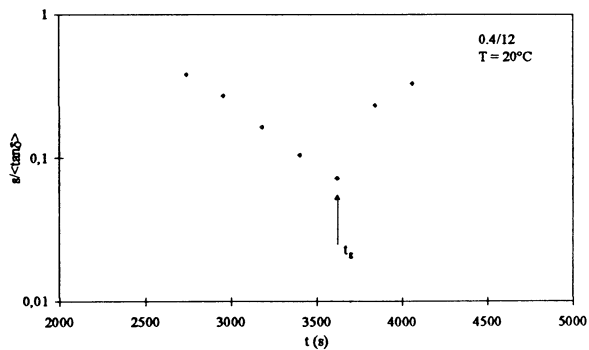


figure 2: Détermination du temps de gélification à partir de la méthode du coefficient statistique auto-similaire

Chaque courbe correspond à une fréquence donnée. Nous avons déterminé le temps de gélification selon le critère de Winter par l'intersection des différentes courbes ($t_g = 3600\text{s}$). Ce point correspond à celui où $\tan\delta$ est indépendant de la fréquence.

La figure 2 présente le résultat obtenu à partir de la méthode statistique.

Les variations du module élastique G' et du module visqueux G'' en fonction de la fréquence sont données respectivement en figures 3a et 3b pour $H = 12$ et $T = 20^\circ\text{C}$.

On peut noter que G' et G'' dépendent de la fréquence sur les premières droites ($t < t_g$) avec une forte pente et augmentent en amplitude au fur et à mesure du développement du processus de gélification. Ensuite ($t \geq t_g$) ils présentent un comportement qui tend vers un comportement caractéristique de systèmes de plus en plus élastiques. Comme nous l'avons

mentionné auparavant (Eq.2), on peut calculer la valeur de l'exposant de relaxation Δ à partir de la loi de puissance qui décrit la dépendance en fréquence des modules. Les pentes des droites (figures 3a et 3b) sont respectivement $\Delta' = 0.13$ pour G' et $\Delta'' = 0.15$ pour G'' et quasi identiques. Après le temps de gélification, on constate que la valeur de G' est supérieur à celle de G'' avec l'exposant Δ' qui garde une valeur constante autour de 0.12 et l'exposant Δ'' qui décroît. Ceci peut s'expliquer par le fait que le matériau est essentiellement élastique et que la composante visqueuse est faible et donc mesurée avec une grande incertitude. Les valeurs de Δ' et de Δ'' sont en bon accord avec celle obtenue à partir de l'Eq. 3 et la figure1. En effet, au temps de gélification, la valeur mesurée de $\tan\delta$ est de 0.16, ce qui correspond à un exposant $\Delta' = 0.10$. Les valeurs de Δ obtenues à partir des deux méthodes sont en assez bon accord compte tenu des incertitudes de mesure du module visqueux.

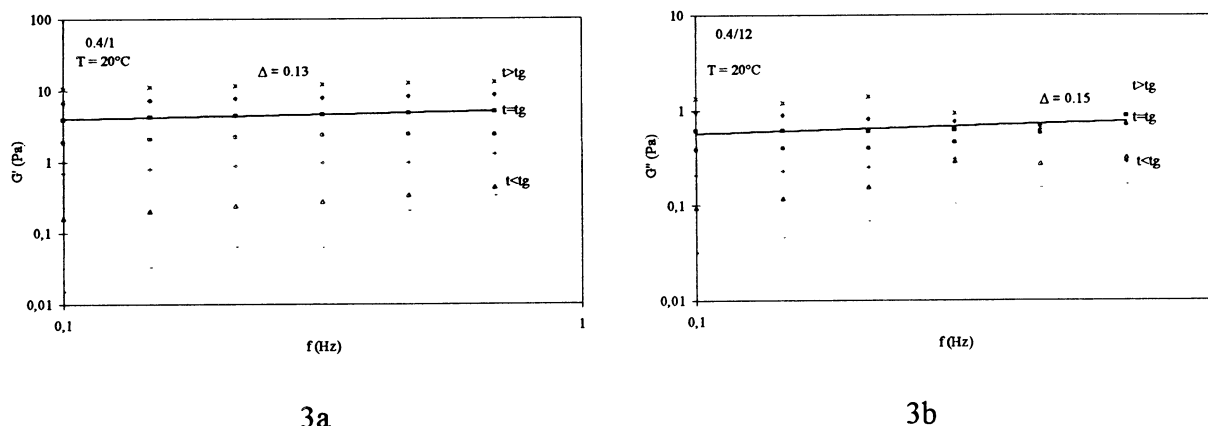


figure3: Variation du module élastique G' (3a) et du module visqueux (3b) en fonction de la fréquence pour $H = 12$ et $T = 20^\circ\text{C}$.

Le comportement rhéologique d'un système près de la transition sol-gel se caractérise par l'augmentation rapide de la viscosité à très faible cisaillement η_0 et du module d'équilibre G_0 . Dans le cadre de la théorie de champ moyen et de modèle de percolation, on peut calculer des exposants d'échelle pour η_0 et G_0 respectivement $s = 0.75$ et $z = 1.94$ en utilisant des relations du type $\eta_0 \propto \varepsilon^{-s}$ et $G_0 \propto \varepsilon^{-z}$ [22]. Le paramètre $\varepsilon = |p - p_c|/p_c$ est l'écart relatif au point de gel avec p le taux de réaction et p_c sa valeur critique au temps de gélification ($\varepsilon \ll 1$). Selon l'hypothèse des lois d'échelle, on peut relier les exposants s , z et Δ $\{\Delta = z/(z+s)\}$. On peut ainsi calculer une valeur théorique de Δ dans le contexte d'une théorie de percolation: $\Delta = 0.72$ [22]. Cette théorie ne prend pas en compte ni la nature des espèces chimiques ni leurs interactions [23]. De nombreux résultats expérimentaux ont conduit à des valeurs différentes de celle obtenue par la théorie de percolation selon la nature du gel (chimique ou physique), de la stoechiométrie, de la masse moléculaire et de la longueur des chaînes macromoléculaires, de la concentration, du degré de cristallinité. Dans la plupart des cas, les valeurs de Δ sont supérieures à 0.5 [8]. La valeur particulière ($\Delta = 0.5$) obtenue pour des gels chimiques dans des conditions stoechiométriques [4] correspond au seul cas où l'on peut déterminer le temps de gélification par l'intersection des courbes représentant les variations temporelles de G' et G'' . Il est ainsi difficile de caractériser la nature précise d'un gel avec la seule valeur de Δ . Néanmoins certains auteurs ont montré [21] que le caractère élastique du matériau est d'autant plus prépondérant par rapport au caractère visqueux ($G' \gg G''$) que Δ est faible. Les valeurs obtenues dans ce travail pour des solutions alcooliques de butoxyde de titane sont du même ordre de grandeur que celle déterminée pour des matériaux élastomères chlorobutyl [24]. Les auteurs avaient interprété la faible valeur de Δ par les masses moléculaires élevées des polymères et la présence de fibres dans leur système. Ils en avaient

conclu que l'existence simultanée de liens physiques de durée de vie finie et de liens chimiques permanents conduisaient à la formation d'un réseau dense et donc de forte élasticité (Δ faible). Nous pouvons penser que c'est également le cas dans nos matériaux.

En raison des propriétés auto-similaires d'un gel critique, l'exposant Δ est relié à la géométrie des polymères formés au temps de gélification. On peut obtenir une expression de Δ en termes de dimension fractale d_f . Cette dimension relie la masse moléculaire du polymère à son rayon de giration. Dans le cas de polymères réticulés avec un écrantage des effets de volume exclus des chaînes de polymères, la relation entre Δ , d_f et la dimension d de l'espace s'écrit [25]:

$$\Delta = d(d + 2 - 2d_f) / 2(d + 2 - d_f) \quad (4)$$

Nous obtenons $d_f = 2.39$ pour $\Delta = 0.13$ ($H = 12$, $T = 20^\circ\text{C}$) et $d = 3$. Cette valeur est en bon accord avec celles déduite de mesures de diffusion de rayons X pour les systèmes $H = 8$ ($d_f = 2.25$) et $H = 10$ ($d_f = 2.46$).

Effet du taux d'hydrolyse:

Afin d'étudier l'effet du taux d'hydrolyse, nous avons fait des mesures sur le système $H = 9$ ($A = 0.4$). Nous ne discuterons ici que des résultats relatifs au temps de gélification. Les valeurs du temps de gélification, de la viscosité complexe η^* et de l'exposant Δ (calculé à partir de l'Eq.3) à 0.1 Hz et $T = 20^\circ\text{C}$ sont résumées dans le tableau 1.

	t_g (s)	η^* (mPa.s)	G' (Pa)	G'' (Pa)	G''/G'	Δ
H = 9	19120	9535	5.97	0.46	0.08	0.05
H = 12	3600	6477	4.02	0.64	0.16	0.10

tableau1: *Effet du taux d'hydrolyse sur le temps de gélification (critère de Winter), la viscosité complexe, les modules et l'exposant de relaxation à $t = t_g$.*

L'effet le plus important du taux d'hydrolyse est une réduction d'un facteur 5 du temps de gélification de $H = 9$ à $H = 12$. Cela traduit le fait qu'une augmentation du taux d'hydrolyse tend à accélérer le processus de réticulation et donc à réduire le temps de gélification. Il faut aussi noter que la composante élastique est d'autant plus élevée et que l'exposant Δ est faible pour $H = 9$. Cela pourrait s'expliquer par le fait que pour le taux d'hydrolyse le plus faible, les réseaux macromoléculaires formés lentement ont une connectivité élevée conduisant à un réseau dense et structuré qui comprend une plus grande quantité de matière. Il faut souligner que la formation de gel à partir d'oxo-polymères métalliques se produit en ne faisant intervenir que 15 à 20% de matière [26]. Ainsi de petites variations de la quantité relative d'oxo-polymère de titanium participant au réseau connecté de gel modifiera de façon importante la réponse viscoélastique du matériau.

Effet de la température:

La température est un autre paramètre qui peut influencer sur le processus de gélification. Comme précédemment nous nous limiterons au voisinage de la transition sol-gel.

Nous avons obtenu la valeur du temps de gélification t_g pour chaque température ($20^\circ\text{C} \leq T \leq 30^\circ\text{C}$) de façon similaire à celle obtenue à partir de la courbe présentée en figure 1. Les valeurs de t_g et celles correspondantes à ce temps de η^* , G' , G'' et Δ à 0.1 Hz sont résumées dans le tableau 2.

Le principal effet d'une augmentation de température est une diminution de t_g . Ce dernier est divisé par cinq pour une variation de température de seulement 10°C .

On peut utiliser les valeurs de t_g à différentes températures pour calculer une énergie d'activation apparente pour le processus de gélification. Si la réticulation conduisant à la formation du gel est gouvernée par une loi cinétique, l'équation reliant t_g et l'énergie d'activation E_a est:

$$\ln t_g = E_a / RT + Cte \quad (5)$$

où R est la constante des gaz parfaits et T la température absolue.

Les énergies d'activation calculées à partir d'un graphe représentant en coordonnées semi logarithmiques t_g en fonction de $1/T$ sont respectivement 120 kJmol⁻¹ (H= 12) et 123 kJmol⁻¹ (H= 9) et semblent indépendantes du taux d'hydrolyse. Ces valeurs sont très proches de celle (120 kJmol⁻¹) récemment déterminée pour des gels de BaTiO₃ [27].

	t_g (s)	η^* (mPa.s)	G' (Pa)	G'' (Pa)	G''/G'	Δ
20°C						
H = 9	19120	9535	5.97	0.46	0.08	0.05
H = 12	3600	6477	4.02	0.64	0.16	0.10
23°C						
H = 9	11220	8449	5.29	0.43	0.08	0.05
H = 12	2180	2401	1.48	0.32	0.214	0.13
25°C						
H = 9	8400	4021	2.51	0.25	0.10	0.06
H = 12	1600	1770	1.08	0.28	0.26	0.16
28°C						
H = 9	5420	6001	3.75	0.39	0.11	0.07
H = 12	960	1392	0.80	0.34	0.43	0.26
30°C						
H = 9	3400	6119	3.81	0.5	0.13	0.08
H = 12	710	1948	1.09	0.56	0.52	0.31

Tableau 2: *Effet de la température sur le temps de gélification (critère de Winter), la viscosité complexe, les modules et l'exposant de relaxation à $t = t_g$ pour les deux systèmes.*

V. Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié les propriétés rhéologiques de solutions alcooliques de butoxyde de titane en présence d'un ligand complexant.

Nous avons pu obtenir des informations sur l'évolution des microstructures à partir du module élastique G' et du module visqueux G'' en fonction du temps et à plusieurs fréquences.

Nous avons déterminé le temps de gélification selon le critère de Winter qui indique que les propriétés viscoélastiques de gels physiques ou chimiques sont décrites par une loi de puissance lors de la transition sol-gel.

De même nous avons calculé un exposant de relaxation Δ à partir de la dépendance en fréquence des modules. Le temps de gélification a été réduit d'un facteur 5 en faisant varier le taux d'hydrolyse de H = 9 à H = 12.

Nous avons également étudié l'influence de la température sur le processus de gélification. Une augmentation de la température conduit à une diminution très nette du temps de gélification.

Enfin nous avons déterminé une énergie apparente d'activation (autour de 120 kJmol⁻¹) de la réaction de réticulation à partir des variations du temps de gélification en fonction de la température. Cette énergie d'activation semble être indépendante du taux d'hydrolyse.

Références:

- [1] C.J. Brinker and G.W. Scherrer, *Sol Gel Science, the Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press. San Diego, 1990.
- [2] J. Livage, M. Henry and C. Sanchez, *Prog. in Solid State Chem.*, 18 (1988) 259.
- [3] M. Kallala, C. Sanchez and B. Cabanne, *Phys. Rev. E*, 48 (5) (1993) 3692.
- [4] H.H. Winter and F. Chambon, *J. Rheol.*, 30 (1986) 367.
- [5] M.D. Sacks, and R.S. Sheu, *J. Non-Cryst. Solids*, 92 (1987) 383.
- [6] S. Khan, R. Prudhomme, E. Rabinovich and M.J. Sammon, *J. Non-Cryst. Solids*, 110 (1989) 153.
- [7] D.F. Hodgson and E.J. Amis, *Macromolecules*, 23 (1990) 2512.
- [8] J. Scanlan and H.H. Winter, *Macromolecules*, 24 (1991) 47.
- [9] C.J. Rueb and C.F. Zukoski, *J. Rheol.*, 41 (1997) 197.
- [10] P. Agren and J.B. Rosenholm, *J. Colloid. Interface Sci.*, 204 (1998) 45.
- [11] M. Jokinen, E. Gyrovary and J.B. Rosenholm, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 141 (1998) 205.
- [12] A. Bleuzen, S. Barboux-Doeuff, P. Flaud and C. Sanchez, *Mat. Res. Bull.*, 29 (1994) 1223.
- [13] E. Rudé, J. Lhorens and C. Mans, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 119 (1996) 57.
- [14] M. In and R.K. Prud'homme, *Rheol. Acta*, 32 (1993) 556.
- [15] S. Sakka and K. Kamiya, *J. Non-Cryst. Solids*, 48 (1982) 31.
- [16] O. Kinouchi Filho and M.A. Aegerter, *J. Non-Cryst. Solids*, 105 (1988) 191.
- [17] C.Y.M. Tung and P.J. Dynes, *J. Appl. Polym. Sci.*, 27 (1982) 569.
- [18] K.E. Brahmi, J. François and D. Dupuis, *Rheol. Acta*, 34 (1995) 86.
- [19] R. Muller, E. Gerard, P. Dugand, P. Rempp and Y. Gnanou, *Macromolecules*, 24 (1991) 1321.
- [20] F. Chambon and H.H. Winter, *J. Rheol.*, 31(8) (1987) 683.
- [21] A. Izuka, H.H. Winter and T. Hashimoto, *Macromolecules*, 25 (1992) 2422.
- [22] C. Michon, G. Cuvelier and B. Launay, *Rheol. Acta*, 32 (1993) 94.
- [23] A. Koike, N. Nemoto, Y. Watanabe and K. Osaki, *Polymer J.*, 28 (11) (1996) 942.
- [24] S.R. Raghavan, L.A. Chen, C. Mc Dowell and S.A. Khan, *Polymer*, 37 (26) (1996) 5869.
- [25] M. Muthukumar, *Macromolecules*, 22 (1989) 4656.
- [26] P. Audebert, P. Griesmar, P. Hapiot and C. Sanchez, *J. Mat. Chem.*, 2 (12), (1992) 1293
- [27] O. Van Cantfort, A. Brasseur, B. Michaux, R. Pirard and J.P. Pirard, *Faraday Discuss.*, (1995) 101.

ETUDE DU VIEILLISSEMENT DU BLE ET DE LA FARINE PAR LE SUIVI DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES DES PÂTES

J. Scher*, P. Couchot**, D. et K. Le Quoc**, V. Morinière** et A. Foissy**

* Laboratoire de Physicochimie et Génie Alimentaires
ENSAIA- 2, avenue de la Forêt de la Haye
54500 VANDOEUVRE LES NANCY

** Laboratoire d'Electrochimie et des Systèmes Microdispersés
La Bouloie- 16, Route de Gray
25030 BESANCON Cedex

Résumé :

L'étude du vieillissement d'un lot de blé est effectuée en suivant les propriétés rhéologiques des pâtes élaborées à partir des farines issues de moutures réalisées à différents temps après la récolte.

En suivant les propriétés rhéologiques de différentes pâtes élaborées à différents moments à partir de la mouture d'une farine donnée, on peut également évaluer le vieillissement d'une farine.

Les méthodes rhéologiques utilisées sont :

- les doubles compressions lubrifiée, non lubrifiée et confinée
- l'extrusion capillaire
- la rhéologie oscillatoire

Parallèlement, ces études de vieillissement des blés et des farines sont complétées par des analyses biochimiques, des estimations d'alvéosité et de fermeté d'une mie de pain fabriquée à partir de la farine.

Deux types de farine sont utilisés :

- la variété T55 Pâtissière
- la variété T65 Boulangère (avec ajout d'antioxydant, de gluten et de farine de malt)

1) Introduction

Le stockage des blés durant plusieurs mois est une pratique courante. Sa nécessité vient du décalage entre leur production saisonnière et leur utilisation dans la meunerie tout au long de l'année.

Ce stockage peut entraîner des altérations qui sont la conséquence de réactions biochimiques catalysées par les enzymes. Cette activité enzymatique peut être celle de microorganismes ou provenir de grains de blé eux-mêmes [1]. Elle peut entraîner des altérations préjudiciables.

Cependant selon GODON [2], un stockage de quelques mois dans les conditions ambiantes améliore la valeur de l'utilisation en donnant un meilleur équilibre des protéines du gluten [2].

Cet auteur a observé en effet une augmentation du W alvéographique et un renforcement de la tenacité P pendant la première année de stockage.

Ces grandeurs sont mesurées sur un alvéographe de CHOPIN à partir de farines issues de moutures à différents temps après la récolte du blé.

Le vieillissement des farines elles mêmes , après mouture, a été l'objet de nombreuses études [3 à 12]. Il se déroule en trois étapes : libération d'acides linoléiques et linoléniques par une activité lipasique, formation à partir de ces acides gras d'hydroperoxydes et oxydation des thiols par ces peroxydes. L'oxydation des thiols génère alors des modifications du réseau protéique.

Il est à noter que les études ont été principalement menées lors du stockage de la farine à long terme et ne se sont pas intéressés aux jours suivant immédiatement la mouture.

De plus, les outils rhéologiques qui suivent le vieillissement des blés ou des farines (par l'intermédiaire des pâtes) se limitent essentiellement, à notre connaissance, à l'alvéographe de CHOPIN.

Dans le présent travail, nous suivons ce vieillissement en utilisant d'autres techniques rhéologiques que nous comparons les unes aux autres, en particulier de point de vue de la répétabilité des résultats.

Parallèlement, ces études de vieillissement des blés et des farines seront complétées par des analyses biochimiques (teneur en peroxyde, teneur en thiols solubles et en glutathion) et par des études sur les propriétés sensorielles d'une série de pains fabriqués à partir de la farine.

2) Echantillons étudiés

Le blé étudié a été cultivé dans la Meuse. Il a été récolté en août 1997 et stocké en silos sans précautions particulières.

Différentes moutures sont effectuées sur trois lots de ce blé.

- Lot 1 : le 2 mars 98 soit 7 mois après la récolte
- Lot 2 : le 20 avril 98 soit 8 mois ½ après la récolte
- Lot 3 : le 8 juin 98 soit 10 mois après la récolte

Un quatrième lot (lot 4) a été broyé le 21 septembre 98. Ce lot, annoncé pour être de la même provenance que les autres, est, comme nous le verrons, issu d'un blé différent.

Pour tous ces lots de blé, 2 types de farines sont issus de chaque mouture :

- Type T55 sans ajout et couramment utilisé en pâtisserie
- Type T65 avec addition de gluten, d'acide ascorbique, de farine de malt et couramment utilisé en boulangerie

Durant le temps de l'étude, les farines sont stockées dans une salle à une température de 20°C où elles vieillissent.

3) Techniques expérimentales et modes opératoires

Le mode de préparation de la pâte à partir de différentes farines, suit un protocole standard [19] : un mélange eau salée -farine est pétri sept minutes au pétrin de l'alvéographe de CHOPIN.

* Etudes rhéologiques :

Nous avons mis en place des méthodes de compression en s'inspirant des travaux de BARTOLUCCI [13] et de WANG [14] et une méthode d'extrusion capillaire s'appuyant sur le travail de SANCHEZ [15].

Ces méthodes sont menées en utilisant une machine universelle INSTRON 1122.

Le principe des mesures rhéologiques de compression est schématisé figure 1.

Le module de compression est amené à la surface de l'échantillon et la force nécessaire pour obtenir une déformation imposée est mesurée.

Ensuite une relaxation de 45 secondes est programmée. Puis l'échantillon subit un second cycle compression-relaxation.

Trois types de compressions sont étudiées : la compression confinée qui oblige l'échantillon à se déformer uniquement suivant l'axe vertical, la compression lubrifiée qui permet à l'échantillon de se déformer latéralement et verticalement et la compression non lubrifiée qui tend à limiter la déformation horizontale.

Les paramètres expérimentaux des différentes compressions sont résumés dans le tableau I et les profils obtenus sont schématisés sur la figure 2.

- CF_1 peut être corrélé à la dureté.
- R_1 peut refléter la viscoélasticité
- S_1 peut indiquer l'adhésivité de la pâte.
- A_2/A_1 peut être corrélé à la cohésion de la pâte.

Le principe de mesure d'extrusion capillaire est schématisé sur la figure 3.

L'échantillon de diamètre 38 mm et 40 mm d'épaisseur (4 pâtons de 10 mm) passe au travers d'un capillaire de diamètre 3 mm de diamètre et de 50 mm de longueur.

La vitesse de la traverse est de 10 mm/minute et le capteur de force est de 1000 N.

Le profil obtenu est représenté figure 4.

Les grandeurs mesurées sont :

- EF_1 qui correspond à l'extrusion du au premier pâton
- EP qui correspond à la vitesse d'extrusion

Les mesures en rhéologie oscillatoire ont été faites à l'aide du rhéomètre CARRIMED CSL 50 à contrainte imposée sur un pâton de 500 mg environ. La géométrie utilisée est un cône-plan de diamètre 2 cm avec un angle de 2° et un entrefer de 200 microns.

La fréquence de mesure est de 5 Hz pour une contrainte de 1430 Pa. La réponse en déformation est parfaitement sinusoïdale, indiquant que nous sommes dans le domaine viscoélastique linéaire de la pâte (nous savons que la rhéologie d'une pâte peut être décrite par le modèle de BUERGER [16]).

Les grandeurs mesurées sont les modules d'élasticité G' , le module visqueux G'' et la tangente de l'angle de perte φ ($\tan\varphi = G''/G'$).

Enfin l'alvéographe de CHOPIN est un rhéomètre empirique très utilisé en meunerie : de l'air est insufflé à débit constant sur un disque de pâte. Au début, celui-ci résiste ; il en découle une forte pression . Puis une bulle se forme. Le disque de pâte gonfle et enfin la bulle

éclate. L'évolution de la pression à l'intérieur de la bulle est enregistrée au cours du temps (figure 5).

- P_{max} est la résistance maximale de la pâte à la déformation. Elle est caractéristique de la viscoélasticité (tenacité) de la pâte.
- L correspond à la rupture de la bulle et correspond à l'extensibilité.
- L'aire W représente le travail nécessaire à la déformation de la pâte.
- P_{200} est une valeur de la pression qui correspond à un volume d'air insufflé dans 200 cm^3 .
- Le rapport P_{max}/L représente le rapport tenacité/extensibilité.
- La grandeur I_e est égale au rapport P_{max}/P_{200} .

* Dosages biochimiques

Pour doser les peroxydes, les lipides sont extraits à température ambiante par de l'éther de pétrole dans un appareil SOHXLET pendant six heures. Au préalable, la farine est chauffée à 65°C pendant 15 mn de façon à inactiver la lipoxygénase.

Les lipides extraits sont solubilisés dans du cyclohexane. Les peroxydes sont dosés par spectrométrie UV à $\lambda = 232 \text{ nm}$.

Le dosage des thiols est effectué à partir d'échantillon de farine mise en suspension dans une solution de NaCl à 29 g/l à raison de 0.2 g de farine par ml de liquide. Les analyses sont effectuées sur le surnageant de centrifugation à 15000 g pendant 5 minutes.

Les thiols totaux solubles sont dosés suivant une adaptation de la méthode d'ELLMAN [17]. Le dosage des thiols de faible masse molaire non protéiques XSH (glutathion, cystéine) est réalisé suivant la même méthode en précipitant les protéines par l'acide sulfosalicylique 2 M et centrifugation à 15000 g.

La quantification des thiols des protéines solubles PrSH est obtenue par la différence entre la quantité de thiols totaux et la quantité de thiols appartenant aux molécules XSH de petite masse molaire.

Le glutathion total est dosé par la méthode de TIETZE [18].

* Analyse sensorielle

L'analyse organoleptique du pain, fabriqué à partir de farine suivant une recette standard [19] est effectuée par un jury de dix membres. Deux paramètres ont été essentiellement retenus : l'alvéosité et la fermeté de la mie de pain.

4) Résultats et interprétations

* Répétabilité des mesures de rhéologie

Pour chaque mesure de rhéologie, trois mesures sont faites à partir de 3 pâtons différents issus de la même pâte fabriquée au pétrin de l'alvéographe de CHOPIN.

Le tableau II donne le coefficient de variation des grandeurs pour chaque méthode.

L'origine de la grande différence de répétabilité entre les doubles compression lubrifiées et non lubrifiées peut provenir de la présence de l'huile de vaseline qui permet une déformation latérale plus ou moins grande d'un échantillon à un autre.

En ce qui concerne la rhéologie oscillatoire, les grandes dispersions de valeurs de G' et G'' proviennent certainement de l'inhomogénéité de la pâte d'un endroit par rapport à un autre très proche (variation de la quantité d'eau). Les prises d'échantillon pour l'étude en rhéologie oscillatoire sont de 500 mg contre 15 g environ en compression non lubrifiée. Dans ce dernier cas, les effets des variations locales de la teneur en eau sont "moyennés et gommés". Les valeurs de $tg\phi = G''/G'$ sont beaucoup moins dispersées, ce qui confirmerait cette hypothèse.

En conclusion de cette étude, nous porterons notre attention sur les grandeurs rhéologiques CF_1 , A_2/A_1 (en compression non lubrifiée) et $tg\phi$ (en rhéologie oscillatoire) qui sont les plus reproductibles. Nous les comparerons entre elles et aux résultats des analyses biochimiques.

* Etude du vieillissement des blés et des farines

L'examen de la figure 6 indique :

- une augmentation de CF_1 (dureté) de la pâte à mesure que le blé vieillit.
- une tendance à l'augmentation de la dureté de la pâte à mesure que la farine vieillit au cours des trois premières semaines. Elle est lente pour le lot 1, plus rapide pour les lots 2 et 3.
- une dureté plus forte pour les farines T65 (avec ajout d'acide ascorbique, de gluten...), que pour les T55 surtout les premiers jours après la mouture.

Ces variations peuvent être facilement corrélées avec celles de $tg\phi$ pour le vieillissement des farines T55 et T65 du lot 3 sur 3 semaines (figure 7): diminution de la part visqueuse du comportement viscoélastique des pâtes au cours du temps, différence notable de $tg\phi$ au départ s'amenuisant au cours du temps pour les 2 types de farine.

D'autre part il y a diminution de $tg\phi$ à mesure que le blé vieillit (figure 8) à même temps de stockage de la farine après la mouture (4 mois). L'effet des additifs est sensible encore sur le lot 1 alors qu'il ne l'est plus sur les lots 2 et 3.

L'examen de la variation des grandeurs rhéologiques notées sur le tableau III va dans le même sens. Plus le blé vieillit (lot 1, lot 2, lot 3) plus la pâte devient dure (augmentation de G et G') et plus il y a diminution de la part visqueuse du comportement viscoélastique ($tg\phi$ baisse).

Sur ce même tableau III, nous avons porté, en face des G' , G'' , $tg\phi$ des farines T55 et T65 des 4 lots de blé (le temps indiqué est celui de la vie de la farine après la mouture), les quantités de thiols solubles (XSH et PrSH).

Nous remarquons qu'à des valeurs élevées de G' et G'' et des valeurs relativement faibles de $tg\phi$ correspondent des quantités de thiols XSH et Pr SH faible.

Cette corrélation paraît logique. Plus la quantité de XSH est faible, moins la dégradation des gluténines par destruction des ponts disulfures intercaténaux et celle des gliadines par destruction des ponts disulfures intracaténaux selon le schéma de la figure 14 est possible [12, 20 à 23]. Et la part visqueuse du comportement rhéologique (viscosité due essentiellement aux gliadines) diminue au profit de la part élastique (élasticité due essentiellement aux glutenines).

Remarque :

Les valeurs faibles de G' , G'' , et relativement élevées de $tg\phi$ du lot 4 par rapport à celles des lots 1, 2, 3 montrent manifestement qu'il ne s'agit pas du même blé. Ce lot 4 s'est révélé être de très mauvaise qualité pour la fabrication du pain et de pâtisseries. Les faibles valeurs de G' , G'' , et la valeur relativement forte de $tg\phi$ sont la signature de cette mauvaise qualité. Le blé correspondant à ce lot 4 est certainement un très jeune blé chargé au dessus du silo en août 98, et parvenu en bas de ce dernier, à cause du phénomène d'inversion bien connu, au moment de la mouture (fin septembre 1998).

La maturation plus rapide de la farine dans le cas d'un blé plus vieux peut être due à la présence d'acide linoléique libéré durant le stockage du blé. Elle supprime l'étape de lipolyse nécessaire dans le processus d'oxydation du glutathion. MARTINEZ-ANAYA et JIMENEZ [24] indiquent qu'une pâte supplémentée en lipases donne un réseau gluténique plus fort, ce qui conforte l'hypothèse du rôle joué par les lipases lors du stockage du blé.

La cohésion des pâtes (figure 9) mesurée par le rapport A2/A1 en compression non lubrifiée semble meilleure pour les T65 que pour les T55. Cependant on ne note pas d'augmentation de la cohésion à mesure que le blé vieillit.

Les valeurs de EF1 ne semblent pas meilleures pour les farines T65 que pour la T55 (figure 10). Les variations de ce paramètre au cours du vieillissement des farines sur 3 semaines ne trouve pas d'explication.

Ces observations confirment les résultats de MAIR et GROSH [25], BERLAND [26], ARMERO et CONCEPTION [27] qui indiquent que la maturation d'une farine comprenant des additifs diffère de celle qui en est dépourvue. Selon ces auteurs, c'est l'addition de gluten et d'acide ascorbique qui modifie les propriétés rhéologiques de la pâte en augmentant sa dureté et sa texture.

La baisse de la teneur en peroxydes (figure 11) peut être corrélée avec l'augmentation de la dureté (CF1) de la pâte et la baisse de $tg\phi$ de la pâte.

Ainsi nous pouvons penser que la réduction des peroxydes en produits d'oxydation secondaires permet parallèlement l'oxydation de petits peptides thiolés, très mobiles (glutathion par exemple) lesquels ne peuvent plus dégrader les ponts disulfures

intercaténaire des gluténines ou intracaténaire des gliadines [12,20 à 23] selon le schéma de la figure 14.

Les études de l'alvéosité et de la fermeté d'une mie de pain, fabriqué à partir des farines T55 et T65 du lot 3 au cours des 3 premières semaines après la mouture (figure 12) indiquent une alvéosité identique et décroissante au cours du temps. Les additifs de la T65 n'ont donc aucun effet sur ce paramètre. Par contre ceux ci entraînent un renforcement de la fermeté de la mie de pain, qui atteint très rapidement, pour la T65, une valeur plateau, vers laquelle tend celle correspondant à la T55.

La baisse globale d'alvéosité peut être due à l'augmentation de la dureté de la pâte, qui a pour effet de diminuer la taille des alvéoles. La pâte issue de la T65 étant plus dure dès les premiers jours après la mouture que celle de la T55, l'alvéosité devrait être plus faible. Cependant la T65 est adjuvantée en farines de malt, riche en amylases, ce qui favorise dans la pâte la production de CO₂ et des alvéoles. Les deux effets se compenseraient.

La plus grande fermeté de la mie de la T65 dès les premiers jours proviendrait de la plus grande dureté de la pâte correspondante.

Enfin la teneur en glutathion total (oxydés GSSG et réduits GSH) des farines T55 et T65 après la mouture est représentée figure 13. Elle indique :

- une diminution de la concentration en glutathion total pour la T65 les 15 premiers jours après la mouture
- une valeur quasi constante de cette concentration pour la T55 pendant le même laps de temps
- des teneurs qui tendent vers la même valeur pour les deux types de farines 3 mois après la mouture.

La corrélation est facile à faire entre la baisse des teneurs en glutathion totaux de la T65, et l'augmentation de la dureté, la baisse de $tg\phi$ de la pâte correspondante, plus rapide juste après la mouture pour cette farine que pour la T55.

Si elle a été expliquée, il est difficile cependant de voir l'origine de l'influence des additifs présents dans la T65 sur la baisse des concentrations en glutathion.

5) Conclusions

Ce travail portant sur le vieillissement des blés (au travers de leur farines) en étudiant les propriétés rhéologiques des pâtes issues de ces farines a montré une augmentation de la dureté de la pâte à mesure que le blé vieillit. La part élastique du comportement viscoélastique des pâtes augmente au détriment de la part visqueuse ($tg\phi$ diminue).

La même constatation peut être faite en étudiant le vieillissement de la farine. Pendant le régime transitoire (15 premiers jours après la mouture) la dureté et la part élastique du comportement viscoélastique de la pâte sont meilleures pour la farine adjuvantée (T65) que pour la non adjuvantée (T55). Ensuite la différence s'amenuise.

La corrélation entre ces grandeurs rhéologiques et le taux de thiols solubles, de glutathions totaux et de peroxydes a été établie. L'oxydation des glutathions et des thiols de petite taille, très mobiles, empêche l'attaque des ponts disulfure intercaténaux dans les gluténines et intracaténaux dans les gliadines et a pour effet d'augmenter la part élastique du comportement viscoélastique des pâtes.

Nous remercions :

- Les CRITT de LORRAINE (ARILEST), de FRANCHE-COMTE (ARITT) et leurs responsables : M. CLAUSS et M. VOIRIN.
- Les Moulins Hubert NICOLAS (55) et M. SALTEL
- Les établissements Patrick RAULET (39) et M. LENOBLE qui, dans le cadre du projet RAGE-CEREALES, ont participé très activement à ce travail.

Bibliographie

- 1 DRAPON R., POTUS J. Industries des Céréales 65, 9-13 (1990)
- 2 GODON B. Résultats inédits sur des essais effectués en 1968.
- 3 LOEB J. Etude des phénomènes diastatiques dans les farines de froment et contribution à l'étude des fermentations panaires. Thèse Univ. Strasbourg 1930.
- 4 POISSON J., GUILBOT A. Ann. Technol. Agric. 63-85 (1957).
- 5 SOSEDOV N.I., GORELOVA E.I. Appl. Biokhim Mikrobiol. S.S.R. 3 (1) 5-91 (1967).
- 6 DANIELS N.W.R., WOOD P.S. J. Sc. Food Agric. 21 (7), 277-381 (1970).
- 7 YONEYAMA T., SUZUKI I. Cereal Chem. 47 (1), 19-26 (1970).
- 8 DRAPON R., UZZAN A. Ann. Technol. Agric. 18 (1), 407-408 (1968).
- 9 NICOLAS J., LAUNAY B. Bull. Ec. Fr. Meun 287, 247-282 (1978).
- 10 WARWICK M.J., SHEARER G., J. Sc. Food Agric. 31, 316-318 (1980).
- 11 BELLANGER P., GODON B. Ann. Technol. Agric. 21 (2), 145-161 (1972).
- 12 EWART J.A.D., Food Chem. 28, 207-218 (1988).
- 13 BARTOLUCI J.C. Comportement rhéologique des pâtes et qualité des farines de blé tendre français en panification et biscuiterie. Thèse Univ. Paris VII et XI, ENSAIA.
- 14 WANG S.M., WATT B.M., LUKOW O.M., SCHLICHTING L., BUSUHK W. Cereal Chem. 73 (4), 445-451 (1996).
- 15 SANCHEZ C., HARDY J. Sc. des Alim. 13, 611-628 (1993).
- 16 LERCHENTHAL C.H., MULLER H.G. Cereal Sc. Today 12, 185-187, 190-192 (1967).
- 17 ELLMAN G.L. Arch. Biochem. Biophys. 82 70 (1959).
- 18 TIETZE F. Anal. Biochem. 27, 502-522 (1969).
- 19 RIFFIOD M. Caractérisation de la qualité des farines de blé par la mesure des propriétés rhéologiques des pâtes. DEA ENSAIA Nancy 1998
- 20 BLOKSMA A.H. Cereal Chem. 52, 170-183 (1975).
- 21 JONES I.K., PHILIPS J.W., HIRD F.J.R. J. Sc. Food Agric. 25, 1-10 (1974).
- 22 BLOKSMA A.H. Cereal Chem. 49 104-118 (1972).

- 23 VILLEGAS E., POMERANZ Y., SCHELLENBERGER J.A. Cereal Chem. 40, 694-703 (1963).
- 24 MARTINEZ-ANAYA A., JIMENEZ T. J. of Text. Stud. 28 569-583 (1990).
- 25 MAIR G., GROSH W. J. of Sc. of Food Agric. 30, 914-920 (1979).
- 26 BERLAN S. Cereal Chem. 72 (1), 48-52 (1995).
- 27 ARMERO A., CONCEPTION C. Zeit.für Lebens 204 (2) 136-145 (1997).

	Technique utilisée	% de compression	Vitesse traverse	Capteur force	φ échantillon (mm)	épaisseur (mm)
Compression lubrifiée	Lubrification à l'huile de vaseline de l'échantillon, du support et du module	50	100 mm/mn	1000 N	38	10
Compression non lubrifiée	L'échantillon est placé entre deux feuilles de papier de verre	50	100 mm/mn	1000 N	38	10
Compression confinée	L'échantillon est confiné dans son emporte pièce	25	100 mm/mn	5000 N	38	7

Tableau I Paramètres expérimentaux des différentes compressions

Methodes	Paramètres	Coefficient de variation (%)
Alveogranhe de CHOPIN	P max	10
	L	17
	W	9
	P ₂₀₀	12
	P max/L	9
	Ie	12
Double compression lubrifiée	CE ₁	7
	R ₁	6
	S ₁	12
	A ₂ /A ₁	6
Double compression non lubrifiée	CE ₁	4
	R ₁	5
	A ₂ /A ₁	4
Double compression confinée	CE ₁	10
	R ₁	11
	S ₁	13
	A ₂ /A ₁	11
Extrusion canillaire	EE ₁	3
	P	4
Rhéologie oscillatoire	G'	8
	G''	8
	tan φ	3

Tableau II Coefficient de variation des grandeurs déterminées par chaque méthode rhéologique

FARINES T55

	RHEOLOGIE			THIOLS SOLUBLES nmol./g de farine		
	G'	G''	Tg ϕ	Thiols solubles	X-SH	Pr-SH
Lot 4 0.5 mois	4200	3000	0.72	479	109	370
Lot 3 4 mois	17000	9100	0.54	252	44	208
Lot 2 6 mois	12000	7700	0.64	238	29	209
Lot 1 8 mois	11000	7000	0.65	221	43	178

FARINES T65

	RHEOLOGIE			THIOLS SOLUBLES nmol./g de farine		
	G'	G''	Tg ϕ	Thiols solubles	X-SH	Pr-SH
Lot 4 0.5 mois	5700	3700	0.65	453	93	359
Lot 3 4 mois	19600	11000	0.54	247	49	198
Lot 2 6 mois	12700	7700	0.60	240	40	200
Lot 1 8 mois	12200	7700	0.63	221	43	178

Tableau III Corrélation entre paramètres rhéologiques et taux de thiols solubles

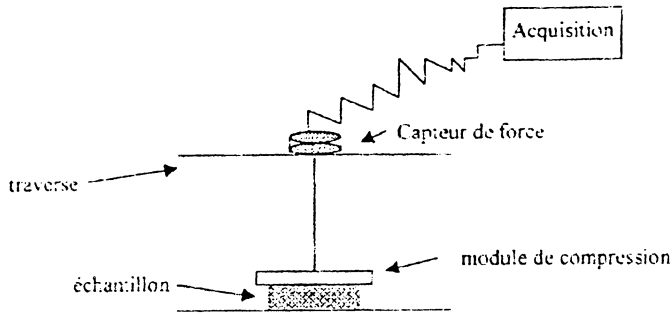


Figure 1 Principe des mesures rhéologiques de compression

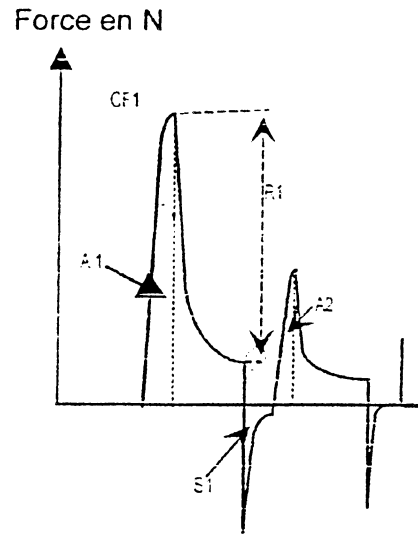


Figure 2 Profil obtenu en méthode de compression

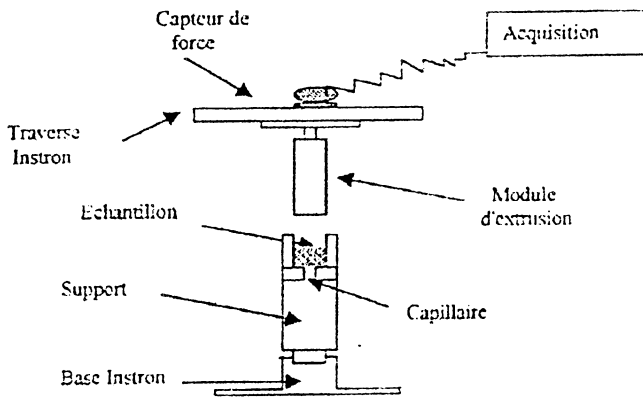


Figure 3 Principe des mesures rhéologiques en extrusion capillaire

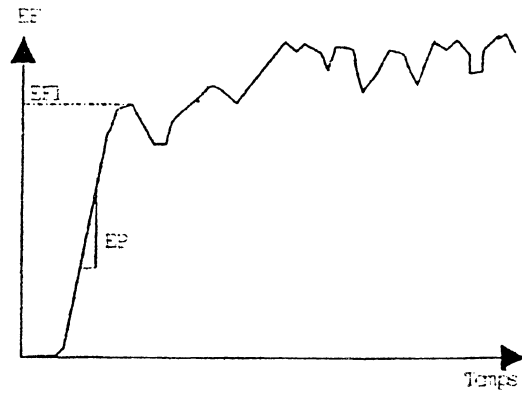


Figure 4 Profil obtenu en extrusion capillaire

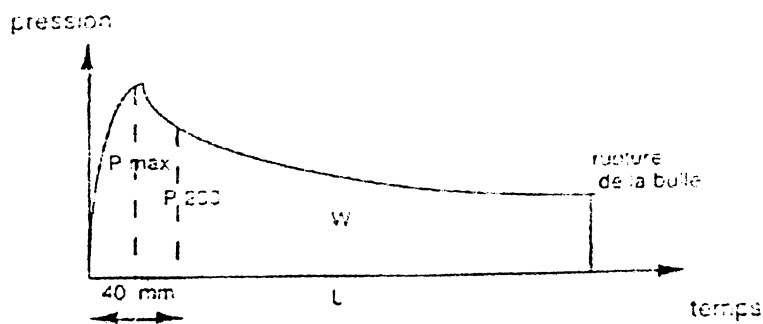


Figure 5 Profil d'un alvéogramme de CHOPIN

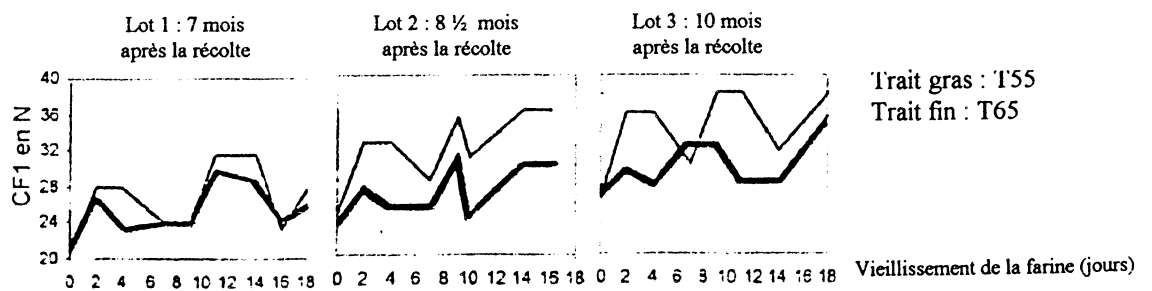


Figure 6 Influence du vieillissement du blé et de la farine sur CF1 (compression non lubrifiée)

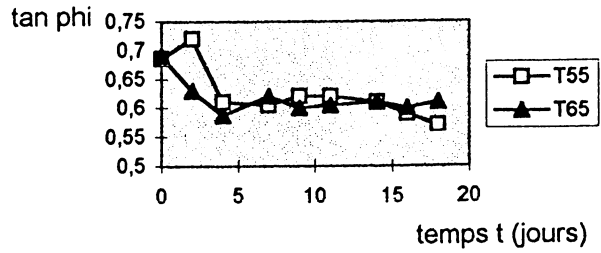


Figure 7 Evolution de tg ϕ sur trois semaines (lot 3)

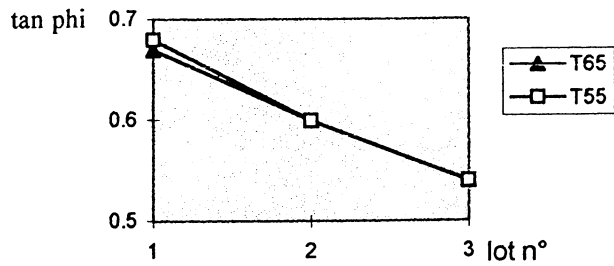


Figure 8 Evolution de tg ϕ pour chaque lot (4 mois après la mouture)

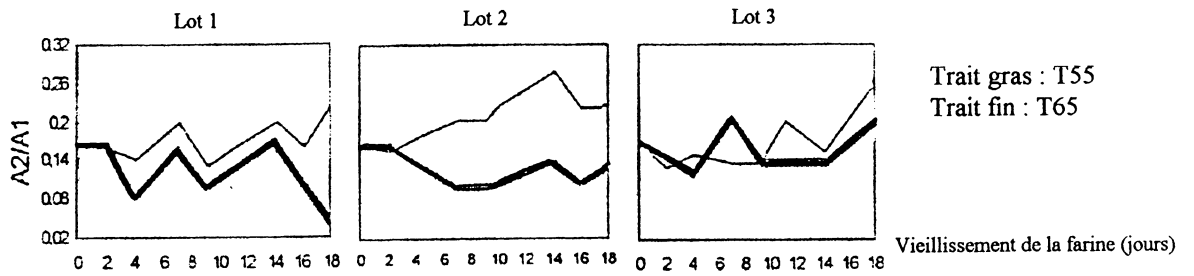


Figure 9 Influence du vieillissement du blé et de la farine sur A2/A1 (Compression non lubrifiée)

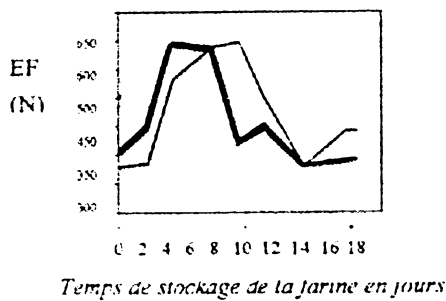


Figure 10 Influence du vieillissement de la farine sur EF (Extrusion capillaire) lot 3 - trait gras:T55, trait fin: T65

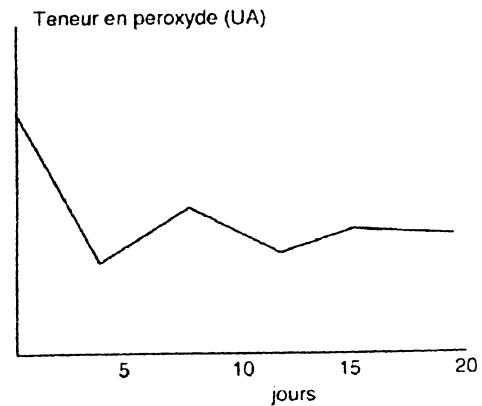


Figure 11 Evolution de la teneurs en peroxydes sur 3 semaines de vieillissement des farines (T55 lot 3)

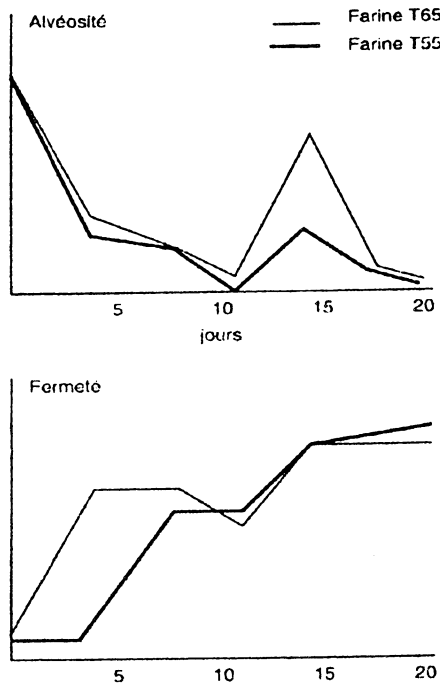


Figure 12 Evolution des paramètres sensoriels du pain en fonction du vieillissement de la farine (lot 3) sur 3 semaines

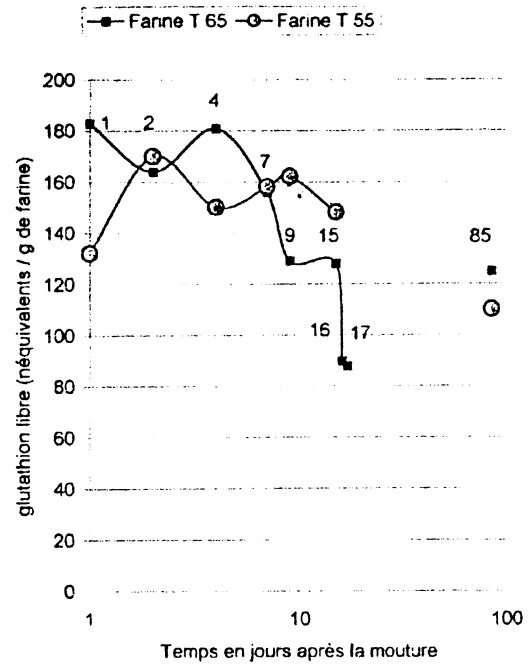


Figure 13 Variation de la teneur en glutathion dans les farines (lot 4)

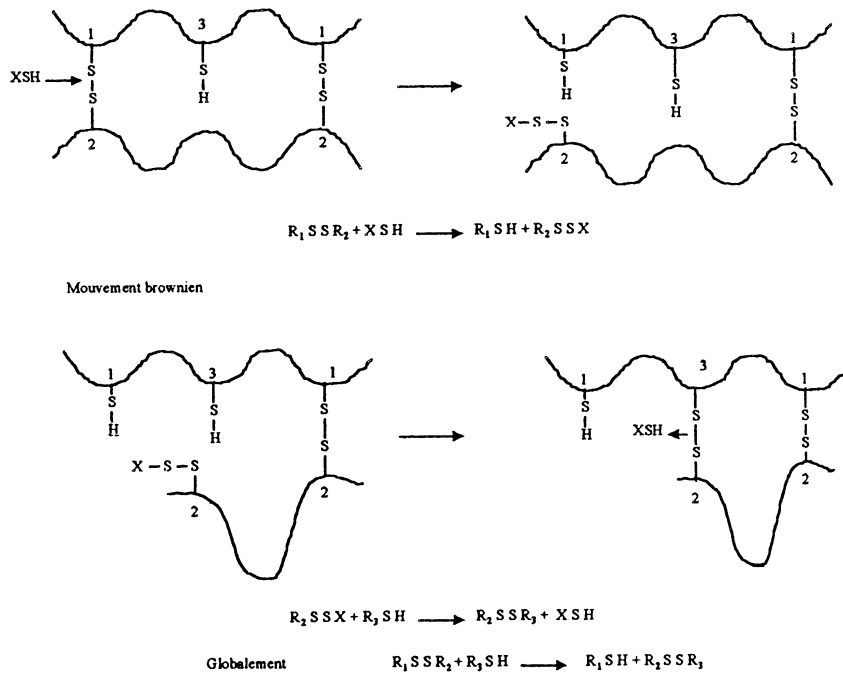


Figure 14 Schéma de l'attaque du réseau intercaténaire des gluténines ou intracaténaire des gliadines par XSH

SUIVI RHÉOLOGIQUE DE LA COAGULATION PRÉSURE DU LAIT : ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES

C. Renault¹, C. Decarreaux¹, B. Goldschmidt¹, J. Lefebvre²

1. Fromageries BEL

2. INRA de Nantes laboratoire de physico-chimie des macromolécules

Résumé :

Les méthodes rhéologiques en régime harmonique constituent une approche de base pour le suivi des propriétés viscoélastiques du lait au cours de la coagulation. Cependant, les résultats rhéologiques obtenus et la confiance que l'on peut apporter à ces résultats dépendent de différents paramètres inhérents au système de mesure mais donneraient accès à des caractéristiques physiques du gel, comme le déclenchement « spontané » de la synérèse. L'objectif de ce travail est de comparer différentes méthodes de suivi des caractéristiques viscoélastiques du lait au cours de la gélification. Il est ainsi montré l'impact des conditions de mesure à différents stades de la coagulation du lait. Aux premiers stades de l'agrégation, nous avons montré l'impact du cisaillement provoqué par un suivi à contrainte imposée et sur des stades plus avancés de la coagulation, les effets de glissement en fonction du mode de pilotage (contrainte ou déformation) ou des géométries utilisées (Couette, cône-plan).

INTRODUCTION

Le suivi de la coagulation du lait et des caractéristiques des gels formés sont importants pour la conduite d'un procédé de fabrication en technologie fromagère. Le lait est une suspension colloïdale stable qui après action d'une enzyme (la présure) va être stériquement déstabilisée et conduire à la formation d'un gel colloïdal : ce phénomène est appelé la coagulation présure du lait. Au cours du processus de coagulation, des agrégats très fragiles se forment, s'agrègent et grossissent jusqu'à former un réseau tridimensionnel de particules protéiques retenant entre ses mailles la phase liquide.

Les méthodes rhéologiques en régime harmonique constituent une approche de base pour le suivi des propriétés viscoélastiques du lait au cours de la coagulation (van Dijk 1981 ; Bohlin 1984 ; Roefs 1986 ; Dejmeke, 1987 ; Zoon et al., 1988 ; Van Vliet et al., 1989, 1991).

Il existe deux types de rhéomètres, à déformation ou à contrainte imposée, ceux du second type peuvent fonctionner en régime harmonique, soit en maintenant l'amplitude de contrainte constante (ce qui correspond au pilotage direct du rotor), soit en ajustant celle-ci par une boucle de régulation de façon à respecter une consigne pour l'amplitude de déformation qui en résulte. En principe, les deux modes sont équivalents pourvu que l'on reste dans le domaine de réponse linéaire. Mais dans la pratique, même si cette condition est respectée, il n'en est pas ainsi lorsque les modules conservatif (G') et dissipatif (G'') du système varient beaucoup au cours du temps (ou en fonction de la fréquence lorsque c'est la fréquence que l'on fait varier). Avec un rhéomètre à déformation imposée, lorsqu'on suit l'évolution d'un système tel que le lait emprésuré au cours du temps, qui passe de l'état d'un liquide newtonien purement visqueux et de faible viscosité à celui d'un gel colloïdal, le problème est que si l'on choisit une amplitude de déformation suffisante pour que la contrainte soit mesurable dès les premiers stades de la coagulation, cette amplitude sera déjà assez élevée et pourra entraîner des ruptures au sein du matériau lorsque le gel aura atteint une

fermeté suffisante. Avec un appareil à contrainte imposée en pilotage direct, ce risque n'existe pas; mais au cours de l'évolution du milieu l'amplitude de la déformation décroît évidemment et peut tomber en dessous du seuil qui permet l'obtention d'un signal analysable par l'instrument.

Nous nous intéresserons dans cette étude à un rhéomètre Haake à contrainte imposée, d'une part pour étudier la fiabilité de la régulation indirecte du rhéomètre et d'autre part pour essayer de suivre la coagulation du lait sur une plage de temps très étendue.

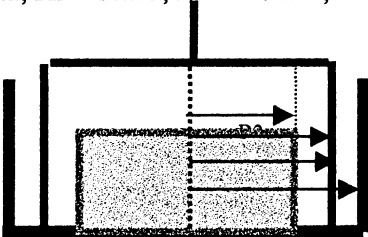
L'objectif de ce travail est de comparer différentes méthodes de suivi des caractéristiques viscoélastiques du lait au cours de la gélification, appliqué à deux types de gels très différents. Il est ainsi montré l'impact des conditions de mesure à différents stades de la coagulation du lait. Aux premiers stades de l'agrégation, nous avons étudié l'effet du cisaillement provoqué par un suivi à contrainte imposée et sur des stades plus avancés de la coagulation, les effets de glissement en fonction du mode de pilotage (contrainte ou déformation) ou de la géométrie utilisée (Couette, cône-plan).

MATERIELS ET METHODES

Caractéristiques du rhéomètre

Le rhéomètre utilisé est un viscosimètre Haake rotatif CLS 100 **qui fonctionne en contrainte imposée**. Cet appareil est aussi capable de travailler en déformation imposée (décrit en introduction). Deux types de géométrie sont utilisées : Couette double entrefer et cône-plan.

Le tableau ci-dessous donne les caractéristiques des deux types de géométrie :

<i>Géométries</i>	<i>Caractéristiques</i>
<i>Cylindre coaxiale double entrefer (DG41)</i>	R1 = 17,75mm, R2 = 18mm, R3 = 21.4mm, R4=21.65mm 
<i>Cône-plan</i>	Angle = 4°, d=35 mm, entrefer = 0.14 mm

Protocole expérimental

Le produit que nous avons utilisé pour cette étude est du lait. Quels que soient les conditions de mesure utilisées, le protocole expérimental reste le même, la seule différence étant le volume d'échantillon à mettre en place dans l'entrefer de mesure qui dépend de la géométrie de l'association rotor/stator employée. Ainsi, pour le module de type Couette, la prise d'essai est de 5ml tandis que pour la géométrie cône-plan, on utilisera un volume de 1ml.

Une enzyme coagulante (présure) est versée dans l'échantillon de lait, le mélange lait/présure est ensuite déposé dans l'entrefer de mesure. Le lait emprésuré est laissé en statique dans l'entrefer de mesure pendant des durées variables avant le déclenchement de la mesure. Deux types de gels sont étudiés, le gel « A » et « B ». Le gel « A » est un gel présure qui s'organise lentement, alors que le « B » s'organise très rapidement et présente une aptitude à expulser la phase aqueuse du lait plus tôt et de façon plus importante que le gel

« A » (appréciation visuelle). La température de coagulation est 25°C pour le gel « A » et 35°C pour le « B ».

Les conditions de mesures étudiées sont résumées dans le tableau ci-dessous. La fréquence de mesure est constante et égale à 0.1Hz dans tous les cas.

Géométrie Utilisée	Mode de pilotage de l'appareil	τ (Pa)	γ	Moment où la mesure est déclenchée (min.)	Gels étudiés
Cylindrique	Contrainte imposée	0.2		0	A et B
		0.2		15	A
		0.2		30	A
	Déformation imposée		0.02	0	A
Cône plan	Contrainte imposée	0.2		0	A et B
	Déformation imposée		0.02	0	A

RESULTATS ET DISCUSSION

1) Incidence du mode de pilotage en géométrie Couette double entrefer : Etude du gel « A »

Le processus de coagulation du lait est un processus très évolutif (réaction enzymatique) où des agrégats très fragiles se forment, s'agrègent et grossissent jusqu'à former une structure colloïdale continue formée d'un réseau tridimensionnel de particules protéiques retenant entre ses mailles la phase liquide du lait.

Pour les mesures réalisées en contrainte imposée (0.2Pa, 0.1Hz), l'amplitude de déformation au départ est importante, de l'ordre de 0.2. Déclencher les mesures 15min ou 30 min. après l'empresurage permet d'éviter de solliciter le milieu au début du processus de gélification.

Le graphique 1 représente l'évolution du module de conservation (G') du gel « A » au cours du temps, en fonction du moment de déclenchement de la mesure (0, 15 ou 30 min. après l'addition de la présure).

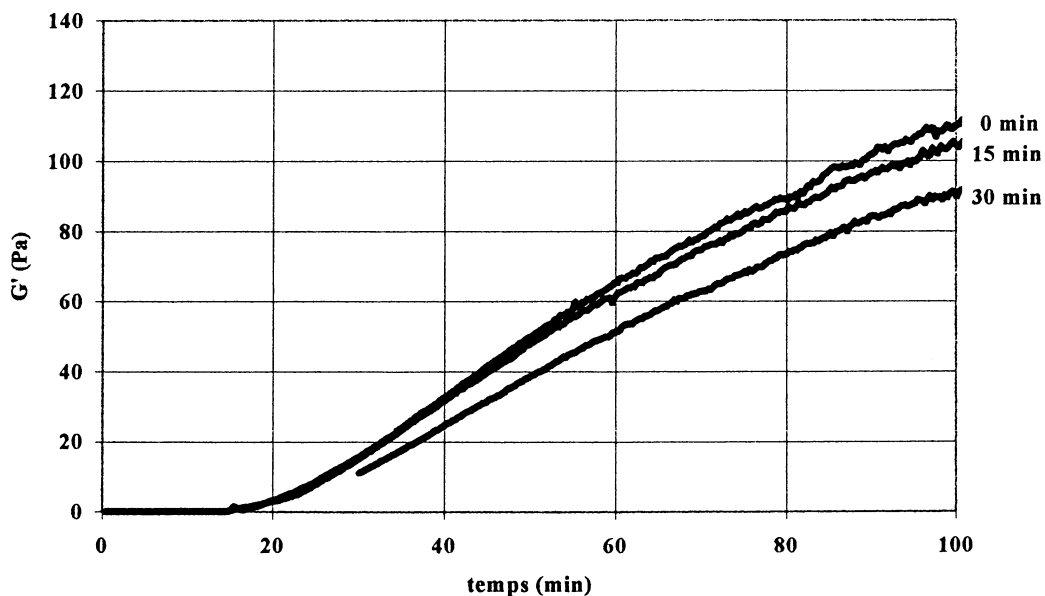


Figure 1 : Evolution du module conservatif (G') du gel « A » au cours du temps, en fonction du moment de déclenchement de la mesure (0, 15, ou 30min. après l'addition de la présure).

Les différences observées pour les mesures déclenchées immédiatement après action de la présure ou 15 min. après ne sont pas significatives. Par contre, celles observées pour les mesures déclenchées après la formation du gel ($t = 30$ min.) le sont. Le niveau de G' est donc affecté par l'oscillation initiale du rotor et ce, de façon positive. En effet, les valeurs de G' sont plus élevées si la mesure est déclenchée immédiatement après action de la présure. Pour vérifier l'incidence du mode de pilotage du rhéomètre en contrainte imposée sur la rhéologie des gels formés, nous avons réalisé des mesures avec le rhéomètre « Haake », en maintenant l'amplitude de déformation à 0,02, de façon à perturber le moins possible la formation du gel. Le graphique 2 représente l'évolution de G' pour le gel « A » pour un pilotage en contrainte ou en déformation imposée.

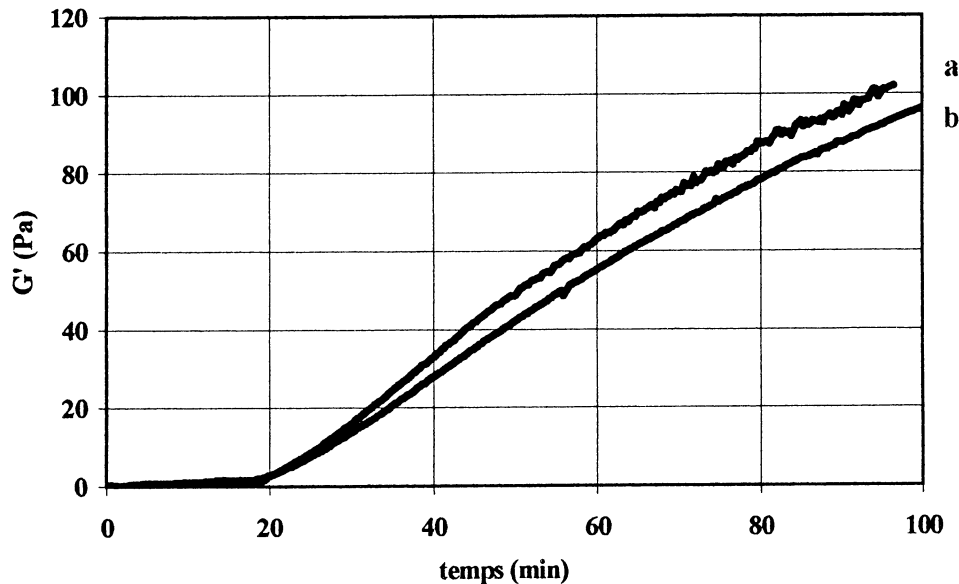


Figure 2 : Evolution du module conservatif (G') du gel « A » au cours du temps, en fonction du mode de pilotage (contrainte imposée (a) déformation imposée (b)) en géométrie Couette

L'allure des courbes de G' en fonction du temps est sensiblement identique quel que soit le mode de pilotage utilisé, avec cependant des valeurs de G' supérieures en contrainte imposée. Ces résultats confirment les précédents, à savoir, l'incidence du cisaillement du lait avant la gélification. Pour les mesures faites en contrainte imposée, l'amplitude de déformation est initialement de 0.2 pour aboutir en fin d'essai à une amplitude de 0.002. Une déformation de 0.002 est visiblement trop faible pour que le signal réponse soit significatif.

2) Incidence du mode de pilotage en géométrie Cône-plan : Etude du gel « A »

Pour suivre la coagulation du lait, des géométries de type Couette (van Dijk, 1981, Bohlin, 1984, Roefs, 1986, Dejmek, 1987, Zoon et al, 1988, van Vliet et al., 1989, 1991) sont généralement utilisées. Nous avons voulu tester une autre géométrie afin de mettre en évidence l'incidence du mode de pilotage appliqué à une autre géométrie et une éventuelle perturbation de la mesure causée par des phénomènes de fracture interne du gel, ou de glissement aux parois du système de mesure.

La géométrie Couette est généralement utilisée pour le suivi de la coagulation du lait. Par rapport à la géométrie cône-plan, elle présente l'avantage, d'une part d'un entrefer constant, que l'on peut choisir large relativement à la taille des agrégats de micelles de caséines tout en

maintenant un rapport des rayons des cylindres extérieur et intérieur suffisamment faible pour rester dans l'approximation de l'entrefer étroit, d'autre part de présenter des facteurs géométriques plus avantageux quant à la sensibilité des mesures, surtout dans le cas du double entrefer. En revanche, la géométrie cône-plan offre l'avantage d'un champ de cisaillement uniforme dans l'entrefer. Nous avons comparé les résultats obtenus avec les deux géométries dans le cas d'une gélification du type A, cette comparaison permet de mettre en évidence un phénomène qui passait inaperçu en cylindres coaxiaux.

Le graphique 3 représente l'évolution de G' et de la déformation du gel « A » pour les deux modes de pilotage, en fonction du temps.

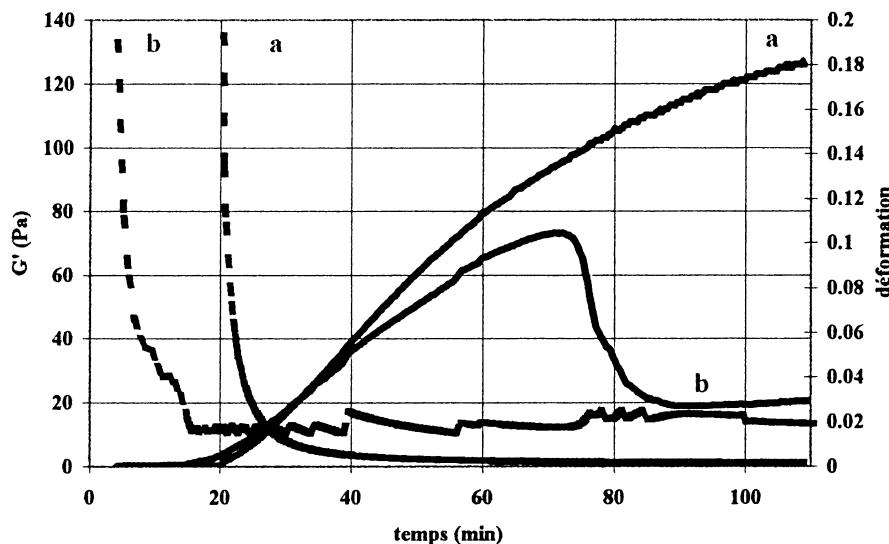


Figure 3 : Evolution de G' (—) et de la déformation (.....) du gel « A » pour les deux modes de pilotage (contrainte imposée (a) déformation imposée (b)) en géométrie cône-plan

Au démarrage dans les deux modes de pilotage, la déformation est très élevée; en mode déformation imposée, elle tombe à la valeur de consigne (0,02) dès le "décollage" de G' . En mode contrainte imposée, la chute est plus tardive mais l'amplitude de déformation devient extrêmement faible après 30 min. Dans ce dernier mode de pilotage, la courbe de G' en fonction du temps est semblable à celles obtenues en cylindres coaxiaux aussi bien en contrainte qu'en déformation imposées. Mais en mode déformation imposée, elle est complètement différente. En effet, au bout de 40 min. de coagulation, la pente de G' en fonction du temps diminue et G' chute au bout de 70 min. de coagulation. L'effondrement de G' que l'on observe peut être dû soit à la fracture du gel, soit à des glissements aux parois. La première hypothèse semble exclue, puisque en cylindres coaxiaux dans le même mode de pilotage et avec la même consigne sur l'amplitude de la déformation, la courbe de G' différerait peu de celle obtenue en contrainte imposée. La seconde, qui paraît devoir être retenue, signifie que, toutes choses égales par ailleurs, les glissements se manifestent en cône-plan et non en Couette, l'explication serait que les glissements sont liés à la synérèse et que l'effet de celle-ci se manifeste davantage en cône-plan (l'"eau" ayant tendance à exsuder à la surface supérieure). En cône-plan, la différence entre les deux modes de pilotage serait alors liée à l'amplitude de la déformation dans la zone de temps ou de module où la synérèse est susceptible de se produire, soit que sa très faible valeur en mode contrainte imposée soit

insuffisante pour entraîner la perte totale d'adhérence entre le gel et les surfaces de mesure, soit que le cisaillement favorise la synérèse.

L'hypothèse est confirmée quand on examine les résultats obtenus sur le gel "B" (figure 4), dont on sait qu'il est davantage apte à la synérèse. Dans les deux modes de pilotage, on obtient une courbe de G' en cloche. Le sommet des courbes s'observe pour un temps et une valeur de G' similaires dans les deux modes, mais beaucoup plus tôt qu'en géométrie Couette avec le mode déformation imposée.

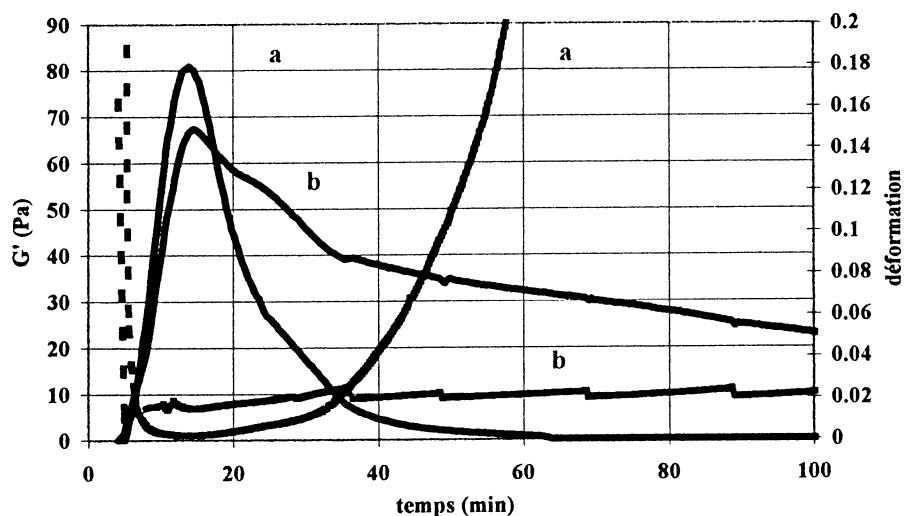


Figure 4 : Evolution de G' (—) et de la déformation (.....) du gel « B » pour les deux modes de pilotage (contrainte imposée (a) déformation imposée (b)) en géométrie cône-plan

3) Incidence de la géométrie de mesure sur le gel « B » pour un pilotage en contrainte imposée

Nous soumettons à présent un gel très favorable au déclenchement de la synérèse : le gel « B » à un pilotage en contrainte imposée, moins favorable aux glissements. Le graphique 5 représente l'évolution de G' et de la déformation du gel « B » au cours du temps, en fonction du type de géométrie pour un pilotage équivalent en contrainte imposée. Le module élastique G' passe par un maximum avec les deux types de géométrie. La chute de G' apparaît plus tôt et est plus marquée en géométrie cône plan par rapport à la géométrie cylindrique. Cela confirme le constat précédent, à savoir que les phénomènes de glissement sont plus nettement mis en évidence en géométrie cône plan. Du fait du mode de pilotage de l'appareil, on peut éliminer comme hypothèse pour cette diminution du module, les phénomènes de glissements dus à une synérèse induite par le cisaillement, et donc d'autant plus importante que l'amplitude de déformation est élevée. Donc, la chute de G' est probablement la conséquence d'un déclenchement « spontané » de la synérèse, donc due aux propriétés inhérente au gel « B ». En effet, après la formation d'un gel présure, la surface des protéines est encore active ce qui engendre la formation de nouvelles liaisons par réarrangement protéique. Cette augmentation du nombre de liaison va entraîner une tension local du réseau, d'où une rigidité accrue du gel. Dans le but d'acquérir plus de liberté de mouvement afin d'augmenter la probabilité de former d'autres liaisons, il est nécessaire que celle-ci se cassent, ce phénomène est appelé synérèse. Elle se manifeste naturellement sans qu'il y ait d'action mécanique. L'expulsion de la phase aqueuse du gel « B » apparaît 15 min. après ajout de la présure et sera détectée plus tardivement (30 min. après ajout de la présure)

en géométrie cylindrique. Cela confirme les résultats précédents, à savoir que la géométrie cylindrique peut masquer certains phénomènes de glissement ou les différer dans le temps, comme c'est probablement le cas ici.

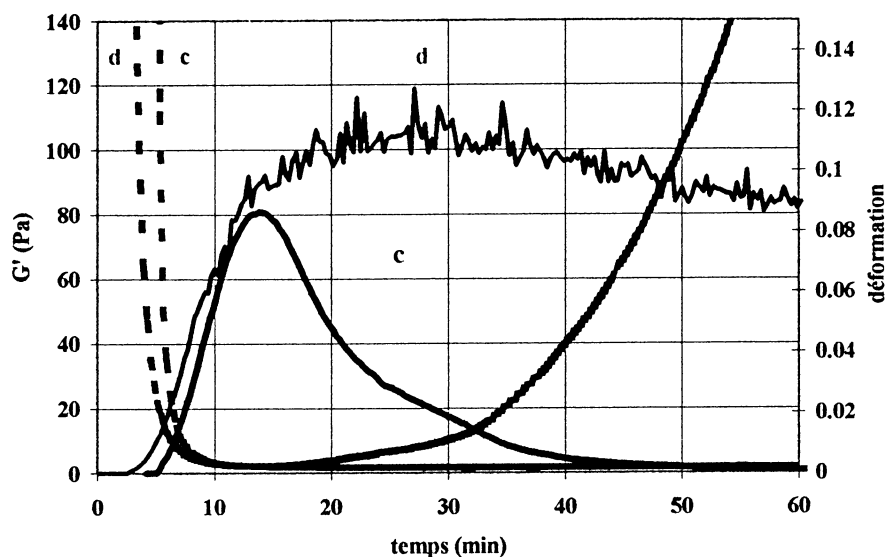


Figure 5 : Evolution de G' (—) et de la déformation (·····) du gel « B » au cours du temps, en fonction du type de géométrie (cône plan (c) Couette (d)) pour un pilotage en contrainte imposée

CONCLUSION

La caractérisation rhéologique des gels présures est assez limitée du fait de l'évolutivité permanente des caractéristiques physico-chimiques des protéines du lait au cours de la coagulation et se limite donc très souvent à un suivi d'une cinétique de coagulation. De plus, les résultats rhéologiques obtenus et la confiance que l'on peut apporter à ces résultats dépendent de différents paramètres inhérents au système de mesure (méthode et géométrie de mesure). Avec un rhéomètre à contrainte imposée, aucun des deux modes de pilotage (contrainte ou déformation imposée) n'est idéal pour suivre l'intégralité de la coagulation présure du lait. Le choix du mode de pilotage de l'appareil et/ou de la géométrie de mesure doit être fait en fonction du matériau à étudié et selon les étapes de la coagulation que l'on souhaite étudier ou des phénomènes que l'on souhaite mettre en évidence. La solution idéale avec un appareil pilotant en contrainte imposée, serait d'enchaîner des paliers de mesure, dont l'élément déclenchant le segment suivant serait une valeur de déformation limite où l'on augmenterait la valeur de la contrainte imposée. De même, si l'on pilote en déformation imposée, l'élément déclenchant le segment suivant serait une valeur de G' limite.

A l'issue de cette étude, on constate que des erreurs d'interprétation peuvent être faites pour l'étude de la coagulation du lait. L'utilisation croisée de différentes géométries de mesure avec différents modes de pilotage entraînent des artefacts et des biais de mesure mais donnent accès à des caractéristiques physiques du gel. Ainsi, nous pourrions avoir accès à un phénomène important dans le domaine laitiers qui est le déclenchement « spontanée » de la synérèse

BIBLIOGRAPHIE :

Bohlin, L., Hegg, P.O. and Ljusberg-Wahren, H. 1984. Viscoelastic properties of coagulating milk. *Journal of Dairy Science* 67 729-734

Dejmek, P. 1987. Dynamic rheology of rennet curd. *Journal of Dairy Science* 70 1325-1330

Roefs, S.P.F.M. 1986. Structure of acid casein gels. Ph. D. Thèse. Wageningen Agricultural University, Wageningen. Pays Bas.

Van Dijk, 1981. The syneresis of curd. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

Van Vliet, T.V., van Dijk, H.J.M., Zoon, P. and Walstra, P. 1989. Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. *Colloids and Polymer Science* 269 620-627

Van Vliet, T.V., Roefs, S.P.F.M., Zoon, P. and Walstra, P. 1991. Rheological properties of acid casein gels. *Journal of Dairy Research* 56 529-534

Zoon, P., van Vliet, T. and Walstra, P. 1988. Rheological properties of rennet-induced skim milk gels. 1. Introduction. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 42 249-269

ETUDE CINÉTIQUE DE LA GÉLIFICATION ENZYMATIQUE DU LAIT

B. Launay

ENSIA, Dept Science de l'Aliment, 1 av. des Olympiades, 91744 Massy Cedex (F)

RÉSUMÉ

Le suivi de la prise en gel du lait sous l'action d'une enzyme spécifique (la chymosine) peut être réalisé par la mesure au cours du temps du module complexe en cisaillement ou par compression à faible déformation en milieu semi-infini. Les deux techniques permettent de détecter la transition sol-gel lorsque G' ou le module d'Young deviennent mesurables et elles fournissent des valeurs très proches du temps critique correspondant. Ce temps diverge à l'infini aux plus faibles concentrations en lait où les agrégats de micelles de caséine ne peuvent plus percoler, passe par un minimum puis croît proportionnellement à la concentration. Un modèle semi-empirique simple est proposé pour décrire l'évolution de $E(t)$ depuis $E = 0$ (temps critique) jusqu'à sa valeur asymptotique. Il est basé sur l'intervention de deux mécanismes couplés en début de gélification : l'hydrolyse enzymatique de la caséine kappa des micelles suivie de l'agrégation des micelles dénudées, seul ce dernier mécanisme continuant à opérer au-delà d'un certain temps. Les deux cinétiques sont supposées être du 1er ordre, avec des constantes de vitesse k_1 et k_2 , respectivement. En faisant varier la teneur en enzyme on observe que k_2 ne dépend pas de celle-ci, alors que k_1 lui est directement proportionnelle, comme attendu. La constante de vitesse k_1 est calculée en faisant l'hypothèse que la même cinétique de coagulation s'applique aux temps courts, lorsque les deux mécanismes agissent de manière couplée, ce qui tend à confirmer la validité du modèle. Cependant, la signification d'une constante de vitesse du 1er ordre pour décrire la phase d'agrégation pose question.

INTRODUCTION

La formation à partir du lait d'un gel physique par l'action de la présure représente la première étape, essentielle, de la technologie fromagère. Le choix du moment où l'on effectue le découpage du gel ("décaillage") est très important car on sait que la taille des grains de caillé, le rendement final, lié à la perte des trop petits agrégats, et la synérèse, notamment, dépendent de ce choix (Guinée *et al.*, 1994). Si la décision est encore généralement laissée à l'appréciation de "l'homme de l'art", les recherches visant à définir le moment optimum du découpage à partir de données physiques (fermeté, diffusivité thermique, vitesse des ultrasons, propriétés optiques...) sont très actives et elles ont parfois abouti à des propositions de capteurs en ligne. Quelle que soit l'approche utilisée, il est indispensable de disposer d'un modèle cinétique qui permette non seulement de suivre la structuration du gel mais qui fournisse également des paramètres d'ajustement reliés de manière claire aux mécanismes physicochimiques en cause : c'est l'un des objectifs des travaux qui ont été effectués depuis plusieurs années dans notre laboratoire.

COAGULATION ENZYMATIQUE DU LAIT

Les différentes caséines du lait sont associées dans des particules sphériques, poreuses et très hydratées, de 20 à 300 nm de diamètre. L'une de ces caséines, la forme kappa, se trouve majoritairement à la périphérie des micelles : elle est responsable de la remarquable stabilité colloïdale du lait (absence d'agrégation spontanée, résistance au chauffage). Cette stabilité est due à la présence dans la chaîne de caséine kappa d'une séquence C-terminale de 64 acides

aminés (glycomacropéptide), amphiphile et électronégative, créant autour de la micelle une couche protectrice hydrophile et chargée qui lui confère une structure de particule "chevelue". La présure contient une enzyme protéolytique, la chymosine (EC 3.4.23.4), qui, par hydrolyse spécifique de la liaison Phe 105-Met 106, supprimerait cette couche stabilisatrice et permettrait, au-delà d'une température critique d'environ 5°C, l'agrégation des micelles dénudées en un réseau tridimensionnel de plus en plus dense. Sur ces bases, diverses théories ont été avancées pour expliquer et décrire quantitativement les premières phases d'agrégation (Payens, 1989), mais elles ne rendent pas compte de l'évolution des propriétés rhéologiques du gel formé après un temps critique d'action de l'enzyme. L'existence de ce temps critique, ainsi que des approches expérimentales plus directes, ont conduit à la conclusion qu'un taux minimum d'hydrolyse enzymatique de la kappa-caséine était nécessaire pour que la coagulation débute, bien que l'estimation de ce taux varie beaucoup selon les auteurs (de 35% à plus de 90%, Payens, 1989). C'est pourquoi les cinétiques de gélification ont été décomposées en deux étapes séquentielles, l'hydrolyse enzymatique suivie de l'agrégation proprement dite, mais il est maintenant généralement admis qu'une période transitoire où ces deux phénomènes agissent simultanément existe nécessairement (Payens, 1989).

DESCRIPTION DES CINÉTIQUES DE GÉLIFICATION

Trois modèles sont classiquement utilisés pour décrire l'évolution de paramètres rhéologiques traduisant la structuration progressive du gel laitier. Ces paramètres peuvent être un module de cisaillement aux faibles déformations (Scott-Blair et Burnett, 1963 ; Douillard, 1973) ou, plus fréquemment, un module conservatif issu d'essais de cisaillement en régime harmonique. Dans tous les cas, cette propriété ne sera mesurable qu'au-delà d'un certain temps après emprésurage, ce temps de gel (**tg**) étant lié au degré d'hydrolyse minimum à atteindre pour que l'agrégation des micelles puisse commencer (voir plus loin fig. 1). En pratique, l'une des contraintes à respecter est de réaliser les mesures dans des conditions telles que les propriétés du gel, très fragile surtout au début de sa formation, n'en soient pas affectées. Le premier de ces modèles a été proposé par Scott-Blair et Burnett en 1963 : il est basé sur une analogie avec une cinétique autocatalytique qui rend compte de l'existence, clairement observable dans certaines conditions expérimentales, d'un point d'inflexion (fig. 1) :

$$G = G_{\infty} e^{-\lambda(t-t_0)} \quad \text{Eq. 1}$$

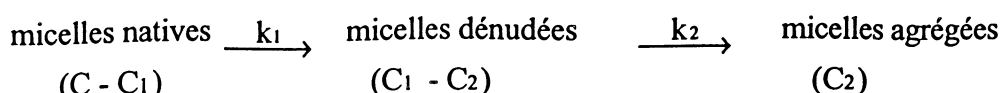
G_{∞} est la valeur limite atteinte aux temps longs, λ^{-1} est une constante vitesse et t_0 un paramètre d'ajustement qui ne correspond pas exactement au temps réel de début de gélification **tg**. Une simple fonction exponentielle a été proposée par Douillard (1973) :

$$G = G_{\infty} (1 - e^{-k(t-tg)}) \quad \text{Eq. 2}$$

Comme l'équation précédente, ce modèle ne contient qu'une seule constante de vitesse et ne peut donc s'appliquer que si l'on admet que l'hydrolyse enzymatique n'intervient plus au-delà du point de gel. En outre, il présente l'inconvénient de ne pas pouvoir rendre compte de la présence possible d'un point d'inflexion sur ces courbes. Ces limitations ont été prises en compte dans l'équation proposée par Carlson (1985), identique à celle obtenue par Douillard (1986) sur des bases un peu différentes :

$$G = G_{\infty} \left[1 - \frac{k_2}{k_2 - k_1} e^{-k_1(t-tg)} + \frac{k_1}{k_2 - k_1} e^{-k_2(t-tg)} \right] \quad \text{Eq. 3}$$

Cette équation correspond au schéma mécanistique ci-dessous :



La première étape correspond à l'hydrolyse enzymatique et le recours à une cinétique du 1er ordre revient à utiliser l'équation de Michaelis-Menten avec $k_1 = k_{cat} [e]/K_m$, $[e]$ étant la concentration en présure, ce qui signifie que K_m est beaucoup plus grand que la concentration en substrat, C . La seconde étape décrit l'agrégation des micelles et l'emploi d'une cinétique du 1er ordre, plutôt que du 2ème, est discutable (Payens, 1989). Une hypothèse implicite importante à la base de cette équation est que la propriété rhéologique mesurée est directement proportionnelle à C_2 , ce qui peut sembler a-priori peu réaliste.

TRAVAUX EXPERIMENTAUX

Matériels et méthodes

La poudre de lait écrémé (Nilac bas traitement thermique, NIZO) est dissoute à 45°C dans de l'eau désionisée avec, selon les cas, $10^{-3}M$, $10^{-2}M$ ou $2,5 \cdot 10^{-2}M$ de $Ca Cl_2$ et 300ppm d'azoture de sodium. Le lait est conservé après reconstitution pendant une nuit à 4°C, afin que se rétablissent les équilibres ioniques, puis remis à la température de mesure. Les solutions-mère, de présure (72UP/ml) sont préparées à partir d'un échantillon en poudre Hansen Hala, conservées au réfrigérateur et diluées juste avant emploi.

Les mesures en régime harmonique ont été réalisées entre 0,1 et 5 $rad. s^{-1}$ avec un Rheometrics Fluid Rheometer 7800 équipé de cylindres coaxiaux ($R_1/R_2 = 0,923$) thermostatés. A 5 $rad. s^{-1}$ le comportement reste linéaire à différents stades de gélification entre 1% et 6% d'amplitude de déformation. Néanmoins, afin d'éviter les ruptures parfois observées avec des gels fermes, l'amplitude utilisée est de 2%. L'évolution de $G'(t)$ ou $G''(t)$ est tout-à-fait classique : une valeur mesurable de G' (ou de G'') n'apparaît qu'un certain temps après empesurage et les courbes, qui présentent un point d'inflexion plus ou moins marqué, tendent ensuite vers une valeur limite. En conditions standard les mesures sont effectuées à 1 $rad. s^{-1}$. Les cinétiques correspondantes ne sont pas analysées ici mais elles sont utilisées pour déterminer le temps critique de début de gélification (t_g) avec une meilleure précision que celle fournie par la méthode de compression. Cette seconde méthode consiste à comprimer à l'aide d'un piston cylindrique en PVC de 25 cm^2 de section la surface du lait contenu dans un cristallisateur à double enveloppe thermostatée de diamètre 20 cm. Une machine INSTRON 1121 équipée d'une jauge de contrainte suspendue de 20N pleine échelle est utilisée avec un pilotage et une acquisition de données par micro-ordinateur. Lorsque le piston arrive juste au contact du lait une force de traction due à la tension superficielle lait-piston apparaît brusquement et le piston est descendu de quelques 1/10 de mm jusqu'à ce que la résultante entre cette force et la poussée d'Archimède soit nulle, ce qui fournit la position de référence. A intervalles de temps réguliers, le piston est ensuite enfoncé à vitesse constante (1mm/min) de 0,7 mm puis ramené à la position de référence. La courbe force-déplacement enregistrée au-delà de t_g présente une partie aller légèrement concave et une partie retour convexe : la surface de la boucle correspondante est liée aux propriétés viscoélastiques du gel. On peut néanmoins traiter, en première approximation, le gel comme un solide élastique linéaire et calculer un module d'Young à partir de l'équation de Boussinesq (1885) en utilisant la valeur F_{max} enregistrée pour l'enfoncement maximum D du piston de rayon r :

$$E = \frac{F_{max}}{D} \frac{1 - \mu^2}{2r} = \frac{F_{max}}{D} \frac{0,75}{2r} \quad \text{Eq. 4}$$

en prenant 0,5 comme valeur du coefficient de Poisson (incompressibilité). Cette équation n'est valable qu'en milieu semi-infini : nous avons observé que cette condition était sensiblement satisfaite avec le cristallisateur utilisé rempli d'un litre de lait et le piston de 25 cm^2 de section.

Résultats

Jusqu'à $t = t_g$, les premiers cycles force-déplacement enregistrés sont des droites dont les trajets aller et retour sont superposés : la pente obtenue est uniquement liée à la poussée d'Archimède et aux forces de tension superficielle mentionnées précédemment. Les cinétiques de gélification ont donc été analysées en corrigeant la valeur expérimentale (E_{app}) de la

penne observée avant le point de gel. La figure 1 présente la variation de E_{app} pour différentes concentrations en présure : lorsque celle-ci diminue, le temps de gel t_g augmente fortement et la croissance de E est fortement ralentie. On observe également l'existence d'un point d'inflexion marqué aux plus faibles concentration en présure. L'analyse de ces courbes est présentée plus loin. La figure 2 montre que les valeurs de t_g obtenues à partir de la divergence de E ou de G^* (en pratique celle de G' , mais G'' fournit les mêmes résultats) ne sont pas significativement différentes. On peut les associer à l'instant où les micelles commencent juste à constituer un réseau continu qui remplit tout l'espace de mesure.

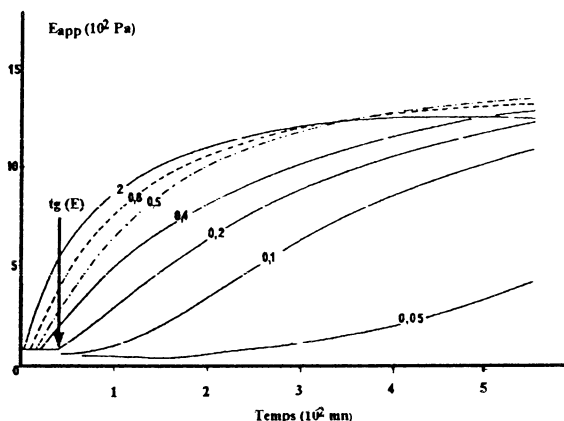


Figure 1 : Evolution depuis $t = t_g$ du module d'Young d'un lait emprésuré à $t = t_0$ ($C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 2,5 \cdot 10^{-2}\text{M}$, 25°C). Rôle de la concentration en présure (référence 2 : $34,5 \cdot 10^{-3}$ unités présure/l).

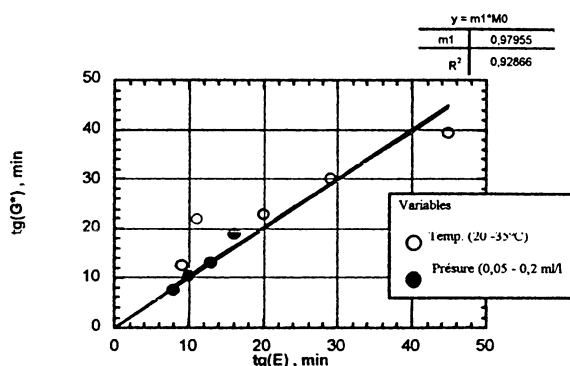


Figure 2 : Egalité des temps de gel mesurés par deux méthodes rhéologiques (voir texte), avec $C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, présure $0,2 \text{ ml/l}$ (o), température 30°C (•).

D'autres expériences ont montré que ces temps de gel sont pratiquement identiques aux temps de floculation selon Berridge basés sur l'apparition d'agrégats visibles à l'oeil nu. Nous sommes très proches, dans nos conditions expérimentales, d'une proportionnalité directe entre t_g et concentration en présure $[e]$ (fig. 3), ce qui est en accord avec une règle empirique connue depuis plus d'un siècle. Ce résultat signifierait que, dans ces conditions, la production de micelles, dénudées par hydrolyse enzymatique, serait, au moins avant le point de gel, l'étape à vitesse limitante, comme ce que l'on observe dans un régime de floculation rapide. Il serait donc intéressant d'examiner les situations où cette règle de proportionnalité n'est plus suivie. La figure 4 montre comme varie, à teneur en enzyme constante, le temps de gel avec la concentration en matière sèche du lait, donc en caséine. Aux plus faibles concentrations t_g semble tendre vers l'infini : ce comportement asymptotique serait atteint lorsque la concentration C en micelle de caséine s'approcherait d'une valeur C_{cr} pour laquelle on ne pourrait plus former un réseau continu. Après passage par un minimum, t_g devient directement proportionnel à C en présence de $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, ce qui pourrait signifier qu'à ces concentrations le point de gel est atteint lorsqu'un pourcentage constant de micelles de caséine a été agrégé, comme dans le cas de la percolation statique. En 10^{-3}M NaCl , l'extrapolation de la partie linéaire de la courbe conduit à une valeur non nulle de l'ordonnée à l'origine : on peut faire l'hypothèse que l'on ne serait plus dans des conditions de floculation rapide, un temps

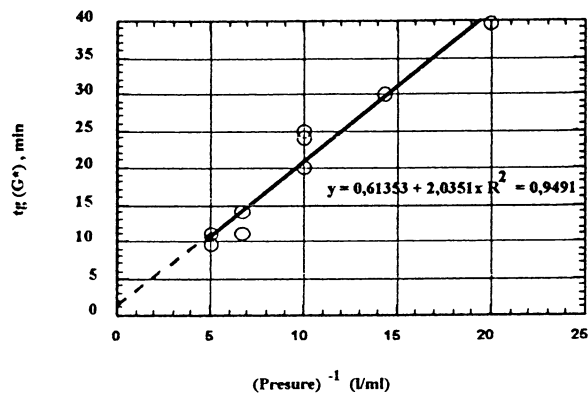


Figure 3 : Relation entre temps de gel et dilution de l'enzyme ($C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, 30°C).

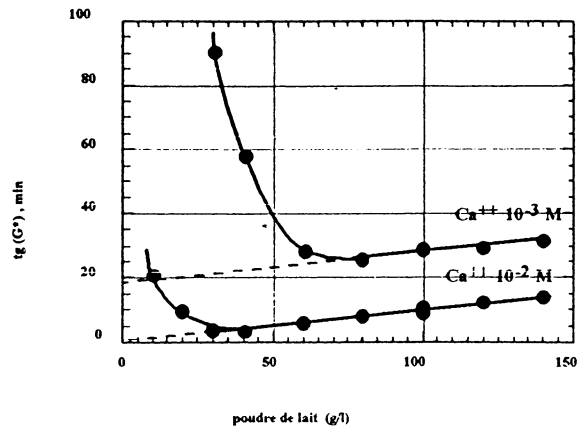


Figure 4 : Relation entre temps de gel et C (présure $0,2\text{ ml/l}$, 30°C).

d'agrégation des micelles dénudées devant être ajouté à celui nécessaire à leur production. Dagleish a le premier démontré qu'un taux minimum d'hydrolyse enzymatique était nécessaire pour que les micelles puissent s'agréger et il a considéré que t_g était la somme du temps d'hydrolyse correspondant et d'un temps de floculation (Dagleish, 1980).

Cinétique de gélification

Le modèle que nous utilisons repose sur le même schéma mécanistique à deux étapes que celui, développé indépendamment, qui a été présenté plus haut. La différence essentielle repose sur la relation entre propriété rhéologique mesurée et concentration C_2 en micelles agrégées.

Il est en effet peu réaliste de supposer, comme cela a été fait jusqu'ici, l'existence d'une proportionnalité directe entre ces deux variables. On observe expérimentalement (fig. 5) que, comme dans beaucoup de systèmes colloïdaux, la valeur de E en fin de gélification dépend de la concentration totale C selon :

$$E = K (C - C_0)^n \quad \text{Eq. 5}$$

C_0 étant la valeur de C en dessous de laquelle il n'y aurait plus formation d'un gel emplissant tout l'espace de mesure. L'exposant n est voisin de 2, des valeurs de n comprises entre 1,8 et 2,2 ne modifiant cependant pas la qualité de la corrélation compte-tenu des imprécisions expérimentales. On peut donc faire l'hypothèse que l'équation 5 décrit l'évolution des propriétés rhéologiques du gel depuis $t = t_g$, avec $C_0 = C_{cr}$:

$$\frac{E(t)}{E} = \left(\frac{C_2(t) - C_{cr}}{C - C_{cr}} \right)^n \quad \text{Eq. 6}$$

La concentration totale $C_1(t)$ de micelles dénudées est donnée par l'équation de Michaelis-Menten :

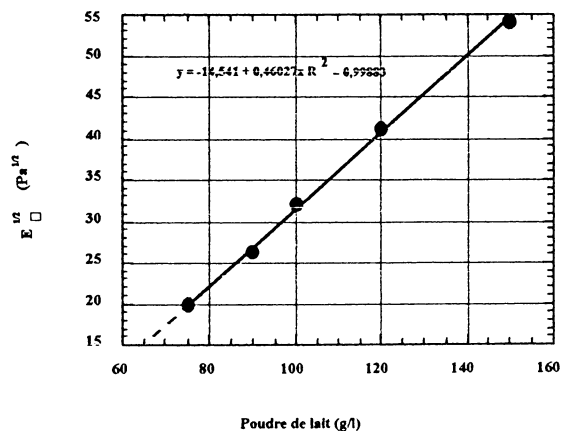


Figure 5 : Relation entre valeur asymptotique de E et C ($\text{Ca}^{++} 10^{-3}\text{M}$, présure 1 ml/l , 25°C). Par extrapolation on obtient $C_{cr} \sim 31,5\text{ g/l}$.

$$C_1 - Km \ln \left(1 - \frac{C_1}{C}\right) = k_{cat} [e] t \quad \text{Eq. 7}$$

[e] étant la concentration en enzyme. Si l'on admet, comme l'on fait beaucoup d'auteurs, $Km \gg C$, on obtient une cinétique du 1er ordre :

$$C_1 = C (1 - e^{-k_1 t}), \text{ avec } k_1 = k_{cat} [e]/Km \quad \text{Eq. 8}$$

Le modèle le plus simple pour déterminer $C_2(t)$ consiste également à utiliser une cinétique du 1er ordre, $(C_1 - C_2)$ représentant la concentration en micelles dénudées non encore agrégées :

$$\frac{dC_2}{dt} = k_2 (C_1 - C_2), \text{ avec } k_2 < k_1 \quad \text{Eq. 9}$$

A partir des équations 6 et 8 et en intégrant l'équation 9, on obtient :

$$\frac{E(t)}{E} = \left(1 - \frac{k_1 e^{-k_2 t} - k_2 e^{-k_1 t}}{k_1 e^{-k_2 t_g} - k_2 e^{-k_1 t_g}} \right)^n, k_1 > k_2 \quad \text{Eq. 10}$$

Certains auteurs ont considéré que la cinétique enzymatique pouvait être d'ordre 0 (Douillard, 1986). Cette hypothèse peut être valide dans les premières phases d'hydrolyse enzymatique : en effet, lorsque celle-ci est suffisamment avancée ($C_1 \sim C$), l'équation 8 redevient applicable ($Km \gg C - C_1$). Si l'on admet que le début de l'hydrolyse ne suit pas une cinétique d'ordre 1, on doit introduire une constante d'intégration A :

$$\frac{E(t)}{E} = \left(\frac{k_2 A e^{-k_2 t} - k_1 ((A+1)k_2 / k_1 - 1) e^{-k_1 t}}{k_2 A e^{-k_2 t_g} - k_1 ((A+1)k_2 / k_1 - 1) e^{-k_1 t_g}} \right)^n \quad \text{Eq. 11}$$

Si $Km \gg C$, on a $A = k_1 / k_2$ et l'on retrouve l'équation 10.

Un programme de régression non linéaire a été utilisé pour trouver d'abord la valeur de E (lorsqu'elle n'était pas tout-à-fait atteinte) et de k_2 , à partir des résultats aux temps longs seulement (réaction enzymatique terminée), puis k_1 , A et t_g avec l'ensemble des résultats. La valeur de l'exposant n a été fixée entre $n = 1$ et $n = 3$, en l'incrémentant d'un pas de 0,1 et en retenant celle qui fournissait un minimum de la somme des carrés des écarts. Nous avons notamment étudié l'influence de la température de gélification et de la concentration en enzyme [e], tous les autres facteurs (concentration en caséine et en chlorure de calcium et, selon les cas, concentration en présure ou température) étant maintenus constants. Bien que la qualité de l'ajustement soit assez peu sensible au choix de n , ce qui explique que l'on puisse obtenir des résultats satisfaisants en utilisant l'équation 3 ($n = 1$), la somme des carrés des écarts est minimum pour $n = 1,75$ ([e] variable) ou $n = 1,85$ (température variable), valeurs en moyenne très proches de $n = 2$, exposant utilisé sur la figure 5. La figure 6 montre la variation des constantes de vitesse k_1 et k_2 quand seule [e] varie. On observe que $k_2 (>k_1)$ est statistiquement indépendant de [e], ce qui est logique, et que $k_1 (= k_{cat} [e] / Km)$ varie proportionnellement à [e], comme attendu.

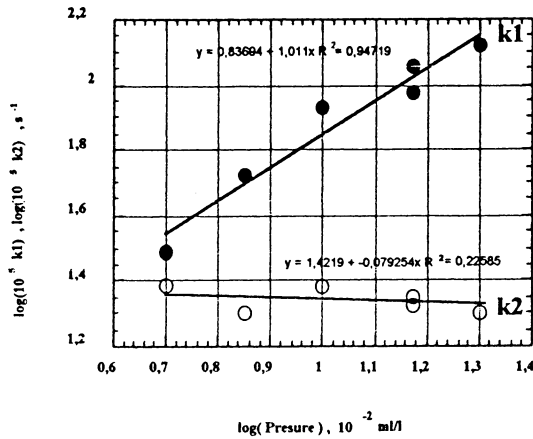


Figure 6 : Relation entre constantes de vitesse de l'équation 11 et concentration en présure ($C = 100 \text{ g/t}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2} \text{ M}$, 30°C).

DISCUSSION

Le modèle cinétique est basé sur l'existence de quatre phases, les deux dernières étant décrites par l'équation 11 :

- 1ère phase, très courte : hydrolyse enzymatique précédant l'apparition des premières micelles dénudées.
- 2ème phase : production de micelles dénudées qui s'agrègeraient quasi-instantanément (régime de floculation rapide) ou non, le plus gros agrégat n'ayant pas encore atteint le seuil de percolation.
- 3ème phase : le seuil de percolation est franchi, E (ou G') devient mesurable et les deux mécanismes (hydrolyse enzymatique et agrégation) agissent de manière couplée. Cette hypothèse semble maintenant admise par beaucoup d'auteurs bien que certains modèles reposent sur une séparation complète dans le temps de ces deux mécanismes : ce point est notamment discuté dans l'article de synthèse de Payens (1989).
- 4ème phase : l'hydrolyse enzymatique spécifique est terminée mais l'agrégation se poursuit jusqu'à ce que $E(t)$ atteigne sa valeur limite. C'est par ajustement de la cinétique aux résultats expérimentaux de cette phase que k_2 est déterminée, k_1 étant obtenue à partir de la différence entre résultats déduits de la seule phase d'agrégation extrapolée aux temps courts et les données expérimentales. Il était donc attendu que k_2 soit indépendant de $[e]$, alors que k_1 doit lui être proportionnel. La vérification de ces prédictions est un indice en faveur de la validité du modèle, de même que l'excellent accord entre valeurs ajustées et expérimentales de t_g . Enfin, la constante A est toujours différente de k_1 / k_2 , ce qui indique qu'il n'est pas possible en général de considérer que le début de l'hydrolyse enzymatique obéit à une cinétique d'ordre 1, mais plus probablement d'ordre 0 ; cependant, à $t = t_g$, elle serait suffisamment avancée pour que l'ordre 1 soit applicable.

Compte-tenu de ces éléments positifs, on peut s'interroger sur la signification d'une réaction d'ordre 1 qui décrirait la 4ème phase où seule l'agrégation intervient, mais aussi la 3ème phase. Nous n'avons pas d'interprétation satisfaisante à proposer actuellement.

On note que l'équation 5 présente une analogie avec ce que prévoit un modèle de percolation au voisinage de la transition sol-gel :

$$E(t) = E_0 \left(\frac{p - p_c}{p_c} \right)^{n'} \quad \text{Eq. 12}$$

p étant le pourcentage de micelles associées et p_c la valeur critique correspondant à un agrégat de taille infinie. L'équation 12 peut être écrite sous une autre forme :

$$E(t) = E_0 \left(\frac{C_2 - C_{cr}}{C_{cr}} \right)^{n'}, \text{ pour } C_2 \text{ proche de } C_{cr} \quad \text{Eq. 13}$$

Dans le cas de la percolation scalaire la valeur théorique de l'exposant n' est de 1,8 - 1,9 (De Gennes, 1979), très proche de celles issues des résultats d'ajustement (1,75 - 1,85). Si l'on ne considère pas cette observation comme une coïncidence fortuite, il faudrait supposer, pour ce type de gel, qu'une même loi d'échelle s'applique du seuil de percolation jusqu'à l'état final structuré, hypothèse a-priori surprenante qui reste à confirmer et, le cas échéant, à interpréter.

REMERCIEMENTS

Cet article est basé sur des résultats expérimentaux obtenus antérieurement par plusieurs jeunes chercheurs de notre laboratoire, notamment J.P. Boussemaer et K.T. Lee.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOUSSINESQ J. (1885). Application des potentiels à l'étude de l'équilibre et du mouvement des solides élastiques. Paris.
- CARLSON A. (1985). Kinetics of gel forming in enzyme coagulated milk. *Biotechnol. Progress* 1, 46-52.
- DALGLEISH D.G. (1980). Effect of milk concentration on the rennet coagulation time. *J. Dairy Res.* 47, 231-235.
- DE GENNES P.G. (1979). *Scaling Concepts in Polymer Physics*, Cornell Univ. Press, Ithaca.
- DOUILLARD R. (1973). Rheological analysis of curd formation. *J. Texture Studies* 4, 158-165.
- DOUILLARD R. (1986). Modèle cinétique de la coagulation et de la gélification du lait sous l'action de protéases. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 19, 202-207.
- GUINEE T.P., PUDJA P.D. & MULHOLLAND E.O. (1994). Effect of milk protein standardization by ultrafiltration on the manufacture, composition and maturation of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 61, 117-131.
- PAYENS (1989). The enzyme-triggered coagulation of casein micelles. *Advances in Colloid and Interface Science* 30, 31-69.
- SCOTT-BLAIR G.W. & BURNETT J. (1963). An equation to describe the rate of setting of blood and milk. *Biorheology* 1, 183-191.

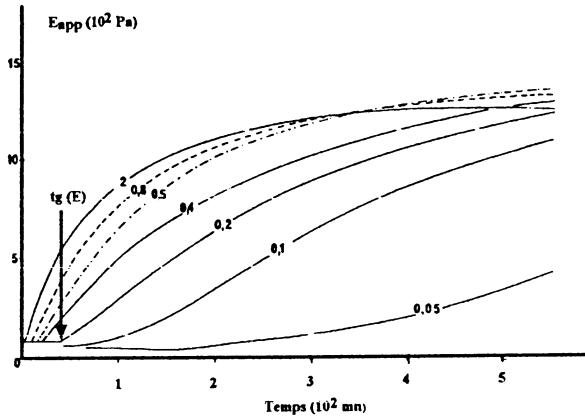


Figure 1 : Evolution depuis $t = t_g$ du module d'Young d'un lait emprésuré à $t = t_0$ ($C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 2,5 \cdot 10^{-2}\text{M}$, 25°C). Rôle de la concentration en présure (référence 2 : $34,5 \cdot 10^{-3}$ unités présure/l).

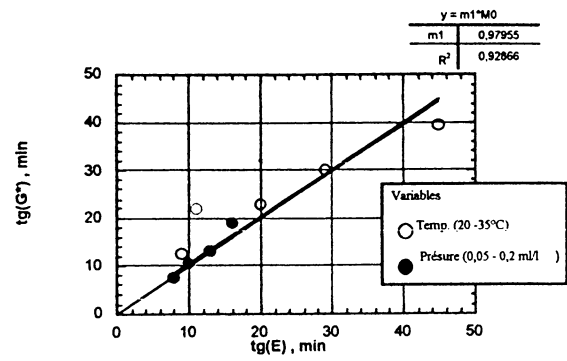


Figure 2 : Egalité des temps de gel mesurés par deux méthodes rhéologiques (voir texte), avec $C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, présure $0,2\text{ ml/l}$ (o), température 30°C (•).

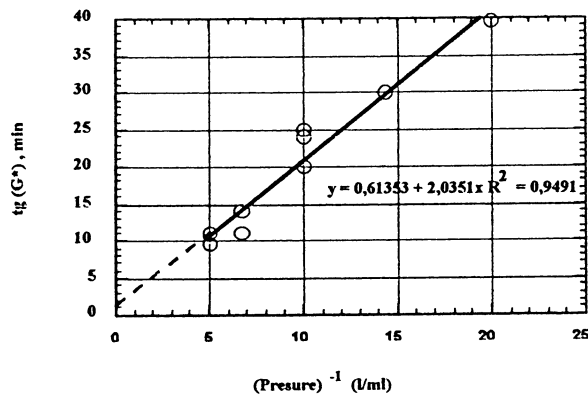


Figure 3 : Relation entre temps de gel et dilution de l'enzyme ($C = 100\text{g/l}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, 30°C).

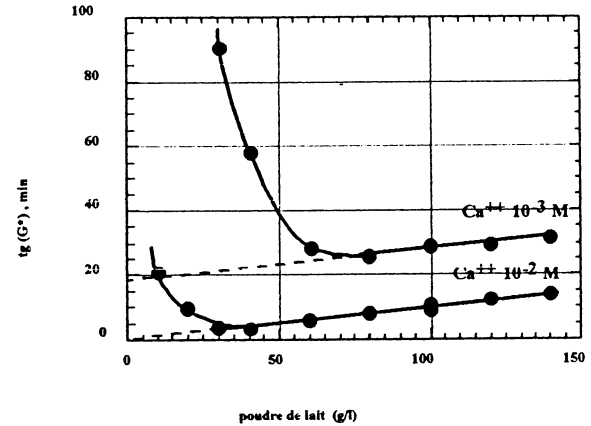


Figure 4 : Relation entre temps de gel et C (présure $0,2\text{ ml/l}$, 30°C).

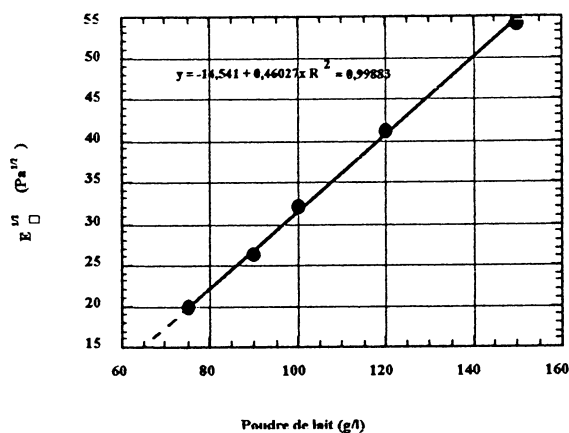


Figure 5 : Relation entre valeur asymptotique de E et C ($\text{Ca}^{++} 10^{-3}\text{M}$, présure 1 ml/l , 25°C). Par extrapolation on obtient $\text{Ccr} \sim 31,5\text{ g/l}$.

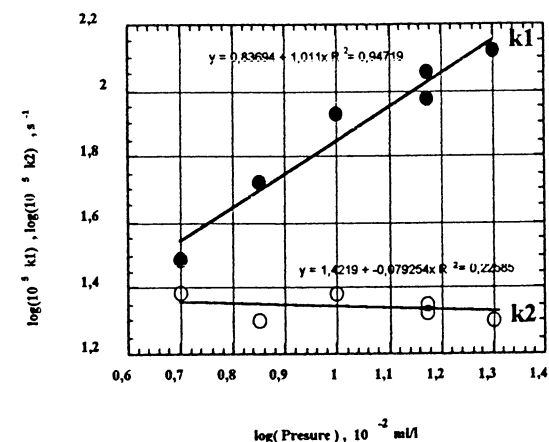


Figure 6 : Relation entre constantes de vitesse de l'équation 11 et concentration en présure ($C = 100\text{ g/l}$, $\text{Ca}^{++} 10^{-2}\text{M}$, 30°C).

A COMPARATIVE STUDY ON RHEOLOGICAL BEHAVIOUR AND DRAINAGE OF MICROSCOPIC FOAM FILMS FROM NATURAL SURFACTANTS

N. Antonova, R.Sedev*, D.Exerowa*, YA.Ivanov**

Laboratory of Biodynamics and Biorheology, Institute of Mechanics and Biomechanics, Bulgarian Academy of Sciences, Akad.G.Bonchev Str., Bl.4, 1113 Sofia, Bulgaria, Email:: antonova@imbm.bas.bg

*Institute of Physical Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Akad.G.Bonchev Str., Bl.11, 1113 Sofia, Bulgaria

**Central Laboratory of Physico-chemical Mechanics, Bulgarian Academy of Sciences, Akad.G.Bonchev Str., Bl.1,1113 Sofia, Bulgaria

Résumé :

Les propriétés rhéologiques des agents tensio-actifs thérapeutiques Infasurf, Exosurf et Survanta ont été étudiés. Le comportement du film mince de mêmes solutions sont étudiés avec la cellule de Shéludko-Éxérowa. Les échantillons ont été choisis pour faire des études des agents tensio-actifs remplaçants pour les nouveau-nés avec le syndrome du malheur respiratoire SMR (respiratory distress syndrome - RDS). Les résultats d'étude d'Infasurf montrent que les propriétés rhéologiques sont dépendant de la concentration, température et électrolyte. Puis les résultats sont présentés pour le drainage initial des films minces et aussi pour des comparaisons pour la viscosité, déterminée expérimentalement et par l'équation de Reynolds. Les résultats indiquent que le comportement rhéologique de Survanta et Exosurf est non-Newtonien. Ce comportement correspond avec le caractère de la formation et avec le drainage, observés par la cellule de Shéludko-Exérowa.

Summary :

Rheological properties of therapeutic surfactants Infasurf, Exosurf and Survanta are studied under steady shear flow conditions by rotational viscometer. The thin film behaviour of the same solutions is studied in a Sheludko-Exerowa cell. The preparations are chosen to be studied as surfactant replacement therapy for surfactant-deficient neonatal infants with respiratory distress syndrome - RDS. The rheological properties of Infasurf has been observed without abnormalities, depending on concentration, temperature and electrolyte. It is found that the initial time of drainage of thin films of Infasurf increases linearly with the reciprocal value of the capillary pressure. Thus the experimentally determined viscosity and that defined from the Reynolds's equation for Infasurf show very near values. The non-Newtonian behaviour is typical for Exosurf and Survanta. The dependence of the viscosity on the studied concentrations has nonlinear character. The abnormal rheological behaviour of those solutions coincide with the atypical formation and drainage of the Exosurf and Survanta monitored in the Sheludko-Exerowa cell

The pulmonary acinus is a branching system of alveolar ducts formed by a continuous agglomerate of histologically discrete, gas-containing pockets (alveoli) that have been described as forming in dodecahedral or tetraidecahedral cluster. The continuous thin liquid surface that covers the alveolar epithelial cells is the repository of pulmonary surfactants of this cellular monolayer [1]. The liquid - filled lungs of the infants during delivery must change to an air - filled system that carries out blood oxygenation and carbondioxide elimination. Comprehensive adjustment and re-routing of the blood circulation also occur during the change from intra-uterine to extra-uterine life. Especially in preterms infants this complex transition can cause various degrees of difficulty.

The microscopic foam film method for formation of black films has been developed by Sheludko and Exerowa [2,3] for the study of film morphology and stability in general and lung surfactant films in particular. It is especially useful in the latter instance because it fits the studies that show intraalveolar bubble formation as a natural phenomenon both at the onset of breathing at birth and during normal breathing thereafter. Film stability is the fundamental requirement for normal function of pulmonary alveolar surfactants in situ. The hypothesized continuous monolayer of phospholipid (PL) surfactant extending from alveolus to alveolus as an open film has been received morphologic confirmation and is operationally unstable under in vivo conditions that simulate normal breathing movements.

Materials and Methods

Experimental methods

Free liquid films are the simplest yet powerful model for studying colloidal stability. A foam film method has been developed for assessment of the two fundamental formations that characterizes spontaneous transformation from relatively high to low liquid content, i.e. from thick to thin foam film. Stability of the liquid film is implicit for the period of the film drainage prior to black film formation. Black films, which are extremely thin and contain only traces of liquid, are the ultimate index of the film persistence, hence stability, lasting for hours to months if undisturbed.

The film drainage has been carried out in a Sheludko - Exerowa cell and the momentary film thickness has been monitored by the microinterferometric method. In this cell film is formed in the middle of a biconcave drop hanging in a short vertical glass tube. When the liquid is sucked out of the drop the two liquid/gas interfaces approach each other and ultimately a thin liquid film is created. The following times of drainage of thin film and expansion of black spots in it at different pressures were measured: τ_{0-1} - time for the "initial contact position" to black spot appearance, τ_{1-2} - the lifetime of the black spot from the black spot appearance, its expansion and growth to the whole film area; τ_{0-2} - time from the thin film formation to the black film formation. It is assumed that the drainage of foam films is described by the Reynolds equation. Then

$$\tau_{0-1} = \int_0^{\tau_{0-1}} dt \cong \left(r^2 / h_{CR} \right) (\eta / P_C) \quad (1)$$

where η is the bulk viscosity, r is the film radius ($\sim 100 \mu\text{m}$) and h_{CR} is the black spot thickness ($\sim 30 \text{ nm}$).

To asses the effect of capillary pressure P_C each preparation was studied at three P_C 's: 400; 1200 and 2400 dyn/cm^2 . Trials were conducted at both 22° C and 37° C .

Simultaneous viscosity measurements of the same preparations are done by the means of a Couette viscometer with coaxial cylinders - LS 30 sinus Contraves with diameters of the cylinders $\phi_1 = 11$ mm, $\phi_2 = 12$ mm and $h = 8$ mm. The shear rates vary from 0.0175 sec^{-1} to 128.5 sec^{-1} by 30 discrete values. The liquid volume, necessary for one measurement is 0.8 ml. The temperature is regulated and the measurements are carried out at 37 and $22 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

The measuring cup of the coaxial measuring system is rotating at definite speeds thus causing a torque onto the inner cylinder through the liquid sample in the annular gap. By means of a photoelectric system the angular position of the system is transmitted by a mirror. The torque is then measured by a very sensitive electromagnetic servo system and is indicated digitally.

Data analysis was performed by the software package Table Curve.

Surfactant preparations

The three substances are commercially available: Exosurf (EX; Burroughs Welcome Co., Research Triangle Parc, NC), Survanta (SU; Ross Laboratories, Columbus OH) and Infasurf (IN; ONY, Inc., Buffalo, NY).

Infasurf is a suspension containing 90-94% phospholipids (PL), of which 79% is (phosphatidylcholine) PC, 6% is phosphatidylglycerol (PG), 15% other lipids and about 1% protein. The PC fraction is 80% DPPC. The preparation is obtained from hydrophobic extracts of lavage liquid from neonatal calf lungs. The extract is dried, sterilized, dispersed in normal saline and packaged in vials to be administrated by intratracheal injection. The total concentration ("clinical concentration") of PL is 35 mg/ml and of DPPC is about 22.4 mg/ml.

Exosurf neonatal is a synthetic preparation supplied as a sterile lyophilized powder. When reconstructed with sterile water for intratracheal injection, the resulting suspension contains 13.5 mg/ml DPPC, the "clinical concentration", 1.5 mg/ml hexadecanol (cetyl alcohol) and 1.0 mg/ml formaldehyde polymer with oxirane and tetramethylbutylphenol ("tyloxapol"), in 0.1 NaCl. We tested Ex within 1 to 8 hours of reconstitution (the preparation is stable for 12 hours).

Survanta is the hydrophobic extract from saline extracts of minced bovine lungs. It contains 88% PL, of which about 50% is disaturated PC (DSPC), i.e. DPPC and other disaturated PC species. It also contains about 1.1% protein. Lipid are extracted after differential centrifugation and acetone precipitation. Synthetic DPPC and PG are added to the preparation. The extract is dried, sterilized, dispersed in normal saline and packed in vials as a suspension for intratracheal injection. The total concentration ("clinical concentration") of PL is 25 mg/ml.

The preparations were studied at different concentrations. Infasurf - at the basic clinical concentration of 35 mg/ml diluted up to 100, 220, 410 and 550 $\mu\text{g/ml}$. To assess the effect of electrolyte 0.14 m/l NaCl was added to every one of the solutions. For comparison Infasurf with concentration 220 $\mu\text{g/ml}$ and addition of 0.5 m/l NaCl was studied. The Exosurf - at basic clinical concentration of 13.5 mg/ml diluted up to 160 $\mu\text{g/ml}$ with addition of 0.14 m/l NaCl. Survanta - with basic concentration 25 mg/ml was diluted up to 600 $\mu\text{g/ml}$ concentration with addition of 0.14 m/l NaCl

Results

The viscosity values of the three surfactant preparations are shown on the Fig.1. It is found that Exosurf and Survanta show Non-Newtonian behaviour. This behaviour is more

significant for the lower temperature. At high shear rates ($>10^2 \text{ s}^{-1}$) for both temperatures Exosurf approaches the same value for the apparent viscosity.

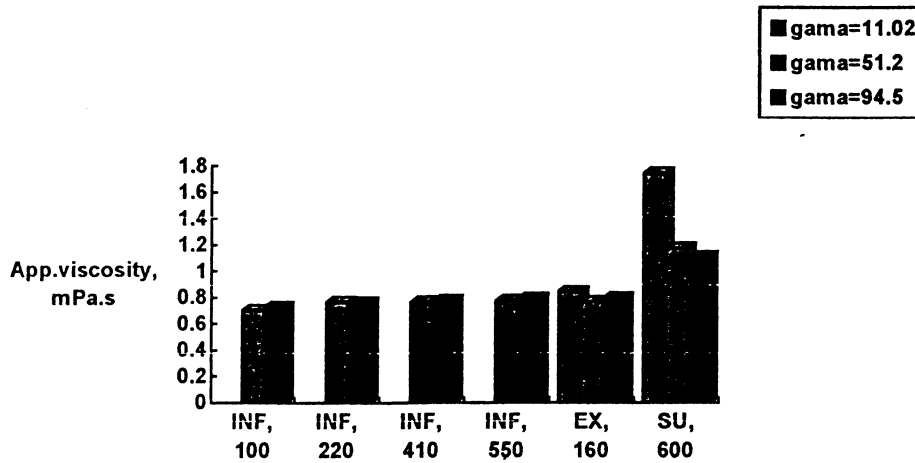


Fig.1. The apparent viscosity values of the INF(asurf) at concentrations: 100 µg/ml, 220 µg/ml, 410 µg/ml and 550 µg/ml; EX(osurf) at 160 µg/ml and SU(rvanta) at 600 µg/ml. $\gamma = 11.02 \text{ s}^{-1}$, 51.2 s^{-1} and 94.5 s^{-1} ; $T = 37^\circ \text{ C}$.

It was found that the Infasurf solutions have Newtonian behaviour from 0.2 up to 128.5 s^{-1} within the whole shear rate and concentration range. The mean value of η for Infasurf (35 mg/l) are 1.08 mPa.s (at 22° C) and 0.88 mPa.s (at 37° C), i.e. an increase of temperature within 14° C produced about 19 % decreasing of viscosity. Survanta shows typical non-Newtonian pseudoplastic behaviour [4] with apparent viscosity η decreasing more than one order at concentration 25 mg/ml with increasing the shear rates up to 128.5 s^{-1} . The temperature effect on Exosurf is relatively little, but for Survanta it is more sensible.

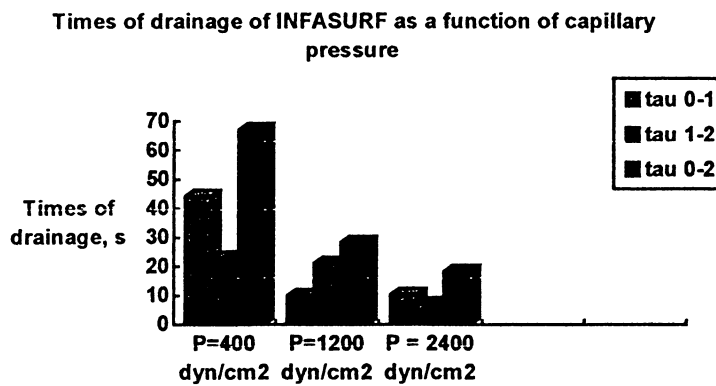


Fig.2. Times of drainage of Infasurf (220 µg/ml) at $T = 37^\circ \text{ C}$; τ_{0-1} - (τ_{0-1}); τ_{1-2} - (τ_{1-2}) and τ_{0-2} - (τ_{0-2}) at 37° C .

Times of drainage of EXOSURF as a function of the capillary pressure

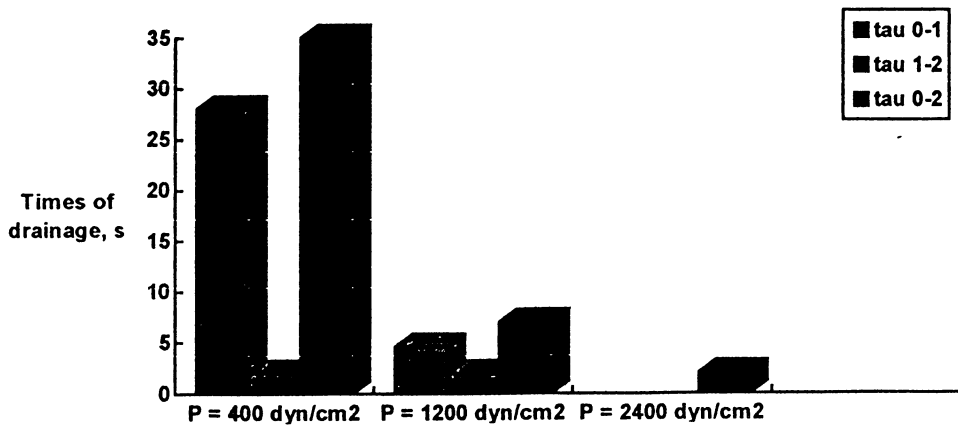


Fig.3. Times of drainage of Exosurf (160 $\mu\text{g/ml}$) at $T = 37^\circ\text{C}$; τ_{0-1} - (tau 0-1); τ_{1-2} - (tau 1-2) and τ_{0-2} - (tau 0-2) at 37°C .

Times of drainage of SURVANTA as a function of the capillary pressure

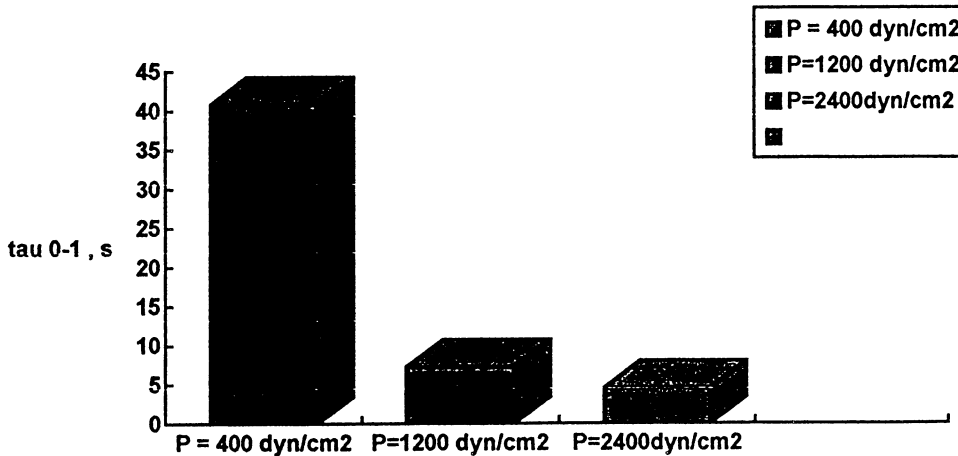


Fig.4. Film drainage time τ_{0-1} - (tau 0-1) of Survanta (600 $\mu\text{g/ml}$) at $T = 37^\circ\text{C}$.

Infasurf produced typical behaviour considered through the theory of formation and stability of black films. Film drainage time τ_{0-1} as is shown in Fig.2-4 and capillary pressure are inversely related. This transformation occurs spontaneously as bulk liquid drains toward peripheral menisci and film thickness decreases from $\sim 500\text{ nm}$ (liquid film) to $\sim 30\text{ nm}$ (black spot). The larger changes occur from 400 to 1200 dyn/cm^2 . Time for formation of black film

τ_{1-2} is measured from initial appearance of a black spot to its expansion and coalescence with other spots to form a continuous black film of definite radius. The total film formation time τ_{0-2} phenomenologically could be defined as additives of two dynamic events: film drainage and black spot to black film formation times. Exosurf and especially Survanta produced atypical behaviour described in a preceding section. Formation time was even more than 1000 s under all other conditions [7]. No black films were formed. Exosurf at

2400 dyn/cm² and Survanta at all capillary pressures failure to form black films. In contrast Infasurf produced black films in all cases. The many particles and aggregates apparent in Survanta suggest its classification as a “rheological film” [7].

The concentration - viscosity dependence (Fig.5) showed that the viscosity initially increases and then levels off at a plateau value. The best fit equation is:

$$1/\eta = a + b c_s^3 + d \exp(-c_s) \quad (2)$$

where η is the apparent viscosity, C_s is the concentration of the solution and a, b, d are the characteristic constants of the solution, depending on the temperature, additions and other physico-chemical conditions.

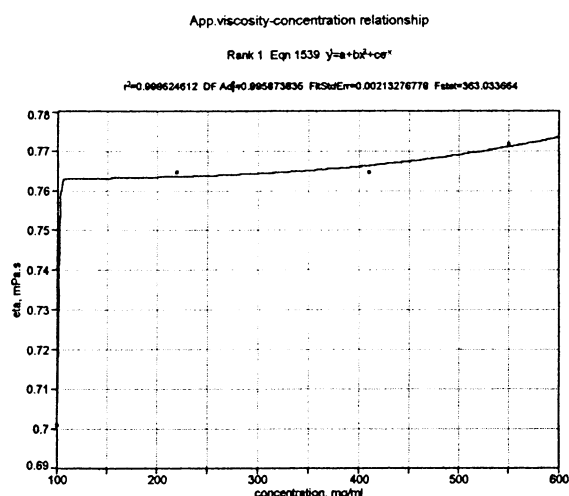


Fig.5. The best fit equation of the concentration-viscosity dependence

There is a reasonable agreement between the viscosity values from the bulk and film measurements [5,6]. It is found that τ_{0-1} linearly increases with $1/P_C$ (Fig.6) in agreement with the equation (1). Since r and h_{CR} (eq.1) are constant the slope of this linear dependence is directly proportional to apparent viscosity η . Thus viscosity can be monitored with film thinning experiments.

The effect of electrolyte concentration (C_{EL}) is significant (Fig.6). Drainage is faster when electrolyte is added. No practical difference between 0.14 M and 0.5 M NaCl is found.

Conclusion

The rheological behaviour of therapeutic surfactants Infasurf, Exosurf and Survanta is studied simultaneously with the thin film behaviour in a Scheludko-Exerowa cell. The rheological properties of Infasurf has been observed without abnormalities, depending on concentration, temperature and electrolyte. It is produced black films in all cases. It is found that the initial time of drainage of thin films of Infasurf increases linearly with the reciprocal value of the capillary pressure. The Non-Newtonian behaviour is typical for Exosurf and

Survanta and Survanta produced no black films. The abnormal rheological properties are parallel with the atypical behaviour of the films in the Scheludko-Exerowa cell.

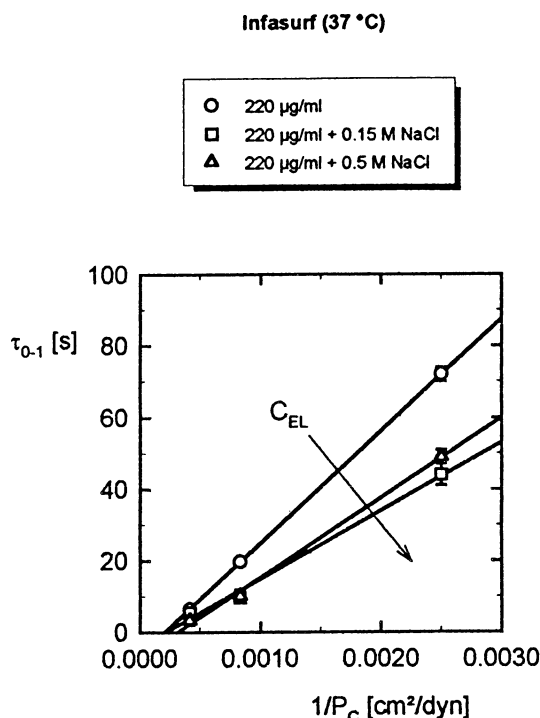


Fig.6. The dependence of the time, $\tau_{0.1}$, from initial film formation to the first black spot appearance on the reciprocal capillary pressure $P_c = 400, 1200$ and 2400 dyn/cm^2 for Infasurf.

References

- Scarpelli, M.E. The surface of mammalian pulmonary alveoli is a foam network. In: *Books of Abstracts of 9th Int. Conf. on Surface and Colloid Sci.*, Sofia, Bulgaria, ed. B.Toshev, 462-463.
- Exerowa, D., Kashchiev, D. and Platikanov (1992). Stability and permeability of amphiphile bilayers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 40, 201-256.
- Exerowa, D., Krugljakov, P. *Pena I pennie plenki*, Moskva, Chimija, 1990 (in russian).
- Antonova, N., Exerowa, D., Ivanov, Ya. Relation between rheological properties and times of drainage of thin films of some natural and therapeutic surfactants. Rheological properties." in: "Proceedings of the Sixth International School on Biomechanics", 12-17 Sept., 1995, Blagoevgrad (eds. Al.Rachev, Y.Toshev, L.Mitutsova), pp.113-119.
- Antonova, N., Sedev, R., Exerowa, D., Ivanov, Ya. Rheological behaviour and drainage of microscopic foam films from Infasurf in: "Proceedings of the 5th European Rheology Conference, Sept. 6-11, 1998, Portoroz, Slovenia (eds. I. Emri,), pp.113-119.
- Sedev, R., Antonova, N., Ivanov, Ya and Exerowa, D (1997). Drainage of microscopic foam films from Infasurf. In: *Books of Abstracts of 9th Int. Conf. on Surface and Colloid Sci.*, Sofia, Bulgaria, ed. B.Toshev, p.463.
- Scarpelli, E.M., Mautone, A.J., Lalchev, Z. and Exerowa, D. (1997). Surfactant liquid and black foam films implications for natural and therapeutic surfactants. *Colloids & Surfaces B*, 8, 133.

ETUDE DE L'EFFET DU CISAILLEMENT SUR DES GLOBULES D'EMULSION MULTIPLE DE TYPE H/L/H

V. Muguet ¹, M. Seiller ², J.L. Grossiord ³

¹ Laboratoire de Dermopharmacologie et de Cosmétologie

² Laboratoire de Physico-Chimie, Pharmacotechnie et de Biopharmacie – UMR 8612

³ Laboratoire de Physique Pharmaceutique – UMR 8612

Faculté de Pharmacie, 5 rue J.B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry

L'objectif de notre travail a été d'étudier le comportement des émulsions multiples de type H/L/H soumises à un mouvement de cisaillement simple. A cette fin, le modèle développé par Taylor pour décrire la déformation et l'éclatement de globules simples a été appliqué à différentes émulsions multiples. Les paramètres de formulation pris en compte dans cette étude sont la fraction massique de phase dispersée et la viscosité de la phase continue.

Les analyses conductimétriques menées pour suivre la libération sous cisaillement de l'électrolyte encapsulé en phase aqueuse interne des émulsions multiples ainsi que les analyses microscopiques et granulométriques ont montré que le cadre de Taylor s'appliquait aux émulsions multiples. Les analyses rhéologiques réalisées dans un second temps ont permis de mettre en évidence, parallèlement aux analyses granulométriques, les phénomènes d'éclatement.

I. Introduction

Les émulsions multiples W/O/W sont des systèmes vésiculaires complexes constitués de globules huileux dispersés dans une phase aqueuse, contenant eux-même de petits globules aqueux (1). Ces systèmes peuvent encapsuler en phase aqueuse interne des substances actives pour en assurer la protection ou en contrôler la libération. L'un des modes de libération consiste à réaliser la fragmentation des globules multiples par application du cisaillement. Taylor (2) fut l'un des premiers à travailler sur le comportement sous cisaillement de globules d'émulsions simples. Le modèle qu'il a développé pour prédire la déformation et l'éclatement d'un globule simple sous cisaillement fait intervenir un nombre sans dimension appelé nombre capillaire $Ca = \frac{\eta_o G a}{\sigma}$, où η_o représente la viscosité de la phase externe, G la vitesse de cisaillement appliquée sur l'échantillon, a le rayon des globules et σ la tension interfaciale. Ca correspond au rapport des contraintes visqueuses sur les contraintes de cohésion. L'éclatement survient alors pour des valeurs de Ca supérieures ou égales à l'unité. Un calcul rapide d'ordre de grandeur, réalisé en prenant un nombre capillaire critique égal à l'unité, et en considérant des globules de rayon 10 μm , une tension interfaciale de 10 mN/m (valeurs typiques du rayon et de la tension interfaciale d'une

émulsion multiple) montre qu'il y a éclatement à une vitesse de cisaillement de 1000 s^{-1} si la viscosité de la phase externe de l'émulsion est supérieure à 1 Pa.s à cette vitesse. Dès lors, la viscosité de la phase externe des émulsions apparaît comme un paramètre important à prendre en considération dans notre étude, si l'on désire mettre en évidence des effets significatifs pour des cisaillements modérés.

Dans le but de mieux connaître et maîtriser les mécanismes de déformation et d'éclatement sous cisaillement des globules multiples, le modèle de Taylor a été appliqué à différentes émulsions multiples gélifiées en phase externe à l'aide d'un polymère acrylique et contenant en phase interne un électrolyte, utilisé comme molécule hydrophile modèle dans les études de libération. Les formules étudiées ont également différé par la proportion d'émulsion eau/huile dispersée dans la phase externe. Les émulsions ont été caractérisées avant et après cisaillement par des analyses granulométrique et conductimétrique.

Parallèlement à cette étude, des analyses rhéologiques par balayage contrainte en écoulement ont été menées sur une émulsion multiple épaissie pour des cisaillements inférieurs et supérieurs au cisaillement critique responsable des premiers éclatements de globules.

II. Matériels et méthodes

1. Matériel

L'huile utilisée est un isohexadécane (Arlamol HD[®], ICI France). Le tensioactif lipophile, qui sert à formuler l'émulsion primaire W/O, est un cétyldiméthicone copolyol à haut poids moléculaire (Abil EM 90[®], Goldschmidt, France). Le tensioactif hydrophile non ionique utilisé pour émulsionner l'émulsion primaire dans la phase aqueuse externe est un copolymère de l'oxyde d'éthylène et de propylène (Synperonic PE/F 127[®], ICI, France). L'émulsion multiple est gélifiée en phase aqueuse externe par un polymère synthétique carboxyvinyle (Carbopol 974P[®], BF-Goodrich, Polyplastics, France).

Les émulsions multiples (Tableau I) sont préparées selon le procédé en deux étapes à l'aide d'un agitateur Rayneri muni d'un arbre centripète (1, 3, 4).

Les valeurs de la fraction volumique d'émulsion primaire (w/w) dans l'émulsion multiple ont été fixées à 20%, 30% et 40%. Une fraction volumique plus faible aboutirait à des effets moins prononcés lors de l'étude de la fragmentation. En revanche cette concentration n'est pas trop élevée : les globules d'émulsion restent suffisamment indépendants les uns des autres pour satisfaire le cadre de Taylor initialement développé pour des systèmes dilués. La concentration de polymère en phase externe de l'émulsion multiple a été fixée à 0.5%, 1% et 2%. Les émulsions sont désignées par la notation T suivie d'un indice représentant la masse de fraction dispersée

(émulsion primaire) incorporée dans la formule ainsi que le pourcentage d'agent gélifiant utilisé (w/w) pour viscosifier la phase continue.

Il est à noter que la phase aqueuse interne de l'émulsion contient un électrolyte divalent, le sulfate de magnésium heptahydraté (Prolabo, France). Cet électrolyte permet d'améliorer la stabilité de l'émulsion primaire en renforçant la membrane de tensioactif lipophile par un phénomène de salting out. Il est utilisé comme traceur pour déterminer le rendement d'encapsulation de l'émulsion ainsi que les pourcentages de libération suite à l'application d'un cisaillement.

Formules	T20/1	T30/1	T40/1	T20/0.5	T20/2
W/O émulsion primaire (EP)	% (w/w)				
Eau déminéralisée	72.3				
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.7				
Arlamol HD [®]	24				
Abil EM 90 [®]	3				
Emulsions multiples	% (w/w)				
W/O émulsion primaire	20	30	40	20	20
Eau déminéralisée	74.4	65.1	55.8	75.6	72
Synperonic PE/F 127 [®]	3.2	2.8	2.4	3.2	3.2
Carbopol 974-P [®]	0.8	0.7	0.6	0.4	1.6
NaOH 10%	pH 5.5	pH 5.5	pH 5.5	pH 5.5	pH 5.5

Tableau I : Composition des émulsions multiples

2. Méthodes

Mesure de la tension interfaciale

Les mesures sont réalisées à 24°C sur un tensiomètre K12 (Krüss) muni d'un anneau de Noüy pour l'interface eau - Synperonic PE/F 127[®](4%) / Arlamol HD[®]. La tension interfaciale est égale à 6.0 ± 0.5 mN/m.

Analyses rhéologiques

Les différentes mesures ont été réalisées sur un rhéomètre Haake RS100 à contrainte imposée (Rhéo, Champlan, France) à $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

La géométrie cône/plateau utilisée préférentiellement au cours de l'étude est une géométrie en acier inoxydable de 35 mm de diamètre, d'angle 0.5° et de $29 \mu\text{m}$ d'entrefer, permettant d'accéder à des valeurs élevées de la vitesse de cisaillement ($\geq 1600 \text{ s}^{-1}$). Parfois cette géométrie a été remplacée par une autre géométrie cône/plateau d'entrefer plus important ($d = 20 \text{ mm}$; $\theta = 4^\circ$, entrefer = $132 \mu\text{m}$).

Analyses granulométriques

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un granulomètre à diffraction laser Coulter LS 230 (Coultronics, France) muni d'une cellule destinée à l'analyse d'échantillons liquides. Les échantillons d'émulsion multiple ont été caractérisés au repos et après cisaillement, après dilution dans une solution de glucose isoosmotique à la phase aqueuse interne de façon à éviter un éclatement des globules sous l'effet d'un flux aqueux osmotique. Le mode d'analyse utilisé pour caractériser les distributions de tailles est celui de Fraunhofer. Ce modèle est particulièrement adapté pour la caractérisation de grosses particules ayant des diamètres supérieurs au micromètre. Les distributions sont données en volume en fonction du diamètre des particules. Un paramètre utilisé est le diamètre moyen " volume-moment " noté d_{43} .

Analyses conductimétriques

Elles ont été menées sur un conductimètre CDM 230 (Tacussel, Radiometer Copenhagen, France) à température ambiante après dilution au $1/20^{\text{ème}}$ de l'émulsion multiple dans une solution de glucose isoosmotique à la phase aqueuse interne. La mesure permet de déterminer le rendement d'encapsulation de l'émulsion ainsi que les pourcentages de libération après avoir mesuré la quantité d'électrolyte présente en phase externe, au repos et après cisaillement. Une courbe d'étalonnage a été établie à cette fin pour l'émulsion multiple T40/1, et une correction a dû être apportée pour tenir compte de la conductivité liée au carbomère neutralisé.

III. Résultats et discussion

1. Application du cadre de Taylor aux émulsions multiples

Influence de la fraction massique en phase dispersée

Cette étude concerne les émulsions multiples T20/1, T30/1 et T40/1. Celles-ci ont été cisailées à différentes vitesses de cisaillement ($100, 200, 400, 800, 1600 \text{ s}^{-1}$) en utilisant la géométrie de cisaillement cône/plateau ($d = 35 \text{ mm}$, $\theta = 0.5^\circ$, entrefer = $29 \mu\text{m}$).

Quelle que soit la fraction massique d'émulsion primaire (20%, 30% ou 40%), l'analyse granulométrique met en évidence un éclatement dès l'application de la première vitesse de cisaillement à 100 s^{-1} . Les valeurs des diamètres d_{43} trouvées à chaque vitesse de cisaillement pour

les différentes émulsions multiples sont relativement proches (Fig. 1). Ces valeurs diminuent avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement.

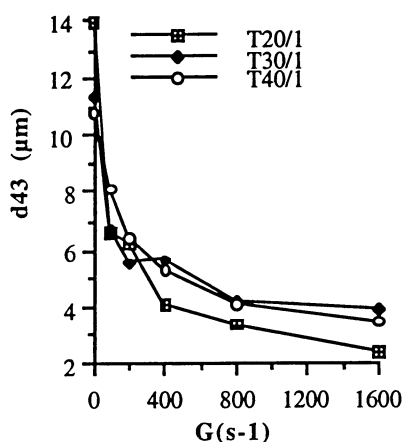


FIG. 1. Evolution des diamètres d43 en fonction de la vitesse de cisaillement : influence de la fraction d'émulsion primaire

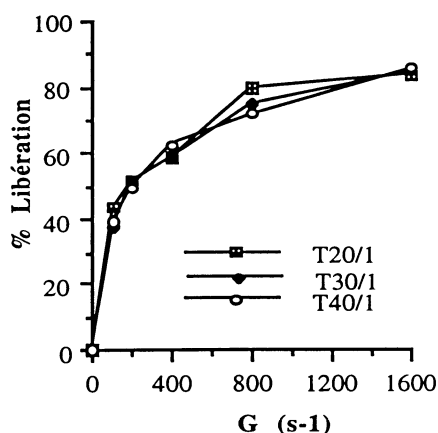


FIG. 2. Courbes de libération obtenues pour les émulsions multiples constituées par 20%, 30% et 40% d'émulsion primaire

Les pourcentages de libération (Fig. 2) ont été calculés après dosage de l'électrolyte retrouvé dans la phase aqueuse externe des émulsions multiples en tenant compte des rendements d'encapsulation. Les pourcentages libérés sont pratiquement les mêmes pour les 3 émulsions. Ils augmentent avec la vitesse de cisaillement jusqu'à atteindre environ 90% à 1600 s⁻¹, ce qui correspond à une libération pratiquement totale de l'électrolyte encapsulé.

Ainsi l'épaississement de la phase externe des émulsions multiples à l'aide de 1% de carbomère rend les émulsions sensibles au cisaillement à des vitesses relativement faibles (≥ 100 s⁻¹). La fraction massique d'émulsion primaire dans l'émulsion multiple ne semble pas influencer le mécanisme de rupture des globules multiples pour des concentrations en phase dispersée inférieures à 40%. Ceci est en accord avec des travaux de la littérature (5) menés sur des émulsions simples, qui ont montré que pour des concentrations de phase dispersée inférieures à 65%, les comportements sous cisaillement des émulsions étaient similaires.

Influence de la viscosité de la phase externe

L'étude granulométrique, réalisée sur les émulsions multiples T20/0.5, T20/1 et T20/2 montre une plus grande fragilité des émulsions multiples lorsque la viscosité de la phase externe augmente (Fig. 3).

Ces résultats sont en accord avec les prédictions théoriques selon lesquelles le mécanisme d'éclatement serait principalement défini par le nombre capillaire qui est directement proportionnel à la viscosité η_0 de la phase continue des émulsions. Comme précédemment, les

analyses conductimétriques confirment les résultats obtenus en granulométrie : les profils de libération (Fig. 4) montrent clairement une augmentation de la libération lorsque la viscosité des émulsions augmente, indiquant que la fragmentation s'accompagne d'une libération au moins partielle des compartiments aqueux internes.

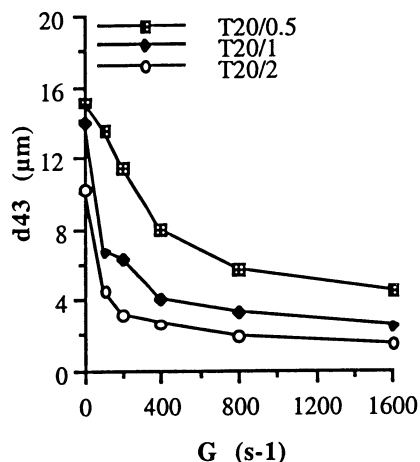


FIG. 3. Evolution des diamètres d_{43} en fonction de la vitesse de cisaillement : influence de la concentration en carbomère

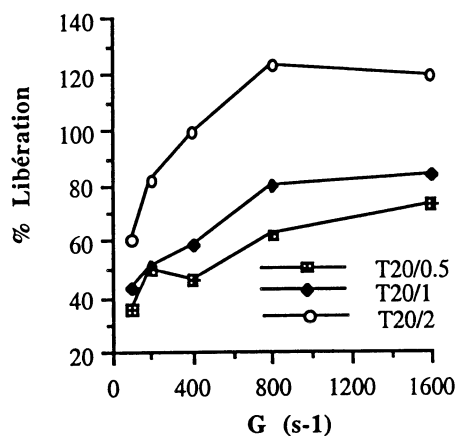


FIG. 4. Courbes de libération obtenues pour les émulsions multiples gélifiées à l'aide de 0.5%, 1% et 2% de carbomère

Les études conductimétriques et granulométriques menées sur l'émulsion multiple T20/1, T30/1 et T40/1 ayant conduit aux mêmes résultats en libération comme en fragmentation, une seule émulsion multiple sera prise en compte dans la suite des travaux: l'émulsion T40/1. Cette émulsion caractérisée par la plus grande fraction volumique d'émulsion primaire permettra d'obtenir des effets plus prononcés lors des études d'éclatement en rhéologie.

Détermination du nombre capillaire critique

Cette étude est menée sur l'émulsion multiple T40/1 à l'aide de la géométrie cône/plateau ($d = 20$ mm, $\theta = 4^\circ$, entrefer = 132 μm). Le rhéomètre utilisé étant à contrainte imposée, l'émulsion est cisailée pour différentes contraintes de cisaillement correspondant à des vitesses de cisaillement G inférieures à 100 s^{-1} . Le premier décalage des pics granulométriques, par rapport au repos, est obtenu dès l'application d'une contrainte égale à 120 Pa, soit pour une vitesse de cisaillement égale à 10 s^{-1} . Cette valeur de la vitesse de cisaillement représente la vitesse critique d'éclatement ; c'est la plus petite vitesse appliquée provoquant un éclatement des globules.

La détermination de la contrainte ou de la vitesse critique d'éclatement permet de calculer le nombre capillaire critique, où la vitesse sera prise égale à 10 s^{-1} , la viscosité η_0 égale à $12,4$ Pa.s et la tension interfaciale égale à 6.10^{-3} N/m. Le diamètre considéré pour le calcul du nombre capillaire critique est le diamètre d_{43} issu des analyses granulométriques, égal au repos à 14.5 μm . La valeur du nombre capillaire critique ainsi défini est de 0.15 . Cette valeur critique est un peu faible, même

si elle est en bon accord avec les valeurs citées dans la littérature pour des émulsions simples étudiées dans les mêmes conditions (5). Cette différence pourrait s'expliquer par une surestimation de la valeur de la tension interfaciale qui ne prend en compte que le tensioactif hydrophile. Pour être plus rigoureux, la tension interfaciale aurait dû être déterminée en tenant compte de l'influence des tensioactifs hydrophiles et lipophiles utilisés dans la formulation de l'émulsion multiple, qui se mélange certainement au niveau de la deuxième interface. Quoiqu'il en soit, il est difficile de connaître les proportions exactes de tensioactifs qui constituent le film interfacial des globules. La valeur trouvée pour le mélange eau/tensioactif hydrophile doit être différente de la valeur caractérisant l'interface des globules multiples, mais même si cette valeur n'est pas exacte, elle fournit un ordre de grandeur acceptable.

2. Etudes rhéologiques

Les échantillons ont été cisailés à l'aide d'une géométrie cône/plateau ($d = 35$ mm, $\theta = 0.5^\circ$, entrefer : 29 μm) en acier inoxydable en effectuant un balayage montée, un palier de 3' puis un balayage en descente.

A des fins comparatives, l'étude a été menée sur l'émulsion multiple T40/1 et sur le gel de Carbopol à 1% constitutif de la phase externe. Les cycles de cisaillement ont été appliqués avec une durée de palier identique (3') et trois valeurs différentes de la contrainte maximale τ_{max} choisies en dessous et au dessus de la contrainte définissant le nombre capillaire critique. Ces cycles sont repérés par la notation $C\tau_{\text{max}}$. La figure 5 représente l'ensemble des rhéogrammes caractéristiques de l'émulsion multiple cisailée jusqu'à 80 Pa, 160 Pa et 300 Pa, ainsi que la courbe montée du gel jusqu'à 300 Pa. On constate que la courbe représentant l'émulsion multiple cisailée jusqu'à 80 Pa est pratiquement confondue avec la courbe caractéristique du gel. Les rhéogrammes caractéristiques de l'émulsion multiple cisailée respectivement jusqu'à 160 Pa et 300 Pa sont superposés avec celui caractéristique du gel jusqu'à une valeur respective de 110 Pa et 120 Pa. Les courbes divergent à partir de ces valeurs comme on pouvait s'y attendre. Les profils rhéologiques obtenus présentent le même caractère accidenté ainsi qu'une large boucle d'hystérésis liée à l'éclatement des globules. Ce caractère accidenté pourrait traduire la présence de phénomènes complexes qui interviennent lors de la rupture des globules. Deux effets peuvent se produire : une fragmentation des globules sans libération, ou une fragmentation accompagnée d'une libération des compartiments aqueux internes. Dans le premier cas, la fragmentation des globules s'accompagne d'une augmentation de la viscosité, dans le second cas au contraire la viscosité diminue suite à la diminution de la fraction volumique dispersée et à la diminution de la viscosité de la phase continue (gel).

Les phénomènes d'éclatement sont également confirmés par les analyses granulométriques effectuées à la fin de chaque cycle (Fig. 6). Les courbes représentatives des populations de globules après cisaillement évoluent progressivement vers les plus petites tailles au fur et à mesure de l'augmentation de la contrainte.

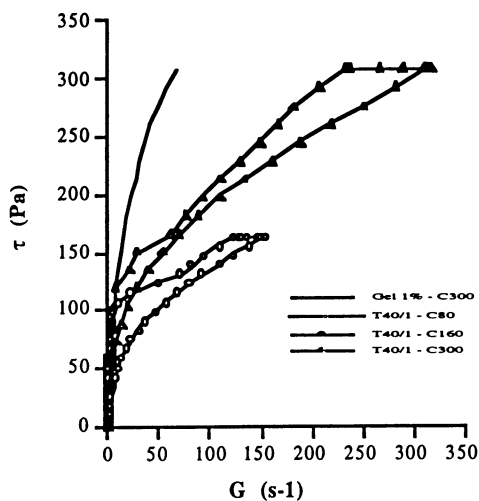


FIG. 5. Rhéogrammes caractéristiques de l'émulsion multiple T40/1 et du gel de carbomère à 1% à 80 Pa, 160 Pa et 300 Pa

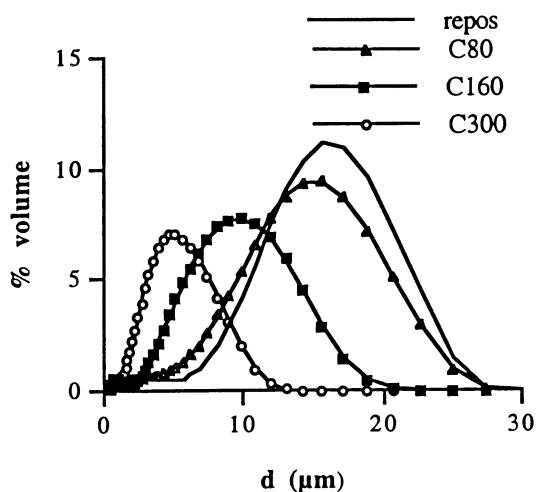


FIG. 6. Distributions granulométriques obtenues pour l'émulsion multiple T40/1 au repos et après cisaillement jusqu'à 80 Pa, 160 Pa et 300 Pa

IV. Conclusion

Cette étude a montré que le cadre de Taylor pouvait être appliqué aux émulsions multiples pour prévoir leur comportement sous cisaillement. Par ailleurs, les analyses rhéologiques ont permis de mettre en évidence, parallèlement aux mesures granulométriques, les phénomènes d'éclatement des globules multiples. Contrairement aux émulsions simples, pour lesquelles les effets dus à la fragmentation sont parfois difficiles à mettre en évidence, la fragmentation des émulsions multiples s'accompagne d'une libération (partielle ou totale) des compartiments aqueux internes et conduit à des profils rhéologiques caractéristiques présentant des boucles d'hystérésis plus ou moins larges.

Références bibliographiques

- 1- Grossiord J. L., Seiller M., Rheology of W/O/W multiple emulsions : formulation, characterization and breakup mechanisms, in " Multiple emulsions, structure, properties and applications ", J. L. Grossiord and M. Seiller Eds, Ed de Santé, Paris, 169-192 (1998).
- 2- Taylor G. I., The viscosity of a fluid containing small drops of another fluid, Proc. R. Soc. Lond., A 138, 41-48 (1932).
- 3- Jager-Lezer N., Terisse I., Bruneau F., Tokgoz S., Ferreira L., Clause D., Seiller M., Grossiord J. L., Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion, J. Controlled Release 45, 1-16 (1997).
- 4- Muguet V., Seiller M., Clause D., Marty J. P., Grossiord J. L., W/O/W multiple emulsions submitted to a linear shear flow : correlation between fragmentation and release, J. Colloid Int. Sci. in press.
- 5- Mason T. G., Bibette J., Emulsification in viscoelastic media, Physical Review Letters 77, 3481-3484 (1996).

LES GRAISSES LUBRIFIANTES : DES SYSTEMES A LIBERATION CONTROLEE D'HUILE, RHEOLOGIQUEMENT COMPLEXES

B. Petilatot, G. Daniel, G. Muller

Mobil Oil Française, Centre de Recherche, Notre Dame de Gravenchon
Laboratoire "Polymères, Biopolymères, Membranes" UMR 6522-CNRS, Université de Rouen

RESUME

Les graisses lubrifiantes sont des dispersions stables d'un agent épaississant dans une huile, contenant des additifs et notamment des polymères. Afin de mieux comprendre le comportement global de graisses qui se différencient par leurs teneurs en polymère et en épaississant, une étude rhéologique sur l'huile, des solutions du polymère dans cette huile et sur les graisses a permis de quantifier la contribution de chaque constituant et montré que le polymère n'a pas la même action pour les deux lubrifiants.

Une étude comparative des résultats obtenus avec des mobiles à surfaces lisses et rugueuses a également permis de donner un ordre de grandeur du phénomène de glissement et de le corrélérer avec la propriété de ressuage ou libération d'huile des graisses.

INTRODUCTION

Les graisses lubrifiantes sont des produits semi-fluides à solides constituées d'une dispersion d'un agent épaississant (présent entre 0 et 20%) dans une huile lubrifiante, contenant des additifs (présents jusqu'à 10%) pour apporter des propriétés spécifiques (résistance à l'usure, l'oxydation..)⁽¹⁾. Toute la problématique d'un formulateur de graisses lubrifiantes est de parvenir à fabriquer une dispersion assez stable pour assurer la structure de la graisse et sa résistance au cisaillement en applications mais pas trop, pour libérer un film d'huile de manière contrôlée, suffisamment épais pour lubrifier des pièces métalliques en mouvement.

Une première étude sur la rhéologie des graisses contenant des polymères⁽²⁾ a permis de mettre en évidence l'apport bénéfique de certains polymères sur la stabilité mécanique des graisses finies et a également démontré que la rhéologie était un outil complémentaire aux tests de laboratoire conventionnels.

Dans cette nouvelle étude, la rhéologie sera utilisée pour quantifier la contribution des différents constituants de ces graisses (huile, polymère et épaississant) et ainsi mieux comprendre le comportement global des graisses sous cisaillement; les graisses examinées se caractérisent par des teneurs variables en épaississant et en polymère.

Ainsi, l'influence de la température et de la teneur en polymère sur les comportements rhéologiques de l'huile et des solutions de polymères dans l'huile seront étudiés dans une première partie.

Puis, l'analyse en écoulement et fluage des graisses permettra de comparer et de quantifier les effets de l'épaississant et du polymère sur le comportement des graisses. Enfin, la comparaison des essais d'écoulement et de fluage avec des mobiles à surfaces lisses et rugueuses donnera un ordre de grandeur du glissement qui sera corrélé avec la propriété de ressuage des graisses après malaxage.

Présentation du produit

Les graisses de cette étude ont toutes été préparées dans les mêmes conditions de fabrication : un savon de 12-Hydroxystéarate de Lithium est formé par réactions stoechiométriques de l'ester gras 12-Hydroxystéarate de Méthyle sur la base Hydroxyde de Lithium en solution dans une huile minérale naphénique. Ce savon constitue l'agent épaississant et cristallise en fibres torsadées, formant ainsi un réseau tridimensionnel qui emprisonne l'huile. Dans une deuxième étape, le savon est déshydraté et dispersé dans la même huile; le produit obtenu est enfin homogénéisé pour former la graisse finale.

Un même polymère est incorporé à des teneurs différentes dans chacune des graisses. Le **Tableau 1** rassemble les résultats de l'évaluation de ces graisses par les tests normalisés de laboratoire.

Les graisses contenant le polymère se distinguent des graisses références (1 et 6) par une excellente stabilité au laminage notamment en conditions sévères et par un ressuage après malaxage limité. D'autre part, plus la teneur en polymère est élevée, plus le ressuage dynamique après malaxage est faible alors que le ressuage statique est important.

Graisse	1	2	3	4	5	6
% de matières grasses	8.37	6.80	6.77	6.86	6.79	6.80
% de polymère	0	0.11	0.30	0.46	0.59	0
Consistance ^a PNT	270	263	265	279	260	260
PT60	275	265	283	291	282	255
Δ	+5	+2	+18	+12	+22	-5
Ressuage après malaxage ^b						
% huile ressuée	9.3±0.7	8.6±0.3	7.6±0.1	6.2±0.2	5.6±0.3	8.9±0.4
PNT _{1/2} cône	150	134	136	141	137.5	132
Δ	+35	+10	+12	+8	+20	+9
Ressuage statique à 80°C ^c						
% huile ressuée	7.5	6.8	8.3	9.2	10.5	8.2
Stabilité mécanique						
Δ=PT100000-PT60	+13	+8	-2	+9	+1	+17
Stabilité au laminage ^d						
Rolling normal	+8	-8	-10	+5	+10	-4
Rolling sévère	+82	+20	+22	+23	+22	+114

Tableau 1

^a : la consistance est donnée par les valeurs de pénétrations sur des échantillons non travaillés (PNT) et travaillés (PT) ; la pénétration est la profondeur mesurée en dixièmes de millimètre avec laquelle un cône standardisé s'enfonce dans un réceptacle de graisse quand il tombe sous son propre poids ; le travail du produit se fait au travers d'une grille montée sur piston à différents coups (60 et 100000) ; plus la différence de pénétrations avant et après travail est faible, meilleure est la stabilité mécanique du produit (ASTM D217).

^b : ce test qui est la propriété de Mobil consiste à malaxer la graisse dans un chemin de trois billes pour simuler le travail subi dans un roulement à billes ; la quantité d'huile ressuée par le produit après ce malaxage et la pénétration non travaillée sont alors mesurées.

^c : dans ce test réalisé ici à 80°C pendant 7 jours, on mesure la quantité d'huile ressuée par un échantillon de graisse soumis à un poids de 100g au travers d'un tamis (IP121).

^d : l'essai de Rolling normal consiste à cisailer la graisse entre un cylindre en rotation et un rouleau pendant 2 heures à température ambiante et à mesurer la variation de consistance sur l'échantillon travaillé 60 coups avant et après l'essai. Cet essai est rendu sévère par des conditions de durée et température plus élevées (ASTM D1831).

Partie I. Comportements rhéologiques de l'huile et des solutions de polymères

Matériel et procédure

Les mesures ont été effectuées à l'aide du rhéomètre à contrainte imposée Carrimed CSL 100, muni de géométries cylindriques coaxiales à double entrefer avec un entrefer de 500 μm . Le comportement de l'huile et des solutions de polymère a été étudié en mode écoulement dans la gamme de températures [15 ; 80°C], en suivant la procédure suivante :

- ❶ Stabilisation des géométries à la température de l'essai pendant 15 min pour s'affranchir des variations de l'entrefer avec la température
- ❷ Stabilisation du produit à la température de l'essai pendant 15 min
- ❸ balayage en contraintes de 0.1 à 50 Pa en 30 minutes en progression logarithmique pour obtenir des temps d'applications de chaque contrainte de 9s, analogue aux temps impliqués dans l'étude des graisses.

Etude du comportement de l'huile

Répétabilité des mesures

Le % d'erreur sur les mesures de la viscosité de l'huile à 25°C est largement inférieur à 10% et permet donc de valider la procédure (**Tableau 2**).

η_1	η_2	η_3	η_4	η_{moyenne}	% d'erreur
$4.48 \cdot 10^{-1}$	$4.24 \cdot 10^{-1}$	$4.26 \cdot 10^{-1}$	$4.18 \cdot 10^{-1}$	$4.29 \cdot 10^{-1}$	± 2.6

η : viscosité en Pa.s à 25°C

Tableau 2

Résultats

Quelque que soit la valeur de la température, l'huile se comporte comme un fluide Newtonien. D'autre part, sa viscosité diminue fortement lorsque la température augmente (**Tableau 3**) ; Entre 15°C et 80°C, sa viscosité chute de 97.65%. Ce facteur permet de caractériser le comportement en fonction de la température de cette huile et peut donc être défini comme son **caractère thermofluidifiant**.

T (°C)	15	20	25	30	40	50	60	70	80
η (Pa.s)	1.008	$6.48 \cdot 10^{-1}$	$4.48 \cdot 10^{-1}$	$3.10 \cdot 10^{-1}$	$1.49 \cdot 10^{-1}$	$8.9 \cdot 10^{-2}$	$5.4 \cdot 10^{-2}$	$3.5 \cdot 10^{-2}$	$2.4 \cdot 10^{-2}$

T: Température en °C

η : Viscosité en Pa.s

Tableau 3

Etude du comportement des solutions de polymère

Plusieurs solutions du même polymère dans l'huile de la graisse ont été préparées à des teneurs différentes et examinées en écoulement, notamment à 80°C pour assurer une bonne solubilité des échantillons les plus concentrés.

Répétabilité des mesures

De même, l'écart sur les mesures de la viscosité de la solution à 0.28% en polymère à 80°C est très inférieur à 10% permettant ainsi de valider la procédure (**Tableau 4**).

η_1	η_2	η_3	η_4	η_{moyenne}	% d'erreur
$3.41 \cdot 10^{-2}$	$3.37 \cdot 10^{-2}$	$3.32 \cdot 10^{-2}$	$3.34 \cdot 10^{-2}$	$3.36 \cdot 10^{-2}$	± 1.0

η : viscosité à 80°C de la solution à 0.28% en polymère (en Pa.s)

Tableau 4

Résultats

Dans une première étude, on a examiné l'influence de la concentration en polymère à une température donnée 80°C (**Tableau 5**).

C (%)	0	0.1	0.28	0.56	1	1.5	2	3
η (Pa.s)	$2.36 \cdot 10^{-2}$	$2.61 \cdot 10^{-2}$	$3.41 \cdot 10^{-2}$	$4.97 \cdot 10^{-2}$	$8.55 \cdot 10^{-2}$	$15.22 \cdot 10^{-2}$	$25.04 \cdot 10^{-2}$	$73.5 \cdot 10^{-2}$
$\eta_{\text{spé}}$ (%)	0	10.6	44.4	110.4	261.7	543.8	959.2	3009.1

C: Concentration en % massique η : Viscosité en Pa.s

$\eta_{\text{spé}}$: Viscosité spécifique en % = $(\eta_{\text{solution à C\%}} - \eta_{\text{huile}}) / \eta_{\text{huile}} * 100$ à 80°C

Tableau 5

Quelque que soit la concentration en polymère, les solutions de polymère dans l'huile se comportent également comme des fluides Newtoniens dans la gamme de concentrations étudiée [0.1% ;3%] et à 80°C.

De plus, la viscosité de ces solutions augmente fortement quand la concentration en polymère augmente ; les valeurs des viscosités spécifiques permettent de quantifier le **caractère épaississant du polymère** qui varie de 10.6 à 3009% dans la gamme de concentrations [0.1;3%].

L'influence de la température sur le comportement d'une solution à une concentration donnée a ensuite été étudiée. La solution à 0.28% a été choisie pour sa bonne solubilité dans toute la gamme de température balayée [15 ;80°C]. Le **Tableau 6** rassemble les valeurs des viscosités de la solution et des viscosités spécifiques.

T (°C)	15	20	25	30	40	50	60	70	80
η (Pa.s)	1.379	$9.098 \cdot 10^{-1}$	$5.859 \cdot 10^{-1}$	$4.129 \cdot 10^{-1}$	$2.147 \cdot 10^{-1}$	$1.265 \cdot 10^{-1}$	$7.69 \cdot 10^{-2}$	$4.91 \cdot 10^{-2}$	$3.34 \cdot 10^{-2}$
$\eta_{\text{spé}}$ en %	36.8	40.4	30.8	33.3	44.0	42.3	41.2	39.7	44.4

T: Température en °C

η : Viscosité apparente en Pa.s

$\eta_{\text{spé}}$: viscosité spécifique en % à la température T = $(\eta_{\text{solution à 0.28\% à T}} - \eta_{\text{huile à T}}) / \eta_{\text{huile à T}} * 100$

Tableau 6

Comme l'huile seule, la solution à 0.28% en polymère se comporte comme un fluide Newtonien sur toute la gamme de température étudiée et sa viscosité chute fortement quand la température augmente. D'après les valeurs des viscosités spécifiques, le polymère présent à 0.28% permet d'épaissir l'huile entre 30.8 et 44.4%, plus à haute température ($\geq 40^\circ\text{C}$) qu'à basse température (à l'exception de la mesure à 20°C). Le polymère se comporte donc légèrement comme un améliorateur d'indice de viscosité. La grandeur Sélectivité S, définie

comme le rapport des viscosités spécifiques à haute et basse température permet de quantifier ce caractère d'améliorateur d'indice de viscosité :

$$S = (\eta_{\text{spé}} \text{ à } 80^{\circ}\text{C}) / (\eta_{\text{spé}} \text{ à } 15^{\circ}\text{C})$$
$$S (\text{solution à } 0.28\%) = 1.12$$

Partie II. Comportements rhéologiques des graisses

Matériel et procédure

Les graisses de cette étude ont été examinées en modes écoulement et fluage à l'aide du rhéomètre à contrainte imposée Bohlin DSR 50, avec des géométries plan-plan de diamètre 20mm à surfaces lisses et rugueuses et avec un entrefer de 1mm. La température du plan inférieur est régulée par un bain thermostaté à 0.1° près.

Les procédures pour l'écoulement et le fluage prennent en compte « la sensibilité » des produits à toute manipulation ou cisaillement antérieurs à l'essai et se composent ainsi de différentes étapes ⁽³⁾ :

- ❶ Stabilisation du produit à la température de l'essai pendant 15 min
- ❷ Précisaillement à une contrainte constante σ_0 pendant un temps « court » de 60s ($\sigma_0=400\text{Pa}$)
- ❸ Repos du produit pendant 15 min pour retrouver un état de déformation stable

Pour l'écoulement : Balayage en contraintes de 25 à 1000 Pa en 1296s en progression logarithmique, avec des temps d'application de chaque contrainte de l'ordre de 8s

Pour le fluage : Application d'une contrainte constante pendant 240s et repos du produit pendant 720s

Un nouvel échantillon de graisse est utilisé à chaque essai de fluage

Pour limiter le problème du glissement aux parois qui est accentué par le ressuage d'huile dans le cas des graisses lubrifiantes, une géométrie à surfaces rugueuses a été utilisée pour les essais d'écoulement et de fluage. Il s'agit d'un système plan-plan sablé de rugosité moyenne 10 μm , de l'ordre de grandeur des dimensions des fibres du savon de Lithium (épaisseur*largeur*longueur = 0.1 μm *0.2 μm *10 μm).

Essais d'écoulement (surfaces rugueuses)

Répétabilité des mesures

Tous les essais d'écoulement ont été doublés et l'écart entre les valeurs des viscosités apparentes obtenu est largement inférieur à 10% pour les 6 graisses, validant ainsi la procédure (*Tableau 7*).

Résultats

Le *Tableau 7* regroupe les valeurs des viscosités apparentes des graisses à faibles et forts gradients (respectivement de l'ordre de 2.5 10⁻⁴ et 10 s⁻¹) et des contraintes correspondantes .

Graisse	γ_1	η_1	σ_1	σx en %	γ_2	η_2	σ_2	σx en %	$\eta_{sp\acute{e}1}$	$\eta_{sp\acute{e}2}$
1	$2.50 \cdot 10^{-4}$	$1.2114 \cdot 10^6$	303	0.13	9.60	75.44	720	7.7	6.2	3.8
2	$2.47 \cdot 10^{-4}$	$1.2313 \cdot 10^6$	303	2.4	9.99	75.62	755	2.7	7.9	4.1
3	$2.55 \cdot 10^{-4}$	$9.0074 \cdot 10^5$	229	7.9	10.60	62.13	656	6.4	-21.1	-14.50
4	$2.51 \cdot 10^{-4}$	$7.9240 \cdot 10^5$	199	5.1	9.91	61.69	611	2.5	-30.6	-15.1
5	$2.54 \cdot 10^{-4}$	$5.6375 \cdot 10^5$	143	0.48	10.07	59.32	597	1.6	-50.6	-18.4
6	$2.60 \cdot 10^{-4}$	$1.1411 \cdot 10^6$	296	9.2	9.94	72.67	720	8.5		

γ : Gradient de cisaillement en s^{-1} η : Viscosité apparente en Pa.s σ : contrainte en Pa
 σx : écart-type calculé en % sur les valeurs des viscosités apparentes
 $\eta_{sp\acute{e}}$: viscosité spécifique en % au gradient $\gamma = (\eta_{graisse\ à\ \gamma} - \eta_{graisse\ 6}) / \eta_{graisse\ 6} * 100$

Tableau 7

Contrairement aux huiles, les graisses ont une viscosité apparente qui dépend fortement du gradient de cisaillement; dans la gamme de gradient explorée [$10^{-4}; 50\ s^{-1}$], leurs viscosités chutent de 5 décades lorsque le gradient augmente soit encore de 99.99%; les graisses se comportent donc comme des produits rhéofluidifiants et ce pourcentage peut définir leur caractère rhéofluidifiant.

Compte tenu des valeurs des écarts type, on ne peut affirmer que le polymère présent dans la graisse 2 permet de l'épaissir et que son action épaississante est même supérieure à celle du savon présent en excès dans la graisse 1. En revanche dès que ce polymère est présent à une teneur supérieure, il permet de réduire les viscosités des graisses, davantage à faibles qu'à forts gradients. Au delà d'une teneur, ce polymère a donc une action fluidifiante dans la graisse.

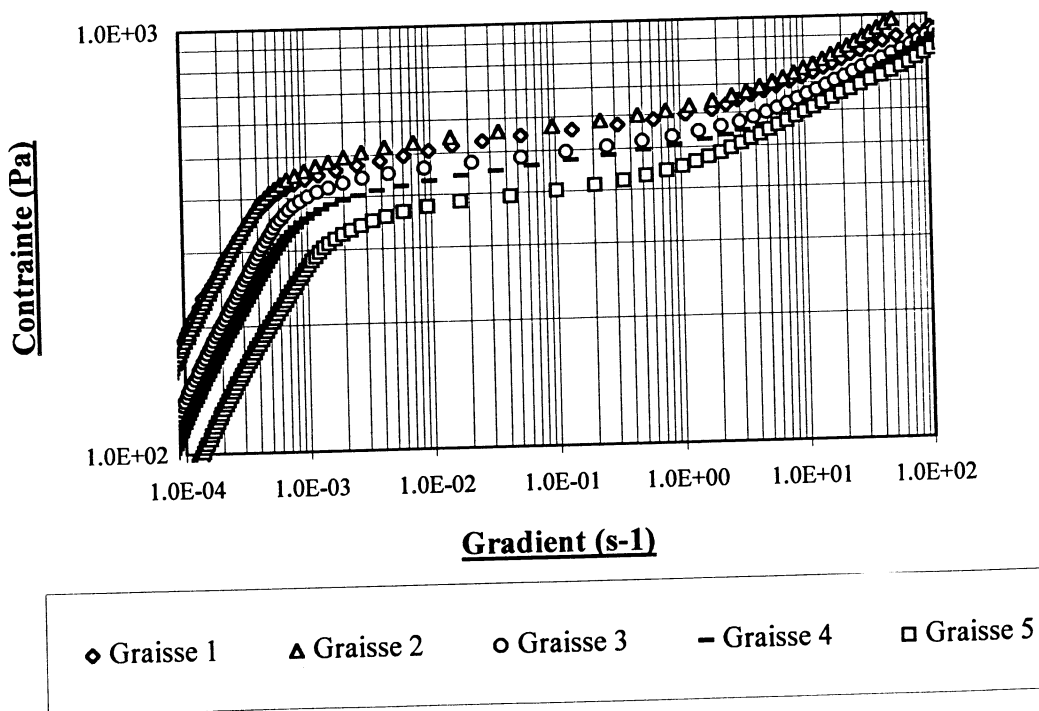


Figure 1

Analyse des seuils

En écoulement, trois seuils peuvent être définis pour comparer des comportements :

σ_1 : la contrainte correspondant à la première réponse du produit en déformation.

σ_2 : la contrainte correspondant au point d'inflexion de la courbe d'écoulement $\sigma=f(\dot{\gamma})$ en échelle logarithmique; d'un point de vue pratique, σ_2 est déterminée par le seul maximum que présente l'écart type des viscosités. Ce point d'inflexion correspondrait à un équilibre pour lequel les vitesses de destruction et restauration des liaisons intermoléculaires sont identiques ⁽⁴⁾.

σ_3 : la contrainte déterminée par l'intersection de l'asymptote à la courbe $\sigma=f(\dot{\gamma})$ en échelle linéaire avec l'axe des ordonnées (*Figure 2*). Ce seuil correspondrait à la rupture totale des liaisons interfibrilles et à l'alignement de ces fibres dans le sens de l'écoulement.

Les valeurs de σ_1 , σ_3 dépendent respectivement de la sensibilité du rhéomètre et de l'échelle du graphique utilisé, mais elles seront exploitées à titre comparatif.

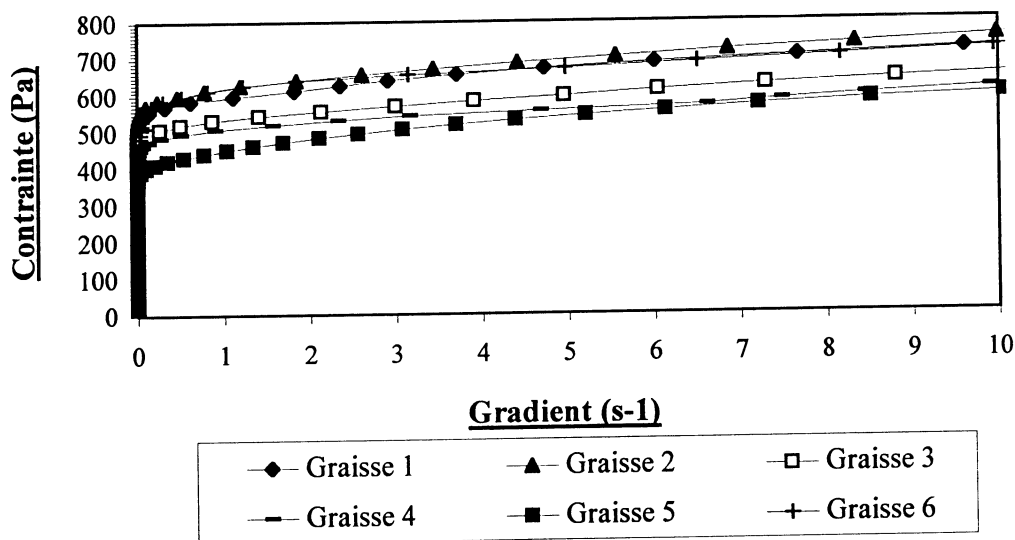


Figure 2

D'après les valeurs de ces trois seuils regroupées dans le *Tableau 8*, plus la teneur en polymère est élevée, plus les seuils sont faibles; on retrouve l'action fluidifiante du polymère pour la graisse. D'autre part, la graisse 2 a effectivement un comportement différent puisqu'elle permet d'atteindre des seuils supérieurs à la graisse référence 6 et un seuil d'inflexion plus élevé que la graisse 1. Le polymère à cette teneur agit donc sur le niveau des forces intermoléculaires. Enfin, plus le pourcentage de matières grasses est élevé dans une graisse, plus les seuils σ_1 et σ_2 sont importants, σ_3 restant inchangé; l'action de l'épaississant est donc essentiellement concentrée sur la gamme des faibles et moyens gradients de cisaillement.

Graisse	1	2	3	4	5	6
σ_1	234	194	98	96	96	161
σ_2	519	570	507	507	392	348
σ_3	630	640	550	510	500	620

Tableau 8

Essais de fluage (surfaces rugueuses)

Parallèlement, les essais de fluage ont permis d'encadrer pour chacune des graisses un seuil correspondant au passage d'un comportement élastique à viscoélastique. Le **Tableau 9** rassemble les complaisances instantanées de fluage J_0 , les complaisances J_t et J_t' respectivement en fin de fluage ($t=240s$) et de recouvrance ($t'=720s$) ainsi que la part d'augmentation de la complaisance au cours du fluage, sa part de récupération pendant la recouvrance et la valeur de $1/J_0$ correspondant à un module d'élasticité instantané mesuré à $0.05s$ ⁽⁵⁾, pour la graisse 2.

σ	J_0	J_t	J_t'	J_t-J_0/J_0 en %	J_t-J_t'/J_t en %	J_0/J_t en %	$1/J_0$
400	$1.18 \cdot 10^{-4}$	$3.37 \cdot 10^{-4}$	$1.07 \cdot 10^{-4}$	183	68.1	35.3	8411
415	$1.28 \cdot 10^{-4}$	$4.48 \cdot 10^{-4}$	$1.88 \cdot 10^{-4}$	245	58.0	28.7	7791
440	$1.35 \cdot 10^{-4}$	$5.80 \cdot 10^{-4}$	$3.08 \cdot 10^{-4}$	329	46.9	23.3	7395
445	$1.28 \cdot 10^{-4}$	$9.02 \cdot 10^{-3}$	$8.70 \cdot 10^{-3}$	6963	3.6	1.4	7825
450	$1.55 \cdot 10^{-4}$	$2.97 \cdot 10^{-2}$	$2.92 \cdot 10^{-2}$	18991	1.5	0.5	6434
455	$1.42 \cdot 10^{-4}$	$5.29 \cdot 10^{-2}$	$5.24 \cdot 10^{-2}$	37194	0.9	0.3	7047

Tableau 9 : Fluage de la graisse 2

Les seuils de fluage des autres graisses ont été ainsi encadrés; le **Tableau 10** regroupe les valeurs de ces seuils et du module d'élasticité instantané $1/J_0$, qui n'est pas affecté par le niveau de contrainte appliqué mais dépend de la graisse elle-même.

Graisse	1	2	3	4	5	6
[seuil] Pa	[430;435]	[440;445]	[320;330]	[320;330]	[390;395]	[400;410]
$1/J_0$ moyen	10383	7484	6135	5863	3920	8438

Tableau 10

Les seuils de fluage sont rangés comme les seuils d'écoulement; la graisse 2 se distingue à nouveau en augmentant le seuil de la graisse référence 6 et le polymère présent dans la graisse a tendance à diminuer ce seuil (exception faite pour la graisse 5). De plus, **quelque que soit sa teneur, le polymère diminue le module d'élasticité instantané de la graisse**, réduisant ainsi la part élastique dans le comportement de la graisse.

On peut également remarquer que, plus le pourcentage d'épaississant est élevé, plus le module est important; l'écart entre les modules des graisses 6 et 1 est de 23%, tout comme l'est l'écart des pourcentages de matières grasses de ces deux graisses. **Le module $1/J_0$ serait donc directement lié à la quantité d'épaississant présent dans la graisse.**

Etude du glissement (surfaces lisses)

Des essais similaires en écoulement et fluage (même procédure et grandeurs examinées) ont été réalisés sur les 6 graisses avec un système plan-plan de mêmes dimensions mais avec des surfaces lisses.

Le **Tableau 11** rassemble les grandeurs obtenues en écoulement (σ_1 , et σ_3) et **la Figure 3** permet de comparer les courbes d'écoulement avec les deux surfaces pour les graisses 2,5 par exemple.

Graisse	1	2	3	4	5	6
σ_1	98	120	119	96	121	59
σ_3	590	580	540	415	435	310

Tableau 11

La répétabilité des essais d'écoulement avec surfaces lisses n'est pas très bonne (σ_x souvent supérieur à 25%); les courbes d'écoulement sont donc présentées à titre indicatif. En revanche, les valeurs de σ_1 et σ_3 sont déterminées dans des zones où la répétabilité est inférieure à 10%.

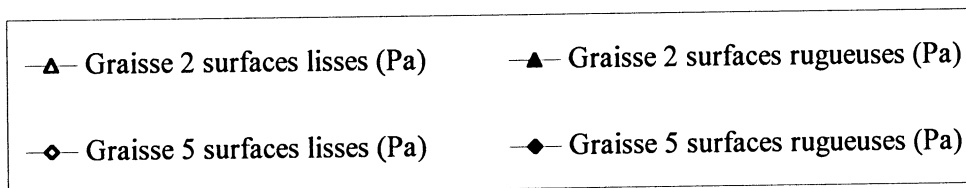
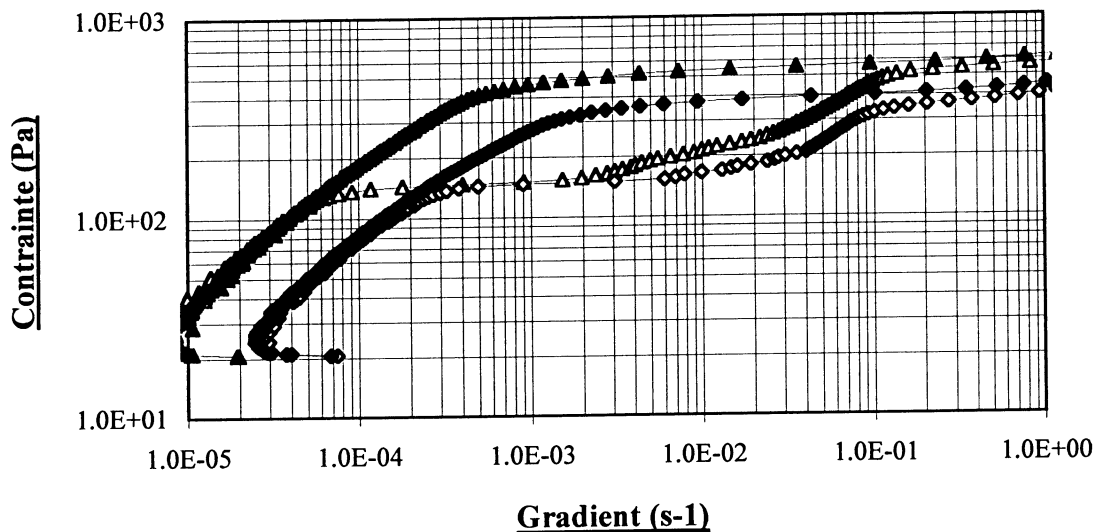


Figure 3

On retrouve les tendances qui se dégagent avec les surfaces rugueuses : diminution du seuil avec des teneurs en polymère et en épaississant plus élevées.

Les résultats des essais de fluage avec des surfaces lisses sont présentés dans le **Tableau 12**;

Graisse	1	2	3	4	5	6
[seuil] Pa	[130;135]	[155;160]	[145;150]	[140;145]	[135;140]	[135;140]
Δ_{max} [seuil]	280	290	195	190	260	300
1/Jo moyen	18560	16609	11111	8823	5212	18731
Δ 1/Jo moyen	10122	9125	4976	2960	1292	8348
% d'huile ressuée après malaxage	9.3±0.7	8.6±0.3	7.6±0.1	6.2±0.2	5.6±0.3	8.9±0.4

Δ : différence entre surfaces rugueuses et lisses

Tableau 12

Le phénomène de glissement a pour effet de donner des valeurs de seuils beaucoup plus faibles mais les mêmes tendances se dégagent : diminution du seuil quand la teneur en polymère augmente, comportement singulier de la graisse 2 qui augmente le seuil de la graisse référence. En revanche, les essais ne permettent pas de distinguer l'effet du pourcentage en épaississant.

Enfin, si l'on examine l'écart des modules d'élasticité instantanée obtenus avec des mobiles à surfaces rugueuses et lisses, dû au glissement, on constate que cet écart varie dans le même sens que le pourcentage d'huile ressuée après malaxage. Cette tendance permettrait de relier deux propriétés des graisses : leur comportement sous cisaillement et leur capacité à libérer un film d'huile lorsqu'elles sont soumises à un malaxage.

CONCLUSIONS

Cette étude a donc permis de quantifier l'effet d'un polymère sur le comportement d'une graisse et de son huile : alors que ce polymère a une action épaississante importante pour l'huile, davantage à hautes températures qu'à basses, il a une action « fluidifiante » pour les graisses soumises au cisaillement lorsqu'il est incorporé au delà d'une certaine teneur. Au cours de cette étude, le module d'élasticité instantanée déterminé en fluage a permis de quantifier l'effet de la teneur en épaississant et de donner un ordre de grandeur du phénomène de glissement. Une corrélation avec les propriétés de ressuage des graisses après malaxage a pu alors être possible. Une étude du comportement au cisaillement de ces mêmes graisses en fonction de la température pourrait compléter ce travail et comparer leurs caractères rhéo et thermofluidifiants.

Références bibliographiques

- (1) : *Lubricating Grease Guide*, National Lubricating Grease Institute, Fourth Edition
- (2) : *Formulations de graisses lubrifiantes et rhéologie*, B. Petitalot, G. Daniel, G. Muller, 33^{ème} Colloque du GFR, 1998
- (3) : *Rhéologie des graisses lubrifiantes et des adhésifs. Liens avec le secteur automobile*, R. Mas, Thèse INPG Grenoble, 1992
- (4) : *Amazing Grease*, L. Hamnelid, AB Axel Christiernsson, 57^{ème} meeting annuel du NLGI
- (5) : *Etude rhéologique de graisses minérales, corrélations avec la structure*, G. Blettner, DEA INSA Lyon, 1997

MODELISATION DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE D'EMULSIONS HUILE/EAU EN PRESENCE DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS EN CASEÏNATE DE SODIUM.

D. Quemada
LBHP, Université Paris7 - Denis Diderot

RESUME

Le comportement rhéologique d'émulsions concentrées huile/eau en régime stationnaire, montre des caractéristiques rhéofluidifiantes qui sont associées aux modifications de la concentration en émulsifiant (protéines). Lorsque cette dernière augmente, il apparaît dans le rhéogramme, un domaine de contrainte où le comportement est rhéo-épaississant.

Le modèle rhéologique développé prend en compte les caractéristiques structurelles de ces émulsions qui dépendent de paramètres physiques et physico-chimiques, notamment la concentration en protéine (caseinate de sodium) qui commande la floculation par déplétion. En plus des processus classiques –formation par effet brownien et par déplétion, rupture sous cisaillement–, la cinétique de structure introduite dans le modèle contient des contributions du type floculation-défloculation induites par le cisaillement.

Les prédictions de ce modèle sont confrontées aux données expérimentales de Dickinson et Golding, (1997) et les interprétations physiques des différents paramètres sont discutées.

INTRODUCTION

Dans une étude récente [1], Dickinson et Golding ont montré que le comportement rhéologique d'émulsions concentrées huile/eau, préparées à différentes concentrations c en caseinate de sodium, était très dépendant de c . Lorsque le rapport protéine/huile varie (c'est à dire, à fraction volumique d'huile $\phi = Cte$, lorsque c varie), trois types de comportement rhéologique ont été mis en évidence : (i) un comportement faiblement rhéofluidifiant, dépendant du temps, associé à une floculation par pontage, lorsque $c < c_0$, c_0 étant la concentration qui assure juste le recouvrement total des gouttelettes ; (ii) un comportement newtonien stable, lorsque $c \approx c_0$; (iii) un comportement fortement rhéofluidifiant, associé à la floculation par déplétion, si $c > c_0$, avec apparition d'une région rhéo-épaississante.

Dans cet article, les résultats d'une modélisation structurelle du comportement à $c > c_0$ sont discutés, dans le cas d'une émulsion aqueuse de n -tétradécane à $\phi = 0.35$, avec $c = 4, 5$ et 6 % (concentrations massiques par rapport à l'émulsion totale). Les viscosités mesurées (cf. Fig.3 dans [1]) ont été reportées sur la Fig.1 afin d'être comparées aux prédictions d'un modèle structurel dont les principales caractéristiques sont discutées dans le prochain §.

1 –LE MODELE RHEOLOGIQUE STRUCTUREL

Le point de départ est le modèle structurel développé en [2] et dont on rappelle ici les principales hypothèses.

On suppose que sous contrainte σ donnée, l'émulsion peut être considérée comme une dispersion d'Unités Structurelles (US) –comme des floccs ou des amas de gouttelettes– de forme grossièrement sphérique et ayant une distribution de tailles centrée sur un rayon $R(\dot{\gamma})$ ou $R(\sigma)$, résultant de l'équilibre dynamique : *floccs* (rayon R) \rightleftharpoons *gouttelettes* (rayon a).

Le caractère rhéofluidifiant est associé à la rupture progressive des US soumises au cisaillement (i.e. conduisant à une décroissance de la fraction de gouttelettes flocculées et à la libération du fluide suspendant qui avant la rupture était immobilisé dans les US). Cela

entraîne une réduction de la fraction volumique effective ϕ_{eff} , et par suite de la viscosité, donnée par

$$\eta_r = \left(1 - \frac{\phi_{eff}}{\phi_m}\right)^{-2}$$

Les cinétiques de formation et de réduction des US sont supposées mettre en jeu des processus de type relaxation. La fraction en nombre de gouttelettes floculées, S , utilisée comme variable structurelle, est donc gouvernée par :

$$\frac{dS}{dt} = \kappa_A(1-S) - \kappa_D S \quad (1)$$

où κ_A et κ_D sont les constantes cinétiques, respectivement de formation et de rupture des US, toutes deux dépendantes de la contrainte σ . La solution stationnaire de (1) est donnée par $S_{eq} = (1 + \theta)^{-1}$, ce qui conduit à écrire la viscosité sous la forme générale

$$\eta = \eta_\infty \left[\frac{1 + \theta}{\chi + \theta} \right]^2 \quad (2)$$

où $\theta = \kappa_D / \kappa_A = f(\sigma / \sigma_c)$, σ_c étant une contrainte de cisaillement caractéristique du système, et en posant $\chi = \chi(\phi) = \left(\frac{\eta_\infty}{\eta_0}\right)^{\frac{1}{2}}$, η_∞ et η_0 étant les viscosités limites stationnaires à $\sigma \gg \sigma_c$ et

$\sigma \ll \sigma_c$, respectivement. Rappelons que, dans le cas des suspensions diluées de Sphères Dures, θ est le nombre de Péclet, $Pe = t_{Br} \dot{\gamma}$, puisqu'alors $\kappa_A = t_{Br}^{-1}$ (l'inverse du temps de diffusion brownienne) et que $\kappa_D \approx \dot{\gamma}$: en termes de σ , on a donc $\sigma_c \approx \sigma_{Br} = KT / a^3$. Une variation non linéaire, requise pour les systèmes concentrés, est prise sous la forme (la plus simple)

$$\theta \equiv (Pe)^p \approx (\sigma / \sigma_{Br})^p \quad (3)$$

L'adaptation de ce modèle au système étudié repose sur les modifications suivantes :

1.1- Généralisation du nombre de Péclet Pe .

Ce nombre peut être interprété comme le rapport de l'énergie hydrodynamique (associée aux forces de cisaillement) à l'énergie thermique (associée au mouvement brownien), $Pe \approx \sigma a^3 / KT$, i.e. le rapport de l'énergie responsable de la rupture des US à celle de leur formation. En présence d'une énergie d'interaction W_{int} , la généralisation de Pe au cas des fluides complexes est obtenue d'une manière tout à fait similaire, c'est à dire $Pe^* \approx \sigma a^3 / W_{int}$. Il est alors possible d'introduire une nouvelle contrainte critique $\sigma_C = W_{int} / a^3$ qui remplace σ_{Br} dans (3), $Pe^* \approx \sigma / \sigma_C$.

Dans le cas de la Floculation par Déplétion (FD), on peut supposer que la formation des flocs résulte de l'addition des effets de déplétion aux effets browniens, soit $W_{int} = KT + \Delta G_{dep}$ où ΔG_{dep} est la variation d'énergie libre due à la déplétion. En posant $\alpha = \Delta G_{dep} / KT$, la contrainte critique σ_C devient

$$\sigma_C = \sigma_{Br} (1 + \alpha) \quad (4)$$

La dépendance en c de ΔG_{dep} entraînant celle de la contrainte critique σ_C , l'introduction de

$$\theta \approx (\sigma / \sigma_C)^p \quad (5)$$

dans (2) devrait donc permettre, au moins en partie, d'expliquer simplement les variations de la viscosité avec c , observées par Dickinson et Golding.

Mais le caractère monotone de la fonction θ définie en (5), et par suite celui de η , ne permet évidemment pas de prédire des comportements "mixtes", avec un domaine rhéo-épaississant encadré par deux domaines rhéofluidifiants, du type de la bosse observée sur la courbe $\eta(\sigma)$ de l'émulsion stabilisée à 6% de protéine : il est nécessaire de faire appel à un nouveau processus dans la cinétique du système qui permette d'expliquer la croissance de la viscosité avec le cisaillement. A l'image de la floculation orthocinétique dans les systèmes dilués, on peut introduire une *floculation induite par le cisaillement* (FIC) qui serait capable d'entraîner la formation d'amas et par suite le rhéo-épaississement. Au fur et à mesure que c augmente, ce processus, qui contribue à l'augmentation de la constante cinétique de formation κ_A , ne deviendrait effectif qu'au delà d'une nouvelle contrainte critique σ_F . Cependant il est clair que la FIC ne pourrait pas se maintenir à fort cisaillement et qu'un autre processus devrait en limiter les effets, conduisant à la rhéofluidification observée à forte contrainte. C'est ce qui a conduit aux choix suivants pour κ_A et κ_D .

1.2- Choix des constantes cinétiques

Sous la forme la plus simple, on peut prendre

$$\kappa_A = \kappa_{A0} [1 + (\sigma / \sigma_F)^q] \quad (6)$$

où $\kappa_{A0} = t_{Br}^{-1}$ est la limite à cisaillement nul, dont la valeur est conforme à la limite (brownienne) de la théorie de Smoluchowski, et q est un exposant, considéré ici comme empirique¹. Mais une telle augmentation de κ_A avec σ ne peut être maintenue aux très forts cisaillements, la croissance illimitée de la taille des US étant impossible en présence de forces de cisaillement elles-mêmes croissantes. Il est donc indispensable d'introduire un second processus capable de s'opposer à la FIC à $\sigma > \sigma_F$, à savoir une *défloculation induite par le cisaillement* (DIC)² qui modifie la constante cinétique associée à la rupture des US, soit

$$\kappa_D = \xi (\sigma / \sigma_C)^p [1 + (\sigma / \sigma_S)^r] \quad (7)$$

expression qui introduit deux nouvelles variables, la contrainte critique σ_S et l'exposant r (avec, en plus, un facteur ξ de l'ordre de $1 s^{-1}$, qui assure l'homogénéité dimensionnelle). Par conséquent, θ aura la forme suivante

$$\theta = \xi \frac{(\sigma / \sigma_C)^p [1 + (\sigma / \sigma_S)^r]}{\kappa_{A0} [1 + (\sigma / \sigma_F)^q]} \quad (8)$$

Il faut noter que la présence du processus de floculation par déplétion exige que ΔG_{dep} soit supérieur au moins à quelques KT , ce qui entraîne $\sigma_C > \sigma_{Br}$.

Le modèle est maintenant complètement défini en portant (8) dans (2), donc avec 9 paramètres ouverts pour chaque rhéogramme, à savoir:

a/ les viscosités limites η_∞ et η_0

b/ les contraintes critiques σ_C , σ_F et σ_S , ainsi que les exposants correspondants p , q et r

c/ le facteur ξ ($\sim 1 s^{-1}$).

1.3 - Ajustement des paramètres du modèle aux données expérimentales.

Lorsqu'on dispose d'une série de rhéogrammes mesurés à différentes valeurs d'un paramètre m (comme c'est le cas ici avec la concentration c en caséinate de Na, cf. Fig.1), il

¹ Dans le cas de systèmes concentrés, comme ceux étudiés ici, il ne serait pas justifié d'utiliser les valeurs théoriques de la floculation orthocinétique.

² L'utilisation de ce processus semble plus justifiée que celle d'une *probabilité de collage* limitant la croissance de κ_A , et qui a été utilisée dans un précédent travail [3] : en effet, le concept d'un temps de séjour minimum, au voisinage l'un de l'autre, des éléments qui vont former une US, a une validité très discutable dans le cas des dispersions concentrées, du fait de la faible distance entre particules.

semble à priori tout naturel d'ajuster le modèle sur chacun des data, fixant ainsi les dépendances en m des différentes variables du modèle. Mais cela peut conduire à une certaine dispersion des valeurs de ces variables, notamment de celles pour lesquelles on n'attend pas de fortes variations avec m , rendant alors difficile leur interprétation physique. C'est pourquoi il est préférable de remplacer ces ajustements individuels par un ajustement "global" pour lequel ou bien on impose des valeurs toujours ouvertes, mais communes à tous les paramètres qui peuvent être supposés indépendants de m , ou bien on recherche des types de dépendances avec m communs à l'ensemble des data. Nous allons en voir l'illustration au prochain §.

2 – MODELISATION DE LA VISCOSITE D'EMULSIONS HUILE/EAU EN PRESENCE DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS EN CASEÏNATE DE SODIUM.

Pour chaque rhéogramme à concentration massique³ de protéine c fixée à 4, 5 et 6 %, une première tentative a conduit à d'excellents ajustements individuels, mais avec des variations irrégulières des paramètres en fonction de c , difficilement justifiables.

Dans les tentatives qui ont suivi et dont les résultats seront discutés au §3, la méthode d'ajustement a été changée conformément au §1.3, en imposant aux paramètres les différentes contraintes suivantes :

a/ exposants

Compte tenu de l'existence d'une courbe maîtresse pour le caractère rhéofluidifiant, une valeur unique (ouverte) est retenue pour p . Par ailleurs, les processus FIC-DIC pouvant être considérés comme indépendants de c (au moins au premier ordre), on suppose que les valeurs de q et de r sont communes (cette hypothèse étant faite aussi pour des raisons de simplicité).

b/ nombre de Péclet généralisé

D'après la théorie de la FD, $\alpha = \Delta G_{dep}/KT$ est une fonction qui, varie quasi-linéairement⁴ avec la concentration en molécules de protéine libres, mesurée par rapport à la masse du solvant, qui, en négligeant la différence de densité entre l'eau et l'huile, a pour expression $c_{lib} = (c - c_{ads})/(1 - \phi)$, où $c_{ads} = 3\phi \Gamma/\alpha$ est la concentration de la protéine dans les couches adsorbées, Γ étant le taux de recouvrement par unité de surface. On pose donc

$$\sigma_C = \sigma_{Br} [1 + A (c - c_{ads})/(1 - \phi)] \quad (9)$$

Dans le cas étudié ici, pour $\alpha = 0.2 \mu m$ et avec $\Gamma(c)$ mesuré en gm^{-2} (cf. Table 1 de la référence [1]), on a $c_{ads}\% = 1.5\phi \Gamma$. D'autre part, en prenant en première approximation une variation linéaire pour $\alpha(c_{lib})$ (d'après la Fig.5 de la référence [1]), on a $A = 0.7$.

c/ viscosité limite à fort cisaillement

Puisque les gouttelettes sont complètement dispersées à fort cisaillement, les trois dispersions doivent avoir la même viscosité relative $\eta_{\infty rel}$, c'est à dire que la dépendance $\eta_{\infty}(c)$ n'est due qu'à celle du fluide suspendant⁵. Afin de ne pas augmenter le nombre de paramètres ouverts, η_{∞} a donc été considérée comme égal à la viscosité d'un système de Sphères Dures dispersées dans une suspension de micelles (de concentration c_{lib}) dans solvant aqueux, i.e. comme le produit de la viscosité de cette dernière par la viscosité relative de la suspension de SD, soit

$$\eta_{\infty} = \eta_F (1 + [\eta]_{Prot} c_{lib}) \eta_{\infty rel} \quad (10)$$

en prenant $\eta_F \approx 0.001 Pa.s$ pour le solvant et $[\eta]_{Prot}$ = viscosité intrinsèque effective d'une suspension de micelles sphériques de masse spécifique $\rho = 1.05 \times 10^3 kg/m^3$, c'est à dire

³ mesurée par rapport à la masse totale de l'émulsion

⁴ Ces variations sont représentées sur la Fig.5 de la référence [1].

⁵ En imposant une valeur de η_{∞} ouverte mais identique pour les trois data, différents ajustements ont donné pour ce paramètre des valeurs très proches de $0.02 Pa.s$, mais ces ajustements n'étaient cependant pas assez satisfaisants pour $\sigma > 1 Pa$ (en particulier pour $c = 6 \%$).

$[\eta]_{Prot} = 2.5/\rho = 0.0238 \text{ dl/g}$. Pour l'ajustement, c'est donc $\eta_{\infty rel}$ qui a été considéré comme le paramètre ouvert.

d/ constante de formation à cisaillement nul, κ_{A0}

En milieu concentré, afin de tenir compte de l'effet des interactions entre gouttelettes sur le temps de diffusion brownienne, la limite $\kappa_{A0} = t_{Br}^{-1}$ a été calculée en remplaçant la viscosité du fluide suspendant η_F par une viscosité effective η_{eff} . Cette dernière a été trouvée très proche de η_{∞} au cours d'ajustement préliminaires. On a donc posé, avec $\kappa_{Br} = KT/6\pi \eta_F a^3$

$$\kappa_{A0} = \kappa_{Br} \eta_{\infty rel}$$

e/ méthode d'ajustement.

Pour des raisons de simplicité, on a imposé⁶ $\xi = 1 \text{ s}^{-1}$. La dépendance $\eta_0(c)$ est évidemment nécessaire puisque la viscosité à faible cisaillement dépend du niveau de floculation (comme dans toute suspension concentrée). De même, on peut s'attendre à ce que les contraintes critiques soient des fonctions de c . En conséquence, l'ajustement des data a été effectué en imposant

- à η_{∞}, p, q, r , des valeurs ouvertes, mais communes aux trois rhéogrammes
- à η_0, σ_F et σ_S , des valeurs différentes pour chaque rhéogramme à c donnée.

ce qui donne au total 13 paramètres ouverts.

Tous les ajustements ont été effectués en prenant les valeurs théoriques $\sigma_{Br} = 0.52 \text{ Pa}$ et $\kappa_{Br} = 27.45 \text{ s}^{-1}$, qui correspondent à un rayon moyen des gouttelettes $a = 0.2 \mu\text{m}$. Les valeurs calculées⁷ de c_{ads} donnent les valeurs de c_{lib} dans la phase aqueuse (3.65 ; 5.11 ; 6.67) proches de celles (3.4 ; 4.9 ; 6.6), données dans [1], Table 1.

3 – RESULTATS ET DISCUSSION.

Le Tableau 1 donne les valeurs des paramètres ouverts pour quatre ajustements, le facteur ξ ayant été laissé ouvert pour les trois derniers. L'ajustement IV a été obtenu en donnant à ($p; q; r$) les valeurs simples (1/2; 2.5; 3.5), proches de celles de l'ajustement III.

Tableau 1 : Valeurs des paramètres du modèle FIC
(les caractères gras correspondent aux paramètres fixés lors de l'ajustement)

	Ajustement I	Ajustement II	Ajustement III	Ajustement IV
$\xi \text{ (s}^{-1}\text{)}$	1	0,244	0,452	0,442
p	0,668	0,335	0,500	0,500
q	1,850	6,393	2,573	2,500
r	2,675	7,435	3,512	3,500
$\eta_{\infty rel}$	22,64	21,07	22,142	23,323
$\eta_{0.4\%} \text{ (Pa.s)}$	3,156	4,058	3,546	3,189
$\eta_{0.5\%} \text{ (Pa.s)}$	16,355	23,772	18,412	18,315
$\eta_{0.6\%} \text{ (Pa.s)}$	1.78 X 10 ⁴	1.78 X 10 ⁴	1,78E+04	1,78E+04
$\sigma_{F.4\%} \text{ (Pa)}$	0,0025	0,0059	0,0056	0,0055
$\sigma_{S.4\%} \text{ (Pa)}$	0,0049	0,0069	0,0078	0,0081
$\sigma_{F.5\%} \text{ (Pa)}$	0,0752	0,1339	0,1072	0,1114
$\sigma_{S.5\%} \text{ (Pa)}$	0,1447	0,1438	0,1447	0,1527
$\sigma_{F.6\%} \text{ (Pa)}$	0,1655	0,3398	0,2568	0,2614
$\sigma_{S.6\%} \text{ (Pa)}$	0,4398	0,3900	0,4206	0,4390

⁶ Nous reviendrons sur cette hypothèse dans la discussion

⁷ En représentant les variations du taux de couverture (cf.[1]) par la relation empirique $\Gamma = \Gamma_0 [1 - \exp(-c/c_1)^\beta]$ avec $\Gamma_0 = 3.275$, $c_1 = 1.58$, $\beta = 1.27$.

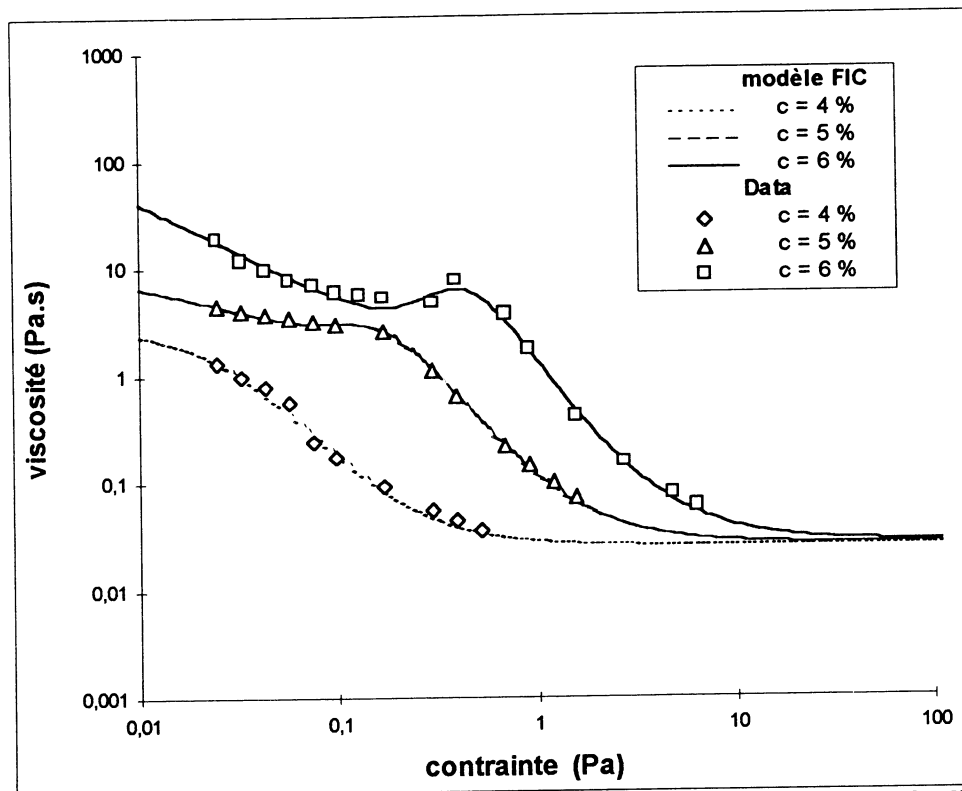


Fig.1- Comparaison des courbes modèles aux données rhéologiques de Dickinson et Golding [1].

La Fig.1 montre que la modélisation obtenue avec l'ajustement IV est très satisfaisante. Ce choix et les valeurs du Tableau 1 appellent les commentaires suivants :

A/ Exposants p , q , r et facteur ξ .

L'ajustement I, en imposant $\xi = 1$, est de qualité médiocre, tout spécialement dans la région de la bosse, à $c = 6\%$. Au contraire, en laissant ξ ouvert, l'ajustement II est le meilleur, obtenu pour $\xi \approx 0.25$, mais avec des valeurs de q et r , proches de 6 et 7, peut être trop élevées pour être interprétables physiquement. Le choix de valeurs intermédiaires, $0.2 < \xi < 1$ conduit à $1/3 < p < 2/3$ avec une différence $(r-q) \approx 1$. Mais la qualité des ajustements diminuant au fur et à mesure que ξ augmente (ce qui entraîne l'augmentation de p et la diminution de q et r), nous nous sommes limités au domaine $\xi < 1$. Un compromis a été le choix $p = 1/2$ (Cf. Tableau 1), l'ajustement IV ayant été effectué en fixant $q = 2.5$ et $r = 3.5$, valeurs très proches de celles de l'ajustement III. Ces valeurs $p = 1/2$, $q = 5/2$ et $r = 7/2$ ont été retenues dans toute la suite.

B/ Viscosité relative à très fort cisaillement $\eta_{\infty rel}$

Les valeurs de $\eta_{\infty rel}$ (trouvées proches de 20 lors des différents ajustements) sont beaucoup plus élevées que celle $\eta_{\infty rel} = (1-\phi/\phi_M)^{-2} \approx 3.9$ (pour $\phi = 0.35$ et $\phi_M = 0.71$) donnée par le modèle de sphères dures [4]. Il faudrait supposer que $\phi_M = 0.44$, i.e. que les gouttelettes ne sont pas totalement dispersées à fort cisaillement, ce qui est peu plausible. L'autre hypothèse possible serait que les micelles ont formé des amas, la suspension de ces derniers ayant alors une viscosité intrinsèque plus élevée : en fixant $\eta_{\infty rel} = 3.9$ et en laissant $[\eta]_{Prot}$ ouvert dans (10), tous les ajustements ont donné des valeurs proches de 0.5-0.6 mais qui conduiraient à des facteurs de forme ≈ 20 qui semblent un peu trop élevés. Ces valeurs de η_{∞} restent donc à être justifiées.

C/ Viscosité à très faible cisaillement η_0

Les plateaux newtoniens à $c = 4\%$ et 5% sont bien décrits. Celui à $c = 6\%$ prête plus à discussion, en raison de la très grande valeur de $\eta_0 > 10^4 Pa.s$. Il faut noter d'ailleurs, que cette valeur, obtenue lors de l'ajustement II, ne varie que très peu d'un ajustement à l'autre, restant pratiquement fixée à sa valeur de départ, pourvu qu'elle soit $> 10^3 Pa.s$. Cela pourrait

être lié à l'existence d'un seuil de contrainte, néanmoins très faible ($< 0.01 \text{ Pa}$), et donc associé à la présence d'une structure « gélifiée », observée par ailleurs [5]

D/ Contraintes critiques σ_F et σ_S

σ_F et σ_S sont dépendantes de c_{lib} comme on pouvait s'y attendre puisque ces contraintes critiques doivent dépendre de l'énergie d'interaction, donc de $\Delta G_{depl}(c_{lib})$.

Ces valeurs présentent en accord remarquable avec les données si elles sont respectivement interprétées comme le seuil d'apparition du rhéo-épaississement (dû à la FIC, donc débutant à $\sigma \approx \sigma_F$) et de la rhéofluidification (due à la DIC, débutant à $\sigma \approx \sigma_S$). Cela est très clair pour les rhéogrammes à $c = 5$ et 6% . De plus, en notant que l'amplitude $\Delta\eta$ de la bosse ainsi que l'intervalle de contrainte correspondant, $\Delta\sigma \approx (\sigma_S - \sigma_F)$, diminuent lorsque c passe de 6 à 5% , on peut considérer que, du fait de la très faible valeur de $\Delta\eta$, le rhéogramme à $c = 4\%$, est très proche de la limite d'apparition du rhéo-épaississement, avec des valeurs seuil très voisines l'une de l'autre, $\sigma_F \approx \sigma_S \approx 0.01 \text{ Pa}$.

Plus précisément, en supposant que le changement de comportement lorsque c passe de 4 à 3% peut être associé à ces diminutions de $\Delta\eta$ et $\Delta\sigma$, l'existence d'un seuil de concentration c_{lib}^* dans cet intervalle paraît plutôt évidente. A $c_{lib} = c_{lib}^*$, le comportement 'purement' rhéofluidifiant observé à $c_{lib} < c_{lib}^*$, change abruptement : dans l'intervalle (σ_F, σ_S) qui s'élargit quand c_{lib} croît, un comportement rhéo-épaississant (encadré par les deux domaines rhéofluidifiants à faible et fort cisaillement) prend naissance et grandit avec $c_{lib} > c_{lib}^*$. L'analogie avec les phénomènes critiques a conduit à supposer pour σ_F et σ_S des dépendances du type transition de phase, de la forme

$$\sigma_{crit} = B (c_{lib} - c_{lib}^*)^m \quad (11)$$

Tableau 2 : Valeurs d'ajustement des paramètres de la relation (11)

Tableau 2A

	σ_F (Pa)	σ_S (Pa)
c_{lib}^* (%)	3.372	
B	0.047	0.071
m	1.493	1.525

Tableau 2B

	σ_F (Pa)	σ_S (Pa)
c_{lib}^* (%)	3.375	
B	0.048	0.071
m	1.500	

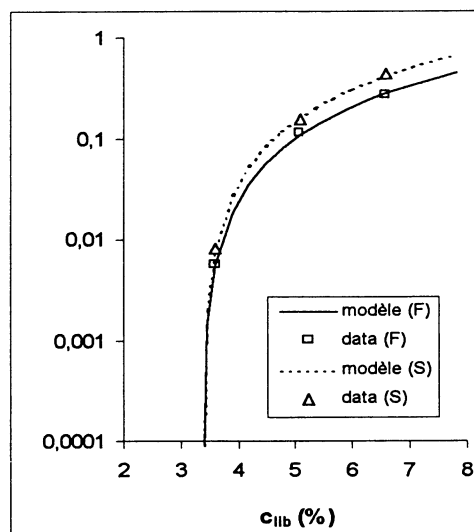
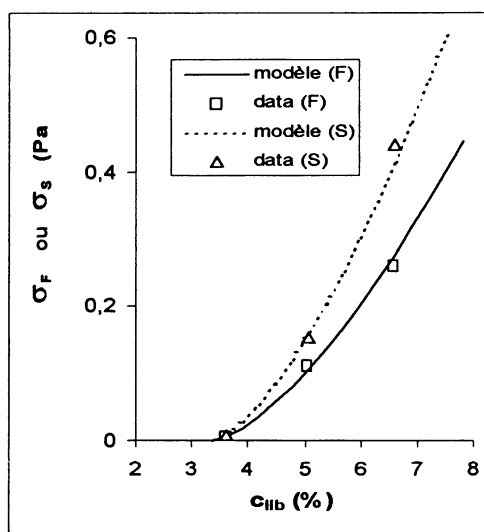


Fig.2 – Constantes critiques σ_F et σ_S en fonction de c_{lib} : valeurs déduites de l'ajustement du modèle rhéologique aux rhéogrammes et variations d'après la relation (11). La seconde figure, en coordonnées semi-logarithmiques, montre bien l'existence d'un seuil à c_{lib}^* .

L'ajustement de (11) aux valeurs de σ_F et σ_S obtenues à partir de la modélisation des rhéogrammes donne la valeur c_{lib}^* (supposée commune⁸), les pré-facteurs, B_F et B_S , et les exposants critiques m_F et m_S (Cf. Tableau 2A). Les valeurs des deux exposants critiques étant très voisines, un second ajustement (en imposant $m_F = m_S$) a conduit aux valeurs données sur le Tableau 2B.

La Fig.2 illustre les variations des constantes critiques σ_F et σ_S et leur ajustement par des lois du type (11), en utilisant les valeurs du Tableau 2B.

Cependant, la validité de l'ajustement de (11) doit être mise en question puisqu'on ne dispose que de 3 valeurs pour chaque contrainte critique. Afin de tester cette validité, différents ajustements de (11) ont été effectués à partir des valeurs σ_F et σ_S obtenues lors des différents ajustements des rhéogrammes. Ces tests ont clairement montré que (11) est une relation robuste qui conduit pour ses paramètres à des valeurs ajustées tout à fait similaires⁹.

A la valeur critique $c_{lib}^* = 3.37 \%$ correspond la valeur de la concentration totale, rapportée à la masse totale d'émulsion, $c = 3.83\%$, tout à fait compatible avec l'apparition du comportement rhéoépaississant au voisinage de $c = 4 \%$.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Un modèle structurel a été développé pour décrire le comportement rhéologique d'émulsions huile-eau stabilisées par des protéines du lait. Ces dernières, à forte concentration, sont responsables de la floculation par déplétion qui peut engendrer la formation d'une structure 'gélifiée' et donc peut avoir un rôle stabilisant. La présence dans les rhéogrammes d'une région rhéoépaississante dont l'importance augmente avec la concentration en protéine a pu être décrite en supposant l'existence d'une floculation suivie d'une défloculation. Ces deux processus, induits par le cisaillement, ne prennent effet qu'au dessus d'une concentration seuil, proche de 4 %. Cette dernière a été déterminée à partir des variations des deux contraintes critiques caractéristiques de ces processus, variations qui ont été trouvées du type transition de phase, avec un exposant critique proche de 3/2. Il serait intéressant de confronter ces résultats d'une part à des mesures rhéologiques en régime instationnaire, permettant de préciser les cinétiques associées à ces deux processus, et d'autre part, à des observations de type rhéo-optique afin de mettre directement en évidence d'éventuels changements de structure lors du franchissement des contraintes critiques.

REFERENCES

- [1] Dickinson E. et Golding M. (1997). "Rheology of Sodium Caseinate Stabilized Oil-in-Water Emulsions". *J. Colloid Interface Sci* **191**, 166-176
- [2] Quemada D (1998) "Rheological Modelling of Complex Fluids : I. The concept of Effective Volume Fraction revisited". *Eur.Phys.J. Applied Physics*, **1**, 119-127
- [3] Quemada D (1998) "Rheological Modelling of Complex Fluids : II. Shear thickening behavior due to shear induced flocculation". *Eur.Phys.J. Applied Physics*, **2**, 175-181
- [4] de Kruif CG, van Iersel EMF, Vrij A and Russel WB. (1985). "Hard sphere colloidal dispersions: Viscosity as a function of shear rate and volume fraction". *J. Chem. Phys*, **83**, 4717-4725 .
- [5] Dickinson E., Golding M. et Povey MJW. (1997). "Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate". *J. Colloid Interface Sci* **185**, 515-529

⁸ Des ajustements indépendants donnent des valeurs assez proches, $c_{lib}^*{}_F = 3.37$ et $c_{lib}^*{}_S = 3.43$.

⁹ Par exemple, avec l'ajustement II (cf. Tableau 1), les valeurs de σ_F et σ_S ajustées par (11) donnent $c_{lib}^* = 3.39$, $B_F = 0.059$, $B_S = 0.067$, pour le choix $m_F = m_S$, cette valeur commune étant trouvée très voisine ($= 3/2$) des valeurs trouvées lors d'ajustements indépendants ($m_F = 1.518$ et $m_S = 1.498$).

COMPORTEMENTS RHEOLOGIQUES DE SOLUTIONS DE POLYMERES ASSOCIATIFS EN PRESENCE DE PARTICULES DE TALC

C. Charnay, S. Lagerge, S. Partika

Laboratoire des Agregats Moleculaires et Materiaux Inorganiques, UPRESA 5072
Universite Montpellier II, Place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex 5
e-mail : charnayc@crit.univ-montp2.fr

Résumé :

Le comportement rhéologique de solutions de polyacrylates modifiés hydrophobiquement, en l'absence et en présence de particules de talc, a été étudié en fonction de la nature chimique de la base forte (NaOH, KOH) utilisée pour ioniser les fonctions carboxyliques du polymère. Les propriétés rhéologiques de ces solutions de polymères associatifs montrent que la viscosité croît quand le pouvoir structurant du cation augmente. Ainsi, plus le contre ion est structurant, moins les chaînes alkyles du polymère sont solvatées, et de ce fait, les jonctions du réseau formé par les interactions hydrophobes intermoléculaires sont renforcées. L'incorporation progressive de particules de talc s'accompagne aux faibles fractions massiques d'une augmentation de la viscosité et d'un renforcement des propriétés viscoélastiques du système. Cet effet résulte de la formation d'un réseau tridimensionnel dans lequel les particules de talc constituent une partie des nœuds du réseau via l'adsorption des chaînes alkyles sur la partie hydrophobe de la surface des particules. Lorsque la fraction massique des particules dans la suspension augmente 5%, 10% et 20%, on observe la détérioration des propriétés rhéologiques, viscosité et viscoélasticité, liée à la destruction du réseau associatif.

Introduction

Un nombre considérable d'applications industrielles (cosmétiques, peintures, fabrication du papier...) utilisent les polymères associatifs pour contrôler les propriétés rhéologiques du système à différents taux de cisaillement [1-4]. Ces propriétés dépendent essentiellement du réseau associatif qui se forme par l'intermédiaire des interactions hydrophobes intermoléculaires. Selon les propriétés rhéologiques souhaitées, la structure du polymère peut être ajustée en modifiant la taille du squelette, la longueur des chaînes alkyles greffées ainsi que le taux de greffage. Ces modifications et leurs conséquences sur la rhéologie des solutions aqueuses de polymères associatifs sont relativement bien décrites dans la littérature [5-9]. Cependant, la présence de charges minérales ou de pigments minéraux, composants indispensables de nombreuses formulations industrielles, modifie fortement la structure du réseau associatif, et par conséquent, les propriétés rhéologiques du système. En effet, ces molécules polymériques tensioactives ont la possibilité de s'adsorber à la surface des particules minérales, pour former un réseau secondaire dans lequel les particules constituent une partie des nœuds. Néanmoins, ces mécanismes d'associations particules-polymères sont peu étudiés et restent à confirmer [3,4]. Le travail présenté concerne

l'évolution des propriétés rhéologiques de polyacrylates modifiés hydrophobiquement en l'absence et en présence de particules de talc. Le comportement rhéologique de ces solutions sera préalablement caractérisé en fonction de la base utilisée (NaOH, KOH) pour neutraliser les fonctions carboxyliques du polymère.

Matériel et méthode

Les polymères associatifs utilisés dans cette étude ont été fournis par la société *ROHM AND HAAS France*. Il s'agit de polymères acryliques en émulsion aqueuse (résidu sec 30 %) type Acusol 823. Ces polymères modifiés hydrophobiquement sont constitués d'un squelette identique ($PM \approx 50\ 000$) sur lequel sont greffées des chaînes alkyles de longueur variable. Les caractéristiques principales des deux polyacrylates associatifs étudiés sont reportées dans le tableau suivant.

Nom	Longueur chaîne alkyle	Taux de greffage
A	C ₁₂ -C ₁₈	5 %
B	C ₁₈	10 %

Les particules de talc proviennent de la société *TALC DE LUZENAC*. Le diamètre moyen de ces particules lamellaires, mesuré par sédigraphie, est de 3.3 μm et leur surface spécifique mesurée à l'azote est de 6 m^2/g . Le talc est une argile de formule structurale schématique $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$. Le feuillet élémentaire est composé d'une couche octaédrique de brucite $\text{Mg}(\text{OH})_2$ insérée entre deux couches tétraédriques de silice. Les ponts siloxane confèrent aux surfaces basales du feuillet un caractère hydrophobe, alors que les surfaces latérales qui résultent de la cassure des feuillets sont hydrophiles en raison de la présence de fonctions hydroxyles.

Les mesures rhéologiques en mode dynamique et en régime permanent ont été réalisées sur un rhéomètre Physica US 200. Une géométrie cône-plan a été utilisée (diamètre de 40mm, angle de 2° et une troncature de 100 μm) ainsi qu'une géométrie cylindrique à double entrefer pour les solutions les plus diluées. Les mesures étant effectuées à 25°C, un temps d'attente de 10 minutes a été imposé pour atteindre l'équilibre thermique. Pour les mesures en régime permanent, la vitesse de cisaillement imposée est de 100s^{-1} . En régime dynamique, la fréquence a été fixée à 1 Hz pour les mesures de balayage en déformation et pour les mesures de balayage en fréquence, la déformation a été fixée à 1 %.

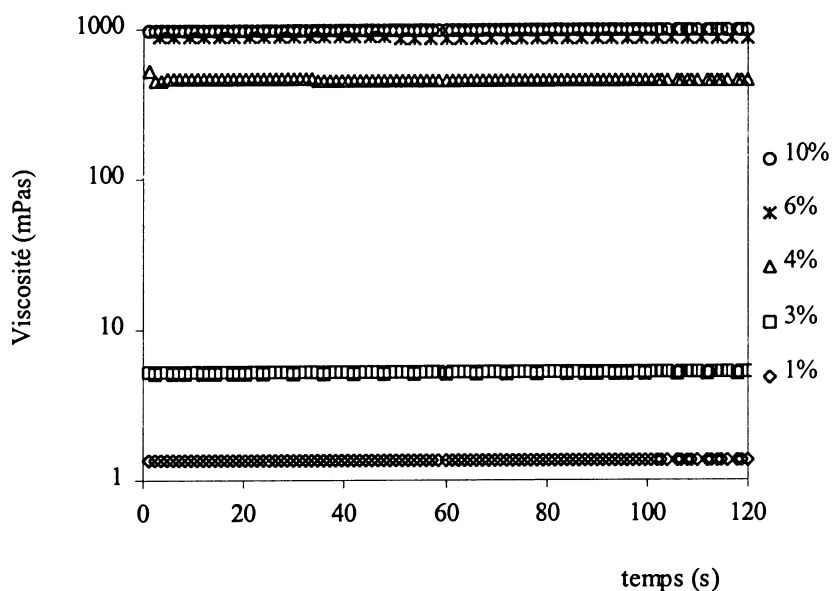
Résultats et discussion

Les figures 1a et 1b représentent les courbes d'écoulement des deux polymères A et B en fonction de la concentration. 2 ml de soude à 20 % ayant été ajoutés au milieu.

L'effet épaississant, dû à la formation d'un réseau associatif, apparaît pour des concentrations supérieures à 3 % pour le polymère A et pour des concentrations supérieures à 2 % pour le polymère B.

Ainsi, l'augmentation de la taille des chaînes alkyles greffées et du taux de greffage (polymère B) permet d'améliorer de façon significative la viscosité des solutions de polymère.

Polymère A



Polymère B

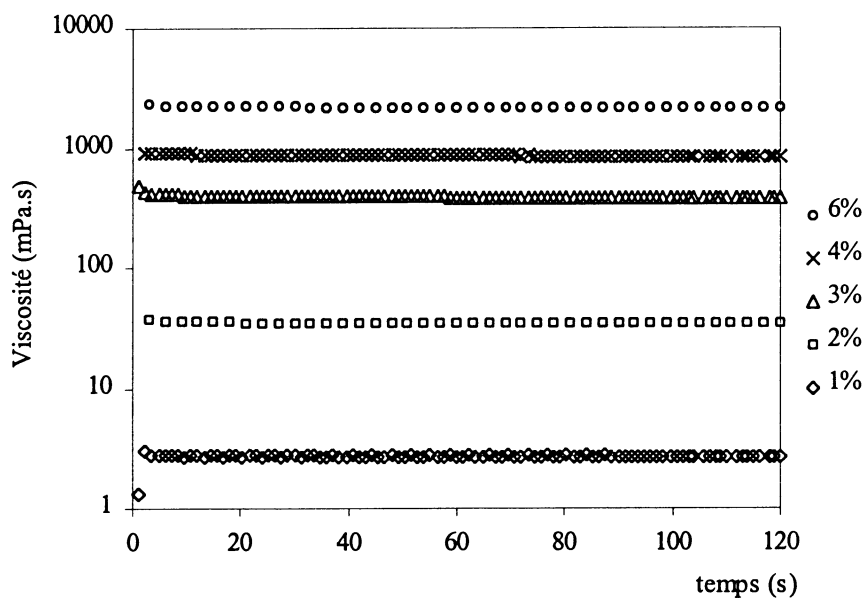


Figure 1a et 1b : Evolution de la viscosité en fonction de la concentration en polymère

Les mesures réalisées en régime dynamique (figure 2a et 2b) montrent que le module élastique augmente avec la concentration en polymère ainsi qu'avec le taux de greffage égal à 5 % pour le polymère A et à 10 % pour le polymère B. Ces résultats indiquent que l'augmentation du taux de greffage et de la concentration en polymère renforcent le réseau associatif en raison de l'accroissement du nombre de jonctions hydrophobes intermoléculaires. Pour le polymère B à 10 % le système devient fortement structuré conférant à la solution un comportement gel physique faible.

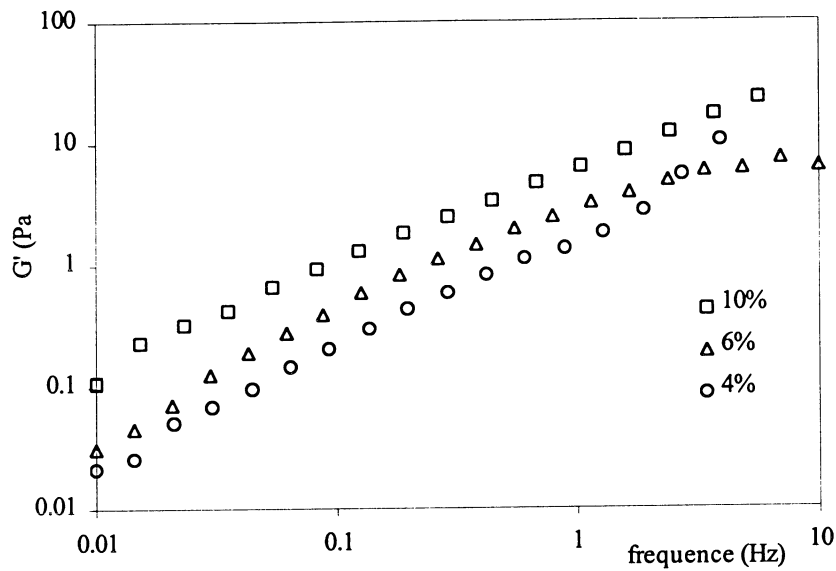


Figure 2a : Evolution du module élastique avec la concentration pour le polymère A

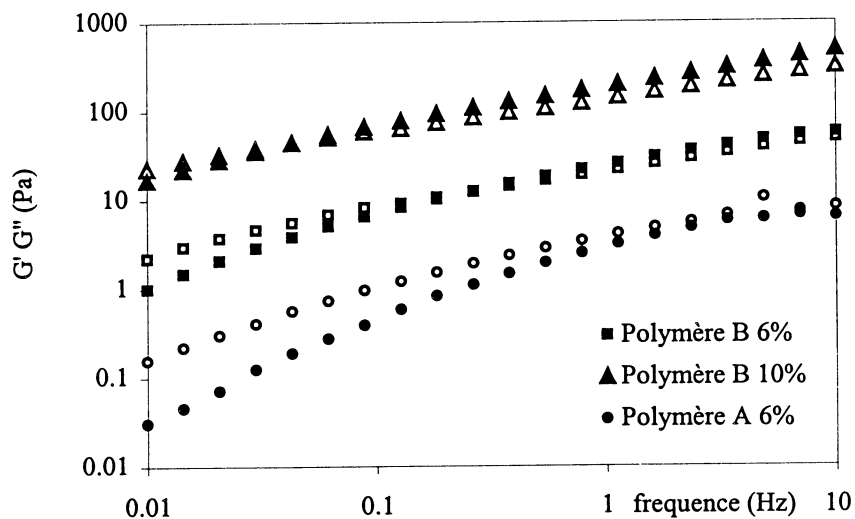


Figure 2b : Caractéristiques viscoélastiques des polymères A et B
G' (symboles pleins), G''(symboles vides)

Influence de la base

La figure 3 représente les courbes d'écoulement à cisaillement constant du polymère A à une concentration en polymère de 10 % en fonction de la base utilisée pour neutraliser les fonctions carboxyliques du polymère. La comparaison des rhéogrammes met en évidence un effet épaississant plus marqué dans le cas de la soude.

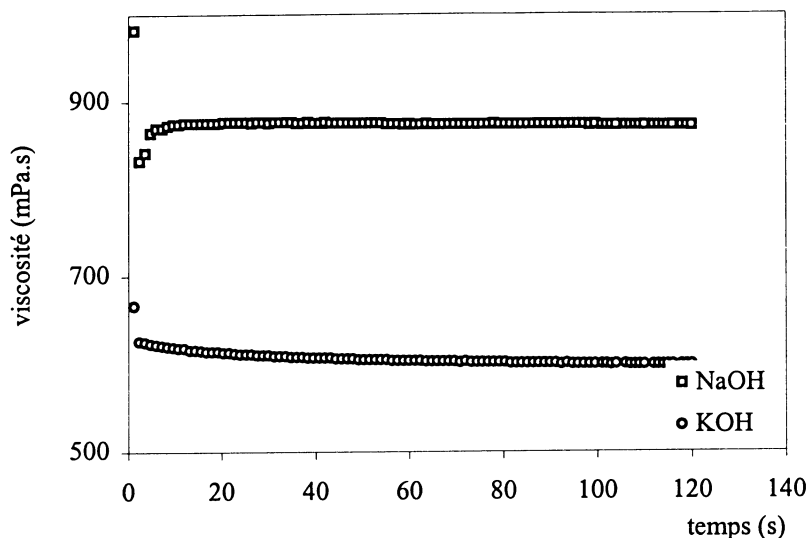


Figure 3 : Viscosité à cisaillement constant en fonction de la base

De même, en régime dynamique (figures 4 et 5), les modules G' et G'' et $|G^*|$ sont supérieurs dans le cas de NaOH avec l'apparition d'une transition sol-gel qui n'est pas mise en évidence pour KOH.

Ces résultats résultent vraisemblablement de la différence de la structuration de l'eau par les cations K^+ et Na^+ [10]. En effet, le sodium comparé au potassium est un ion structurant et de ce fait les chaînes alkyles en présence de sodium seront moins solvatées ce qui tend à favoriser et à renforcer les associations interchaînes d'où un effet viscosant plus marqué et une augmentation de $|G^*|$ qui traduit que le réseau associatif est plus rigide et mieux organisé.

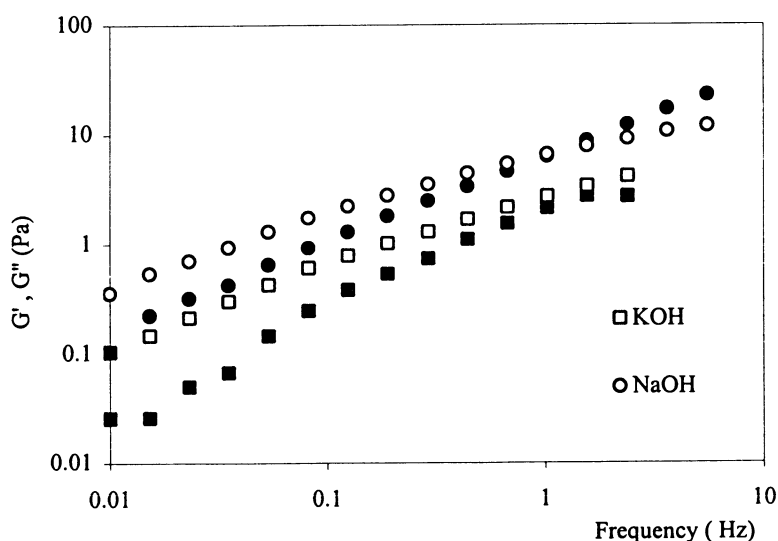


Figure 4 : Caractéristiques viscoélastiques du polymère A en fonction de la base
 G' (symboles pleins), G'' (symboles vides)

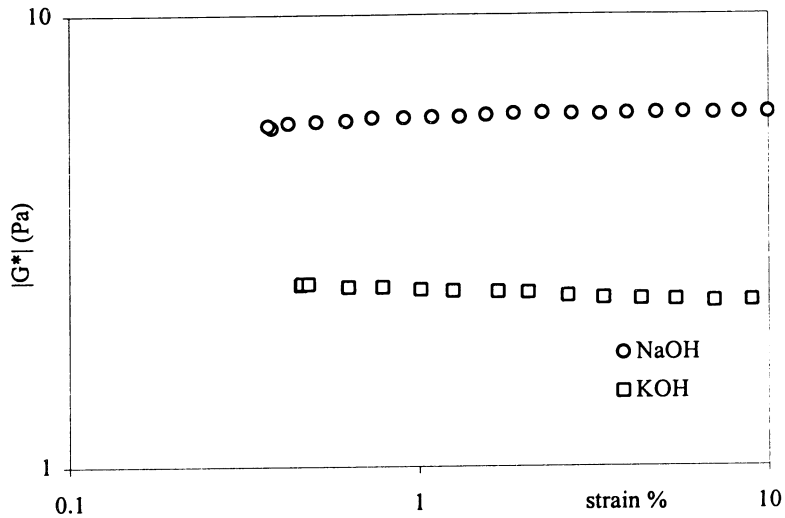


Figure 5 : Evolution du module de rigidité complexe en fonction de la base

Influence de l'addition de particules de talc

Les suspensions considérées ont une concentration en polymères de 6 %. Les propriétés rhéologiques de ces suspensions en fonction de leur fraction massique sont représentées pour le polymère A sur les figures 6, 7a et 7b.

Bien que la viscosité des suspensions de particules minérales augmente généralement avec la fraction massique, la comparaison des rhéogrammes (figure 6) montre que la viscosité de la suspension à 1 % est supérieure à celle des suspensions à 10 et 20 %.

De même, le module élastique reporté sur la figure 7a diminue quand la fraction massique de la suspension augmente ce qui suggère une diminution du nombre de jonction entre les chaînes du réseau.

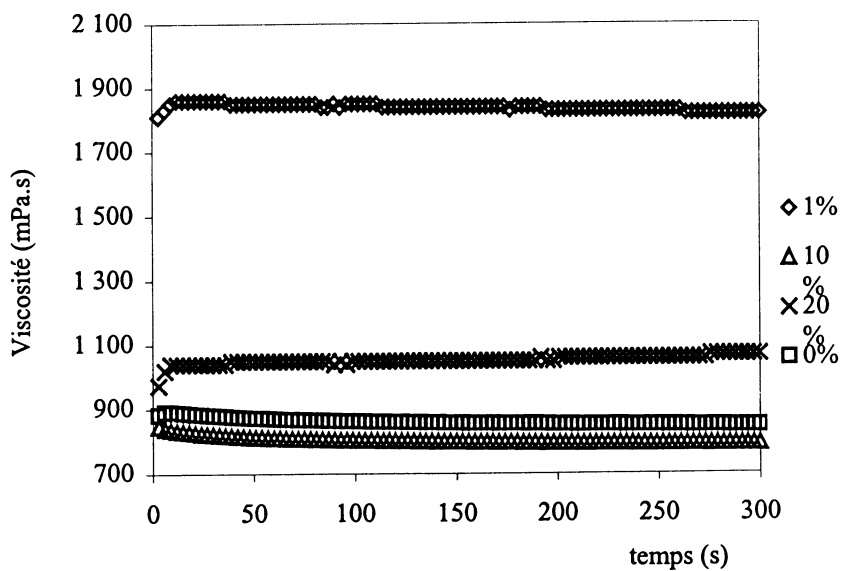


Figure 6 : Evolution de la viscosité en fonction de la fraction massique des suspensions

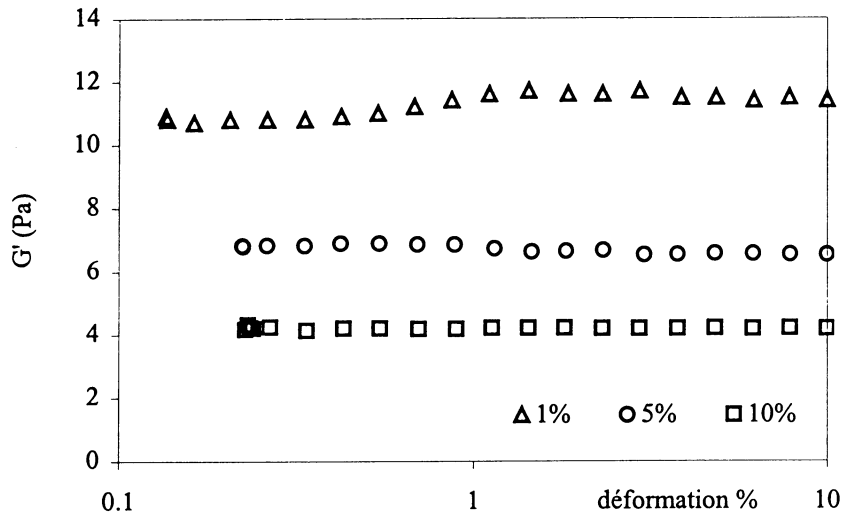


Figure 7a : Evolution du module élastique avec la fraction de particules de talc.

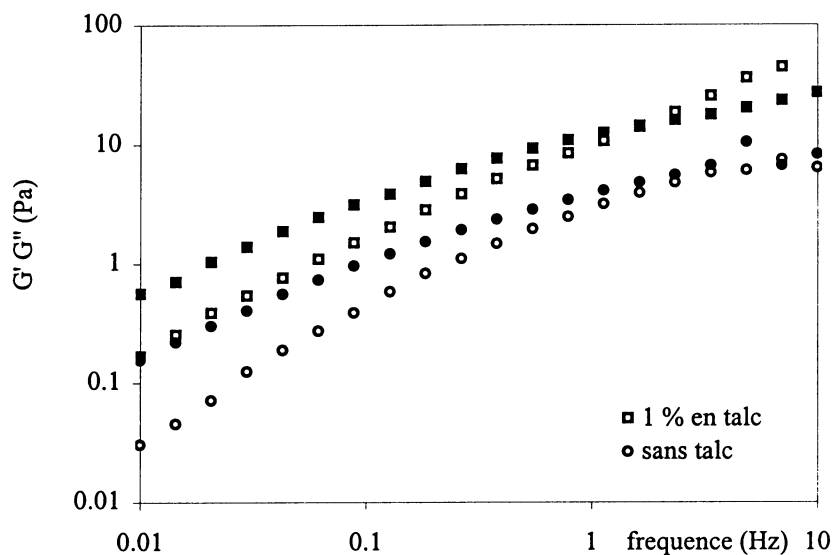


Figure 7b : Propriétés viscoélastiques d'une solution à 6 % en polymère A en l'absence et en présence de particules de talc à faible concentration
 G'' (symboles pleins), G' (symboles vides)

Aux faibles fractions massiques, l'addition de particules de talc renforce les propriétés viscoélastiques du système (figure 7a, 7b) avec l'apparition d'une transition sol-gel. Ainsi, les résultats obtenus suggèrent l'image d'un système enchevêtré où les particules de talc dispersées dans la solution sont greffées au réseau associatif par l'adsorption des chaînes alkyles sur la surface hydrophobe des particules.

Par contre, en milieu concentré, une grande partie des chaînes alkyles sont adsorbées sur la surface hydrophobe des particules de talc et ne sont donc plus disponibles pour former des interactions hydrophobes intermoléculaires. Le réseau associatif tridimensionnel est alors détruit et par conséquent la viscosité et les propriétés viscoélastiques diminuent.

Conclusion

Les propriétés rhéologiques des solutions de polyacrylates modifiés hydrophobiquement dépendent fortement du contre ion de la base utilisée pour ioniser les fonctions carboxyliques.

L'adsorption des chaînes alkyles sur la surface hydrophobe des particules de talc permet aux faibles fractions massiques la connexion des particules au réseau associatif tridimensionnel des chaînes polymériques. En augmentant la fraction massique des particules, le nombre de chaînes alkyles non adsorbées devient insuffisant pour assurer la formation du réseau associatif résultant des jonctions hydrophobes interchaînes.

Références

- [1] J. CLARKE, Pigment Dispersion and Rheologie Modification Using Carboxylated Acrylic Polymers in Water-Borne Coating, Surface Coatings International, 1994 Vol. 7, p 303-310.
- [2] M.R TARN, Z. MA, K. ALAHAPPERUMA, and J. Edward GLASS, Hydrophilic Polymers. 1996 ; p 449 ; [ACS Adv Chem Ser 248].
- [3] M. HAWE. The Developpement and Properties of Associatve Thickeners, Nordic Pulp and Research Journal 1993 N°1.
- [4] T. AUBRY, J.M. CORPART, M. MOAN, Les cahiers de rhéologie, 1998, p191, Vol XVI, N°1.
- [5] M.A WINNIK and A. YEKTA. Current Opinion in Colloid § Interface Sci. 1997, Vol. 2, p 424-436.
- [6] M.R. TARN, J.P. KACZMARSKI, D.J. LUNDBERG, and J. Edward GLASS. Hydrophilic Polymers. 1996 ; p 305 ; [ACS Adv Chem Ser 248].
- [7] C.L. McCORMICK, J.C. MIDDLETON and D.F. CUMMINS, Macromolecules 1992, vol25, N° 4 p 1201.
- [8] F PETIT, I LLIPOULOS, R AUDEBERT, J Chim Phys (1996) 93, p 887-898.
- [9] T. AUBRY and M. MOAN, J. RHEOL. 1994, Vol.38(6), p 1681.
- [10] GERSCHEL A., "Liaisons intermoléculaires" Savoirs Actuels, Inter Editions / CNRS Editions, 1995.

PROPRIETES VISCOELASTIQUES DES PROTEINES MYOFIBRILLAIRES BOVINES : INFLUENCE DE LA CONCENTRATION ET DU TRAITEMENT HAUTE PRESSION

N. Chapleau, M. de Lamballerie - Anton

ENITIAA, Dép^t. Génie des Procédés Alimentaires, BP 44322, NANTES Cedex 3, France
chapleau@enitiaa-nantes.fr, anton@enitiaa-nantes.fr

RESUME

Les conséquences d'un traitement par haute pression [0 à 300 MPa] ont été étudiées sur des protéines myofibrillaires extraites de viande de bœuf (*Biceps Femoris*). Les propriétés thermo-gélifiantes de ces protéines ont été évaluées à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée utilisé en mode oscillant, selon une cinétique de chauffage de 1°C/min de 30 à 90°C. Les résultats montrent que le profil de gélification thermique (suivi des modules G' et G'') est décomposable en 4 étapes. Ce profil est différent selon que les protéines ont été pressurisées en solution ou extraites de viande pressurisée. En outre le profil est modifié par la concentration en protéines et l'intensité de la pression appliquée.

INTRODUCTION

Les propriétés de gélification thermique des protéines myofibrillaires sont très utilisées dans la technologie des produits carnés. En effet, elles sont impliquées dans la cohésion des produits reconstitués et dans la texture et la rétention d'eau et de lipides des produits carnés cuits. Ces propriétés de gélification sont étroitement liées à l'origine des protéines (espèce animale, type de muscle), à leur répartition (en particulier le ratio myosine/actine) et aux conditions du milieu (pH et force ionique). La gélification thermique des protéines myofibrillaires dépend de l'état de dispersion ou d'agrégation avant le chauffage de la myosine, protéine majoritaire parmi les protéines myofibrillaires.

Le but de cette étude est d'étudier l'effet de la haute pression isostatique sur les propriétés viscoélastiques de gels de protéines myofibrillaires bovines. L'utilisation du procédé haute pression (jusqu'à 800 MPa) est intéressante dans l'industrie alimentaire, car elle permet une stabilisation microbiologique tout en préservant les propriétés organoleptiques des aliments. Cependant la pression induit des dénaturations des protéines, dont les mécanismes et les conséquences ne sont pas toujours connus. L'objet de ce travail est donc l'étude des conséquences d'un traitement par haute pression (jusqu'à 300 MPa) sur la gélification thermique de protéines myofibrillaires issues de boeuf, dans des conditions de milieu favorables à la formation d'un gel consistant (pH 6, force ionique élevée [0,6 M KCl]).

MATERIEL ET METHODES

Animaux et conditionnement

La viande (*Biceps Femoris*) est obtenue d'un abattoir commercial (BVB, Blain France) 24 heures *post mortem* et stockée à 4°C. Le muscle est paré et découpé en cubes de 2 cm de côté. Les morceaux (environ 100g) sont ensuite conditionnés sous vide dans des sacs en polyéthylène.

Extraction des protéines myofibrillaires

L'extraction des protéines myofibrillaires se fait selon le protocole d'Offer (1973) [1]. Les protéines myofibrillaires sont extraites en mélangeant 50 g de muscle haché dans 250 ml de tampon phosphate de potassium [$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$] 0,15M, 0,3M KCl, 0,01M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ -10 H_2O , pH6,4). L'homogénéisation est effectuée à l'aide d'un l'Ultra Turrax à 1700 g pendant 30 secondes. Après 15 minutes d'extraction dans la glace, on centrifuge 15 minutes à 30 000 g à 4°C. On filtre ensuite sur gaze afin d'éliminer les lipides. La précipitation des protéines myofibrillaires est obtenue par dilution du surnageant dans 14 volumes d'eau distillée à 4°C. Après 2 heures à 4°C, le précipité est centrifugé à 8 000 g pendant 15 minutes. Le culot est ensuite solubilisé dans un tampon phosphate de potassium ($[\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4]$ 0,04M, 0,6M KCl, pH6,0).

Dosage des protéines

Le dosage des protéines myofibrillaires est réalisé selon la méthode du Biuret (Gornall et al., 1949). La méthode a été préalablement étalonnée par la méthode de référence de Kjeldahl (Norme NF V03-050).

Traitement haute pression

La viande et les protéines myofibrillaires conditionnées sous vide sont pressurisées à 10°C dans un réacteur de 3 litres (ALSTOM Fluides et Mécanique). Les différentes pressions appliquées sont les suivantes : 100 MPa, 200 MPa et 300 MPa pendant 10 minutes.

Mesures rhéologiques

L'analyse du comportement viscoélastique des solutions de protéines myofibrillaires est réalisée à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposé (AR 1000, TA Instrument) utilisé en mode oscillant. La géométrie employée est celle des plans parallèles, avec un mobile en aluminium de 40 mm de diamètre et un entrefer 700 μm . Le plan fixe est thermostaté par effet Peltier. La cinétique de chauffage est de 1°C/min entre 30 et 90°C. Les mesures sont réalisées avec une déformation imposée à 2% et une fréquence d'oscillation sinusoïdale fixée à 1 Hz. On suit l'évolution des modules de stockage (G') et de perte (G'').

Caractérisation des fractions protéiques

Les extraits de protéines myofibrillaires sont caractérisés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 12,5%, en conditions dénaturantes (SDS).

RESULTATS & DISCUSSION

Rendement d'extraction en protéines myofibrillaires

Les protéines représentent 75% de l'extrait sec et 19% du poids total de la viande [2], et les protéines myofibrillaires composent 60 % des protéines de la viande [3]. Les deux protéines myofibrillaires majeures sont la myosine (43 %) et l'actine (22%).

Traitement appliqué	Rendement d'extraction en protéines myofibrillaires
Témoin	39,26 %
100 MPa, 10 minutes	40,93 %
200 MPa, 10 minutes	26,55 %
300 MPa, 10 minutes	4,36 %

Tableau 1 : Rendement d'extraction après traitement de la viande sous haute pression.

Le tableau 1 montre que pour l'échantillon pressurisé à 100 MPa, le rendement d'extraction est identique à celui du témoin. Mais on constate une diminution de l'extractabilité des protéines au-delà de 100 MPa pour des temps de traitement de 10 minutes. Après un traitement de 300 MPa, la quantité de protéines extraite n'est que de 10% des protéines extraites du témoin.

Certains auteurs [4] ont montré que les hautes pressions appliquées à des myofibrilles isolées favorisent la solubilisation des protéines, et d'autres [5] évoquent l'augmentation de la solubilisation des protéines en liaison avec une augmentation de la tendreté de la viande. Dans nos conditions d'étude, nous avons montré qu'au-dessus de 100 MPa, les hautes pressions provoquent des modifications structurales qui rendent les protéines myofibrillaires moins accessibles lors de l'extraction.

Comportement rhéologique : propriétés gélifiantes

Linéarité du comportement viscoélastique :

Afin de déterminer le domaine de viscoélasticité linéaire, des gels ont été formés selon la cinétique définie (30 à 90°C à 1°C/min) à 10 g/l et 30 g/l, puis soumis à des valeurs de couple croissantes. On observe un comportement viscoélastique linéaire pour les deux concentrations en protéines, pour des pourcentages de déformation compris entre 0,1% et 5% et une fréquence de 1 Hz. Les mesures seront donc réalisées avec un pourcentage de déformation imposé à 2% ($1,6 \cdot 10^{-3}$ rad) à la fréquence de 1 Hz.

Comportement viscoélastique des protéines myofibrillaires pressurisées en solution

Les échantillons de protéines myofibrillaires, à des concentrations de 10 g/l, 20 g/l et 30 g/l sont pressurisés à 3 pressions différentes 100 MPa, 200 MPa et 300 MPa pendant 10 minutes. Trois répétitions de chaque échantillon sont réalisées.

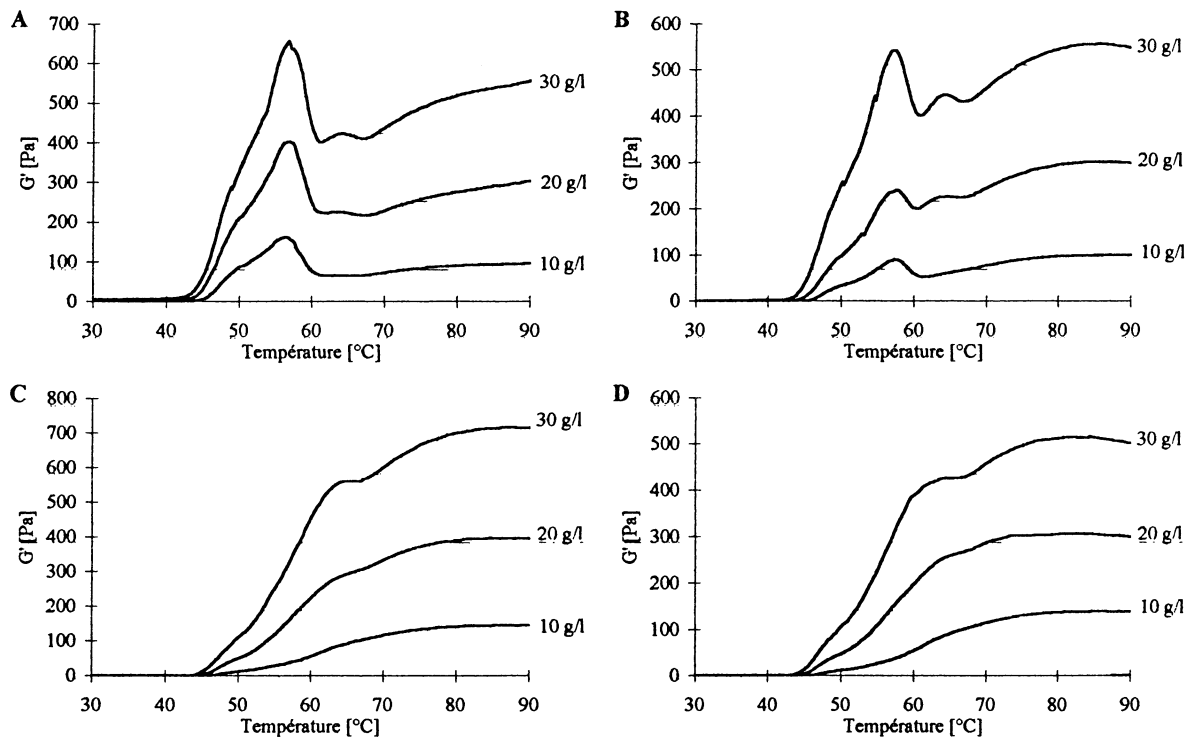


Figure 2 : Comportement rhéologique des protéines myofibrillaires pressurisées en solution.

Evolution du module de stockage G' en fonction de différentes concentrations.

A : Témoin, B : 100 MPa, C : 200 MPa et D : 300 MPa

La figure 2 représente le module G' des protéines myofibrillaires pressurisées en solution. La figure 2A représente l'allure du témoin. On peut décomposer ce comportement de la manière suivante : dans un premier temps G' augmente à partir de 45°C (T1) jusqu'à 55°C (T2) pour former un pic (première transition). Puis, la deuxième transition intervient entre 55°C (T2) et 60°C (T3), puis la valeur de G' chute. C'est à partir de la troisième transition que l'on observe des comportements différents. Pour les plus fortes concentrations (20 et 30 g/l), on observe la formation d'un nouveau pic entre 60 et 70°C avec un maximum atteint à 66°C. Enfin le G'

augmente jusqu'à 90°C de manière plus ou moins rapide selon la concentration. Ces variations de G' au cours du chauffage traduisent une modification de la structure du gel.

La figure 2B montre la variation de G' après 10 minutes à 100 MPa, on observe une diminution de la valeur de G' pour le pic de gélification à basse température pour chaque concentration, alors que la valeur de G' à 90°C est constante. Sur la figure 2C, après 10 minutes à 200 MPa, le pic de gélification à basse température a complètement disparu. Cependant, la valeur de G' à 90°C est supérieure à celle obtenue dans les 2 premiers cas pour les concentrations 20 et 30 g/l. Sur la figure 2D, aucune pic n'est observé pour un traitement 10 minutes à 300 MPa.

Ces résultats sont concordants avec ceux de Sano *et al.* (1989) [5]. Ces auteurs ont mis en évidence le rôle de la F-actine dans la formation du complexe actomyosine responsable du pic de gélification à basse température. La dénaturation thermique de cette molécule à partir de 60°C entraîne une dissociation de ce complexe qui se traduit par la chute du G' . Les hautes pressions affecteraient ainsi la F-actine à partir de 100 MPa, entraînant la disparition du premier pic. Le second pic de gélification observé à la température de transition T3 est associé à la gélification de la myosine. Ainsi, la dépolymérisation de l'actine est défavorable lors de la formation de la structure gélifiée. Yasui *et al.* (1980) [6] ont montré la contribution de l'actine à la formation de gels de myosine plus rigides.

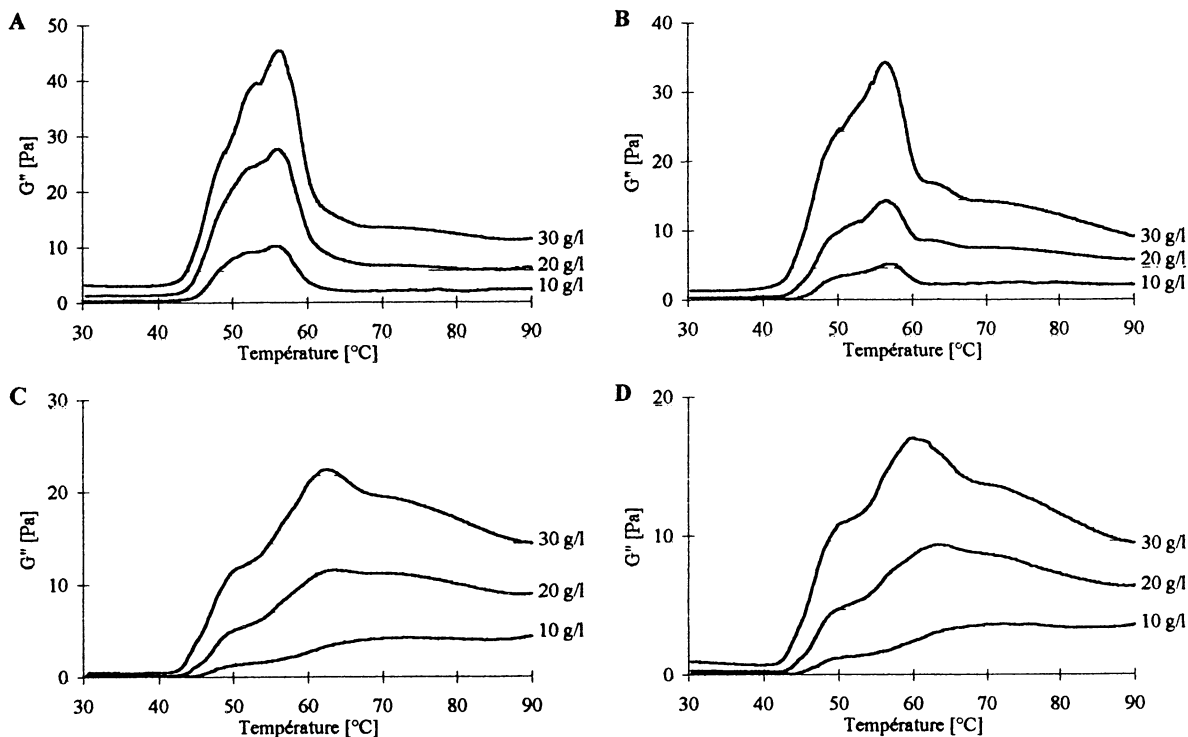


Figure 3 : Comportement rhéologique des protéines myofibrillaires traitées en solution.

Evolution du module de perte G'' en fonction de différente concentration.

A : Témoin, B : 100 MPa, C : 200 MPa et D : 300 MPa

Les figures 3A, B, C et D présentent les valeurs du module de perte G'' . Ces valeurs sont fortement corrélées avec les résultats obtenus précédemment. Des comportements identiques sont observés aux mêmes températures de transition.

Comportement viscoélastique des protéines myofibrillaires extraites après pressurisation

Les figures 4A, B, C et D présentent le comportement viscoélastique de protéines myofibrillaires extraites de viande traitée à différentes pressions. On observe que les

comportements obtenus sur la figure 2A et la figure 4A ne sont pas identiques ; ces différences s'expliquent par la variabilité existant entre différentes viandes. En effet les caractéristiques de l'animal (âge, sexe, espèce,...) ainsi que les conditions de l'abattage peuvent entraîner des modifications au cours de la maturation de la viande et modifier plus ou moins les protéines myofibrillaires.

Si l'on compare l'influence d'un traitement à 100 MPa pendant 10 minutes, figure 4B on observe un comportement identique à celui obtenu dans le cas des protéines traitées en solution, c'est à dire une modification de l'intensité du G' lors du pic provoqué par le complexe actomyosine, et des valeurs G' à 90°C identiques à celle du témoin. Comme dans le cas des protéines traitées en solution, le comportement des protéines est différent selon leur concentration. Particulièrement, lors de la seconde gélification entre 60 et 90°C, où plus la concentration est forte plus l'on tend vers une croissance de G' qui semble être logarithmique.

A partir de 200 MPa (figure 4C) on observe une chute de la première transition entre 45 et 55°C qui atteint des valeurs beaucoup plus faibles, 400 Pa à 30 g/l contre 750 Pa à 30 g/l pour le témoin. En ce qui concerne la deuxième gélification, la chute est plus importante et l'on observe la disparition du petit pic entre 60 et 70°C observée jusqu'à présent. Les valeurs de G' sont divisées par 3 à 90°C.

A partir de 300 MPa pendant 10 minutes (figure 4D), on observe une disparition du pic de gélification à basse température. La gélification ne débute qu'à partir de 50-55°C et ne permet d'obtenir que des valeurs faibles en G' voire quasiment nulles à 10 g/l.

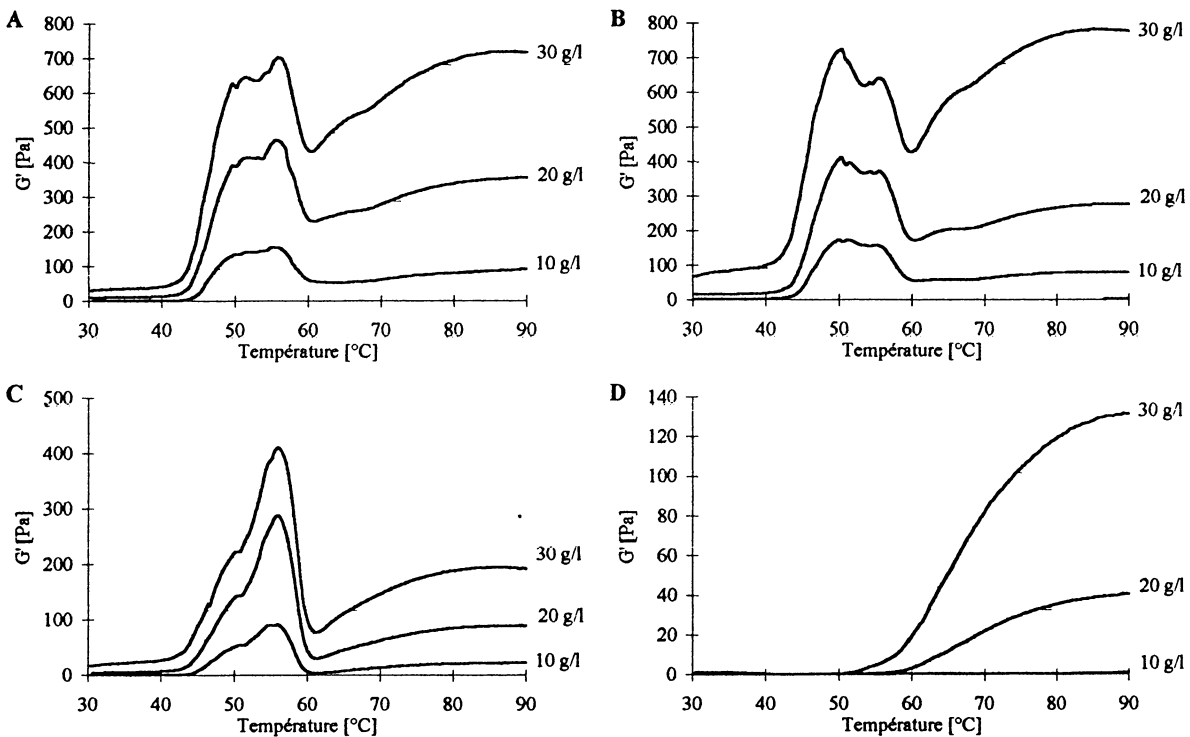


Figure 4 : Comportement rhéologique des protéines myofibrillaires extraites après pressurisation
Evolution du module de perte G' en fonction de différentes concentrations.

A : Témoin, B : 100 MPa, C : 200 MPa et D : 300 MPa

A partir de 200 MPa le traitement haute pression inflige d'importantes modifications de conformation aux protéines. Cette dénaturation est trop importante pour pouvoir provoquer un réarrangement susceptible de former un réseau protéique suffisamment fort. Hayakawa *et al.* en 1996 [7] ont mis en évidence l'importance de l'eau dans la dénaturation. Ainsi, la modification de l'eau sous haute pression entraîne des changements à la surface des

protéines : il y a clivage de l'interaction eau/protéine ce qui provoque la rupture des liaisons hydrogène. Ce phénomène pourrait expliquer les différences de comportement observées lors du traitement des protéines en solution ou bien des protéines après extraction. Ainsi, un traitement à 400 MPa pendant 15 minutes à 20°C serait équivalent à une dénaturation thermique obtenue à 80°C pendant 10 minutes.

Etude des fractions protéiques

L'électrophorèse figure 5 présente les différentes fractions protéiques traitées en solution ou extraites de viande après pressurisation. Dans le cas des protéines traitées en solution, on n'observe pas de différence significative entre les différents traitements. On observe la bande des chaînes lourdes de myosine à 200 kDa ainsi que l'actine à 43 kDa. En revanche pour les protéines extraites de la viande traitée on observe une diminution de l'extraction de la myosine et de l'actine qui s'accompagne d'une augmentation du nombre de bandes. Le nombre de bandes augmente avec les pressions croissantes. Ces nombreuses bandes non identifiables traduisent bien la dénaturation des protéines qui se coupent pour former de nouveaux fragments entraînant la perte des propriétés gélifiantes des extraits.

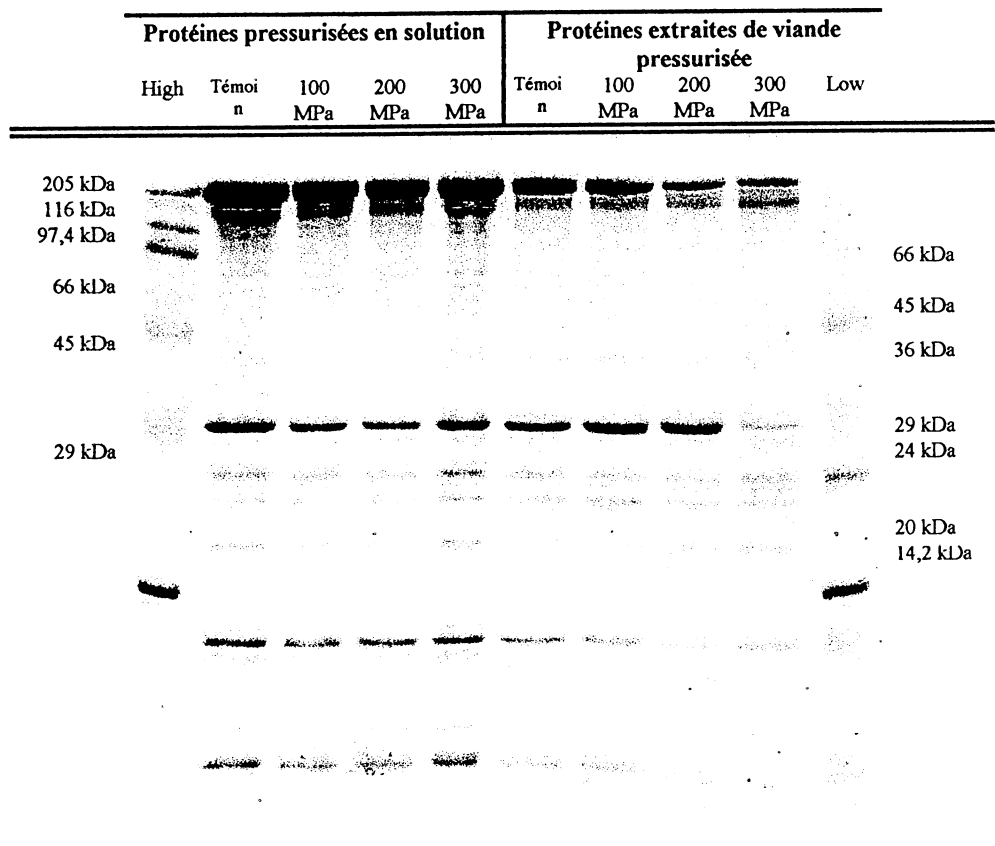


Figure 5 : Electrophorèse des fractions protéiques traitées en solution ou extraites de viande pressurisée.
SDS-PAGE à 12,5% de polyacrylamide.

CONCLUSION

Un traitement haute pression inférieur à 300 MPa de la viande ou des protéines myofibrillaires extraites entraîne la modification du comportement rhéologique des protéines

myofibrillaires lors du chauffage. Les valeurs de G' obtenues pour les 3 pressions utilisées sont inférieures à celles obtenues avec le témoin : les hautes pressions n'améliorent donc pas la texture des gels formés. Cependant, à 100 MPa les variations observées sont très faibles, aussi bien au niveau rhéologique qu'au niveau de l'extraction des protéines.

Nous avons confirmé l'importance de la myosine et de l'actine dans les phénomènes responsables de la gélification. D'autres molécules interviennent aussi lors de l'évolution de l'actine et du complexe actomyosine. Dans l'optique d'application dans le domaine alimentaire, nous allons poursuivre les recherches afin d'identifier les fractions protéiques impliquées dans les propriétés gélifiantes, et les liaisons modifiées par la pressurisation. Une meilleure compréhension de ces réactions, et de l'influence des hautes pressions, permettra la prédiction des modifications de propriétés fonctionnelles sous haute pression [9]. Ces connaissances pourront contribuer à l'élaboration de nouveaux produits issus de la technologie haute pression.

REFERENCES

- [1] Offer, G., Moos, C., Starr, R. (1973). A new protein of the thick filaments of vertebrate skeletal myofibrils. *J. Mol. Bio.*, **74**, 653-676.
- [2] Graeser, M. L., Wang, S., Lemanski, L.F. (1981). Proc. 34th Ann. Recip. Meat Conf.
- [3] Lawrie, R. A. (1981). Meat Science. Exceter, BPCC Wheatons Ltd.
- [4] Suzuki, A., Suzuki, N., Ikeuchi, Y., Saito, M. (1991). Effects of high pressure treatment on the ultrastructure and solubilization of isolated myofibrils. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2467-2473.
- [5] Macfarlane, J.J., Mc Kenzie, I.J., Turner, R.H., Jones, P.N. (1984). Binding of comminuted meat : effect of high pressure. *Meat Science*, **10**, 307-320.
- [6] Sano, T., Noguchi, S., Matsumoto, J. & Tsuchiya, T. (1989). Role of F-actin in thermal gelation of fish actomyosin. *J. Food Sci.*, **54**, 800-804.
- [7] Yasui, T., Ishioroshi, M., Samejima, K. (1980). Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin. *J. Food. Biochem.*, **4**, 61-78.
- [8] Hayakawa, I., Linko, Y., Linko, P. (1996). Mechanism of high pressure denaturation of proteins. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, **29**, 756-762.
- [9] Ledward D.A. (1999). Effects of pressure treatment on protein functionality. XXXVII EHPRG Meeting of the European High Pressure Research Group. Sous presse.

PROPRIETES RHEOLOGIQUES D'AMIDONS MODIFIES : INFLUENCE DE TRAITEMENTS THERMIQUES

I. Dubois, L. Picton, G. Muller et A. Audibert-Hayet*
UMR 6555-CNRS "Polymères, Biopolymères, Membranes"
Université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan Cedex
*Institut Français du Pétrole, 1 et 4 Avenue Bois Préau
92852 Rueil Malmaison Cedex

Résumé

La présence de contraintes extérieures sévères rend nécessaire l'utilisation d'amidons modifiés voire réticulés dans de nombreuses applications alimentaires ou non alimentaire. Ainsi les propriétés rhéologiques et la stabilité thermique de l'amidon de pomme de terre hydroxypropylé (DS = 0,5) s'avèrent très moyennes. La réticulation chimique (épichlorohydrine) apparaît être une solution quant à l'amélioration de ces propriétés. Toutefois, nous avons montré que la résistance au traitement thermique était fonction d'une part du degré de réticulation et d'autre part du mode de modification avant (HPR A) ou après (HPR) gélatinisation du grain d'amidon natif. Ce résultat semble pouvoir s'expliquer par les différences de structures de ces échantillons réticulés.

Abstract

Modified starches are often used in food or non food industries because they are suitable to high temperature. The aim of this study is to determine the influence of the temperature on the rheological properties and stability of these starch pastes. The results evidenced that the crosslinking modification increases the heat stability. Moreover this stability depends on the one hand on the degree of crosslinking and on the other hand on the chemical modification, below (HPR A) or above (HPR) the gelatinisation temperature. These observations could be explained by the structure of these samples.

Introduction

Pour des mesures de protection de l'environnement, l'utilisation des polymères naturels dans le contrôle de la rhéologie des formulations aqueuses non alimentaires connaît un essor considérable. Ainsi l'amidon, matière première abondante et de faible coût est un candidat potentiel intéressant. Il se présente, dans les organes de réserve des végétaux matures, sous forme de granules de tailles et de formes diverses selon son origine botanique (blé, maïs, pomme de terre...). Insoluble à froid, l'amidon subit des transformations hydrothermiques (gélatinisation) qui conduisent à un gonflement irréversible et à éclatement partiel du grain natif. Par ailleurs, les suspensions d'amidon natif possèdent de bonnes propriétés rhéologiques qui sont toutefois dépendantes de contraintes extérieures telles que la température. Le forage pétrolier, à titre d'exemple, impose des conditions sévères de températures, de cisaillement, de salinité ou de pH. C'est pourquoi, il est nécessaire de modifier chimiquement le grain natif afin de limiter sa dépendance vis à vis de telles

contraintes. Ainsi pour améliorer cette résistance, une solution consiste à réticuler chimiquement l'amidon. Les pontages chimiques créés devraient apporter une intégrité suffisante au matériau et minimiser la perte de viscosité.

Après avoir caractérisé les suspensions d'amidons réticulés d'un point de vue physico-chimique et rhéologique², notre objectif a été d'étudier l'influence de contraintes extérieures, comme le vieillissement thermique, sur ces propriétés.

Partie expérimentale

Produits :

La société AVEBE (Foxhol, Pays-Bas) a fourni les amidons modifiés : amidons de pomme de terre hydroxypropylés, de degré de substitution DS = 0,5 et/ou réticulés à différents degrés à l'épichlorohydrine. Les produits étudiés proviennent de différents modes de modifications chimiques¹.

- L'échantillon **HPNR** est uniquement hydroxypropylé et l'addition de l'oxyde de propylène (agent de stabilisation) se fait en milieu basique après la température de gélatinisation.
- L'échantillon **HPR A 0,1** est réticulé à 0,1% par l'épichlorohydrine avant la température de gélatinisation puis hydroxypropylé.
- La dernière méthode consiste à additionner l'agent réticulant puis l'agent de stabilisation, après la température de gélatinisation. Les échantillons étudiés sont réticulés à 0,1% et 0,5% et sont nommés respectivement **HPR 0,1** et **HPR 0,5**.

Préparation des dispersions :

Les échantillons sont préparés à une concentration de 100 g/L en polymère afin de réaliser les mesures rhéologiques dans de bonnes conditions². La poudre d'amidon est dispersée dans l'eau sous agitation mécanique (125 tr. / min) pendant 3 heures environ, à température ambiante.

Granulométrie laser :

La taille des particules (**D**, μm) est déterminée par granulométrie laser (Mastersizer Micro, Malvern) entre 0,3 et 300 μm à partir de la lumière diffractée par ces dernières. Les suspensions sont préparées à 30 g/L puis agitées magnétiquement pendant 24 heures afin d'obtenir une hydratation maximale.

Capacité de gonflement :

La capacité de gonflement (**Q**, mL/g) peut être définie comme la masse de solvant ou le volume absorbé par 1 g de polymère sec à l'équilibre en présence d'un excès d'eau. Après dispersion totale du soluté dans l'eau distillée, un volume de 10 mL est centrifugé sous 700 g pendant 40 minutes à 15°C³. Le sédiment est alors récupéré, pesé puis séché dans une étuve à 80°C pendant 24 heures et pesé de nouveau.

Mesures rhéologiques :

Les mesures rhéologiques ont été effectuées à 25°C avec un rhéomètre à contraintes imposées Carri-Med CSL 100, piloté par le logiciel Carri 50 sous DOS. Les géométries

utilisées sont le plan-cône (diamètre 4 cm, angle au sommet 2°, entrefer de 55 μm) ou le double entrefer de 500 μm selon la consistance de l'échantillon.

Mesures en oscillation : Les modules viscoélastiques sont déterminés, après évaluation du domaine de linéarité, en effectuant des balayages fréquences pour des déformations inférieures à 2%.

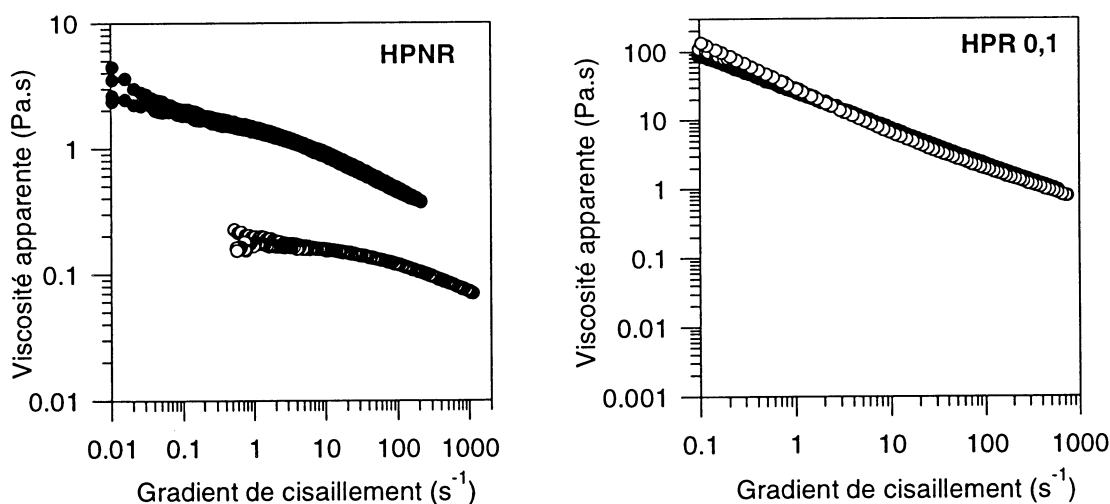
Mesures en écoulement : Elles consistent en un premier balayage en gradients de cisaillement, qui permet de déterminer la gamme de contraintes à appliquer sans excès de vitesse, suivi d'un balayage aller-retour en contraintes (2x5 minutes) sur une autre fraction de l'échantillon.

Résultats et discussion

Des vieillissements à hautes températures (110°C et 140°C) ont été réalisés. 100 mL d'une suspension d'amidon modifié sont placés dans des cellules hermétiques sous atmosphère d'azote, dans une étuve préalablement thermostatée, pendant 16 heures. Les suspensions sont alors refroidies à température ambiante et les mesures rhéologiques sont réalisées à 25°C. Nous étudierons dans un premier temps l'influence de la réticulation chimique entre les systèmes **HPNR** et **HPR 0,1** puis nous discuterons celle du mode de modification chimique entre les échantillons **HPR A 0,1** et **HPR 0,5** qui présentent sensiblement les mêmes propriétés rhéologiques sans traitement thermique.

Influence de la réticulation chimique

Les courbes d'écoulement des échantillons HPNR et HPR 0,1 sont reportées sur les figures 1 et 2 avant et après traitement thermique à 110°C.



Figures 1 et 2 : Variation de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement des échantillons HPNR et HPR 0,1 à 100 g/L (● : 25°C, ○ : 110°C)

Une nette diminution de la viscosité apparente est mise en évidence pour l'échantillon non réticulé **HPNR**, alors qu'elle n'est pas observée après traitement thermique pour le système **HPR 0,1**. HPNR présente un comportement newtonien aux faibles gradients de cisaillement et l'étendue de ce plateau augmente après traitement thermique. HPR 0,1 présente un comportement rhéofluidifiant sur la gamme de gradients de cisaillement considérée. De plus,

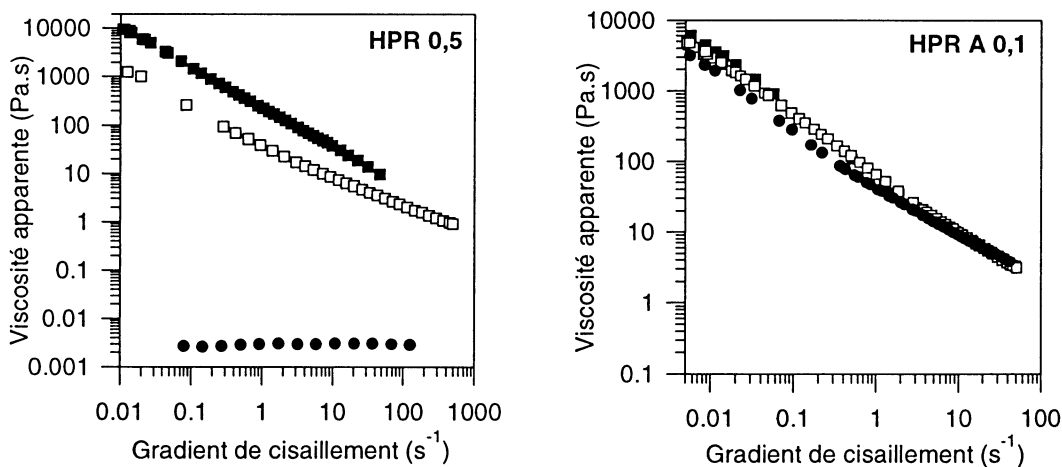
les courbes aller et retour sont dans tous les cas superposables et indiquent le caractère non thixotrope des échantillons.

L'étude microscopique de ces échantillons montre que HPNR se présente sous l'aspect de macromolécules en solution alors que HPR 0,1 est composé de particules d'un diamètre moyen de 25 μm dans une matrice continue de polymère en solution. Ainsi l'étendue du plateau newtonien, observé pour HPNR, indique un temps plus court de désenchevêtrement des chaînes macromoléculaires et le comportement rhéofluidifiant de HPR 0,1 pourrait être attribué à une désorganisation du réseau des particules sous cisaillement.

Ces résultats mettent en évidence une nette diminution des propriétés rhéologiques de HPNR qui peuvent être liées à une baisse des interactions entre les chaînes macromoléculaires (liaisons hydrogènes, enchevêtrements...) mais également à une dégradation partielle du polymère. Enfin, ces observations montrent de toute évidence l'apport positif de la réticulation sur la stabilité thermique de ces composés.

Influence du mode de modification chimique

Les propriétés rhéologiques des systèmes HPR 0,5 et HPR A 0,1 ont été étudiées après vieillissement pendant 16 heures à 110°C et 140°C. Les profils d'écoulement des deux systèmes sont reportés sur les figures 3 et 4 suivantes :



Figures 3 et 4 : Variation de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement des échantillons HPNR et HPR 0,1 à 100 g/L (■ : 25°C, □ : 110°C, ● : 140°C)

Les caractéristiques (taille et gonflement) de ces suspensions après traitement thermique sont données dans le tableau I :

Amidon	HPR 0,5		HPR A 0,1	
	(D)	(Q)	(D)	(Q)
Avant vieillissement	60	17	64	12
Après 110°C	72	22	90	15
Après 140°C	-	-	100	18

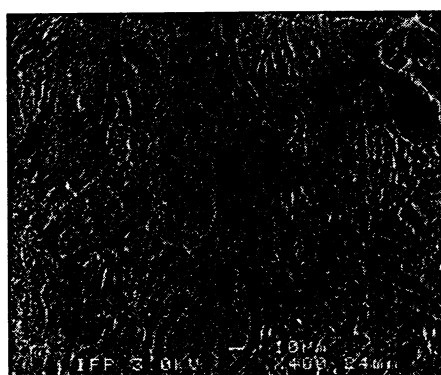
Tableau I : Caractéristiques moléculaires avant et après vieillissement $t = 16$ h. (Q mL/g et D μm)

Comparé à ses propriétés à 25°C, l'échantillon **HPR 0,5** présente une légère chute de la viscosité à 110°C. Il conserve toutefois ses caractéristiques rhéologiques notamment la contrainte seuil et le caractère fortement rhéofluidifiant. En accord avec ses observations, il a été possible de déterminer un diamètre moyen (D) et une capacité de gonflement (Q). Néanmoins, ces paramètres sont supérieurs à ceux obtenus à 25°C. Nous attribuons cette différence à une augmentation de l'hydratation des particules sous l'effet de la température. Nous avons pu alors observer, en conséquence, une diminution des propriétés élastiques donc de la rigidité du système. A 140°C, une perte drastique de la viscosité est mise en évidence avec l'apparition d'un comportement newtonien. Parallèlement, il n'est plus possible de déterminer D et Q après un vieillissement à cette température. Ces résultats montrent une très importante destruction du système (dégradation du polymère et/ou des ponts de réticulation).

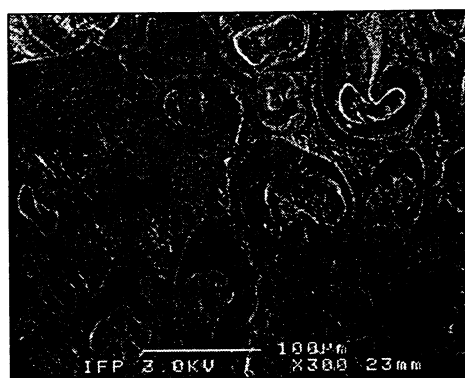
A 110°C et 140°C, HPR A 0,1 conserve quasiment les propriétés rhéologiques qu'il présentait à 25°C. De plus, une augmentation continue des facteurs D et Q est observée avec la température, comme pour HPR 0,5 à 110°C.

Bien que les deux échantillons présentent sensiblement les mêmes propriétés rhéologiques à 25°C, ils s'avèrent évoluer de manière très différente sous l'effet de traitements thermiques. HPR A 0,1 résiste beaucoup mieux que HPR 0,5 bien que son degré de réticulation soit plus faible. L'explication de cette évolution de comportement réside alors certainement dans la différence de structure des deux échantillons.

La structure de ces deux systèmes a été observée avant traitement thermique et montre de toute évidence des particules très différentes (figure 5). Nous observons des grains semblables à ceux d'amidon natif pour HPR A 0,1 alors que ces derniers sont totalement perdus dans le cas de HPR 0,5. De plus les grains de HPR A 0,1 présentent une cavité (polymère non réticulé) et une coque (polymère fortement réticulé) alors que les particules de HPR 0,5 sont homogènes. Ainsi la localisation de l'agent réticulant se situe sur la coque pour le premier échantillon renforçant ainsi la structure du grain. Dans le second cas, l'épichlorohydrine est dispersée dans le milieu et les particules sont le résultat de la réticulation, soit de fragments, soit de l'association de fragments issus de la gélatinisation.



HPR 0,5



HPR A 0,1

Figure 5 : Photographies des échantillons HPR 0,5 et HPR A 0,1

Par ailleurs, nous constatons une diminution de la viscosité apparente de l'amidon réticulé **HPR 0,5** alors que celle-ci n'est pas mise en évidence pour l'échantillon **HPR 0,1**, bien que ces deux échantillons soient réticulés suivant le même procédé. L'analyse de la distribution en

nombre des particules de HPR 0,5 a permis d'apporter une explication à cette observation (figure 6).

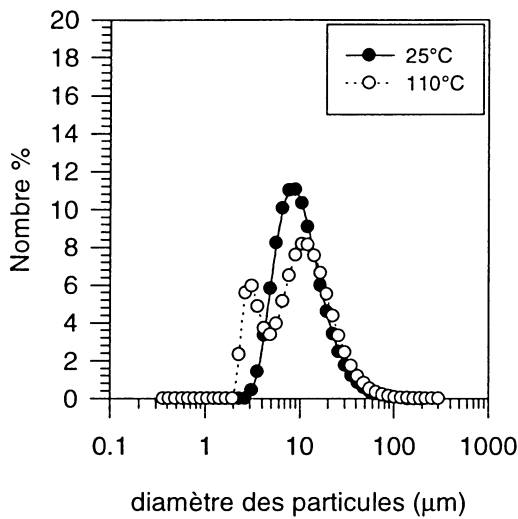


Figure 6 : Distribution en nombre des particules de la suspension HPR 0,5 avant et après vieillissement à 110°C.

Il apparaît après vieillissement à 110°C, une seconde population de diamètre moyen en nombre de 3 µm environ, qui pourrait expliquer les résultats observés précédemment. L'apparition de cette population peut s'expliquer par l'éclatement de certains grains qui sont sans doute moins réticulés. De manière plus étonnante, cet éclatement partiel des grains n'a pas été mis en évidence pour l'échantillon HPR 0,1 qui est moins réticulé. Cette dernière observation trouve peut être une explication dans la dimension des particules réticulées, de plus petite taille et qui sont alors moins sensibles à l'agitation thermique que les particules de taille plus importante, présentes dans l'échantillon HPR 0,5.

Enfin les profils d'écoulement obtenus peuvent être modélisés à l'aide d'une loi en puissance $\eta = K \gamma^{n-1}$, avec η la viscosité apparente en Pa.s, γ le gradient de cisaillement en s^{-1} , K le coefficient de consistance en $Pa.s^n$ et n l'indice de rhéofluidité. Les résultats des coefficients K et n de l'échantillon **HPR A 0,1**, pris à titre d'exemple, sont reportés dans le tableau II suivant :

Température de vieillissement (t = 16 heures)	25°C	110°C	140°C
Indice de rhéofluidité (n)	0,23	0,29	0,31
Coefficient de consistance (K, Pa.s ⁿ)	49	43	42

Tableau II : Paramètres de la relation en puissance avant et après vieillissement pendant 16 heures, à 25°C

Une légère diminution du coefficient de consistance et une augmentation de l'indice de rhéofluidité sont observées en fonction de la température. Ces tendances peuvent être représentées par une équation de type Arrhénius^{3,4,5}, généralement écrite en fonction du coefficient de consistance pour des systèmes non newtoniens :

$$K = K_0 e^{E_a / RT}$$

où E_a est l'énergie d'activation en $J.mol^{-1}$, R est la constante des gaz parfaits ($8,314 J.mol^{-1}$), T la température en K et K_0 une constante à température infinie. La valeur de l'énergie d'activation obtenue est égale à $1,4 kJ.mol^{-1}$ ($r = 0,994$). Cette valeur est proche de celle trouvée par Breton-Dollet et al, 1995. Les auteurs montrent que des amidons réticulés, stabilisés ou non sont 2 à 5 fois moins thermodépendants que l'amidon natif ($9 kJ.mol^{-1}$). Ce

résultat est lié à la réticulation chimique qui renforce dans ce cas la stabilité du grain et qui permet alors d'atteindre des températures de vieillissement élevées.

Conclusion

Nous avons montré lors de cette étude l'influence de la réticulation chimique qui améliore non seulement les propriétés rhéologiques des suspensions d'amidons mais également la stabilité thermique de ces derniers. Par ailleurs, l'ensemble de ces résultats met en évidence l'influence du mode de modification chimique qui implique une stabilité thermique bien différente. Ainsi, un échantillon réticulé avant la température de gélification **HPR A 0,1** présente une meilleure stabilité qu'un réticulé après la température de gélification **HPR 0,5** bien que sans traitement thermique et à 25°C les deux échantillons présentent les mêmes propriétés rhéologiques.

A l'issue de ce travail, il serait intéressant de réaliser des cinétiques de vieillissement afin de connaître avec exactitude les températures et les durées critiques de stabilité thermique de ces échantillons et d'étudier l'influence d'autres contraintes extérieures.

Programme AGRICE (ADEME) en collaboration avec AVEBE – INRA – IFP

Les auteurs remercient P. Guéroult et E. Rosenberg du service analyse de l'IFP pour les photographies de microscopie électronique à balayage par cryo-préparation.

¹ AVEBE, Ir. J. J. M. Swinkels (general informations) : *Industrial Starch Chemistry*

² I. Dubois, L. Picton, G. Muller (1998) « Propriétés rhéologiques d'amidons modifiés » *Les Cahiers de Rhéologie*, Vol. XVI, Nr. 1, 105-111

³ J. L. Doublier (1981) « Rheological studies on starch – Flow behaviour in cooked wheat starch dispersions » *Starch / Stärke* 35, Nr. 3, 12, 415-420

⁴ V. Breton-Dollet, J. Korolczuk, J. L. Doublier, J. F. Maingonnat (1995) « Caractérisation rhéologique de la gélification des empois d'amidons modifiés » *Les Cahiers de Rhéologie*, Vol. XIV, Nr. 2

⁵ C. J. Carriere, A. R. Loffredo (1998) « The effect of temperature on the observed flow-induced structure in semidilute solutions of gently solubilized starches » *Polymer Engineering and Science*, 38(9), 1523-1528

ETUDE RHEOLOGIQUE DE DIFFERENTS SYSTEMES THERMOSENSIBLES A BASE DE POLOXAMERS EN VUE D'UNE APPLICATION COSMETIQUE

A.G. Glevarec*, F. Agnely*, S. Geiger*, A. Mura⁺, J.F. Tranchant⁺, G. Couarraze*

*Laboratoire de Physique Pharmaceutique, UMR 8612, Université Paris XI
5 Rue JB Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex

⁺Laboratoire de Physico-Chimie, Parfums Christian Dior
1 rue d'Enfer, 45804 Saint Jean de Braye

RESUME

Les poloxamers sont des polymères thermosensibles qui, pour certains, présentent une gélification réversible en milieu aqueux. L'objectif de ce travail est d'exploiter de tels systèmes pour obtenir une forme topique à usage cosmétique présentant un effet tenseur avec une température de gélification (Tgel) qui soit proche de la température cutanée (environ 35°C) et une concentration minimale en poloxamer. Des études rhéologiques en écoulement et en mode dynamique ont été réalisées sur ces systèmes afin de déterminer Tgel et de caractériser la texture des gels formés. En modulant les paramètres structuraux des poloxamers et en ajoutant du NaCl et/ou de la glycérine, il est possible de favoriser la gélification. Nous avons d'autre part étudié des mélanges binaires de poloxamers afin d'observer une éventuelle synergie susceptible de minimiser la concentration en polymère nécessaire à l'obtention d'un gel. Un tel effet synergique n'a pas été démontré sur les systèmes étudiés. Néanmoins, l'utilisation de ces mélanges permet de moduler précisément Tgel.

INTRODUCTION

En vue d'une application cosmétique, nous recherchons des systèmes présentant une transition sol-gel à une température proche de celle de la peau. De par leurs propriétés physico-chimiques et leur faible toxicité, les poloxamers semblent être de bons candidats. Ce sont des copolymères séquencés triblocs plus couramment connus sous le nom commercial de PLURONIC® ou encore de SYNPERONIC®. Ils se composent de deux blocs hydrophiles de polyoxyéthylène (POE) de même longueur entourant un bloc central hydrophobe de polyoxypropylène (POP). Ils forment une vaste gamme de produits ayant tous pour structure générale (1) :



où $2 \leq a \leq 128$ et $b \geq 15$

Ainsi l'équilibre hydrophile/lipophile varie selon le rapport a sur b.

En solution aqueuse, les poloxamers s'associent au-dessus d'une température et d'une concentration critiques pour former des micelles. Pour certains copolymères, à partir d'une concentration de l'ordre de 20 à 30% et d'une autre température critique, cette micellisation se traduit par une gélification réversible du système.

Dans un premier temps des études rhéologiques en écoulement et en mode dynamique ont été réalisées pour caractériser la transition sol-gel et les propriétés texturales des gels aqueux de poloxamers formés. L'influence de paramètres structuraux et de l'ajout différents additifs a été examinée. Dans un second temps, des études similaires ont été réalisées sur des mélanges binaires de poloxamers afin d'observer un éventuel effet de synergie susceptible de minimiser la concentration en polymère à introduire dans la formulation de base.

MATERIEL ET METHODES

I- Choix des systèmes

Notre choix s'est porté sur le PLURONIC® F127 en raison de sa faible toxicité (la plus faible de sa classe) et de sa grande capacité à former des gels. Les autres poloxamers sélectionnés ont été choisis non seulement en fonction des mêmes critères mais également en fonction de considérations physico-chimiques (paramètres structuraux et interactions éventuelles avec le F127). Nous avons donc retenu les PLURONIC® : F87, F88, L122 et F127, leurs caractéristiques structurales sont données dans le tableau 1.

Pluronic®	Masse molaire moyenne (g/mol)	Nombre moyen d'unités OE	Nombre moyen d'unités OP
F87	7 700	62×2	39
F88	10 800	97×2	39
L122	5 000	13×2	67
F127	11 500	98×2	67

Tableau 1 : Données structurales des Pluronic® étudiés.

II- Préparation des solutions aqueuses de poloxamers

Nous avons choisi la technique de préparation à froid qui consiste à dissoudre, sous agitation magnétique, le polymère dans de l'eau distillée, à une température comprise entre 5 et 10°C. Après dissolution du polymère, on laisse le système se stabiliser une nuit au réfrigérateur (4°C). La préparation des systèmes en présence d'additifs (NaCl, glycérine) est réalisée selon le même protocole. L'additif et le polymère sont incorporés simultanément dans l'eau distillée.

III- Etude rhéologique des solutions de poloxamers

Il a été montré que la transition sol-gel des poloxamers est réversible avec la température (2) et s'accompagne d'un brusque changement des caractéristiques rhéologiques des systèmes (3, 4). Nous avons donc mené une étude rhéologique en écoulement et en mode dynamique afin de déterminer Tgel et de caractériser la texture des gels formés.

III-1 Appareillage

Pour toutes les mesures nous avons utilisé un rhéomètre rotatif de type Carri-Med CSL 100 (Rhéo). Il s'agit d'un rhéomètre à contrainte imposée équipé d'une géométrie cône/plan (4 cm de diamètre, 2° d'angle et 54 µm d'entrefer). La température est contrôlée à l'aide d'un système à effet Peltier. Afin d'éviter une évaporation dans l'échantillon, nous avons utilisé un dôme de protection avec un réservoir d'eau. L'ensemble des résultats présentés est une moyenne des résultats obtenus sur la base de deux à trois essais.

III-2 Etude rhéologique en écoulement

a- Balayage en température

Afin de déterminer la température de transition sol-gel, nous avons suivi l'évolution de la viscosité en fonction de la température sur une dizaine de degré de par et d'autre de Tgel, en imposant un gradient de cisaillement de 5 s⁻¹. La vitesse de chauffage est constante et fixée à 1°C/min. Tgel est déterminée comme la température pour laquelle une brusque augmentation de la viscosité apparaît. Pour certains échantillons nous avons étudié la réversibilité de la transition sol-gel en effectuant également une descente en température.

b- Etude en fonction du gradient de cisaillement

Afin d'étudier le caractère newtonien ou rhéofluidifiant des échantillons nous les avons soumis à des balayages en gradient de cisaillement entre 1,5 et 1 200 s⁻¹ pendant 20 minutes à température fixée.

III-3 Etude rhéologique en mode dynamique

a- Balayage en contrainte

Ce balayage est effectué afin de déterminer le régime linéaire. Il est réalisé entre 6.10⁻³ et 500 N.m⁻² avec 100 points de mesures et à deux fréquences 1 et 10 Hz.

b- Balayage en fréquence

Ce type de balayage permet de caractériser à température fixée les différents systèmes en suivant les variations des modules visqueux (G'') et élastique (G') en fonction de la fréquence. Pour cette étude, chacun des systèmes est soumis à une contrainte de 60 N.m⁻² (dans le domaine linéaire d'après le balayage en contrainte) et la fréquence varie entre 0.06 et 25 Hz.

c- Balayage en température

Un balayage en température d'une dizaine de degrés de par et d'autre de Tgel (vitesse de chauffage : 0.69°C/min) a également été mené afin de caractériser les modifications physiques des systèmes en fonction de la température et de déterminer ainsi Tgel par des mesures en mode dynamique. Les expériences sont réalisées à contrainte constante (60 N.m⁻²) dans le domaine linéaire des systèmes étudiés. L'évolution de l'angle de déphasage (δ) et du module complexe (G*) est suivie en fonction de la température. Tgel correspond à une brusque variation de δ et de G*.

RESULTATS ET DISCUSSION

I- Poloxamers en solution aqueuse

Les résultats de l'étude ont montré que les valeurs de Tgel obtenues en écoulement et en mode dynamique étaient similaires.

I-1 Détermination de Tgel

I-1-1 Influence de plusieurs paramètres sur Tgel

Pluronic®	Concentration en polymère (% massique)	Tgel (°C) Seul	Tgel (°C) + 3% NaCl	Tgel (°C) + 3% glycérine	Tgel (°C) +3% glycérine +3%NaCl
F87	20	43.3	38.0		
	30	29.9	19.0		
F88	15	pas de gel	40.4	44.9	38.1
	20	36.5	26.7	36.2	26.7
	30	17.7	7.0		
L122	20	pas de gel	pas de gel		
F127	15	30.8	20.1	29.2	19.5
	20	20.4	11.9	19.5	10.3

Tableau 2 : Tgel des PLURONIC® étudiés seuls ou en présence de plusieurs additifs en écoulement à 5 s⁻¹.

Plusieurs paramètres sont connus pour influencer sur le processus de gélification des

poloxamers : la concentration, la longueur des chaînes de POE et de POP ainsi que la masse molaire du copolymère (3). Nous avons voulu, dans cette étude, vérifier ces différents effets de structure sur le phénomène de gélification. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 2.

a- Influence de la concentration en poloxamer

L'ensemble des résultats présentés dans le tableau 2 confirme l'influence de la concentration en polymère sur la température de transition sol-gel. En effet, plus la concentration en polymère augmente et plus T_{gel} est faible : en augmentant la concentration, les interactions inter chaînes et donc la gélification sont favorisées.

b- Influence de la longueur du bloc de POP

Les PLURONIC® F88 et F127 ont des nombres d'unités OE équivalents et des masses molaires très proches (tableau 1), leur comparaison constitue donc un bon moyen de juger de l'influence de la longueur des blocs de POP. A la vue des résultats obtenus à la concentration de 20% nous vérifions que la température de transition diminue quand la longueur du bloc POP (c'est-à-dire le caractère hydrophobe du polymère) augmente. L'augmentation du nombre d'unités OP favorise donc la gélification.

c- Influence de la longueur des blocs de POE et de la masse molaire du poloxamer

L'étude comparative des PLURONIC® F87 et F88 va nous permettre de vérifier l'influence de la longueur des blocs POE. En effet, ils possèdent le même nombre d'unités OP, et se différencient par leur nombre d'unités OE et donc également par leur masse molaire. Les résultats obtenus avec le F87 et le F88 à la concentration de 20% vont à l'encontre des hypothèses trouvées dans la littérature. Il apparaît qu'à une augmentation de la longueur des blocs de POE et donc de la masse molaire, correspond une diminution de T_{gel}. Dans ce cas, il est possible de penser que le paramètre de masse molaire ait pris le dessus sur celui du nombre d'unités OE, hypothèse également émise dans la littérature (3). En effet, nous pouvons penser qu'au-dessus d'une certaine masse molaire les enchevêtrements favorisent la formation de gels limitant ainsi les effets de l'hydrophilie des OE.

I-1-2 Influence de la force ionique

Nous nous sommes intéressés aux effets du chlorure de sodium (NaCl) à 3% sur nos différents systèmes, concentration qui correspond à l'application cosmétique envisagée. Le tableau 2 montre qu'un ajout de NaCl permet d'abaisser T_{gel}, d'environ une dizaine de degrés, pour tous nos systèmes. L'effet de la force ionique permet également de diminuer la concentration minimale en polymère pour obtenir un gel. En effet, sans sel nous ne pouvions obtenir de gel avec le PLURONIC® F88 à 15%. Ce phénomène s'explique par le renforcement des interactions hydrophobes quand la force ionique augmente : un effet de "salting out" entraînant une désolvation des chaînes est observé. Cet effet agit sur les parties hydrophobes (POP) mais également sur les parties hydrophiles (POE) (ex : F87 et F88).

I-1-3 Influence de la glycérine

La glycérine est connue pour ses vertus hydrophilisantes. C'est à ce titre qu'elle est souvent employée dans les formulations cosmétiques à une concentration comprise entre 3 et 10%.

Dans cette étude, nous nous sommes donc attachés à déterminer l'influence de ce composé sur la gélification. Nous nous sommes limités à l'étude de deux de nos systèmes (F127 et F88) à deux concentrations (15 et 20%) et 3% de glycérine avec ou sans sel.

Avec 3% de glycérine, T_{gel} est abaissée d'environ 1°C. Cet additif peut induire comme NaCl un phénomène de désolvation des chaînes et peut également lier les chaînes entre elles par l'intermédiaire de liaisons hydrogène (la glycérine étant un triol). Néanmoins l'effet de la

glycérine est plus restreint que celui obtenu avec NaCl pour une même concentration en additif.

I-1-4 Caractère rhéofluidifiant

La figure 1 présente les variations de la viscosité apparente du F127 en fonction du gradient de cisaillement à différentes températures.

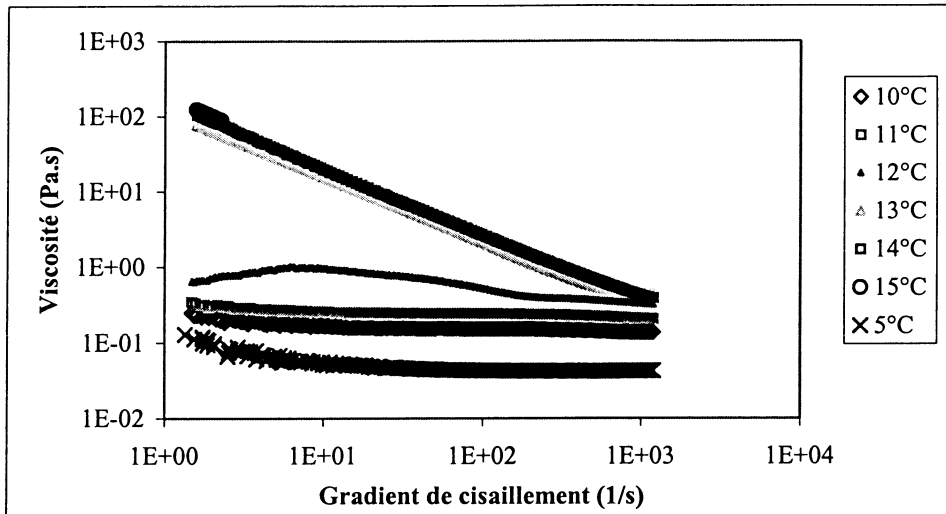


Figure 1 : Caractère rhéofluidifiant du PLURONIC® F127 à 20% en présence de 3% de NaCl, à différentes températures.

Pour des températures inférieures à la température de gélification, le F127 présente un comportement Newtonien dans la gamme de gradient étudiée. Au-dessus de cette température la viscosité diminue avec le gradient de cisaillement, on observe donc un comportement rhéofluidifiant. Ces résultats ont été confirmés sur un système à base de F88 à 20% en présence de sel. La gélification des poloxamers est basée sur la formation de nœuds de réticulation physique. Le gradient de cisaillement peut induire une diminution des interactions inter chaînes au profit d'interactions intra chaînes voire éventuellement une destruction des nœuds de réticulation.

Ce phénomène de rhéofluidification implique que si l'on souhaite déterminer T_{gel} des systèmes au repos il convient de travailler à de faibles valeurs de gradient de cisaillement (par exemple 5 s^{-1}).

I-2 Caractérisation texturale des gels

Nous avons mené une étude en mode dynamique afin de caractériser la texture des gels et donc d'évaluer l'effet cosmétique "tenseur" des systèmes en déterminant leurs modules visqueux (G'') et élastique (G').

I-2-1 Effet de la température sur les propriétés texturales

Nous avons suivi l'évolution des propriétés texturales d'un système (F127 20% en présence de 3% de NaCl) à différentes températures. Les courbes obtenues (figure 2) nous ont permis de mettre en évidence la dépendance des propriétés rhéologiques du système vis à vis de la température. En dessous de T_{gel} , le système présente un comportement de type liquide avec $G' < G''$ et $G' \sim \omega^{1.96}$, $G'' \sim \omega^{1.00}$. Au-delà de T_{gel} un comportement de type viscoélastique avec une dominante élastique ($G' > G''$) est observé.

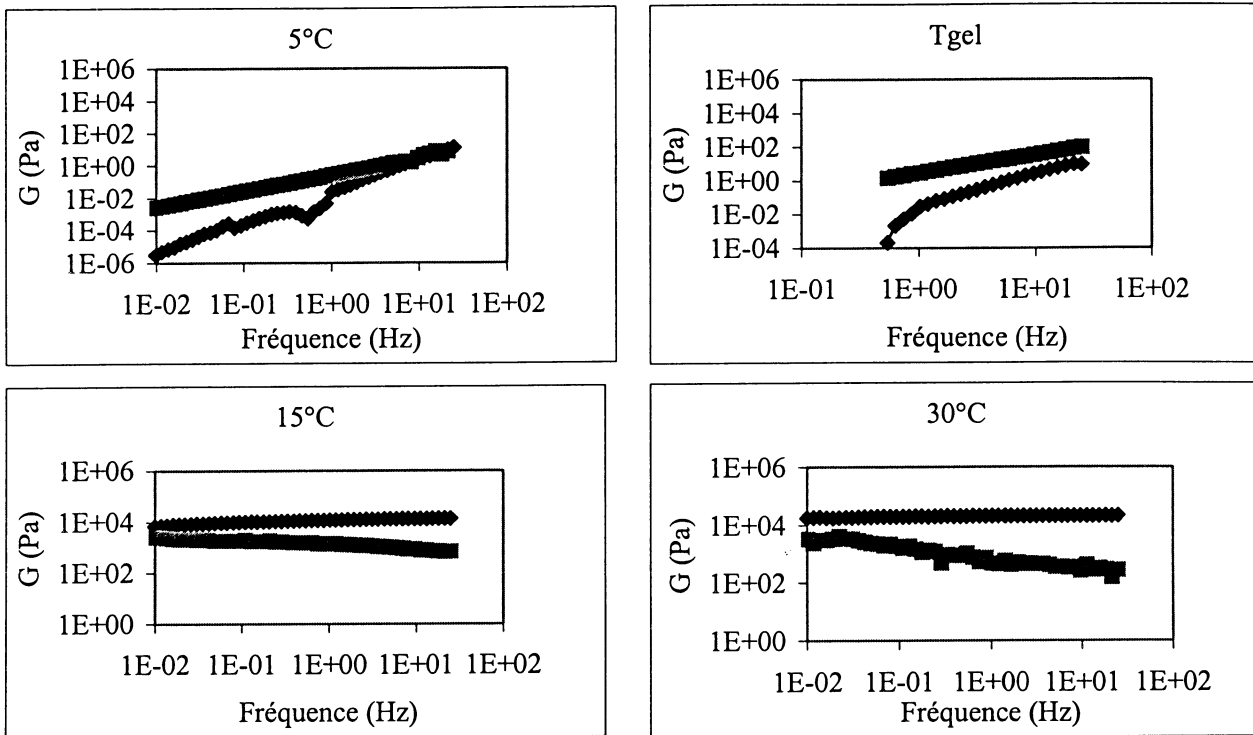


Figure 2 : Influence de la température sur G' (♦) et G'' (■) pour le F127 20% en présence de 3% de NaCl, à 1 Hz.

I-2-2 Effet des additifs à 35°C

Sur la figure 3, nous comparons les propriétés texturales du F127 à une température fixée à 35°C avec et sans additifs. Pour cela, nous suivons l'évolution de G' et de G'' en fonction de la fréquence. A 35°C, le F127 seul ou en présence des différents additifs est largement au-dessus de sa T_{gel} , il se trouve donc à l'état gel lors de sa caractérisation. Les courbes de G' et respectivement de G'' de chacun des systèmes sont presque confondues. Compte tenu de la précision de l'appareil, il est envisageable de penser que ces courbes sont identiques. Le même résultat a été obtenu avec le F88 lorsque le système se trouve au dessus de T_{gel} à 35°C (polymère+sel ou polymère+sel+glycérine).

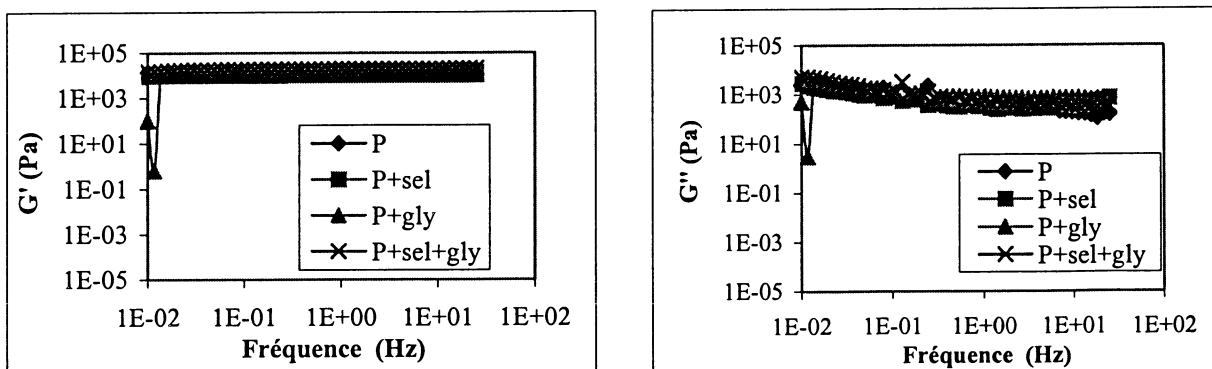


Figure 3 : Influence de différents additifs sur les propriétés texturales du Pluronic® F127 20% en présence de 3% de NaCl, à 60 N.m^{-2} , à 35°C.

Il semblerait donc que sur les deux systèmes étudiés, les additifs abaissent la valeur de Tgel mais ne modifient pas les caractéristiques texturales des gels à 35°C. Ces résultats demandent à être vérifiés à d'autres températures que 35°C et avec d'autres poloxamers.

II- Mélanges de poloxamers

Nous nous sommes intéressés à des mélanges binaires de PLURONIC® afin de voir si, par synergie, il n'est pas possible d'une part, de diminuer la concentration totale en polymère nécessaire pour former un gel et, d'autre part, de moduler Tgel.

II-1 Etude rhéologique en écoulement

Le PLURONIC® F127, présentant la plus grande facilité à former des gels et la plus faible toxicité, a été choisi comme système commun dans chacun de nos mélanges. Le choix des autres copolymères a donc été déterminé suivant les données structurales (tableau 1) du F127 (masse molaire, longueur des blocs de POE et de POP). Notre choix s'est porté sur les mélanges F127/F88, F127/L122 et enfin F127/F77 pour vérifier respectivement l'influence de la longueur du bloc POP, celle de la longueur des blocs POE et enfin celle de la masse molaire.

Les mélanges ont été réalisés à une concentration totale en polymère de 20% et 15%, en présence de 3% de NaCl dans plusieurs proportions afin d'étudier l'évolution de Tgel en fonction des proportions relatives des deux poloxamers (pourcentage massique en F127 dans le mélange). Les résultats obtenus sont donnés sur la figure 4.

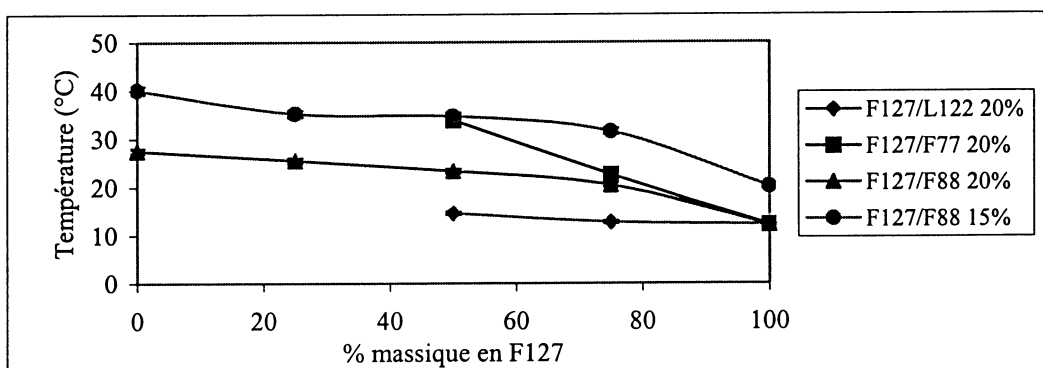


Figure 4 : Variations de la température de transition en fonction du pourcentage en F127 dans les différents mélanges réalisés.

Nous vérifions que les Tgel des différentes proportions étudiées sont toujours comprises entre les Tgel des poloxamers seuls en solution saline. Il semble donc que l'effet de synergie escompté n'ait pas lieu avec ces systèmes. Cependant ces mélanges permettent une modulation de Tgel. La figure 4 montre que l'évolution de Tgel n'est pas parfaitement linéaire en particulier pour le couple F127/F88. Ceci pourrait traduire que ces mélanges ne sont pas idéaux, cependant des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'interaction entre les deux poloxamers.

II-2 Caractérisation texturales des mélanges F127/F88 au repos à 35°C

La figure 5 présente l'évolution de G' et de G'' en fonction de la fréquence pour des mélanges F127/F88 dans différentes proportions, en présence de 3% de NaCl et à une concentration totale en polymère de 20%.

Nous notons qu'aucune modification significative des modules visqueux et élastiques n'est observée pour ces mélanges quelles que soient les proportions en F127, vraisemblablement en

raison de la similitude de comportement rhéologique entre les deux poloxamers. Il serait donc intéressant de travailler à une autre température ou d'étudier les mélanges d'autres copolymères.

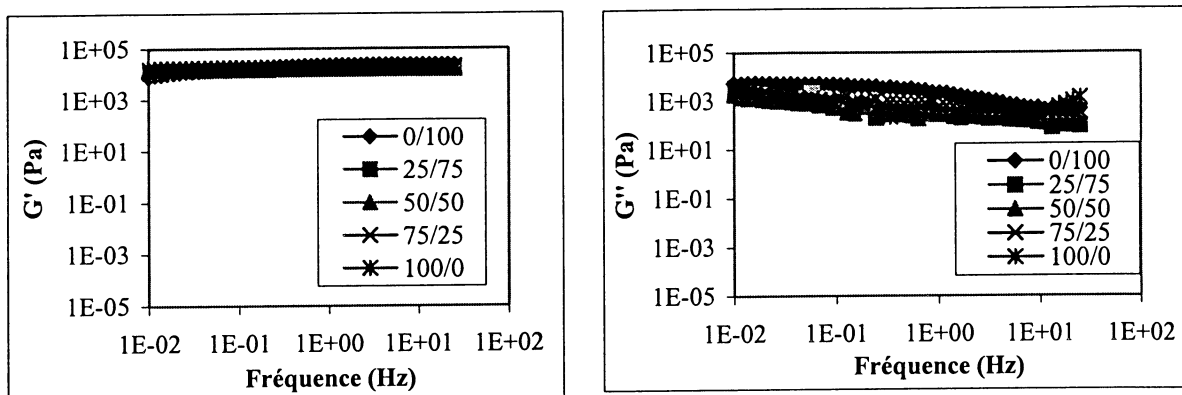


Figure 5 : Evolution de G' et de G'' pour le mélange F127/F88 à 20% en présence de 3% de NaCl, dans différentes proportions, à 60 N.m^{-2} , à 35°C .

CONCLUSION / PERSPECTIVES

Nous avons étudié la transition sol-gel de différents systèmes poloxamers par une analyse rhéologique en écoulement et en mode dynamique. Ces deux méthodes nous ont conduit à des valeurs similaires de T_{gel} . L'augmentation de la masse molaire et/ou des séquences hydrophobes des polymères permettent de diminuer T_{gel} . L'ajout de sel et dans une moindre mesure de glycérine favorisent également la gélification. L'étude en mode dynamique, nous a permis de caractériser la texture au repos des gels formés. A 35°C , les modules visqueux et élastiques des gels obtenus par le F127 et le F88 sont invariants lors de l'ajout de NaCl et/ou de glycérine. Pour leur part, les mélanges binaires de poloxamers étudiés, bien qu'ils ne présentent pas de synergie permettant de diminuer la concentration en polymère nécessaire à la formation d'un gel, sont un bon moyen de moduler précisément la valeur de température de transition sol-gel.

Il serait intéressant de généraliser ces résultats à d'autres poloxamers présentant des rapports hydrophile/lipophile différents et d'examiner l'influence de la température sur les caractéristiques texturales des gels.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- P. Alexandridis, T.A. Hatton, *Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces : thermodynamics, structure, dynamics and modeling*, Coll. and Surf. A, 1995, 96, 1-46.
- 2- D. Attwood, J.H. Collet et C.J. Tait, *The micellar properties of the poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) copolymer PLURONIC F127 in water and electrolyte solution*, Int. J. Pharm., 1985, 26, 25-33.
- 3- B. Nyström and H. Walderhaug, *Dynamic viscoelasticity of an aqueous system of a poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymer during gelation*, J. Phys. Chem., 1996, 100, 5433-5439.
- 4- C.W. Cho, S.C. Shin and I.J. Oh, *Thermorheologic properties of aqueous solutions and gels of poloxamer 407*, Drug dev. Ind. Pharm., 1997, 23(12), 1227-1232.

COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE D'UN PRODUIT LAITIER AMYLACE

C. Loisel¹, P. Audrain¹, P. Cantoni¹, J.L. Doublier²

1- Ecole Nationale d'Ingénieurs des Techniques des Industries Agricoles et Alimentaires, rue de la Géraudière, BP 82225, 44322 NANTES CEDEX 3

2- Institut National de la Recherche Agronomique, BP 71627, 44316 NANTES CEDEX

Résumé :

Deux amidons de maïs cireux modifiés soit chimiquement (Clearam[→] CH10 de Roquette, faiblement réticulé et stabilisé) soit physiquement (Novation[→] 2600 de National Starch, traitement thermique en conditions alcalines) ont été comparés en suspension dans l'eau et dans un système modèle de type sauce béchamel. L'influence de la réfrigération et de la congélation sur la conservation d'un tel système a été étudiée. Les comportements rhéologiques ont été décrits par viscosimétrie à 60°C et en régime dynamique sur la plage de fréquence 10⁻¹ à 50 Hz à 40°C. Un comportement rhéofluidifiant a été constaté et les spectres obtenus présentent une légère dépendance de G' en fonction de la fréquence et G' est supérieur à G''. L'étude de la distribution de taille des particules de la phase dispersée, grains d'amidon et globules gras, par granulométrie laser complétée par microscopie optique, nous a permis de décrire la rhéologie des systèmes. L'amidon modifié physiquement (Novation 2600) présente, à la décongélation, un aspect de surface granuleux qui a pu être relié à l'apparition d'agglomérats, mis en évidence plus nettement en microscopie.

1. INTRODUCTION

Les amidons sont l'un des agents de texture les plus utilisés par l'industrie alimentaire. Très souvent, ces polysaccharides sont modifiés chimiquement de manière à les rendre susceptibles de supporter les contraintes thermiques et mécaniques élevées rencontrées dans les procédés de transformation. Actuellement on assiste à un développement des amidons physiquement modifiés qui possèdent l'avantage d'être identifiés comme ingrédients et non comme additifs (soumis à la réglementation). Leurs propriétés fonctionnelles ne sont toutefois pas semblables à celles des amidons chimiquement modifiés, notamment en ce qui concerne la stabilité des empois lors du stockage au froid. Le but a été d'étudier l'influence de la réfrigération et de la congélation sur les propriétés texturantes de deux amidons modifiés l'un chimiquement (Clearam[→] CH10), l'autre physiquement (Novation[→] 2600) tout d'abord en milieu aqueux, puis dans un système modèle de type sauce béchamel. Nous avons tenté de relier la structure des systèmes déterminée par l'agencement et le gonflement des grains d'amidon, à leurs propriétés rhéologiques, en utilisant la granulométrie laser associée à l'observation microscopique.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériels

On utilise des amidons modifiés issus du maïs cireux (variété de maïs exempte d'amylose). L'amidon Clearam[→] CH10 (réticulé adipate et stabilisé acétate) de la Société Roquette Frères

(Lestrem) est conçu pour présenter un maximum de gonflement entre 110 et 115°C dans les conditions de pH et de cisaillement de l'étude.

L'amidon Novation® 2600 proposé par National Starch est obtenu par dextrinisation alcaline. Sa viscosité est relativement stable aux hautes températures, faibles pH, et conditions de cisaillement élevées.

Pour la fabrication des sauces on utilise comme milieu dispersant du lait écrémé, ainsi que de l'huile de tournesol et de l'eau pour remplacer la margarine (8,5% dont 16% d'eau) et du sel (0,6%).

2. 2. Méthodes

Préparation des suspensions

Les sauces et les empois sont préparés à des concentrations de 3g d'amidon sec pour 100g de mélange. Pour les sauces on réalise d'abord une émulsion huile/ lait avec l'Ultraturrax (à 25°C pendant 2 min à 24000 tr/min) dans laquelle on ajoute ensuite l'amidon et le sel. L'empesage de ces deux préparations est effectué dans un réacteur en verre de 2 l thermostaté, à une agitation de 500 tr/min. Les cinétiques de chauffage et de refroidissement sont fixées respectivement à 5°C/min et 2°C/min avec un palier de 10min à la température maximale de 115°C, et un palier de 20min à 70°C après le refroidissement. Une détermination de la matière sèche permet de vérifier la concentration du mélange.

Congélation et réfrigération des échantillons

On utilise une enceinte de congélation pilote (SERVATHIN) à air pulsé (55dm³, - 45°C). Pour obéir aux normes fixées par la législation (1), on réalise une congélation rapide avec une température de consigne de - 30°C et une vitesse d'air de 4 m/s, jusqu'à une température de -18°C au coeur des échantillons. Ces derniers sont ensuite stockés en chambre froide à - 20°C. La décongélation s'effectue dans une ambiance réfrigérée (3 à 4°C). Par ailleurs des échantillons sont simplement réfrigérés à cette même température après refroidissement.

Mesures par diffraction laser sur les empois et les sauces

Les analyses sont réalisées sur le Mastersizer (Malvern instruments) équipé d'une lentille 300 RF (plage de 0,05 à 900µm) suivant les conditions décrites précédemment (2), sur différents échantillons correspondant aux traitements suivants : cuisson, réfrigération, congélation.

Mesure du gonflement de l'amidon

Une centrifugation à 700g de 10min sur l'empois d'amidon non dilué est réalisée. Puis on calcule le pouvoir de gonflement (masse du grain d'amidon gonflé rapporté à sa matière sèche) sur les empois après cuisson, réfrigération et congélation. La fraction volumique est déduite des valeurs obtenues, d'après le protocole décrit en (3).

Mesures rhéologiques

Les mesures rhéologiques sont effectuées sur un rhéomètre AR 1000 de TA Instrument. Les courbes d'écoulement sont réalisées sur les deux types de préparation (empois et sauces) à la sortie du réacteur, avec le dispositif à cylindres coaxiaux (rayons : godet = 15mm, cylindre interne = 13,83mm ; hauteur immergée = 25,8mm) à 60°C. Le produit est soumis à deux cycles de cisaillement de 0,01 à 1200 s⁻¹ selon une échelle logarithmique en 4 min aller / retour.

Les mesures en régime harmonique sont réalisées uniquement sur les sauces à la sortie du réacteur et après décongélation. On utilise une géométrie à plans parallèles (4 cm de diamètre), avec une déformation de 4% de 50 à 10¹Hz à 40°C. Cette température correspond

aux conditions d'utilisation culinaires. L'entrefer est réglé à une dimension dix fois supérieure à celle des plus grandes particules (700 μm).

Préparations microscopiques

Une préparation entre lame et lamelle est réalisée avec les échantillons de sauces et d'empois réfrigérés et décongelés, dilués au 1/20^e, colorés avec une goutte de Lugol selon le protocole décrit en (4). L'observation a lieu à un grossissement de 80 avec une loupe binoculaire Leica.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3. 1. Propriétés des empois d'amidons

Propriétés d'écoulement

La figure 1 présente les courbes d'écoulement des deux empois d'amidon à la sortie du réacteur.

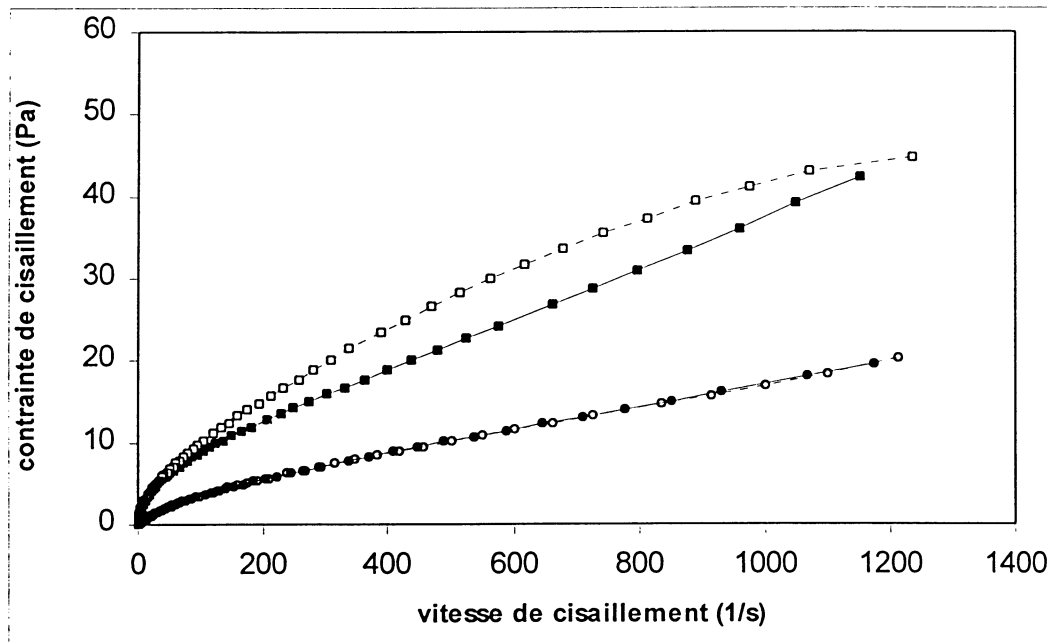


Figure 1 : courbes d'écoulement à 60°C, 1^{er} cycle, des deux empois d'amidon (3%) :

■ CH10 courbe aller ● Novation 2600 courbe aller
□ CH10 courbe retour ○ Novation 2600 courbe retour

Les deux types d'empois ont un comportement rhéofluidifiant, cependant la viscosité est nettement plus élevée avec le CH10. D'autre part, ce dernier présente une boucle d'hystérésis caractéristique d'un comportement antithixotrope ; celui-ci pourrait être dû à un réarrangement des grains d'amidon dans l'entrefer (5) provoqué par le cisaillement.

Des essais sur les produits réfrigérés ou décongelés ne nous ont pas permis de déceler une influence du traitement sur les propriétés rhéologiques des empois.

Distribution de taille des grains d'amidon

Les figures 2a et 2b présentent les distributions de taille au granulomètre laser des deux types d'amidon à la sortie du réacteur et après congélation. On observe tout d'abord une différence entre les deux amidons en sortie de réacteur (donc après empesage) : les diamètres médians en volume pour le CH10 et le Novation sont en effet respectivement de 40,7 et 32 μm . A titre indicatif, ces mêmes diamètres étaient respectivement de 20,1 et 18,3 μm avant traitement

thermique. Par ailleurs la congélation entraîne l'apparition de particules de plus grande taille (> 100 μm) pour le Novation 2600.

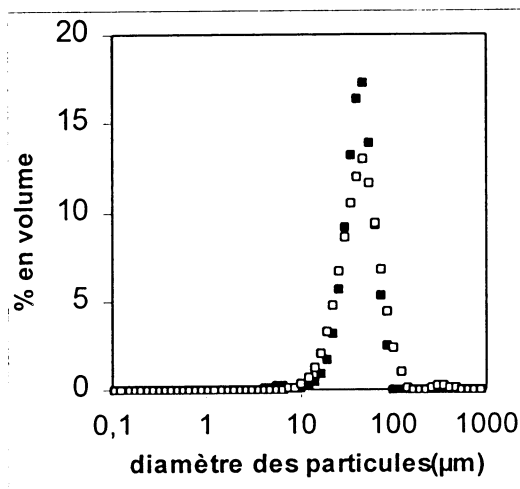


Figure 2a : Distribution de taille des grains d'amidon dans un empois de CH10 ; ■ sortie réacteur ; □ décongelé

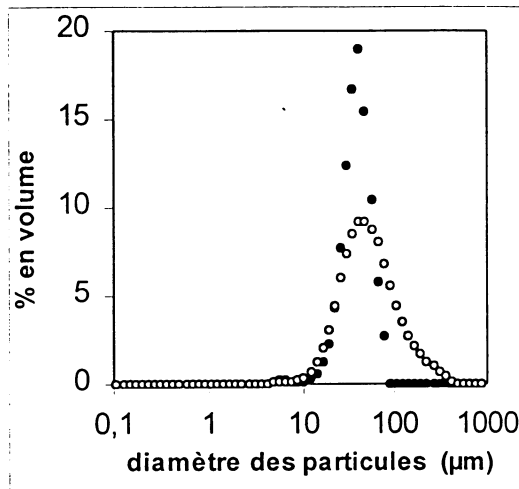


Figure 2b : Distribution de taille des grains d'amidon dans un empois de Novation 2600; ● sortie réacteur ; ○ décongelé

Gonflement de l'amidon

Le tableau 1 représente les fractions volumiques sur des empois en sortie de réacteur, réfrigérés ou décongelés.

		PG moyen	S moyenne	Φ moyenne
CH10	sortie réacteur	23,79 (0,15)	0,013 (0,002)	0,710 (0,005)
	réfrigéré	24,39 (0,21)	0,011 (0,003)	0,733 (0,008)
	décongelé	21,76 (0,55)	0,010 (0,004)	0,650 (0,015)
Novation 2600	sortie réacteur	21,35 (0,40)	0,056 (0,002)	0,624 (0,013)
	réfrigéré	19,75 (0,46)	0,074 (0,005)	0,566 (0,016)
	décongelé	16,65 (0,80)	0,070 (0,040)	0,480 (0,023)

Tableau 1 : fractions volumiques occupées par les grains d'amidon gonflés après différents traitements thermiques. PG : pouvoir de gonflement, S : solubilité, Φ : fraction volumique ; nombre d'échantillons = 8, l'écart type est indiqué entre parenthèses

On remarque des valeurs de pouvoir de gonflement et de fraction volumique plus élevées pour le CH10 que pour le Novation (en relation avec leur diamètre médian, Fig 2a et 2b), alors que la solubilité du Novation est plus importante quel que soit le traitement. La congélation provoque une nette diminution de la fraction volumique dans les deux cas, tandis que le diamètre médian reste inchangé pour le CH10, et augmente pour le Novation. L'observation à la loupe binoculaire (Figure 3) montre les empois de CH10 et de Novation après réfrigération et décongelation. On observe ainsi, avant congélation, des grains isolés (Fig 3a et 3c) et après congélation, des agglomérats de grains surtout dans le cas du Novation. Les grains semblent également déformés (Fig 3b et 3d).

Ces agglomérats pourraient être à l'origine de l'augmentation de taille des particules perçue par granulométrie laser et de la diminution de la fraction volumique. Pour la même raison la surface des empois d'amidon Novation présente un aspect grumeleux qui n'est pas présent avec le CH10.

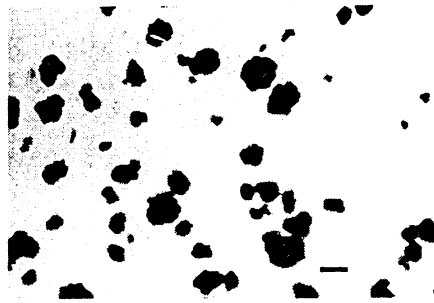


Fig 3a : Novation 2600 réfrigéré

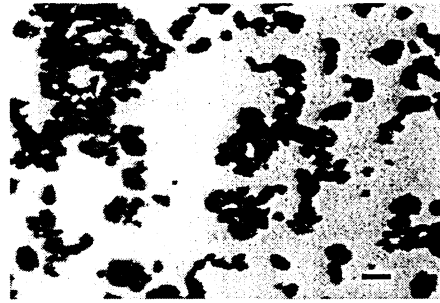


Fig 3b : Novation 2600 décongelé

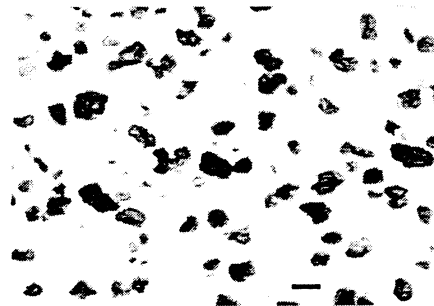


Fig 3c : CH10 réfrigéré

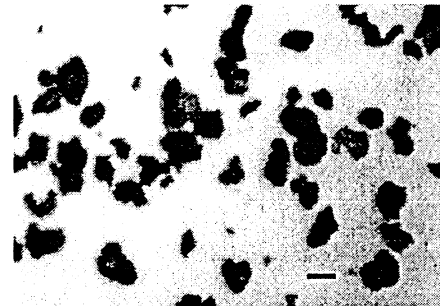


Fig 3d : CH10 décongelé

Figure 3 : empois d'amidon observés à la loupe binoculaire, grossissement 80 (barre d'échelle : 50 μ m)

Il apparaît donc que les grains d'amidon issus du CH10 présentent un gonflement plus important lors de l'empesage (Fig 1a et 1b, Tableau1), ce qui entraîne des empois de viscosité plus élevée. De plus, cet amidon chimiquement modifié semble subir moins de modifications de structure que le Novation suite à la congélation-décongélation, car il présente moins fréquemment le phénomène d'agglomération des grains.

3. 2. Propriétés des systèmes modèles

Propriétés d'écoulement

La figure 4 présente les courbes d'écoulement des sauces modèles à la sortie du réacteur.

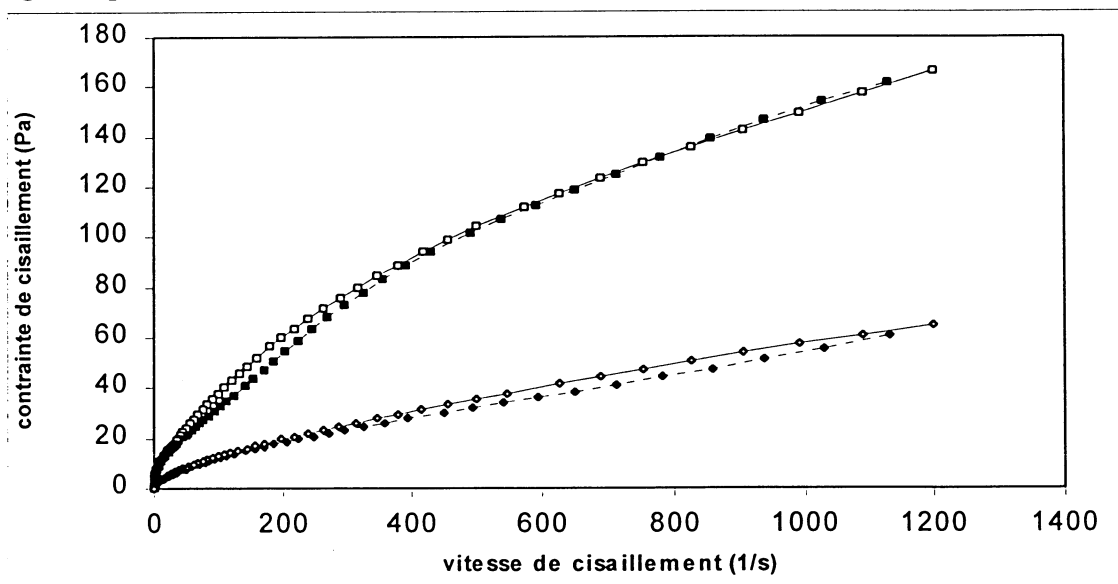


Figure 4 : courbes d'écoulement à 60°C, 1^{er} cycle, des sauces réalisées avec les deux types d'amidon ; ■ CH10 courbe aller ; • Novation 2600 courbe aller ; □ CH10 courbe retour ; ○ Novation 2600 courbe retour

On observe un comportement rhéofluidifiant des sauces. L'amidon CH10 permet d'obtenir des valeurs de viscosité plus importantes que le Novation. Le phénomène d'antithixotropie remarqué dans les empois est plus atténué ; l'épaississement de la phase continue dû à l'ajout d'ingrédients limite peut-être le réarrangement des grains d'amidon dans l'entrefer. Comme pour les empois, le traitement thermique n'a pas modifié les courbes d'écoulement.

Propriétés viscoélastiques

Les figures 5a et 5b présentent les mesures en régime dynamique effectuées sur les sauces à la sortie du réacteur et après congélation. On remarque un comportement de type gel faible, avec une dominante élastique $G' > G''$ pour les deux types de sauces. Les valeurs de G' plus élevées pour les sauces avec le CH10 (Fig 5a) témoignent de l'obtention d'un produit plus consistant qu'avec le Novation (Fig 5b). L'incidence de la congélation sur le module de stockage n'est pas perceptible ; en revanche on note une augmentation du module de perte ce qui indique une atténuation du caractère élastique des systèmes.

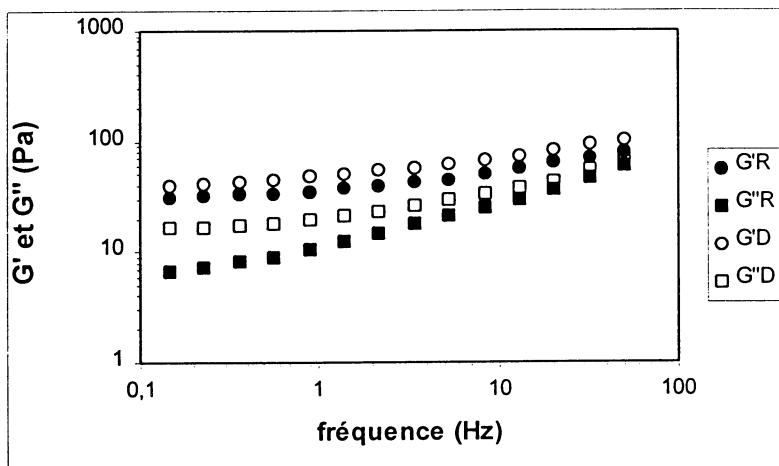


Figure 5a : spectre mécanique à 40°C de la sauce contenant l'amidon CH10
R : sortie du réacteur - D : décongelé

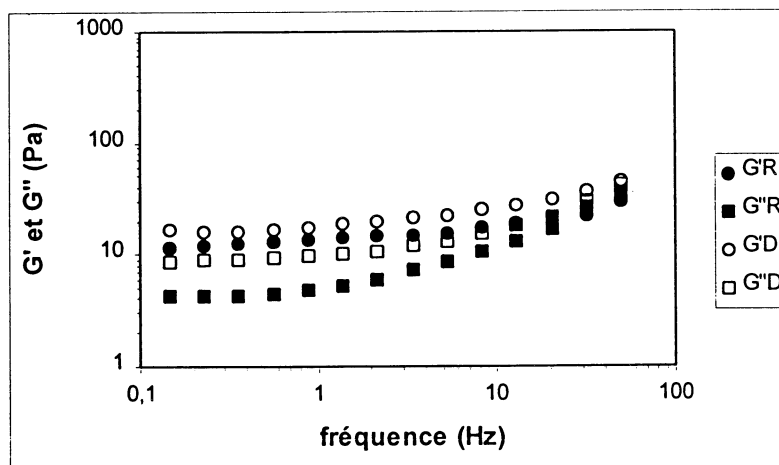


Figure 5b : spectre mécanique à 40°C de la sauce contenant l'amidon Novation 2600
R : sortie du réacteur - D : décongelé

Distribution de taille des grains d'amidon

Les figures 6a et 6b représentent la distribution de taille des particules mesurée au granulomètre laser en sortie réacteur et après décongélation. Pour l'interprétation des résultats

on tient compte de la taille des globules gras, préalablement définie par l'analyse d'une émulsion d'huile dans le lait (diamètres médians en volume : 7 à 8 μ m). La distribution en volume des particules présente donc deux pics qui attestent la présence de deux populations distinctes : les globules gras et les grains d'amidon, avec pour ceux-ci des diamètres médians pour le CH10 et le Novation respectivement de 43.5 et 32 μ m en sortie de réacteur.

Lors de l'analyse au granulomètre laser de la taille des particules, on observe la même évolution suite à la congélation que dans les empois, c'est à dire un glissement vers les particules de plus grandes dimensions surtout pour le Novation 2600 (Fig 6b).

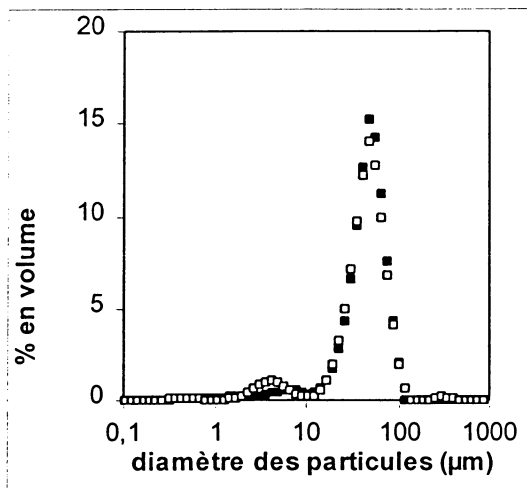


Fig 6a : Distribution de taille des particules dans la sauce contenant l'amidon CH10 ; ■ sortie réacteur ; □ décongelé

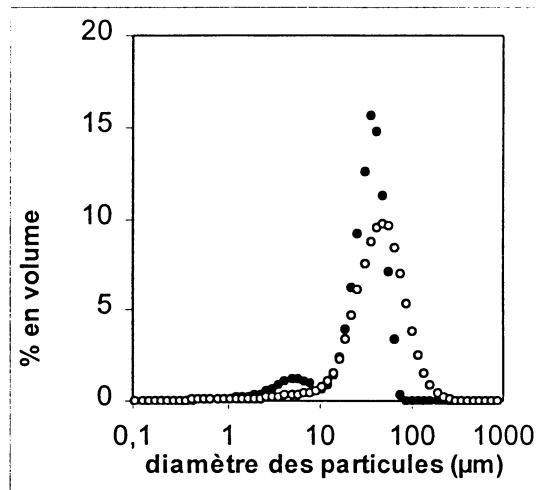


Fig 6b : Distribution de taille des particules dans la sauce contenant l'amidon Novation 2600 ; ● sortie réacteur ; ○ décongelé

L'aspect visuel des sauces est différent entre les deux amidons : comme pour l'empois d'amidon on observe un aspect granuleux pour la sauce décongelée contenant du Novation. Les images des éléments structurés des sauces obtenues par microscopie (Figure 7), avant et après congélation, permettent de compléter ces informations.

Suite à la congélation, on remarque la formation d'agglomérats de grains d'amidon (Fig 7b et 7d). Ce phénomène est surtout présent dans les sauces contenant du Novation, bien que l'on trouve également de façon moins fréquente des amas dans les sauces avec le CH10. Il faut tenir compte du fait que l'aspect de la photo est modifiée par la préparation microscopique qui implique une dilution : en réalité les grains d'amidon gélatinisés sont très proches et environnés de globules gras.

On confirme donc par l'observation microscopique les hypothèses formulées suite à l'aspect des sauces décongelées et aux résultats fournis par le granulomètre laser. Les déductions sont identiques à celles des analyses sur les empois : le CH10, en raison du type de modification, permet l'obtention de sauces plus consistantes, qui résistent mieux au mode de conservation par congélation que les sauces réalisées avec du Novation 2600.

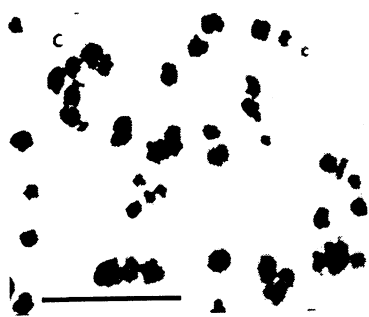


Fig 7a : Novation 2600 réfrigéré



Fig 7b : Novation 2600 décongelé

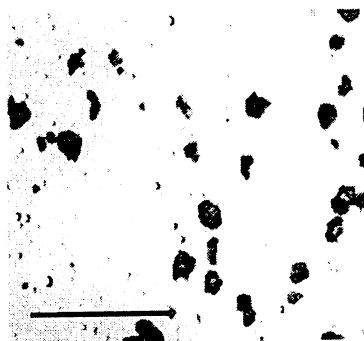


Fig 7c : CH10 réfrigéré



Fig 7d : CH10 décongelé

Figure 7 : sauces observées à la loupe binoculaire, grossissement 80
(barre d'échelle = 200 μ m)

4. CONCLUSION

Cette étude permet d'établir, par recoupement des résultats d'analyse, une différence entre les deux sortes d'amidons, au niveau de leurs propriétés texturantes et de leur résistance à la congélation lors des applications dans des sauces. L'amidon CH10 dans les conditions de température et de cisaillement étudiées, est peu modifié dans sa structure granulaire par la congélation, contrairement à l'amidon Novation. Pour ce dernier, l'apparition d'une surface granuleuse suite à ce traitement peut être reliée à la présence d'agglomérats identifiés en microscopie optique. Les mesures en régime harmonique montrent une atténuation du caractère élastique pour les deux types d'amidon après décongélation

REFERENCES

- (1) Gac A., Gautherin W. (1987) Le froid dans les magasins de vente des denrées périssables. Pyc edition, Paris.
- (2) Loisel C., Tecante A., Cantoni P., et Doublier J.L. (1998) Influence de la composition et du traitement thermique sur les propriétés rhéologiques d'un système polyphasique ; amidon-carraghénanes. Les Cahiers de Rhéologie, **16**, 152-158.
- (3) Doublier J.L.(1981) Rheological studies on starch. Flow behaviour of wheat starch pastes. Starch, **33**, 415-420.
- (4) Loisel C., Cantoni P. et Doublier J. L. (1996) L'analyse d'images comme outil de description de la structure des empois d'amidon : relation avec leur comportement rhéologique. Les Cahiers de Rhéologie, **15**, 342-348.
- (5) Dintzis F.R., Bagley E.B. et Felker F.C. (1995) Shear-thickening and flow-induced structure in a system of DMSO containing waxy maize starch. J. Rheol., **39**, 1399-1409.

CARACTÉRISATION RHÉOLOGIQUE DU SANG HUMAIN POUR DES MALADES DU “DIABETES MELLITUS”

M.Barracó-Serra.; Ma.A. Adrià-Casas.; R. Torres-Cámara.; P. Surià-Lladó
Departament de Mecànica de Fluids.
Escola Tècnica Superior d’Enginyeria Industrial de Barcelona
Universitat Politècnica de Catalunya
Avda. Diagonal, 647. Barcelona-08028.

Résumé

Le but de cette contribution est la détermination des paramètres rhéologiques du sang humain pour l’élaboration d’une diagnose du “diabetes mellitus”

Nous avons extrait du sang du groupe de contrôle et du groupe des malades et, après préparation (éparinisation, centrifugation, etc), nous avons fait des essais à de faibles vitesses de déformation et à de hautes vitesses de déformation sur des systèmes viscosimétriques à cône-plateau.

Nous avons aussi fait la mise au point d’une méthode pour la mesure de la rigidité de la membrane erythrocytaire par pénétration, par aspiration, des globules dans une micropipette. Les paramètres différentiels constituent la base de la diagnose.

Méthodologie expérimentale.

Nous avons traité le cas de la “diabetes mellitus” insulino-dépendente, fondamentalement, à cause de l’absence de malaises complémentaires et de la non existence des effets d’une médication continuée.

De cette façon nous avons essayé d’élaborer des critères pour la diagnose de la pathologie. La population des malades a été d’11 personnes et le groupe de contrôle (pour la comparaison), de 14 personnes.

On a fait l’extraction du sang (des malades et des membres du groupe de contrôle) le matin avant la première ingestion.

Le Centre hospitalaire a élaboré la fiche médicale pour chaque composant des groupes.

On a procédé à l’héparinisation du sang.

De différents échantillons ont été préparés pour réaliser des essais rhéogrammiques à de hautes et faibles vitesses de déformation et pour les essais avec la micropipette.

La température d’expérimentation a été, toujours de 37°C.

- Essais rhéogrammiques à de faibles vitesses de déformation.
Nous avons utilisé un système viscosimétrique du type cône-plateau, Wells-Brookfield avec une gamme de jusqu’à 450 s⁻¹.
Nous avons obtenu des rhéogrammes du plasma et du sang complet.
- Essais rhéogrammiques à de haute vitesses de déformation.
Nous avons utilisé pour ce cas-là un système viscosimétrique du type cône-plateau Ferranti-Shirley avec une gamme de jusqu’à 1000 rpm (16.500 s⁻¹).
La principale difficulté pour la comparaison des résultats est le différent taux d’hématocrite des échantillons. Pour cette raison nous avons fait des essais de plasma, (Figure 1) du sang complet simple (Figure 2) et du sang complet avec une haute

concentration d'érythrocytes (par centrifugation) et pour des situations d'hémolyse ou pas (Figure 3)

Dans ce dernier cas, des paramètres reliés au tracé des rhéogrammes (Figure 4) peuvent être considérés:

μ_i , viscosité initiale (du comportement newtonien)

τ_i , contrainte initiale de rupture (premier point de passage du comportement newtonien au comportement pseudoplastique)

τ_r , contrainte de rupture (rhéostructuration)

$(\tau_r - \tau_i)$, index de l'uniformité des populations

$b/(\tau_r - \tau_i)$, index du pourcentage d'hémolytion avant τ_r

$b/(a + b)$, index de pourcentage de rupture initiale

- Essais d'élasticité de la membrane des érythrocytes avec la micropipette.

La méthode est basée à mettre en évidence les propriétés élastiques des érythrocytes par son introduction par aspiration dans une micropipette.

D'abord il faut préparer la micropipette avec un tube de verre capillaire de 15 cm. de longueur et 1 mm. de diamètre, et par des techniques d'échauffement lui donner un diamètre, a la fin du tube, de 0,9 μm . Il faut couper l'extrémité très soigneusement pour ne pas avoir d'arêtes vives qui pourraient générer des contraintes supplémentaires.

Une fois préparée la solution sanguine, nous avons appliqué une dépression de 25 mm.c.e. Nous avons mesuré le temps d'introduction du globule rouge dans la micropipette pour tous les échantillons a fin de comparer les résultats.

Le paramètre que nous avons utilisé a été: $(l/D_e)/t$, etant, l la longueur de pénétration, D_e le diamètre du l'érythrocyte et t le temps de pénétration (Figure 5)

- Méthode de comparaison.

La simplicité et l'applicabilité à des populations peu nombreuses a conduit à comparer les valeurs moyennes correspondantes au groupe de malades et au groupe de contrôle par la méthode de Darmois.

Le paramètre de comparaison est:

$$D = |m_1 - m_2| / [(\sigma_1^2/(n_1-1)) + (\sigma_2^2/(n_2-1))]^{(1/2)}$$

dans lequel m_1 et m_2 sont les valeurs moyennes des populations, σ_1 et σ_2 ses déviations typiques, et n_1 et n_2 les dimensions des groupes.

Le critère de Darmois assure l'égalité statistique des moyennes à un certain niveau de fiabilité (nous avons choisi le 95% de fiabilité, ce qui correspond réellment à un marge d'1 à 3% de risque).

Quelques résultats

Ils sont exprimés sous la forme suivante:

- Viscosité plasmatique:

	Valeur moyenne	Déviati on typique	D. Darmois
Groupe des malades:	1,280	0,024	0,63
Groupe de contrôle:	0,287	0,029	

- Paramètres rhéogrammiques a de hautes vitesses de déformation avec hémolyse

- Viscosité initiale

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	1429,90	129,12	
Groupe de contrôle:	1449,78	125,04	
			0,37

- Contrainte de rupture, τ_r :

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	3476,90	147,65	
Groupe de contrôle:	3117,28	131,93	
			6,06

- Paramètre: $b/(b+a)$

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	0,211	0,033	
Groupe de contrôle:	0,207	0,026	
			0,32

- Paramètre: $b/(\tau_r - \tau_i)$

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	0,290	0,038	
Groupe de contrôle:	0,270	0,041	
			1,20

- Contrainte initiale, τ_i :

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	59,18	6,45	
Groupe de contrôle:	51,85	6,11	
			2,76

- Paramètre: $(\tau_r - \tau_i)$

	Valeur moyenne	Déviatiion typique	D. Darmais
Groupe des malades:	2042,72	245,64	
Groupe de contrôle:	1667,50	198,44	
			3,94

- Viscosité de Casson:

	Valeur moyenne	Déviati on typique	D. Darmois
Groupe des malades:	4,28	0,35	
Groupe de contrôle:	3,83	0,25	
			3,44

- Mesures d'élasticité érythrocytaire (micropipette)

	Valeur moyenne	Déviati on typique	D. Darmois
Groupe des malades:	0,839	0,036	
Groupe de contrôle:	0,924	0,029	
			6,09

Pour des valeurs du paramètre D de Darmois inférieurs à celui de référence (2,79) rien ne fait penser à l'inégalité des moyennes; pour des valeurs supérieures il y aura des différences statistiquement significatives

Conclusions

Tout en faisant l'analyse du comportement d'un groupe de malades et d'un autre de contrôle, nous avons détecté:

- Un comportement identique de la valeur moyenne de la viscosité plasmatique. Cela veut dire que le diabète méllitus n'a pas d'influence sur la viscosité plasmatique, en accord avec ce qu'exprime la littérature. La viscosité plasmatique est modifiée seulement par des altérations très fortes de la teneur plasmatique (carcinomes, macroglobulémies, etc).
- Une différence, statistiquement significative, des valeurs de la viscosité de Casson (le groupe des malades a une viscosité plus grande).
- Des valeurs différentes de la contrainte de rupture τ_r , et du paramètre $(\tau_r - \tau_i)$, étant aussi plus grandes pour le groupe des malades.
- La méthode de l'aspiration d'érythrocytes par micropipette a montré une différence de la rigidité des globules rouges. Le groupe des malades diabétiques a présenté une plus grande rigidité érythrocytaire

Remerciement

Nous avons bien de remercier M.L. Bravo pour la mise au point de la méthode d'aspiration avec la micropipette.

Références

- Gabelnick, H.L.; Litt, M.
"Rheology of biological systems"
C.C Thomas Publishers.- 1973
- Dintenfass, L.
"Rheology of blood in diagnostic and preservative medicine"

Butterworths.- 1976

- Clark, P.A. et al.
"A simplified micropipette method for measuring red cells deformability"
Clinical Haemorheology.- 1984
- Barracó-Serra, M.
"Comportamiento reológico de la sangre humana"
E.T.S.E.I.B.- U.P.C. - 1987
- Barracó-Serra, M. et al.
"Utilització de la tècnica de la micropipeta per a diagnosis"
X Jornades de la Societat catalana de Biologia.- 1999

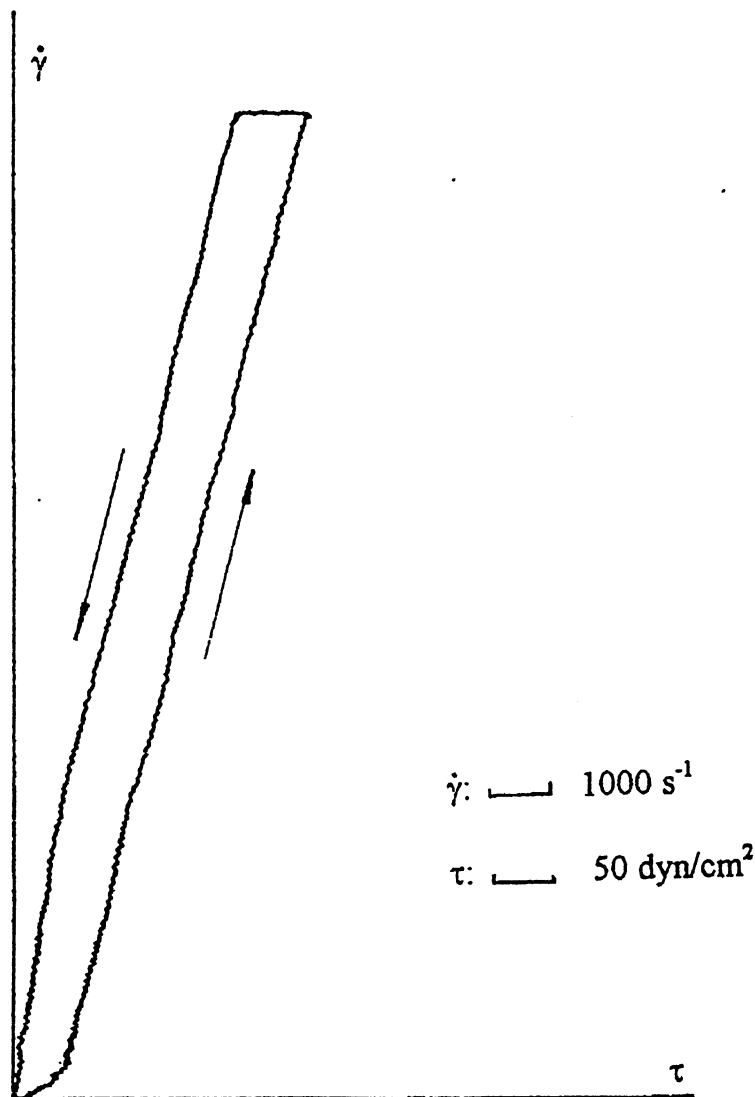


Figure 1
Rhéogramme du plasma

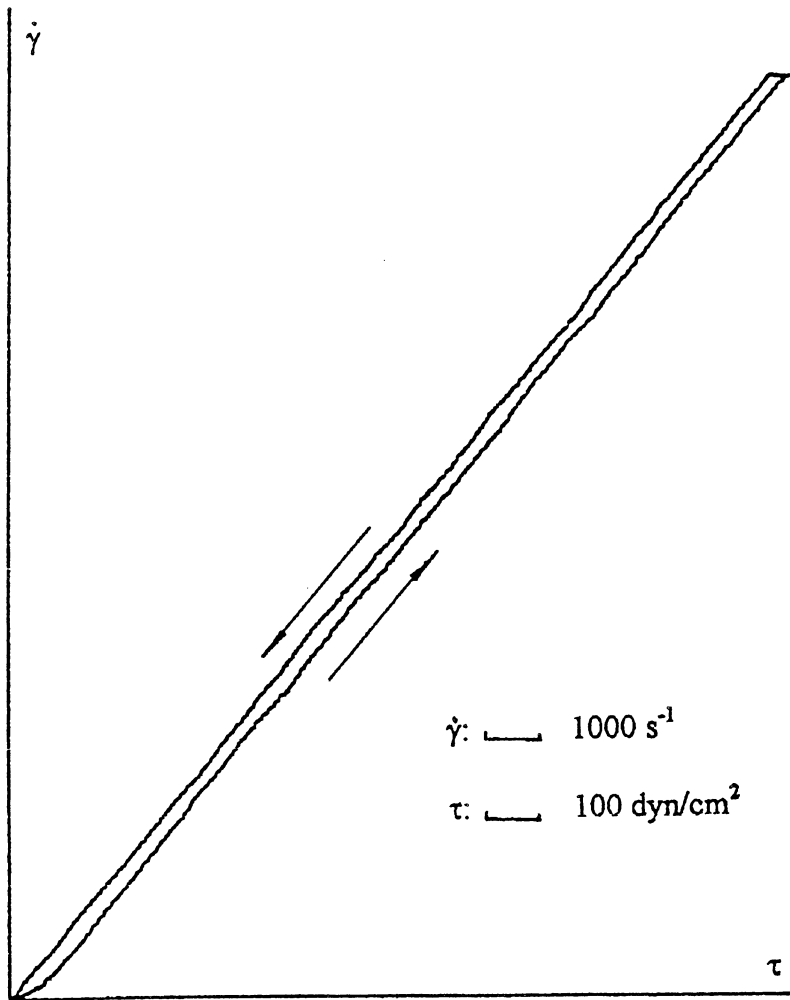


Figure 2
Rhéogramme a de hautes vitesses de déformation avec d'hémolyse

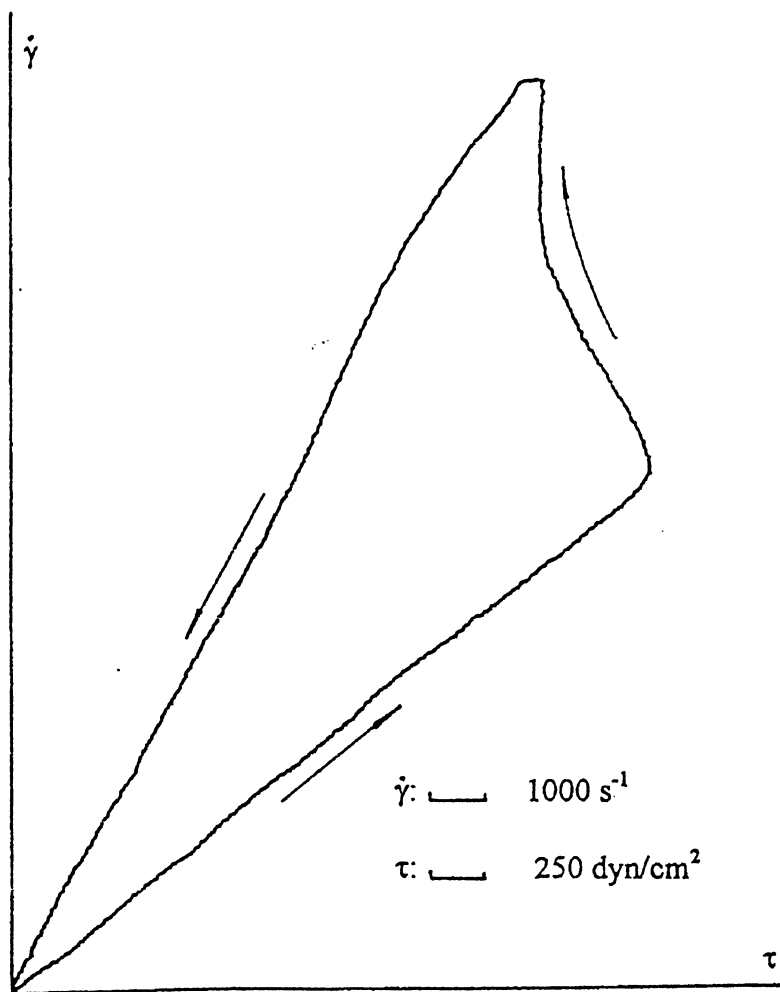


Figure 3
Rhéogramme a de hautes vitesses de déformation sans d'hémolyse

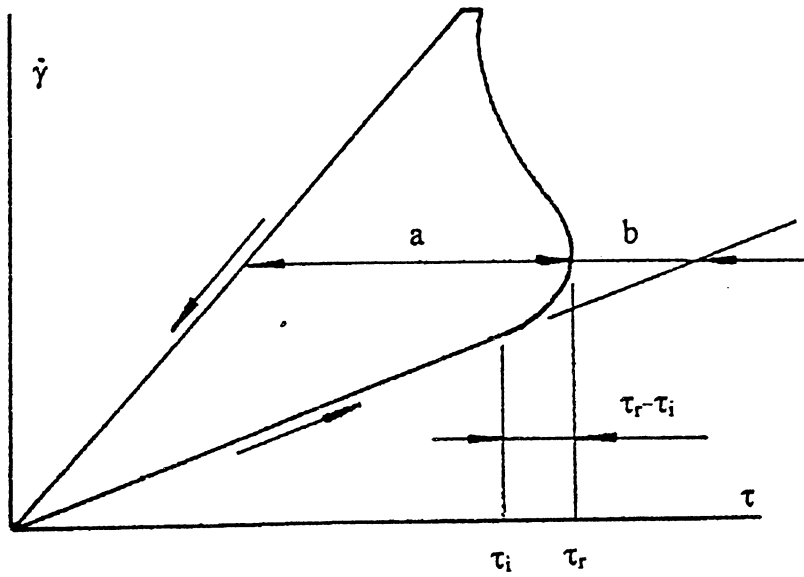


Figure 4
 Paramètres rhéogrammiques
 (hautes vitesses de déformation, haute taxe d'hématocrite et situation d'hémolyse)

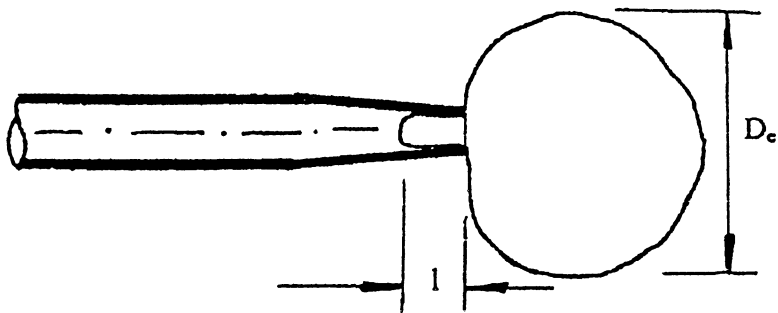


Figure 5
 Micropipette (processus de pénétration)

ETUDE DE L'INTERACTION CELLULE-MATRICE LORS DE LA CONTRACTION D'UN LATTIS DE COLLAGENE PEUPLE DE FIBROBLASTES

E. Fernandes⁽¹⁾, S. Ramtani⁽¹⁾, B. Coulomb⁽²⁾, L. Dubertret⁽²⁾,
C. Lebreton⁽²⁾, C. Oddou⁽¹⁾, D. Geiger⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratoire de Mécanique Physique, CNRS ESA 7052, Université Paris XII Val de Marne, 61 Avenue du Général de Gaulle, 94010 CRETEIL Cedex, France

⁽²⁾Inserm U 312 - Laboratoire de Dermatologie, Pavillon Bazin - Hôpital Saint-Louis, 1 Avenue Claude Vellefaux, 75475 PARIS Cedex 10

RESUME :

Le derme équivalent est un matériau constitué de fibroblastes et de collagène. Il a été reporté que cette structure se contractait spontanément en dehors de toute action extérieure grâce à la traction qu'exercent les cellules sur les fibrilles de collagène (Bell et al., 1979). La modélisation de cette contraction se fait dans le cadre de la mécanique des milieux continus, couplée à des équations de conservation des fibroblastes. Le système d'équations aux dérivées partielles fortement couplées est résolu par le schéma aux différences finies et la méthode de Newton Raphson. Ce modèle permet de déterminer l'évolution au cours du temps de la concentration en fibroblastes et la déformation de l'ensemble cellule-matrice extracellulaire. Par ailleurs, les résultats obtenus expérimentalement et numériquement seront comparés et discutés.

INTRODUCTION

Le collagène est la protéine caractéristique du tissu conjonctif. Sa principale fonction est de former un réseau flexible qui assure la liaison entre les différents tissus et organes. Le fibroblaste est une cellule fusiforme du tissu conjonctif. La peau humaine qui est composée de l'association de plusieurs tissus (derme et épiderme), présente l'avantage de pouvoir être reconstruite in vitro de façon simplifiée et contrôlable. Par des techniques de culture cellulaire, telle que celle développée au Laboratoire de Pharmacologie Cutanée (Inserm U 312), il est possible en associant des fibroblastes et du collagène de reconstruire un tissu vivant : "le derme équivalent" (Bell et al., 1979). Ce modèle de culture offre l'avantage d'amplifier les interactions cellule-matrice, interactions inefficaces au regard de la contraction du substrat lors des cultures en monocouche, et de mettre ainsi en évidence la capacité des fibroblastes à contracter la matrice extracellulaire en dehors de toute action extérieure.

Afin de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu lors de la contraction d'un lattis de collagène peuplé de fibroblastes, nous adoptons une modélisation proposée par Murray et Oster, (1984) et que nous développons dans le cas particulier d'une géométrie cylindrique et avec l'hypothèse d'une activité cellulaire purement radiale.

MATERIAU

Le milieu de culture utilisé est le Milieu Essentiel Minimum de Eagle avec sels de Earle (EMEM). La culture des fibroblastes nécessite l'utilisation de ce milieu nourricier auquel est ajouté 10% de sérum de veau fœtal (SVF), de la fungizone, pénicilline et streptomycine. Les fibroblastes sont obtenus à partir de fragments de peau recueillis lors de chirurgies mammaires. Le collagène utilisé est de type I. Il est obtenu à partir de tendons de queues de rat disséqués et déposés dans de l'acide acétique, la concentration en collagène étant de 5 mg/ml. Au milieu de culture EMEM concentré est mélangé en proportion déterminée dans la solution de collagène acidosoluble, sérum et, afin de neutraliser l'acidité du milieu, soude. Les fibroblastes sont ensuite uniformément répartis dans ce mélange. Le mélange polymérise à 37°C. Les mesures ont été réalisées sur des échantillons dont la concentration initiale en cellules était différente : $1.5 \cdot 10^5$ et $15 \cdot 10^5$ cellules par derme équivalent. Elles consistent en une détermination du nombre de cellules, n , pour 2 dermes équivalents (fig. 1).

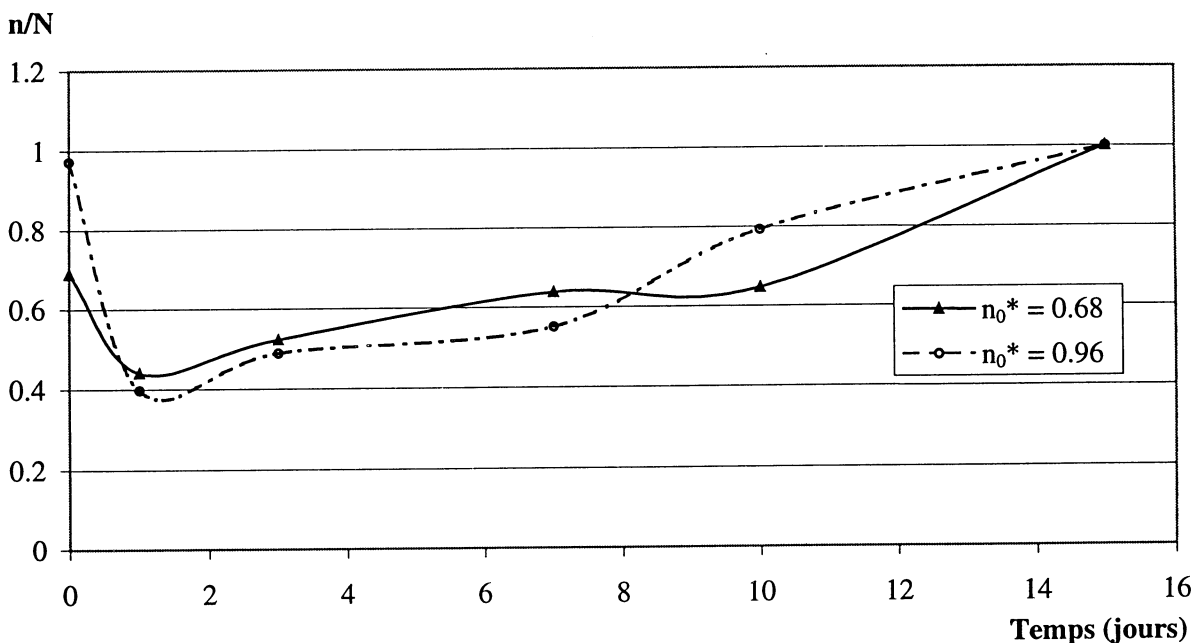


Figure 1 : Evolution du nombre de cellules au cours du temps pour deux concentrations initiales en cellules différentes (N est le nombre maximum de cellules et n_0^* est le rapport entre le nombre initial de cellules et N).

L'évolution du nombre de cellules est caractérisée par une phase de décroissance relativement rapide, puis est suivie d'une phase à faible croissance. D'autre part, nous avons mesuré le diamètre $D(t)$ des échantillons et reporté sur la fig.2 l'évolution de la déformation $(D(t)/D_0 - 1)$ où D_0 est le diamètre initial. Nous notons que la déformation augmente avec le temps, ce qui correspond à une contraction du derme équivalent, et l'amplitude de cette contraction est d'autant plus grande que le nombre initial de cellules est important.

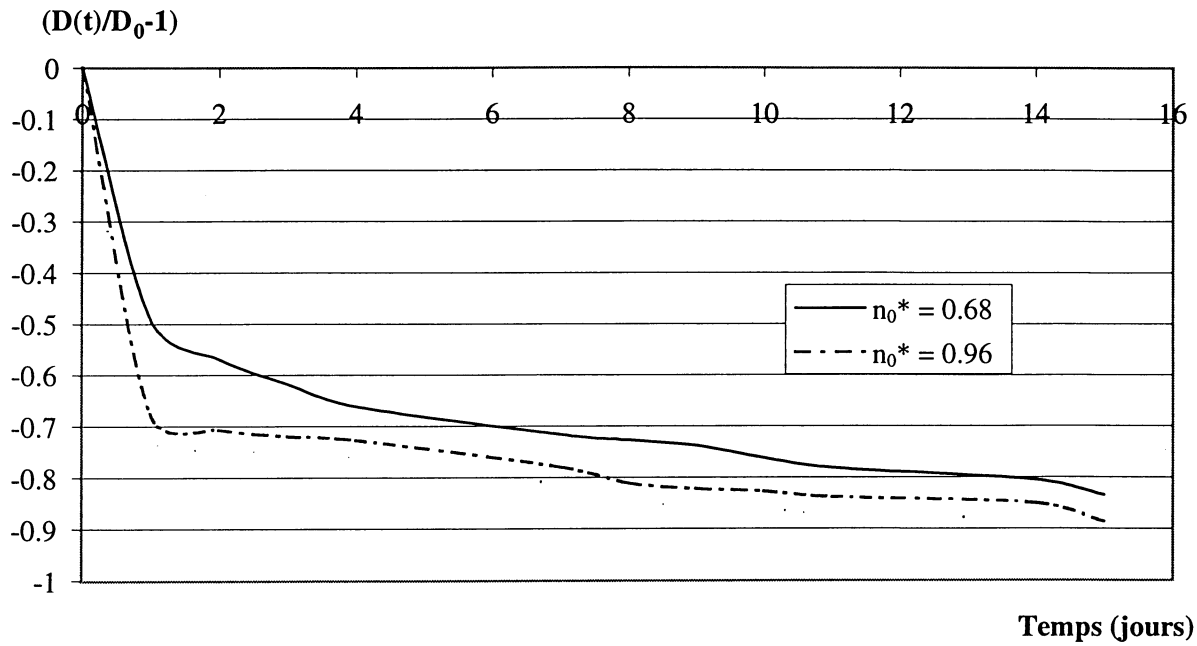


Figure 2 : Evolution de la déformation en fonction du temps pour deux quantités initiales en cellules.

MODELE

La théorie monophasique de Murray et Oster, (1984) est basée sur les hypothèses suivantes : (1) la migration des cellules se produit à travers le réseau fibreux de la matrice extracellulaire, (2) la motilité des cellules induit d'importantes tractions responsables en partie de la déformation de la matrice extracellulaire, (3) la direction du mouvement des cellules est influencée par la déformation de la matrice extracellulaire et par un gradient d'adhésion. Cette modélisation couple les équations classiques de la mécanique des milieux continus et les équations de conservation des concentrations cellulaire et matricielle. La formulation du modèle se fait à partir des trois variables suivantes définies en tout point du milieu continu et à tout instant : la concentration locale en cellule $n(\mathbf{x}, t)$, la concentration locale de la matrice extracellulaire $\rho(\mathbf{x}, t)$ et le vecteur déplacement $\mathbf{u}(\mathbf{x}, t)$ du composite cellule-matrice extracellulaire.

La conservation de la concentration locale en cellules est proposée comme suit par Murray et Oster, (1984):

$$\dot{n} = -\nabla \cdot \mathbf{J} + M(n) \quad (1)$$

où \mathbf{J} est le flux de cellules par unité de surface de l'échantillon, et $M(n)$ est un terme rendant compte du processus de mitose. Le vecteur flux de cellules est donné par la relation :

$$\mathbf{J} = \left\{ -D_1 \nabla n + D_2 \nabla (\nabla^2 n) \right\} + \{ \alpha n \nabla \rho \} + \{ n \dot{\mathbf{u}} \} \quad (2)$$

où D_1 et D_2 sont des coefficients de diffusion, α est un coefficient d'adhésion.

Chacun des trois termes de l'équation (2) représente respectivement, la diffusion cellulaire par migration, le flux de cellules par haptotaxis et le terme de convection par déformation de la matrice extracellulaire. Le mouvement cellulaire entraîne des déformations de la matrice

extracellulaire ce qui induit un gradient de la densité de la matrice. Ces gradients de densité produisent des gradients des sites d'adhésion pour les cellules. Ce phénomène est appelé haptotaxis. Dans le premier terme, la contribution en D_1 concerne les mouvements aléatoires à court-terme, et la contribution en D_2 concerne les mouvements à long-terme induit par l'extension des pseudopodes (ici, on suppose $D_2 = 0$).

La contribution de la mitose est donnée par Murray et Oster, (1984): $M(n) = kn(N - n)$ où k est le coefficient de croissance cellulaire et N la concentration maximum.

La conservation de la concentration matricielle s'écrit sous la forme :

$$\dot{\rho} = -\nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) + R_\rho \quad (3)$$

On suppose que les fibroblastes présents dans le gel dégradent peu le collagène et ne sécrètent pratiquement pas de nouveau collagène à l'échelle de temps considérée ici de sorte que $R_\rho = 0$ (Nusgens et al., (1984), Guidry et Grinnell, (1985)).

On suppose que la matrice extracellulaire obéit à un comportement viscoélastique linéaire et que le terme prenant en compte l'action des cellules sur les fibrilles est proportionnel au produit des concentrations cellulaire et matricielle. Le tenseur des contraintes de la matrice extracellulaire σ_{ECM} s'écrit :

$$\sigma_{ECM} = \mu_1 \dot{\boldsymbol{\varepsilon}} + \mu_2 \dot{\theta} \mathbf{I} + \frac{E}{(1 + \nu)} \left[\boldsymbol{\varepsilon} + \frac{\nu}{1 - 2\nu} \theta \mathbf{I} \right] \quad (4)$$

où $\boldsymbol{\varepsilon}$ est le tenseur des déformations linéarisé, θ est la dilatation volumique, μ_1 et μ_2 sont les viscosités dynamiques, E est le module d'Young et ν est le coefficient de Poisson.

Murray et Oster, (1984), considèrent la traction cellulaire $\sigma_{Cell/ECM}$ comme une "pression négative" pouvant s'écrire $\sigma_{Cell/ECM} = \tau \rho n$ et où τ est une fonction monotone décroissante de la concentration cellulaire. Dans cette étude, nous formulons l'hypothèse d'une contrainte d'interaction sous la forme : $\tau(n, t) = \tau_0(t) * (1 + \lambda n^2)^{-1}$ où τ_0 est le paramètre de traction et λ est le paramètre d'inhibition du contact entre cellules. Durant une première phase, τ_0 est supposé constant puis au delà du seuil $t=t_s$, temps pour lequel la concentration en cellule est minimum, nous considérons $\tau_0(t) = \tau_0^i e^{\alpha(-t+t_s)}$, où τ_0^i est la valeur initiale du paramètre de traction et α est un paramètre choisi mais non identifié expérimentalement.

Nous avons observé une variation de l'épaisseur du disque de l'ordre de 30% au bout de 10 jours, l'épaisseur étant ensuite constante. Nous négligeons cette variation devant la réduction du diamètre qui est de l'ordre de 80% au bout de 15 jours. De ce fait, nous faisons l'hypothèse d'une action des fibroblastes sur les fibrilles de collagène purement radiale. Le tenseur des contraintes, relatif à l'interaction cellules-matrice, $\sigma_{Cell/ECM}$ est donné par :

$$\sigma_{cell/ECM}^{ij} = \frac{\tau_0(t) \rho n}{1 + \lambda n^2} \quad \text{pour } i = j = r, \text{ tous les autres termes étant nuls} \quad (5)$$

En absence de forces de volume et sous l'hypothèse de partition des contraintes, l'équilibre local se réduit à :

$$\nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}_{ECM} + \boldsymbol{\sigma}_{cell/ECM}) = \mathbf{0} \quad (6)$$

Explicitement, nous pouvons écrire les équations (1), (3) et (6) dans un repère cylindrique et nous obtenons le système d'équations suivant :

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial r} \left(n \frac{\partial u}{\partial t} \right) + \frac{n}{r} \frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 n}{\partial r^2} + \frac{D}{r} \frac{\partial n}{\partial r} + kn(1-n), \quad (7)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial r} \left(\rho \frac{\partial u}{\partial t} \right) + \frac{\rho}{r} \frac{\partial u}{\partial t} = 0, \quad (8)$$

$$\mu_1 \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial u}{\partial r} - \frac{u}{r^2} \right) + \frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial u}{\partial r} - \frac{u}{r^2} + \frac{\partial}{\partial r} \left(\tau_0 \frac{\rho n}{1 + \lambda n^2} \right) + \frac{1}{r} \frac{\tau_0 \rho n}{1 + \lambda n^2} = 0, \quad (9)$$

De par la symétrie de révolution du problème et de la faible épaisseur du disque entraînant un déplacement vertical négligeable, nous faisons le choix d'un champ de déplacement radial de la forme $\mathbf{u} = u(r)\mathbf{e}_r$. Pour des raisons de symétrie, on impose les conditions suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial n}{\partial r} = 0, \\ \frac{\partial \rho}{\partial r} = 0, \\ u = 0 \end{array} \right. \text{ pour } r = 0 \quad (10)(a,b,c)$$

D'autre part, l'hypothèse de bord libre nous conduit à la condition :

$$\left\{ \begin{array}{l} \sigma_{rr} = (\mu_1 + \mu_2) \frac{\partial^2 u}{\partial r \partial t} + \frac{\mu_2}{r} \frac{\partial u}{\partial t} \\ + \frac{E(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)} \left[\frac{\partial u}{\partial r} + \frac{\nu}{1-\nu} \frac{u}{r} \right] + \tau_0 \frac{\rho n}{1 + \lambda n^2} = 0 \end{array} \right. \text{ pour } r = S(t) \quad (11)$$

où $S(t)$ est la position de la surface qui évolue au cours du temps.

Enfin, nous supposons que les cellules sont initialement réparties de manière uniforme dans la matrice extracellulaire, par conséquent :

$$n(r, t_0) = n_0, \quad \rho(r, t_0) = \rho_0, \quad u(r, t_0) = 0 \quad (12)(a, b, c)$$

Afin de résoudre le système d'équation, nous procédons tout d'abord à une adimension de nos paramètres (cf. appendice). Ensuite, le système d'équations est résolu par le schéma aux différences finies centrées et en utilisant la méthode de Newton Raphson.

Sur la figure 3, on a représenté l'évolution du nombre de cellules en fonction du temps pour deux concentrations initiales en cellules. La variation du nombre de cellules n'est pas

monotone. Durant une première phase, il se produit une diminution rapide du nombre de cellules puis celui-ci augmente et finit par se stabiliser.

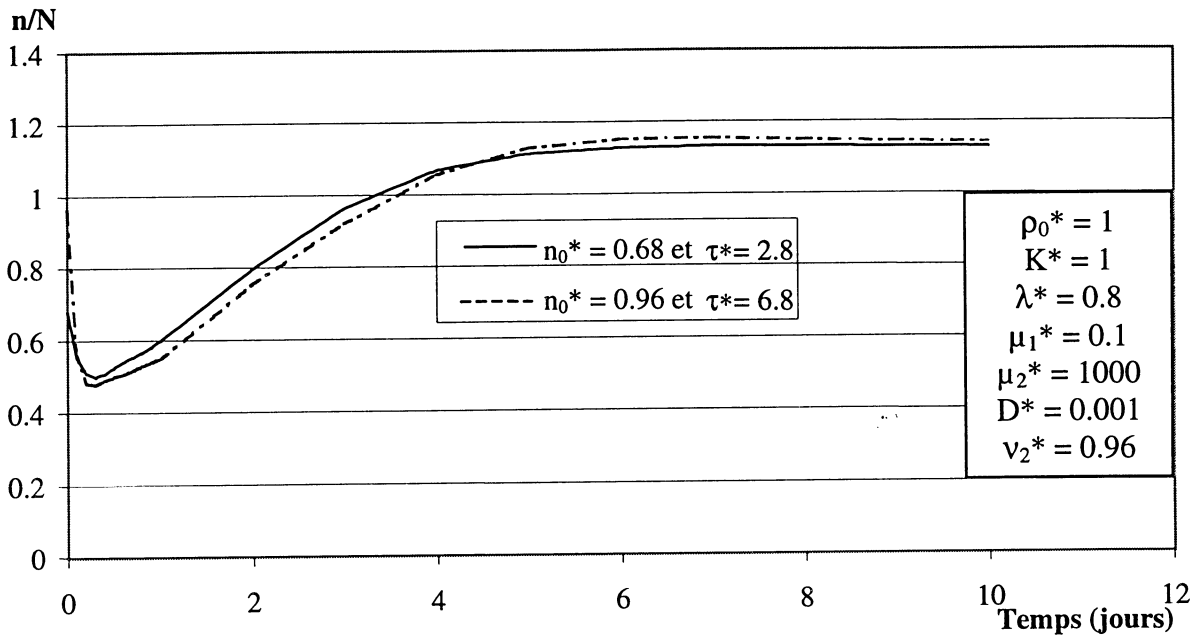


Figure 3 : Evolution du nombre de fibroblastes pour deux concentrations initiales en cellules différentes (N est le nombre maximum de cellules et n_0^* est le rapport entre le nombre initial de cellules et N).

Sur la figure 4, nous avons représenté le déplacement de l'ensemble cellule-matrice extracellulaire pour deux concentrations initiales en cellules. On observe une augmentation de la déformation au cours du temps. La déformation est plus importante au début du processus puis tend à se stabiliser. De plus, il est à noter que la déformation est d'autant plus importante que le nombre initial de cellules est grand.

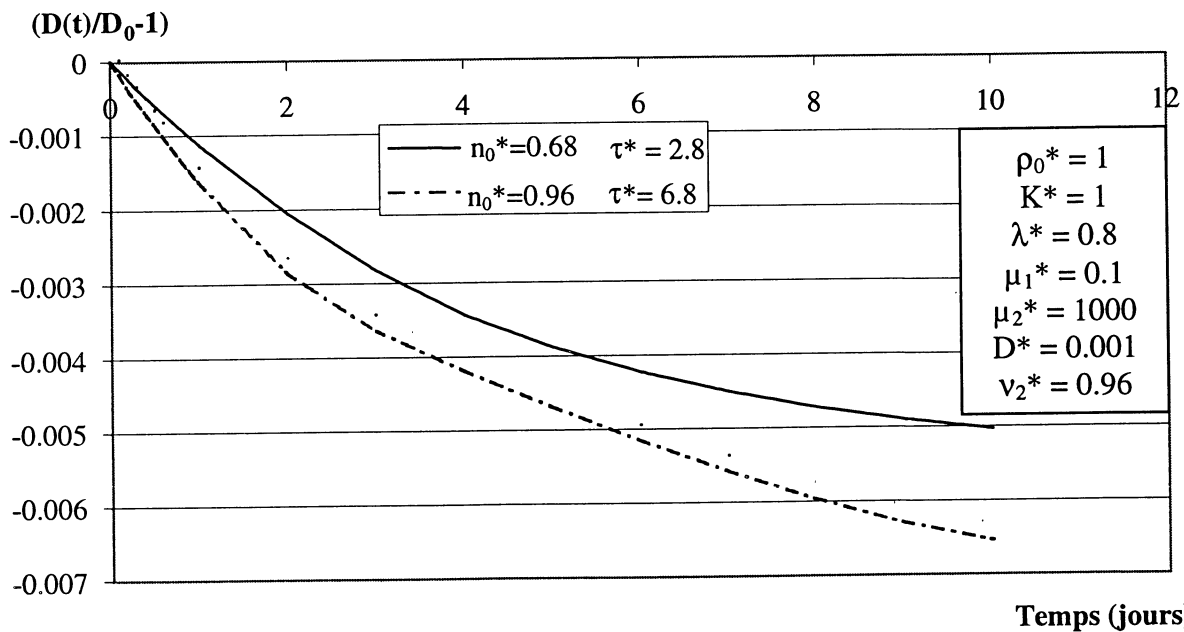


Figure 4: Evolution du déplacement en fonction du temps pour deux quantités initiales de cellules.

DISCUSSION

Afin d'étudier l'interaction entre le fibroblaste et la matrice extracellulaire, nous avons utilisé un modèle mathématique basé sur la théorie proposée par Murray et Oster, (1984). Une hypothèse forte de notre modèle consiste à supposer que l'action des cellules sur les fibrilles de collagène est purement radial. Celle-ci conduit à une évolution non monotone du nombre de fibroblastes en accord avec les résultats expérimentaux représentés sur la figure 1. Sans cette supposition, le modèle prédit une évolution monotone. L'évolution de la déformation avec le temps est de la même façon en accord avec les résultats expérimentaux. Par conséquent, il semblerait que l'hypothèse d'action purement radiale des cellules puisse se justifier.

Toutefois, seules les tendances sont en accord puisque les valeurs de la déformation obtenues avec le modèle sont très sensiblement inférieures aux données expérimentales.

Enfin, il est à noter que les résultats expérimentaux et les prédictions sont en accord avec la littérature : le taux de la contraction est proportionnel au nombre de cellule Bell et al., (1979). Ce processus de contraction est induit par une tension qu'exerceraient les fibroblastes sur les fibrilles de collagène.

A présent l'objectif est de déterminer une loi d'évolution pour le paramètre de traction τ_0 , afin d'obtenir une meilleure corrélation entre les données expérimentales et les prédictions que permettent d'obtenir le modèle.

BIBLIOGRAPHIE

Bell E., Ivarsson B. and Merrill C. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro, Proc. Natl. Acad. Sci. 76 (1979) 1274-1278.

Murray J. D. and Oster G. F. Cell Traction Models for Generating Pattern and Form in Morphogenesis, J. Math. Biol 19 (1984) 265.

Nusgens B., Merrill C., Lapierre C. and Bell E. Collagen Biosynthesis by Cell in a Tissue Equivalent Matrix in vitro, Collagen Rel. Res. 4 (1984) 351-364.

Guidry C. and Grinnell F. Studies on the mechanism of hydrated collagen gel reorganization by human skin fibroblasts, Journal of Cell Science 79 (1985) 67-81.

APPENDICE

Afin de résoudre le système d'équations, nous adimensionnons les variables :

$$n^* = \frac{n}{N}, \rho^* = \frac{\rho}{\rho_0}, u^* = \frac{u}{a}, r^* = \frac{r}{a}, t^* = \frac{t}{T}, D^* = \frac{DT}{a^2}, k^* = kNT, \lambda^* = \lambda N^2,$$

$$\mu_1^* = \frac{\mu_1 + \mu_2}{ET} v_1, \mu_2^* = \frac{\mu_2}{ET} v_1, \tau_0^* = \tau_0 \frac{\rho_0 N}{E} v_1,$$

$$v_1 = \frac{(1+v)(1-2v)}{(1-v)}, v_2 = \frac{v}{1-v}$$

où a est le rayon initial du disque et T est un facteur d'échelle temporel pris égal à 1 jour.

UTILISATION DE LA PENETROMETRIE POUR LA FORMULATION ET LE CONTROLE D'OVULES A LIBERATION MODIFIEE

C.Cros*, G. Gray*, M. Lanquetin*, P. Michaud**, F. Rodriguez**

* Laboratoire Theramex, 4 et 6 avenue Prince Hereditaire Albert 98000 Monaco

** Gef sod Laboratoire de pharmacie galenique 35 chemin des maraichers Toulouse.

Les formes pharmaceutiques ovules et suppositoires font parties des formes dites pâteuses ou semi solides. Pour libérer le principe actif dans le vagin ou le rectum elles doivent se dissoudre ou se liquéfier au contact des muqueuses de l'organisme.

Dans le cas d'excipients lipophiles c'est un phénomène de fusion qui commande la libération du principe actif à une température voisine de 37°C. Il est donc important de suivre le comportement et les propriétés du mélange principe actif-excipient à cette température.

Pour cette étude in vitro, il a été fait appel à un analyseur de texture qui permet de définir les caractéristiques rhéologiques du mélange et plus particulièrement les caractères de consistance et d'adhésivité qui permettent d'envisager un meilleur contact principe actif-muqueuse donc une meilleure activité du médicament.

Notre travail consiste à déterminer la mise au point de la meilleure formule excipiendaire en tenant compte de ses propriétés de consistance et d'adhésivité.

Ceci est obtenu en effectuant différents tests comme: des cycles de charge-décharge au moyen de différents testeurs de formes cylindriques ou coniques, des mesures d'adhésivité en utilisant la partie décharge du cycle après un temps de charge défini et des cycles de relaxation.

Au niveau formulation un agent gélifiant, silice, 0 à 5% est ajouté au mélange lipophile et son influence est paramétrée.

Après détermination du pourcentage convenable, une étude comparative des propriétés rhéologique et de libération du principe actif in vitro, (dissolution), est effectuée avec une spécialité déjà commercialisée.

I). MATERIEL ET METHODES

Le matériel utilisé pour effectuer les mesures de rhéologie est un analyseur de texture de type TAXT2 muni d'un capteur de 5 Kg équipé de testeurs cylindriques P50 en aluminium de diamètre 5 cm ou cône P45C en dérivé acrylique de 45° d'angle.

Les méthodes sélectionnées sont:

* Cycles de charge-décharge avec un testeur cylindrique. Conditions opératoires

vitesse 1mm/s

déplacement 2mm

force de déclenchement 1g

et avec un testeur conique

vitesse 2mm/s

déplacement 15mm

force de déclenchement 1g.

* Test de relaxation avec un testeur cylindrique

vitesse 1mm/s

déplacement 2mm

force de déclenchement 1g
maintien de la déformation 30 s

Pour toutes ces mesures l'ovule en état de fusion est maintenu à $36 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

* Essais de dissolution.

La méthode est celle de la pharmacopée Européenne 3ème édition qui utilise le panier rotatif.

milieu récepteur: eau à 10% d'alcool (v/v)

volume: 600 ml

température: $36.75 \pm 0.25^\circ\text{C}$

vitesse de rotation: 50 ou 100 t/min

durée d'essai : 17H

méthode de dosage du principe actif: par UV.

II). ETUDE DES COMPOSANTS.

Pour chaque préparation l'on trouve un mélange principe actif, agent gélifiant et des glycérides hémi synthétiques solides à 25°C .

* Les principes actifs sont des antifongiques et antibactériens à action locale issus d'une même famille chimique les imidazoles. Ils sont faiblement soluble dans l'eau et les substances lipophiles.

* Les excipients lipophiles qui libèrent le principe actif par fusion à température de 36°C sont des glycérides qui suivant la formule testée sont:

-un mélange de Witepsol®H19 et de Suppocire® NAI 50 à parties égales

-un mélange de Witepsol®H19 et de Wecobee®FS.

les caractéristiques de viscosité à 36°C sont données par le fournisseur.

Composants	point de fusion ascendant en $^\circ\text{C}$	Indice d'hydroxyle	Viscosité à 36°C
Witepsol H19	33.5 - 35.5	20 -30	39 mPa.s
Suppocire NAI50	33.5 - 35.5	35 - 55	44 mPa.s

* Les agents gélifiants additionnés pour fournir un meilleur contact avec la muqueuse vaginale sont des silices colloïdales anhydres. Aerosil 200.

* Les formulations utilisées sont:

antibactérien 10%

Silice colloïdale 0 à 5%

Glycérides hemi synthétiques QSP 100%

et pour la spécialité commercialisée, (formule qualitative uniquement):

antibactérien

Silice colloïdale

Glycérides hemi synthétiques

Polysaccharide galactomannane

Heptanoate de stéaryle

3). RESULTATS.

3.1) Etude de l'influence du taux de silice colloïdale sur la texture de la préparation.

Dans cette étude le taux de silice évolue de 0 à 5% et les différents tests sont

- cycles charge-décharge avec testeurs cylindriques ou coniques

- cycles de relaxation.

* Réalisation des cycles de charge-décharge avec un testeur cylindrique.

PARAMETRES	TEST DE PENETRATION			
	% DE SILICE COLLOIDALE			
	0	1.5	3	5
Dureté(g) = F1	7.45	7.94	7.94	12.47
Force d'adhérence(g)= F2	-6.75	-6.81	-7.29	-11.88
Energie d'adhérence (gs) = Surface 1,2	-17.5	-20.1	-25.1	-70.5

Avec les différents dosages, tous les cycles obtenus figure 1 ont la même allure mais l'on note une augmentation de la consistance avec la teneur de silice. Si les valeurs sont voisines pour des variations de 0 à 3% de silice, la consistance donnée par F1 reste comprise entre 7.4 et 7.9 l'effet adhésif entre -6.7 et -7.3 g, un taux de 5% montre une augmentation significative de F1, 12.5 et F2, -11.8 g.

La mesure de l'adhésion est ici importante car les forces qui quantifient la consistance et l'adhésivité sont en valeur absolue du même ordre, 7.9 et -7.2 g pour la préparation dosée à 3% de silice.

Une étude statistique a été réalisée à partir de la mesure de la consistance.

	valeurs			moyenne	CV%
dureté	8.92	8.63	8.66	8.74	1.49
adhérence	-8.06	-7.79	-7.87	-7.91	1.39

et des mesures différentes effectuées sur un même échantillon donnent

	valeurs			moyenne	CV%
dureté	7.94, 7.57, 8.74, 8.39, 7.63, 7.21			7.91	7.1
adhérence	-7.29, -7.91, -7.85, -7.23			-7.57	4.7

* Réalisation des cycles de charge-décharge avec un testeur conique

PARAMETRES	TEST D'ETABILITE			
	% DE SILICE COLLOIDALE			
	0	1.5	3	5
Dureté(g) = F1	13	12.5	16.1	16.7
Force d'adhérence(g)= F2	-0.41	-0.35	-0.97	-2.05
Energie de penetration(gs) = Surface 1,2	69.9	63.8	48	43
Energie d'adhérence (gs) = Surface 2,3	-1.2	-1.1	-8.4	-19.4

Dans ce cas la distance d'enfoncement est plus importante 15 mm mais les forces obtenues pour F1, la consistance, ne sont pas très différentes figure 2.

La forme du cycle a changé, le cycle de charge présente une augmentation de type exponentiel alors que le cycle de décharge est très différent de très faible amplitude.

Les cycles obtenus pour les différents taux de silice sont moins discriminants. Les valeurs de F1 forment deux groupes l'un pour les taux de 0 et 1.5% de silice et un second pour les taux de 3 et 5%. Différemment la mesure de F2 nettement plus faible varie entre -0.3 et -2 g.

La forme conique du testeur ne semble pas aussi bien différencier les différents échantillons et ne permet pas de réaliser une étude d'adhérence correcte.

L'étude statistique montre:

	valeurs			moyenne	CV%
dureté	7.01	8.08	6.95	7.35	7.07
adhérence	-0.57	-0.59	-0.55	-0.57	3.51

Les coefficients de variation sont plus importants que lorsqu'on utilise le testeur conique.

* La dernière expérimentation réalisée sur les différents échantillons est l'étude de la relaxation.

PARAMETRES	TEST DE RELAXATION			
	% DE SILICE COLLOIDALE			
	0	1.5	3	5
Dureté(g) = F1	7.7	7.7	8.4	13.4
Force 2(g)= F2	7.3	7.3	7.1	7.49
Rapport $\frac{1}{2}$ (en %) = pourcentage de relaxation	95.5	94.4	85.1	55.9

L'application d'une déformation constante pendant 30 secondes permet d'étudier le temps de relaxation des 4 formules figure 3. Le pourcentage de relaxation des différentes formulations diminue avec l'augmentation du taux de silice ce qui peut traduire un comportement plus plastique des produits contenant un fort pourcentage de silice.

Au temps 30 secondes toutes les forces restantes sont resserrées entre 7.1 et 7.4 g alors que les consistances initiales sont différentes, 7.6 à 13.4g.

* Etude de dissolution des différentes formulations.

Dans les conditions étudiées les formules contenant 0 à 3% de silice ont des profils de dissolution semblables et libèrent lentement le principe actif figure 4. La formule à 5% de silice plus consistante mais très hydrophile libère plus rapidement l'actif.

Conclusion .

Cette étude a permis de mieux caractériser l'influence de l'addition de silice et de proposer la formule qui permet la libération la plus régulière du principe actif en fonction des caractéristiques rhéologiques de la préparation: consistance et adhésivité. C'est la préparation à 3% de silice qui montre une consistance voisine des formules de 0 à 3%, (la force F1 augmente peu par passage de 0 à 3% de silice) mais qui présente une adhésivité F2 plus importante par rapport aux autres formules.

Cette étude a également permis d'éliminer la préparation à 5% pour les trop grandes variations et une libération trop rapide.

3.2) Etude comparative avec une spécialité commercialisée.

Cette étude est réalisée avec la préparation dosée à 3% de silice et les différents tests sont
- cycles charge-décharge avec testeurs cylindriques.

* Réalisation des cycles de charge-décharge avec un testeur cylindrique.

PARAMETRES	TEST DE PENETRATION	
	PRODUITS	
	Formule expérimentale	Produit commercialisé
Dureté(g) = F1	8.75	8.35
Force d'adhérence(g)= F2	-7.9	-7.3
Energie d'adhérence (gs) = Surface 1,2	-29.6	-25

Les deux produits ont des comportements identiques figure 5, la forme des cycles est identique mais avec des amplitudes différentes avec principalement un caractère adhésif plus important de 10% pour le produit étudié alors que les consistances F1 différents de 5%.

* Dissolution comparative entre les deux préparations.

Les études de dissolution entre la formule retenue à 3% et la spécialité montrent figure 6 des comportements semblables et des pourcentages libérés pratiquement identiques.

CONCLUSION

Pour cette étude les essais de pénétrométrie ont permis de sélectionner une formulation qui présente un profil rhéologique voisin de la spécialité de référence malgré une formulation qualitativement et quantitativement différente. La similarité rhéologique conduit à une libération du principe actif également semblable pour les deux formules.

Bibliographie.

Bouton J.

Un exemple d'approche instrumentale des propriétés sensorielles: la texture
Actualités techniques et industrielles Nov-Dec 1993

Viscosimétrie, rhéométrie: application à la formulation et au contrôle
Parfums Cosmétiques. Actualités N°1249/10/1999 p 77-85

Grossiord J.L.,Bordi D.,Bouton J.,Coolen A.,Courteille F.,Michaud P, Rodriguez F.
Le point sur les mesures rhéologiques en Pharmacie, Rapport d'une commission SFSTP.
STP Pharma Pratiques 4,(6),461-476,1994

Michaud P.

Approche au moyen d'un pénétromètre des différents modèles rhéologiques. Application aux
corps pâteux.
Les entretiens du Carla, 1987; tome VIII: 117-125

PENETRATION : INFLUENCE DU % DE SILICE COLLOIDALE

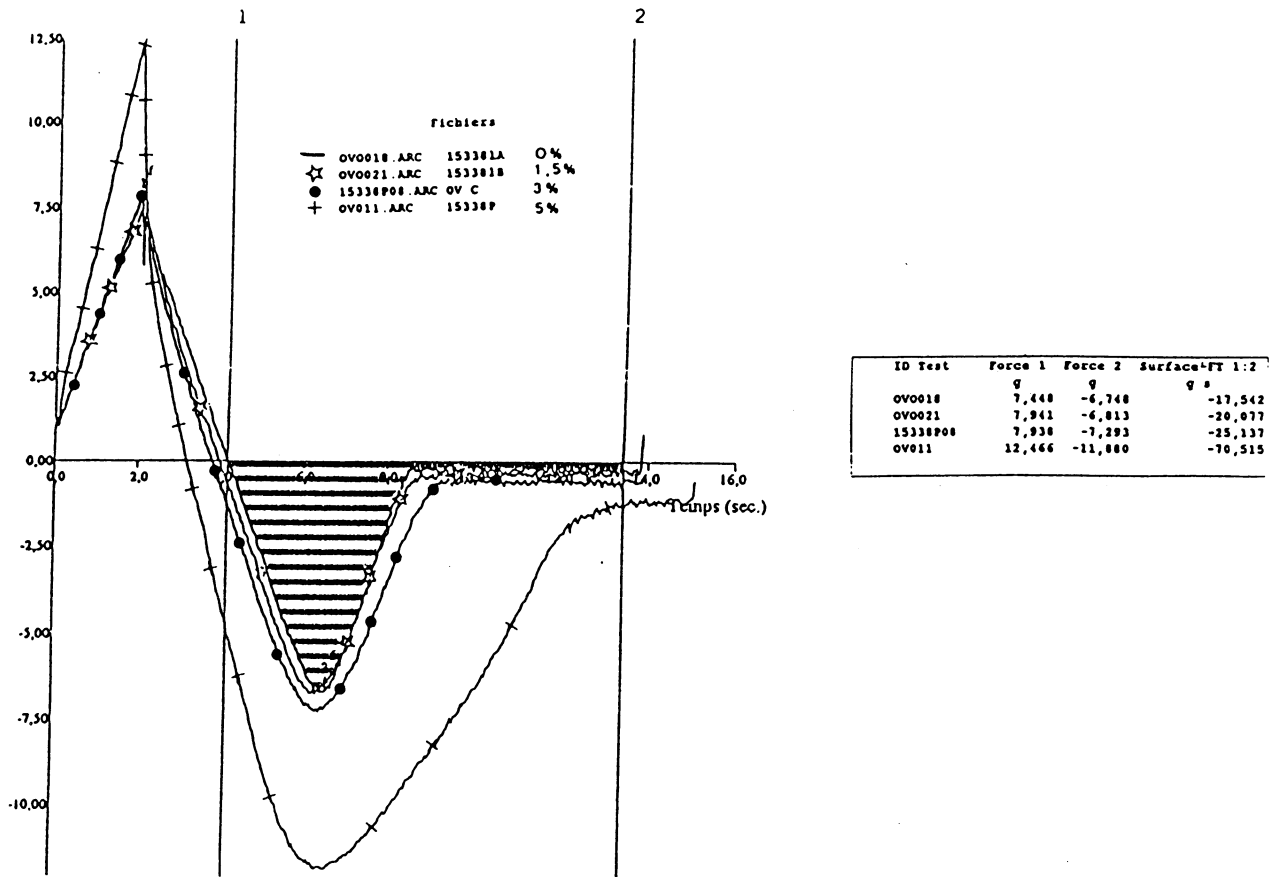


Figure 1. Réalisation de cycles charge-décharge avec un testeur cylindrique. Influence du pourcentage de silice colloïdale.

ETABILITE : INFLUENCE DU % DE SILICE COLLOIDALE

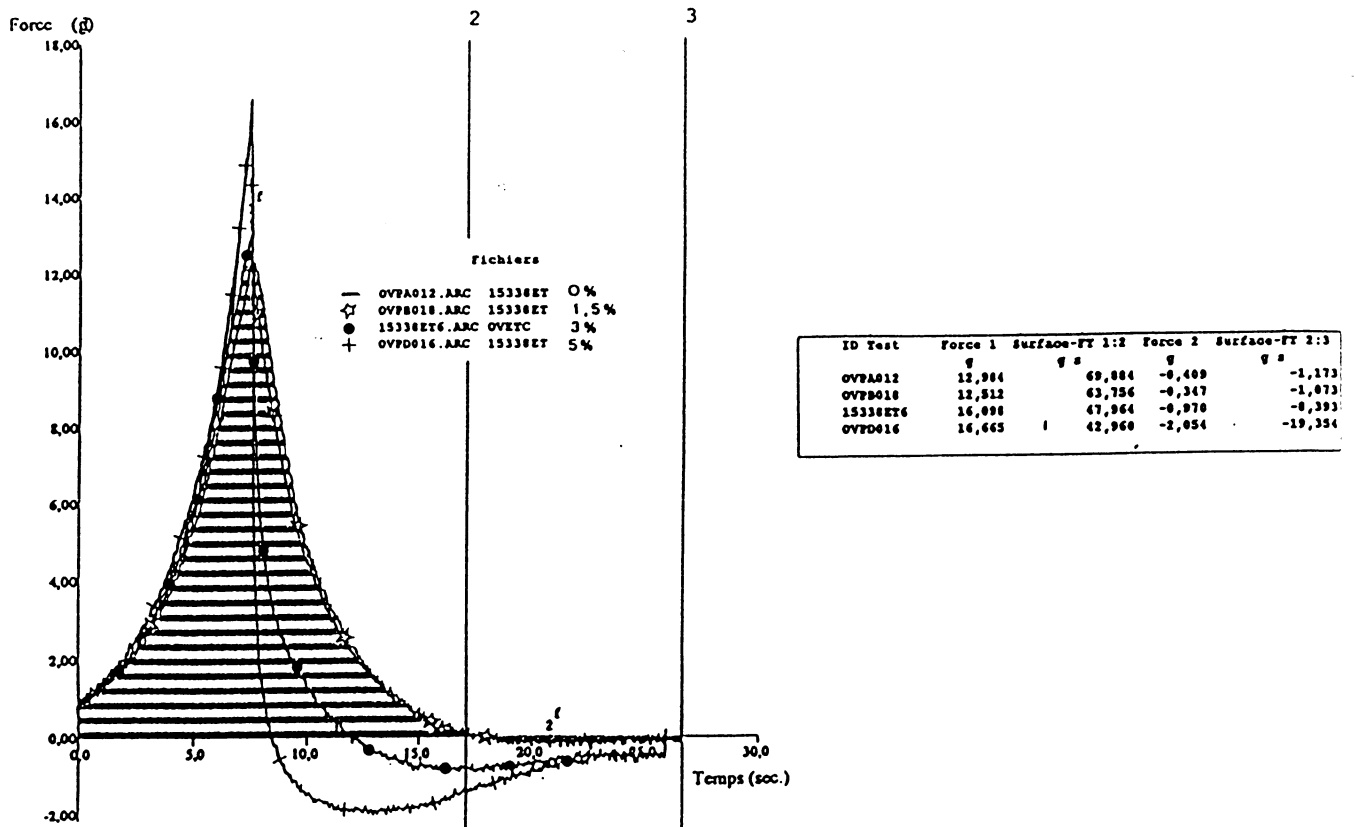


Figure 2. Réalisation de cycles charge-décharge avec un testeur conique. Influence du pourcentage de silice colloïdale.

RELAXATION: INFLUENCE DU % DE SILICE COLLOÏDALE

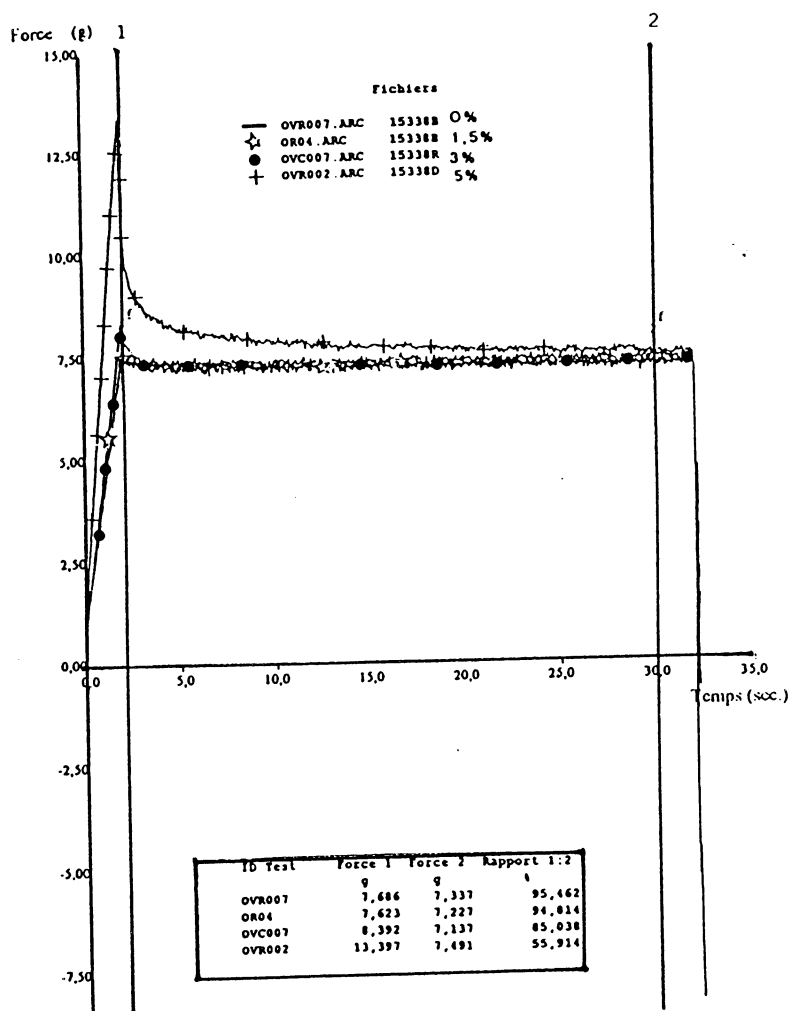


Figure 3. Etude de relaxation. Influence du pourcentage de silice colloïdale.

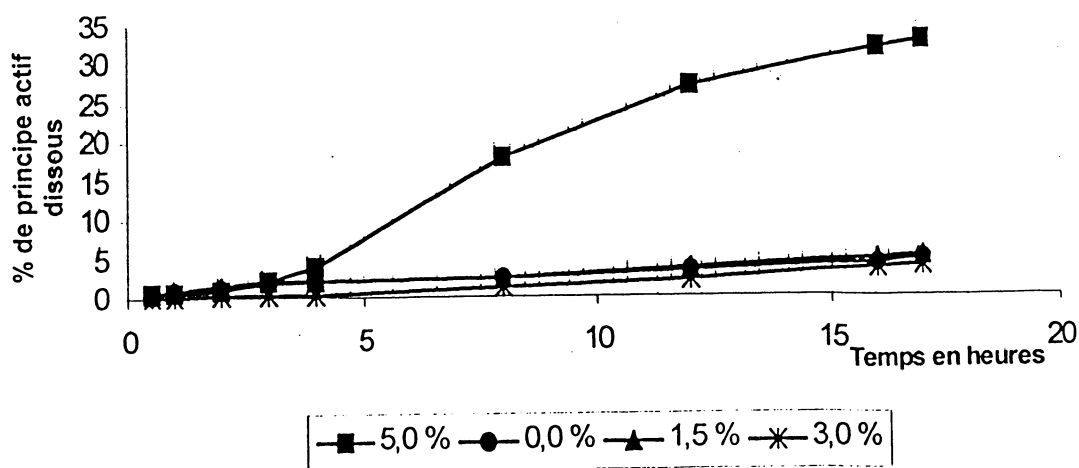


Figure 4. Influence du pourcentage de silice colloïdale sur la dissolution du principe actif.

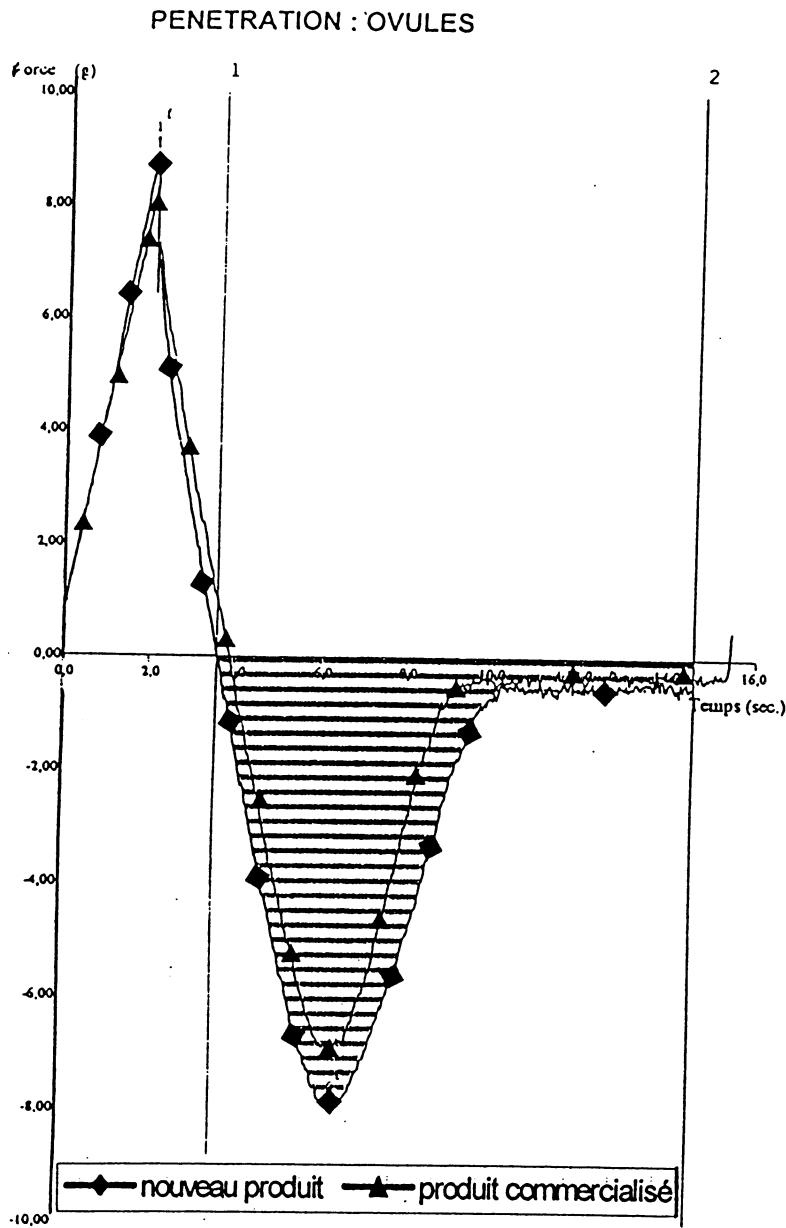


Figure 5. Réalisation de cycles charge-décharge avec un testeur cylindrique. Comparaison entre la formule mise au point et la spécialité commercialisée

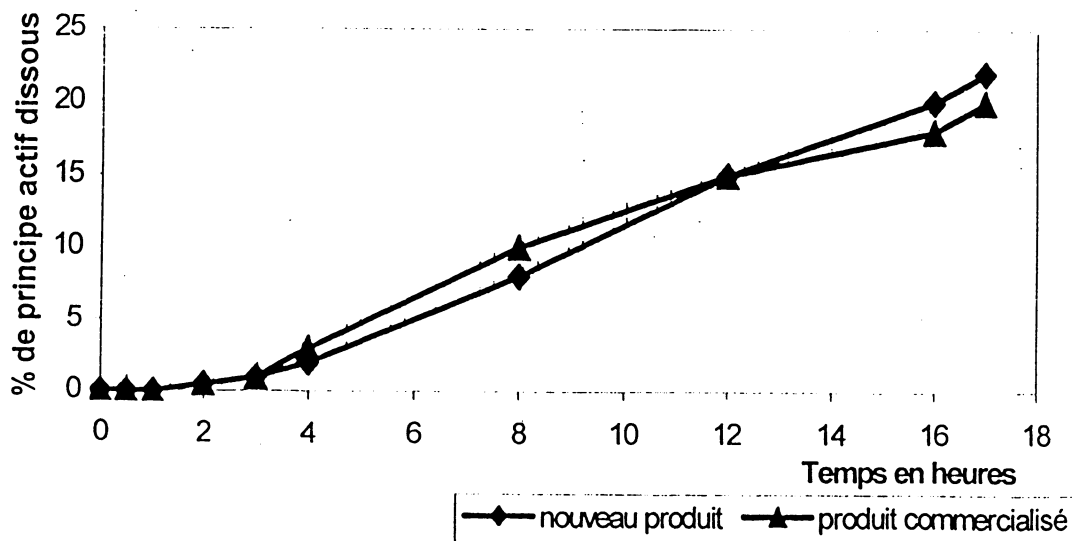


Figure 6. Dissolution comparative entre la nouvelle formulation et la spécialité commercialisée.

A NEW APPROACH FOR THE REAL-TIME SIMULATION OF TISSUE DEFORMATIONS

C. Montserrat^a, U. Meier^b, MC. Juan^a, M. Alcaniz^b, C. Knoll^b, V. Grau^b, F. Chinesta^c and C. Duval^c.

^aMedICLab, Dpto de Sistemas Informáticos y Computación, Universidad Politécnica de Valencia, Spain.

^bMedICLab, Dpto de Expresión Gráfica en Ingeniería, Universidad Politécnica de Valencia, Spain.

^cConservatoire National des Arts et Metiers, Paris, France.

Résumé.- Actuellement, la simulation du comportement des objets élastiques en temps réel est un des objectifs en image de synthèse. Les modèles utilisés pour la construction des objets avec un comportement déformable en imagerie digitale sont connus comme modèles déformables. Ils ont deux caractéristiques en conflit: l'interactivité et le réalisme du mouvement. Les modèles déformables développés jusqu'aujourd'hui ont promu une caractéristique en détriment de l'autre. Dans cet article, nous proposons une nouvelle approche basée dans les méthodes des éléments du contour (BEM – boundary element methods). Elle est caractérisée par un équilibre entre vitesse et réalisme et une grande robustesse, ce qui nous permet d'affirmer que c'est un méthode fiable pour la simulation d'objets déformables en systèmes de simulation chirurgicale. Les paramètres élastiques ont été calculés en utilisant une identification rhéologique avec une technique inverse.

Key words.- Deformable model, elasticity, animation, surgery simulation, real time.

1.-INTRODUCTION.

Simulating the behaviour of deformable objects is a problem when these are used in animations or in virtual reality systems. The incorporation of physical properties in graphical objects is one of the more recent research areas of computer graphics science with one of the first researchers in this field being D. Terzopoulos [1]. Until then, the evolution of geometric models only allowed for rigid objects and did not permit the simulation of deformations when a force was applied to them. The development of deformable models has allowed for 3D objects with a dynamic behaviour reacting to forces (e.g. gravity), restrictions (e.g. unions, fixations in space), the environment (e.g. friction), or contacts with impenetrable objects (e.g. collisions). In addition to that, these physical models can be defined in one dimension (lines and curves), two dimensions (surfaces), or three dimensions (solid objects).

The deformable models are applied in three fundamental fields: object modelling [2][3][4], 2D and 3D medical image segmentation [5][6][7][8][9][10] and simulation of elastic tissue deformation [1][11][12][13][14]. The greatest progress has been observed in the last of these fields since it has been applied in surgery simulation. Surgery simulation requires

both that flexible tissues react to the applied forces as they would in reality (realism) and that they react in real time (speed). The deformable models developed up to now have promoted one characteristic to the detriment of the other.

In this paper we will present a new deformable model that is characterised by a positive equilibrium between speed and realism and great robustness.

2.-MATERIALS AND METHODS.

2.1.-Mechanical modelling.

Our method is therefore based on several hypotheses about the tissues' behaviour that often quite evidently do not coincide with reality. However, BEM are not limited to the hypotheses given below, because of which the method presented in this paper is open for future expansions towards more realistic material models as investigation in this field and technology proceed. Thus, our hypotheses were the following:

- All deformations will be small with respect to the body dimensions (small perturbations hypothesis framework); this assumption, in conjunction with the following, allows for a linear model to be applied which greatly reduces model complexity.
- The modelled organs exhibit linear elastic behaviour, i.e. any load application is supposed to result in an instantaneous, proportional deformation with the organ returning to its initial state as soon as the load is removed; this assumption is as essential as the above in order to procure a linear model.
- The modelled organ is a homogeneous and isotropic body.
- The coefficients required to model the qualitative behaviour described above in a quantitative way are experimentally accessible through an adequate identification technique.
- The loads applied to the model will be of small enough variations as to allow for neglecting inertial forces (static instead of dynamic behaviour).

Note that these hypotheses are identical to those usually used in real time deformable models based on Finite Elements.

2.2.- Boundary element methods.

Boundary element methods originally were developed as an approximate way of solving differential equations defined for a certain domain when the exact solution cannot be obtained analytically. In 3D elastostatics, the domain is equivalent to an elastic body and the boundary corresponds to the body's surface, which is discretised into a finite number of elements. The unknown field, in our case the surface displacement, is then approximated by polynomial equations over each boundary element and represented in dependence of the (yet unknown) values at a respective number of control points or nodes. Using the Green solution of the elastic problem and imposing the boundary conditions in a general way, a system of equations results that is of the form

$$H \cdot u = G \cdot p \quad (1)$$

where \underline{H} and \underline{G} are the fully populated, so-called influence matrices and \underline{u} and \underline{p} the nodal displacement and traction vectors, respectively. In a 3D case, \underline{H} and \underline{G} have $3 \cdot \underline{n}_b \times 3 \cdot \underline{n}_b$ elements, i.e. are of the order $O(\underline{n}_b^2)$, where \underline{n}_b is the number of nodes.

Note that in surgery simulation the displacements are likely to be prescribed only at a very small number of nodes where organ movement is restricted in order to ensure a statically determined solution. Consequently, \underline{u} will mostly contain the unknowns. Thus, in order to have all the unknown nodal values in a vector \underline{u}^* on the left hand side and the known ones in a vector \underline{p}^* on the right hand side, (1) must be modified by exchanging the respective columns of \underline{H} and \underline{G} resulting in

$$\underline{H}^* \cdot \underline{u}^* = \underline{G}^* \cdot \underline{p}^* \quad (2)$$

with the accordingly modified influence matrices \underline{H}^* and \underline{G}^* . Further note that usually only some few nodes are simultaneously exposed to a load. Consequently, \underline{p}^* will mostly contain zeros, which however does not apply to the resulting right hand side vector.

In order to identify a prone solving algorithm for (2), one has to consider that during a simulation process, the above system of equations has to be solved subsequently and repeatedly for many different input vectors \underline{p}^* . What is more, typical algorithms for the solution of such kinds of equations usually are more or less optimised numerically but not with respect to their solution time, and are therefore inappropriate for a real time simulation. Instead, a maximum number of calculations should be performed previous to the simulation process. Thus, one can prepare (2) by explicitly inverting \underline{H}^* , so that (2) becomes

$$\underline{u}^* = \underline{H}^{*-1} \cdot \underline{G}^* \cdot \underline{p}^* \equiv \underline{L} \cdot \underline{p}^* \quad (3)$$

Although this procedure requires a high number of multiplications and divisions and is therefore prone to accumulate round off errors, it could be shown that when disregarding the precalculation time, this method is at least ten times faster than any other method [15]. For better numerical results, though, we did not explicitly invert \underline{H}^* . We rather solved (2) for a unit traction at each node and along each direction associated with the three coordinate axes, excluding, though, the nodes where the object is supposed to be fixed. This procedure is equivalent to solving $3 \cdot \underline{n}_f$ elastic problems, where \underline{n}_f is the number of nodes with non-prescribed displacement, and yields the $3 \cdot \underline{n}_f$ corresponding columns of \underline{L} , while the other columns are set to zero, which is equivalent to prescribing a zero displacement for the fixed nodes.

From (3), the nodal displacements \underline{u} can rapidly be computed by a simple matrix-vector multiplication for any traction field \underline{p} occurring during a simulation. Note, however, that this is only possible under the hypothesis of linearity made in section 3.1., since only this allows for the superposition of the respective displacements resulting from non-unit tractions at different nodes simultaneously. Further note that as \underline{p}^* is a sparse vector, the calculation of \underline{u} can be further optimised by a selective matrix vector multiplication of $\underline{L} \cdot \underline{p}^*$ as proposed by [12] for an FEM based method. What is more, the computation of \underline{u} can also easily be parallelised.

2.3.-Rheological identification using an inverse technique.

For the sake of a simple and fast model, the above techniques are based upon the hypotheses of linear elasticity made in section 2.1., which is equivalent to the assumption that the modelled body's mechanical behaviour can be described entirely with the help of two

parameters. Usually, these are Young's modulus E and Poisson's ratio ν . However, they are extraordinarily difficult to determine for human tissue due to three reasons:

The first reason is the evident difficulty in carrying out any quantitative empirical measurements of human tissues (such as liver) *in vivo*. Second, the behaviour of one and the same tissue will be different in one patient over time and from patient to patient depending for example on the respective age and pathology. The third reason finally is connected with the greatly simplified model employed. As has been stated above, neither are human organs and tissues homogeneous and isotropic, nor are they elastic, but rather they exhibit viscoelastic behaviour. To a great extent, this time-dependent behaviour that furthermore depends on the loads history is due to the high content of water and blood and has to be considered when carrying out quantitative measurements.

Hence, experiments should consist in determining a range of displacements within which the tissue exhibits at least quasi linear elastic behaviour and subsequently obtaining the elasticity parameters. For this reason, the investigated tissue is placed on a support that is designed so that the natural shape of the tissue is maintained at least approximately and the contact surface does not increment during load application (see figure 1). Then, a load or displacement increasing linearly and with a prescribed velocity is applied on the surface, and the resulting displacements or required forces are measured, respectively. As long as the measured quantity also changes linearly, the tissue can be supposed to behave in a linear way. In addition to that, this procedure should be repeated for different increment speeds of the loads or displacements, respectively. Thus, a velocity range for which identical loads result in the same displacements can be obtained, i.e. for which the tissue exhibits elastic behaviour.

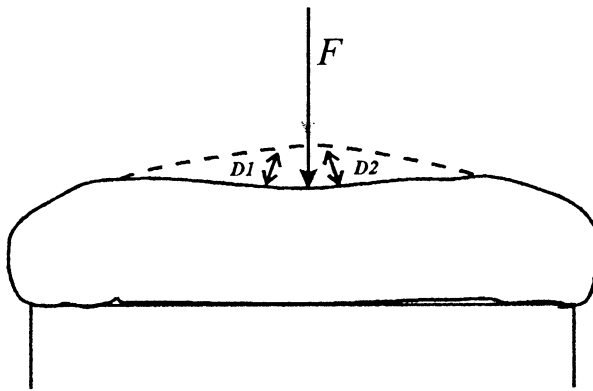


Figure 1.- Determination of elasticity parameters. F is the applied force, d_1 and d_2 the displacements measured for two control nodes on the surface close to the force application point. The dotted and continuous lines indicate the tissue outline before and after deformation, respectively.

Then, two control nodes with the co-ordinates P_1 and P_2 are defined on the tissue surface close to the load application point. Repeating the above described tests within the linear elastic region, the changing nodal co-ordinates P_1' and P_2' are monitored, from which the respective displacements $d_1 = P_1 - P_1'$ and $d_2 = P_2 - P_2'$ can be calculated. With these, finally, Young's modulus E and Poisson's ratio ν can be obtained applying the following inverse method.

With an arbitrary election of both parameters, the real load conditions are simulated

numerically and the displacements \underline{d}_1' and \underline{d}_2' defined as above are obtained. According to the deviation between experimental and simulated displacements, the parameters then are updated, and this procedure is repeated until convergence:

1. Estimate the initial parameters \underline{E}^0 and \underline{v}^0 .
2. Simulate the solid deformation with the values \underline{E}^n and \underline{v}^n in order to obtain \underline{d}_1'' and \underline{d}_2'' .
3. Compute the deviations between the experimental and simulated displacements, i.e. the errors $\underline{e}_1^n \equiv \underline{d}_1 - \underline{d}_1''$ and $\underline{e}_2^n \equiv \underline{d}_2 - \underline{d}_2''$.
4. To minimise the difference between experimental and numerical displacements, a Newton-Raphson technique is chosen to calculate $\underline{\Delta E}^n$ and $\underline{\Delta v}^n$.
5. Update the rheological parameters $\underline{E}^{n+1} \equiv \underline{E}^n + \underline{\Delta E}^n$ and $\underline{v}^{n+1} \equiv \underline{v}^n + \underline{\Delta v}^n$.
6. Iterate until $\underline{\Delta E}^n$ and $\underline{\Delta v}^n$ are sufficiently small.

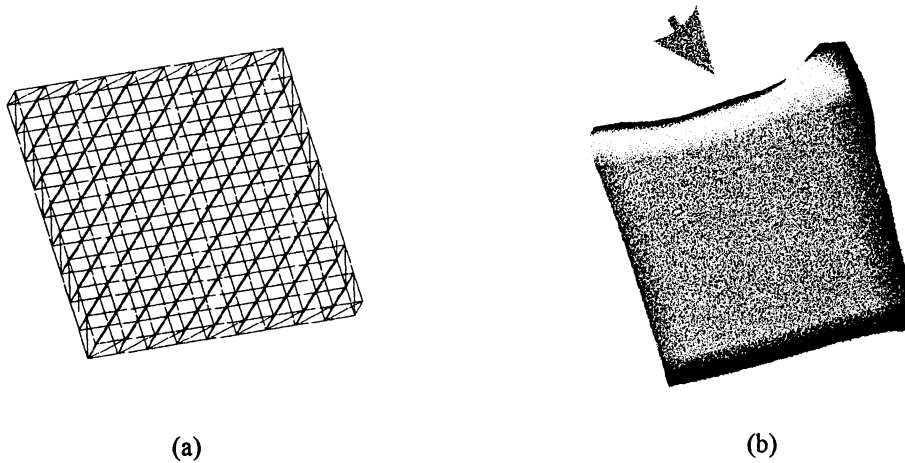


Figure 2.- Mesh used for experimental BEM model analysis (400 nodes); (a) wire frame mesh; (b) rendered mesh deformed by an external force as indicated.

3.-RESULTS.

3.1.-Temporal cost study.

For a temporal cost study the BEM based algorithm presented above was implemented as a C++ program and repeatedly executed on a Silicon Graphics workstation with an R-4400 processor and 64 Mbytes of RAM for a set of meshes with different sizes (see figure 2). We can see that the sequential algorithm results in a drastic increase of computation time for greater mesh sizes. While this is of no importance as far as the pre-calculations are concerned, a visually satisfactory refresh rate of about 15 Hz was only achieved by meshes with less than 150 nodes. In accordance with our experience, however, the correct visualisation of a simple object (such as liver) requires around 600 nodes. This evidences the need of parallelisation of BEM based surgery simulation applications.

3.2.- Rheological identification.

One of the most promising possible application fields of surgery simulators is laparoscopy with the liver being one of the frequently affected tissues. Thus, our initiatory interest was directed to this organ. Due to the limited availability of human livers for a statistical investigation of their average mechanical parameters, we resorted to a pig liver as a first approximation, though. With the help of a press model allowing for point loads being applied to the organ's surface with different specified deformation speeds and a 3D ultrasonic scanner (SAC GP10, Smart EDDY Systems, U.S.A.) for continuous samples of the control points, the elasticity parameters were determined experimentally.

Figure 3 displays the forces required to achieve an enforced displacement of the load application point distinguishing between different deformation increment speeds. It can be concluded that the pig liver investigated exhibits quasi linear elastic behaviour for displacements of up to 3 mm and deformation speeds of 0.04 mm/s, 0,2 mm/s and 0.4 mm/s. In table 1, the displacements of two control nodes near the load application point are listed along with the respective loads. From these, a Young's modulus of about $\underline{E} = 150 \text{ N/mm}^2$ and a Poisson's ratio of approximately $\underline{\nu} = 0.4$ can be identified.

<u>force</u> [N]	<u>Displacement of</u> <u>control node 1</u> [mm]	<u>displacement of</u> <u>control node 2</u> [mm]
0.2	0.5	0.45
0.4	1.45	0.95
0.6	2	1.35
0.8	3	2.55
1	4.1	3.05

Table 1.- Deformation of a pig liver: Displacements of two control nodes at 2.2 mm and 3.2 mm from the load application point, respectively (arithmetic means of four test cycles).

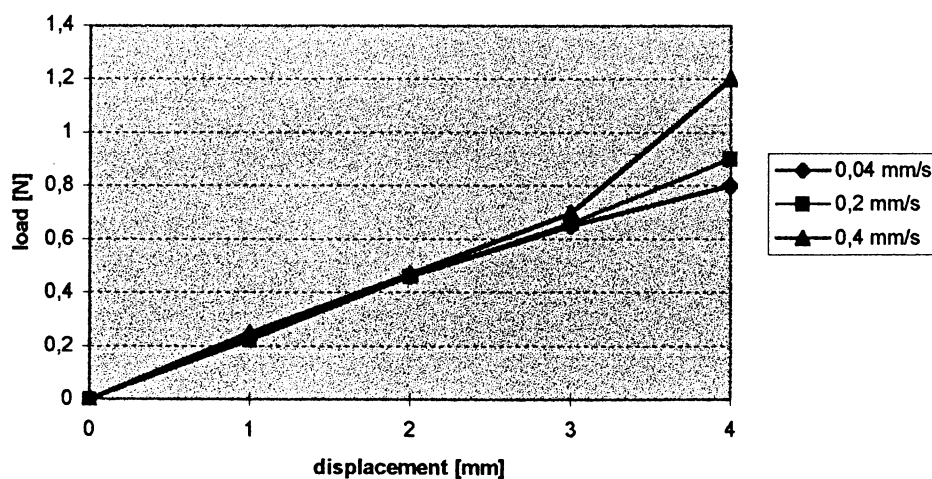


Figure 3.- Deformation of a pig liver: Point loads required to comply with an enforced linearly increasing deformation at different deformation speeds.

4.-CONCLUSIONS.

In this paper a sequential algorithm for deformable objects in 3D virtual geometry was presented. It is based on a boundary element method and, for the moment, restricted to the assumption of an isotropic, homogeneous, and elastic behaviour. Tests with a non-parallelised algorithm showed that a simulation of mechanical behaviour in real-time is possible for objects discretised into up to 150 surface nodes. As far as surgical simulations are concerned, *in vitro* tests with a pig liver suggest that the method yields quasi exact results for displacements of up to 3 mm and deformation speeds between 0.04 mm/s and 0.4 mm/s.

Beyond these limits, the algorithm loses in accuracy and/or sensation of reality. However, a qualitative and quantitative approximation can still be obtained at relatively small computational costs. Furthermore, only two rheological parameters have to be determined. So far, the new algorithm represents an improvement of non-volumetric techniques such as mass-spring models or deformable splines.

However, the presented method is quite similar to the fast finite elements (FFE), since with the latter the model is condensed to the degrees of freedom of the surface. BEM, though, offer the advantages of not requiring neither an interior mesh (as long as one stays with the simplified mechanical assumptions) nor the additional matrix inversion required for a condensation. More convincing, still, are the potentials of BEM for future improvements. As far as the aspired incorporation of incisions is concerned, a BEM model allows for the obligatory local modifications of the mesh to be performed in an easier and hence faster way. What is more, collisions and interactions with other organs or objects are detected and managed with respect to their surfaces, which coincides with the form objects that are represented with BEM. Thus, we can finally state that the presented algorithm is a promising deformable model for surgery simulation.

5.-FUTURE WORKS.

At present, we are studying a set of algorithm modifications that permit the consideration of viscoelasticity, non-homogeneity, and the simulation of incisions into virtual tissues. Moreover, our research is directed towards a parallelisation of the algorithm for its acceleration in order to enable surgery simulation in real time.

REFERENCES.

- [1] D. Terzopoulos et al., Elastically Deformable Models, Computer Graphics, v 21, n. 4, July 1987.
- [2] S. Coquillat, Extended Free-Form Deformation: A Sculpturing Tool for 3D Geometric Modeling, Computer Graphics, v.24 n.4, August 1990, pp. 187-196.
- [3] W. M. Hsu, Direct Manipulation of Free-Form Deformations. Computer Graphics, v.26 n.2, July 1992, pp. 177-184.
- [4] S. Coquillart, P. Jancène, Animated Free Form Deformation: An Interactive Animation Technique, Computer Graphics, v.25 n.4, July 1991, pp. 23-26.
- [5] M.Neveu, D.Faudot, B.Derdouri, Recovery of 3D deformable models from echocardiographic images, SPIE, v.2299, pp.367-376.

- [6] J.M. Gauch, Hybrid Boundary-Based and Region-Based Deformable Models for Biomedical Image Segmentation, SPIE, v.2299, pp.72-83.
- [7] F. Leitner, P. Cinquin, Complex topology 3D-objects segmentation, SPIE, v.1609, pp. 16-26.
- [8] H. Delingette, Simplex Meshes: a General Representation for 3D Shape Reconstruction, INRIA, Research Report n 2214.
- [9] J.V. Miller et al, Geometrically Deformed Models: A Method for Extracting Closed Geometric Models from Volume Data, Computer Graphics, v. 25, n. 4, July 1991.
- [10] M.-E. Algorri, F. Schmitt, Deformable Models for Reconstructing 3d Data, CVRMed 95, Ed. Ayache.
- [11] Y. Lee, D. Terzopoulos, K. Waters, Realistic Modeling for Facial Animation, Computer Graphics, August 1995, pp. 55-62.
- [12] M. Bro-Nielsen, Surgery Simulation Using Fast Finite Elements, Visualization in Biomedical Computing (Proc. VBC '96), K.H. Höhne, R. Kikinis (eds.), Lecture Notes in Computer Science, vol. 1131, Springer-Verlag, 1996
- [13] C. Monserrat et al., A fast Real Time Tissue Deformation Algorithm for Surgery Simulation, CAR'97, Elsevier Publishers.
- [14] M. Bro-Nielsen, Surgery Simulation Using Fast Finite Elements, Proceedings of the IEEE, v. 86, n. 3, March 1998.
- [15] S. Cotin, H. Delingette, N. Ayache, Real Time Volumetric Deformable Models for Surgery Simulation, Visualization in Biomedical Computing (Proc. VBC '96, Lecture Notes in Computer Science, vol. 1131, Springer-Verlag, 1996.

AIDE A LA CONCEPTION DE PROTHESES VASCULAIRES DE PETITS DIAMETRES : APPROCHE EXPERIMENTALE ET THEORIQUE

M. Zidi, M. Cheref, C. Oddou

Laboratoire de Mécanique Physique, Université Paris XII Val de Marne,

UPRES-A CNRS 7052, 94010 Créteil, France

e-mail: zidi@univ-paris12.fr

Résumé :

Une étude à la fois expérimentale et théorique du comportement mécanique de prothèses vasculaires est présentée. Nous montrons que les structures tubulaires en matériau silicone, que nous avons conçues et réalisées, offrent des impédances mécaniques proches de celles des artères. De plus, le modèle théorique développé dans le cadre de la théorie de l'hyperélasticité prend en compte les contraintes résiduelles et la nature composite du matériau. Nous présentons les effets du cisaillement qui simulent un chargement induit lors de manipulations chirurgicales. Les distributions de contraintes obtenues font apparaître un fort gradient pouvant être réduit par une augmentation des contraintes résiduelles.

INTRODUCTION

L'élaboration de substituts vasculaires de petits diamètres susceptibles d'assurer un service fonctionnel permanent sans le secours de thérapeutiques médicamenteuses constitue un défi subordonné à la nécessité de bien définir les caractéristiques fondamentales du greffon idéal (How et al., 1992 ; Fung, 1993). Aussi, dans cette contribution nous proposons de dégager les caractéristiques qui nous apparaissent fondamentales du point de vue de la mécanique dans la réalisation d'un greffon vasculaire efficace. Dans cette étude, nous présentons un protocole expérimental qui associe des tests uni et biaxiaux effectués grâce à un banc d'essai réalisé au laboratoire (Cheref, 1998). Ce protocole a permis (i) de révéler le caractère fortement anisotrope et non linéaire des prothèses actuellement commercialisées, et (ii) de quantifier la différence significative de comportement mécanique entre des échantillons artériels et ces différents implants artificiels. A l'inverse, nos structures tubulaires en matériau silicone biocompatible, offrent des impédances mécaniques plus proches de celles des artères. D'autre part, en comparaison à l'approche expérimentale, nous proposons une modélisation analytique prenant en compte le caractère hyperélastique et anisotrope de la prothèse silicone assimilée à un tube creux. Ainsi, pour tenir compte du mode opératoire chirurgical dans la conception du greffon vasculaire, nous proposons un modèle théorique apportant une approche originale dans la manière d'aborder les problèmes spécifiques liés à l'anastomose, notamment par l'introduction de cisaillement télescopique (Vorp et al., 1995 ; Zidi, 1999 ; Zidi et al., 1999). Nous montrons l'importance de tenir compte des gradients de contraintes générées au sein de la prothèse vasculaire, pour la conception de ce type de substituts biocompatibles.

MATERIEL ET METHODE

Un protocole expérimental associant des tests uniaxiaux de traction sur échantillon et des tests biaxiaux (chargement en pression et élongation axiale) sur structure tubulaire effectués grâce à un banc d'essai a été réalisé (Cheref, 1998). Par cette approche, il s'agit de quantifier la différence significative de comportement mécanique entre des échantillons artériels de porc et différents implants artificiels, en particulier celui constitué d'un matériau

de silicone que nous avons conçu et fabriqué. Les caractéristiques mécaniques élastiques des différents matériaux ont été obtenus à partir d'essais uniaxiaux de traction. La Figure 1 met en évidence le caractère anisotrope et non linéaire du matériau PTFE expansé et la différence de rigidité matérielle entre le matériau isotrope silicone, le matériau prothétique, et le matériau vasculaire (artère de porc).

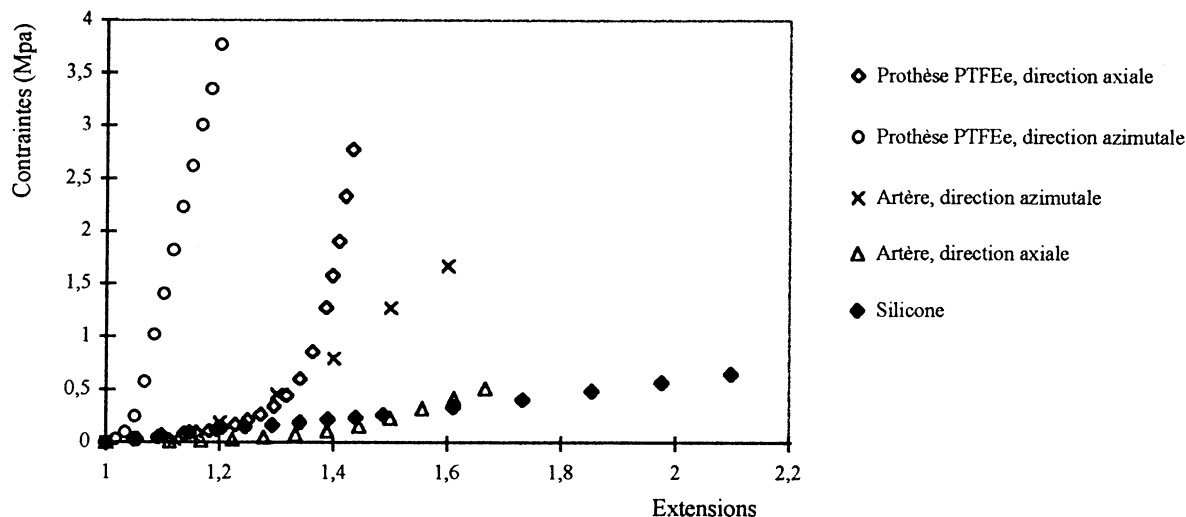


Figure 1 : Relations contraintes-extensions dans les directions axiales et azimutales pour un greffon prothétique (PTFE), un segment artériel (aorte de porc), et une éprouvette du matériau silicone.

A noter que le matériau artériel est anisotrope et de ce fait, est qualitativement proche du matériau prothétique classique. Cependant, les modules élastiques artériels sont du même ordre de grandeur que celui du matériau silicone. Par ailleurs, les différences observées entre les rigidités élastiques azimutales et longitudinales du matériau prothétique sont bien plus importantes que celles du matériau pariétal artériel testé. Notons que l'effet de concavité de la courbe traduisant la relation contrainte-déformation du matériau silicone est occulté par l'effet d'échelle. D'autre part, à la suite des études menées par Chandran et al. (1992) qui ont permis de comparer les compliances in vivo de matériaux vasculaire et prothétiques, nous avons calculé dans les mêmes conditions la compliance de la structure silicone, prototype d'un substitut vasculaire. Les résultats de compliance in vivo de structures artérielles et veineuses comparées aux substituts prothétiques classiques (Table 1), ainsi qu'à la structure silicone, révèlent que notre prototype de silicone offre une compliance bien plus proche de celle des artères. Ceci justifie le choix de ce matériau pour cette étude et la conception de structures tubulaires en silicone.

Structure vasculaire ou prothétique	Diamètre interne (mm)	Epaisseur (mm)	Compliance (%/Kpa)
Artère	4	1	0,586
Veine	4	0,5	0,233
Prothèse en Dacron	4	1	0,140
Prothèse en PTFE	4	1	0,122
Structure en silicone	4	1	0,617

Table 1: Compliances de substituts artériels et d'une structure silicone

Dans une deuxième étape, il s'agit de mesurer les variations de diamètre de ce type de structure en fonction de la pression intraluminale lorsqu'elles sont soumises à extension longitudinale. On montre que les structures vasculaires révèlent une relative indépendance vis à vis de l'extension longitudinale dans la gamme physiologique de pression (Figure 2). Cette caractéristique est importante dans le choix d'un substitut artériel. En effet, les ondes de pression systoliques et diastoliques doivent principalement engendrer des déplacements dans le plan transverse du conduit, et les déformations longitudinales doivent être ainsi négligeables.

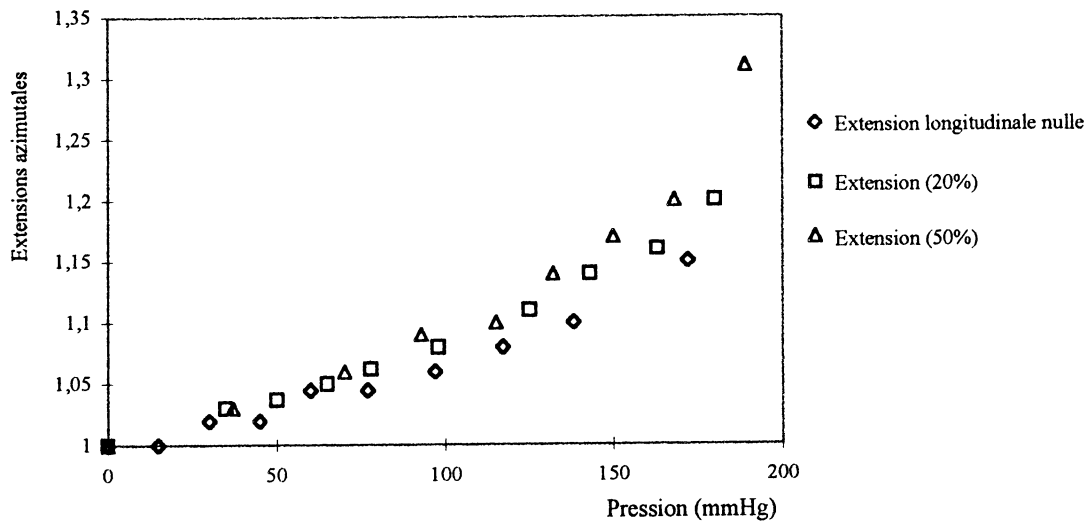


Figure 2: Influence de l'extension longitudinale sur les relations pression diamètre d'une structure silicone [rayon interne de 3mm;h=0,5mm], l'état de référence étant pris dans la configuration en extension

La méthodologie expérimentale mise en oeuvre dans cette première partie nous a donc permis de déterminer les caractéristiques mécaniques du matériau prothétique silicone et de montrer que celui-ci semble être un bon candidat comme substitut vasculaire de petits diamètres.

En complément de cette étude expérimentale qui met en évidence les critères à respecter pour la conception de substituts vasculaires, il est nécessaire de tenter de caractériser, à l'aide de modèles théoriques, le comportement mécanique de structures tubulaires silicone intégrées dans le réseau vasculaire. En effet, celui-ci impose aux organes artificiels qui y sont implantés des contraintes plus complexes que celles envisagées précédemment.

L'approche utilisée s'inscrit dans le cadre de la théorie de l'hyperélasticité (Green et Zerna, 1968). Pour cela, on considère, un secteur circulaire de tube creux composé d'un matériau hyperélastique (Figure 3).

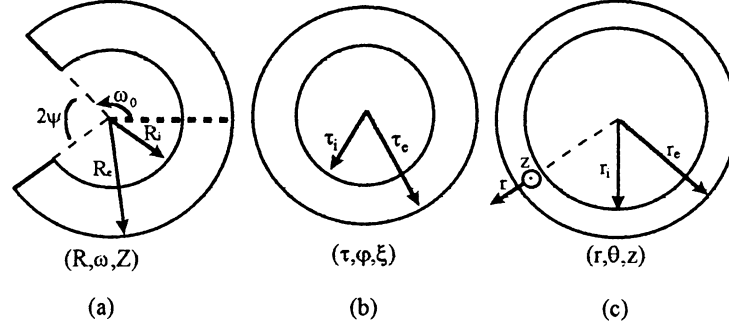


Figure 3 : Section du tube dans les états :
libre de contraintes (a), non chargé (b), chargé (c)

On suppose que le tube subit deux déformations successives. Il est d'abord fermé et étiré dans la direction axiale ce qui induit des déformations résiduelles (Fung, 1993) et simule les conséquences des procédés de fabrication. Puis, le tube est soumis simultanément à une torsion, à une élongation axiale et à un cisaillement télescopique (Cheref, 1998 ; Zidi, 1999 ; Zidi et al., 1999) caractérisant à la fois le chargement relatif au fonctionnement physiologique et aux manipulations chirurgicales. La déformation du tube est décrite par :

$$r = r(R), \quad \theta = \left(\frac{\pi}{\omega_0}\right)\omega + \phi\alpha Z, \quad z = \alpha\lambda Z + \Delta(r), \quad (1)$$

où ω_0 est l'angle caractérisant l'ouverture du tube, (R, ω, Z) et (r, θ, z) sont respectivement les coordonnées cylindriques d'un point matériel du tube dans la configuration de référence et dans la configuration déformée. Ici, ϕ est un angle de torsion par unité de longueur, α and λ sont les coefficients d'élongation (respectivement pour la première transformation et la seconde transformation) et Δ est un déplacement axial traduisant le cisaillement télescopique. Soient R_i et r_i représentant respectivement les rayons internes du tube dans la configuration de référence et la configuration déformée (R_e et r_e représentent les rayons externes). De l'équation (1), on déduit le gradient de la transformation \mathbf{F} , qui dans le système de coordonnées cylindriques s'écrit :

$$\mathbf{F} = \begin{bmatrix} \dot{r} & 0 & 0 \\ r\dot{r}\dot{\Phi} & \frac{r}{R}\frac{\pi}{\omega_0} & r\phi\alpha \\ \dot{r}\dot{\Delta} & 0 & \alpha\lambda \end{bmatrix}, \quad (2)$$

où $(\dot{\cdot})$ est la dérivée par rapport à l'argument. Notons par $\mathbf{C} = \overline{\mathbf{F}\mathbf{F}}$ et $\mathbf{B} = \mathbf{F}\overline{\mathbf{F}}$ les tenseurs de déformation droit et gauche de Cauchy-Green ($\overline{\mathbf{F}}$ est le transposé de \mathbf{F}). La densité d'énergie de déformation par unité de volume non déformé pour un matériau isotrope transverse s'écrit :

$$W = W(I_1, I_2, I_3, I_4), \quad (3)$$

où I_i ($i = 1, 2, 3, 4$) sont les invariants de déformation de \mathbf{B} (ou \mathbf{C}) qui s'écrivent:

$$I_1 = \text{Tr}\mathbf{B}, \quad I_2 = \text{Tr}\mathbf{B}^*, \quad I_3 = \det\mathbf{B}, \quad I_4 = \mathbf{t}_0 \cdot \mathbf{C} \cdot \mathbf{t}_0, \quad (4)$$

avec $\mathbf{B}^* = (\det\mathbf{B})\mathbf{B}^{-1}$ l'adjoint de \mathbf{B} , J la variation de volume local et \mathbf{t}_0 la direction d'isotropie transverse.

Pour simplifier l'étude, on suppose le matériau incompressible (i.e. $I_3 = 1$), et après intégration on obtient :

$$r^2 = r_i^2 + \frac{\omega_0}{\pi\alpha\lambda}(R^2 - R_i^2), \quad (5)$$

Le tenseur des contraintes de Cauchy σ est donné par (Spencer, 1984):

$$\sigma = -p\mathbf{1} + 2[W_1\mathbf{B} - W_2\mathbf{B}^{-1} + I_4W_4\mathbf{t} \otimes \mathbf{t}], \quad (6)$$

où p est un multiplicateur de Lagrange lequel caractérise la pression hydrostatique, $\mathbf{1}$ est le tenseur identité, $W_i = \frac{\partial W}{\partial I_i}$ ($i = 1,2,4$) et \mathbf{t} est la direction d'isotropie transverse dans la configuration déformée. De plus, on utilise une densité d'énergie de déformation de type Néohookéen et qui s'écrit:

$$W = W(I_1, I_4) = \frac{A}{2}(I_1 - 3) + \frac{B}{8}(I_4 - 1)^2, \quad (7)$$

où A et B sont des constantes caractéristiques du matériau.

D'autre part, on considère le cas où $\mathbf{t}_0 = [0, t_\omega(R), t_z(R)]$ ce qui permet d'obtenir les composantes de \mathbf{t} par la formule de transport $\sqrt{I_4}\mathbf{t} = \mathbf{F}\mathbf{t}_0$.

Ainsi, de (6) et (7) et en négligeant les forces de volume, les équations d'équilibre s'écrivent sous forme simplifiées :

$$\begin{cases} \frac{d\sigma_{rr}}{dr} + \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{r} = 0 \\ \frac{d\sigma_{rz}}{dr} + \frac{\sigma_{rz}}{r} = 0 \end{cases} \quad (8, 9)$$

et peuvent être intégrées avec des conditions aux limites adéquates. En prenant $\Delta = \Delta_i$ en $r = r_i$ et $\Delta = \Delta_e$ en $r = r_e$, un simple calcul permet d'obtenir l'expression de la fonction $\Delta(r)$, qui s'écrit:

$$\Delta(r) = (\Delta_e - \Delta_i) \frac{\text{Log}\left[\left(1 + \frac{\pi\alpha\lambda}{R_i^2\omega_0}(r^2 - r_i^2)\right)\right]}{\text{Log}\left[\left(1 + \frac{\pi\alpha\lambda}{R_i^2\omega_0}(r_e^2 - r_i^2)\right)\right]} + \Delta_i \quad (10)$$

En se donnant les conditions aux limites en pression telles que $\sigma_{rr}(r_i) = -p_i$ et $\sigma_{rr}(r_e) = 0$, l'intégration de (8) entre r_i et r permet d'obtenir le terme de pression hydrostatique:

$$p(r) = p_i + A\left(\frac{R\omega_0}{r\pi\alpha\lambda}\right)^2 + \int_{r_i}^r \frac{\sigma_{rr} - \sigma_{\theta\theta}}{s} ds \quad (11)$$

Les équations (10) et (11) permettent de déterminer le tenseur des contraintes de Cauchy σ .

RESULTATS

Dans le cas particulier d'une fonction d'énergie caractérisé par $B = 0$ (cf. équation (7)) qui traduit le comportement mécanique du matériau isotrope, nous obtenons le cas Néohookéen. La Figure 4 montre l'extension azimutale d'une structure cylindrique silicone sous chargement de pression cavitaire à extension axiale nulle. Les courbes expérimentales

obtenues confrontées au modèle théorique choisi révèle une excellente corrélation avec le cas Néohookéen.

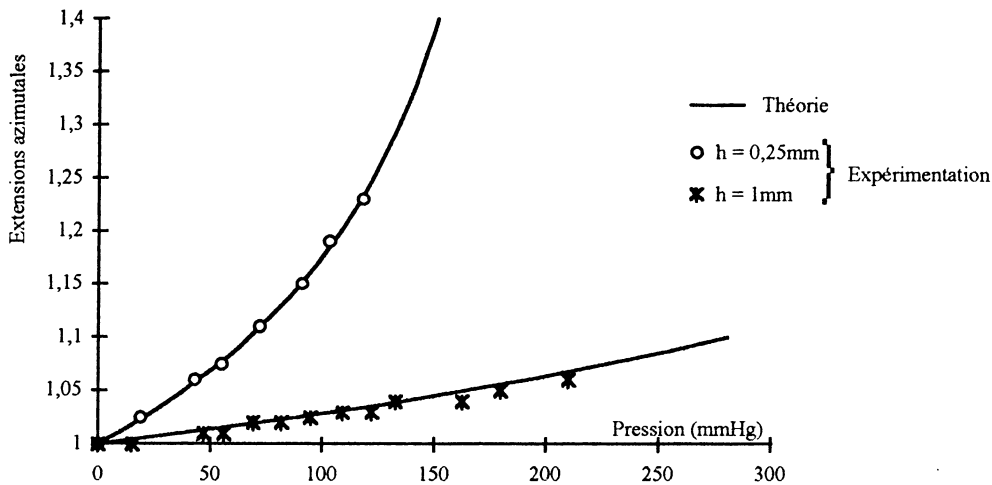


Figure 4 : Comparaisons des extensions azimutales en fonction de la pression intraluminaire à extension nulle dans le cas théorique (—: $A=0,166$ MPa) et le cas expérimental (o: épaisseur $h=0,25$ mm, $\tau_i=3$ mm ; * : épaisseur $h=1$ mm, $\tau_i=3$ mm).

Par la suite, toutes les simulations théoriques prendront en compte les caractéristiques géométriques choisies par Chandran et al (1992). Nous présentons les résultats de simulation du comportement mécanique en intégrant cette fois l'effet du cisaillement télescopique. Comme exemple, on considère le cas d'un cylindre creux de dimension $\tau_e=3$ mm et $\tau_i=2$ mm assimilé à une prothèse vasculaire et composé d'un matériau silicone dans lequel baignent des fibres textiles extensibles sans dimension (Spencer, 1984). Les fibres choisies définissent un réseau hélicoïdal de fibres traduisant une isotropie transverse. De plus, le vecteur tangent aux fibres est pris tel que $\mathbf{t}_0=[0, \cos \gamma(R), \sin \gamma(R)]$. Ce vecteur est considéré comme défini à partir d'un angle γ dont la valeur varie linéairement à travers la paroi du tube ($\gamma(R)=\gamma_0[1-2\frac{R-R_i}{R_e-R_i}]$). Pour simplifier l'étude, nous négligeons les effets

de torsion et à titre illustratif nous nous focalisons sur les effets séparés des contraintes résiduelles et des fibres. Le tube est soumis à un cisaillement télescopique externe $\Delta_e=1$ mm pouvant être assimilé à un mode de chargement opératoire chirurgical (Cheref, 1998), et à une pression interne physiologique de 100mmHg. La Figure 5 montre les effets des contraintes résiduelles sur les contraintes σ_{rz} et σ_{zz} . On observe qu'une diminution de l'angle ω_0 (i.e une augmentation des contraintes résiduelles) entraîne une diminution du gradient de contraintes σ_{zz} à travers la paroi du tube. Par ailleurs l'indépendance des distributions de contraintes σ_{rz} vis à vis des contraintes résiduelles apparaît aussi.

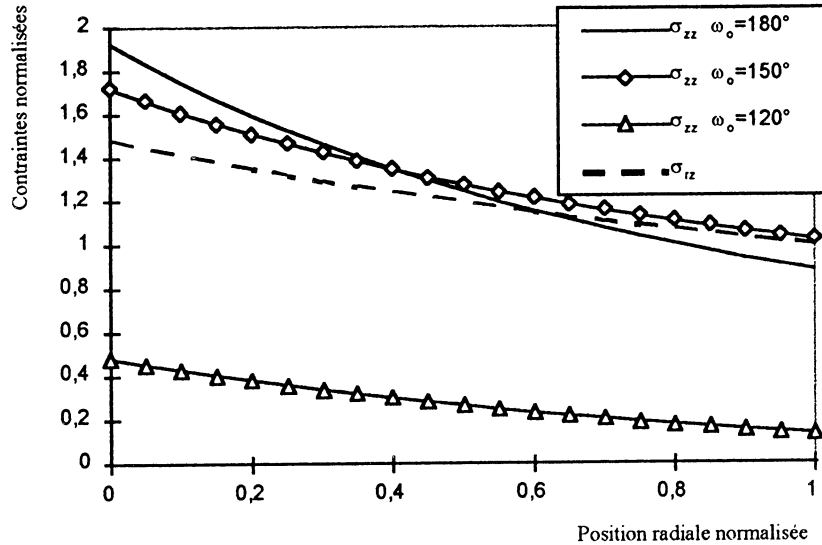


Figure 5 : Effets des contraintes résiduelles pour une structure composée d'un matériau homogène isotrope: distributions des contraintes (normalisées par rapport à $\sigma_{rz}(r_e)$) à travers la paroi

($p_i = 0,0133 \text{ MPa}$, $A = 0,166 \text{ Mpa}$, $\Delta_e = 1\text{mm}$, $\tau_e = 3\text{mm}$ et $\tau_i = 2\text{mm}$)

Egalement, et indépendamment des contraintes résiduelles, l'effet des fibres en prenant $\gamma_0 = 40^\circ$ est illustré Figure 6. On montre que l'influence des fibres n'est pas significative sur les distributions de contraintes σ_{rz} et σ_{zz} . Dans ce cas, la matrice isotrope supporte ces contraintes.

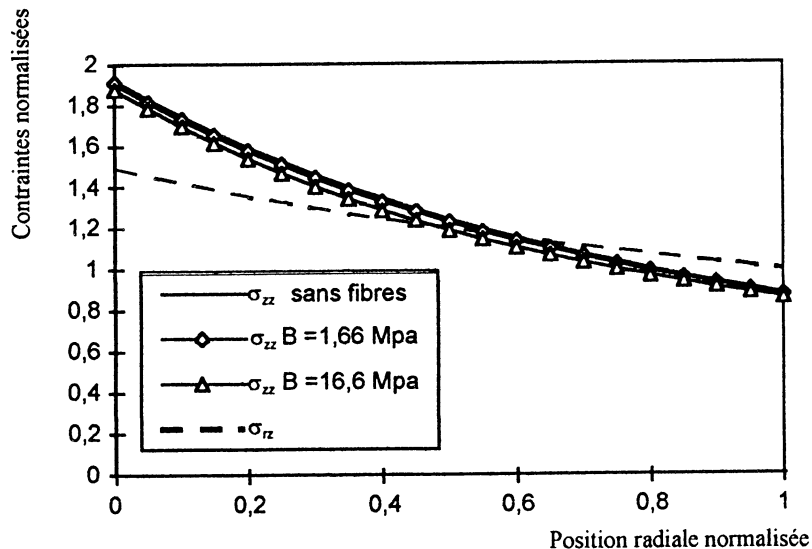


Figure 6 : Effets des fibres indépendamment des contraintes résiduelles :

distributions des contraintes (normalisées par rapport à $\sigma_{rz}(r_e)$) à travers la paroi ($p_i = 0,0133 \text{ MPa}$, $A = 0,166 \text{ Mpa}$, $\Delta_e = 1\text{mm}$, $\tau_e = 3\text{mm}$ et $\tau_i = 2\text{mm}$)

CONCLUSION

Cette étude s'est ainsi traduite par la mise en oeuvre d'un protocole expérimental associant tests uniaxiaux de traction et tests biaxiaux. Ce protocole a permis de comparer le comportement mécanique entre des échantillons vasculaires et différents implants artificiels. Les structures tubulaires composées de matériau silicone, dont les impédances mécaniques sont proches de celles des artères apparaissent être de "bonnes candidates" comme substitut vasculaires. De plus, un modèle théorique à cinématique complexe, développé dans le cadre de la théorie de l'hyperélasticité, prenant en compte les effets des contraintes résiduelles et de la nature composite du matériau est proposé. Ce modèle introduit l'effet du cisaillement télescopique sur un conduit prothétique, associé au chargement intraluminal, à la torsion, et à l'extension longitudinale de la structure. Cette analyse théorique tente d'une part, d'établir les "caractéristiques mécaniques idéales" à l'élaboration d'une prothèse vasculaire de petit diamètre, et d'autre part, d'aider le praticien par l'évaluation de l'influence de paramètres cinématiques (torsion, cisaillement télescopique, extension longitudinale) lors de l'implantation du substitut vasculaire. Ainsi on montre que la présence de contraintes résiduelles au sein de la paroi, permet de réduire le gradient de contraintes lié aux problèmes liés à l'anastomose.

REFERENCES

Chandran K.B., Gao D., Han G., Baraniewski H, Corson J.D., 1992, *Finite-Element Analysis of Arterial Anastomoses with Vein, Dacron and PTFE Grafts*, Med. Biol. Eng. & Comput., vol. 30, p. 413-418.

Cheref M., *Approche mécanique à la conception d'une prothèse vasculaire de petit diamètre*, Thèse de l'Université Paris XII, 1998.

Fung Y.C., *Biomechanics, Mechanical properties of living tissues*, 1993, 2nd edn., (Springer-Verlag, New-York).

Green A.E., Zerna W., *Theoretical elasticity*, (Oxford University Press, London), 1968.

How T.V., Guidoin R., Young S.K., 1992, *Engineering design of vascular prostheses*, J. of Eng. In Medicine, Part H., p. 61-71.

Spencer A.J.M., *Continuum theory of the mechanics of fibre-reinforced composites*, 1984, (Springer, New-York).

Vorp D.A., Rajagopal K.R., Smolinski P.J., Borovetz H.S., 1995, *Identification of Elastic Properties of Homogeneous, Orthopedic Vascular Segments in Distension*, J. of Biomechanics, 28(5), p. 501-512.

Zidi M., 1999, *Torsion and telescopic shearing of a compressible hyperelastic tube*, Mechanics Research Communications, Vol. 26(2), p. 245-252.

Zidi M., Cheref M., Oddou C., 1999, *Finite elasticity modelling of vascular prostheses mechanics*, The European Physical Journal Applied Physics, (à paraître).

THE BEHAVIOUR OF NASAL SPRAYS IN SHEAR AND EXTENSION

Nick Hudson¹, Jill Eccleston², Masshoo Bakhshae², and David Richards³.

¹Department of Pure and Applied Chemistry, and ²Department of Pharmaceutical Sciences Strathclyde University, Glasgow G1 1XL; ³Glaxo Wellcome, Uxbridge, UB11 1BU

Résumé

Les caractéristiques rhéologiques de quatre suspensions nasales commerciales de corticostéroïdes pour pulvérisateurs ont été comparés par des techniques de cisaillement et d'élongation. Toutes les suspensions nasales étaient pseudo-plastiques ainsi que thixotropes à différents degrés. Dans ces conditions la récupération thixotrope n'était pas assez rapide pour confirmer une résidence prolongée dans la cavité nasale. Les propriétés élongationnelles ont été étudiées à l'aide d'un appareil photo digital en suivant l'évolution de la gouttelette et de la longueur de l'éventuel filament formé lors de l'expulsion de la suspension de la seringue. Les premières données relatives à l'écoulement élongationnel ont révélé des différences entre les quatre pulvérisateurs, la longueur des filaments augmentant proportionnellement à la viscosité à l'équilibre au gradient de cisaillement le plus faible (10 s^{-1}).

Abstract

The rheological profiles of four commercial corticosteroid nasal spray suspensions were compared using shear and extensional techniques. All the nasal suspensions were pseudoplastic, and were also thixotropic to varying degrees. Under these conditions, thixotropic recovery was not rapid enough to confirm a prolonged residence in the nasal cavity. Extensional properties, on which droplet break-up and size depend, were examined using digital camera photography of droplet evolution and the length any trailing filament formed when the suspension was extruded from a syringe. Preliminary extensional flow data identified differences between the four sprays, with filament lengths increasing in the same rank order as the lowest shear rate (10 s^{-1}) equilibrium viscosities.

INTRODUCTION

The rheological properties of corticosteroid nasal spray suspensions, used extensively for seasonal allergic or perennial rhinitis^{1,2}, will dramatically affect their overall performance. Such suspensions are generally formulated to be "thixotropic", as they require a high apparent viscosity at rest to prevent particle sedimentation, but should thin down for a sufficient time when shear is applied e.g. by shaking the container, to dispense the dose before reverting back to the original high consistency.

A quantitative determination of thixotropy, however, is difficult because thixotropic materials are highly sensitive to their rheological history and to the conditions of the shear. In addition, the term thixotropy is frequently confused with other shear thinning phenomena such as pseudoplasticity and irreversible deformation. Using the British Standard Glossary of Rheological Terms³, thixotropy is defined as "A decrease in the apparent viscosity under

shear stress, followed by a gradual recovery when the stress is removed. The effect is time-dependent”, whilst shear thinning is defined as “A reduction of the viscosity with increasing rate of shear in steady flow”. There is no question of time dependency in shear thinning (i.e pseudoplasticity) other than a small but finite time for the shear rate (at constant stress) or the shear stress (at constant rate) to come to equilibrium, or to go to zero after the shear has been removed. This time, which could be anywhere between microseconds to tens of seconds, can often be related to the relaxation time of the fluid. Thixotropic recovery, on the other hand, is usually measured in tens of seconds to hours or even days. For the study of this phenomenon, the standard protocol is to derive flow curves of shear stress vs shear rate using a standardised shearing cycle⁴⁻⁶, rather than the determination of an equilibrium shear stress at each shear rate. With such curves it is not possible to separate the contributions of each type of response. Under both responses to shear, thixotropy and pseudoplasticity, the apparent viscosity decrease with the shearing is reversible so that the fluid will rebuild itself and revert to its original state after cessation of shear. This is not the case with irreversible deformation, where the underlying structure is destroyed. For example, complex pharmaceutical formulations, such as semi-solid creams, exhibit a mixture of reversible and irreversible deformation in shear^{7,8}.

The distinction between pseudoplasticity, thixotropy and irreversible deformation may influence the therapeutic effect of such sprays. If the suspension is to thicken immediately after spraying, it may reside longer in the nasal cavity with a prolongation of the therapeutic effect than if the suspension remained thin. This suggests that time independent shear thinning such as pseudoplasticity rather than thixotropy or irreversible deformation is a requirement here.

Simple shear, as described above, is the customary mode of deformation used in the study of complex rheological fluids. Shear flow assessment alone, however, will not adequately describe the deformation during the use of a nasal sprays because when the suspension is sprayed, the formulation will undergo an extensional or stretching flow, as it accelerates through and exits from the nozzle. For a more relevant understanding of the rheological behaviour in use, extensional flow, on which droplet size and break-up depend, should also be evaluated^{9,10}.

The aim of this work was to compare the rheological profiles of four commercial corticosteroid nasal spray suspensions. In particular, to evaluate the extent of pseudoplasticity, thixotropy and irreversible deformation and to provide a preliminary assessment of extensional rheology.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Four corticosteroid nasal spray suspensions - Beconase[®] Batch number B0737EB (Glaxo Wellcome), Nasacort[®] Batch number MN2378 (Rhone-Poulenc Rorer), Flixonase[®] Batch number B3807NB (Glaxo Wellcome) and Nasonex[®] Batch number 97F12 04 (Schering-Plough) - were obtained directly from a local pharmacy with no knowledge of their previous history or age profile. This will give a snapshot of their rheological properties within the shelf-life of each product.

Shear Measurements

The extent of shear thinning, in the form of both thixotropy and pseudoplasticity, was evaluated at 25°C using a Carri-Med controlled stress rheometer (CSL 100) with concentric cylinder (Mooney Ewart) geometry by using two protocols:

- (i) generation of two series of flow curves with maximum shear rates of 100 s^{-1} (series 1) or 1200 s^{-1} (series 2) and a sweep time of 480 s.
- (ii) determination of equilibrium viscosities at constant shear rates of 10 s^{-1} , 100 s^{-1} or 1200 s^{-1} . The shear rate was increased rapidly to its constant value, and the change in apparent viscosity at this maximum shear rate monitored with time.

For all experiments, the spray nozzle was removed from the dispenser and samples poured directly into the rheometer cup. Initial experiments were performed to establish reproducibility of results in relation to sampling and experimental conditions. After each flow curve experiment, the sample was rested in the rheometer for 5 minutes and the test repeated. Samples were then returned to the original dispenser and retained for structure-recovery investigations over extended times for up to 1 week.

Extensional Measurements

Extensional deformation was followed using digital camera photography (Olympus 800L) of droplet evolution when the suspension was extruded at $500 \mu\text{L} / \text{min}$ through a 23 gauge needle from a 10mL syringe attached to a perfusor pump. As each droplet formed, its evolution and any trailing filament formed was photographed. The length of the trailing filament before break gives a good approximation of extensional viscosity¹¹.

RESULTS AND DISCUSSION

All the flow curves were anticlockwise hysteresis loops. Reproducibility, as shown by the extent of superimposability of flow curves (c.f. Figure 1) was satisfactory for all the suspensions except Nasonex, which was rather lumpy in the dispenser, although it sprayed with ease.

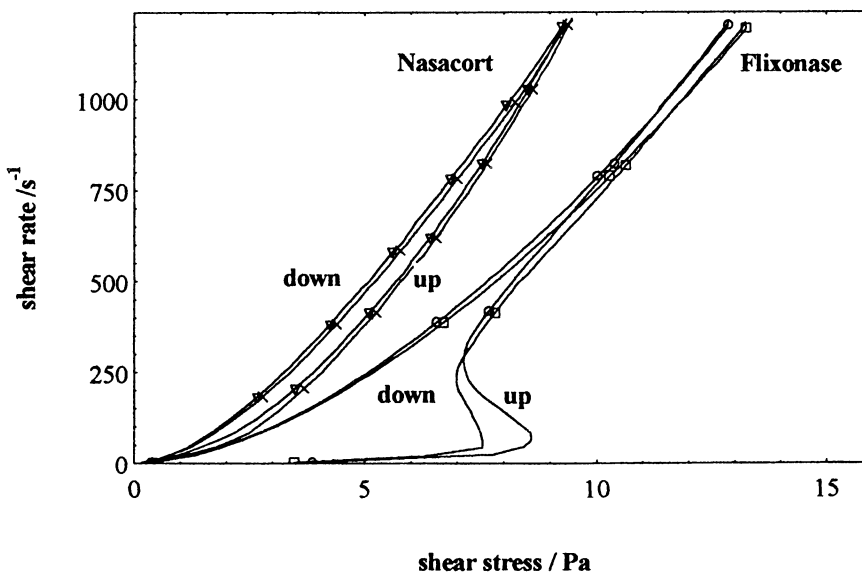


Figure 1. Reproducibility of results under series 2 protocol for two of the nasal sprays. Each experiment used a fresh sample.

Typical rheograms for each suspension at maximum shear rates of 100 s^{-1} or 1200 s^{-1} are shown in Figures 2 and 3. All the nasal sprays were shear thinning and thixotropic, with the extent of thixotropy in series 2 protocol (as measured by loop area in Pa s^{-1}) increasing in the order Beconase (3.5 Pa s^{-1}), Nasacort (5.5 Pa s^{-1}), Flixonase (15.9 Pa s^{-1}) and Nasonex (58.6 Pa s^{-1}). This trend was not as marked under the shearing conditions of series 1 protocol (maximum shear rate of 100 s^{-1}), although the loop area for Nasonex was still considerably greater than the other sprays.

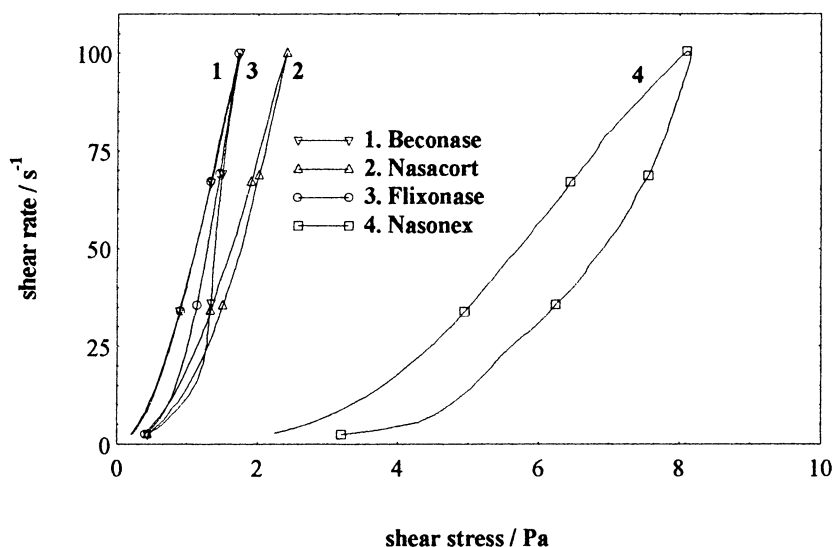


Figure 2. Typical rheograms for each suspension under series 1 protocol (maximum shear rate of 100 s^{-1}) for all the nasal sprays.

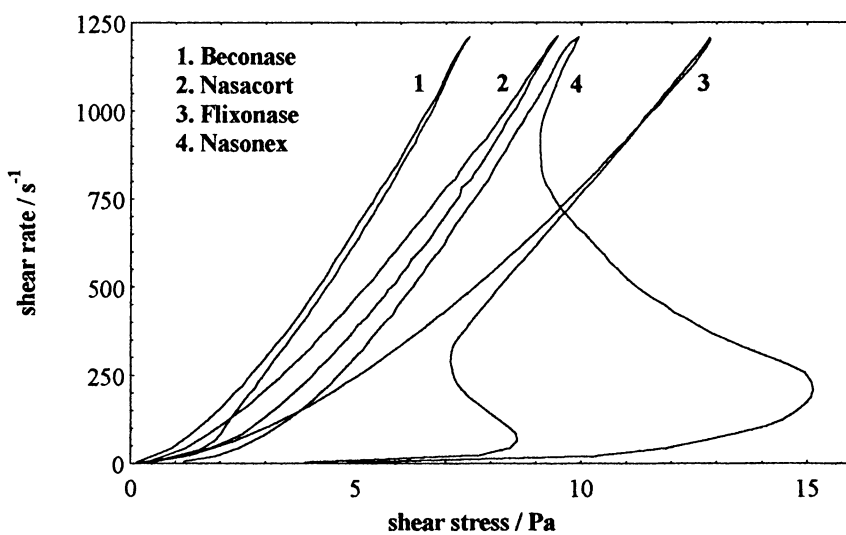


Figure 3. Typical rheograms for each suspension under series 2 protocol (maximum shear rate of 1200 s^{-1}) for all the nasal sprays.

To determine whether there would be any irreversible deformation the nasal formulations were retested under the same conditions after a suitable rest time. Typical flow curves to illustrate structure recovery are shown in Figure 4. Recovery was not immediate, for the second rheogram obtained 5 minutes after the first for each spray always had a markedly reduced loop area. Samples were partially recovered within hours and all fully recovered when tested after 1 weeks storage. Thus it was concluded that shear thinning was reversible for each spray and mainly thixotropic with little or no irreversible deformation..

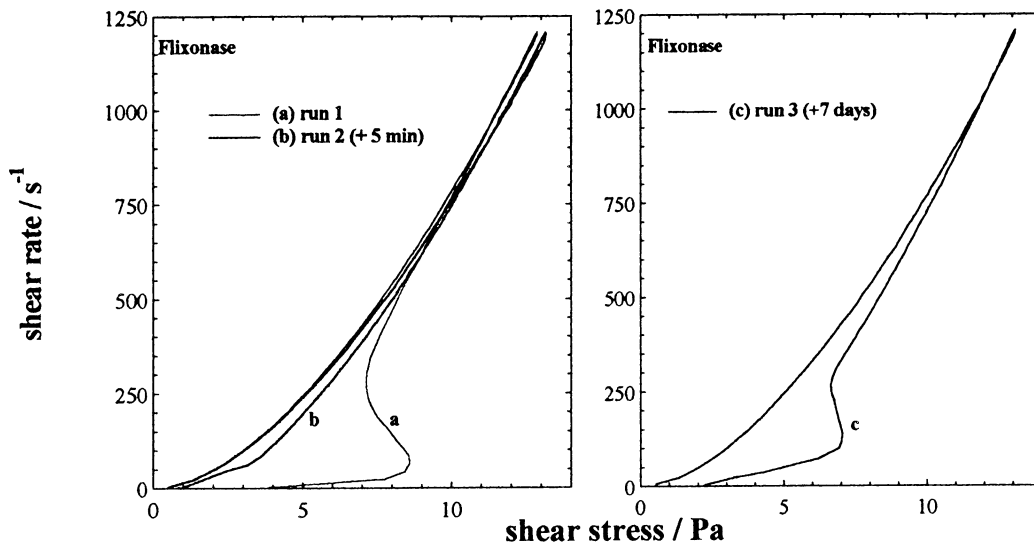


Figure 4. Typical rheograms for a suspension under series 2 protocol. The first run was with a fresh sample. Subsequent runs were after 5 minutes and one week.

The time for each sample to reach equilibrium depended upon both the shear rate and the sample itself. For example, at 100 s^{-1} Beconase and Nasacort had reached equilibrium within 40 s, Flixonase took nearly 120 s, whilst Nasonex had not reached equilibrium even after 240 s. (Figure 5).

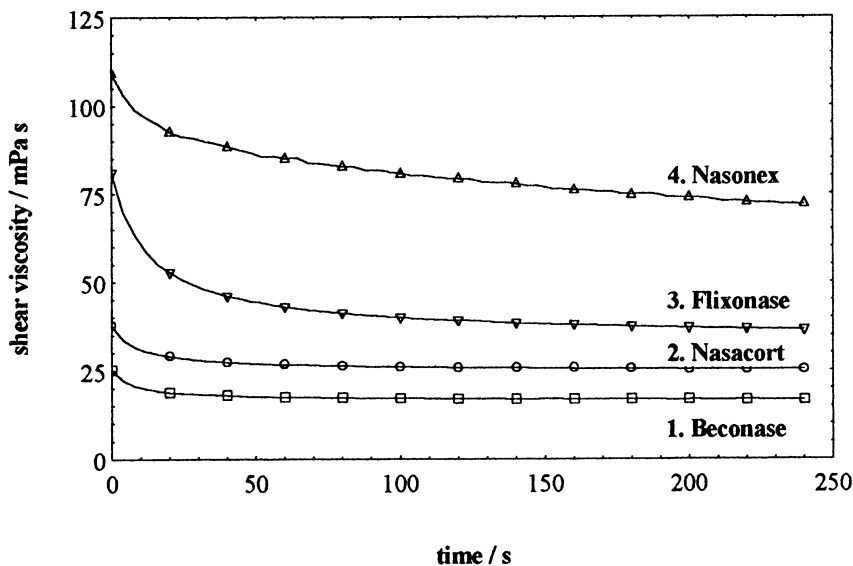


Figure 5. The shear viscosity at a shear rate of 100 s^{-1} as a function of time for all the nasal sprays.

Figure 6 shows that the time to reach equilibrium decreases as the shear rate increases.

Two quantities with the dimensions of viscosity, namely η_{eq} , which is the value obtained at equilibrium at the given shear rate or stress, and η_{app} , the apparent viscosity obtained from the corresponding part of the flow curve were defined and are compared in Table 1. If the material is not thixotropic, and the flow curve is performed at suitably slow rates, then these two viscosity values will be equal. If the flow curve is performed too quickly,

then the measuring system may not be able to respond as quickly as the fluid, and hysteresis will occur. Equilibrium values were similar to, but not identical with the corresponding flow curve apparent viscosities, the differences being due to their different shear histories. This suggests that the reversible structures had almost, but not completely, broken down during the shear cycle.

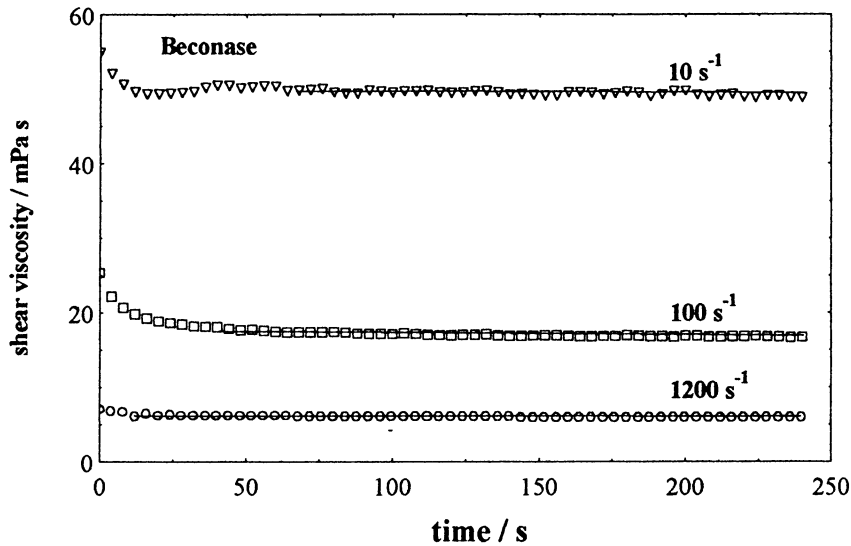


Figure 6. The shear viscosity at a series of shear rates as a function of time for one of the nasal sprays.

Table 1. Apparent viscosities η_{app} and equilibrium viscosities, η_{eq} (mPa s)

shear rate	10 s^{-1}		100 s^{-1}		1200 s^{-1}	
	η_{eq}	η_{app}	η_{eq}	η_{app}	η_{eq}	η_{app}
Beconase	48.9	17.4	16.7	6.21	5.87	
Nasacort	129	24.0	25.2	7.82	7.54	
Flixonase	243	17.2	36.5	10.7	12.7	
Nasonex	244	81.2	72.0	8.22	9.85	

Figures 7 and 8 shows representative graphics of droplet evolution for Flixonase and Nasonex.

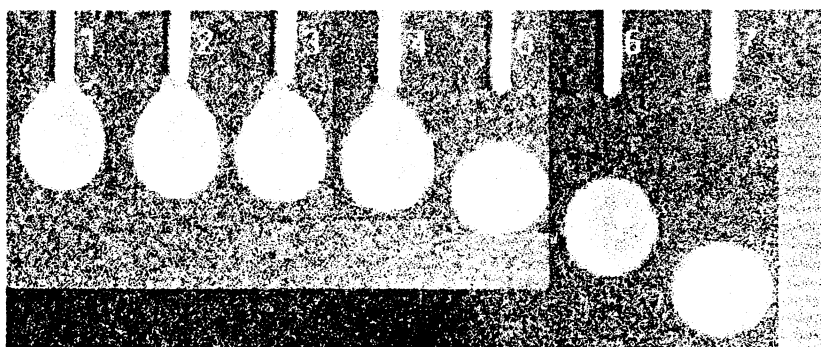


Figure 7. Pendant drop formed with Flixonase spray. The filament has just broken at exposure 6.

A characteristic feature of such filaments of viscoelastic fluids is the uniformity – the filament stretches as a cylinder. This makes the determination of the extensional stress and strain rate relatively simple¹¹.

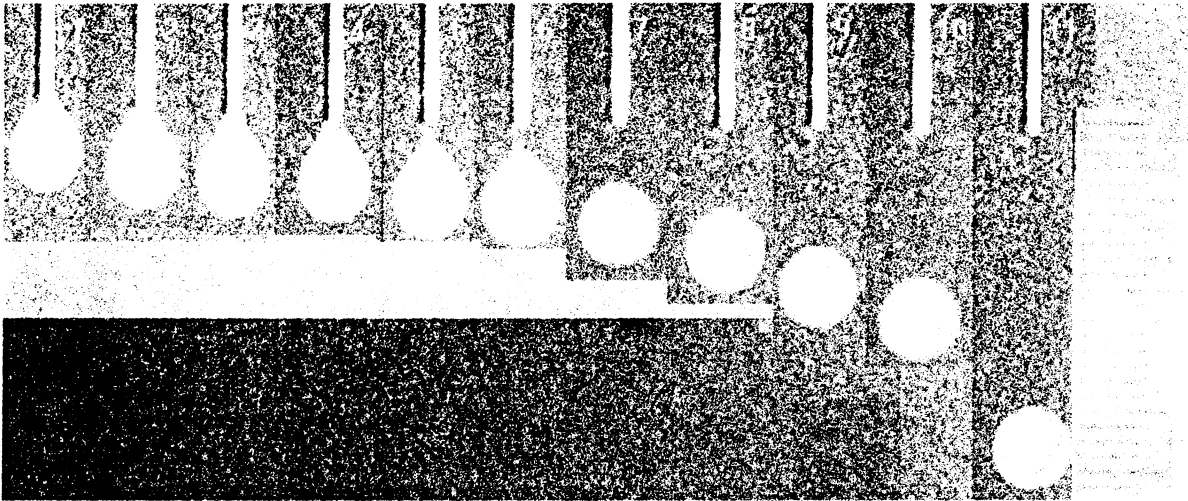


Figure 8. Pendant drop formed with Nasonex spray.
The filament has just broken at exposure 9.

A comparison of formed droplets with their associated filaments just before the filament breaks for the four sprays is given in Figure 9. As it was difficult to distinguish filaments from the background, a certain amount of photographic enhancement has taken place, including changing the colour, but the diameters and break-up configurations have been preserved. It is evident that very short filaments only were shown by each sample prior to break-up and the droplet falling freely under gravity.

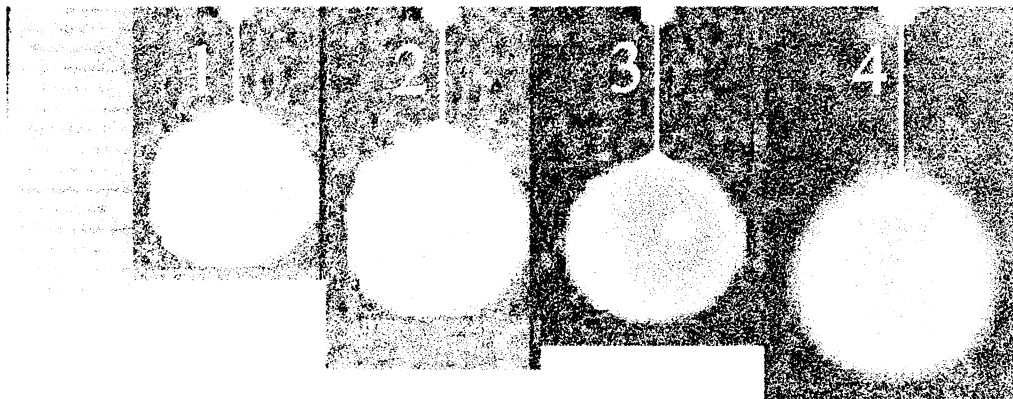


Figure 9. Formed droplets with associated filaments just prior to break.

This preliminary extensional flow data indicates that Nasonex gives the longest filaments, Nasacort and Flixonase are similar with intermediate lengths and Beconase gives the shortest filaments. Filament length, which is a good indication of extensional viscosity on which droplet size and break-up depend, increases in the same order as the lowest shear rate

(i.e. 10 s^{-1}) viscosities (c.f. Table 1). This is not unexpected, since at low strain rates for elastic fluids, and at all strain rates for Newtonian liquids, the extensional viscosity is three times the uniaxial extensional viscosity.

CONCLUSIONS

All the nasal spray suspensions were pseudoplastic and thixotropic to different degrees. There was insignificant irreversible deformation. Although the correlation of such in-vitro experiments with the in-vivo situation must be approached with extreme caution, the absence of significant thixotropic recovery at short times (5 minutes) implies that thixotropic recovery was not fast enough to confirm the commonly held belief that the immediate thickening of the suspension might cause a prolonged residence in the nasal cavity. The preliminary elongation data suggest that there are differences in extensional properties. These differences could be corroborated by a more detailed series of experiments using direct extensional viscosity measurements¹².

REFERENCES

1. Ostinelli, J., Bousquet, J. (1998) The effect of nasal steroids on general quality of life in seasonal allergic rhinitis. *J. Allergy and Clinical Immunology* **101** 1007-1009
2. La Force, C. (1999) The use of nasal steroids in managing allergic rhinitis. *J. Allergy and Clinical Immunology* **103** S388-S394
3. British Standard Glossary of Rheological Terms (BS 5168:1975)
4. Mewis, J. (1979) Thixotropy – a general review. *J. non-Newtonian Fluid Mechs.* **6** 1-20
5. Barnes, H. A. (1997) Thixotropy - A review. *J. non-Newtonian Fluid Mechs.* **70** 1-33
6. Cheng, D. C.-H. (1987) Thixotropy. *Intl. J. Cosmetic Sci.* **9** 151-191
7. Pena, L. E., Lee, B. L., Stearns, J. F. (1994) Secondary structural rheology of a model cream. *J. Soc. Cosmetic Chemists* **45** 77-84
8. Peramal, V. L., Tamburic, S., Craig, D. Q. M. (1997) Characterisation of the variation in the physical properties of commercial creams using thermogravimetric analysis and rheology. *Intl. J. Pharmaceutics* **155** 91-98
9. Hudson, N. E., Ferguson, J., Warren, B. C. H. (1990) Fluid failure mechanisms in stretching flows: extensional viscosity and complexation. In *Proceedings of the Third European Rheology Conference, Edinburgh*, Oliver, D. R. Ed., Elsevier Applied Science, London & New York, 229-231
10. Ferguson, J., Hudson, N. E., Warren, B. C. H. (1992) The break-up of fluids in an extensional flow field. *J. non-Newtonian Fluid Mechs.* **44** 37-54
11. Jones, W. M., Hudson, N. E., Ferguson, J. (1990) The extensional properties of M1 obtained from the stretching of a filament by a falling pendant drop. *J. non-Newtonian Fluid Mechs.* **35** 263-276
12. Ferguson, J., Hudson, N. E., Odriozola, M. A. (1997) The interpretation of transient extensional viscosity data. *J. non-Newtonian Fluid Mechs.* **68** 241-257

INFLUENCE DES PROPRIETES TECHNOLOGIQUES D'UN GRAIN SUR LES CARACTERISTIQUES D'UN COMPRIME A 5 MG DE GLIBENCLAMIDE

*A. Guellour-Boudoukha., **A. Hadj Sadok, *K. Guerrouache., *M. Nouas
* *Centre de Recherche et de Développement CRD- SAIDAL ALGERIE*
Groupe Pharmaceutique SAIDAL 35, Av. Youcef Benkhettab B.P. 09 El-Mohammadia
G.G. Alger 16000 ALGERIE Tel / Fax: 00 213 2 53 82 22 / 00 213 2 53 89 69
***Institut de Chimie industrielle Université de Blida , Route de Soumaa Blida 9000*
ALGERIE Tel / Fax: 00 213 3 43 36 31

I RESUME

L'optimisation mathématique de la formulation d'un comprimé à 5mg de Glibenclamide a été effectuée par l'application d'une variante de la méthode du Simplex séquentiel à 03 variables. Ces dernières représentent les 03 constituants principaux entrant dans la formule de ce comprimé (Lactose, Amidon de Maïs, Empois d'Amidon).

Grâce au traitement informatique des essais de compression effectués sur les grains, on obtient des informations qualitatives et quantitatives sur son aptitude à la compression. Par ailleurs, on a complété ces informations par la caractérisation technologique du Principe Actif ainsi que son influence rhéologique et extentionométrique sur le grain. (Ecoulement, tassement, Indice de Cohésion). On a montré que malgré la faible concentration du Principe Actif , de l'ordre de 3 %, dans le grain, celui-ci a modifié sensiblement leurs caractéristiques.

En effet, les propriétés de cohésion du grain ont diminué lors de l'introduction du principe actif. Enfin, on a simulé les réponses (Indice de Cohésion, taux de fines) en fonction des concentrations des excipients, ce qui a permis de visualiser les courbes d'iso-réponse et de délimiter graphiquement la surface optimale.

II INTRODUCTION

Le but de cette étude est d'utiliser une démarche logique [1] d'utilisation rationnelle de tous les moyens (plan d'expérience, instrumentation rationnelle des machines, analyse des données...), afin de construire de façon sûr et rapide une formule , qui répond aux objectifs fixés comme but à atteindre. Celle ci comporte 03 étapes successives : Préformulation , Formulation, Optimisation .

III PREFORMULATION

1) Données préliminaires et définitions des objectifs :

L'objectif de cette étude est la mise au point de la formule d'un hypoglycémiant oral, Glibenclamide comprimé, renfermant environ 3% de principe actif difficilement compressible. Les comprimés obtenus doivent avoir un temps de désagrégation inférieur à 15 min, une dureté

entre 2 et 5 kilopoids, une friabilité la plus faible possible mais toujours inférieure à 1%, ainsi qu'un pourcentage dissous en principe actif supérieur à 70% au bout de 45 min.

L'étude de Préformulation montre que :

- * Le principe actif possède des propriétés très médiocres vis à vis de l'écoulement ainsi qu'une mauvaise aptitude à la compression, avec un indice de cohésion, IC, très faible.
- * Il est nécessaire d'utiliser un régulateur d'écoulement, un lubrifiant antifriction et un lubrifiant anticollage, dont les quantités sont déterminées par étude rhéologique et extentiométrique [8].
- * Le délitant le mieux adapté est l'amidon de maïs à un pourcentage minimum de 5%, l'empois d'amidon comme liant ainsi que le lactose monohydraté comme diluant.

2) Fiche technique :

En complément de ces informations, nous établissons des fiches techniques [3] pour le principe actif et les excipients, sur lesquelles sont notées les résultats des analyses granulométriques et rhéologiques, ainsi que l'analyse du comportement à la compression sur machine instrumentée.

3) Caractérisation technologique :

Cette caractérisation [2], [4] comprend, l'étude des propriétés rhéologiques, des propriétés granulométriques et de l'aptitude à la compression des différents grains étudiés.

A Etude des propriétés rhéologiques :

- * temps d'écoulement t_{ec} (s) : C'est le temps nécessaire que met 100g de poudre à s'écouler à travers un entonnoir normalisé NF B 35032. Ce temps doit être inférieur à 10 s.
- * volume avant et après tassement : La mesure est réalisée au volumétre de tassement selon la norme NF T 51042, sur 100g de poudre, par lecture du volume après 10 tassements V_{10} (ml), puis après 500 tassements V_{500} (ml). La différence $V_{10} - V_{500}$ est calculée et doit être inférieure à 20 ml pour présager d'une alimentation régulière de la matrice.

B Etude des propriétés granulométriques :

L'analyse granulométrique est effectuée sur 100g de poudre à l'aide d'un jeu de tamis agité mécaniquement selon la technique décrite par la Pharmacopée Européenne 3^{ème} Edition, les tamis utilisés sont: 180 μm , 250 μm , 355 μm , 500 μm , 710 μm , 1000 μm , 1250 μm .

C Etude extentiométrique :

L'étude extentiométrique s'inspire des travaux du Professeur JC GUYOT [7],[8],[9],[10] et est effectuée à l'aide d'une machine alternative FROGERAIE OA, équipée de poinçons plats non chanfreinés de 11.28 mm de diamètre sur lesquels sont collés des jauges de contrainte. La profondeur de la chambre de compression est fixée à 1 cm et la vitesse de la machine est réglée à 1 comprimé par seconde à différents réglages afin de couvrir toute la plage des possibilités de duretés des comprimés obtenus.

Pour chaque essai, les paramètres mesurés au cours de la compression ainsi que les mesures effectuées sur 10 comprimés successifs sont : le poids, l'épaisseur, la dureté. Ces derniers sont stockés sur disquette. A l'aide du Logiciel COMP, il est possible de calculer un paramètre exténiométrique, indice de cohésion I.C., qui rend compte du rendement technologique d'un mélange.

$$IC = D/Y * 10^5$$

D : dureté exprimée en N.

Y : force mesurée au niveau du poinçon supérieur exprimée en N.

Après avoir prélevé les 10 comprimés d'étude, on continue la compression pour obtenir un échantillon plus important, d'environ 100 comprimés, sur lequel on détermine la friabilité, le temps de désagrégation, le temps de dissolution selon la Pharmacopée Européenne 3^{ème} édition.

IV FORMULATION

1) Choix des réponses :

Compte tenu des objectifs cités précédemment, nous retiendrons 03 réponses :

- Indice de cohésion :

L'indice de cohésion, rappelons-le, est le rapport, à coefficient près, de la force exercée pour lutter contre la résistance à l'écrasement du comprimé sur la force mesurée lors de la fabrication du même comprimé. Cet indice augmente lorsque la dureté des comprimés obtenus, pour une même pression, augmente. L'optimisation consiste à maximiser cet indice qui devra être le plus élevé possible. Dans notre cas, nous prendrons 2 niveaux de dureté et nous appellerons :

IC1 : l'indice de cohésion correspondant à une dureté des comprimés de 2 kilopoids.

IC2 : l'indice de cohésion correspondant à une dureté des comprimés de 5 kilopoids.

- Taux de fines :

La détermination de la fraction massique inférieure à 180 µm est réalisée sur chaque essai et est notée TF (%). Cette valeur ne doit pas excéder 20%.

2) Choix du process :

L'étude de préformulation apporte tous les éléments nécessaires au choix du process, à savoir, la granulation par voie humide [5]. Pour rendre possible la comparaison des différents essais, il est nécessaire de standardiser le protocole de fabrication du grain et des comprimés .

- * *Mélange des poudres*: le mélange à sec du principe actif, le Lactose et une partie de l'Amidon de maïs, est réalisé dans un mélangeur LÖDIGE de 1 kg pendant 10 minutes.
- * *Mouillage et malaxage*: le mélange est mouillé avec une solution d'empois d'Amidon et malaxé jusqu'à obtention d'un grain.
- * *Granulation* : la granulation est réalisée sur un granulateur oscillant FREWITT équipé d'une grille de 2.5 mm d'ouverture de maille.
- * *Séchage* : le séchage se fait par convection dans une étuve à plateaux GLATT, jusqu'à ce que l'humidité du grain mesurée à la thermobalance soit voisine de 6 % .
- * *Calibrage* : Le calibrage est effectué dans le même granulateur que précédemment équipé d'une grille de 1 mm.

- * *Lubrification* : La lubrification est obtenue en ajoutant 1.7 % de Talc, Stéarate de Magnésium et Aérosil 200 , dans un mélangeur TURBULA pendant 10 min.
- * *Compression* : le grain lubrifié est comprimé sur une compresseuse alternative FROGERAIS OA dont les poinçons plats de 11.28 mm de diamètre sont équipés de jauges de contrainte, comme expliqué précédemment.

V OPTIMISATION

Avant d'entamer l'optimisation, il est nécessaire de noter que la formulation ainsi que l'optimisation [6],[11] se feront sur des placebos, étant donné que le principe actif est faiblement présent dans la formule. Une fois la zone optimale délimitée, il sera nécessaire de vérifier l'influence du principe actif, même faiblement dosé, sur les propriétés rhéologiques et exténiométriques des différents mélanges.

1) Démarche :

- Utilisation d'un plan d'expérience permettant d'effectuer un minimum d'essai de formulation et surtout d'assurer l'obtention de la zone optimale pour chaque réponse ($IC1_{max}$, $IC2_{max}$ et TF_{min}).
- Détermination du domaine optimal, qui représente l'intersection des zones optimales des trois réponses utilisées.
- Etude de l'effet de l'introduction de principe actif sur les réponses, dans la zone optimale.

2) Définition du plan et du domaine expérimental :

Le plan d'expérience utilisé est une variante de la méthode du simplexe séquentiel. Cette méthode est basée sur l'élimination des mauvais points, et par voie de conséquence, on réduit le domaine expérimental. Pour atteindre la zone optimale, on se propose de modéliser (régression multilinéaire) la variation de chaque réponse en fonction de 07 points ($X1$, $X2$ et $X3$) choisis du domaine réduit. Ensuite, on simule les réponses mathématiquement et on représente leurs variations sous forme de courbes iso-réponses.

Le domaine expérimental (fig. 1) est déterminé grâce à la méthode du simplexe. Initialement, c'est un triangle qui est délimité par des arêtes représentant les axes des X_i ($X1+X2+X3=100$, $0 < X_i < 100$, $i=1 \dots 3$). En tenant compte de l'étude de préformulation, à savoir :

- * Lactose monohydraté ($X1$): est compris entre 45% et 87%.
- * Amidon de Maïs ($X2$): est compris entre 5% et 25 %.
- * Empois d'Amidon ($X3$): est compris entre 1% et 15%, cependant il n'est pas possible de réaliser des essais avec 15% d'amidon, pour

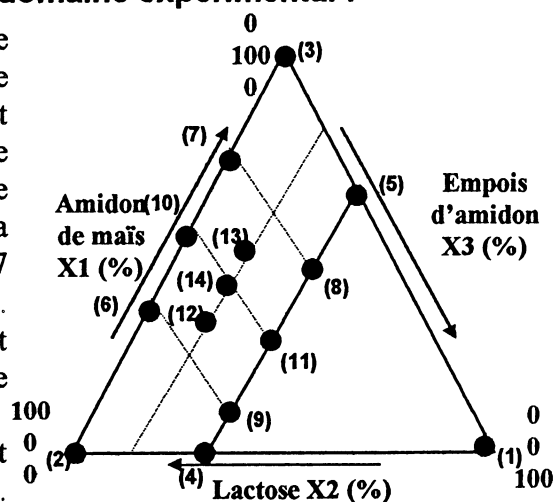


Figure 1 – Domaine expérimental

Tableau I –Matrice d'expérience.

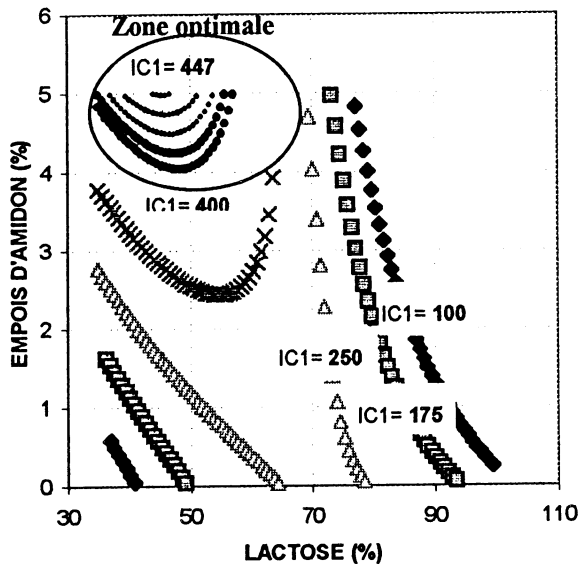
n° d'expérience	X1	X2	X3
2	100	0	0
3	0	100	0
4	95	0	5
5	0	95	5
6	75	25	0
7	25	75	0
8	20	75	5
9	75	20	5
10	50	50	0
11	50	45	5
12	60	37.5	2.5
13	35	62.5	2.5
14	50	47.5	2.5

réaliser la solution liante d'empois. La borne supérieure de X3 sera fixée à 5%.

Ce domaine sera réduit en un quadrilatère (points 2,3,4 et 5). Les points (6,7,.....14) ont été choisi dans ce dernier par raison de symétrie. (tableau 1).

3) Résultats et discussions

(a) Indice de cohésion à 2 Kp : IC1



La réponse IC1 est donnée en fonction de X1, X2 et X3 par l'équation suivante :

$$IC1 = 1.25X1 - 6.12X2 + 29.51X3 + 0.1688X1X2 - 1.436X1X3 + 0.33599X2X3 + 0.03648X1X2X3 \rightarrow (1)$$

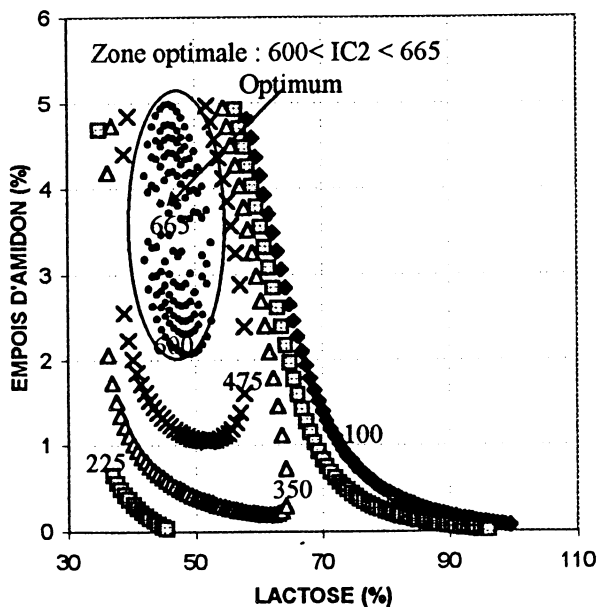
D'après le graphe ci-contre, IC1 varie entre 100 et 447. L'optimum est dans le domaine :

- Lactose X1 = [30 - 60] %
- Amidon de Maïs X2 = [38 - 60] %
- Empois d'Amidon X3 = [4 - 5] %

IC1 optimum = [400 - 447]

Figure 2 Courbes d'iso-IC1

(b) Indice de cohésion à 5 Kp : IC2



La réponse IC2 est donnée en fonction de X1, X2 et X3 par l'équation suivante :

$$IC2 = 1.86X1 - 6.46X2 - 1589.62X3 + 0.0197X1X2 - 0.012X1X3 + 3.9626X2X3 + 0.65355 X1X2X3 \rightarrow (2)$$

Le graphe ci-contre représente les courbes d'iso-IC2 en fonction des variations explicites de X1 et X3 et implicite de X2. L'optimum est dans le domaine :

- Lactose X1 = [42 - 52] %
- Amidon de Maïs X2 = [42 - 55] %
- Empois d'Amidon X3 = [2 - 5] %

IC2 optimum = [600 - 665]

Figure 3 Courbes d'iso-IC1

D'après les résultats obtenus, pour IC1 et IC2 (fig.2 et fig.3) il apparaît que la concentration optimale d'empois d'amidon n'est pas la même.

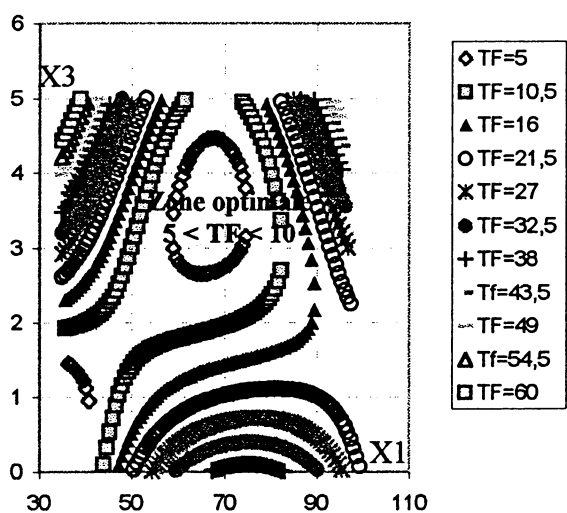
- Pour IC1 max → X3 optimum = 5 %
- Pour IC2 max → X3 optimum = 3.5 %

En effet, la concentration optimale en empois d'amidon est plus faible pour la réponse IC2, car la force de compression dans ce cas est plus importante, ce qui induit une cohésion des grains plus grande. De ce fait, la quantité de liant nécessaire pour assurer la cohésion est plus petite.

(c) Taux de fines TF (%) :

La réponse taux de fines est donnée en fonction de X1, X2 et X3 par l'équation suivante :

$$TF = 0.21X1 - 1.31X2 + 229.69X3 + 0.0304X1X2 - 2.344X1X3 - 1.536X2X3 - 0.01856X1X2X3 \rightarrow (3)$$



Le graphe ci-contre représente les courbes d'iso-TF en fonction des variations explicites de X1 et X3 et implicite de X2. L'optimum est dans le domaine :

- Lactose X1 = [42-52] %
- Amidon de Maïs X2 = [42-55] %
- Empois d'Amidon X3 = [2-5] %

TF optimum = [5 - 10] %

Figure 4 Courbes d'iso-Taux de fines

(d) Domaine optimal liant les trois réponses :

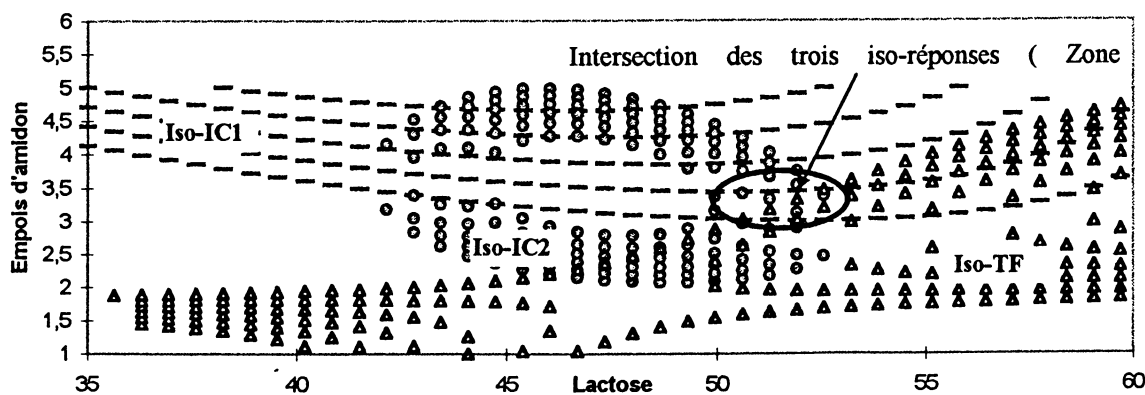


Figure 5 Courbes d'iso-réponses (domaine optimal)

On représente les courbes d'iso-réponses (fig. 5) correspondant à :

- IC1 : compris entre 400 et 440
- IC2 : compris entre 600 et 650
- TF : compris entre 5 et 10 %

L'intersection de ces courbes (ellipse) donne le domaine où le grain et le comprimé répondent aux objectifs cités précédemment. Le domaine optimal est :

Lactose X1 = [50 - 53] %
 Amidon de Maïs X2 = [45 - 45,8] %
 Empois d'Amidon X3 = [2,7 - 3,5] %

Dans ce domaine on choisit un point quelconque :
 X1 = 52 %
 X2 = 45 %
 X3 = 3 %

Les réponses théoriques, de ce point, calculées à partir des (03) trois modèles mathématiques (1), (2) et (3) sont :

IC1 = 373.28
 IC2 = 630.79
 TF = 11.81 %

La réalisation expérimentale de ce point et sa caractérisation rhéologique et exténiométrique donnent les réponses suivantes :

IC1 = 401
 IC2 = 640
 TF = 14.1 %

En comparant les résultats des paramètres caractéristiques expérimentaux et théoriques on remarque que les écarts sont relativement faibles :

$$\frac{\Delta IC1}{IC1} = 7\% \qquad \frac{\Delta IC2}{IC2} = 1.5\% \qquad \frac{\Delta TF}{TF} = 8.6\%$$

4) Influence de l'introduction du principe actif sur les réponses

Le principe actif est présent à environ 3 % dans la formule du comprimé de Glibenclamide, et possède de très mauvaises propriétés rhéologiques (écoulement infini, aptitude au tassement élevée) et exténiométriques (poudre non compressible avec un faible indice de cohésion).

L' introduction du principe actif dans la formule retenue à savoir :
 X1 = 52 %
 X2 = 45 %
 X3 = 3 %

Et l' étude de son éventuelle influence sur les paramètres caractéristiques sont représentées dans le tableau ci après :

Tableau 2 –Tableau comparatif

Réponse	Sans principe actif	Avec principe actif	Ecart relatif
IC1	401	372	7.2 %
IC2	640	534	16.5 %
TF	14.1 %	12.6 %	10.6 %

On remarque que l'introduction du principe actif (tableau 2) même à très faible dose a influencé sensiblement les 03 trois réponses (IC1, IC2, TF).

V CONCLUSION

Le présent travail a porté sur la formulation d'un hypoglycémiant oral contenant environ 3% de Glibenclamide.

La démarche utilisée à cet effet a permis en un nombre limité d'expériences de localiser une zone optimale du Simplex [12] où tout point de ce domaine peut être considéré comme formule probable, répondant aux objectifs fixés initialement.

Cependant , il est à rappeler qu'il existe d'autres méthodes [11], [13], [14] se basant sur les plans d'expériences, qui sont aussi performantes (Plackett Burman, Tagushi, matrice Composite...) que la méthode utilisée dans ce travail.

Le Centre de Recherche et de Développement du Groupe Pharmaceutique Algérien SAIDAL les a intégrées dans plusieurs de ses études de formulation (Gel, suspension , crème...) qui feront l'objet de présentations ultérieures.

VI REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 – J.C. Guyot, A.Delacourte, P.Leterme et P.Billardon, Utilisation des chaînes de mesure informatisées et des plans d'expérience dans la recherche et le développement des comprimés. STP.PHARMA.5(3) 168-175. 1989.
 - 2 – A.Salhi, A.Delacourte, J.C.Guyot, B.Boniface. Etude de paramètres de la granulation humide ; recherche d'un optimum technologique. Pharm.Acta.Helv.64. N°9-10. 1989.
 - 3– A.Delacourte-Thibaut, J.C.Guyot, M.Traisnel. Formulation technologique des comprimés. Etablissement de fiches techniques. Sci.Tech.Pharm. T.11, N°3, Mars 1982.
 - 4 – . M.TRAISNEL Technologie des poudres, Sci.Tech. Pharm-T.7-N°3-Mars 1978.
 - 5 – J.C.Jinot, F.Nevoux et M.Poncet. Optimisation de la granulation humide en mélangeur-granulateur à haute vitesse par mesure de la puissance consommée. I – Description de l'installation et essais préliminaires. STP.PHARMA 5(1) 12-21. 1989.
 - 6 – A.Pâna Romero, F.Nevoux, J.C.Jinot. Optimisation de la granulation humide en mélangeur - granulateur à haute vitesse par mesure de la puissance consommée. II – Optimisation statistique, STP.PHARMA 5(2) 88-95. 1989.
 - 7 – J.C.Guyot, A.Delacourte, M.Traisnel. Comment devait ou aborder la mise au point des comprimés. Sci.Tech.Pharm. T.9. N°10. Dec. 1980.
 - 8 – J.C.Guyot. Critères technologiques de choix des excipients de compression directe. Sci.Tech.Pharm. T.7. N°10. Dec. 1978.
 - 9 – . J.C.Guyot. A.Delacourte, B.Denise, M.Traisnel. Optimisation en technologie de compression Labo-Pharma. Problèmes et Techniques N°263, Mars 1977.
 - 10 – A. Stamm et C. Mathis. Etude de la compression des poudres. Annales pharmaceutiques Françaises 1975,33, N°12.pp.641.650.
 - 11– Dale.E. Fonner. S. Banker. Mathematical Optimization Techniques in Drug Product Design and Process Analysis. Vol 59, N°11, Novembre 1970, 1587-1596.
 - 12– N.O.LINDBERG, B.HOLMQUIST, Optimizing the friability of a tablet formulation Drug Development and Industrial Pharmacy, 13(6), 1063-1067 (1987).
 - 13 – Bindschaedler.C et Gurny.R. Optimisation de formulations pharmaceutiques par la méthode du simplex au moyen d'une calculatrice. TI. 59. Pharm.Acta.Helv. 57, 251-255. 1982.
 - 14 – P.Wehrlé, P.Nobelis, A.Stamm. Principales méthodes d'optimisation employées en génie pharmaceutique.
- II- Les méthodes d'optimisation proprement dites. STP.PHARMA.5 (10) 661-673. 1989.

RHEOLOGIE DES MELANGES DE GELUCIRE 50/02 ET 50/13. INFLUENCE DE LA VISCOSITE DES SUSPENSIONS SUR LA LIBERATION CONTROLEE DE LA PROXYPHYLLINE A PARTIR DE GELULES MATRICIELLES.

V. Ratsimbazafy¹, E. Bourret², R. Duclos³, C. Brossard¹

1 Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Pharmacie, 2 rue du Docteur Marcland, 87025 Limoges Cédex.

2 Laboratoire de Physique Moléculaire et Structurale, CNRS UMR 9921, Faculté de Pharmacie, 15, avenue Charles Flahaut, 34060 Montpellier Cédex.

3 Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Médecine-Pharmacie, avenue de l'Université, 76803 Saint Etienne du Rouvray Cédex.

Résumé :

Des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 de balances hydrophile-lipophile très différentes sont utilisés pour préparer des suspensions à 25% de proxyphylline et pour fabriquer des gélules à libération contrôlée. Les mélanges de Gélucire dépourvus de proxyphylline se révèlent légèrement épaississants alors que les suspensions de principe actif ont un comportement fluidifiant thixotrope. Les comportements rhéologiques varient en fonction de la composition chimique et de la proportion des deux Gélucire utilisés. Une corrélation entre viscosité relative des suspensions et efficacité de dissolution des gélules permet de préselectionner les formules à cinétique de libération potentiellement optimale, par simple détermination de la viscosité des suspensions.

1. INTRODUCTION

Les Gélucires sont des glycérides polyglycolysés saturés constitués de mélanges définis d'esters d'acides gras obtenus avec le glycérol et avec des polyéthylène glycols (PEG) [1]. Ils se présentent sous l'aspect de masses cireuses et sont destinés au remplissage à chaud des gélules par une suspension médicamenteuse qui se solidifie au refroidissement. Les Gélucire diffèrent par leur point de fusion et leur balance hydrophile-lipophile (HLB). Ces deux caractéristiques correspondent respectivement au premier et deuxième nombre du nom commercial. Ainsi, le Gélucire 50/13 est un excipient fondant à 50°C et présentant une valeur HLB de 13, c'est-à-dire une forte hydrophilie.

La libération optimale du principe actif n'est pas toujours obtenue par emploi d'un seul Gélucire. Une alternative possible consiste à utiliser un mélange de deux excipients de valeurs HLB suffisamment différentes, tels que les Gélucire 50/02 et 50/13 [2]. L'emploi de ces deux produits présente de plus l'intérêt d'éliminer l'influence du point de fusion de l'excipient [2]. Comme ces deux Gélucire ont des hydrophilies et des viscosités très différentes seuls ou en présence d'un principe actif très hydrosoluble comme la proxyphylline [3,4], une corrélation entre viscosité relative des suspensions de proxyphylline et libération à partir des gélules est recherchée à l'aide de mélanges, afin de préselectionner les formulations à cinétique de libération optimale potentielle par simple mesure de la viscosité des suspensions. Cette étude nécessite dans un premier temps d'envisager la rhéologie des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 avec ou sans proxyphylline incorporée. Certains auteurs mentionnent l'existence d'une corrélation entre la libération du principe actif à partir de matrices d'une part et la viscosité des suspensions de théophylline dans des PEG [5] ou de solutions de polymères hydrophiles [6-11], d'autre part. Un seul travail utilise cette relation pour optimiser la libération du principe actif [6].

2. MATERIAUX ET METHODES

Les Gélucires 50/02 et 50/13 (Gattefossé) sont employés comme excipients matriciels. Par mélange, ils permettent de couvrir une large gamme de HLB de 2 à 13 et ont un point de fusion supérieur à 40°C afin de constituer de réelles matrices ne fondant pas dans le tractus gastro-intestinal. Le Gélucire 50/02 contient peu de PEG au contraire du Gélucire 50/13. Le HLB des mélanges de Gélucire est déterminé selon la règle d'additivité des HLB (Tableau 1). Le principe actif utilisé est la proxyphylline (Sigma) dont la solubilité aqueuse à 25°C est de 0,601 g/cm³. Il se présente sous la forme d'une poudre fine dont les particules, observées au microscope optique, sont rectangulaires (4 µm x 30 µm).

Les comportements rhéologiques des Gélucire et des mélanges de Gélucire de HLB 2, 3, 6, 9 et 13, contenant ou non du principe actif (25%) sont déterminés à l'aide d'un viscosimètre à mobile tournant Rheomat 15 T Contraves, à la température de 80° C, par ajustement des rhéogrammes à la loi puissance de Ostwald et par estimation statistique des indices d'écoulement [3,4].

Après coulée dans des gélules de volume utile de 0,95 ml à l'aide d'une seringue, les suspensions solidifiées par refroidissement à la température ambiante sont observées au microscope électronique à balayage (Hitachi S 4000) après légère métallisation à l'or-palladium d'une épaisseur de 1 à 1,5 nm. La vitesse de libération de la proxyphylline à partir des gélules est étudiée dans l'eau distillée à 37°C, à l'aide d'un appareil à palette tournante Dissolutest (Prolabo) et le principe actif est dosé par spectrophotométrie UV à $\lambda = 273$ nm. Les cinétiques moyennes obtenues à partir de six essais permettent le calcul des efficacités de dissolution par la méthode des trapèzes. L'efficacité de dissolution à 8h correspond au rapport entre l'aire sous la courbe des pourcentages dissous en fonction du temps et l'aire du rectangle délimité par l'ordonnée 100% et l'abscisse $t = 8h$ [12]. La cinétique optimale prise en référence dans ce travail correspond à la libération d'une dose de 200 mg de proxyphylline à raison de 16 ± 2 % à $t = 1h$, 43 ± 5 % à $t = 4h$ et 73 ± 8 % à $t = 8h$. L'efficacité de dissolution correspondante est égale à 42 ± 5 % [12].

Tableau 1

Efficacité de dissolution (ED), viscosités apparente η_{app} et relative η_r à la vitesse de cisaillement $\gamma = 84,5 \text{ s}^{-1}$ des différentes formulations (η_o viscosité des mélanges de Gélucire purs)

Gelucire(%)		HLB	η_o (mPa.s)	η_{app} (mPa.s)	η_r	ED (%)
50/02	50/13					
100	--	2	14.7	430	29.3	13.9
90.9	9.1	3	16.7	296	17.7	26.0
63.6	36.4	6	22.6	298	13.2	46.6
36.4	63.6	9	30.9	348	11.3	66.1
--	100	13	47.5	410	8.6	77.0

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Comportements rhéologiques

3.1.1. Mélanges de Gélucire

La Fig.1 représente les rhéogrammes obtenus et le Tableau 2 mentionne les indices d'écoulement correspondants.

Tableau 2
Indices d'écoulement des différentes formulations

HLB	mélanges de Gélucire purs	suspensions de proxiphylline
2	1.05 ± 0.01	0.23 ± 0.02
3	1.05 ± 0.01	0.26 ± 0.03
6	1.03 ± 0.01	0.34 ± 0.04
9	1.01 ± 0.01	0.34 ± 0.04
13	1.007 ± 0.004	0.38 ± 0.05

Les Gélucire 50/02 et 50/13 et leurs mélanges ont un comportement légèrement épaississant. Ce comportement s'atténue lorsque la valeur HLB du mélange augmente. Cela provient du fait que la réorganisation des particules sous l'effet du cisaillement est plus difficile lorsque le taux de PEG, donc lorsque l'hydrophilie du mélange du Gélucire, augmente [3]. Un tel comportement légèrement épaississant a déjà été mis en évidence dans le cas des excipients pour suppositoires [13,14], des béhénates de polyols [15] et de tous les Gélucire [3]. Toutefois, pour ces derniers, certains auteurs n'observent qu'un comportement newtonien [15]. D'autres travaux révèlent également un comportement newtonien pour des excipients cireux utilisés dans le remplissage à chaud de gélules [17-19].

La viscosité apparente du mélange de Gélucire (Tableau 1 et Fig. 2) augmente avec le HLB du mélange, également à cause de l'encombrement stérique créé par les chaînes de PEG. Elle suit, avec un coefficient de corrélation $r = 0,999$, une équation de la forme :

$$\ln \eta_o = 0,106 \text{ HLB} + 2,486 \quad \text{Eq.1}$$

où η_o est la viscosité apparente à la vitesse de cisaillement $\gamma = 84,5 \text{ s}^{-1}$ et HLB la balance hydrophile-lipophile du mélange de Gélucire.

3.1.2. Suspensions de proxiphylline

Ces suspensions ont un comportement fluidifiant thixotrope (Fig. 3) dû à la formation d'agrégats peu stables en raison de l'hydrosolubilité du principe actif [4]. Un tel comportement est également trouvé pour des suspensions de principes actifs dans des excipients pour suppositoires [13] ou dans des cires destinées à remplir des gélules [15,19,20]. Sauf dans un cas [19], une faible thixotropie est toujours observée.

La viscosité relative des suspensions diminue lorsque la valeur HLB augmente (Tableau 1 et Fig. 4). Ce phénomène peut être expliqué par l'augmentation de l'affinité du principe actif hydrosoluble pour le corps gras lorsque l'hydrophilie du mélange de Gélucire croît. La taille des particules colloïdales baisse tandis que leur nombre s'élève de même que la viscosité apparente de la suspension. Au contraire, la viscosité relative diminue car la viscosité apparente du mélange de Gélucire augmente dans le même temps. Cette microstructure est confirmée par observation au microscope électronique des suspensions solidifiées (Fig.5) et à déjà été démontrée pour les Gélucire 50/02 et 50/13 utilisés séparément [4] et pour les béhénates de polyols [15].

3.2. Corrélation entre viscosité des suspensions et libération de la proxiphylline

La libération de la proxiphylline s'accélère lorsque la valeur HLB du mélange de Gélucire 50/02 et 50/13 augmente (Tableau 1 et Fig. 6). Sauf pour la valeur HLB 13, de réelles matrices sont obtenues. Elles sont récupérées plus ou moins érodées de HLB 9 à 2 à la fin de l'essai de dissolution. La valeur HLB 6 donne une formulation optimale (Tableau 1).

Il existe une corrélation entre la viscosité relative de la suspension et l'efficacité de dissolution de la gélule, obtenue avec un coefficient de corrélation $r = 0,989$ (Fig.7). Elle suit l'équation :

$$\ln ED = -1,495 \ln \eta_r + 7,662 \quad \text{Eq. 2}$$

La viscosité relative des suspensions permet donc de prédire la libération à partir des gélules. Pour $ED = 42 \pm 5\%$, efficacités de dissolution optimales, l'équation 2 donne les valeurs suivantes de la viscosité relative : $\eta_r = 13,9 \pm 1,1$. Or, il existe également une corrélation entre la viscosité relative et la valeur HLB du mélange, obtenue avec un coefficient de corrélation $r = 0,978$ (Fig. 7) :

$$\ln \eta_r = -0,594 \ln HLB + 3,673 \quad \text{Eq. 3}$$

Le HLB optimal peut donc être calculé et il est en l'occurrence de $5,8 \pm 0,8$. Cela correspond à des formulations renfermant $34,6 \pm 7,2\%$ de Gélucire 50/13 dans le mélange d'excipients.

4. CONCLUSION

Les mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 dépourvus de proxiphylline se révèlent légèrement épaississants alors que les suspensions de principe actif ont un comportement fluidifiant thixotrope. Les comportements rhéologiques varient en fonction de la composition chimique et de la proportion des deux Gélucire utilisés, le Gélucire 50/13 renfermant plus de chaînes de PEG par rapport au Gélucire 50/02. Dans le cas des suspensions, le comportement fluidifiant thixotrope est dû à la formation d'agrégats peu stables en raison de l'hydrosolubilité du principe actif. Une libération contrôlée du principe actif est obtenue avec tous les mélanges. La libération est d'autant plus rapide que le HLB du mélange de Gélucire croît, en raison d'une érosion plus importante du contenu des gélules. Une corrélation entre viscosité relative des suspensions et efficacité de dissolution des gélules permet de préselectionner les formules à cinétique de libération potentiellement optimale, par simple détermination de la viscosité des suspensions.

5. REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la société Gattefossé pour le don généreux des Gélucire 50/02 et 50/13 utilisés.

6. REFERENCES

- [1] V. Ratsimbazafy, C. Brossard, Les Gélucire et le ralentissement de la libération des principes actifs, *STP Pharma Prat.* 1 (1991) 335-349.
- [2] A.M. Mouricout, D. Gerbaud, C. Brossard, D. Lefort des Ylouses, Gélules à matrice semi-solide de Gélucire : lyodisponibilité et étude structurale, *STP Pharma* 6 (1990) 368-375.
- [3] E. Bourret, V. Ratsimbazafy, L. Maury, C. Brossard, Rheological behaviour of saturated polyglycolysed glycerides, *J. Pharm. Pharmacol.* 46 (1994) 538-541.
- [4] V. Ratsimbazafy, E. Bourret, C. Brossard, Effect of formulation on the rheology of theophylline compound suspensions in Gelucires, *J. Pharm. Pharmacol.* 49 (1997) 852-857.
- [5] D. Gaudy, C. Ortigosa, M. Jacob, A. Puech, Corrélation entre viscosité et lyodisponibilité de gélules pâteuses : cas des polyéthylènes glycols, *Proc. Int. Conf. Pharm. Technol. Paris, APGI*, 5 (3) (1989) 179-189.
- [6] F. Joly, C. Brossard, Mise au point et développement d'une matrice hydrophile de théophylline. I. Caractéristiques physiques et mécaniques des matériaux et optimisation de la formulation, *STP Pharma* 3 (7) (1987) 556-568.
- [7] L.S.C. Wan, P.W.S. Heng, L.F. Wong, Relationship between polymer viscosity and drug release from a matrix system, *Pharm. Res.* 11 (1992) 1510-1514.

- [8] M.C. Bonferoni, S. Rossi, F. Ferrari, M. Bertoni, R. Sinistri, C. Caramella, Characterization of three hydroxypropylmethylcellulose substitution types: rheological properties and dissolution behaviour, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 41 (1995) 242-246.
- [9] M.J. Vázquez, J.J. Gómez-Amoza, R. Martinez-Pacheco, C. Souto, A. Concheiro, Relationships between drug dissolution profile and gelling agent viscosity in tablets prepared with hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) and sodium carboxymethylcellulose (NaCMC) mixtures, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21(1995) 1859-1874.
- [10] T. Ozeki, H. Yuasa, Y. Kanaya, K. Oishi, Application of the solid dispersion method to the controlled release of medicine. VIII. Medicine release and viscosity of the hydrogel of a water-soluble polymer in a three-component solid dispersion system, *Chem. Pharm. Bull.* 43 (1995) 1574-1579.
- [11] H. Hamdani, R. Acquier, E. Fabregue, H. Maillols, Hydroxypropyl celluloses: processus de dissolution des comprimés et comportement rhéologique en régime dynamique des solutions, *STP Pharma Sci.* 6 (1996) 353-357.
- [12] V. Ratsimbazafy, E. Bourret, C. Brossard, Drug release from matrix tablets and minitables containing glycerides, *Pharm. Ind.* 58 (1996) 442-446.
- [13] J.L. Fabregas, Softening of semisynthetic suppository bases, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 17 (1991) 1083-1096.
- [14] M.V. Margarit, I.C. Rodriguez, A. Cerezo, Rheological study of rectal formulations of sodium valproate, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18 (1992) 79-92.
- [15] R. Duclos, E. Bourret, C. Brossard, Rheology of polyol behenates and drug release from matrix monolithic capsules, *Int. J. Pharm.* 182 (1999) 145-154.
- [16] W. Sutananta, D. Q. M. Craig, J. M. Newton, An investigation into the effects of preparation conditions and storage on the rate of drug release from pharmaceutical glyceride bases, *J. Pharm. Pharmacol.* 47 (1995) 355-359.
- [17] A.R. Hawley, G. Rowley, W.J. Lough, S. Chatham, Physical and chemical characterization of thermosoftened bases for molten filled hard gelatin capsule formulation, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18 (1992) 1719-1739.
- [18] N.H. Shah, W. Phuapradit, H. Ahmed, Liquid /semi solid filling in hard gelatin capsules : formulation and processing considerations, *Bull. Tech. Gattefossé* 89 (1996) 27-37.
- [19] G. Rowley, A.R. Hawley, C.L. Dobson, S. Chatham, Rheology and filling characteristics of particulate dispersions in polymer melt formulations for liquid fill hard gelatin capsules, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24 (1998) 605-611.
- [20] T. Baykara, N. Yüksel, The preparation of prolonged action formulations in the form of semi solid matrix into hard gelatin capsules of oxprenolol .II.Thixocap method, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18 (1992) 233-243.

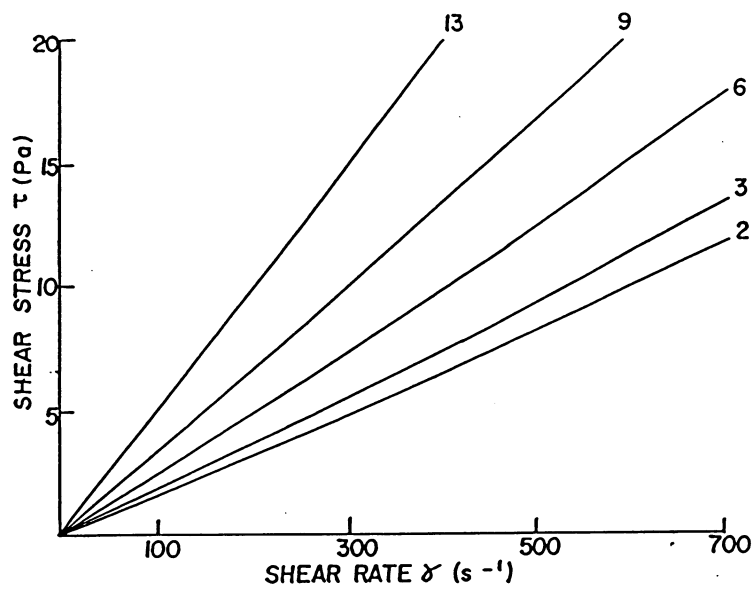


Fig.1 Influence du HLB sur le comportement rhéologique des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13.

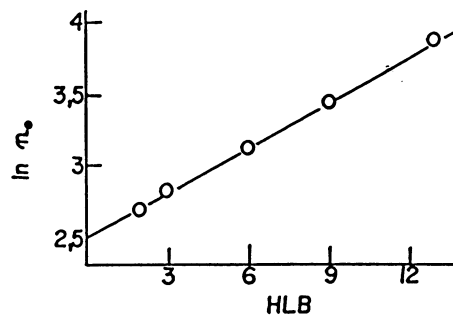


Fig.2 Influence du HLB sur la viscosité apparente η_0 des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13.

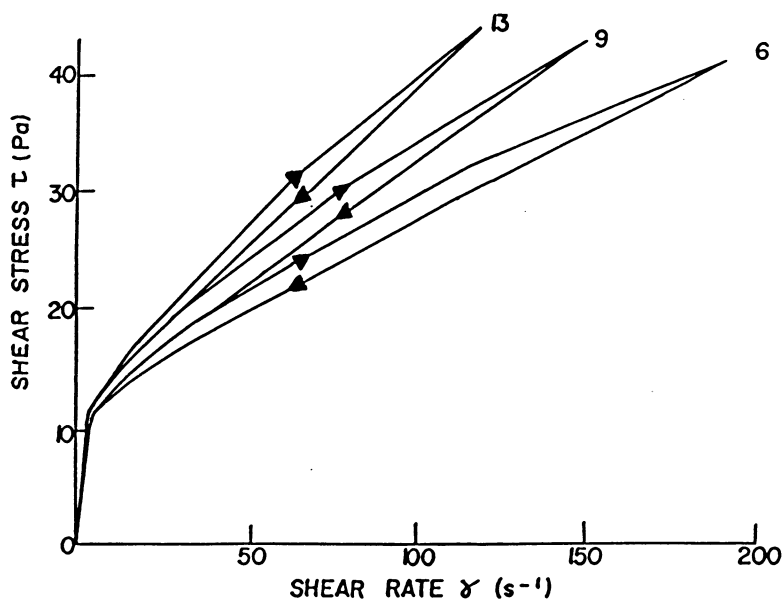
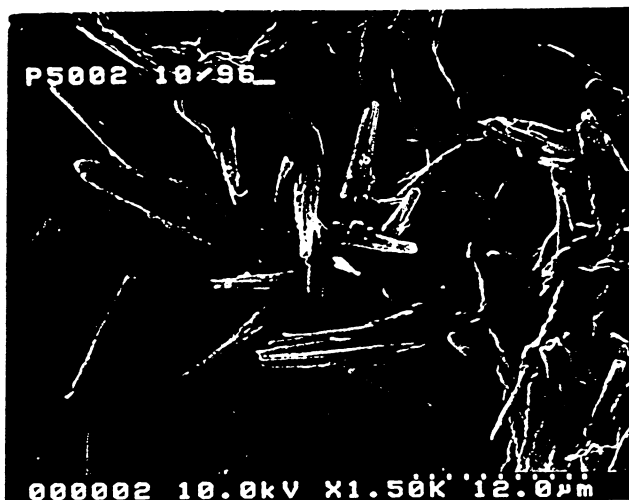
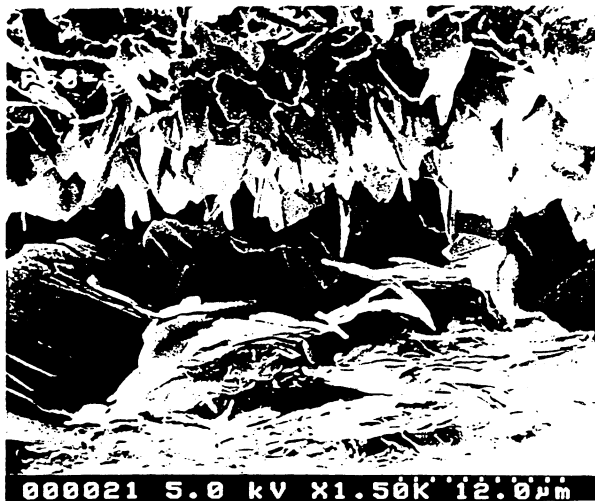
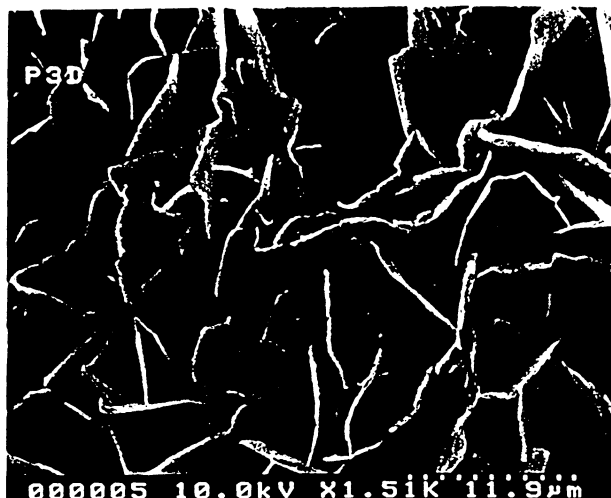


Fig.3 Influence du HLB des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 sur le comportement rhéologique des suspensions de proxyphylline.

2

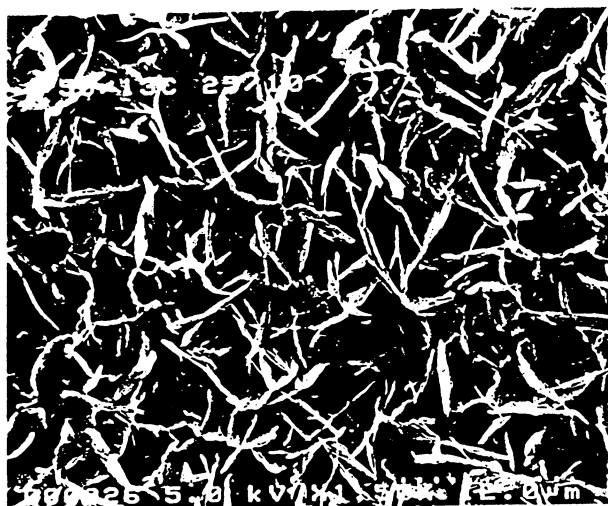


3



6

9



13

Fig.5 Influence du HLB des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 sur la microstructure des suspensions solidifiées de proxiphylline observées au microscope électronique à balayage.

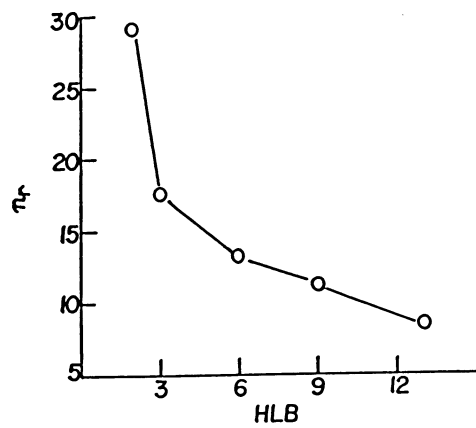


Fig.4 Influence du HLB des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 sur la viscosité relative des suspensions de proxyphylline.

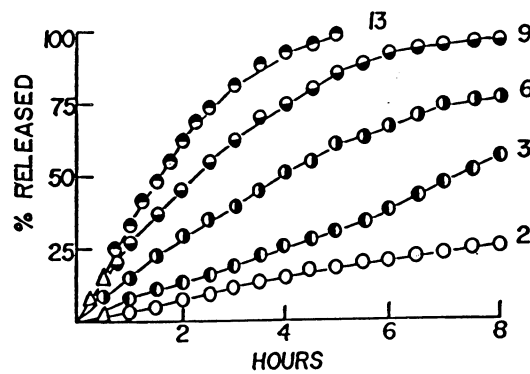


Fig.6 Influence du HLB des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13 sur la libération de la proxyphylline à partir des gélules.

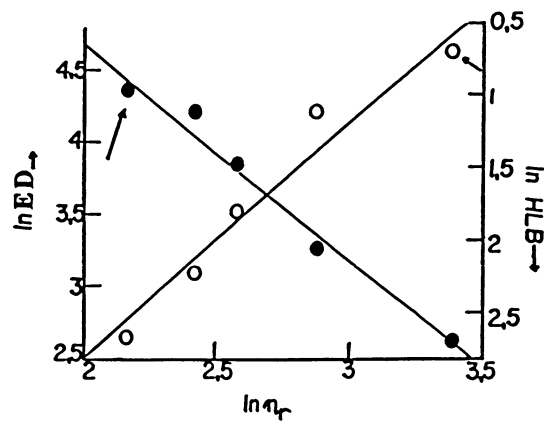


Fig.7 Corrélations entre viscosité relative η_r des suspensions, efficacités de dissolution ED des gélules de proxyphylline et HLB des mélanges de Gélucire 50/02 et 50/13.

EXPERIMENTAL ANALYSIS OF SEDIMENTATION KINETICS OF CONCENTRATED SUSPENSIONS IN A CENTRIFUGAL FIELD. FLUX DENSITY AND VISCOSITY FUNCTION

Lerche, D., Frömer, D., Bouton, J.*
L.U.M. GmbH, Rudower Chaussee 29, D-12489 Berlin, Germany
e-mail: lerche@lum-fta.berlin.de

*Rheo s.a., 99 route de Versailles, F-91160 Champlan, France
e-mail: Bouton@rheo.fr

Résumé: Le processus de sédimentation est étudié par la théorie cinématique des ondes de choc, et décrit théoriquement par la résolution de l'équation différentielle partielle quasi linéaire à une dimension, basée sur la fonction viscosité/écoulement vis à vis de la concentration volumique. Les cinétiques de sédimentation de suspensions de sphères rigides ont été étudiées au moyen d'un nouvel analyseur de séparation (LUMifuge 114). Cet instrument détecte automatiquement la lumière transmise sur la totalité de la longueur de la cuvette. L'analyseur détermine automatiquement, au moyen d'un algorithme particulier, la position de l'interface entre le surnageant et la suspension ou le sédiment. On a observé, pour des suspensions de différentes concentrations volumiques, une très bonne correspondance entre les vitesses de sédimentation observées expérimentalement et les prédictions théoriques obtenues à partir des propriétés des matériaux.

1. INTRODUCTION

Many investigators have studied the sedimentation of dispersed particles in dependence on volume concentration under the influence of gravitation or in the centrifugal field (cp. Steintour 1944, Kynch 1952). Beside the Stokes' law this process is governed by the interaction of a single particle with other particles which was described by different proposed empirical corresponding viscosity, hindrance or flux density function, respectively. Anestesis and Schneider (1983) developed a theory for the separation of a suspension of monodispersed spheres in the centrifugal field based on the well known mixture fluid model by including the Kynch-Theory of kinematic waves and shocks. The experimental justification of these approaches and taken restrictions of neglectable Coriolis effect, influence of container walls as well as diffusion effects however are rather rare due to methodical difficulties and time consuming experimental procedure. The aim of this study was to show whether or not the separation process may be described by the above theory for a tube with constant cross section rotating around an axis normal to the tube one. Experimentally this problem was approached by means of a new analytical centrifuge, investigating the sedimentation kinetics for suspensions of rigid microspheres. During centrifugation this device automatically detects the light transmission over the total length of the sample by an optical line-sensor. Based on these data, the analyser determines the temporal variation of the local position of the interface particle free fluid/suspension or sediment by a special algorithm.

2. THEORETICAL DESCRIPTION

Anestis and Schneider considered the separation process of a suspension consisting of an incompressible fluid with density ρ_C and viscosity μ_C , respectively, and solid spheres of uniform radius a and density ρ_D . The volume fraction (concentration) of the particles is α and their volume flux density is j_D in opposite to the volume flux of fluid phase j_C .

The suspension is filled in a container of constant cross section rotating around an axis normal to the tube axis with constant angular velocity Ω . We assume the gravitational field to be negligible in comparison to the centrifugal one. The particle movement in the vertical and azimuthal direction is not taken into account.

The system's characteristic velocity is given by the velocity of a single sphere moving through stationary rotating container due to Stokes' law

$$U_o = \frac{2}{9} \varepsilon \frac{a^2}{\nu} \Omega^2 R_o, \quad (1)$$

with $\varepsilon = \frac{\rho_D}{\rho_C} - 1$ being the density parameter of the suspension, $\nu = \frac{\mu_C}{\rho_C}$ the kinematic

viscosity of the particle-free fluid and R_o the outer radial position of the suspension (cp. Fig. 1). We introduce dimensionless variables (written in *italic* letters) by referring all lengths and radial co-ordinates to the suspension's outer radius R_o , all fluxes to U_o and the time t to R_o/U_o .

$$r = \frac{r}{R_o}, \quad j = \frac{j}{U_o}, \quad t = \frac{t U_o}{R_o} = \frac{t}{T} \quad (2)$$

with $T = \frac{R_o}{U_o}$ being the characteristic time of the system.

The volume flux density of particles follows the relation (cp. Ungarish 1993, chapt. 2.5)

$$j_D = r \Phi(\alpha), \quad (3)$$

with $\Phi(\alpha)$ being the flux function and neglecting the equation of momentum balance with its terms regarding advection, viscous, Coriolis and diffusion stress effects.

The volume flux function $\Phi(\alpha)$ is directly related to the suspension viscosity function $\mu(\alpha)$ by

$$\Phi(\alpha) = \frac{\alpha(1-\alpha)^2}{\mu(\alpha)}. \quad (4)$$

The function $\mu(\alpha)$ describes an apparent (or effective) dimensionless viscosity μ regarding the increase of "global resistance to flow or internal frictions" due to particle interactions. A relation of the form

$$\mu = \mu(\alpha) = (1 - \alpha)^{-n} \quad (5)$$

is often used where n is a positive constant.

Using the assumptions of the mixture fluid model we obtain (Frömer 1998)

$$\frac{\partial \alpha}{\partial t} + r \Phi'(\alpha) \frac{\partial \alpha}{\partial r} = -\Phi(\alpha). \quad (6)$$

This equation is a quasilinear partial differential equation of first order describing the sedimentation process of particles in a fluid underlying a centrifugal acceleration. Equ. (6) may be solved by the method of characteristics using the system of ordinary differential equations. Details of the complicated processes are described elsewhere (cp. Anestis 1981, Anestis and Schneider 1983, Frömer 1998).

3. EXPERIMENTAL SETUP

The basis of the PC controlled separation analyser (LUMiFuge 114, L.U.M. GmbH, Berlin) is an especially developed centrifuge (Lerche et al. 1996, www.lum.fta-berlin.de). It consists of a rotor with drive, a parallel light source system, an CCD line sensor, and equipment for rotor position control, drive control and data transfer, respectively. Up to eight samples per run may be centrifuged with maximum rotor speed N of approx. 3000 rpm and centrifugal acceleration

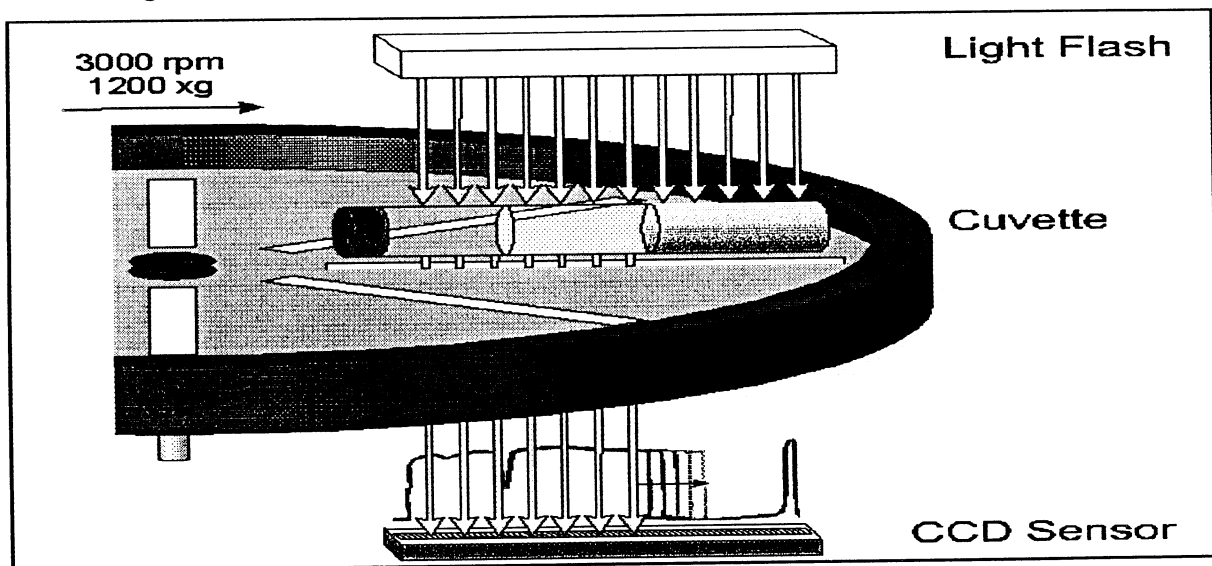


Fig. 1 Schematic illustration of measuring principle of LUMiFuge 114.

of 1200xg at suspension's outer position. Different types of sample holders may be positioned in radial direction on the rotor. Rotor slits allow the optical projection of the samples' plane on the CCD line sensor. Every single sensor element generates a voltage proportional to the light transmission of corresponding sample area.

The complete measuring process is controlled by PC software. The user may set the data for centrifugal acceleration, sampling rate, and measuring time via PC. Already during measurement, the PC displays the temporal alteration of transmission profiles on the screen. By means of these original data, the software determines both the position of interface between particle free fluid and suspension or sediment, respectively, corresponding with the shock position $r = R_{\Sigma} = R_{\Sigma}(t)$ and the position of interface between suspension and air, corresponding to the suspension's inner position $r = R_i$. Finally, the resulting sedimentation time course is displayed on the screen. This time course may be plotted either in absolute radial co-ordinates or by referring all radial co-ordinates to the characteristic length of the

system $r = R_o$ by dimensionless co-ordinates $r = \frac{r}{R_o}$. According to

$$\alpha_0 = \alpha_{\max} \frac{1 - r_{\text{end}}}{1 - r_i} \quad (7)$$

the initial particle volume concentration α_0 may be calculated in case of rigid particles using the stationary end position r_{end} .

4. RESULTS

According to section 2, the influence of particle volume concentration on the sedimentation process is of particular interest. Therefore, first experiments were carried out for suspensions of various particle concentrations α ($0.05 \leq \alpha \leq 0.47$), while using the same angular velocity of the centrifuge $\Omega = 127,4 \text{ s}^{-1}$. Using the material parameters of the especially prepared rigid spherical particles (radius $a = 2.67 \pm 0.13 \text{ }\mu\text{m}$; density $\rho_D = 1110 \pm 1 \text{ kg m}^{-3}$) and the suspension medium (density $\rho_c = 1011 \pm 1 \text{ kg m}^{-3}$; viscosity $\mu_c = 0.99 \pm 0.04 \text{ mPas}$), the value $T = 389 \pm 54 \text{ s}$ for the time transformation factor can be calculated (equ. (2)).

In order to compare the experimental to the theoretical separation time course, it is necessary to determine the correct form of the volume flux function $\Phi(\alpha)$ or the viscosity function $\mu(\alpha)$ according to the equations (4) and (5). The application of this procedure (cp. Frömer 1998) for suspensions of various volume concentrations α delivers a data set which is the basis for determining both the exponent n of the viscosity function $\mu(\alpha)$ and the time transformation factor T by fitting the data (cp. Fig. 2).

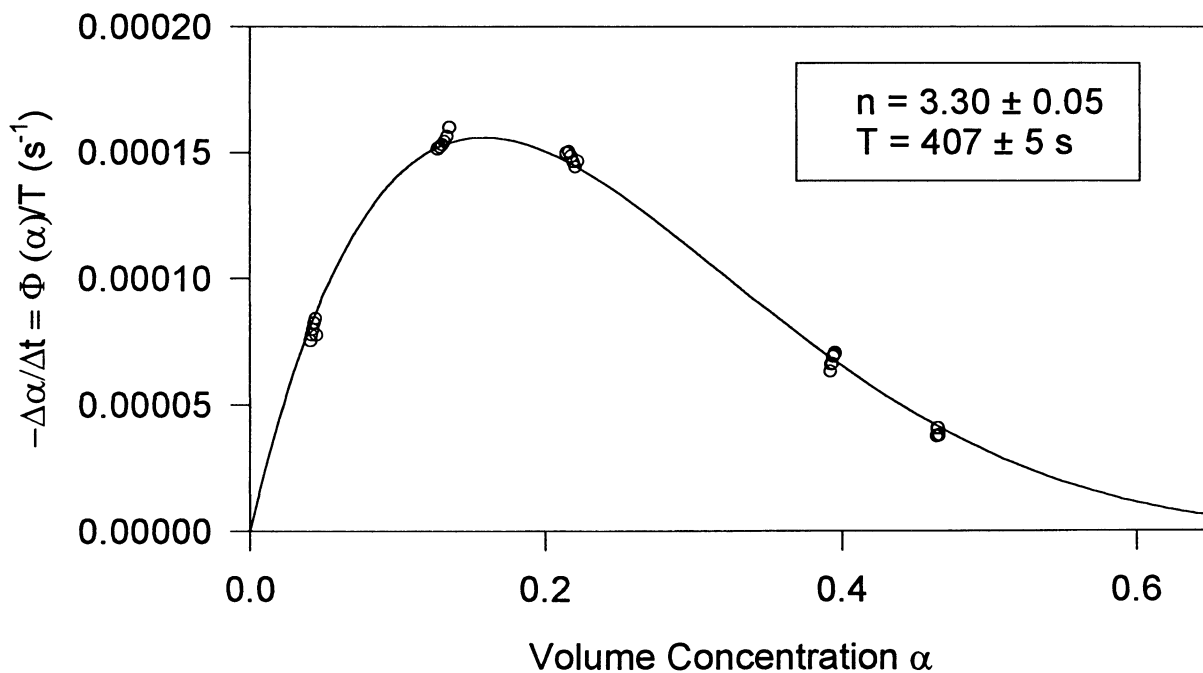


Fig. 2. Flux function $\Phi(\alpha)$ for sedimentation of rigid spherical particles at angular velocity

$\Omega = 127,4 \text{ s}^{-1}$. Fit to the relation $-\frac{\Delta\alpha}{\Delta t} = \frac{\Phi(\alpha)}{T} = \frac{1}{T} \frac{\alpha(1-\alpha)^2}{\mu(\alpha)}$ and the viscosity function $\mu(\alpha) = (1-\alpha)^n$.

Best fit was established when using the value $\alpha_{\max} = 0.65$ for the maximum volume concentration in the sediment region. As a result, we found the exponent of the viscosity function $\mu(\alpha)$ to be $n = 3.30 \pm 0.05$ and the time transformation factor to be $T = 407 \pm 5$ s. These experimentally determined values by analysing the sedimentation time courses is in good coincidence to the one calculated by means of the above-mentioned parameters $T = 389 \pm 54$ s. Finally, by means of the parameters T and n we calculated the theoretical sedimentation time courses for any investigated volume concentration α . Fig. 3 illustrates the comparison of experimentally to theoretically determined time courses.

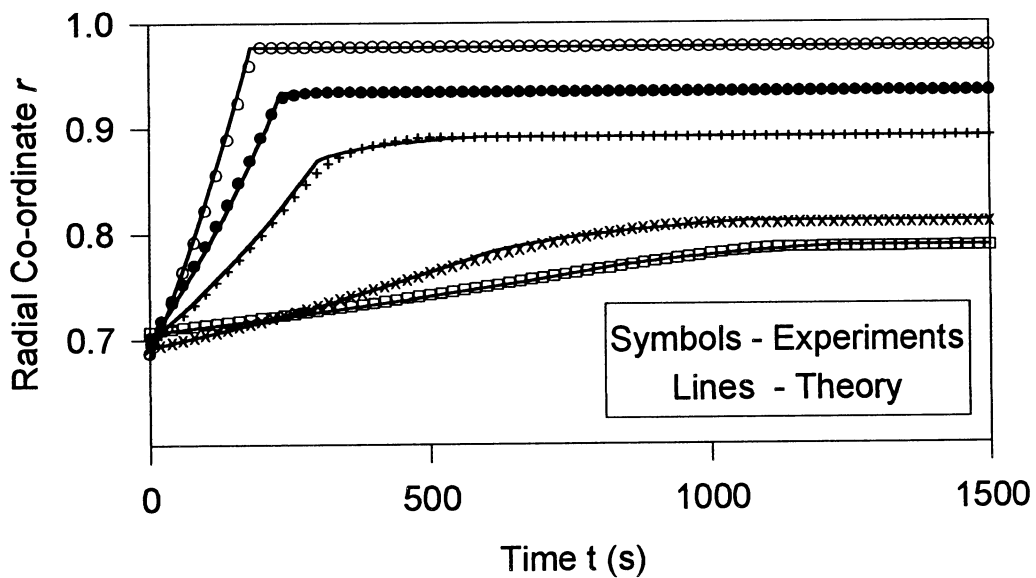


Fig. 3: Sedimentation of rigid spheroid particles in the centrifugal field (angular velocity $\Omega = 127.4 \text{ s}^{-1}$) in dependence on volume concentration: 0,05 (o); 0,14 (•); 0,23 (+); 0,40 (x) bzw. 0,47 (□). Comparison of experimentally to numerically determined data.

Further experiments were carried out in order to investigate the influence of angular velocity W on the sedimentation process. For this set of experiments a different lot of sphered rigid cells were used to prepare 11 suspensions with values of particle volume concentration $0.15 < \alpha < 0.42$. Sedimentation experiments with these spheres were carried out for angular velocities $90 \text{ s}^{-1} < \Omega < 349 \text{ s}^{-1}$. Results of sedimentation are shown in Fig. 4. According to the equations (2), a proportionality between T and $1/\Omega^2$ is to be expected. In Fig. 5 one can see the coincidence of this assumption that the separation time courses of identical suspensions with equal volume concentrations α and equal inner suspension radius r_i may only differ in the time the transformation factor T for these experiments described above. This

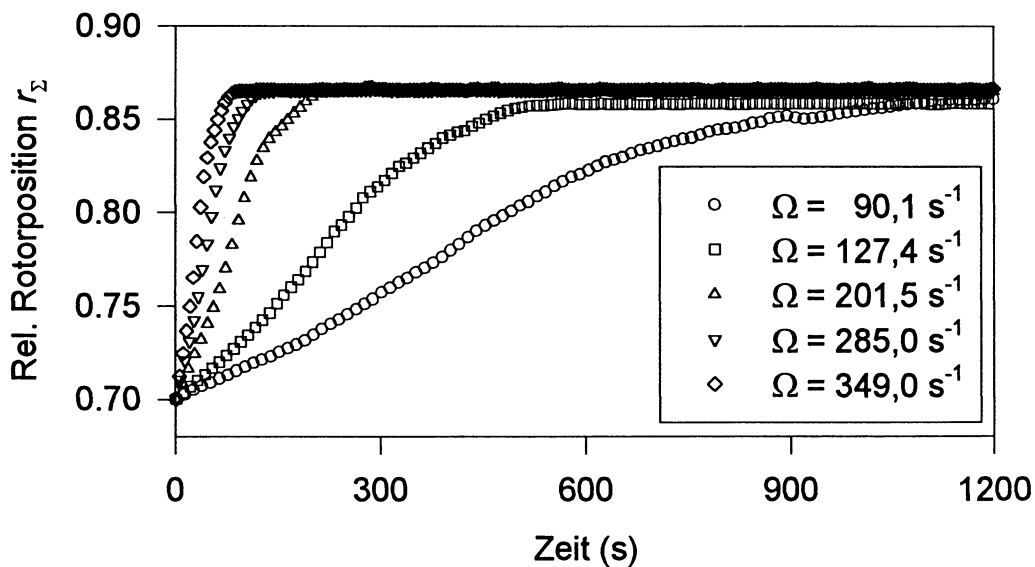


Fig. 4 Time course of sedimentation of suspended rigid spheres in dependence on angular velocity.

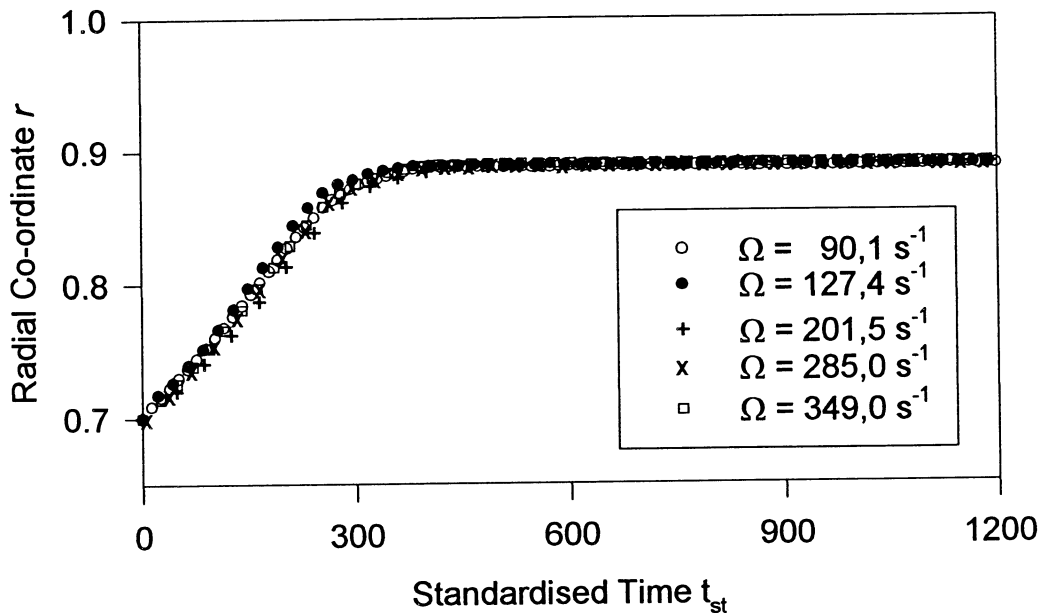


Fig. 5 Sedimentation time course of rigid spherical particles ($\alpha = .34$) in dependence on angular velocity Ω . Standardisation of time axis by means of $t_{st} = t \Omega^2 / (127.4 \text{ s}^{-1})^2$.

According to the equations (2), a proportionality between T and $1/\Omega^2$ is to be expected. In Fig. 5 one can see the coincidence of this assumption that the separation time courses of identical suspensions with equal volume concentrations α and equal inner suspension radius r_j may only differ in the time transformation factor T for the experiments described above. This result confirms the justification of the assumption made in section 2. Furthermore, it was calculated (Frömer 1998) that the relative values of terms affecting the momentum balance of the suspension are in the order of: 10^{-8} for advection, 10^{-10} for viscosity, 10^{-4} for Coriolis and 10^{-9} for diffusion.

5. CONCLUSION

It may be concluded from our presented data that in case of rotating a suspension of rigid spheroid particles in containers of constant cross section, there is coincidence between the theory of kinematic shocks and waves developed by Anestis and Schneider and the results of our sedimentation experiments (cp. Fig. 3, 5). Especially, it could be shown that there is good coincidence between experiments and theory although a restrictive one-dimensional model was used to theoretically established sedimentation time courses in order to compare them to the experimentally driven ones.

Furthermore, in this study an algorithm was developed allowing the experimental determination of the viscosity and related flux density function for any suspension. For the future, this gives the opportunity to investigate in detail rheological behaviour of different suspended rigid spheres with respect to a broad range of Reynold's numbers by varying density of particles, density and viscosity of fluid or varying the angular velocity Ω of the centrifuge. On the other hand, the method introduced here gives the possibility to investigate a

wide range of suspensions. As will be described elsewhere (Frömer and Lerche 1999) there have been already obtained results concerning the deformability and cell-cell interaction of red blood cells by means of the separation analysis. Furthermore, suspensions of polydisperse particles may be investigated in order to compare experimental results to the models recently established (Ungarish 1995).

Acknowledgements- The study in part was supported by the German Federal Ministry BMWi (project BSG-Standard 764/98) and the foundation Deutsche Forschungsgemeinschaft (project Le 734/1-2).

6. REFERENCES

- ANESTIS, G. 1981 Eine eindimensionale Theorie der Sedimentation in Absetzbehältern veränderlichen Querschnitts und in Zentrifugen. PhD thesis. Technical University Vienna
- ANESTIS, G. & SCHNEIDER, W. 1983 Application of the theory of kinematic waves to the centrifugation of suspensions. *Ingenieur-Archiv* **53**, 399 - 407
- FRÖMER, D. 1998 Experimentelle und theoretische Untersuchungen zum Sedimentationsverhalten von Erythrozyten im Gravitations- und Zentrifugalfeld. PhD thesis, Humboldt-University Berlin, Shaker Verlag Aachen
- FRÖMER, D., LERCHE, D. 1999 Aggregation and deformation of RBC determined by kinematic wave description of centrifugal separation in a finite cylinder – theory and experiment. *Biorheology* **36**, 194
- KYNCH, G. J. 1952 A theory of sedimentation. *Trans. Faraday. Soc.* **48**, 166 - 176
- LERCHE, D., PENSE, TH., FRÖMER, D., STROWICH, ST. 1996 A new opto-electronic system to evaluate sedimentation and packing in a centrifugal field.
In: Proc. 3rd Eurolab Symp. NW — Verlag für neue Wissenschaft, Bremerhaven
- STEINOUR, J. H. 1944 Nonflocculated suspensions of uniform spheres.
Ind. Eng. Chem. **36**, 618
- UNGARISH, M. 1993 Hydrodynamics of Suspensions. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg,
- UNGARISH, M 1995 On the modelling and investigation of polydispersed rotating suspensions.
Int. J. Multiphase Flow **21**, 267 - 284

ETUDE RHEOLOGIQUE D'UN GEL THERMOSENSIBLE CONTENANT DES LIPOSOMES DESTINE A L'ADMINISTRATION OCULAIRE DE MEDICAMENT.

Amélie Bochot, Elias Fattal, Patrick Couvreur, Jean Louis Grossiord.
UMR 8612, Faculté de Pharmacie, 5 rue J. B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry,
Université Paris XI, France.

Résumé :

Afin d'obtenir un système réservoir de médicament permettant d'accroître la rétention de principes actifs au niveau de l'œil et de contrôler leur libération dans le temps, il a été envisagé de concevoir un système galénique original constitué d'une dispersion de liposomes dans un gel thermosensible de poloxamer 407. Dans cette étude, les propriétés rhéologiques du poloxamer 407 à 27% w/v à +10°C et +37°C en absence et en présence de liposomes ont été caractérisées. A +10°C le poloxamer a un comportement Newtonien alors qu'il présente un comportement plastique lorsque la température est de +37°C. Il a été montré que la dispersion de liposomes dans une préparation de poloxamer 407 à 27% ne modifiait pas les propriétés rhéologiques du polymère et cela pour 2 formulations différentes de vésicules et 2 concentrations différentes.

Dans le cas des affections superficielles de l'œil, l'administration des médicaments est effectuée par simple instillation. Un des objectifs principaux de la recherche en thérapeutique ophtalmologique consiste à accroître le temps de contact entre les topiques instillés et/ou appliqués sur l'œil et les épithéliums cornéen et conjonctival, car les différents procédés couramment utilisés à ce jour, (solutions, suspensions et pommades ophtalmiques), quoique actifs, sont trop rapidement éliminés avec le liquide lacrymal (Doanne *et al.*, 1978). Des améliorations obtenues par l'emploi de systèmes réservoirs de type "insert" et de mini pompes, ont permis de prolonger de façon significative l'effet thérapeutique de principes actifs. Cependant, ces formes ont vu leur intérêt décroître en raison de problèmes d'inconfort et donc d'observance chez de nombreux patients.

Dans le cas des affections profondes de l'œil, l'administration topique ne permet pas la pénétration des principes actifs dans les tissus postérieurs du globe oculaire. Les traitements sont réalisés par des injections sous-conjonctivales ou intravitréennes. Toutefois, les administrations de ce type ne peuvent pas être répétées fréquemment, car elles sont susceptibles d'induire des lésions tissulaires importantes. Ce travail s'inscrit dans une stratégie qui vise à améliorer l'efficacité des médicaments destinés aux traitements des affections de l'œil en développant une forme pharmaceutique originale agissant comme un réservoir de médicament.

L'encapsulation de molécules actives dans des liposomes (vecteurs colloïdaux lipidiques de type vésiculaire d'un diamètre de 50 nm à quelques micromètres), permet dans certaines conditions, d'améliorer leur biodisponibilité, de réduire leur toxicité tissulaire et d'augmenter leur temps de résidence à la surface de l'œil ou à l'intérieur du vitré (Stjernschantz *et al.*, 1993). Afin d'améliorer la rétention des liposomes à la surface de la cornée ou à l'intérieur du vitré, selon la voie d'administration choisie, nous avons envisagé de disperser les liposomes dans un gel thermosensible de poloxamer 407. Le poloxamer 407 est un copolymère d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène capable de passer de l'état liquide à l'état gel, par simple augmentation de la température pour des concentrations comprises entre 20% et 30% et des températures de transition sol-gel supérieures à 18°C (Lenaerts *et al.*, 1987). Ainsi, le système gel de liposomes pourrait être administré sous forme de gouttes oculaires à la surface de l'œil ou bien encore injecté sous forme liquide directement dans le vitré. La gélification *in situ* du système devrait aboutir à un système réservoir de médicament.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a consisté à :

- établir des courbes d'écoulement du gradient de vitesse en fonction de la contrainte imposée afin de caractériser les propriétés rhéologiques du poloxamer 407 à 27% w/v à +10°C et +37°C (en-dessous et au-dessus de la température de transition de sol-gel) ;
- étudier l'influence de la présence de liposomes au sein des préparations de poloxamer sur les propriétés d'écoulement de ces dernières dans les mêmes conditions expérimentales.

Pour cette étude, nous avons utilisé du poloxamer 407 (Lutrol F127®) offert par BASF de la phosphatidylcholine de soja (PC, Lipoid KG, Ludwischafen, Germany), de la 1,2 - distéaroyl - sn - Glycero - 3 Phosphatidyléthanolamine - N - [Poly(éthylène glycol) - 2000] (DSPE-PEG, Avanti Polar Lipids, Birmingham, AL, USA) et du cholestérol (CHOL, Sigma Chemical Cos, S^t Louis, MO, USA).

Des préparations de poloxamer 407 à 27% ont été fabriquées par la méthode à froid décrite par Schmolka (1972) dans un tampon HEPES/NaCl 10 mM/145 mM. Ces préparations ont été conservées 24 heures à +4°C avant la réalisation des essais. Les préparations obtenues sont transparentes et incolores.

Des liposomes multilamellaires de 200 nm de diamètre ont été fabriqués selon la méthode d'hydratation du film décrite par Bangham *et al.* (1965). La dispersion des liposomes dans les préparations de poloxamer 407 a été effectuée sous agitation magnétique à +4°C. Les mesures ont été effectuées 24 heures après la dispersion. Deux formulations de liposomes ont été étudiées (PC: CHOL rapport molaire 70/30) et dans le but de stabiliser ces liposomes au contact du gel de poloxamer 407, de la distéaroylphosphatidyléthanolamine (DSPE) couplée de façon covalente à du polyéthylène glycol (PEG) a été ajoutée à la formulation précédente (PC: CHOL: DSPE-PEG rapport molaire 64/30/06). Dans ce cas, le PEG est présent à la surface des vésicules. L'étude de l'influence de la concentration en liposomes dans le gel (2 mM et 12 mM) a également été envisagée.

Un rhéomètre Carri-Med CSL 100 (Rheo, Champlan, France) avec une géométrie cône-

plateau a été utilisé. Le diamètre du cône était de 4 cm et l'angle du cône de 2°.

A +10°C, les rhéogrammes étaient composés de 3 parties :

- dans la première partie, la contrainte de cisaillement a été augmentée de façon continue sur une période de 2 minutes jusqu'à ce qu'une valeur de 40 N. m⁻² soit atteinte ;
- dans la seconde partie, les échantillons ont été soumis à une contrainte de cisaillement constante pendant 2 minutes ;
- dans la troisième partie, la contrainte de cisaillement a été diminuée de façon continue sur une durée de 4 minutes de sa valeur maximale à zéro.

A +37°C, les rhéogrammes étaient composés de 3 parties :

- dans la première partie, la contrainte de cisaillement a été augmentée de façon continue sur une période de 4 minutes jusqu'à ce qu'une valeur de 400 N. m⁻² soit atteinte
- dans la seconde partie, les échantillons ont été soumis à une contrainte de cisaillement constante pendant 2 minutes.
- dans la troisième partie, la contrainte de cisaillement a été diminuée de façon continue sur une durée de 4 minutes de sa valeur maximale à zéro.

A +10°C, les préparations de poloxamer 407 sont à l'état de « sol » et ont présenté un comportement Newtonien, ce qui signifie que la viscosité est indépendante de la contrainte de cisaillement et du temps (Figure 1). La viscosité de ces préparations était de 41 mPa (Tableau I). L'introduction de liposomes dans les préparations n'a eu aucun effet sur le comportement rhéologique et la viscosité du poloxamer 407 et cela pour les 2 formulations et les 2 concentrations de liposomes étudiées.

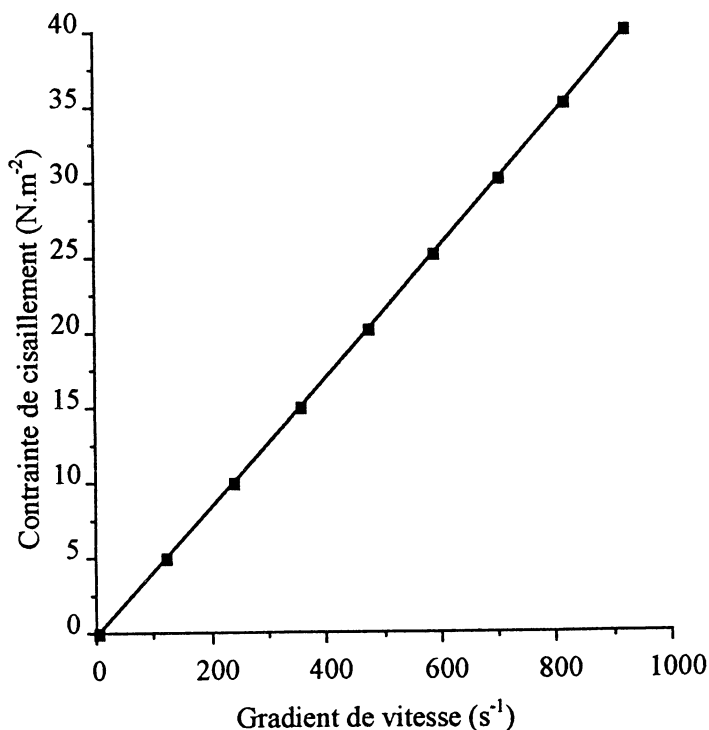


Figure 1. Rhéogramme d'une préparation de poloxamer 407 à 27% (■) à +10°C.

Tableau I: Mesures de viscosité des préparations de poloxamer 407 à 27% à +10°C en présence et en absence de liposomes (n =3)

Formulations	viscosité (mPa.s)
poloxamer	43.7 ± 0.30
poloxamer + PC: CHOL 2 mM	43.7 ± 0.05
poloxamer + PC: CHOL 12 mM	43.2 ± 0.20
poloxamer + PC: CHOL: DSPE-PEG 2 mM	43.3 ± 0.05
poloxamer + PC: CHOL: DSPE-PEG 12 mM	41.9 ± 0.00

A +37°C, c'est à dire après la gélification, les courbes d'écoulement sont caractérisées par un comportement rhéofluidifiant avec un seuil d'écoulement important (Fig. 2).

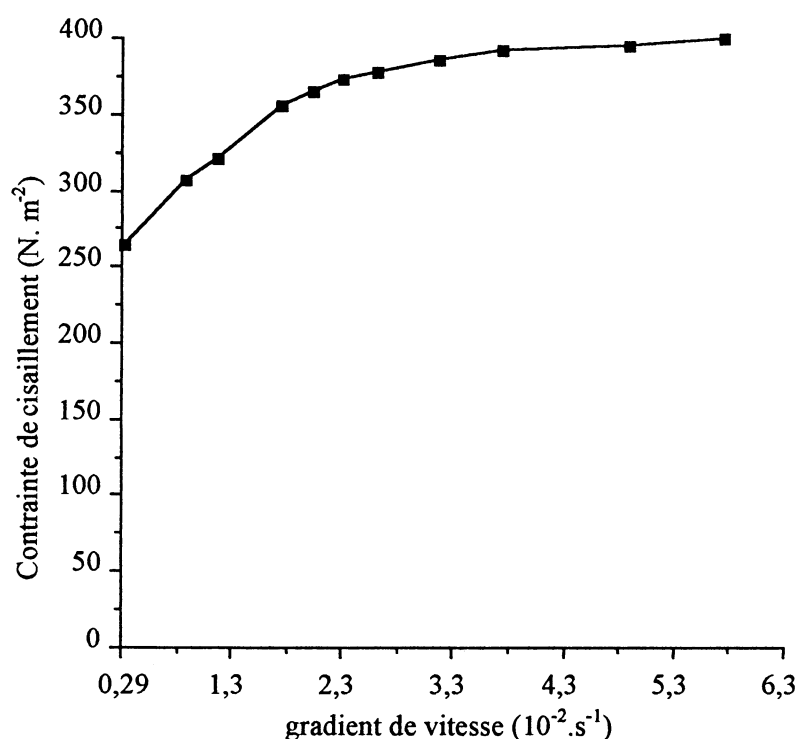


Figure 2. Rhéogramme d'une préparation de poloxamer à 27% (■) à 37°C.

A l'aide du logiciel Carri 50 une modélisation de ces courbes a été effectuée. Le modèle retenu a été celui d'Herschel-Bulkley dont l'expression de l'équation est la suivante :

$$\tau = \tau_0 + K D^n$$

τ et τ_0 représentent respectivement la contrainte de cisaillement et le seuil d'écoulement.

D correspond au gradient de vitesse, K à l'index de consistance et n à l'indice de gradient.

Le comportement plastique des préparations contenant du poloxamer 407 à 27% est caractérisé par un seuil d'écoulement τ_0 élevé de 240 N. m⁻² et un indice de consistance K de 671 ± 30 SI (Tableau II). La dispersion de liposomes dans les préparations de poloxamer ne modifie pas le comportement rhéologique des gels (Tableau II).

Table II. Paramètres de l'équation d'Herschel-Bulkley à partir des préparations de poloxamer à 27% contenant (n = 3) ou non des liposomes (n= 8).

Formulations	τ_0 (N.m ⁻²)	K (SI)	n
poloxamer	240 ± 21	671 ± 30	0.15 ± 0.006
poloxamer + PC: CHOL 2 mM	270 ± 16	657 ± 37	0.16 ± 0.02
poloxamer + PC: CHOL 12 mM	250 ± 35	637 ± 75	0.14 ± 0.03
poloxamer + PC: CHOL: DSPE-PEG 2 mM	240 ± 3	663 ± 32	0.15 ± 0.01
poloxamer + PC: CHOL: DSPE-PEG 12 mM	240 ± 13	655 ± 9	0.15 ± 0.003

En conclusion, les résultats obtenus à +10°C et +37°C ont montré que la viscosité du poloxamer 407 n'était pas modifiée en présence de liposomes en dessous (+10°C) et au-dessus (+37°C) du point de gélification de ce dernier. Ainsi, la thermosensibilité de ce polymère a été conservée après introduction des liposomes et cela quelles que soient les concentrations utilisées. De même, la présence de PEG à la surface des liposomes n'a pas conduit à des modifications des propriétés des préparations. Le maintien de la thermosensibilité du poloxamer en présence de liposomes est particulièrement intéressant pour l'administration oculaire car un tel système devrait offrir aux patients et aux praticiens à la fois une simplicité d'utilisation, mais également une augmentation du temps de contact de la préparation au site d'administration et une libération contrôlée du principe actif encapsulé dans les liposomes.

Références

- Bangham, A. D., Standish, M. M. and Watkins, J. C., Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *J. Mol. Biol.*, **13** (1965) 238-252.
- Doanne M.G., Jensen A.D. and Dohlman C.H. Penetration routes of topically applied eye medications. *Am. J. Ophthalmol.*, **85**, 383-386, 1978.
- Lenaerts V., Triqueneaux C., Quarton M., Rieg-Falson F. and Couvreur P. Temperature-dependent rheological behavior of Pluronic F-127 aqueous solutions. *Int. J. Pharm.*, **39**, (1987) 121-127.
- Schmolka, I.R., Artificial skin I. Preparation and properties of Pluronic F-127 gels for treatment of burns., *J. Biomed. Mater. Res.*, **6** (1972) 571-582.
- Stjerschantz J. and Astin M. Anatomy and physiology of the eye. Physiological aspects of ocular drug therapy. In: *Biopharmaceutics of ocular drug delivery.*, Eds. C.R.C. Press, Boca Raton (1993) 1-25.

ETUDE DES PROPRIETES RHEOLOGIQUES DES PATES DE FARINE DE VARIETES PURES DE BLE PAR COMPRESSION UNIAXIALE

Bornes N., Surel, O., Kleiber, D. et Couplet, B.
Laboratoire d'Agrophysiologie de l'ESAP.
75, voie du TOEC, 31076 TOULOUSE CEDEX 3

Résumé :

Nous avons étudié l'influence de quatre agents modifiants sur la pâte de farine de cinq variétés de blé ayant des caractéristiques rhéologiques différentes. Les quatre agents modifiants : l'acide ascorbique (100-300ppm), le β mercaptoéthanol (0.1mM), le SDS (0.5-2%) et l'urée (1-4M) provoquent, aux concentrations étudiées, une augmentation de la fermeté de la pâte et une augmentation de l'élasticité de la pâte (excepté pour le β mercaptoéthanol). L'acide ascorbique et le SDS accentuent les différences rhéologiques entre les cinq variétés.

Abstract :

We have studied the influence of four modifying agents on flour dough of five wheat varieties which have various rheological features. The four modifying agents : ascorbic acid (100-300ppm), β mercaptoethanol (0.1mM), SDS (0.5-2%) and urea (1-4M) induce an increase of dough firmness and an increase of dough elasticity (except for β mercaptoethanol). Ascorbic acid and SDS emphasize rheological dissimilarities between the five varieties.

INTRODUCTION

Lors du pétrissage, l'eau et la farine se mélangent intimement pour former une pâte. On obtient deux phases continues, la phase gluténique contenant le réseau complexe de gluten et la phase liquide contenant les granules d'amidon libres et les composés solubles (Eliasson et Larsson, 1993). Le gluten, qui a un rôle majeur dans la qualité technologique du pain, est essentiellement composé de gliadines et gluténines associées entre elles pour former un réseau. Les gluténines forment des ponts disulfures intramoléculaires et intermoléculaires à l'aide des groupements -SH des cystéines. Ces liaisons covalentes sont renforcées par des liaisons hydrophobes faibles obtenues à partir des acides aminés hydrophobes et par des liaisons hydrogènes. Par contre les gliadines ne peuvent pas former de ponts disulfures intermoléculaires : elles s'agrègent grâce à des liaisons hydrogènes et hydrophobes entre elles (Shewry et al., 1986) et avec les gluténines (Branlard et al., 1992). Lors du pétrissage, certains ponts disulfures sont rompus mécaniquement, ils libèrent des groupements -SH pouvant se lier de nouveau à d'autres molécules (Danno et Hosney, 1982). En ajoutant des agents modifiants, cette réorganisation des liaisons est bouleversée et d'autres phénomènes interviennent.

Certains agents modifiants sont des additifs, comme l'acide ascorbique qui influence les réactions d'échange -SH/S-S. D'autres agents sont utilisés en biochimie pour leur action spécifique sur les ponts disulfures (β mercaptoéthanol), sur les liaisons hydrophobes (SDS : sodium dodécyl sulphate) ou sur les liaisons hydrogènes (urée). Ces agents ont

beaucoup été étudiés, à fortes doses, pour leur capacité à solubiliser les protéines du gluten (Gao et Bushuk, 1992).

Dans cette étude, nous avons comparé des pâtes de farine de différentes variétés de blé dont les réseaux protéiques ont des structures différentes, grâce à une machine de traction/compression. Les agents modifiants (acide ascorbique, β mercaptoéthanol, SDS et urée) ont été ajoutés aux pâtes pour étudier la modification de la texture des pâtes afin de tester si l'appareil est sensible à ces modifications.

MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL

- *Pétrin de l'alvéographe MA 82 (Chopin, France)*

Il permettait le pétrissage de la pâte et son extrusion. De forme sigmoïde, le bras du pétrin tournait à une vitesse de 60 ± 1 rotations par minute. L'encoche de l'extrusion était de 50 ± 1 mm de largeur et d'environ 5,5 mm de haut. Un système de thermostatation de l'appareil maintenait une température de 20°C. La chambre isothermique de l'alvéographe, maintenue à 24°C, était utilisée pour le repos des pâtons.

- *Machine d'essais (Texturomètre TA500 (Lloyd, France))*

Les pâtons étaient déposés sur un plateau inférieur carré de dimension 100 mm X 100 mm. La sonde de pénétration était un cylindre de un pouce supporté par un capteur de 10N. Le traitement des données était réalisé à l'aide du logiciel Windows R Control (version 1.3) (Lloyd, France).

2. PRODUITS UTILISES

- *Farines utilisées (Gers-Farine, France)*

Cinq farines de blé provenant de la récolte 1998, ont été testées. C'étaient des farines de variétés pures de blé : Amélio, Soissons, Galibier, Courtôt et Camp Rémy.

- *Agents modifiants*

Quatre agents modifiants différents étaient utilisés à plusieurs concentrations : l'urée (Prolabo, France) à 1M et 4M, le SDS (Merck, Allemagne) à 0,5% et 2% poids/volume, l'acide ascorbique (Prolabo, France) à 100ppm et 300ppm et le β mercaptoéthanol (Sigma, Allemagne) à 0,1mM. Les concentrations finales dans la pâte étaient : urée (33,5mM et 134mM/100g de pâte), SDS (0,17 et 0,7% poids SDS/poids pâte), acide ascorbique (33,5 et 100,5ppm) et β mercaptoéthanol (3,4 μ M/100g de pâte).

- L'eau utilisée est de l'eau minérale en bouteille plastique (Evian) et l'huile, une huile commerciale (Isio 4, Lesieur).

3. PREPARATION DE LA PATE DE FARINE ET DEROULEMENT D'UN ESSAI

La pâte testée par le texturomètre était réalisée de la même manière que des pâtons destinés à un alvéographe (NF VO3-710).

250g de farine étaient mis en présence d'une quantité d'eau ou d'une solution de l'agent modifiant testé de 124 à 128 mL. Cette quantité a été déterminée selon l'humidité de la farine de manière à obtenir une pâte ayant une hydratation constante de 43.3 %.

La pâte était pétrie dans le pétrin d'un alvéographe pendant 8 minutes dont 1 minute était utilisée pour bien décoller la farine et les bouts de pâte dans les coins en début de pétrissage. Cinq pâtons étaient ensuite extrudés et laminés à une hauteur de 9 mm à l'aide de six aller-retours du rouleau de laminage. Ils étaient alors découpés avec un emporte-pièce d'un diamètre de 46 mm. Les différents échantillons étaient alors bien homogènes et étaient laissés au repos pendant 20 minutes dans une enceinte à température constante de 24°C. Le repos des pâtons permettait d'éliminer les tensions créées lors de l'extrusion et du laminage. Ils étaient alors prêts à être testés. Le temps de repos était comparable pour chaque échantillon car ils étaient extrudés l'un après l'autre, puis ensuite, ils étaient testés dans le même ordre.

A partir de la fin du pétrissage, toutes les surfaces en contact avec la pâte étaient lubrifiées afin d'éviter que la pâte ne se colle.

Sous forme de disques, les échantillons de pâte étaient posés sur le plateau inférieur. Dans un premier temps, la traverse descendait à une vitesse de 20 mm/mn jusqu'à une profondeur de 5 mm dans l'échantillon. Puis le cylindre supérieur était maintenu à cette profondeur pendant 60 secondes.

Le texturomètre mesurait la force de résistance de la pâte et le travail fourni en fonction du temps.

Le logiciel pouvant exprimer de multiples résultats, nous avons choisi les suivants :

- la force maximale (N), obtenue à la fin de la descente de la traverse,
- la force minimale (N), force de résistance de la pâte obtenue après 60 secondes de maintien de la sonde à une profondeur de 5 mm,
- le travail (mJ), fourni pendant la durée totale du test,
- le taux de relaxation (%), $\frac{((\text{force maximale} - \text{force minimale}) / \text{force minimale}) * 100}{100}$. Il reflète l'élasticité de la pâte qui représente la capacité de la pâte à reprendre sa forme initiale après avoir subi une contrainte. Plus le taux de relaxation diminue, plus l'élasticité croît.
- et le rapport force maximale / surface de la sonde (N/m²).

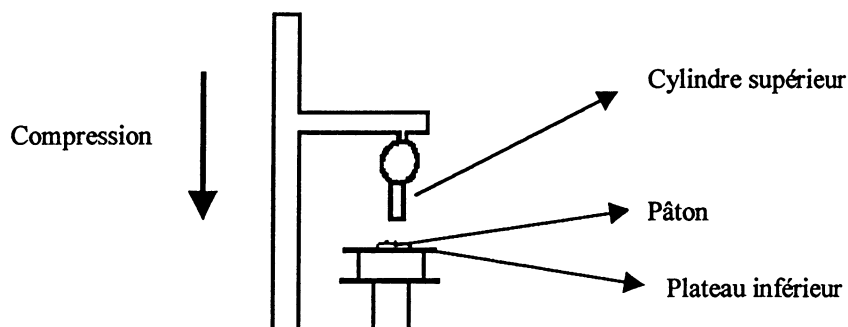


Figure 1 : schéma du dispositif expérimental.

Pour chaque résultat, nous avons effectué un pétrissage comportant cinq échantillons. Les coefficients de variation sont tous inférieurs à 10%.

RESULTATS

1. COMPARAISON DES VARIETES ENTRE ELLES

Sans agent modifiant, les forces maximales obtenues pour les variétés Amélio (2.41) et Galibier (2.41) étaient supérieures à celles de Soissons (1.95) et surtout de Camp Rémy (1.71). Courtôt (2.25) se situait d'une manière intermédiaire. Ces différences d'une variété à l'autre semblaient s'accroître en ajoutant des agents modifiants notamment en présence d'acide ascorbique ou de SDS (courbes 1 et 3).

Dans l'ensemble, les cinq variétés réagissaient de la même manière à l'ajout d'agents modifiants. On observait, cependant, deux points singuliers. Le taux de relaxation de la pâte formée avec de la farine Soissons et de l'urée 1M augmentait beaucoup par rapport à la pâte témoin. Cette augmentation était beaucoup moins prononcée pour les autres variétés (courbe 6). De plus, la force maximale mesurée pour la farine Amélio en présence de 0,1 mM de β mercaptoéthanol diminuait par rapport à celle mesurée en absence de β mercaptoéthanol alors qu'elle croissait pour les autres variétés (tableau 2).

2. COMPARAISON ENTRE LE TRAVAIL DETERMINE AU TEXTUOMETRE ET LE W OBTENU A L'ALVEOGRAPHIE

Le travail déterminé à l'aide du textuomètre et le W obtenu avec l'alvéographe de chopin sont présentés selon les cinq variétés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : relation entre le W de l'alvéographe et le travail déterminé grâce au textuomètre.

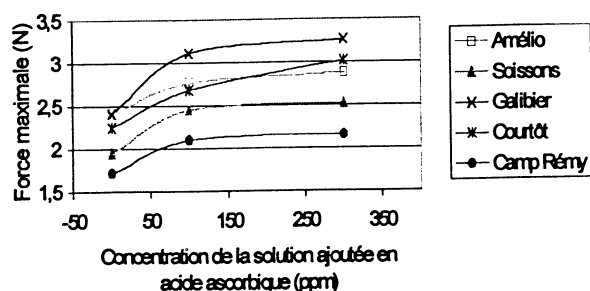
Variétés	Amélio	Soissons	Galibier	Courtôt	Camp Rémy
W (mJ)	20.9	14.6	27.0	20.7	15.3
P (mm H ₂ O)	82.2	59.1	80.7	74.8	51.8
G	20.4	20.4	23.0	22.1	23.5
P/L	0.98	0.69	0.75	0.76	0.46
Travail (mJ)	7.699	6.481	7.602	6.952	5.475

Le coefficient de corrélation entre le travail lu sur le textuomètre et le W obtenu grâce à l'alvéographe de Chopin était de 0.8907, ils étaient donc corrélés linéairement.

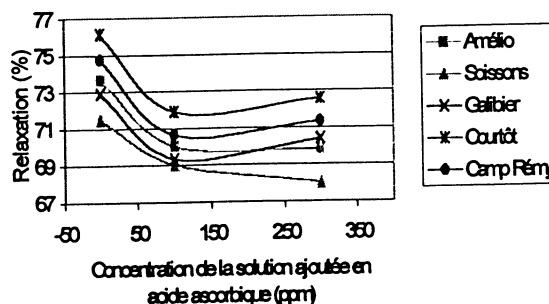
3. INFLUENCE DE L'ACIDE ASCORBIQUE

Les courbes 1 et 2 montraient que les différents résultats variaient de manière identique pour les cinq variétés en ce qui concerne l'acide ascorbique. Ils variaient de manière logarithmique avec cet additif : la force maximale et le travail augmentaient alors que le taux de relaxation diminuait.

Courbe 1 : force maximale pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en acide ascorbique



Courbe 2 : relaxation pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en acide ascorbique



4. INFLUENCE DU β MERCAPTOETHANOL

La force maximale et le travail augmentaient beaucoup pour Galibier et Courtôt et peu pour Soissons et Camp Rémy avec la concentration en β mercaptoéthanol (tableau 2). Par contre, ils diminuaient pour Amélio.

Le taux de relaxation croissait avec la concentration en β mercaptoéthanol pour les différentes variétés mais plus faiblement pour Courtôt (tableau 3).

Tableau 2 : force maximale (N) pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en β mercaptoéthanol					
β mercaptoéthanol (mM)	Amélio	Soissons	Galibier	Courtôt	Camp Rémy
0	2,41	1,95	2,41	2,246	1,711
0,1	2,187	1,972	2,653	2,49	1,78

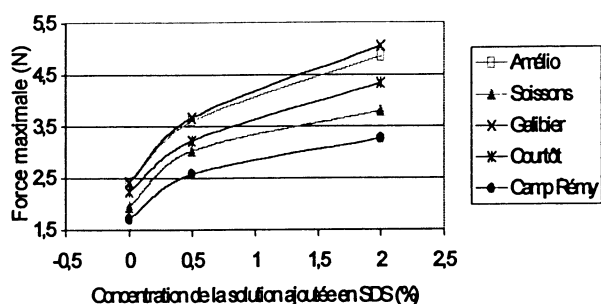
Tableau 3 : relaxation (%) pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en β mercaptoéthanol					
β mercaptoéthanol (mM)	Amélio	Soissons	Galibier	Courtôt	Camp Rémy
0	73,660	71,510	72,900	76,150	74,760
0,1	74,5	72,26	75,31	76,68	76,56

5. INFLUENCE DU SDS

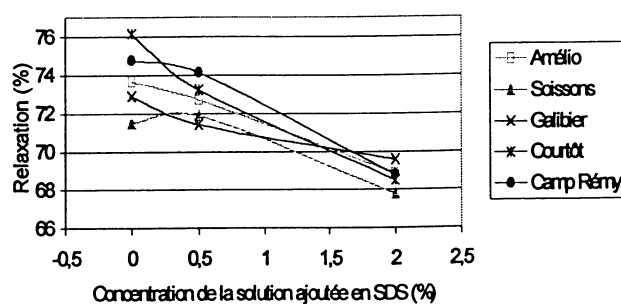
La force maximale et le travail augmentaient de façon logarithmique pour l'ensemble des variétés avec la concentration en SDS (courbe 3).

De plus, le taux de relaxation était corrélé linéairement et négativement à la concentration en SDS (courbe 4). Les coefficients de corrélation étaient les suivants : Amélio : -0.9992 ; Soissons : -0.9732 ; Galibier : -0.9878 ; Courtôt : -0.9948 et Camp Rémy : -0.9948.

Courbe 3 : force maximale pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en SDS



Courbe 4 : relaxation pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en SDS



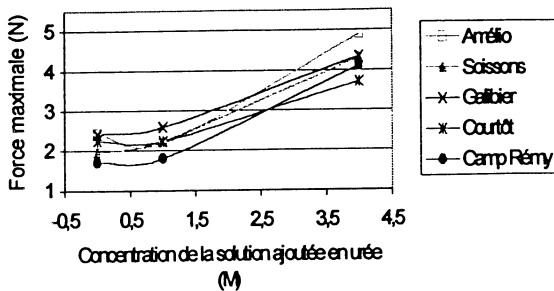
6. INFLUENCE DE L'UREE

Les différentes variétés de blé donnaient toutes des courbes de même allure. Pour les cinq variétés, la force maximale et le travail augmentaient avec la concentration en urée de manière exponentielle (courbe 5).

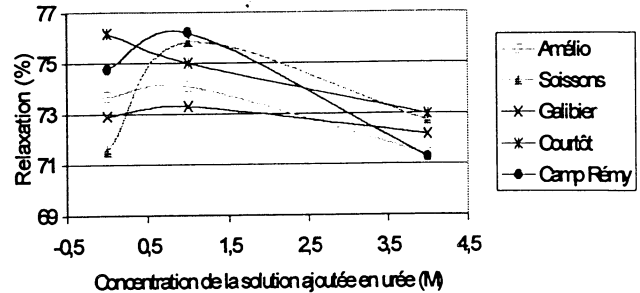
Le taux de relaxation croissait faiblement pour les variétés Amélio et Galibier (variétés de force) et plus fortement pour les variétés Soissons et Camp Rémy pour une

concentration en urée de 1 mol/L. Il diminuait ensuite pour les cinq variétés pour des concentrations en urée élevées (courbe 6).

Courbe 5 : force maximale pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en urée



Courbe 6 : relaxation pour les 5 farines en fonction de la concentration de la solution ajoutée en urée



DISCUSSION : COMPARAISON DES DIFFERENTS AGENTS MODIFIANTS

L'écart entre les valeurs des forces maximales était de plus en plus grand d'une variété à l'autre en présence d'une concentration croissante d'agents modifiants en particulier d'acide ascorbique ou de SDS. L'acide ascorbique et le SDS permettent donc de mieux discriminer les variétés entre elles.

Pour les quatre agents modifiants utilisés (acide ascorbique, β mercaptoéthanol, SDS et urée), la force maximale croissait avec la concentration en ceux-ci et le taux de relaxation diminuait (excepté pour ce dernier en ce qui concerne le β mercaptoéthanol). Ceci est logique pour l'acide ascorbique qui est largement utilisé comme améliorant.

1. INFLUENCE DE L'ACIDE ASCORBIQUE

Ekassabany et al. (1980), Nicholas et al., (1980) ont montré que lors du pétrissage, l'acide l-thréo-ascorbique est rapidement transformé en acide déhydro-l-thréo-ascorbique, le véritable améliorant de la farine. L'acide déhydro-l-thréo-ascorbique utilisé comme co-substrat oxyderait le glutathion (G-SH) présent naturellement, en disulfide (GSSG) grâce à la glutathion déshydrogénase (Sandstedt et Hites, 1945 ; Kuninori et Matsumoto, 1963, 1964 ; Carter et Pace, 1965). Si le glutathion n'avait pas été oxydé, il aurait diminué la force de la pâte par des réactions d'échange avec les groupements thiols des protéines du gluten (Kuninori et Sullivan, 1968 ; Jones et Carnegie, 1969). Le GSSG ne peut pas engager de liaisons avec les groupements thiols des protéines du gluten, la force de la pâte n'est donc pas affaiblie ou l'est plus tardivement.

En ce qui concerne l'acide ascorbique, on observait tout à fait les résultats attendus : une augmentation prononcée de la force de la pâte et de l'élasticité. Ces résultats vont bien dans le sens du mécanisme d'action de l'acide ascorbique proposé précédemment.

Mais les résultats concernant les trois autres agents choisis étaient étonnants car ces agents ont des actions dissociantes. Le β mercaptoéthanol rompt les ponts disulfures, le SDS et l'urée rompent les liaisons faibles, on aurait donc pu s'attendre d'une manière générale à une perte de la fermeté due à une dissociation du réseau gluténique.

2. INFLUENCE DU BETA-MERCAPTOETHANOL

Le β mercaptoéthanol a la propriété de rompre les ponts disulfures (Lehninger, 1982). On s'attendait donc à une diminution de la fermeté de la pâte or ce n'est pas ce que l'on observait. La force maximale de la pâte était augmentée et le taux de relaxation diminué.

Goddard (1996), sur le lait, observe également une augmentation de la force des gels en présence de β mercaptoéthanol avec une force maximale pour une concentration de β mercaptoéthanol de 5 mM. En fait, le β mercaptoéthanol à faible concentration rend réversible la dissociation des ponts disulfures et favorise donc les réactions d'échange (Means et Feeney, 1971).

De plus, le β mercaptoéthanol pourrait inhiber l'action du glutathion réduit (G-SH) en s'y liant. Le glutathion ne pourrait plus se lier aux groupements -SH libres du gluten. Alors, des ponts disulfures supplémentaires pourraient se former entre les différentes chaînes du gluten. Ceci se traduirait bien par une force de la pâte plus importante. A des concentrations plus importantes de β mercaptoéthanol (résultats non présentés), la force de la pâte décroît énormément. On pourrait penser qu'après s'être lié au glutathion réduit, le β mercaptoéthanol supplémentaire se lierait aux groupements -SH du gluten. Il y aurait alors moins de ponts disulfures au sein du gluten, ce qui expliquerait la diminution de force de la pâte.

4. INFLUENCE DU SDS

Plus la concentration en SDS était élevée (jusqu'à 2% de SDS dans la solution ajoutée soit environ 1% poids SDS/poids farine), plus la pâte était ferme et plus le taux de relaxation décroissait.

Danno et Hosene (1982) ont étudié l'influence du SDS dans la pâte de farine de blé sur des courbes obtenues au mixographe. Ils en ont déduit deux phénomènes. Tout d'abord, lorsqu'un faible taux de SDS est ajouté (0.5-1% poids SDS/poids farine), il se lie de son extrémité hydrophile aux charges positives des protéines du gluten qui permettent habituellement l'hydratation rapide de la pâte. L'hydratation se fait alors beaucoup plus lentement et on obtient une pâte plus sèche, plus élastique, qui est plus forte. Par contre, lorsqu'on ajoute un taux élevé de SDS (2-3%), les molécules de SDS supplémentaires se lient hydrophobiquement aux protéines. Les complexes formés sont chargés négativement et s'hydratent plus facilement. La pâte a de nouveau une consistance inférieure.

Nos résultats sont en accord avec ce processus, mais nous n'avons testé que des doses relativement faibles de SDS. Il faudrait tester des concentrations supérieures en SDS pour déterminer si on observe aussi une décroissance de la force de résistance de la pâte.

5. INFLUENCE DE L'UREE

L'urée a la propriété de rompre les liaisons hydrogènes (Lehninger, 1982) qui sont nombreuses dans le réseau de la pâte. On pourrait donc prévoir un affaiblissement de la pâte en présence d'urée, or ce n'était pas le cas. Plus la concentration en urée était élevée, plus la pâte avait une force de résistance à la contrainte importante.

En se basant sur les réflexions de Danno et Hosene (1982) concernant le SDS, nous pouvons penser que l'urée est attirée par les charges positives à la surface des protéines du gluten. Les molécules d'eau se lieraient plus difficilement aux protéines du gluten et la pâte aurait une consistance plus forte. Contrairement au SDS, l'urée ne possède pas de partie hydrophobe, ce phénomène pourrait donc être observé même pour des concentrations élevées en urée. Ceci pourrait expliquer les résultats obtenus.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le gluten est composé entre autres de gluténines et gliadines liées entre elles par des ponts disulfures et des liaisons faibles (notamment liaisons hydrogènes et hydrophobes). Ces différentes liaisons sont remaniées lors du pétrissage ou de l'ajout d'agents dissociants. Nous avons mis en évidence que l'acide ascorbique (à 100 et 300 ppm), le β mercaptoéthanol (à 0.1mM), le SDS (0.5 et 2%) et l'urée (1 et 4M) ont le même genre d'impact mais plus ou moins prononcé. Ils augmentent la force maximale de la pâte et son élasticité (sauf en ce qui concerne le β mercaptoéthanol pour l'élasticité). Ils permettent également de mieux différencier les variétés de blé entre elles.

Il serait à présent judicieux d'analyser biochimiquement l'état des protéines en présence des différents agents modifiants pour analyser les divers processus mis en jeu et les comparer. Il serait également intéressant de réaliser des mélanges de variétés. On observerait alors si les résultats représentent une moyenne des caractéristiques des variétés mélangées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BRANLARD, G., KHELIFI, D., LOOKHART, G., 1992. Identification of some wheat proteins separated by a two-step acid polyacrylamide gel electrophoresis technique.
- CARTER, J.E., et PACE, J., 1965. Some interrelationships of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in the presence of flour suspensions and in dough. *Cereal Chem.*, 42 : 201-208.
- DANNO et HOSENEY, 1982. Effect of sodium chloride and sodium dodecyl sulfate on mixograph properties. *Cereal Chem.*, 59(3) : 202-204.
- ELIASSON, A.C. et LARSSON, K., 1993. Cereals in breadmaking : A molecular colloidal approach. Marcel Dekker : New York.
- ELKASSABANY, M., HOSENEY, R.C., SEIB, P.A., 1980. Ascorbic acid as an oxidant in wheat flour dough. I. Conversion to dehydroascorbic acid. *Cereal Chem.*, 57 : 85-87.
- GAO, L., BUSHUK, W., 1992. Solubilization of glutenin in urea/SDS solutions at elevated temperature. *J. of Cereal Sci.*, 16 : 81-89.
- GODDARD, J., 1996. Effect of thiols reagents on the acid-heat-induced gelation of high-heat skim milk. *J. Dairy Research*, 63 : 639-642.
- JONES, L.K., et CARNEGIE, P.R., 1969. Rheological activity of peptides, simple disulfides and simple thiols in wheaten dough. *J. Sci. Food Agric.*, 20 : 60-64.
- KUNINORI, T., et MATSUMOTO, H., 1963. L-ascorbic acid oxidizing system in dough and dough improvement. *Cereal Chem.*, 40 : 647-657.
- KUNINORI, T., et MATSUMOTO, H., 1964. Dehydro-L-ascorbic acid reducing system in flour. *Cereal Chem.*, 41 : 39-46.
- KUNINORI, T., et SULLIVAN, B., 1968. Disulfide-sulphydryl interchange studies of wheat flour. II. Reaction of glutathione. *Cereal Chem.*, 45 : 486-495.
- LEHNINGER, 1982. Principles of biochemistry. Ed. Worth. P 167, 178.
- MEANS, G.E., et FEENEY, R.E., 1971. Chemical modification of proteins. San Francisco, CA : holden-day, p112-149.
- NICHOLAS, J., GUSTAFSSON, S., DRAPRON, R., 1980. Effects of some parameters on the kinetics of ascorbic acid destruction and dehydroascorbic acid formation in wheat flour doughs. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 13 : 308-313.
- SANDSTEDT, R.M., et HITES, B.D., 1945. Ascorbic acid and some related compounds as oxidizing agents in doughs. *Cereal Chem.*, 22 : 161-187.
- SHEWRY, P.R., TATHAM, A.S., FORDE, J., KREIS, M., MIFLIN B.J., 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins : A reassessment. *J. Cereal Sci.*, 4 : 97-106.

COMPARAISON PAR ELONGATION BIAXIALE DE MELANGES DE FARINE

C. Derail, A. de Roquefeuil

Groupe de Recherches en Agroindustrie sur les Produits, les Procédés et leur Environnement
Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers, 55 Rue Rabelais 49000 ANGERS

Résumé :

Les propriétés rhéologiques des pâtes de farine de blé sont très importantes dans la mise en œuvre de la panification artisanale et industrielle. Ce sont souvent sur quelques paramètres tirés d'un alvéogramme Chopin que l'on prédit le comportement des pâtes au cours de la transformation. Pourtant, à même alvéogramme, il arrive que les aptitudes soient très différentes. Les résultats que nous présentons permettent de constater qu'il est possible de différencier par compression des farines qui ne le sont pas par l'alvéographe. Les expérimentations montrent en effet que l'on peut mettre en évidence des paramètres du comportement rhéologique qui n'ont pas la même variation en fonction de la vitesse de compression d'une farine à l'autre. Ainsi, à partir de 3 familles différentes de farine, en terme d'aptitude à la panification, nous avons montré que la pente à l'origine et la force maximum atteinte peuvent permettre dans quelques cas des différenciations impossibles par l'alvéographe de Chopin.

1 - INTRODUCTION

Dans le but de définir en amont des caractéristiques techniques encore plus fines pour l'aptitude à la transformation des pâtes de farine (mélange eau+farine+sel), la rhéologie est un bon outil de caractérisation. Puisque l'élongation est la sollicitation privilégiée des pâtes après pétrissage, de nombreuses études ont été menées dans le but d'améliorer la prévision du comportement des pâtes sur la ligne de transformation. Depuis bien longtemps, l'alvéographe de Chopin est un instrument très utilisé mais, bien que le désir des industriels soit une meilleure prévision des aptitudes à la transformation des farines, cet appareil n'a que peu évolué et il ne permet pas une différenciation suffisamment pointue dans bien des cas. Ainsi, afin d'améliorer notamment les prévisions d'aptitude à la panification et pour remédier aux problèmes liés à l'utilisation de l'alvéographe de Chopin qui ne rend pas compte de manière suffisamment précise de cette qualité, nous avons mis en œuvre un test d'élongation biaxiale par compression lubrifiée en reprenant des travaux déjà existant dans ce domaine⁽¹⁾.

Ce travail a été réalisé avec une coopérative (CAVAL) qui nous a fourni des mélanges dont l'aptitude à la panification est différente (testée en laboratoire de panification avec la méthode de dépouillement CNERNA) mais dont les alvéogrammes sont identiques (avec une marge de 10% d'erreur⁽²⁾). Nous avons réalisé 6 mélanges de farine ayant 2 par 2 des alvéogrammes différents et balayant une gamme importante des différentes applications de la farine. Afin de tester plus finement la validité de notre méthode, nous avons utilisé des mélanges de W différents et permettant d'accéder à toute la gamme des propriétés désirées (boulangères à pâtisseries) plutôt que de rester dans un domaine restreint de valeur de W.

Ainsi, après avoir décrit la préparation des mélanges et présenté les matériels utilisés au cours de cette étude, nous nous attachons à donner les paramètres d'essais permettant de différencier les mélanges et les farines dans un même lot ou entre les lots.

Nous avons regroupé en fin d'article les préparations des mélanges, des pâtes et des échantillons afin que le lecteur puisse s'y reporter facilement au cours de la lecture.

2 – LES MELANGES DE FARINES

On peut différencier les utilisations des farines sur un alvéogramme (que nous décrivons ci-après) par la mesure de la valeur de la surface sous la courbe, notée W, ainsi que du rapport P/L. De manière schématique, on a :

$W \approx 130 \cdot 10^{-4}$ J et $P/L \approx 0.3$: farine pour biscuit

$W \approx 180 \cdot 10^{-4}$ J et $P/L \approx 0.6$ à 0.7 : farine pour pizza

$W \approx 240 \cdot 10^{-4}$ J et $P/L \approx 0.6$ à 0.7 : farine pour boulangerie artisanale

$W \approx 300 \cdot 10^{-4}$ J et $P/L \approx 0.6$ à 0.7 : farine pour brioche

A l'aide des techniques classiques de formulation (c'est à dire en utilisant des additifs appropriés), nous avons réalisé 3 lots (voir ci-après « préparation des lots») dont les W sont différents avec dans chacun des lots 2 mélanges ayant chacun le même alvéogramme mais une aptitude boulangère différente testée avec la méthode CNERNA. Il s'agit d'une méthode basée sur l'analyse sensorielle de la pâte après pétrissage, puis du pain après fabrication. Une fiche de résultats à remplir par le boulanger permet d'attribuer une note totale au pain. Cette note est la somme de trois notes différentes concernant le comportement de la pâte au pétrissage, au pointage, au façonnage entre autre, l'aspect du pain après cuisson et l'aspect de la mie. Cette note est donnée sur 300.

Chacun des mélanges fabriqués a subi ce test et le tableau 1 permet de récapituler quelques résultats de cette fiche montrant la différence d'aptitude à la panification en comparaison aux valeurs choisies sur l'alvéogramme.

		MELANGES					
		(lot) 1		(lot) 2		(lot) 3	
DONNEES ALVEO.	N°de farine	11	12	21	22	31	32
	P (mm d'eau)	97.6	105	74	67	61.6	63
	L (mm)	97	99	86	88	83	85
	W (mJ)	36.8	37.3	22.3	20.5	19	18.4
	P/L	1,01	1.06	0.86	076	0.74	0.74
CNERNA	Note totale	231	222	225	232.5	223	203.5

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats importants pour chacun des mélanges obtenus avec l'alvéogramme et avec l'analyse sensorielle.

3 - MATERIELS UTILISES ET DESCRIPTIONS DES TESTS MIS EN ŒUVRE

3 – 1 – Les tests instrumentaux

Alvéographe de Chopin

Bien décrit dans la littérature ⁽³⁾, cet instrument permet de gonfler un pàton de pâte par insufflation d'air. On suit l'évolution du diamètre de la bulle en fonction de la pression d'air nécessaire à sa formation. De la courbe résultante, on tire quelques paramètres importants. Dans notre cas nous utiliserons deux paramètres : W, l'aire sous la courbe et P/L le rapport de la pression maximum sur la longueur à l'éclatement de la bulle. La figure 1 permet de mieux comprendre la technique de l'alvéographe.

Machine de traction (Synergie 200M - MTS)

Il s'agit de comprimer, entre deux plateaux, un cylindre de pâte. Dans notre cas, nous avons fixé la vitesse de descente de la traverse et la hauteur de compression. Les deux parties de pâte en contact avec les plateaux sont lubrifiées (huile alimentaire Isio4) afin d'éviter tout cisaillement au cours de l'expérience. Les tests mis en œuvre sur chacune des pâtes, dont la préparation est détaillée en fin d'article, sont décrits sur la figure 2.

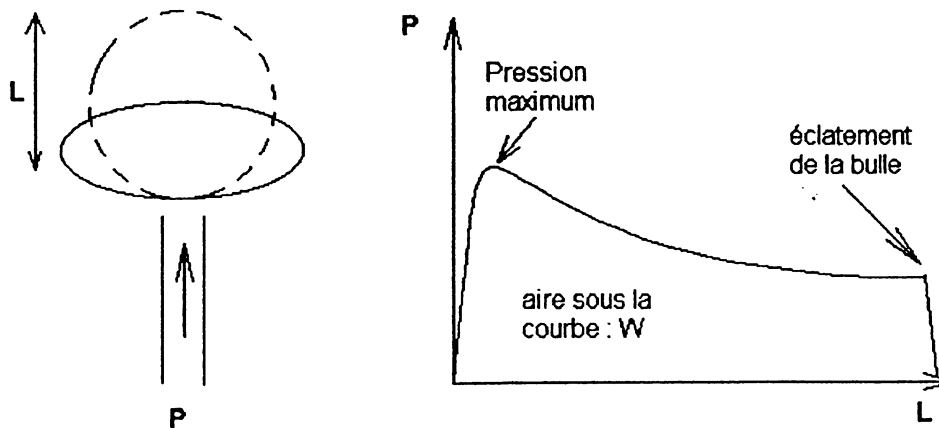


Figure n°1 : Description d'une courbe obtenue à la suite d'une expérience d'élongation biaxiale par insufflation d'air à l'aide d'un alvéographe de Chopin.

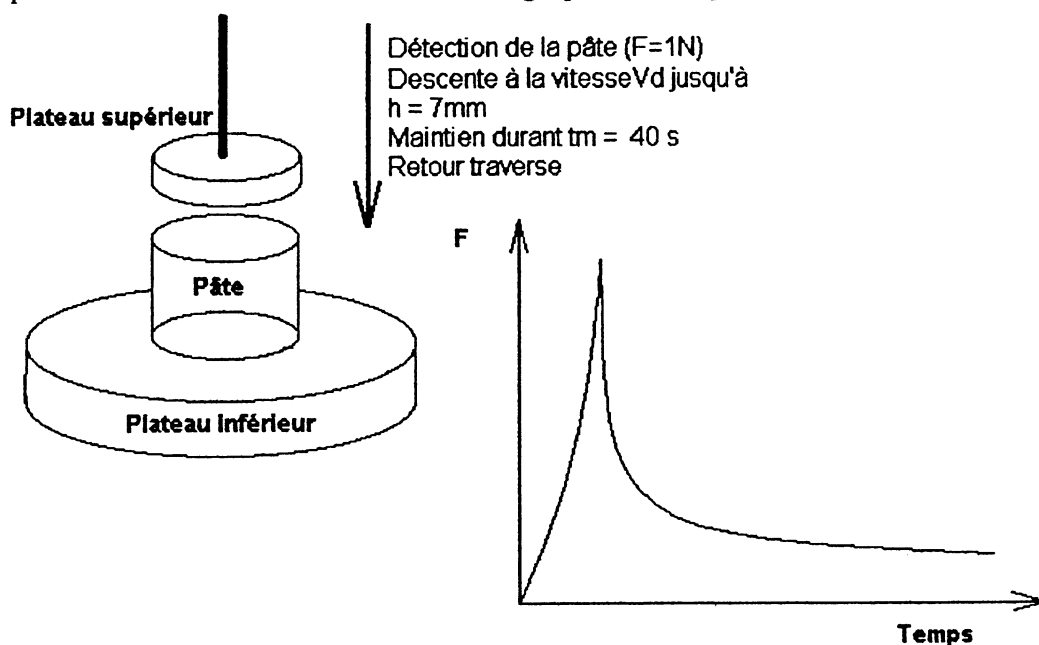


Figure n°2 : Description de la compression du cylindre de pâte avec une machine de traction.

4 – LES RESULTATS EXPERIMENTAUX

4 – 1 – Reproductibilité des tests

Avant toute chose, nous avons testé en fonction du pétrissage et des jours de fabrication la reproductibilité de notre test de compression sur un mélange simple contenant de la farine de type 55 et de l'eau (55%+45% en poids). Nous avons évalué cette reproductibilité sur la force maximum. Les résultats montrent la bonne fiabilité de notre préparation et de notre expérimentation avec, suivant les temps de repos, un écart toujours inférieur à 10%.

Le tableau 2 récapitule les résultats pour 2 jours d'expérience de ce test de fiabilité.

4 – 2 – Les résultats obtenus sur chacun des lots

La figure 3 permet de visualiser le type de courbe obtenue dont la forme est similaire d'un mélange à l'autre. A partir de cette courbe, nous avons analysé différents paramètres

comme la force maximum atteinte (Fmax), la pente à l'origine (Po) et le rapport entre la force maximum et la force atteinte en fin de maintien (Ffin).

Sur Fmax		Temps de repos		
		1	2	3
Jour1	Ecart-type (N)	0.6	0.6	0.4
	Coef. Variation (%)	4.3	5.4	3.9
Jour3	Ecart-type (N)	0.3	0.6	0.4
	Coef. Variation (%)	2.3	5.5	4

Tableau 2 : Récapitulatif des résultats, pour deux jours d'expérience, montrant la fiabilité de nos mesures par les faibles valeurs sur la force maximum des écarts-types et coefficients de variations.

Pour chaque mélange et à chaque temps de repos (voir ci-après « préparation des échantillons à mesurer ») nous écrasons tous les échantillons préparés et sélectionnons les 5 résultats permettant d'obtenir les coefficients de variations des paramètres mesurés les plus faibles. Nous avons alors collecté tous les résultats obtenus sur les 6 mélanges (3 lots, 2 farines par lot).

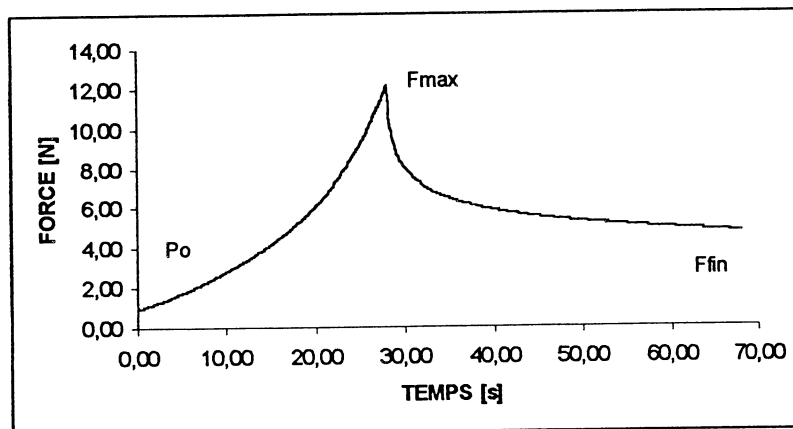


Figure n°3 : Exemple de courbe obtenue pour chaque mélange.

Les paramètres mesurés peuvent être comparés lot par lot, puis dans un même lot, farine par farine. Ainsi, nous allons dans un premier temps essayer de différencier les lots dont l'alvéogramme est différent puis ensuite les mélanges à même alvéogramme.

4 – 3 – Comparaison des résultats entre les lots 1, 2 et 3

Nous avons tracé l'évolution de certains paramètres sur les figures 4 et 5. Les variations de ces différents paramètres montrent qu'il est possible de différencier les lots avec le paramètre Po qui est la pente de la courbe au début de l'expérience (10 premières secondes). Effectivement (figure 5) quelle que soit la vitesse et le temps de repos, les courbes sont différentes et permettent de différencier les 3 lots. Par contre la figure 4 permet de constater que l'on a une différence entre les lots 1 et 2 puis 2 et 3 mais pas entre 1 et 3. Ainsi, tous les paramètres ne permettent pas de différencier aisément les 3 lots.

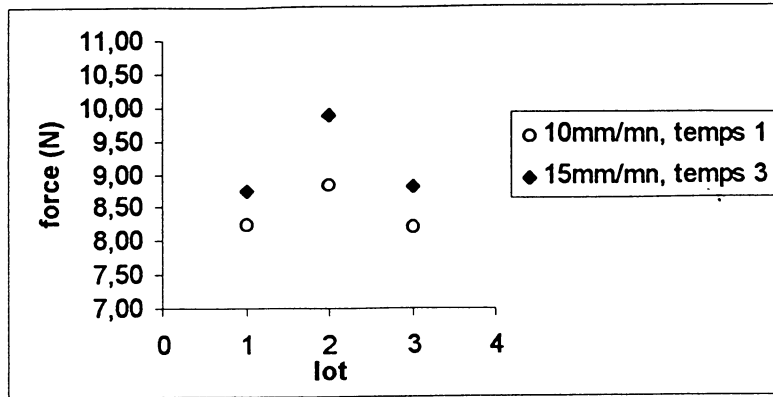


Figure n°4 : Variation de F_{max} en fonction du lot aux deux vitesses de compression 10 et 15 mm/min.

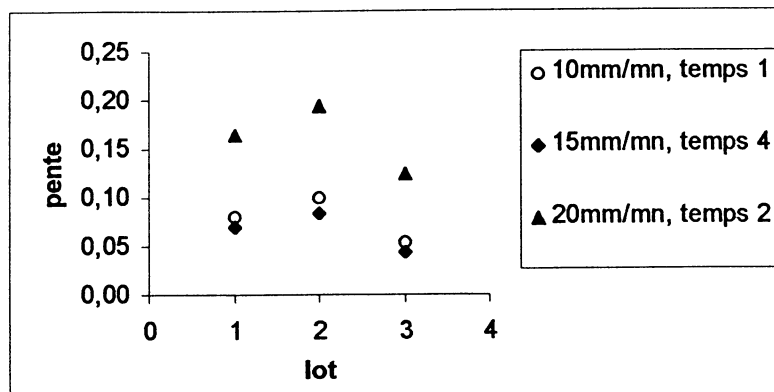


Figure n°5 : Variation de P_o en fonction du lot à trois vitesses 10, 15 et 20 mm/min.

4 – 4 – Comparaison des résultats dans un même lot

Pour cette expérience, nous avons tracé les évolutions en fonction de la vitesse de la traverse et à même temps de repos, des paramètres F_{max} , P_o et du rapport F_{max}/F_{fin} . Les figures 6 et 7 donnent un aperçu des résultats obtenus.

Nous constatons pour les 3 lots une différence de variation. Cette différence réside dans la valeur des pentes de la variation puisque dans les trois cas nous observons des variations linéaires. Ainsi, pour le lot 1 (figure 6) la différence marquée permet de différencier les deux farines. De la même manière la figure 7 permet de constater une différence nette de variation pour le rapport F_{max}/F_{fin} .

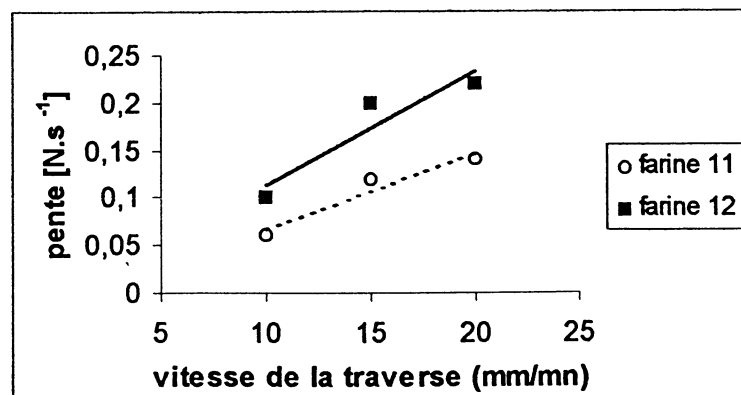


Figure n°6 : Variation de P_o en fonction de la vitesse de compression pour les 2 farines du lot 1 (farine 11 et farine 12).

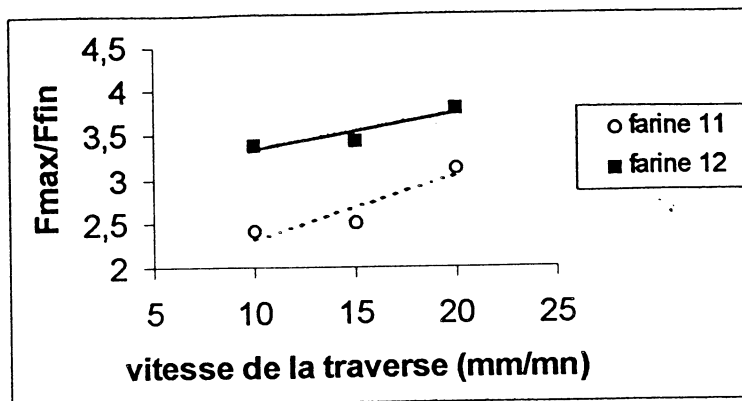


Figure n°7 : Variation de Fmax/Ffin en fonction de la vitesse de compression pour les 2 farines du lot 1 (farine 11 et farine 12).

Au-delà de la possibilité que nous avons montré de différencier des farines en terme de propriétés rhéologiques nous avons tenté de relier les variations observées à celles mises en évidence par l'analyse sensorielle.

Nous remarquons pour le lot 1 que c'est la farine la mieux notée en analyse sensorielle qui présente les deux paramètres étudiés au chapitre précédent (pente et rapport des forces) les plus faibles et ce notamment grâce à un volume de pain plus important. Nous retrouvons cette tendance dans tous les cas où la différenciation est possible. Dans deux cas, nous n'avons pas réussi à obtenir une tendance différente d'une farine à l'autre :

Pas de différence des pentes pour les deux farines du lot 3 mais différence pour le rapport des forces

Pas de différence du rapport des forces pour les deux farines du lot 2 mais différence pour les pentes.

A condition de mettre en œuvre des tests identiques pour différents lots de farine et ainsi pouvoir les comparer, il semble possible de tirer des paramètres permettant de faire une différenciation de comportement entre des farines proches à l'alvéographe. Notre étude nous a permis de constater des tendances qu'il est maintenant nécessaire de tester à plus grandes échelles et notamment augmenter la gamme des vitesses de compression afin d'élargir les zones pour lesquelles une différence de comportement pourrait apparaître.

5 – CONCLUSIONS

Cette étude, basée sur la différenciation par la mesure rhéologique des aptitudes de transformations des mélanges de farine, nous a permis de montrer qu'il était possible d'aller plus loin dans la prévision du comportement à la transformation des mélanges de farine. A partir d'une comparaison très démonstrative de différents lots possédant des propriétés différentes et chacun contenant des farines indissociables par l'alvéographe, nous avons montré qu'il était possible de mettre en évidence des différences par une étude en élongation biaxiale, par compression lubrifiée d'un échantillon cylindrique de pâte.

Nous avons montré de manière très démonstrative qu'il était possible de différencier des farines destinées à des applications bien différentes (biscuit à brioche en passant par pain ou pizza). Bien entendu nous retrouvons ici des résultats que l'on peut obtenir avec l'alvéographe de Chopin. Mais, plus finement, nous avons montré que des farines à même alvéogramme pouvaient être différenciées par compression.

La technique de compression n'est pas très compliquée à mettre en place et ne demande pas plus de temps de préparation que la réalisation d'un alvéogramme. Si en poursuivant cette étude par la multiplication des exemples mais aussi en affinant les corrélations pouvant exister avec l'aptitude à la panification et donc les tests d'analyse sensorielle, nous pouvons penser à la mise en place d'un outil d'aide à la décision plus performant par le biais de cette technique de compression.

PREPARATION DES LOTS

3 lots de mélange de farine ont été réalisés. Notés 1, 2 et 3 ces trois lots couvrent des valeurs de W allant de 36.8 à 18.4 mJ et permettent donc de tester des aptitudes différentes. Chaque lot contient 2 mélanges de farines ayant le même alvéogramme mais présentant des fiches d'évaluation CNERNA avant et après essai de panification bien différentes (tableau 1). Pour obtenir ces résultats, des additifs tel que de la fève (lot 2), de l'acide ascorbique (lot 1) et des mélanges de blé biscuitier et meunier (lot 3) ont été utilisés. A chaque fois, le but recherché est donc d'ajuster les deux alvéogrammes dans chacun des lots afin qu'ils soient le plus proches possibles.

PREPARATION DES PATES DE FARINE

Nous avons travaillé sur des mélanges contenant 45% d'eau ajoutée. A l'aide d'un pétrin type Labo25 de chez VMI, nous avons mélangé 1.5 kg de farine, 675 g d'eau (soit 45% d'eau ajoutée) et 30 g de sel (soit 2%). La phase de mélange en vitesse 1 (40 tours/minute) dure 6 minutes alors que la phase de pétrissage dure 16 minutes en vitesse 2 (80 tours/minute). La pâte repose ensuite 45 minutes en cuve recouverte d'un film plastique pour éviter le dessèchement. Cette préparation est la même que celle des pâtes utilisées pour réaliser les tests de panification.

PREPARATION DES ECHANTILLONS A MESURER

Nous prélevons 3 ou 4 quantités égales de pâte après le temps de repos que nous répartissons dans des sacs plastiques étanches. Chaque sac correspondra à un temps de repos différent. Ces temps de repos s'échelonnent ainsi : 68 min, 98 min, 128 min et le cas échéant 158 min.

Pour chacun de ces sacs (donc pour chacun des temps de repos), les pâtons à tester sont préparés à l'aide d'une table de laminage (Tripette et Renaud) identique à celle utilisée pour l'alvéographe et avec la même méthodologie de laminage que lors de la réalisation des alvéogrammes soit 15 passages du rouleau lamineur. Enfin, les pâtons sont découpés à l'aide d'un emporte pièce dont le diamètre est adapté à notre expérience. Celui-ci permet de mettre en œuvre un pâton de 3 cm de diamètre et de 1,2 cm de hauteur. La table de laminage nous permet, à chaque temps de repos, de tester une dizaine d'échantillons ayant ces dimensions.

Les auteurs remercient la CAVAL pour la fourniture des mélanges de farines, la réalisation des alvéogrammes et la mise en œuvre des tests de panification et leurs évaluations sensorielles.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 – JC. Bartolucci (1997), thèse, ENSIA Massy
- 2 – B. Launay et J.Buré (1970), Lebensm. Wiss.u ; Technol., Volume 3, 57
- 3 – B. Launay, JC. Bartolucci (1997), Les cahiers de Rhéologie. Volume XV, n°4, 594

RHEOLOGIE D'EMULSIONS ALIMENTAIRES HUILE/EAU : INFLUENCE DU PROCEDE D'EMULSIFICATION

A.Desrumaux et D. Della Vallé
ENITIAA GPA
Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires
Rue de la Géraudière – BP82225
44322 NANTES CEDEX 03
tél. : 02-51-78-54-61
fax : 02-51-78-54-67
email : desrumau@enitiaa-nantes.fr

Résumé :

Afin d'étudier l'influence du procédé d'émulsification sur la rhéologie des émulsions formées, des émulsions huile dans eau stabilisées par du caséinate de sodium ont été fabriquées par deux procédés différents : l'ultraturax et l'homogénéisateur haute pression. Pour chaque procédé étudié, nous avons fait varier, à température ambiante, d'une part un paramètre formulation, la fraction massique de l'huile, d'autre part un paramètre procédé, la vitesse de rotation pour l'ultraturax et la pression d'homogénéisation pour l'homogénéisateur haute pression.

La distribution de tailles des globules gras des émulsions a été mesurée par granulométrie LASER. Leur comportement rhéologique a été caractérisé sur un rhéomètre AR1000 équipé de cylindres coaxiaux.

Les résultats ont montré que les émulsions obtenues par les deux procédés présentaient un comportement newtonien jusqu'à une fraction massique d'huile de 50% puis un comportement rhéofluidifiant pour des concentrations supérieures. On a pu constater une augmentation importante de la viscosité apparente avec le pourcentage en huile. Concernant l'homogénéisateur haute pression, la viscosité augmente significativement avec la pression.

Pour une faible teneur en huile (10%), aucune différence significative n'a été constatée entre les deux procédés, alors que les tailles moyennes de globules gras varient d'un facteur 10. A des teneurs plus élevées on observe un écart entre les deux procédés, que l'on a pu interpréter grâce aux distributions granulométriques.

INTRODUCTION

Les émulsions occupent une place importante dans l'industrie agroalimentaire. On peut citer les produits laitiers (lait, crème fraîche, crèmes dessert...), les crèmes glacées, les sauces (sauce à salade...), les mayonnaises. Formées par la dispersion d'une phase (en général huileuse) dans une autre (en général aqueuse) à laquelle elle n'est pas miscible, en présence d'un ou plusieurs émulsifiants (protéines ou petites molécules type phospholipides par exemple), les émulsions sont des systèmes aux propriétés texturales tout à fait intéressantes mais très instables et tendant fatalement vers une démixtion (problèmes de crémage, de floculation, de coalescence). Afin de maîtriser leur stabilité il apparaît important de connaître leurs caractéristiques de structure (distribution de taille des globules gras) et texturales (viscosité), et de comprendre les liens entre ces caractéristiques. Les données de la littérature s'attachent surtout à décrire le comportement des émulsions en fonction de leur fraction

volumique en l'huile Φ . On distingue en général le domaine des émulsions très peu concentrées ($\Phi < 0.1$) où la viscosité croît linéairement avec Φ , le domaine des émulsions moyennement et fortement concentrée ($0.1 < \Phi < 0.74$), et le domaine des émulsions fortement concentrées où $\Phi > 0.74$, 0.74 étant la fraction volumique critique au dessus de laquelle théoriquement les gouttelettes d'huile se touchent (Sherman 1968).

En revanche la taille moyenne des gouttelettes et la distribution granulométrique ne sont généralement pas prises en compte. Aussi, en se plaçant dans le cas des émulsions moyennement à fortement concentrées ($0.1 < \Phi < 0.74$), nous nous sommes attachés à comprendre les liens entre les caractéristiques granulométriques et rhéologiques d'une émulsion huile dans eau stabilisée par une protéine laitière.

MATERIELS ET METHODES

Préparation des émulsions

Des émulsions de type huile dans eau (huile de tournesol, LESIEUR) stabilisées par une protéine émulsifiante, du caséinate de sodium (EURIAL POITOU-TOURAIN), ont été réalisées par deux procédés différents : l'ultraturax et l'homogénéisateur haute pression. Le pourcentage de caséinate a été fixé pour toutes les émulsions à 0,5% massique de la phase aqueuse. Différentes fabrications ont été réalisées en faisant varier la concentration volumique de la phase grasse.

L'ultraturax utilisé est du type T25 Basic, équipé d'une tête rotor stator S25 18 G. L'émulsification a été réalisée à différentes vitesses (de 14000 rpm à 23000 rpm), durant 1 minute.

L'homogénéisateur hautes pressions utilisé est un APV MANTON-GAULIN, équipé d'une tête d'homogénéisation à double effet, pouvant travailler sous une pression maximale de 350 Bars. Cette tête combine les effets de laminage, de choc et de cavitation permettant la rupture des globules gras. Les émulsions ont été fabriquées en continu avec un débit de 80l/h, sous différentes pressions (de 50 à 300 Bars).

Mesure de la taille des globules gras

Les mesures de distribution de taille des globules gras ont été réalisées sur un granulomètre laser MALVERN MASTER SIZERS, équipé d'une lentille inverse de Fourier de 300mm (plage de mesure de 0,05 à 880 μ m). L'exploitation a été faite suivant la théorie de Mie. Cette théorie nécessite de connaître les propriétés optiques des deux phases. On utilise 1,4564 comme indice de réfraction de l'huile, 0 pour son absorption et 1,33 pour indice de réfraction du milieu. L'échantillon d'émulsions est dilué au 1/1000^{ème}, puis injecté dans la cellule de mesure de 2,4mm d'épaisseur. L'appareil donne une distribution en volume de la taille des gouttelettes d'huile, avec un diamètre moyen en volume $dv(0,5)$ et un indice de dispersion de taille (span).

Rhéologie des émulsions

Les mesures rhéologiques ont été réalisées à 20°C sur un rhéomètre AR1000 TA INSTRUMENTS, avec une géométrie de mesure de type cylindres coaxiaux. Une montée de 10^{-2} s^{-1} à 1234 s^{-1} en 2 min et la descente correspondante ont été réalisées.

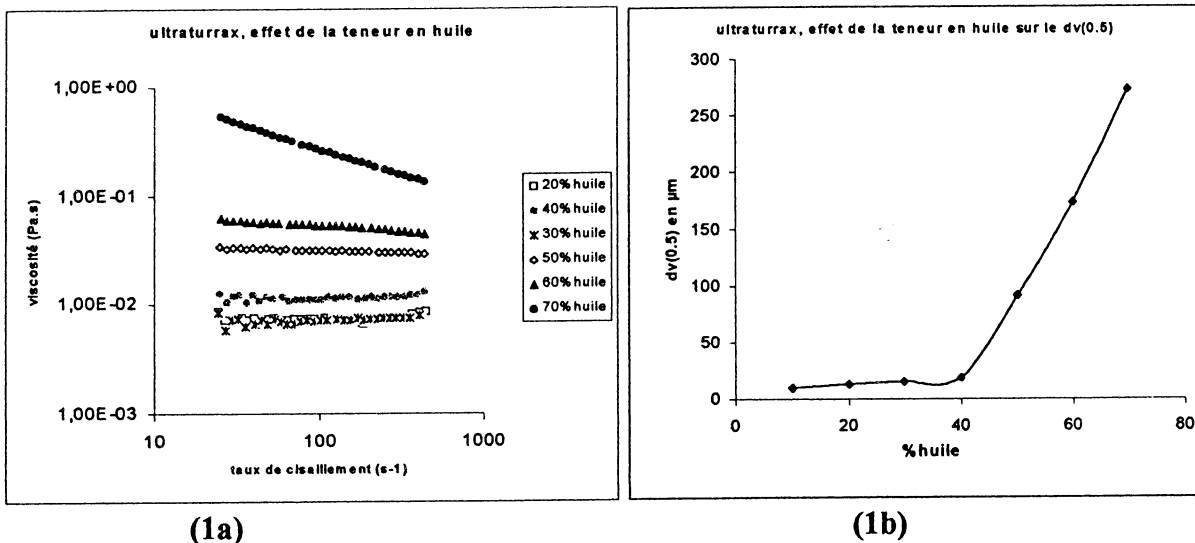
Analyse statistiques des résultats

Une analyse de variance sur les résultats (diamètre moyen en volume, distribution granulométrique, viscosité) a été réalisée sur le logiciel STATGRAPHICS PLUS afin de dégager les paramètres significatifs à 5%.

RESULTATS ET DISCUSSION

Comportement des émulsions réalisées par l'ultraturrax

L'analyse de variance réalisée sur les propriétés mesurées a montré que la vitesse de rotation, dans la gamme que nous avons utilisée, n'avait pas de rôle significatif. Par contre, le pourcentage en huile a un effet significatif à 5% sur la viscosité. Comme le montre la figure 1a, les émulsions ont un comportement newtonien de 10% à 40% d'huile, puis à partir de 50-60% elles présentent un comportement rhéofluidifiant, avec des viscosités de plus en plus élevées. Ce changement de comportement correspond à une forte augmentation du diamètre moyen en volume (figure 1b).



- Figures 1 : influence de la teneur en huile dans le cas de l'ultraturrax, (1a) courbes de viscosité, (1b) évolution du diamètre moyen en volume-

Comportement des émulsions obtenues à l'homogénéisateur Hautes Pressions

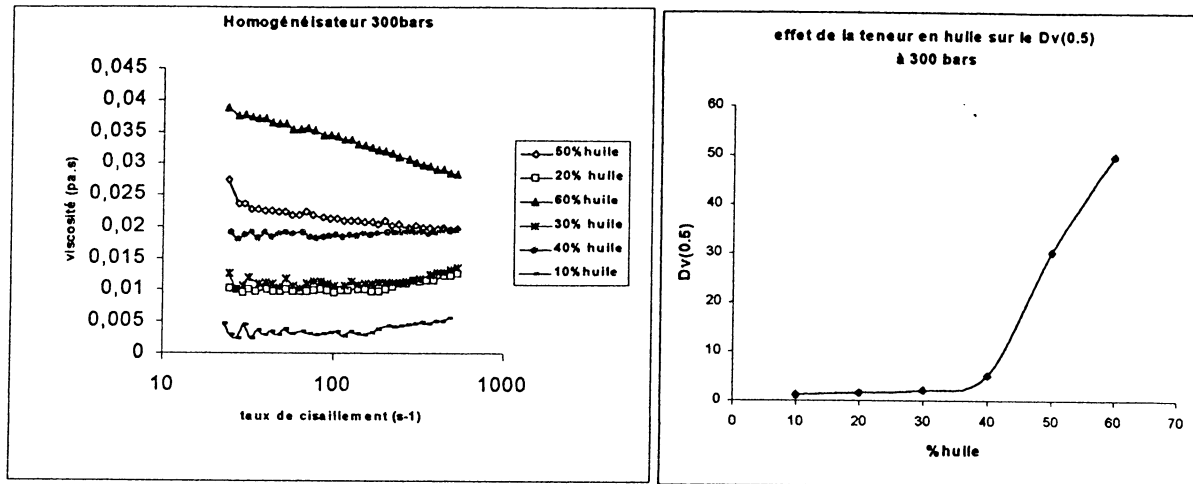
L'analyse de variance des résultats montre que le pourcentage en huile et la pression jouent un rôle significatif sur la viscosité des émulsions (tableau 1).

	Dv(0.5) en µm	Indice de dispersion Span	Viscosité (Pa.s)
%Huile	0.017	0.065	0.0001
Pression	0.575	0.372	0.0051

-Tableau 1 : Analyse de variance pour l'homogénéisateur haute pression. Valeur des P-value (si P-value < 0.05, facteur significatif à plus de 95%)

Comme pour l'ultraturrax, on observe le passage d'un comportement newtonien à un comportement rhéofluidifiant, qui s'opère dans le cas de l'homogénéisateur hautes pressions autour de 40-50% d'huile. Le pourcentage en huile influe significativement le diamètre moyen en volume des gouttelettes. Sur la courbe 2b, on peut observer une augmentation

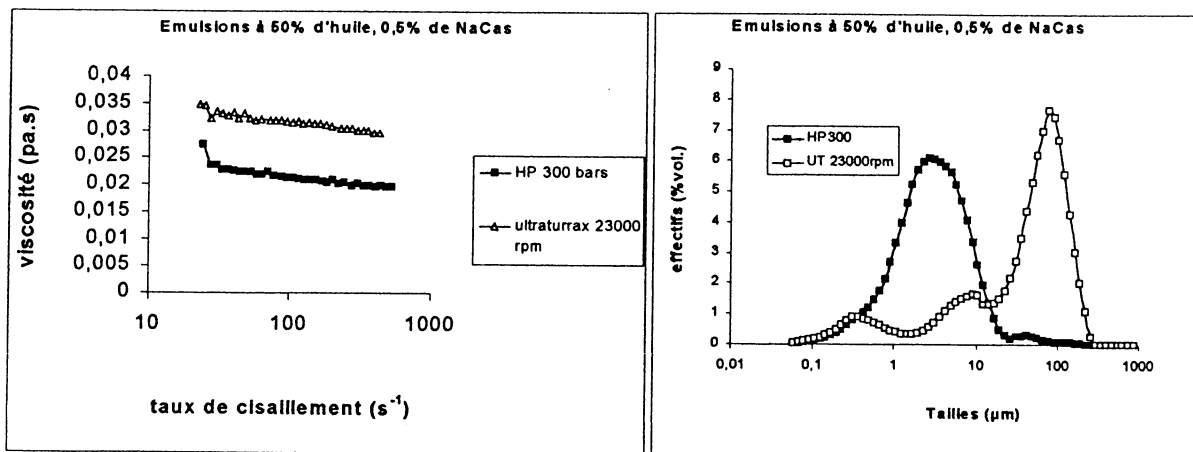
importante du diamètre moyen vers 40%, or ce décrochement correspond aussi au passage d'un comportement newtonien à un comportement rhéofluidifiant (figure 2a).



-Figures 2a et 2b : influence de la teneur en huile sur (2a) la viscosité et sur (2b) le diamètre moyen en volume dans le cas de l'homogénéisateur hautes pressions-

Comparaison des deux procédés

Pour les émulsions réalisées avec l'ultraturrax, nous avons étudié l'effet de la vitesse de rotation, pour l'homogénéisateur haute pression, nous avons étudié l'effet de la pression, à teneur en huile égale. Les émulsions obtenues par l'homogénéisateur sont 10 fois plus fines que celles obtenues par l'ultraturrax. Concernant la viscosité des émulsions, à basse teneur en huile (10%), aucune différence significative de viscosité n'est observée entre les émulsions réalisées à l'ultraturrax et celle réalisées à l'homogénéisateur. Pour des pourcentages plus élevés d'huile, l'ultraturrax donne des viscosités plus élevées que celles obtenues par l'homogénéisateur haute pressions (figure 3a). Lorsque l'on observe les courbes de granulométrie, on peut observer que cette différence de comportement correspond à une distribution granulométrique beaucoup plus large dans le cas de l'ultraturrax en plus d'un diamètre moyen plus élevé (figure 3b).



- Figures 3a et 3b : comparaison entre le procédé d'homogénéisation haute pression et l'ultraturrax pour une teneur en huile de 50%. (3a) : viscosité, (3b) : granulométrie -

Lorsque la teneur en huile augmente, la viscosité augmente également (figure 4). Dans notre domaine de travail (fraction volumique d'huile de 10% à 60%), la loi linéaire viscosité-

fraction volumique d'Einstein ne peut plus être appliquée (valable jusqu'à des concentrations de 10%) de par l'augmentation des interactions hydrodynamiques. Ainsi la viscosité réelle est plus élevée que celle prévue par l'équation d'Einstein. Afin de prendre en compte ces effets, différents types de modèles existent (McClements, 1999), ils sont établis en supposant qu'il n'y a pas d'interactions entre les gouttelettes. On peut ainsi utiliser une équation d'Einstein modifiée, ou utiliser l'équations de Quemada (Sherman 1968, McClements 1999) :

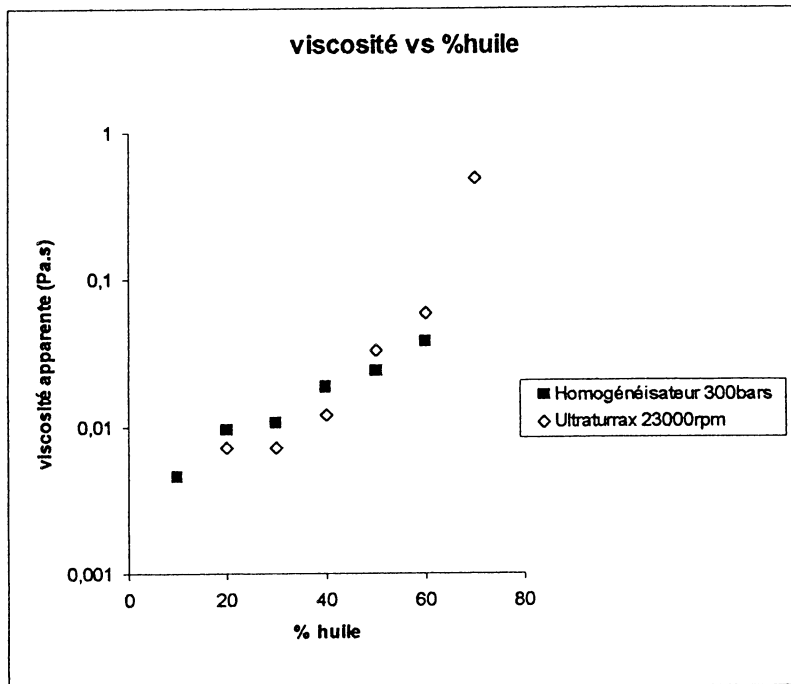
$$\eta = \eta_0 \cdot (1 + 2,5 \cdot \phi + b \cdot \phi^2 + c \cdot \phi^3 + \dots) \quad \text{Equation d'Einstein modifiée}$$

$$\eta = \eta_0 \cdot \left[1 - \frac{1}{2} \cdot k \cdot \phi \right] \quad \text{Equation de Quemada}$$

Dans le cas de nos émulsions, l'équation la mieux adaptée est la suivante :

$$\eta = 10^{-3} \cdot (1 + 15,82 \cdot \phi + 7 \cdot \phi^2) \quad r^2 = 0,97$$

Nous obtenons un terme de premier ordre qui n'est pas de 2,5 contrairement à l'équation d'Einstein modifiée ce qui signifie qu'il y a des interactions importantes entre les gouttelettes d'huile.



- figure 3 : évolution de la viscosité apparente avec le pourcentage d'huile-

Conclusion

Cette étude nous a permis de mettre en évidence les liens entre les propriétés rhéologiques et structurales des émulsions. Jusqu'à environ 40-50% d'huile, les émulsions ont un comportement newtonien, le diamètre moyen en volume des émulsions augmente légèrement que ce soit avec l'ultraturrax ou l'homogénéisateur hautes pressions. Les résultats rhéologiques montrent que les gouttelettes d'huile présentent des interactions (équation d'Einstein non applicable). Au dessus de 50% les émulsions présentent un comportement rhéofluidifiant d'autant plus marqué que le pourcentage en huile augmente. L'apparition de ce comportement correspond à une forte augmentation du diamètre moyen en volume et de la distribution granulométrique. D'autre part, l'ultraturrax qui forme des distributions beaucoup

plus larges que l'homogénéisateur haute pressions au dessus de 50% d'huile donne des émulsions à viscosité plus élevée.

Remerciement

Nous remercions P.Cantoni et L.Boillereaux pour l'aide efficace qu'ils nous ont apportée.

Bibliographie

- H.A Bames, J.F Hutton and K. Walters. 1996. An introduction to Rheology, Elsevier.
- P. Carreau, De Kee and Chabra. 1997. Rheology of Polymeric Systems, Hanser.
- D.J Mc Clements. 1999. Food Emulsions : Principle, practice and technique. Editeur F.M Clydesdale. CRC Press, New York.
- Sherman, 1968. Emulsions Science. Academic Press, London.
- G.Couarraze et J.L Grossiord. 1983. Initiation à la rhéologie. Tech et doc Lavoisier, Paris.
- C. Gallegos et al. 1997. Microstructure, rheology and processing of concentrated emulsions. Food Rheology and structure, Zürich 1997.

FORMULATION D'UN GEL A BASE DE NITRATE DE MICONAZOLE A 2 % APPROCHE RHEOLOGIQUE

Djedour¹, A. Hadj Sadok^{1,2}, K. Guerrouache²

1-Groupe SAIDAL, Centre de Recherche et de Développement 35, avenue Youcef BenKhettab El Mohammadia
Alger, Algérie.

2- Université de BLIDA, Institut de Chimie Industrielle, route de Soumaa 09000 Blida, Algérie.

Résumé :

L'objectif de l'étude exposée ci-dessous est la formulation galénique d'un gel doué d'une activité antifongique, grâce à l'utilisation des plans d'expériences comme méthodologie de travail et la caractérisation rhéologique du produit à mettre au point comme moyen d'approche. Cette stratégie a permis de limiter et d'optimiser le nombre d'essais d'une part, et d'étudier le comportement mécanique du gel d'autre part.

Les résultats de l'étude menée au sein de notre centre de recherche et de développement consignés ci-dessous, ne font que confirmer la place très importante qu'occupe la rhéologie dans l'industrie pharmaceutique tant pour les formes pâteuses que pour l'ensemble des autres préparations pharmaceutiques.

I Introduction :

Le gel est un système dispersé de structure colloïdale formant un réseau poreux au sein duquel disparaît tout mouvement de macromolécules dans le liquide de dispersion [1]. C'est l'interaction de la phase colloïdale, organique ou inorganique, qui confère la viscosité structurelle qui immobilise la phase continue liquide.

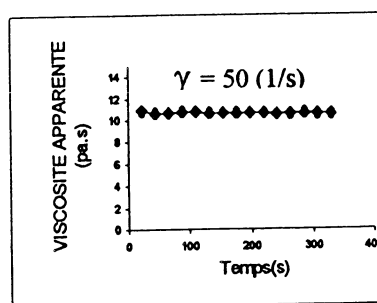
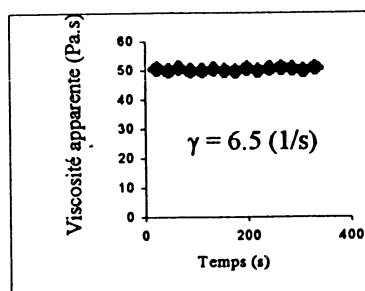
L'introduction d'un gélifiant dans une formulation doit mener à une nature presque solide durant la conservation, qui peut être facilement détruite lorsque la préparation est soumise à des forces de cisaillement produites par l'agitation d'un flacon, l'exercice d'une pression sur un tube ou durant l'application topique [2,3]. C'est cette difficulté à trouver un équilibre adéquat, dans la préparation, entre phase colloïdale et phase continue liquide qui incite le formulateur à avoir recours à la caractérisation rhéologique des systèmes dispersés et plus particulièrement des gels afin d'aboutir à un produit répondant aux exigences de qualité requises [4,5].

II Caractérisation rhéologique du produit de référence :

Nous avons caractérisé le comportement mécanique de deux lots différents du produit de référence afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats.

II-1 Etude expérimentale de viscosimétrie :

II-1-a Essais de relaxation :



Essais de relaxation sur le produit de référence à vitesse de cisaillement « γ » constante.

Les résultats ci-dessus proviennent des essais de relaxation réalisés sur deux lots de la spécialité à 2 % de Miconazole nitrate retenue comme étant le produit de référence par rapport auquel nos travaux ont été réalisés.

D'après les résultats de cette étude, lorsque l'on soumet le gel à des vitesses de cisaillement constantes (6.5 et 50), on note qu'il y a un alignement des points de façon presque horizontale. La valeur de la viscosité apparente de chaque essai varie très peu ; en effet cette dernière varie de :

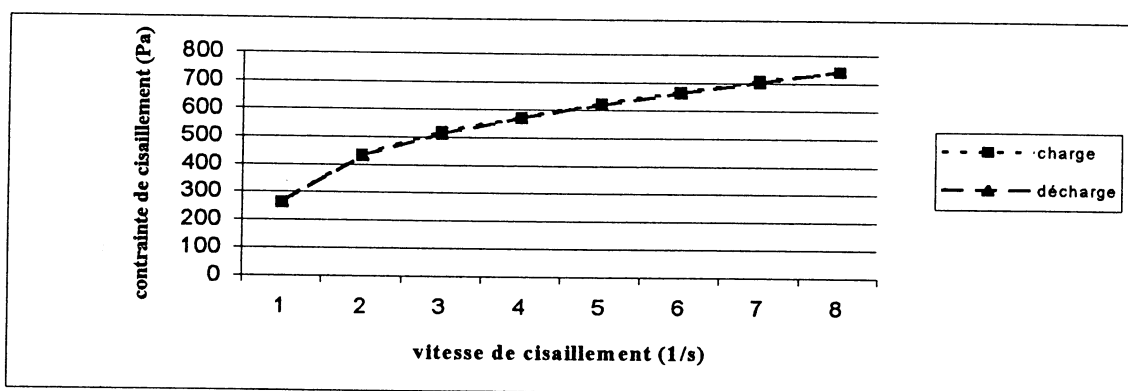
* $\gamma = 6.5$ (1/s) : de 49.9 à 51 Pa.s

* $\gamma = 50$ (1/s) : de 10.6 à 10.9 Pa.s

Ces résultats montrent que la viscosité apparente est stable et est indépendante du temps : il s'agit donc d'un produit non thixotrope.

II-1-b Expérience de charge et de décharge :

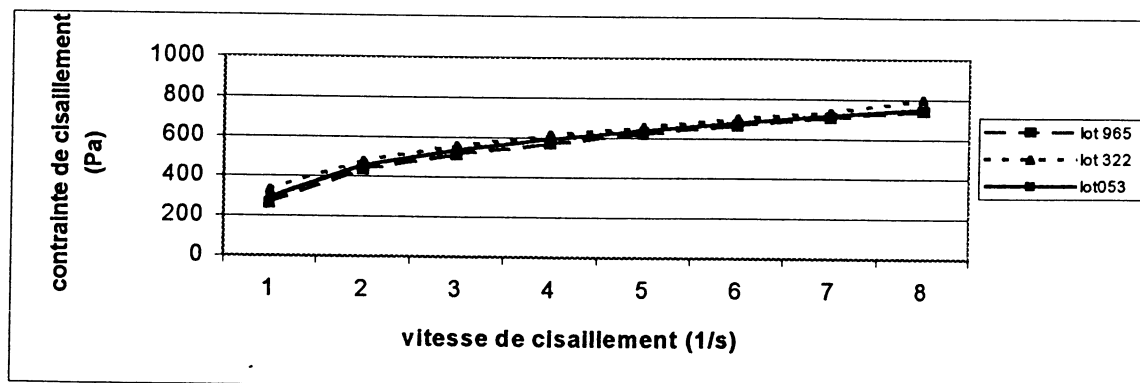
Par ailleurs nous avons établi la courbe d'écoulement (charge - décharge) qui montre que l'aire de la boucle d'hystérésis de ce produit de référence est très étroite (les deux courbes s'interposent), ce qui exclue par conséquent une thixotropie du produit de référence.



Courbe de charge et de décharge du produit de référence

II-1-c Essais de reproductibilité de la spécialité de référence:

Les résultats des rhéogrammes réalisés sur trois lots du produit de référence sont identiques, ce qui implique qu'il existe une bonne reproductibilité.



Courbe des contraintes de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement de la spécialité de référence.

II-1-d Discussion des résultats :

A partir des essais ci-dessus, il apparaît que le produit de référence est un fluide non Newtonien, non thixotrope, et qu'il existe une reproductibilité entre les lots.

II-2 Modélisation rhéologique :

Afin de représenter le comportement rhéologique de la spécialité de référence; nous avons balayé un ensemble de modèles rhéologiques [6,7,8]:

Casson généralisé : $\tau = \tau_0 + K \gamma^n + \eta_\infty \gamma$ $\tau \geq \tau_0$
 $\gamma = 0$ $\tau \leq \tau_0$

Casson : $\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + (\eta_c \gamma)^{1/2}$ $\tau \geq \tau_0$
 $\gamma = 0$ $\tau \leq \tau_0$

Sisko : $\tau = \eta\gamma + K\gamma^n$

Charm : $\tau = \tau_0 + K\gamma^n$ $\tau \geq \tau_0$
 $\gamma = 0$ $\tau \leq \tau_0$

Loi en puissance : $\tau = K \gamma^n$

Fluide Binghamien : $\tau = \tau_0 + \alpha \gamma$ $\tau \geq \tau_0$
 $\gamma = 0$ $\tau \leq \tau_0$

Charm avec n=0.5 : $\tau = \tau_0 + K\gamma^{0,5}$ $\tau \geq \tau_0$
 $\gamma = 0$ $\tau \leq \tau_0$

Les paramètres rhéologiques ont été déterminés par la méthode de régression des moindres carrés.

Le tableau ci-dessous donne les valeurs des paramètres relatifs à chaque loi à partir desquels nous avons choisi le modèle mathématique le plus approprié au produit.

Modèles	Paramètres	Contrainte seuil τ_0 (Pa)	Viscosité limite η (Pa.s)	Indice de consistance K	Indice de structure n	Dispersion D (%)
OSTWALD				214.298	0.207	0.372
CASSON		< 0	-	-	-	-
BINGHAM		360.68	1.204			2.56
CHARM		251.39		33.73	0.459	0.41
SISKO			0.498	251.238	0.141	0.372
CASSON GENERALISE		< 0	-	-	-	-
CHARM (n=0.5)		267.45		25.91		0.468

C'est la loi de Charm avec n=0.5 qui a été retenue car elle présente à la fois une dispersion faible et un nombre de paramètres réduit à deux, ce qui lui confère une plus grande stabilité.

III Formulation du gel :

III-1 Objectifs :

Le gel que nous nous proposons de formuler se présente sous forme d'un gel blanc, opaque, onctueux, dosé à 2 % en nitrate de Miconazole. Il est constitué de propylène glycol, de triéthanolamine, d'eau purifiée, d'EDTA et de résine carboxyvinyle (CARBOPOL®) et d'eau purifiée.

Les excipients qui conditionnent la consistance du gel et sur lesquels a porté notre étude sont :

- Le CARBOPOL[®] qui est l'agent gélifiant
- Le triéthanolamine
- Le propylène glycol

C'est en effet, les proportions de ces trois constituants que nous avons dû optimiser en utilisant les plans d'expériences, après avoir déterminé les marges éventuelles d'utilisation de ces derniers dans les préparations pharmaceutiques:

- Carbopol[®] 934 : de 0.5 à 2.5 g pour 100 g de produit fini
- Propylène glycol : de 14.45 à 16.45 g pour 100 g de produit fini
- Triéthanolamine : de 2 à 4 g pour 100 g de produit fini.

III-2 Méthodologie :

Le plan expérimental que nous avons adopté, en vue d'établir une formule de gel à 2 % de nitrate de miconazole stable et présentant le même comportement rhéologique que le produit de référence, est un plan d'expérimentation se basant sur la méthode du cubique simple [9,10]. Cette méthode permet de travailler avec un nombre minimal d'essai, qui est tributaire du nombre de variables de contrôle du problème. Elle consiste à localiser une surface de réponse puis à atteindre la solution optimale émanant d'un modèle mathématique polynomial.

Le domaine expérimental est un plan limité par trois segments formant un triangle équilatéral.

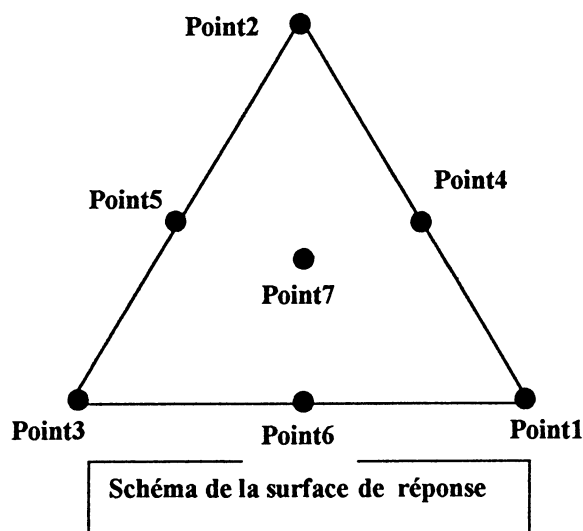
Les trois sommets de ce triangle représentent les concentrations extrêmes des excipients (essais n° 1,3,5), les essais 2,4 et 6 sont les points situés au milieu de chacune des trois arêtes; ces dernières représentant les axes X_i (tel que $X_1+X_2+X_3=$ constante), quant au point 7, il représente le centre de gravité du triangle (schéma ci-contre).

Dans notre étude, les variables de contrôle sont au nombre de trois :

X_1 : concentration du Carbopol 934 dans le gel en g pour 100 g de préparation (inconnue)

X_2 : concentration du triéthanolamine dans le gel en g pour 100 g de préparation (inconnue)

X_3 : concentration du propylène glycol dans le gel en g pour 100 g de préparation (inconnue)



Point (essai)	1	2	3	4	5	6	7
X_1	0.5	0.5	0.5	1.5	2.5	1.5	1.16
X_2	2.00	3.00	4.00	3.00	2.00	2.00	2.66
X_3	16.45	15.45	14.45	14.45	14.45	15.45	15.116

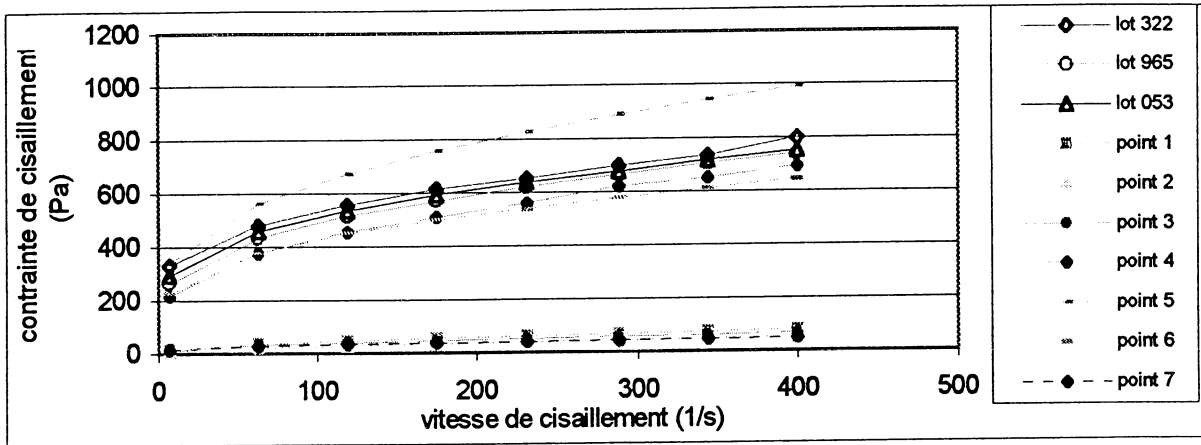
Matrice d'expériences

Le tableau ci-dessus représente les valeurs des variables de contrôle pour chaque essai à réaliser, les concentrations des excipients restants ayant été préalablement fixées au cours des études de préformulation.

Les variables de réponses sont les paramètres rhéologiques de la loi de Charm avec $n=0.5$, à savoir, l'indice de consistance K et la contrainte seuil τ_0 et le pH.

III-3 Caractérisation des différents essais :

Nous caractérisons le comportement rhéologique des différents essais du simplex et représentons les résultats de viscosimétrie de ces derniers ainsi que ceux de trois lots du produit de référence dans la figure ci-dessous. Les rhéogrammes obtenus sont tous non linéaires, et peuvent être modélisés par la loi constitutive de Charm avec $n=0.5$.



Rhéogrammes des différents essais de formulation et du produit de référence.

Les paramètres caractéristiques sont dressés dans le tableau ci-dessous :

Essais du simplex	1	2	3	4	5	6	7
Indice de consistance K	3.64	2.44	3.08	27.40	38.02	24.51	1.92
Contrainte seuil τ_0 (Pa)	6.66	1.61	4.59	149	247	168	11
pH	7.46	7.85	8.00	7.28	6.04	6.57	7.35
Dispersion D %	0.95	0.11	0.159	1.25	1.07	2.13	1.43

Valeurs des paramètres caractéristiques des différents essais.

A travers ces résultats (tableau ci-dessus), on peut supposer qu'il existe dans le domaine expérimental (simplex) des régions où le gel est plus consistant et présente une plasticité (contrainte seuil) plus grande, ainsi que des régions où le gel est moins épais. Ceci, nous permet de déduire l'existence d'une zone où le gel a les mêmes caractéristiques que la référence (zone optimale).

Pour déterminer la zone optimale, on modélise puis on simule les réponses caractéristiques en fonction des éléments figurés.

III-3 Modélisation et optimisation des réponses :

Nous modélisons la variation de « Y » (Y étant la variable de réponse) en fonction des concentrations des éléments figurés :

$$Y = a_1 \cdot X_1 + a_2 \cdot X_2 + a_3 \cdot X_3 + a_4 \cdot X_1 X_2 + a_5 \cdot X_1 X_3 + a_6 \cdot X_2 X_3 + a_7 \cdot X_1 X_2 X_3$$

Où a_i sont déterminés numériquement :

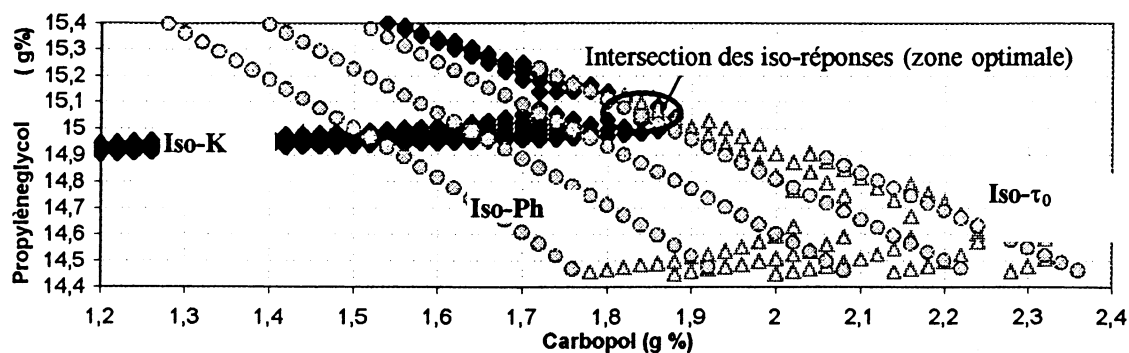
$$\tau_0 = -9817,9007 \cdot X_1 - 2083,3283 \cdot X_2 - 82,8631 \cdot X_3 + 4799,1732 \cdot X_1 X_2 + 702,3388 \cdot X_1 X_3 + 161,2522 \cdot X_2 X_3 - 330,424 \cdot X_1 X_2 X_3$$

$$K = -1653,0543 \cdot X_1 - 359,4367 \cdot X_2 - 13,4450 \cdot X_3 + 831,3796 \cdot X_1 X_2 + 117,6952 \cdot X_1 X_3 + 27,6463 \cdot X_2 X_3 - 57,0726 \cdot X_1 X_2 X_3$$

$$\text{pH} = 11,3018 \cdot X_1 + 1,0812 \cdot X_2 + 0,4414 \cdot X_3 - 4,5770 \cdot X_1 X_2 - 0,8494 \cdot X_1 X_3 - 0,04737 \cdot X_2 X_3 + 0,3347 \cdot X_1 X_2 X_3$$

Pour déterminer les réponses théoriques dans le domaine expérimental, on se propose de simuler celles-ci en fonction des variables X_1, X_2, X_3 .

Les résultats théoriques de simulation et l'identification de la zone optimale sont représentés dans la figure ci-dessous :



Courbes des iso-réponses des trois paramètres caractéristiques

L'indice de consistance K , varie entre 24 et 30 (valeur proche du produit de la spécialité de référence)

La contrainte seuil, τ_0 , varie entre 180 et 240 Pa (également proche du produit de la spécialité de référence)

Le pH, quant à lui, varie entre 6 et 7 et vérifie bien la condition indiquée dans le H.B.

L'intersection de toutes ces courbes (ellipse) donne le domaine où tous les paramètres vérifient en même temps ceux du produit de référence. Il s'agit du domaine :

- Carbopol : [1,78 et 1,87] g %
- Propylène glycol [15 et 15,3] g %
- Triethanolamine [1.81 et 2.11] g %

En remplaçant par exemple le point : 1,88 %, 1,97 %, 15,1% (qui fait partie du domaine optimal), dans les trois modèles de régression multilinéaire on trouve :

$$\begin{aligned} K &= 31.64 \\ \tau_0 &= 196.64 \text{ Pa} \\ \text{pH} &= 6.28 \end{aligned}$$

La réalisation expérimentale de cet essai avec les proportions choisies a révélé que le produit formulé présente un aspect similaire à celui de la spécialité et que les résultats expérimentaux de caractérisation obtenus sont également très proches de ceux du produit de référence :

$$\begin{aligned} K &= 28.51 \\ \tau_0 &= 220.02 \text{ Pa} \\ \text{pH} &= 6.15 \end{aligned}$$

V Conclusion :

La formulation d'un médicament reste une tâche difficile qui nécessite la maîtrise de nombreux domaines. Les contraintes économiques actuelles ne laissent plus aux formulateurs le loisir d'agir d'après leurs intuitions mais les obligent à procéder de façon méthodique afin d'aboutir à un produit sûr. L'utilisation des plans d'expériences comme méthodologie de travail a permis de restreindre le nombre d'essais à réaliser et de travailler de façon cohérente.

Dans cette étude, la combinaison entre les plans d'expériences et l'utilisation de l'approche rhéologique afin de caractériser notre produit, a permis d'aboutir à un produit

conforme d'un point de vue aspect, comportement rhéologique et pH en un laps de temps très réduit. Le gain qu'a pu apporter cette méthode de travail tant en matières premières (par l'utilisation rationnelle de celles-ci) qu'en facteur temps a donc été plus qu'appréciable.

Mots-clés : Rhéologie, Gel, Optimisation, Simplex, Viscosité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] RAOULT J.-M., Les gels, gélifiants et épaississants, Sci. Techn. pharm n°8 (1978)
- [2] Herbert A.LIEBERMAN, Martin M.RIEGER, Gilbert S.BANKER, Pharmaceutical Dosage Forms : Disperse Systems, Marcel Dekker, INC (1989)
- [3] DENOEL, JAMINET F. MOES A., Pharmacie Galénique, Tome III, formes liquides et systèmes dispersés, les presses universitaires de Liège A.S.B.L. (1981)
- [4] BARRY B.W., Evaluation of Rheological ground state of semi-solids., J.Soc.Cosmt.Chem.22, (1971)
- [5] CARLESS J.E and OCRAN J., Relation between particle shape, particle interaction and some rheological properties of hectorite dispersions, J.Pha.,24 (1972)
- [6] HADJ SADOK.A et al., Application au sang d'une relation de Casson généralisée: comparaison avec différents modèles. Les cahiers de rhéologie, Vol XII, numéro 2, 1994.
- [7] QUEMADA.D, Lois de comportement, modélisation macroscopique: viscosité, thixotropie, viscoélasticité. Techniques avancées en hérorhéologie, DPIC, INPL, Nancy (1983)
- [8] CHARM S.E, KURLAND G.S, Static method for determining blood yield stress. Nature (1967)
- [9] WEHRLE P., NOBELIS P., STAMM A., Principales méthodes d'optimisation employées en génie pharmaceutique. II- Les méthodes d'optimisation proprement dites, STP.Pharma,5 (10), (1989)
- [10] COHEN G., Méthodologie des choix du galéniste vers une optimisation de la formule., STP.Pharma, 6 (hors série), (1990)

RHEOLOGIE DES PATES DE FARINE DE BLE : ETUDE COMPARATIVE

Bornes, N.⁽¹⁾, Derail, C.⁽²⁾, Kesteloot, R.⁽³⁾, Surel, O.⁽¹⁾, et Tchozatchis⁽³⁾, M.

(1) Laboratoire d'Agrophysiologie de l'ESAP-75, voie du TOEC, 31076 TOULOUSE CEDEX 3.

(2) Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers-55, rue Rabelais, BP 748, 49007 ANGERS CEDEX 01.

(3) Institut Supérieur d'Agriculture de Lille-41, rue du Port, 59046 LILLE CEDEX.

Résumé :

Dans le but de proposer aux meuniers un nouvel appareil facile à mettre en œuvre, trois appareils de compression uniaxiale ont été comparés. Nous avons mis en évidence que tous les appareils sont capables de fournir une information équivalente au W de l'alvéographe. En outre, ils donnent des résultats proches qui sont peu influencés par le mode opératoire ou le manipulateur.

Abstract :

With the aim of submitting to millers a new device easy to bring into play, three uniaxial compression devices have been compared. We have displayed that all these devices are able to give an information equivalent to the alveograph W. Furthermore, they give close results which are not much influenced by the operating instructions or by the manipulator.

INTRODUCTION

Face à l'automatisation des procédés de transformation, les meuniers sont de plus en plus contraints de proposer aux boulangers des farines homogènes et ayant de très bonnes qualités boulangères.

Jusqu'à présent, de nombreux tests sont utilisés pour évaluer la qualité des farines comme principalement l'alvéographe de Chopin (Launay et al., 1977) ou encore le farinographe de Brabender (Bloksma, 1972). Ces tests offrent déjà une vision assez complète de la qualité des farines mais ils ne permettent pas de différencier toutes les farines ayant des qualités technologiques différentes.

Il existe d'autres méthodes comme la compression uniaxiale de pâtes de farine de blé sur lesquelles peu d'études ont porté pour le moment. Vovan et al. (1982) ont démontré que la meilleure technique pour déterminer la fermeté et l'élasticité de gâteaux de type « layer cake » est de comprimer l'échantillon entre deux plaques. Cornford et al. (1964), Guy et Wren (1968), Bishop et Wren (1971), Szczesniak et Hall (1975) et Bashford et Hartung (1976) ont utilisé les techniques de compression pour étudier la texture du pain. Mais la qualité devant être évaluée avant l'obtention du produit final, plus récemment, Bagley et Christianson (1986-1987), Bagley et al. (1988) ainsi que Maache et al. (1993) ont utilisé des techniques similaires sur les pâtes de farine de blé à faible teneur en eau.

Dans le cadre de cette étude, trois laboratoires ont testé un appareil de compression uniaxiale différent. Le premier objectif est de mettre en évidence si les trois machines de compression apportent des informations intéressantes sur la rhéologie des pâtes. L'intérêt majeur de ces appareils étant qu'ils sont très simples d'utilisation.

Pour que les comparaisons soient possibles, la même matière première et des modes opératoires proches ont été utilisés sur les trois sites.

Les résultats ont montré qu'il était possible dans tous les cas d'établir une corrélation entre les grandeurs mesurées grâce aux appareils de traction et le W, grandeur caractéristique de l'alvéographe.

1. PRODUITS UTILISES

- Farine (Caval, France). La farine utilisée sur les trois sites est de type 55. Elle a une note de panification de 225.5 avec la méthode commerciale ce qui correspond à une bonne farine. Elle a une bonne tenue au four et un bon volume. Cependant, elle présente un léger manque d'élasticité au pétrissage. L'alvéographe nous donne les valeurs suivantes de cette farine : $P = 104 \text{ mm H}_2\text{O}$, $G = 17.7$, $W = 273.10^{-4} \text{ J}$ et $P/L = 1.64$.

- L'eau utilisée est de l'eau minérale en bouteille plastique (Evian) et l'huile, une huile commerciale (Isio 4, Lesieur).

2. LABORATOIRE N°1

2.1. Préparation de la pâte

La pâte était préparée à l'aide d'un pétrin de laboratoire (VMI type Labo 25) à partir d'une masse de farine de 1200 g constante tout au long de l'étude. A cette farine étaient ajoutés de l'eau et du sel. La quantité de sel représentait, quel que soit le mélange, 2 % de la masse de farine soit 24 g et la quantité d'eau ajoutée était variable. Dans notre cas, elle s'échelonnait de 42.6 % à 48.6 % d'eau dans le mélange (ce pourcentage comprend l'eau contenue dans la farine au départ soit 14,29 %).

Le pétrissage était divisé en deux parties, 6' à la première vitesse (40 tr/mn) et 15' à une vitesse supérieure (80 tr/mn). A la fin de ces actions de mélange et de pétrissage, la pâte reposait 45' dans un sachet plastique. On divisait alors en trois parties égales la masse totale de pâte. Chaque partie était légèrement malaxée puis chacune était mise en sachet. Après 15', le premier tiers était mis en forme sur une table de laminage (Tripette et Renaud) lubrifiée puis recouverte d'un film plastique. Enfin, 8' après, on commençait l'expérience de compression en faisant des pâtons de 12 mm de hauteur et 30 mm de diamètre (environ 10 pâtons par lot). Cette opération était reprise sur les deux autres tiers de pâte qui nous permettaient de tester le temps de repos de la pâte après pétrissage avec le même protocole de laminage.

2.2. Matériel de rhéologie

La machine de traction utilisée était une Synergie 200N (MTS System, France). Elle était équipée d'un capteur de 1kN. Le pilotage des essais était assuré par le logiciel TestWorks. La sonde de compression était en plexiglass et avait le même diamètre que l'échantillon. Le plateau support en aluminium avait un diamètre supérieur à l'échantillon. Les deux surfaces en contact avec l'échantillon étaient lubrifiées.

2.3. Les essais

Le test de compression était réalisé à vitesse de traverse constante suivie d'une période de relaxation à position traverse constante. La vitesse de descente de la traverse était fixée à 15mm/min et la compression avait lieu sur 7 mm après détection du produit (force de 1N). On enregistrait alors l'évolution de la force en fonction du temps ou du déplacement. De cette courbe, nous pouvions particulièrement retirer la force maximum atteinte, le rapport entre la force maximum et la force atteinte après une relaxation de t secondes (avec t inférieur ou égal à 100 s), la valeur de la surface sous la courbe de montée de la force (énergie de compression).

2.4. Les facteurs étudiés

Nous avons étudié l'évolution des paramètres mesurés en fonction de la quantité d'eau dans le mélange et selon la valeur du temps de repos.

2.5. Résultats

Au cours de la préparation, on pouvait se rendre compte que plus le pourcentage d'eau dans le mélange était grand et plus il était difficile de mettre en œuvre l'échantillon qui devenait de plus en plus collant. Nous avons déjà montré par des expériences en cisaillement qu'il existe des relations entre les propriétés mécaniques et chaque pourcentage d'eau (Derail et al., 1998). Nous avons tracé, figure 1, l'évolution de la force maximum atteinte et celle de l'énergie. On constatait que lorsque l'hydratation augmentait, alors ces deux paramètres diminuaient mais jusqu'à un palier qui se situait autour de 46% d'eau. De plus, et même si les variations n'étaient pas très marquées, pour chaque paramètre, à un même pourcentage d'eau, on observait une diminution en fonction du temps de repos dans la phase de décroissance mais au delà de 46%, une inversion de la tendance avait lieu, très marquée pour le mélange à 49% puisque pour ce point particulier, les deux paramètres et notamment la valeur de la force maximum étaient plus importants pour le temps de repos le plus long. Tout se passait comme si nous avions un changement de régime du comportement viscoélastique.

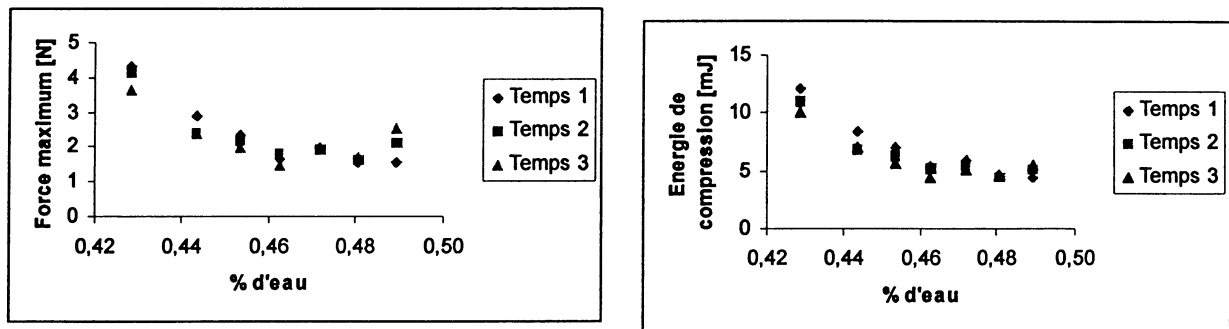


Figure 1 : Evolution de la force maximum et de l'énergie de compression en fonction du pourcentage d'eau et suivant le temps de repos.

3. LABORATOIRE N°2

3.1. Préparation des échantillons :

Les quantités respectives d'eau et de farine étaient calculées en fonction des valeurs d'humidité et de sel recherchées en tenant compte d'une humidité relative de la farine de 13 %.

A chaque pétrissage, on réalisait une quantité constante de 1,6 kg de pâte dans un mixer planétaire Santos – LaBovida, modèle 27 à la vitesse de 62,5 tours/min.

La pâte était ensuite laissée au repos pendant 45 min.

Elle était alors divisée en 6 boules qui, elles, avaient alors un temps de repos variable.

La pâte était alors laminée ($h=13$ mm) et les échantillons de compression coupés à l'emporte-pièce ($\varnothing = 44,5$ mm).

Ces échantillons étaient alors conservés dans des sacs plastiques jusqu'à leur utilisation.

3.2. Matériel de rhéologie

Machine universelle d'essai INSTRON, modèle 4301, capteur de 100 N

3.3. Essais

Deux types d'essais étaient réalisés :

- Relaxation : compression de l'échantillon de 50 % de sa hauteur initiale à vitesse de traverse constante (50 mm/min), suivie d'un maintien de la position de la traverse pendant 2 minutes.

- Double compression : l'échantillon était soumis à deux cycles successifs de déformation : compression de 50 % de la hauteur initiale suivie d'une remontée de la traverse à sa position de départ, le tout à 50 mm/min.

Lors des essais de relaxation :

- La lecture des enregistrements donnait des variables étant soit des forces (la force maximale pendant la compression, F_m (N) ; la force pendant la relaxation après un temps égal au temps mis pour la compression, $F_{t=montée}$ (N) et la force à la fin des deux minutes de relaxation, F_{2min} (N)) soit des énergies (l'énergie dépensée lors de la compression ($\int F.dx$), W_m (mJ) et l'impulsion durant la relaxation ($\int F.dt$), J (N.s)).

Lors des essais de « double compression » :

- Le traitement des enregistrements conduisait à des variables de même type (force maximale lors de la première compression, F_{m1} (N) ; force maximale lors de la deuxième compression, F_{m2} (N) ; le rapport entre ces deux forces, F_{m1}/F_{m2} (%) ; la déformation résiduelle en fin de premier cycle de déformation, $\square h_p$ (mm) ; un coefficient décrivant la forme du pic de compression, L_{pic} (%) ; le travail de compression lors du premier cycle de compression, W_{1m} (mJ) ; l'énergie restituée pendant la remontée de la traverse lors du premier cycle de compression, W_{1d} (mJ) ; l'énergie correspondant à l'adhésion de la pâte à l'outil pendant la remontée de la traverse lors du premier cycle de compression, W_{1c} (mJ) ; le travail de compression lors du deuxième cycle de compression, W_{2m} (mJ) ; l'énergie restituée pendant la remontée de la traverse lors du deuxième cycle de compression, W_{2d} (mJ) et l'énergie correspondant à l'adhésion de la pâte à l'outil pendant la remontée de la traverse lors du deuxième cycle de compression, W_{2c} (mJ)).

3.4. Facteurs étudiés

Le plan d'expérience était à 5 facteurs :

- Teneur en eau, avec deux niveaux : 44,2 et 46,4 % (masse d'eau / masse de pâte)
 - Teneur en sel, deux niveaux : 0,0 et 1,0 % (masse de sel / masse de pâte)
 - Temps de pétrissage, 4 niveaux : 15 – 21 – 30 et 35 minutes
 - Temps de repos des boules, 3 niveaux : 3 – 25 et 45 minutes
 - Temps de maintien dans les sacs plastiques, 2 niveaux : 0 et 8 minutes
- Chaque point du plan était répété quatre fois.

3.5. Traitements statistiques

L'ensemble des résultats était étudié par une analyse de la variance à 5 facteurs avec le modèle linéaire généralisé et un intervalle de confiance de 95 % (Minitab 12).

3.6. Résultats

Expériences de relaxation.

Les facteurs « teneur en eau », « teneur en sel » et « temps de pétrissage » étaient significatifs pour toutes les variables. Le facteur « temps de repos » était significatif pour toutes les variables sauf F_m et W_m .

Expériences de double compression.

Le facteur « teneur en eau » était significatif pour toutes les variables. Le facteur « teneur en sel » était significatif pour toutes les variables sauf F_{m1}/F_{m2} et $\square h_p$. Le facteur « temps de pétrissage » était significatif pour toutes les variables sauf pour les énergies mises en jeu lors des remontées de la traverse (W_{1d} , W_{1c} , W_{2d} , W_{2c}). Le facteur « temps de repos » était significatif pour toutes les variables sauf $\square h_p$ et W_{1m} .

3.7. Discussion

L'augmentation de la teneur en eau (de 44,16 % à 46,44 %) diminue les forces et les énergies mises en jeu lors de la compression, ainsi que l'ont déjà montré Navickis et al. (1982), J.R. Smith et al (1970), J.M. Faubion and R.C. Hosenev (1989) et J. Hardy et al. (1991).

De même, nous observons une diminution des forces et des énergies avec l'augmentation du temps de pétrissage (de 15 min à 35 min) avec un palier entre 21 et 30 min. Ce comportement a déjà été décrit (E.Miki et al., 1996) pour des temps effectivement supérieurs à 10 min. Par contre, il a été montré (J.M. Faubion and R.C. Hosenev, 1989) un comportement opposé lorsque le temps de pétrissage restait inférieur à 8 min.

4. LABORATOIRE N°3

4.1. Matériel

- Pétrin de l'alvéographe MA 82 (Chopin, France). Il permettait le pétrissage de la pâte et son extrusion. De forme sigmoïde, le bras du pétrin tournait à une vitesse de 60 ± 1 rotations par minute. L'encoche de l'extrusion était de 50 ± 1 mm de largeur et d'environ 5,5 mm de haut. Un système de thermostatation de l'appareil maintenait une température de 20°C. La chambre isothermique de l'alvéographe, maintenue à 24°C, était utilisée pour le repos des pâtons.

- Machine d'essais (Texturomètre TA500 (Lloyd, France)). Les pâtons étaient déposés sur un plateau inférieur carré de dimension 100 mm X 100 mm. La sonde de pénétration était un cylindre de un demi pouce supporté par un capteur de 10N. Le traitement des données était réalisé à l'aide du logiciel Windows R Control (version 1.3) (Lloyd, France).

4.2. Préparation de la pâte et déroulement d'un essai

La pâte testée par le texturomètre était réalisée de la même manière que des pâtons destinés à un alvéographe (NF VO3-710). 250g de farine étaient mis en présence d'une quantité d'eau d'environ 136 mL. Cette quantité a été déterminée selon la capacité de la farine à absorber l'eau afin d'obtenir une pâte à hydratation optimale (à consistance constante équivalente à 500 unités Brabender).

La pâte était pétrie dans le pétrin d'un alvéographe pendant 8 minutes dont 1 minute était utilisée pour bien décoller la farine et les bouts de pâte dans les coins en début de pétrissage. Cinq pâtons étaient ensuite extrudés et laminés à une hauteur de 9 mm à l'aide de six aller-retours du rouleau de laminage. Ils étaient alors découpés avec un emporte-pièce d'un diamètre de 46 mm. Les différents échantillons étaient alors bien homogènes et étaient laissés au repos pendant 20 minutes dans une enceinte à température constante de 24°C. Le repos des pâtons permettait d'éliminer les tensions créées lors de l'extrusion et du laminage. Ils étaient alors prêts à être testés. Le temps de repos était comparable pour chaque échantillon car ils étaient extrudés l'un après l'autre, puis ensuite, ils étaient testés dans le même ordre.

A partir de la fin du pétrissage, toutes les surfaces en contact avec la pâte étaient lubrifiées afin d'éviter que la pâte ne se colle.

Sous forme de disques, les échantillons de pâte étaient posés sur le plateau inférieur. Dans un premier temps, la traverse descendait à une vitesse de 20 mm/mn jusqu'à une profondeur de 5 mm dans l'échantillon. Puis le plateau supérieur était maintenu à cette profondeur pendant 60 secondes.

Le texturomètre mesurait la force de résistance de la pâte et le travail fourni en fonction du temps. Le logiciel pouvant exprimer de multiples résultats, nous avons choisi les suivants :

- la force maximale (N), obtenue à la fin de la descente de la traverse,

- la force minimale (N), force de résistance de la pâte obtenue après 60 secondes de maintien de la sonde à une profondeur de 5 mm,
 - le travail (mJ), fourni pendant la durée totale du test,
 - le taux de relaxation (%) : $\frac{((\text{force maximale} - \text{force minimale}) / \text{force maximale}) \times 100}{}$.
- Il reflète l'élasticité de la pâte qui représente la capacité de la pâte à reprendre sa forme initiale après avoir subi une contrainte. Plus le taux de relaxation diminue, plus l'élasticité croît.
- et le rapport force maximale / surface de la sonde (N/m²).

Pour chaque résultat, nous avons effectué deux pétrissages différents comportant chacun cinq échantillons. Le nombre total d'échantillons est donc de 10. Les coefficients de variations sont tous inférieurs à 10%.

4.3. Modification des résultats lorsque l'on fait varier certains paramètres

Les conditions standards décrites précédemment ont été modifiées pour étudier les paramètres suivants un par un :

- ⊗ La vitesse de descente de la traverse : 5-10-20-30-40 et 50 mm/min.
- ⊗ La profondeur d'enfoncement de la traverse : 2.5-3.5-5-6.5 et 8 mm.
- ⊗ Le taux d'hydratation de la pâte : 40-43-44.3-46 et 47%.

4.4. Résultats obtenus avec l'appareil n°3

4.4.1. Critères différenciant les mieux les farines entre elles

Pour la plupart des conditions opératoires étudiées, parmi les résultats obtenus, c'étaient la force maximale et le travail qui variaient le plus lorsque les conditions étaient modifiées. Ils variaient plus d'une qualité à l'autre de la farine, ils étaient donc plus discriminants. C'étaient les résultats les plus intéressants à observer pour distinguer deux pâtes de qualité différente.

4.4.2. Influence de la vitesse de descente de la traverse et de la profondeur de descente de la traverse

Les figures 2 et 3 montraient que la force maximale et le travail étaient très fortement corrélés linéairement à la vitesse de descente de la traverse (coefficients de corrélation respectifs 0,9906 et 0,9920 soit hautement significatifs) et légèrement moins à la profondeur de descente de la traverse (coefficients de corrélation respectifs 0,9586 et 0,9813 soit également hautement significatifs). Dans les deux cas, la corrélation était positive.

4.4.3. Influence du taux d'hydratation de la pâte

Figure 2 : force maximale et travail en fonction de la vitesse de descente de la traverse

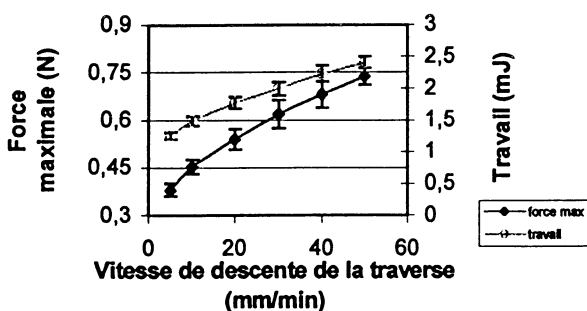
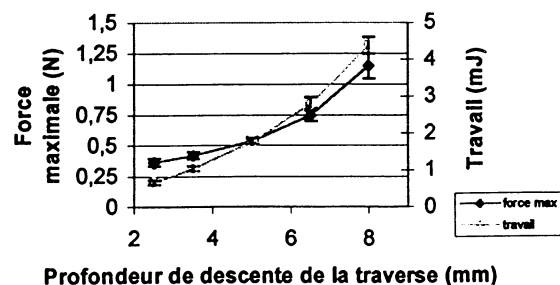


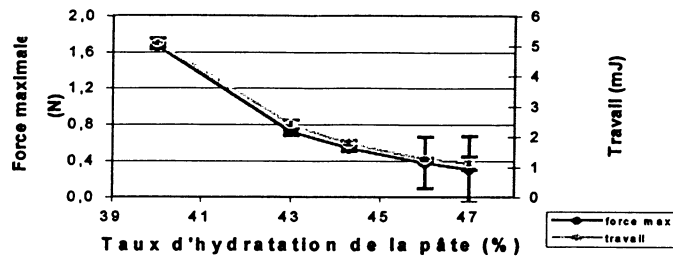
Figure 3 : force maximale et travail en fonction de la profondeur de descente de la traverse



La force maximale et le travail avaient une courbe de même allure (figure 4). Ils étaient plus élevés avec un taux d'hydratation de la pâte faible puis ils diminuaient fortement

alors que le taux d'hydratation de la pâte progressait jusqu'à 43%. Au-delà de ce taux d'hydratation, la force maximale et le travail continuaient à diminuer mais alors très lentement. On observait une courbe logarithmique.

Figure 4 : force maximale et travail en fonction du taux d'hydratation de la pâte



COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS AVEC LES DIFFERENTS APPAREILS

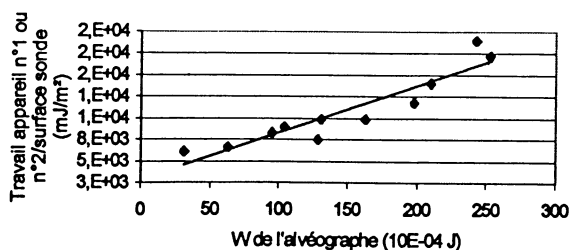
Lorsque l'on observait la corrélation entre le travail fourni par un des trois appareils et le W de l'alvéographe, on obtenait les coefficients de corrélation et les équations de droite de régression suivants :

APPAREIL UTILISE DANS LE LABORATOIRE N°1		
Temps de repos	Coefficient de corrélation	Equation de régression
60 mn	0.9349	$Y=46.3X+3478$
120 mn	0.8644	$Y=36.0X+4346$
165 mn	0.7960	$Y=28.3X+4812$
APPAREIL UTILISE DANS LE LABORATOIRE N°2		
45 mn	0.9625	$Y=18.5X+1585$
APPAREIL UTILISE DANS LE LABORATOIRE N°3		
20 mn	0.9655	$Y=67.9X+1310$

La corrélation était significative entre le W de l'alvéographe et l'ensemble des travaux déterminés sur les trois appareils de compression. Cependant, on observait que plus le temps de repos était long, moins la corrélation était bonne (le coefficient de corrélation diminuait).

Comme les résultats entre les mesures du travail de l'appareil n°1 et celles du travail de l'appareil n°3 n'étaient pas trop éloignés, nous avons regroupé ces valeurs pour déterminer une seule corrélation : la corrélation entre le W de l'alvéographe et le travail fourni soit par l'appareil n°1 soit par l'appareil n°3 (figure 5). On obtenait encore une corrélation linéaire très significative bien qu'il y ait des valeurs du travail provenant de deux appareils différents.

Figure 5 : travail déterminé avec l'appareil n°1 ou n°3 en fonction du W de l'alvéographe



Equation de la droite générale	$y=54,4x+2846$
Coefficient de corrélation général	0,93059121

DISCUSSION - CONCLUSION

L'ensemble des résultats nous montre bien que les trois appareils étudiés fournissent les mêmes tendances de résultats : la force maximale et le travail (ou énergie de compression) diminuent de manière logarithmique avec l'augmentation de la teneur en eau de la pâte (Navickis et al., 1982 ; J.R. Smith et al, 1970 ; J.M. Faubion and R.C. Hosenev, 1989 et J. Hardy et al., 1991).

En outre, le W de l'alvéographe est corrélé linéairement et significativement avec les différents travaux déterminés à partir des trois appareils de compression. Cependant, cette corrélation est affectée par des temps de repos croissants.

Il est également intéressant de voir que le W de l'alvéographe reste corrélé linéairement aux travaux déterminés par les différents appareils confondus. Ceci montre bien que quelque soit l'appareil et le mode de préparation de la pâte, on obtient des résultats très proches. Nous pouvons dire que les résultats dépendent peu du matériel utilisé, du mode opératoire effectué, du lieu ou de l'opérateur.

La compression uniaxiale peut donner une information équivalente au W de l'alvéographe (le travail fourni pendant la compression) et elle est une méthode facilement utilisable et facilement adoptable pour les meuniers.

Il serait intéressant de trouver les moyens de mesurer avec ces appareils de compression uniaxiale des caractéristiques de la pâte, telles que son élasticité, qui sont peu exploitées jusqu'à présent et qui reflètent bien ce qui se passe pendant le processus industriel de transformation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAGLEY, E.B., CHRISTIANSON, D.D., MARTINDALE, J.A., 1988. Uniaxial compression of a hard wheat flour dough : data analysis using Upper Convected Maxwell model. *J. of Text. Studies*, 19, 289-305.
- BAGLEY, E.B., CHRISTIANSON, D.D., 1986. Response of commercial chemically leavened doughs to uniaxial compression.
- BAGLEY, E.B., CHRISTIANSON, D.D., 1987. Stress relaxation of chemically leavened dough-data reduction using the BKZ elastic fluid theory. *J. Rheol.*, 31, 405-413.
- BASHFORD, L.L., HARTUNG, T.E., 1976. Rheological properties related to bread freshness. *J. of Food Science*, 41, 446.
- BISHOP, E.C., WREN, J.J., 1971. A method for measuring the firmness of whole loaves of bread. *J. Food Technol.*, 6, 409.
- BLOKSMA, A.H., 1972. Rheology of wheat flour doughs. *J. of Text. Studies*, 3, 3-17.
- CORNFORD, S.J., AXFORD, D.W.E., ELTON, G.A.H., 1964. The elastic modulus of bread crumb in linear compression in relation to staling. *Cereal Chem.*, 41, 216.
- DERAIL, C., KERLO, L., MARIN, G., *GFR* 98, Biarritz, les 12-14 Octobre 1998
- FAUBION, HOSENEV, R.C., 1989. The viscoelastic properties of wheat flour dough, dough rheology and baked product texture. Edited by H. Faridi et J. M. Faubion. Van Nostrand Reinhold, New York, p29-66 (76 ref. En.).
- GUY, R.C.E., WREN, J.J., 1968. A method for measuring the firmness of the cell wall material of bread. *Chem. & Ind.*, 7, 1727.
- HARDY, J., BARTHES-BIESEL, D., BOUVIER, J.M., CARTALOS, U., CARULLI, J., 1991. Comportement rhéologique des pâtes de farine de blé en relation avec le procédé cuisson-extrusion. Chap. I, Connaissance de la matière première la farine de blé avant cuisson-extrusion, p2-6, p48-60.
- LAUNAY, B., BURE, J., PRADEN, J., 1977. Use of the Chopin Alveograph as a rheological tool. I. Dough deformation measurements. *Cereal Chem.*, 54, 1042-1048.
- MAACHE, Z., BOUVIER, J.M., PATRAS, C., 1993. Modélisation du comportement rhéologique des pâtes de farine de blé en compression uniaxiale. 4^{ème} Congrès Français de Génie des Procédés, 21-23 septembre, Grenoble. *Recueils de versions courtes*, 139-140.
- MIKI, E., ZOUTA, H., YAMANO, Y., 1996. Stickiness of wheat flour dough, *J. of Sci. And Techn.*, 43 (5) : 472-479.
- NAVICKIS, L.L., ANDERSON, R.A., BAGLEY, E.B., JASBER, G.B.K., 1982. Viscoelastic properties of wheat flour doughs : variation of dynamic moduli with water and protein content. *J. Text. Studies*, 13 : 249-264.
- SMITH, J.R., SMITH, T.L., TSCHOEGL, N.W., 1970. Rheological properties of wheat flour doughs. III. Dynamic shear modulus and its dependence on amplitude, frequency and dough composition. *Rheol. Acta*, 9 : 239-252.
- SZCZESNIAK, A.S., HALL, B.J., 1975. Application of the general foods texturometer to specific food products. *J. of Text. Studies*, 6, 117.
- VOVAN, X., CASTAIGNE, F., JOBIN, M., BOUDREAU, A., 1982. Comparaison de différentes méthodes d'évaluation de la texture des gâteaux de type « layer cake ». *Sc. Des aliments*, 2 (1982), 195-206.

CARACTERISATION DE LA TRANSITION SOL-GEL : COMPARAISON D'une METHODE RHEOLOGIQUE ET D'UNE METHODE ACOUSTIQUE

P.Griesmar*, B. Sénouci**, A. Ponton†, S. Serfaty**, S. Warlus*, M. Gindre**, G. Gouédard‡ et P. Figuière*

*Laboratoire de Chimie des Matériaux Inorganiques

**Laboratoire de Modélisation et Optimisation des Systèmes en Electronique

‡Laboratoire de Physique des Matériaux et Surfaces

Université de Cergy Pontoise, 5 mail Gay Lussac, F-95031 Cergy Pontoise Cedex

†Laboratoire de Biorhéologie et d'Hydrodynamique Physico-chimique
Université Denis Diderot Paris VII, 2 Place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05

Résumé:

La caractérisation de la transition sol-gel a été effectuée en parallèle par une méthode acoustique et par une méthode rhéologique. La première est basée sur la modification d'une onde acoustique se propageant dans le matériau. L'apparition de fréquences de résonance dans le spectre acoustique permet de déterminer le temps de gélification. La seconde permet de caractériser les propriétés viscoélastiques des gels à partir des mesures du module complexe de cisaillement en fonction de la fréquence. La détermination du temps de gélification a été effectuée selon le critère de Winter qui indique que la dépendance en fréquence du module est décrite par une loi en puissance lors de la formation du gel. Nous avons étudié la gélification à température ambiante de matrices sol-gel à base de silice. Cette approche combinant deux techniques complémentaires peut être appliquée à différents matériaux présentant une transition liquide-gel.

I INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, les verres et les céramiques sont fabriqués à partir de poudres que l'on fait réagir à haute température, au dessus de 1000°C. Leur mise en forme se fait ensuite par fusion ou par frittage. Les quantités d'énergie mises en jeu lors de l'élaboration de ces matériaux constituent un handicap pour les procédés industriels. Ceci a conduit au développement de nouvelles méthodes de synthèse. Ces dernières connues sous le nom de procédés sol-gel mettent en jeu des réactions de chimie douce qui permettent la fabrication de nouveaux matériaux avec des applications originales [1]. On peut ainsi obtenir par exemple des céramiques en passant par une phase gel amorphe à partir d'un précurseur inorganique en solution. Selon la nature du précurseur, les gels peuvent se présenter sous forme de fibres, de films ou de blocs monolithiques. De plus, les matrices sol-gel élaborées en milieu organique, permettent l'incorporation de molécules conférant des propriétés spécifiques dans des domaines aussi variés que l'optique ou la biologie par exemple.

Un des paramètres importants du procédé sol-gel est le temps de gélification qui permet d'estimer le temps à partir duquel il y a formation d'un réseau tridimensionnel de la phase gel. A notre connaissance, il n'existait pas jusqu'à présent de technique d'investigation en temps réel et non destructrice de la transition sol-gel.

Nous présentons dans ce travail une caractérisation de la transition sol-gel de matériaux à base d'alcoxyde de silicium à l'aide simultanément d'une méthode acoustique et d'une méthode rhéologique.

En effet, l'existence de fréquences de résonance dans le domaine de l'audible (20-20000 Hz) dans une matrice sol-gel, nous a conduit à mettre au point une méthode basée sur la modification d'une onde acoustique au cours de sa propagation dans le matériau lors de la gélification.

De même, les gels sont des matériaux qui présentent à la fois les propriétés des liquides et des solides leur conférant ainsi un comportement viscoélastique intéressant. La rhéologie est alors un outil puissant pour étudier les processus de gélification. L'évolution de la structure a un effet important sur la mobilité moléculaire qui se traduit par un changement de viscosité et d'élasticité. Le comportement auto similaire des propriétés mécaniques au voisinage du temps de gélification peut être mis à profit pour déterminer ce paramètre à partir de mesures du module complexe de cisaillement en fonction de la fréquence [2].

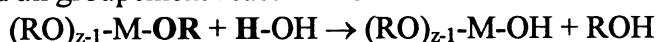
Nous avons ainsi déterminé le temps de gélification pour des matrices à base d'alcoxyde de silicium en fonction du taux d'hydrolyse pour une concentration en silicium et une température fixes.

II PARTIE EXPERIMENTALE

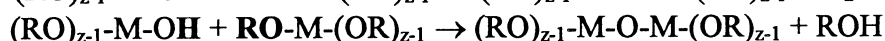
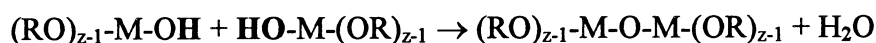
II.1 Présentation des matrices étudiées

Le procédé sol-gel consiste à former un réseau d'oxyde par polymérisation de précurseurs moléculaires du type $M(OR)_Z$ où M est un métal et R un groupement alkyle. Cette polymérisation peut se décomposer en deux étapes principales :

Hydrolyse : création d'un groupement réactif M-OH



Condensation : élimination d'une molécule d'eau ou d'alcool et formation d'un pont oxo M-O-M



Ces deux premières étapes sont en fait concertées et peuvent conduire à la formation d'un sol, d'un gel ou d'un précipité. Suivant les conditions opératoires, on peut favoriser l'une ou l'autre de ces réactions.

Le contrôle de ces deux étapes est essentiel pour l'optimisation de la mise en forme des matériaux. La maîtrise de la réactivité des précurseurs moléculaires est donc capitale. L'ajout de catalyseurs ou d'inhibiteurs permet de favoriser soit l'hydrolyse, soit la condensation et dépend entre autres de la nature de l'alcoxyde de départ choisi.

Notre étude concerne les gels de silice élaborés à partir de tétraméthoxysilane (TMOS). Le méthanol constitue le solvant de la matrice sol-gel. L'hydrolyse est déclenchée par l'ajout d'eau permutée.

Le catalyseur choisi est un activateur nucléophile, la diméthylaminopyridine (DMAP). Il permet d'accroître la déprotonation conduisant à la formation d'espèces très ramifiées puis à des particules colloïdales denses [3]. Le taux de catalyseur par rapport à la concentration en silicium a été fixé ($DMAP/TMOS = 0,003 \text{ mol/mol}$). Nous avons fait varier un paramètre : le taux d'hydrolyse $h = H_2O/Si$ ($2 < h < 8$). La concentration en silicium ainsi que la température ont été fixées ($[Si] = 1.84 \text{ mol.L}^{-1}$; $T = 25^\circ\text{C}$).

II.2 Principe de la mesure acoustique

La transition sol-gel est caractérisée par le passage d'un état liquide (désordonné), le sol, vers un état ordonné à courte distance, le gel. L'intérêt d'utiliser les ondes acoustiques pour suivre cette transition s'appuie sur deux caractéristiques physiques simples : pendant la phase liquide, l'onde acoustique se propage à travers la matrice sol-gel sans se déformer. En revanche, dans un état gel il apparaît deux modes de propagation longitudinal et transversal caractéristiques de la matrice. Le déphasage des différentes ondes engendrées par les multiples réflexions aux limites du gel provoque l'apparition de fréquences caractéristiques (correspondant aux ondes constructives). Ce sont précisément ces résonances que l'on cherche à détecter afin de suivre l'évolution du gel.

Le montage expérimental est présenté figure 1.

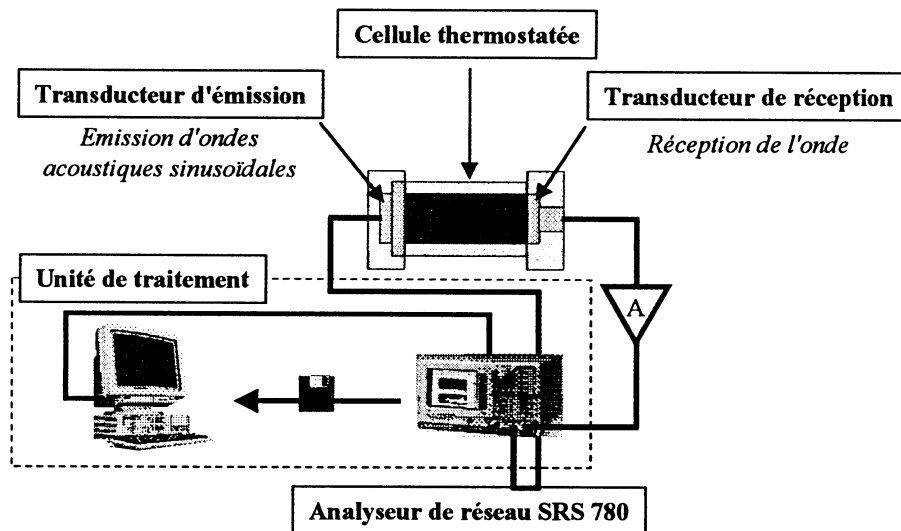


figure 1: Montage expérimental de la mesure acoustique

Il est constitué d'une cellule thermostatée dans laquelle on introduit la matrice sol-gel à l'état liquide. La cellule est un cylindre de 10mm de rayon et 25mm de long, ouvert aux deux extrémités. L'étanchéité du récipient est assurée par un film plastique placé à chaque extrémité.

Pour suivre l'évolution de cette matrice, un transducteur placé à une extrémité du récipient génère une onde acoustique. A l'autre extrémité, un microphone capte le signal transmis à travers la matrice. Un amplificateur large bande (0.3 Hz- 30 kHz) de gain 25, fournit le signal amplifié à l'unité de traitement de l'information.

Afin de minimiser la sensibilité aux bruits ambiants et d'avoir la plus grande dynamique possible, on applique au transducteur 30 périodes d'un signal sinusoïdal de fréquence f et par une détection synchrone, on obtient l'amplitude et la phase de la réponse de la matrice sol gel à cette fréquence. En changeant la fréquence d'excitation du transducteur, on obtient la fonction de transfert complexe de l'ensemble transducteur -matrice sol gel -microphone, $H_{(i),t}(\omega)$. Cette fonction de transfert $H_{(i),t}(\omega)$ peut s'exprimer comme étant le rapport des tensions $V_{s,t}(\omega)$ et $V_{e,t}(\omega)$:

$$H_{(i),t}(\omega) = \frac{V_{s,t}(\omega)}{V_{e,t}(\omega)} \quad (1)$$

où $V_{s,t}(\omega)$ et $V_{e,t}(\omega)$ sont respectivement les tensions mesurées à la sortie et à l'entrée de la cellule de mesure.

La source de signaux, intégrée à l'analyseur de réseau SRS 780, balaye en 100 secondes, par pas de 4Hz, (soit 450 points de mesures), le domaine de fréquence 200 – 2000 Hz.

La réponse du transducteur et du microphone n'étant pas indépendante de la fréquence, on applique une correction déterminée par la fonction de transfert mesurée au début de l'expérimentation, c'est à dire dès que la solution est versée dans le récipient. On obtient ainsi l'évolution de la fonction de transfert en fréquence pour les matrices sol gel étudiées.

II.3 Principe de la mesure rhéologique

Nous avons effectué les mesures rhéologiques à l'aide d'un rhéomètre de type Couette fonctionnant à contrainte imposée (Haake RS150). La géométrie de mesure est un cône plan dont les dimensions sont 4° pour l'angle et 6 cm pour le diamètre. L'entrefer correspondant est de 0.145 mm. Le volume de l'échantillon est 6.3 mL.

La température est contrôlée à l'aide d'un bain thermostaté avec une précision de +/- 0.1°C.

Les problèmes éventuels d'évaporation au cours des mesures sont minimisés en utilisant un piège à solvant au dessus de la géométrie de mesure dans laquelle est introduit l'échantillon.

Nous avons effectué des mesures rhéologiques dynamiques en appliquant une contrainte sinusoïdale pour cinq fréquences comprises entre 0.1 Hz et 0.7 Hz. La plage de fréquence est nécessairement limitée à cause de l'évolution rapide des systèmes lors de la transition sol-gel. De plus le temps de mesure doit être très inférieur au temps de gélification.

Le module de cisaillement complexe et la viscosité complexe sont alors déduits de la déformation mesurée.

L'amplitude de la contrainte appliquée est fixée à $\sigma = 0.05$ Pa dans le domaine viscoélastique linéaire.

Le protocole expérimental utilisé comprend une succession de balayages en fréquence entrecoupés par des temps d'attente sous contrainte nulle afin d'éviter les effets d'interaction entre les mesures rhéologiques et le processus de gélification.

La détermination du temps de gélification est basée sur la propriété d'auto similarité du spectre de relaxation du module de cisaillement [2]. Winter et al. ont montré en utilisant cette propriété que les parties réelle et imaginaire du module de cisaillement suivent la même loi de puissance en fonction de la fréquence :

$$G'(\omega) \propto G''(\omega) \propto \omega^\Delta \quad (2)$$

où Δ est un exposant de relaxation dont les valeurs sont comprises entre 0 et 1.

D'après l'équation (2), on peut en déduire que le déphasage δ ne dépend pas de la fréquence et est proportionnel à Δ suivant la relation:

$$\tan \delta = G''(\omega) / G'(\omega) = \text{cst} = \tan(\Delta\pi / 2) \quad (3)$$

Ainsi le temps de gélification peut être déterminé par le point d'intersection des courbes représentant $\tan \delta$ en fonction du temps à plusieurs fréquences.

III RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Mesure acoustique

L'évolution de la fonction de transfert pour une matrice à base de silice met en évidence l'apparition et l'évolution de fréquences de résonance au cours du temps. La figure 2a montre cette évolution pour une matrice où $[Si] = 1,84 \text{ mol.L}^{-1}$ et le taux d'hydrolyse $h = 7$.

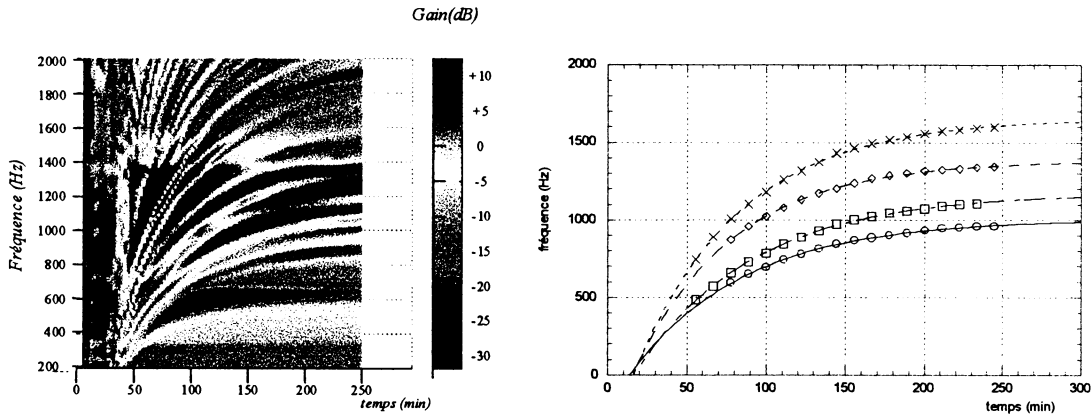


figure 2: Pour une matrice sol-gel où $[Si] = 1,84 \text{ mol.L}^{-1}$ et le taux d'hydrolyse $h = 7$:
 a) Evolution des fréquences de résonance et leur intensité au cours du temps
 b) Evolution des maxima des fréquences de résonance au cours du temps

Ces fréquences qui semblent être issues d'un point unique atteignent un palier au bout de quelques heures.

On extrait des points expérimentaux des courbes de niveaux obtenues par le traitement informatique (fig.2a). On ajuste ensuite ces points expérimentaux (figure 2b) au moyen du modèle d'ordre 1 (équation 4) :

$$f_n(t) = f_n(\infty) \times e^{-\left(\frac{t-t_g}{\tau}\right)} \quad (4)$$

où $f_{n(\infty)}$ représente la fréquence de résonance à un temps très long (t_{∞}) de la matrice au terme de son élaboration [4], $f_{n(\infty)}$ est soit la fréquence fondamentale du système, soit une de ses harmoniques, $(t-t_g)$ représente le décalage entre le résultat des mesures où le milieu est un sol, et l'apparition des premiers signaux de résonance caractérisant la transition sol-gel ($t = t_g$) et τ représente la constante de temps du système acoustique résonant.

Une extrapolation numérique à l'aide du fit nous permet de déterminer le temps de gélification. Le résultat de l'ajustement nous fournit également les fréquences de résonances $f_n(\infty)$. Dans notre exemple, le temps de gélification déterminé est de 1080 s.

III.2 Mesure rhéologique

La figure 3 présente les variations de $\tan \delta$ en fonction du temps pour différentes fréquences et pour un taux d'hydrolyse $h = 7$. Nous avons déterminé le temps de gélification t_g comme décrit auparavant par le point d'intersection des différentes courbes. Pour l'exemple donné $t_g = 1175 \text{ s}$.

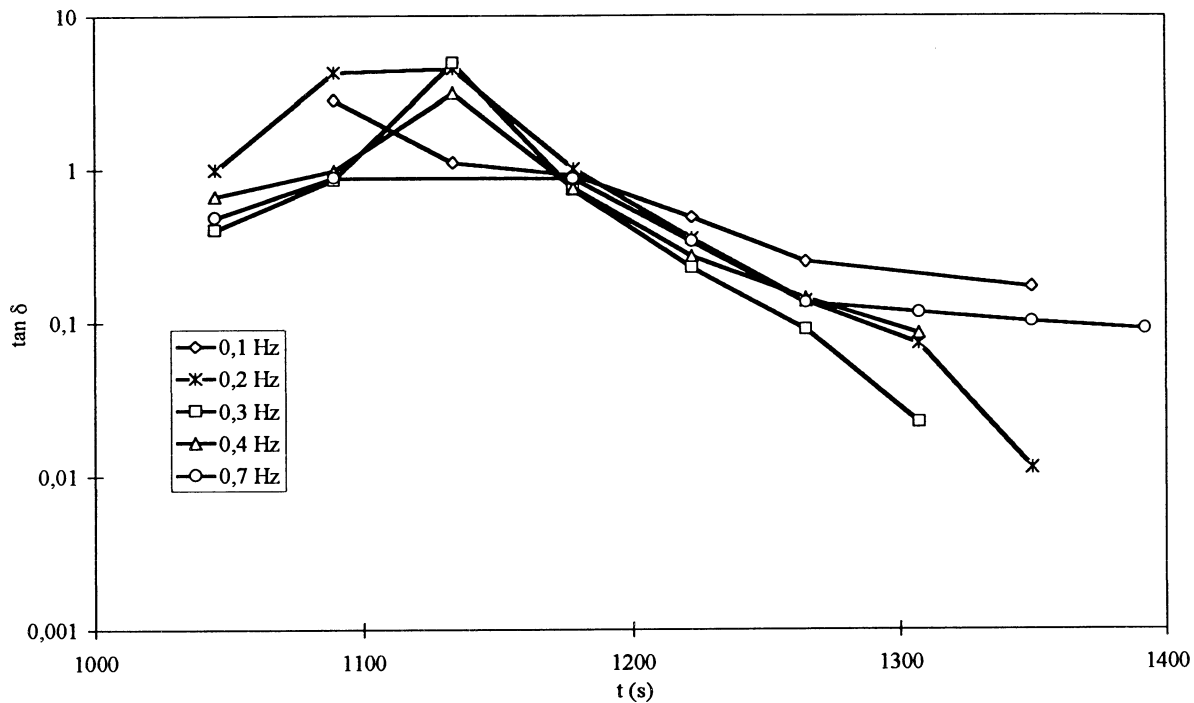


figure 3: Variation de $\tan \delta$ en fonction du temps pour différentes fréquences: détermination du temps de gélification

La dépendance en fréquence des modules G' et G'' est illustrée sur la figure 4.

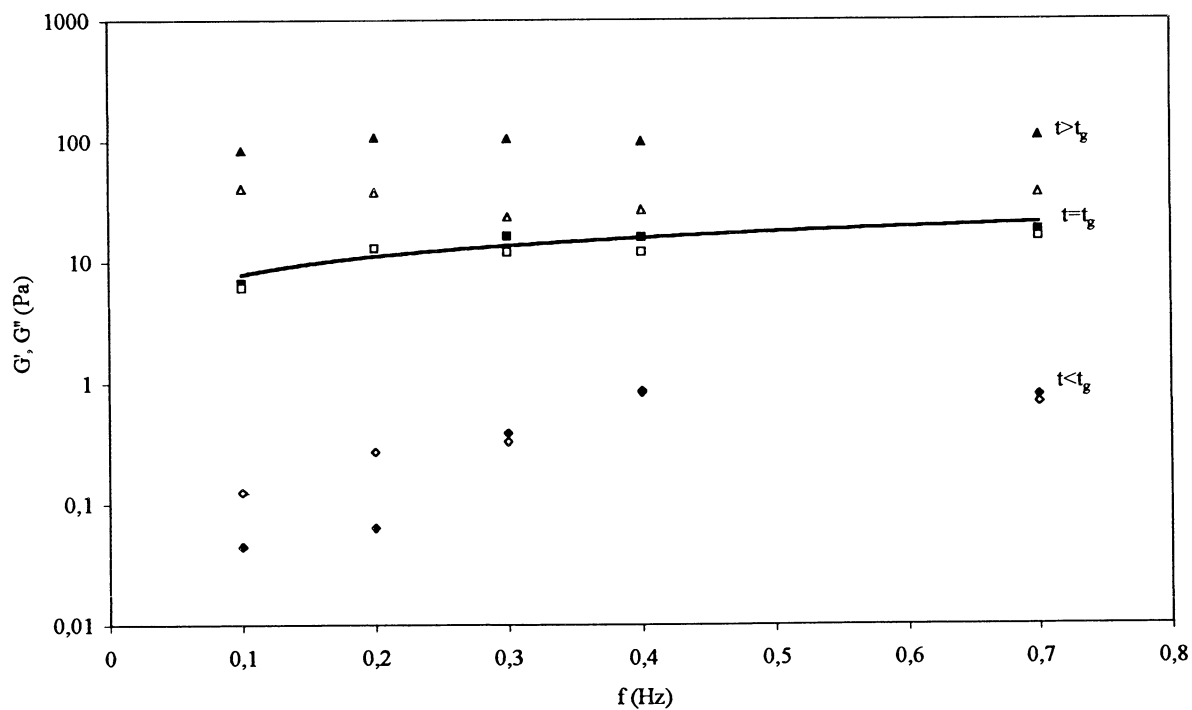


figure 4: Variation de G' (symboles pleins) et de G'' (symboles ouverts) de part et d'autre du temps de gélification: détermination de l'exposant de relaxation

Avant la transition sol-gel, nous pouvons remarquer que G'' est supérieur à G' , près du point de gel G' et G'' sont parallèles montrant un comportement en loi de puissance et après la transition sol-gel G' devient supérieur à G'' .

Selon l'équation 2, on peut en déduire une valeur de l'exposant Δ ($\Delta=0.50$). Cette valeur est très proche de celle trouvée pour des gels chimiques dans des conditions stœchiométriques [5].

Les valeurs des temps de gel pour les différents taux d'hydrolyse déterminés par les deux méthodes sont donnés dans le tableau 1

Taux d'hydrolyse h	Temps de gel rhéologique (s)	Temps de gel acoustique (s)
3	2765	2400
4	1965	1740
5	1640	1620
6	1330	1260
7	1175	1080
8	980	960

Tableau 1 : Valeurs des temps de gel pour les différents taux d'hydrolyse

On observe une bonne corrélation entre les mesures en acoustique et les mesures en rhéologie. Cependant les temps de gélification mesurés par la technique acoustique semblent plus courts que ceux déterminés par les mesures rhéologiques avec une différence qui s'accroît pour les faibles taux d'hydrolyse. Ce décalage pourrait soit être compris dans la limite des barres d'erreurs expérimentales, soit être expliqué par la différence de contrainte de sollicitation entre les deux méthodes. En effet quoique très faible, la contrainte appliquée en rhéologie, de nature mécanique, est plus importante que celle appliquée en acoustique.

IV CONCLUSION

Nous avons réalisé des mesures du temps de gélification sur différentes matrices à base d'alcoxyde de silicium par deux techniques acoustique et rhéologique. Les mesures acoustiques (200 – 2000 Hz) ont mis en évidence l'apparition de fréquences de résonance qui atteignent un palier pour des temps suffisamment longs. L'évolution de ces fréquences sont issues d'un point unique, le temps de gélification (t_g).

Parallèlement nous avons mesuré en rhéologie le temps de gélification à partir des valeurs du module complexe de cisaillement en fonction de la fréquence selon le critère de Winter qui décrit les propriétés viscoélastiques des gels par une loi de puissance.

Nous avons étudié l'influence du taux d'hydrolyse sur le processus de gélification. Une diminution du taux d'hydrolyse conduit à une augmentation du temps de gélification.

Ces deux méthodes s'avèrent à l'heure actuelle complémentaires car elles permettront d'accéder directement à des grandeurs macroscopiques différentes (vitesse basse fréquence de l'onde transversale, modules de cisaillement) après une analyse théorique plus approfondie.

On peut donc envisager le couplage de ces deux méthodes pour analyser la structure des matrices sol-gel. On aboutirait alors à une nouvelle méthode de mesure rhéologique : la rhéoacoustique.

REFERENCES

- [1] J.Livage, *Les procédés sol-gel*, L'Act.Chim.®,10 (1997) 4
- [2] F. Chambon and H.H. Winter, *J. Rheol.*, 31(8) (1987) 683
- [3] R.P.J. Corriu, D. Leclercq, A. Vioux, M. Pauthe and J. Phalippou, *Ultrastructure of Advanced Ceramics*, ed. J.D. Mackenzie and D.R. Ulrich, Wiley, New York, (1988) 113

[4] S.Serfaty, P.Griesmar, M.Gindre, G.Gouedard and P.Figuere , J.Mater.Chem, 8(10) (1998) 2229

[5] H.H. Winter and F. Chambon, J. Rheol., 30 (1986) 367

Remerciements :

Les auteurs remercient MM. Michel COTTET-DUMOULIN et Alain PECHARD, techniciens au CNRS - LPGP, pour la fabrication des cellules thermostatées.

CARACTERISATION RHEOLOGIQUE D'UNE CREME ANTISEPTIQUE A 0.5 % DE CETRIMIDE

A. Hadj Sadok(1,2), K. Guerrouache(2), N. Moulai-Mostefa(1)

(1) - Université de Blida, Institut de chimie Industrielle, route de Soumaa 09000 Blida,
Algérie.

(2) - Groupe SAIDAL, Centre de Recherche et de Développement, 35 rue Youcef Ben
Khetab El Mohamadia,
Alger, Algérie.

RESUME:

La plupart des systèmes liquides, pâteux et gels rencontrés en industries pharmaceutiques sont de nature multiphasique. Cette complexité de structure confère à ces systèmes des propriétés rhéologiques non Newtoniennes. La connaissance de ces caractéristiques mécaniques s'avère importante tant pour le développement, à savoir, leur formulation et l'étude de leur stabilité, que pour la maîtrise des procédés de fabrication. Parmi les caractéristiques mécaniques qui peuvent intervenir dans la formulation des émulsions, on cite la consistance qui est généralement évaluée soit par des constatations visuelles (aspect, forme et couleur) ou par le toucher et l'étalement. Le principal paramètre rhéologique dont on a utilisé pour rendre compte de cette consistance est l'indice de consistance qui a été dégagé de loi constitutive d'OSTWALD.

Le fluide test auquel nous avons porté notre intérêt est, une crème antiseptique huile dans eau (H/E), présentant principalement quatre composantes : eau, huile de vaseline, alcool cétostyrilique et cétrimide. Cette émulsion a été formulée suivant une stratégie s'appuyant sur la méthode d'optimisation du cubique simplex. Après avoir mener une série de mesures expérimentales de viscosimétrie, il a été constaté que cette crème peut présenter un comportement pseudo-plastique obéissant à la loi d'OSTWALD.

Il a été établi une corrélation entre les concentrations des différents éléments figurés et l'indice de consistance ; ce qui a permis de délimiter les différentes zones de crèmes en fonction de leur consistance.

1 INTRODUCTION:

Une émulsion est un système hétérogène, constitué de deux liquides non miscibles, l'un étant dispersé dans l'autre sous forme de gouttelette dont le diamètre est généralement supérieur à $0.1 \mu\text{m}$ [1,2,3,et 4]. Ce système possède une stabilité minimale qui doit être augmentée par l'utilisation des agents tensioactifs dont le rôle est de renforcer le film interfacial de la gouttelette et par la même de diminuer le phénomène de coalescence entre ces gouttelettes. Les excipients qui sont généralement des agents épaississants ou viscosifiants, sont utilisés pour augmenter la viscosité du milieu suspendant et en conséquence, on obtient un ralentissement considérable du phénomène de sédimentation ou de crémage.

Nombreux sont ceux qui ont utilisé la rhéologie comme moyen d'investigation pour caractériser le comportement mécanique des émulsions [5,6,7,8 et 9].

Ce travail consiste à déterminer une formule d'une crème stable, huile dans eau, à 0.5% de cétrimide. Cette émulsion doit présenter un comportement rhéologique très proche d'une crème de spécialité dont la composition (VIDAL, 71^{ème} édition, 1995), est formée principalement de quatre éléments :

- eau : considérée comme la phase externe, elle présente le milieu suspendant. L'étude de préformulation a montré que son domaine de variation, pour une quantité de crème de 100g, est compris entre 70 et 79.38 (en gramme %).
- L'huile de vaseline : c'est la phase interne, elle présente le milieu dispersé. Son domaine de variation est compris entre 15 et 24.38 (en gramme %).
- L'alcool cétostéarylique : un agent viscosifiant, constitué de l'alcool cétylique et de l'alcool stéarylique. Son domaine de variation est compris entre 5 et 14.38 (en gramme %).
- Cétrimide : c'est le principe actif et est considéré comme un agent tensioactif.

2 CARACTERISATION RHEOLOGIQUE DE LA SPECIALITE :

Nous avons caractériser le comportement mécanique de cinq lots différents de la crème de référence. Les mesures de viscosité des ces lots ont été menées à plusieurs reprises pour s'assurer de la reproductibilité des résultats expérimentaux. Par ailleurs, des expériences de charge et de décharge ont été effectuées pour chaque lot. Les résultats montrent que les rhéogrammes sont quasiment confondus. Ce qui exclue le comportement thixotrope de la crème. On présente un rhéogramme type d'un des cinq lots (fig. 1)

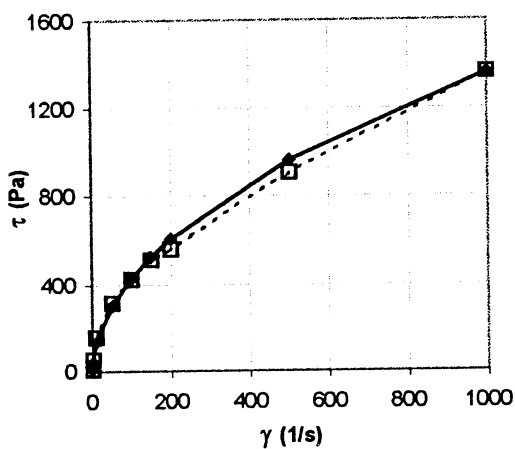


Figure 1: Courbes d'écoulement expérimentales de charge et de décharge du produit de référence

Ce rhéogramme présente plutôt un comportement pseudo-plastique et peut être présenter mathématiquement par le modèle d'OSTWALD [10, 11] en puissance d'écriture:

$$\tau = K\gamma^n$$

τ est la contrainte de cisaillement (Pascal)

γ est la vitesse de cisaillement (s^{-1})

La dispersion (critère de précision) calculée après modélisation est relativement faible pour tous les lots ($D < 4 \%$).

Les valeurs des paramètres K et n du modèle calculées pour les cinq lots de la spécialité sont consignées dans le tableau ci-dessous. On constate qu'elles sont très proches entre elles, ce qui laisse supposer que les résultats rhéologiques entre ces lots sont reproductibles.

	Lot1	Lot2	Lot3	Lot4	Lot5	Moyenne
Nombre d'expériences de viscosimétrie	10	10	4	4	4	
Indice de consistance K_{moyen}	42.40	40.05	39.32	37.96	44.43	40.84 ± 3.59
Indice de structure n_{moyen}	0.502	0.51	0.506	0.498	0.52	0.507 ± 0.01

Tableau 1 : Paramètres rhéologiques de la loi en puissance des différents lots du produit de référence.

3 STRATEGIE DE FORMULATION :

Le procédé opératoire de fabrication étant connu et fixé [1 et 2], on se propose dans ce travail d'optimiser les proportions des excipients constituant la crème pour que cette dernière soit stable et présente une consistance identique à celle de la spécialité.

On rappelle (tableau 2) les excipients qui composent l'émulsion :

Excipient constituant la crème	symbole
eau (%)	X_1 (inconnu)
huile de vaseline (%)	X_2 (inconnu)
alcool céstéarylique (%)	X_3 (inconnu)

Tableau 2 : Symboles des proportions des excipients constituant l'émulsion

avec $X_1 + X_2 + X_3 = \text{constante}$

A noter que le mélange alcool céstéarylique est constitué de (tableau 3) :

Alcools constituant le mélange céstéarylique	symbole
Alcool cétylique (%)	X_{13} (inconnu)
Alcool stéarylique (%)	X_{23} (inconnu)

Tableau 3 : Symboles des proportions des deux alcools constituant le mélange céstéarylique.

avec $X_{23} + X_{13} = 100\%$ du mélange d'alcool

Le plan d'expérience adopté a cet effet, à savoir pour optimiser les valeurs des proportions des excipients, est une combinaison de la méthode d'optimisation du cubique simple [12,13] et du pas à pas.

⇒ La méthode du pas à pas consiste à faire varier les proportions de l'alcool cétylique X_{13} et l'alcool stéarylique X_{23} tout en gardant constant les autres proportions (X_1 , X_2 , et X_3). En fait, l'objectif visé de cette démarche est de déterminer les proportions (X_{13}^* , X_{23}^*) des deux alcools assurant à l'émulsion un comportement mécanique stable dans le temps.

⇒ La méthode du cubique simple est utilisée pour déterminer les quantités des excipients (les variables de contrôle : X_1 , X_2 , et X_3), conférant au fluide une consistance identique au produit de référence. Elle consiste à utiliser une surface de réponse, qui est délimitée par 03 segments associés aux intervalles des trois variables : $0 \leq X_1 \leq 100$, $0 \leq X_2 \leq 100$, $0 \leq X_3 \leq 100$ et $X_1 + X_2 + X_3 = 100\%$. Les valeurs 0 et 100 sont associées (en effectuant un changement de variable) aux valeurs minimales et maximales des trois excipients respectivement.

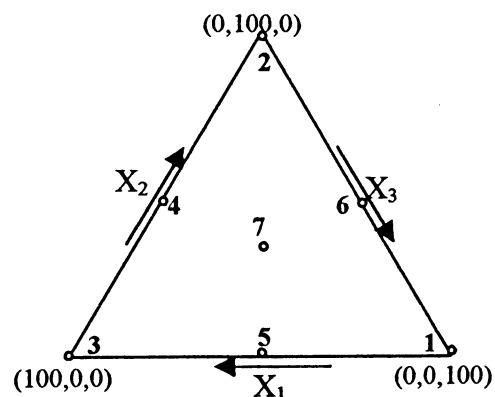


Figure 2 : schéma du simplexe

Le domaine expérimental qui en résulte est une surface triangulaire équilatérale (fig. 2), et la matrice d'expérience qui en découle (tableau 3) est constituée de 07 essais.

Points du simplexe	1	2	3	4	5	6	7
Positionnement	sommet droit	sommet haut	sommet gauche	milieu de l'arête X ₂	milieu de l'arête X ₁	milieu de l'arête X ₃	centre de gravité
eau (X ₁)	0 %	0 %	100 %	50 %	50 %	0 %	100/3 %
huile de vaseline (X ₂)	0 %	100 %	0 %	50 %	0 %	50 %	100/3 %
alcool cétostéarylique (X ₃)	100 %	0 %	0 %	0 %	50 %	50 %	100/3 %

Tableau 3 : Matrice d'expérience du simplexe.

Par ailleurs, les variables de réponse sont les paramètres caractéristiques mécaniques, K et n, de la loi constitutive d'OSTWALD. On note, en outre, que pour tous les essais qui ont été caractérisés, le paramètre, indice de structure n, était très proche de la valeur 0.5. A cet effet et afin d'obtenir des valeurs de K «indice de consistance» stables, reproductibles et non sensibles aux erreurs de mesures expérimentales de viscosimétrie, On a fixé n à 0.5. Le modèle rhéologique considéré s'écrit alors :

$$\tau = K\dot{\gamma}^{0.5}$$

4 RESULTATS ET DISCUSSIONS :

a)Variation des proportions de l'alcool cétylique et de l'alcool stéarylique :

Dans cette partie, nous avons choisi le point 7 du simplexe comme point fixe et avons fait varier X₁₃ et X₂₃ suivant la matrice d'expérience ci-dessous (tableau 4). On note par ailleurs, que l'étude de caractérisation rhéologique a été effectuée à plusieurs reprises, en fonction du temps de stockage. Elle s'est étalée sur une période de trois mois, afin d'apprécier les éventuelles altérations de la consistance des différents essais de formulations. Les résultats de caractérisation sont dressés dans le même tableau 4, et montré dans la figure 3.

Points	7.1	7.2	7.3	7.4
Cétylique X ₁₃	90 %	80 %	70 %	60 %
Stéarylique X ₂₃	10 %	20 %	30 %	40 %
Indice de consistance K				
Temps (jours de stockage)	K _{7.1}	K _{7.2}	K _{7.3}	K _{7.4}
0 ^{ème} jour	64.4	68.5	62.5	78.1
7 ^{ème} jour	60.8	66.1	78.2	89.2
30 ^{ème} jour	50.2	63.4	71.3	86.2
60 ^{ème} jour	40.5	61.9	73.5	81.5
90 ^{ème} jour	25.6	55.2	75.2	84.8
Aspect	semi-solide	semi-solide	semi-solide	semi-solide

Tableau 4 : Matrice d'expérience suivant X₁₃ et X₂₃.

La consistance des essais de formulation 7.1 et 7.2 diminue en fonction du temps de stockage. Par contre, on enregistre une stabilité de cette dernière pour les deux autres essais (fig. 3).

On peut supposer ainsi que l'augmentation de l'alcool stéarylique (diminution de l'alcool cétylique) dans le mélange a engendré, d'une part, une amélioration franche de la stabilité de l'émulsion et d'autre part, a fait augmenter la consistance du produit. A travers ces

résultats, on choisit le point 7.3 ($X_{13}^*=70\%$ et $X_{23}^*=30\%$), comme point optimum, pour assurer la stabilité du produit à formuler.

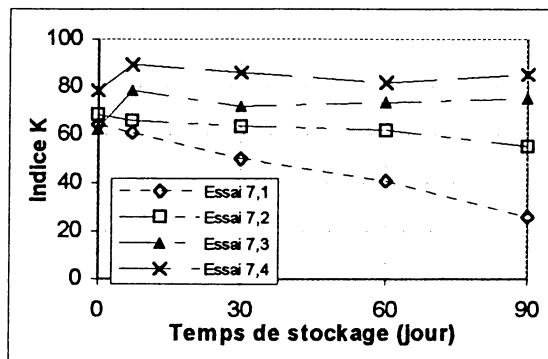


Figure 3 : Evolution de la consistance des différents essais en fonction du temps de stockage

b) Variation des proportions des excipients suivant le simplex :

Après avoir formulé les différents essais suivant le plan d'expérience (tableau 3), on a caractérisé leur comportement rhéologique et déterminer le paramètre caractéristique K en fonction du temps de stockage. Les résultats expérimentaux sont consignés dans le tableau 5 ci-dessous.

Points du simplex	1	2	3	4	5	6	7
0 ^{ème} jour	90.0	77.3	18.2	40.5	28.1	63.1	62.5
30 ^{ème} jour	82.5	74.2	15.2	34.3	31.8	73.5	71.3
60 ^{ème} jour	85.2	73.5	14.3	35.8	30.3	60.1	73.5

Tableau 5 : Evolution de l'indice de consistance K, des 07 essais de formulation, en fonction du temps de stockage.

On remarque (fig. 4) que tous les essais du simplex formulés présentent une consistance stable pendant la durée de stockage.

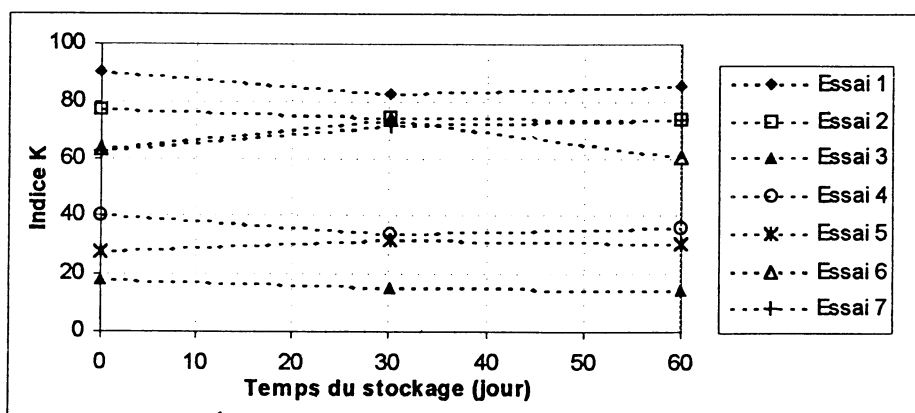


Figure 4 : Evolution de la consistance des différents essais en fonction du temps de stockage

En conséquence, on déduit que les proportions retenues des deux alcools cétylique et stéarylique (30% -70%), sont satisfaisantes. Toutefois, il reste à optimiser les proportions

inconnues des excipients (eau, huile de vaseline et alcool cétostéarylique), afin de ramener la consistance de notre produit à celle du produit de référence.

A cet effet, on se propose de modéliser la réponse « indice de consistance » en fonction des points du simplex par un modèle polynomial de type :

$$K = a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1 X_2 + a_5X_1 X_3 + a_6X_2 X_3 + a_7X_1 X_2 X_3 \quad \text{--- (1)}$$

Les valeurs expérimentales de K sont celles relatives au temps de stockage de 60 jours. Les paramètres, a_i , de la régression multilinéaire, sont déterminés numériquement :

$$a_1 = 0.143 ; a_2 = 0.735 ; a_3 = 0.852 ; a_4 = -0.00324 ; a_5 = -0.00778 ; a_6 = -0.0077 ; a_7 = 0.0009894.$$

Pour déterminer les différentes consistances de l'émulsion, à l'intérieur du domaine expérimental, on simule la réponse caractéristique K en fonction des variables X_1 , X_2 et X_3 , à l'aide du modèle polynomial (1). Les résultats théoriques de simulation sont présentés dans la figure 5.

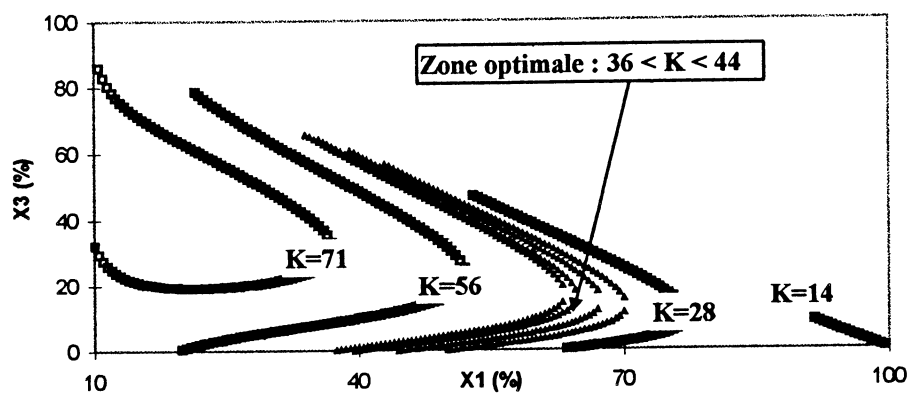


Figure 5 : Variation explicite de l'alcool cétostéarylique X_3 (variation implicite de l'huile de vaseline X_2), en fonction de l'eau X_1 . Courbes représentées sous forme d'iso-K.

On remarque, que la consistance de l'émulsion est d'autant plus grande que le mélange d'alcool cétostéarylique l'est ; ce qui justifie le rôle viscosifiant donné à cet alcool. Par contre, une augmentation de l'eau fait diminuer la consistance. Par ailleurs, la zone optimale, associée au domaine de variation de la consistance ($36 < K < 44$), et qui correspond à celui trouvé pour le produit de référence est :

- eau $34 \% < X_1 < 70 \%$
 - huile de vaseline $0.1 \% < X_2 < 64 \%$
 - alcool cétostéarylique $0.1 \% < X_3 < 62 \%$
- avec la condition : $X_1 + X_2 + X_3 = 100 \%$

Les concentrations réelles des excipients doivent être recalculées, en effectuant un changement de variable :

(0,100) du simplex \rightarrow (X_{min} , X_{max}) réelles de l'étude de préformulation.

5 CONCLUSION :

Dans ce travail, il est proposé de formuler une émulsion huile dans eau à 0.5 % de cétrimide. Notre objectif était d'optimiser les proportions des excipients qui constituent cette crème. A cet effet, nous avons quantifié la consistance des différents essais par l'utilisation de l'approche rhéologique, ce qui a permis d'apprécier la stabilité de ces essais. Nous avons adopté la méthode d'optimisation du cubique simplex afin de réduire le nombre d'essais de formulation à effectuer et de trouver (avec une certaine assurance) le domaine optimal.

On note que la zone optimale trouvée n'est associée qu'à un seul paramètre caractéristique, il est donc intéressant de compléter ce travail par l'utilisation d'autres réponses, telles que : le pH, la conductivité électrique, le potentiel Zéta, la taille des gouttelettes d'huile (échelle microscopique) et leur densité dans le milieu suspendant, etc. Ainsi, le domaine optimal sera l'intersection de toutes les zones optimales associées à ces réponses.

Mots-clés : Rhéologie, Emulsion, Optimisation, Simplex, Consistance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] BECHER P., Emulsions theory and practice, 2nd ed. Reinhold, New York (1965).
- [2] DENOEL, JAMINET F. MOES A., Pharmacie Galénique, Tome III, formes liquides et systèmes dispersés, les presses universitaires de Liège A.S.B.L. (1981).
- [3] GROSSIORD J. L. et al. , Apport des analyses rhéologiques à l'étude des émulsions multiples : caractérisation, stabilité. Les cahiers de rhéologie, Vol X, N°3-4, 299-305,1992.
- [4] BEKKOUR K., Caractérisation rhéologique et en écoulement d'émulsions d'huile de vaseline et d'eau et d'émulsions chargées en solides. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 1992.
- [5] BARRY B. W., Evaluation of rheological ground state of semi-solids. , J. Soc. Cosmt. Chem. 22, page 487 (1971).
- [6] BARRY B. W., ERIKSEN G. M., Oscillatory testing of O/W emulsions containing mixed emulsifiers of the surfactant long chain alcohol type : influence of surfactant chain length, *ibid.*, 25, page 394 (1973).
- [7] CROSS M. M., Rheology of non-Newtonian fluids : a new equation for pseudo-plastic system, J. Colloid Sci., 20, Page 417, (1965).
- [8] SHETTON E. and DAVIS S. S., The influence of emulsion stabilized by anionic soap. J. Phar.,22, page 439, (1968).
- [9] CARLESS J. E. and OCRAN J., Relation between particle shape, particle interaction and some rheological properties of hectorite dispersions, J. Phar.,24,page 717, (1972).
- [10] COUARAZE G., GROSSIORD J. L. Initiation à la rhéologie. Lavoisier Tec & Doc. Paris (1991).
- [11] QUEMADA D., Lois de comportement, modélisation macroscopique : viscosité, thixotropie, viscoélasticité. Techniques avancées en hémo-rhéologie, DPIC, INPL, Nancy 132-156 (1983).
- [12] WERHRLE P., NOBELIS P., STAMM A., Principales méthodes d'optimisation employées en génie pharmaceutique. II- Les méthodes d'optimisation proprement dites., STP. Pharma.,5 (10), 661-673, (1989).
- [13] COHEN G., Méthodologie des choix du galéniste vers une optimisation de la formule., STP. Pharma., 6 (hors série)20-23, (1990).

INDEX par auteur

ADRI-CASAS M.A.....	267	DECARREAUX C.....	179
AGNELY F.....	65	De GENNES P.G.....	1
.....	251	DELLACHERIE E.....	103
ALCANIZ M.....	290	DERAIL C.....	351
ANTONOVA N.....	196	371
AUBREE E.....	46	De ROQUEFEUIL A.....	351
AUDIBET-HAYET.....	244	DESBRIERES J.....	30
AUDRAIN P.....	259	De ROSSI.....	13
BAKHSHAE M.....	306	DESRUMEAUX A.....	358
BADEL E.....	115	DJEDOUR A.....	364
BARBOUX-DOEUFF S.....	158	DOUBLIER J.L.....	259
BAROIS-CAZENAVE A.....	143	DUBERTRET L.....	275
BARRACO-SERRA M.....	267	DUBOIS I.....	244
BENET J.C.....	90	DUCLOS R.....	322
BENOLIEL A.M.....	2	DUVAL C.....	290
BOCHOT A.....	338	ECCLESTON J.....	306
BONGRAND P.....	2	EL GHZAOUI A.....	54
BORNES N.....	343	EXEROWA D.....	196
.....	371	EYMERIC P.....	2
BOTTIN K.....	151	FABREGUE E.....	54
BOURRET E.....	322	FATTAL E.....	338
BOUTON J.....	330	FERNANDES E.....	275
BROSSARD C.....	322	FIGUIERE P.....	379
CAI H.....	112	FLAUD P.....	158
CANTONI P.....	259	FOISSY A.....	166
CARPENTIER P.....	81	FOURATI N.....	125
CASSANAS G.....	54	FRÔMER D.....	330
CHAPLEAU N.....	237	GABRIELLI C.....	73
CHARNAY C.....	229	GAILLARD H.....	81
CHEREF M.....	298	GALLECO-FERRER G.....	39
CHIARELLI P.....	13	GALVIN P.....	211
CHINESTA F.....	290	GEIGER D.....	275
CHOPLIN L.....	143	GEIGER S.....	251
.....	103	GINDRE M.....	73
COUARRAZE G.....	65	379
.....	251	GLEVAREC A.G.....	251
COUCHOT P.....	166	GOLDSCHMIDT B.....	179
COULOMB B.....	275	GOMEZ RIBELLES J.L.....	39
COUPLET B.....	343	GOUEDARD G.....	379
COUSSOT P.....	135	GRAU V.....	290
COUVREUR P.....	338	GRAY G.....	282
CROS C.....	282	GRIESMAR P.....	379
CUVELIER G.....	46	GROSSIORD J.L.....	65
DANIEL G.....	211	203
DARBEIDA H.....	73	338
DELLA VALLE D.....	358	GUELLOUR-BOUDOUKHA A.....	314
De LAMBALLERIE-ANTON M.....	237		

GUERROUACHE K.....	314	NOUAS M.....	314
.....	364	ODDOU C.....	76
.....	387	112
HADDAD Y.....	90	275
HADJ-SADOK A.....	314	298
.....	364	OHAYON J.....	112
.....	387	PARTYKAS S.....	229
HAIDER L.....	20	PAYAN E.....	103
HOUMMADY M.....	73	PELLETIER S.....	103
HUBERT P.....	103	PERRE P.....	115
HUDSON N.....	306	PERROT M.....	73
ISABEY D.....	76	PETITALOT B.....	211
IVANOV YA.....	196	PIAU J.M.....	81
JUAN M.C.....	290	PICTON L.....	244
KESTELROOT R.....	371	PICARD C.....	81
KHALID M.....	65	PIERRES A.....	2
KLEIBER D.....	343	PLANUS E.....	76
KNOLL C.....	290	PONTON A.....	158
LAGERGE S.....	229	379
LANQUETIN M.....	282	QUEMADA D.....	221
LAUNAY B.....	46	RAMEL P.....	54
.....	187	RAMTANI S.....	275
LAURENT V.....	76	RATSIMBAZAFY V.....	322
LEBRETON C.....	275	RENAULT C.....	179
Le QUOC D.....	166	RICHARDS D.....	306
Le QUOC K.....	166	RINAUDO M.....	30
LEFEBVRE J.....	179	60
LEGER D.....	125	RODRIGUEZ F.....	282
Le HUEROU J.Y.....	73	ROURE I.....	60
LERCHE D.....	330	SANCHEZ C.....	158
LOISEL C.....	259	SCHER J.....	166
MARCHAL P.....	103	SEDEV R.....	196
.....	143	SEILLER M.....	203
MAZZOLDI A.....	13	SENOUCI B.....	379
MEIER U.....	290	SERFATY S.....	379
MERMET A.....	90	SNABRE P.....	20
MICHAUD P.....	282	SUREL O.....	343
MICHON C.....	46	371
MILAS M.....	60	SURIA-LLADO P.....	267
MILLS P.....	20	TCHOZATCHIS M.....	371
MONLEON PRADAS M.....	39	TEPPAZ P.....	112
MONTSERRAT C.....	290	TORRES-CAMARA R.....	267
MORINIÈRE V.....	166	TRANCHANT J.F.....	251
MOULAI-MOSTEFA N.....	387	URBACH W.....	73
MUGUET V.....	203	VAN HECKE E.....	151
MULLER G.....	211	WARLUS S.....	379
.....	244	WENDLING S.....	76
MURA A.....	251	ZIDI M.....	298

GROUPE FRANCAIS DE RHEOLOGIE:

Association régie par la loi du 1. 0 7.1901-j.o. du 30 07 1964

J. MANDEL (Président Fondateur 1964-1967)

M. JOLY (1967-1970)

B. PERSOZ (1970-1973)

P. HABIB (1973-1976)

R. COURTEL (1976-1979)

C. HUET (1979-1983)

J.D. WEBER (1983-1987)

D. BOURGOIN (1987-1991)

J.M. PIAU (1991-1995)

Président Actuel : R. GAUDU



**COLLOQUES ANNUELS
DU GROUPE FRANCAIS DE RHEOLOGIE**

1.	Rhéologie de systèmes à deux phases	1965
2.	Aspects énergétiques en Rhéologie	1966
3.	Progrès récents des effets du 2ème ordre	1967
4.	Rhéologie en relation avec la structure	1968
5.	Comportement mécanique des matériaux composites	1969
6.	Influence de la température et de la pression, sur les comportements rhéologiques	1970
6. bis	Rhéologie et hydrotechnique	1971
7.	Viscoplasticité	1972
8.	Rhéologie des Mons	1973
9.	Phénomènes de surface	1974
10.	Influence de la température sur les comportements rhéologie	1975
11.	Rhéologie des corps mous	1976
12.	Thermodynamique des comportements rhéologiques	1977
13.	Aspects rhéologiques de la mécanique de la rupture	1978
14.	Rhéologie des couches minces	1979
15.	Comportement rhéologique de structure des matériaux	1980
16.	Application de la rhéologie aux problèmes de fabrication industrielle	1981
17.	Comportement rhéologique sous sollicitations rapides ou dynamiques	1982
18.	Méthodes et appareils de mesure rhéologique	1983
19.	Rhéologie des matériaux anisotropes	1984
20.	Vingt ans du Groupe Français de Rhéologie, progrès récents	1985
21.	Rhéologie des fluides hétérogènes	1986
22.	Rhéologie des fluides industriels	1987
23.	Endommagement et rhéologie des solides	1988
24.	Rhéologie et industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutique	1989
25.	Rhéologie des Matériaux du Génie Civil	1990
26.	Rhéologie des surfaces et interfaces	1991
27.	Rhéologie des suspensions	1992
28.	Rhéologie des Polymères fondus	1993
29.	La Thixotropie	1994
30.	Les Développements récents en rhéologie	1995
31.	Rhéologie et Structure	1996
32.	Rhéologie des matériaux pour les industries agro-alimentaires, cosmétiques pharmaceutiques	1997
33.	Rhéologie des systèmes polyphasés : rôle des interfaces et interphases	1998
34.	Rhéologie des Matériaux du Vivant	1999

*Les comptes-rendus des Colloques Annuels peuvent être obtenus en s'adressant
au Secrétariat du Groupe Français de Rhéologie*

CONSIGNES AUX AUTEURS

1. Généralités

En vue de publication dans les Cahiers de Rhéologie, le Comité de Rédaction souhaite recevoir des articles dans tous les domaines de la rhéologie théorique et expérimentale. Des résultats de recherche dans ces domaines ou dans des domaines voisins mais contribuant au développement de la rhéologie seront pris en considération de même que les contributions d'auteurs portant sur "l'état de l'art" dans l'un ou l'autre des domaines de la rhéologie.

La langue officielle du Journal *Les cahiers de rhéologie* est le français mais les articles en anglais pourront être acceptés. Les auteurs des articles doivent s'assurer qu'ils n'ont pas été publiés par ailleurs ou soumis à un autre journal. Les articles sont soumis à l'examen d'experts indépendants. Il peut être demandé à un auteur de réviser son article en fonction des remarques des experts. La décision finale de publication appartient au Rédacteur en Chef.

2 Soumission des articles

Les articles étant reproduits directement à partir de l'original envoyé par les auteurs il est nécessaire que le plus grand soin soit apporté à la présentation de ces articles et que les auteurs respectent scrupuleusement les instructions ci-dessous.

Le manuscrit original et les copies de chaque article doivent être envoyés à l'adresse suivante

<p><i>Prof R. Gaudu</i> <i>ENSCPB</i> <i>351 cours de la Libération</i> <i>33405 TALENCE Cedex</i></p>
--

Les textes sont réalisés en traitement de texte en caractères de préférence de type New York, en corps 12 points, en simple interligne. Une marge de 25 mm doit être laissée autour de la feuille. Une impression de qualité laser est requise.

Le manuscrit doit comprendre :

- o Le titre en majuscules centré en haut de page à 35 mm du bord supérieur de la feuille,
- o Deux lignes en dessous, centrés, le nom du ou des auteurs, suivis, à la ligne suivante de leur appartenance,
- o Cinq lignes en dessous, un résumé en français suivi d'un résumé en anglais, chacun de 10 lignes au maximum. L'ordre sera inversé pour un article anglais.
- o L'introduction de l'article suivie du texte,
- o Les conclusions,
- o Si nécessaire, la liste des notations et symboles,
- o Une liste de références bibliographiques complètes.

Une liste de 5 **Mots Clé** devra figurer au bas de la première page. La longueur normale du texte ne devrait pas dépasser 10 à 15 pages du format A4, y compris les résumés, les formules, les illustrations et la bibliographie. Certains articles plus longs pourront être acceptés exceptionnellement si le sujet le justifie. Des articles plus courts, éventuellement sous forme de "notes" seront également les bienvenus. Les figures doivent être fixées de préférence en place dans le texte ou éventuellement en fin d'article. Les photos doivent être évitées dans la mesure du possible.

