

N° d'ordre :

UNIVERSITE JEAN MONNET

Ecole doctorale – Sciences Ingénierie Santé

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN CHIMIE ET SCIENCE DES MATERIAUX

Par

Imane BELYAMANI

DEVELOPPEMENT D'UN MATERIAU THERMOPLASTIQUE, BIODEGRADABLE ET HYDROSOLUBLE A BASE D'UNE PROTEINE DU LAIT

Soutenue le 08 Novembre 2011 devant le jury composé de :

Frédéric DEBEAUFORT	Professeur, EMMA EA 581, Université de Bourgogne, Dijon	Rapporteur
Patrice DOLE	HDR, Technopole Alimentec, Bourg-en-Bresse	Rapporteur
Pascal DEGRAEVE	Professeur, BIODYMIA, EMA 3733, Université Lyon1 - ISARA Lyon Technopole Alimentec, Bourg-en-Bresse	Président du jury
Christine DUARTE	Docteur, Université de Lyon - Lyon Science Transfert, Lyon	Examinatrice
Frédéric PROCHAZKA	HDR, IMP@UJM Université Jean Monnet, St Etienne	Directeur de thèse
Gilles ASSEZAT	Ingénieur d'étude, IMP@UJM, Université Jean Monnet, St Etienne	Invité

À mes parents

À mes directeurs de thèse

*“Avec le temps et la patience, la feuille du murier
devient satin”*

Proverbe chinois

Remerciements

Je tiens à exprimer tout d'abord mes remerciements aux membres du jury :

Merci à Monsieur Frédéric Debeaufort d'avoir accepté d'être rapporteur de ce manuscrit et aussi de m'avoir accueillie au sein de son équipe EMMA afin de me permettre de réaliser des essais scientifiques. Je tiens également à le remercier pour ses conseils avisés et sa disponibilité.

Merci à Monsieur Patrice Dole d'avoir accepté de rapporter cette thèse.

Merci à Monsieur Pascal Degraeve de m'avoir fait l'honneur d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Merci également à Madame Christine Duarte d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse et de juger ce travail.

Cette thèse a été effectuée au sein du laboratoire Ingénierie des Matériaux Polymères (IMP@UJM) à l'Université Jean Monnet de St Etienne.

Je tiens à remercier Monsieur Jacques Guillet et Monsieur Christian Carrot d'avoir accepté de m'accueillir au sein de l'équipe de recherche.

Ce travail a été réalisé sous la direction de Messieurs Frédéric Prochazka et Gilles Assezat. Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour votre confiance. Merci pour votre grande disponibilité tout au long de ces trois années. Merci également pour votre bonne humeur permanente particulièrement pendant les longues journées de bi-vis. Ce travail fut d'autant plus agréable grâce à votre gentillesse et votre sympathie.

J'aimerais également exprimer mes remerciements à Corinne Jegat, ma tutrice pédagogique pour son aide, ses encouragements, son suivi et ses conseils qui m'ont permis de bien mener mon expérience dans l'enseignement.

Je ne manquerais pas de remercier également Nathalie Mignard pour ses astuces pédagogiques et sa bonne humeur.

Je remercie l'ensemble des membres du laboratoire IMP@UJM qui a contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette étude, dans une ambiance toujours amicale et stimulante.

Je remercie aussi tous les jeunes chercheurs du laboratoire, nouveaux ou anciens, avec qui j'ai eu l'occasion de partager de bons moments inoubliables. Merci à Meral, Béa (cocodrile...), Remi, Céline, Marie, Dominico, Frédo, Virgile, Tarik, Hung, Yiping, Sylvain, Abdallah, Hicham et Mohamed.

Un merci tout particulier à Cédric (Toulousain...), mon collègue de bureau et "révolutionneur" de la science, pour ses dosages de glycérol et à Yvong pour son tagine presque marocain.

Merci également à Loubna pour son influence no stress..., et à Rachida, Nidhal et Samira pour leurs discussions sur tout et rien..., sur la Vie...

Maman, Papa, Oussama, Arki...qu'aurais-je pu accomplir sans vous ? Vous êtes ma source intarissable de bien-être... MERCI du fond du cœur.

Table des matières

Liste des figures	1
Liste des tableaux	7
Liste des équations	8
Abréviations	10
Introduction générale.....	13

Chapitre I : Les protéines dans la fabrication des matériaux plastiques

Introduction	18
I.1. Classification des biomatériaux	19
I.2. Structure des protéines.....	22
I.2.1. Les différentes interactions	25
I.2.2. La structure primaire	26
I.2.3. Les structures secondaires	26
I.2.4. La structure tertiaire	27
I.2.5. La structure quaternaire.....	28
I.2.6. La dénaturation des protéines.....	29
I.3. Les protéines comme matériaux	30
I.3.1. Les Protéines végétales	30
I.3.1.1. Les protéines de soja	31
I.3.1.2. Le Gluten.....	32
I.3.1.3. La Zéine.....	33
I.3.2. Les protéines animales	34
I.3.2.1. Le collagène	34
I.3.2.2. La gélatine	35
I.4. Les protéines laitières et les matériaux dérivés.....	36

I.4.1.	Les protéines du lactosérum	37
I.4.1.1.	La β -lactoglobuline	38
I.4.1.2.	L' α -lactalbumine	39
I.4.1.3.	Les matériaux à base des protéines du lactosérum.....	40
I.4.2.	Les caséines.....	42
I.4.2.1.	Les différents concepts de la structure micellaire	42
I.4.2.2.	Les structures de la caséine	44
I.4.2.3.	L'extraction des caséines	46
I.4.2.4.	Les propriétés fonctionnelles des caséines.....	47
I.4.2.4.1.	La solubilité	47
I.4.2.4.2.	L'hydratation et l'absorption d'humidité.....	48
I.4.2.4.3.	Les propriétés émulsifiantes	49
I.4.2.4.4.	Les propriétés thermiques	49
I.4.2.4.5.	Les propriétés rhéologiques	50
I.4.3.	Les matériaux à base de caséines et de caséinates	50
I.4.3.1.	La galalithe	51
I.4.3.2.	Les films de caséinates	52
I.4.3.2.1.	La mise en œuvre des caséines et des caséinates.....	52
I.4.3.2.2.	La réticulation des caséinates et/ou des caséines	53
I.4.3.2.3.	Les propriétés mécaniques des films	56
I.4.3.2.4.	Les propriétés barrières à la vapeur d'eau	60
I.4.3.2.5.	Les propriétés barrières aux gaz	62
Conclusion		64

Chapitre II : Réalisation de granulés thermoplastiques à base de caséinate de sodium par extrusion bi-vis

Introduction	67
II.1. Principe d'extrusion des matières plastiques	68
II.1.1. Extrusion bi-vis.....	68
II.1.2. Extrusion des protéines.....	69
II.1.3. Mécanismes de la plastification.....	72

II.2. Description de la ligne complète d'extrusion	76
II.2.1. Alimentation des composants.....	78
II.2.2. Refroidissement du jonc et granulation.....	79
II.2.3. Profils de vis et de température	79
II.3. Optimisation des réglages.....	81
II.3.1. Débit de la poudre de caséinate	81
II.3.2. Débit du glycérol et de l'eau.....	82
II.3.2.1. Glycérol.....	82
II.3.2.2. Eau.....	82
II.3.3. Vitesse de rotation des vis	83
II.3.4. Températures	83
II.3.5. Nature du caséinate.....	85
Conclusion.....	86

Chapitre III : Propriétés physico-chimiques du caséinate de sodium thermoplastique

Introduction	90
III.1. Température de transition vitreuse (T_g) du caséinate de sodium	91
III.2. Influence de l'extrusion sur la structure du caséinate de sodium.....	97
III.2.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)	97
III.2.2. Résultats et discussion.....	98
III.2.3. Conclusion.....	100
III.3. Etude des interactions eau-matériau.....	101
III.3.1. Affinité pour l'eau du caséinate de sodium.....	102
III.3.1.1 Isothermes d'adsorption	102
III.3.1.2 Résultats et discussion.....	103
III.3.2. Notions "eau liée" et "eau libre"	110
III.3.2.1 Calorimètre différentiel à balayage (DSC).....	110
III.3.2.2 Résultats et discussion.....	111
III.3.3. Vitesse de reprise d'humidité	113

III.3.3.1	Appareillage	113
III.3.3.2	Résultats et discussion.....	114
III.3.4.	Conclusion.....	116
III.4.	Dosage du glycérol dans les formulations.....	116
III.4.1.	Evaluation de la perte de masse du caséinate.....	117
III.4.1.1	Analyse thermogravimétrique (ATG)	117
III.4.1.2	Résultats et discussion.....	117
III.4.2.	Extraction du glycérol du caséinate plastifié.....	122
III.4.2.1	Analyse par Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS).....	122
III.4.2.2	Résultats et discussion.....	124
III.4.3.	Conclusion.....	125
III.5.	Etude des propriétés mécaniques	125
III.5.1.	Essai de traction	125
III.5.2.	Résultats et discussion.....	128
III.5.3.	Conclusion.....	131
Conclusion		132

Chapitre IV : Mise au point d'un film fin pour emballage

Introduction	136
IV.1. Extrusion gonflage des films de caséinate de sodium	137
IV.1.1. Propriétés rhéologiques des granulés de caséinate de sodium	137
IV.1.1.1. Rhéométrie capillaire	137
IV.1.1.2. Résultats et discussion	139
IV.1.1.3. Conclusion	141
IV.1.2. Mise en œuvre des films	141
IV.1.2.1. Principe et équipement.....	141
IV.1.2.2. Conditions expérimentales.....	143
IV.1.2.3. Défauts de surfaces de certains films	144
IV.1.3. Propriétés physico-chimiques des films de caséinate de sodium.....	147
IV.1.3.1. Hydrosolubilité.....	147

IV.1.3.2. Essai de traction	148
IV.1.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau	151
IV.1.3.3.1. Méthode gravimétrique	151
IV.1.3.3.2. Résultats et discussion	153
IV.2. Les films de caséinates de sodium, de potassium et de calcium.	154
IV.2.1. Mise en œuvre	154
IV.2.2. Propriétés mécaniques.....	155
IV.2.3. Mélange des caséinates de sodium et de calcium	157
IV.2.3.1. Propriétés mécaniques.....	158
IV.2.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau	160
IV.2.3.3. Propriétés de la mouillabilité de surface	161
IV.2.3.3.1. Description de l'expérience	161
IV.2.3.3.2. Résultats et Discussion.....	164
IV.2.3.4. Conclusion	166
IV.3. Mélange de caséinate de sodium avec un polyester	
biodégradable.....	167
IV.3.1. Mise en œuvre	169
IV.3.2. Propriétés des films composites.....	170
IV.3.2.1. Propriétés mécaniques.....	170
IV.3.2.2. Morphologie.....	172
IV.3.2.3. Perméabilité à la vapeur d'eau	175
IV.3.2.4. Mouillabilité de surface	176
IV.3.3. Conclusion	180
Conclusion.....	182
 Conclusion générale	184
Perspectives.....	188
Références bibliographiques	191

Liste des figures

Figure I.1 : Classification des polymères biodégradables.....	21
Figure I.2 : Structure primaire de la caséine κ B bovine.....	26
Figure I.3 : Représentation tridimensionnelle de la structure tertiaire de la caséine α_{s1}	28
Figure I.4 : Changements structuraux que peuvent subir une protéine suite à un traitement thermique.....	29
Figure I.5 : Modèle de la structure tertiaire de la β -lactoglobuline.....	38
Figure I.6 : Courbes force-déformation des films dérivés de la β -lactoglobuline plastifiés par différents plastifiants.....	39
Figure I.7 : Modèle de la structure tertiaire de l' α -lactalbumine.....	39
Figure I.8 : Photographie de micelles de caséine vue au microscope électronique à balayage.....	42
Figure I.9 : Aperçu historique de quelques propositions de modèles de micelle de caséine.....	43
Figure I.10 : Structures tridimensionnelles des caséines α_{s1} , β et κ	46
Figure I.11 : Schéma illustrant la réaction entre les radicaux hydroxyles ($\cdot$ OH) et la chaîne latérale de la tyrosine.....	54
Figure I.12 : Superposition des chromatogrammes des solutions de caséinate non irradiées ou irradiées, à des doses de 64 et 128kGy.....	54
Figure I.13 : Schéma réactionnel du transfert d'acyle entre le groupement γ -carboxamide d'un résidu glutamine et un groupement amine primaire d'un acide aminé.....	55
Figure I.14 : Module élastique des films de caséinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, TrEG et TeEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20\pm 2^\circ\text{C}$).....	57
Figure I.15 : Contrainte à la rupture des films de caseinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, et TrEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20\pm 2^\circ\text{C}$).....	57
Figure I.16 : Allongement à la rupture des films de caseinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, et TrEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20\pm 2^\circ\text{C}$).....	58

Figure I.17 : Effet de la nature du plastifiant et de l'intensité de l'irradiation sur la force de rupture des films de caséinates de calcium (CaCAS) contenant le CaCl_2	60
Figure II.1 : (A) Types de configuration des vis. (B) Détail d'un élément de vis (mono-filet).....	69
Figure II.2 : Rupture et formation de ponts disulfures (S-S) pouvant s'établir, au sein de la chaîne protéique, lors de l'extrusion.....	70
Figure II.3 : Rupture et formation d'interactions non covalentes pouvant se produire, dans la chaîne protéique, lors de l'extrusion.....	71
Figure II.4 : Extrudeuse bi-vis Clextral BC21 utilisée pour la transformation des caséinates.....	77
Figure II.5 : Ligne d'extrusion bi-vis du caséinate.....	78
Figure II.6 : Convoyeur à bande téflon.....	79
Figure II.7 : Système de tirage.....	79
Figure II.8 : Profils de vis et de température utilisés pour l'extrusion de caséinate de sodium plastifié au glycérol.....	79
Figure II.9 : Image MEB de la poudre de caséinate capturée à une tension d'accélération de 5kV. Grossissement x150.....	81
Figure II.10 : Granulés thermoplastiques obtenus de la transformation du caséinate de sodium par extrusion bi-vis.....	86
Figure III.1 : Thermogramme DSC de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium contenant 33% de glycérol et équilibrés à 14%HR et 40°C.....	93
Figure III.2 : Evolution du facteur de perte $\tan \delta$, du caséinate de sodium plastifié avec 30, 38 et 40% de glycérol, avec la température.....	94
Figure III.3 : Température de transition vitreuse en fonction du taux de glycérol, déterminée par l'équation de Godon-Taylor	95
Figure III.4 : Température de transition vitreuse en fonction de la teneur en eau, pour différents taux de glycérol (0, 17 et 25%).....	96
Figure III.5 : Gel d'électrophorèse de la migration de caséinate de sodium avant et après extrusion bi-vis.....	98

Figure III.6 : Gel d'électrophorèse de caséinate de sodium extrudé à différentes températures (100, 120 et 150°C) des zones de cuisson de la bi-vis.....	99
Figure III.7 : Schéma représentant les échanges hydriques entre un matériau hydrophile et l'humidité relative ambiante.....	102
Figure III.8 : Isothermes d'adsorption du caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé avec deux taux de glycérol (17 et 25%), mesurés à 30°C.....	103
Figure III.9 : Isothermes d'adsorption du caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé avec deux taux de glycérol (17 et 25%), mesurés à 30°C et modélisés par le modèle (A) GAB et (B) BET.....	105
Figure III.10 : Modélisation des isothermes d'adsorption par le modèle GAB, à C fixe et C libre, du (A) caséinate de sodium natif, (B) caséinate de sodium extrudé à 17% de glycérol et (C) caséinate de sodium extrudé à 25% de glycérol.....	107
Figure III.11 : Comparaison de l'analyse des isothermes d'adsorption, du (A) caséinate de sodium natif, (B) caséinate de sodium extrudé à 17% de glycérol et (C) caséinate de sodium extrudé à 25% de glycérol, par les modèles GAB et BET à C=56.....	109
Figure III.12 : Thermogrammes DSC des granulés de caséinate de sodium à 25% de glycérol, conditionnés à 90 et 40% HR à température constante (30°C), de l'eau pure, du mélange eau/glycérol (75/25) et du glycérol pur.....	111
Figure III.13 : Thermogrammes DSC de trois mélanges eau/glycérol se différenciant par leur teneur en eau (30, 50 et 60%) par rapport à celle du glycérol qui reste constante.....	112
Figure III.14 : Thermobalance modifiée : précision 0.1mg, capacité 100mg	114
Figure III.15 : Reprise d'humidité à différents intervalles d'Humidité Relative.....	115
Figure III.16 : Thermogrammes ATG des granulés de caséinate de sodium (CASNa) à 25 et 33% de glycérol et du caséinate de sodium natif conditionnés à 14% HR à température ambiante.....	118
Figure III.17 : Thermogrammes ATG de l'eau pure, du glycérol pur et de leur mélange à quantité égale.....	119
Figure III.18 : Spectre infrarouge des effluents gazeux de l'évaporation de l'eau pure....	120
Figure III.19 : Spectres infrarouge des effluents gazeux de la dégradation thermique du glycérol pur et du caséinate de sodium.....	121
Figure III.20 : Chromatogramme de la solution étalon sylilée.....	123
Figure III.21 : Courbe d'étalonnage interne du glycérol réalisée par chromatographie gaz couplée à la spectroscopie de masse (CG-MS).....	123
Figure III.22 : Eprouvette altère : L=50mm L ₀ =20mm, l=4.5mm, e=2mm.....	126

Figure III.23 : Coupe longitudinale de la filière plate utilisée pour réaliser des bandes....	126
Figure III.24 : Courbe de traction réalisée sur des éprouvettes haltère de caséinate de sodium extrudé.....	127
Figure III.25 : Reprise d'humidité de deux films de caséinate de sodium (50 et 160 μ m)..	128
Figure III.26 : Evolution (A) du module de Young E, (B) de la contrainte à la rupture σ_r et (C) de l'allongement à la rupture des éprouvettes haltère du caséinate de sodium à différentes teneurs en glycérol (17, 25 et 33%) et en fonction du pourcentage d'humidité relative ambiante.....	129
Figure III.27 : Schéma représentant l'effet d'une teneur élevée en glycérol sur la matrice protéique dans un matériau hydrophile.....	130
Figure IV.1 : Les principales applications des films issus de l'extrusion gonflage.....	136
Figure IV.2 : Schéma du dispositif du rhéomètre capillaire utilisé.....	138
Figure IV.3 : Courbes d'écoulement du caséinate de sodium, plastifiés à 20%.....	139
Figure IV.4 : Schéma du procédé de l'extrusion gonflage.....	141
Figure IV.5 : Extrudeuse de soufflage de gaine de type Diani.....	142
Figure IV.6 : (A) vue générale et (B) coupe transversale d'une filière annulaire verticale, à canaux spiralés.....	143
Figure IV.7 : Film de caséinate de sodium plastifié au glycérol présentant des défauts de surface.....	144
Figure IV.8 : Coupe longitudinale d'une filière annulaire verticale à torpille.....	145
Figure IV.9: Extrudeuse utilisée pour la fabrication de films de caséinate (A) avec la filière à canaux spiralés et (B) après son remplacement par une filière à torpille.....	145
Figure IV.10 : Film obtenu à partir du lot économique de caséinate de sodium. (Points blancs correspondent aux microgels).....	146
Figure IV.11 : Dispositif permettant d'évaluer le caractère hydrophile des films de caséinates.....	147
Figure IV.12 : Rétractomètre utilisée pour réaliser des essais mécaniques sur les films fins.....	148
Figure IV.13 : Mors usinés au laboratoire pour réaliser des essais de traction sur les films fins.....	148

Figure IV.14 : Appareil de traction à humidité et température contrôlées.....	149
Figure IV.15 : Courbe représentative de la reprise d'humidité d'un film fin de caséinate de sodium	149
Figure IV.16 : Courbe de traction réalisée sur des films fins de caséinate de sodium, à 20% de glycérol, à 60%HR et 30°C.....	150
Figure IV.17 : Module d'Young du film fin à 20% de glycérol en comparaison avec celui des éprouvettes à 17 et 25% de glycérol, testées dans les mêmes conditions.....	151
Figure IV.18 : Schéma représentatif d'une cellule de perméation utilisée pour évaluer le transfert de la vapeur d'eau à travers un film.....	152
Figure IV.19 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins pour un gradient d'humidité de 100-60% et à 30°C.....	153
Figure IV.20 : (A) Module d'Young, (B) contrainte à la rupture et (C) allongement à la rupture de films soufflés à partir de granulés thermoplastiques des différents caséinates.....	156
Figure IV.21 : (A) Module d'Young, (B) contrainte et (C) allongement à la rupture des films de caséinates en fonction du taux de substitution du caséinate de sodium par le caséinate de calcium. Les films contiennent 20% de glycérol.....	158
Figure IV.22 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins à base de caséinate de sodium et/ou de caséinate de calcium pour un gradient d'humidité de 25-100% et à 23°C.....	160
Figure IV.23 : Capture d'image du dépôt de la goutte d'eau, par une seringue de précision, sur un film de caséinate.....	162
Figure IV.24 : Schéma décrivant la définition d'un angle de contact formé par une goutte de liquide déposée sur un support solide.....	163
Figure IV.25 : Schéma représentatif de la qualité du mouillage d'une surface par l'eau...	163
Figure IV.26 : Images de gouttes d'eau déposées sur des films à base de caséinate de sodium et/ou de calcium et sur un film du polyéthylène (LDPE) servant de référence.....	164
Figure IV.27 : Evolution de l'angle de contact formé par une goutte d'eau et un film de caséinate de sodium et/ou du calcium au cours du temps.....	165
Figure IV.28 : Cinétique (A) du volume d'eau absorbé et (B) flux d'absorption d'eau par des films soufflés à partir de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium et/ou du calcium.....	166
Figure IV.29 : Structure chimique du Poly(butylène adipate-co-téréphtalate) (PBAT).....	167

Figure IV.30 : Thermogramme DSC des granulés du polyester PBAT. Mesures effectuées entre - 80 et 200°C avec une vitesse de chauffe de 10°C/min.....	168
Figure IV.31 : Profils de vis et de température utilisés pour l'extrusion de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium plastifié au glycérol et du PBAT.....	169
Figure IV.32 : (A) Module d'Young, (B) contrainte à la rupture et (C) allongement à la rupture des films à base du caséinate de sodium et/ou du PBAT déterminés à 60%HR et 30°C.....	170
Figure IV.33 : Photos MEB représentant les types de morphologie des mélanges de polymères incompatibles. a) structure gouttelette-matrice. b) structure fibre-matrice. c) structure lamellaire. d) structure co-continue.....	171
Figure IV.34 : Images MEB capturées aux grossissements x250 et x700 pour des mélanges de caséinate de sodium/PBAT 70/30.....	172
Figure IV.35 : Images MEB capturées aux grossissements x250 et x700 pour des mélanges de caséinate de sodium/PBAT 20/80.....	173
Figure IV.36 : Observation d'un film de caséinate/PBAT 70/30 après solubilisation de la phase protéique, par microscopie optique (200x).....	174
Figure IV.37 : Courbe de traction réalisée sur une fibre du PBAT orientée.....	175
Figure IV.38 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins à base de caséinate de sodium et/ou PBAT pour un gradient d'humidité de 100-60% et à 30°C.....	176
Figure IV.39 : Différentes cinétiques d'une goutte d'eau déposée sur des films à base de caséinate de sodium et/ou du PBAT en comparaison avec un film de caséinate de calcium (CaCAS).....	177
Figure IV.40 : Evolution de l'angle de contact formé par une goutte d'eau et un film de caséinate de sodium et/ou du PABT au cours du temps.....	178
Figure IV.41 : Cinétique du (A) volume d'eau absorbé et du (B) flux d'absorption d'eau par des films soufflés à partir de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium et/ou du PBAT.....	179
Figure IV.42 : Reprise d'humidité des films fins à base du caséinate de sodium et/ou du PBAT à ~67%HR, 30°C.....	180

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Structure et masse molaire des 20 acides aminés ainsi que leur fréquence dans les protéines.....	22
Tableau I.2 : Composition du lait de différents mammifères en g pour 100g de lait.....	37
Tableau I.3 : Composition en résidus d'acides aminés des quatre types de caséines.....	44
 Tableau II.1 : La masse molaire ainsi que la structure chimique des différents types de plastifiants qui ont été utilisés pour la synthèse de matériaux plastiques biosourcés.....	 72
 Tableau III.1 : Paramètres utilisés dans l'équation de Gordon-Taylor.....	 95
Tableau III.2: Caractéristiques d'adsorption de l'eau par le caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé à deux taux de glycérol (17 et 25%) calculées par le modèle de GAB.....	106
Tableau III.3: Valeurs de la monocouche moléculaire (Mm) du caséinate de sodium natif et extrudé à deux taux de glycérol (17 et 25%), estimées par les équations de GAB et de BET.....	108
Tableau III.4 : Résultats obtenus à l'issue de l'analyse du glycérol extrait des extrudats de caséinate de sodium.....	124
 Tableau IV.1 : Détails techniques du rhéomètre capillaire INSTRON 3211.....	 138

Liste des équations

Equation I.1	$D = D_0 \exp\left(\frac{-E_D}{R \times T}\right)$	63
Equation I.2	$P = P_0 \exp\left(\frac{-E_p}{R \times T}\right)$	63
Equation II.1	$\% \text{glycérol} = \frac{m_{\text{glycérol}}}{m_{\text{glycérol}} + m_{\text{caséinate}}} \times 100$	82
Equation III.1	$Tg = \frac{W_1 \times Tg_1 + k \times W_2 \times Tg_2}{W_1 + kW_2}$	94
Equation III.2	$A_w = \frac{P}{P_0} = \frac{HR}{100}$	101
Equation III.3	$X_{eq} = \frac{m_e - m_s}{m_s}$	102
Equation III.4	$M = \frac{M_m \times C \times K \times A_w}{(1 - K \times A_w)[1 + (C - 1) \times K \times A_w]}$	104
Equation III.5	$M = \frac{M_m \times C \times A_w}{(1 - A_w)(1 - A_w + C \times A_w)}$	104
Equation III.6	$\sigma = \frac{F}{S_0}, \varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0}, E = \frac{d\sigma}{d\varepsilon}$	126
Equation IV.1	$\dot{\gamma}_{app} = \frac{4Q}{\pi R_C^3}$	138
Equation IV.2	$\tau_{app} = \frac{P_0 R_C}{2L_C}$	139
Equation IV.3	$\dot{\gamma} = \frac{3n+1}{4n} \dot{\gamma}_{app}$	139

Equation IV.4	$n = \frac{\partial \log \tau_{app}}{\partial \log \dot{\gamma}_{app}}$	139
Equation IV.5	$WVP = \frac{\Delta m \times e}{\Delta t \times A \times \Delta P}$	152
Equation IV.6	$V_{abs_t} = V_t - V_{evap_t}$	162
Equation IV.7	$F_{abs} = \frac{V_{abs_t}}{A \times t}$	162
Equation IV.8	$-\gamma_{GS} + \gamma_{LS} + \gamma_{LG} \cos \theta = 0$	163

Abréviations

AG: Acide Gras

AGRICE : Agriculture pour la Chimie et l'Energie

Ar : Allongement à la rupture

ATG : Analyse thermogravimétrique

A_w : Activité de l'eau

BET : Brunauer, Emmet et Teller

C : Constante de Guggenheim, constante d'énergie relative à la chaleur de l'adsorption de la monocouche moléculaire.

CASCa : Caséinate de calcium

CASNa : Caséinate de sodium

CG-MS : Chromatographie gaz couplée à la spectroscopie de masse

Da : Daltons

DEG : Di-éthylène glycol

DSC : Differential Scanning Calorimetry

E : Module de Young

EG : Ethylène glycol

FTIR : Infrarouge à transformé de Fourier

GAB : Guggenheim, Anderson et Boer

HR: Humidité Relative

K : Constante correspondante à la chaleur d'adsorption de la multicouche d'eau, relative à l'eau libre.

LDPE : Polyéthylène basse densité

MEB : Microscope électronique à balayage

M_m : Monocouche d'eau adsorbée par le matériau

MS: Matière sèche

PAGE: Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

PBAT : Poly(butylène adipate-co- téréphtalate)

PBSA : Poly(butylène succinate-co-adipate)

PCL : Polycaprolactones

PEA : Polyesteramides

PEHD : Polyéthylène haute densité
PEG: Polyéthylène glycol
PHA : Polyhydroxyalcanoates
PHB : Polyhydroxybutyrate
PHBV : Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate)
PLA : Acide polylactique
Rpm : Rotation par minute
S : Nombre de Svedberg
SDS : Sodium Dodécyl Sulfate
TEA : Triéthanolamine
TeEG : Tétra-éthylène glycol
TEG : Tri-éthylène glycol
Tg: Température de transition vitreuse
UV : Ultra Violet
WPC : concentrés de protéine sériques
WPI : Isolats de protéine sériques
WVP : perméabilité à la vapeur d'eau
Xeq : Teneur en eau à l'équilibre

Introduction générale

Introduction générale

Depuis leur apparition dans l'année 1840, les matières plastiques ont révolutionné notre quotidien et notre environnement. Le développement extraordinaire de ces matériaux s'explique par leurs qualités multiples ; aptitude à la mise en forme, hydrophobicité, inertie biologique, faible densité, résistance mécanique et bas prix.

Cependant, l'exploitation accentuée de ces plastiques dans des domaines aussi variés que l'emballage, l'automobile et la décoration s'accompagne d'une accumulation de ces matières dans notre environnement, source de pollution à long terme. En effet, ces plastiques mis en forme en quelques secondes, mettent des centaines d'années pour se dégrader dans la nature. Ajoutons à cela, la nécessité du pétrole pour la production de ces plastiques, lequel est de plus en plus cher.

D'autre part, le traitement des matières plastiques issues de la pétrochimie pose un grand problème. En effet, l'incinération des déchets plastiques se heurte à la nécessité du retraitement des fumées, en particulier pour les plastiques contenant des halogènes et à la réduction des émissions de CO₂ issues de matières carbonées fossiles. Le recyclage pour la fabrication de nouveaux matériaux se heurte quand à lui aux problèmes du tri, et du nettoyage des matières rejetées.

Aujourd'hui, le monde est marqué par une prise de conscience sur la nécessité de remplacer l'utilisation du carbone fossile par du carbone renouvelable, issu d'agroressources. L'augmentation du nombre d'usines de production de biocarburants en est une preuve. De même, de nouveaux matériaux plastiques ou composites se sont également développés à partir de biopolymères issus de la biomasse. Le marché actuel de ces "biomatériaux" est estimé à 20 000 tonnes/an avec pour principal débouché, les films.

Parmi les polymères naturels ou issus de ressources naturelles, les protéines sont des candidates intéressantes pour la fabrication de biomatériaux par leurs propriétés thermoplastiques et leur diversité structurale. La valorisation non alimentaire de ces bioressources représente un enjeu majeur qui offre une alternative incontournable pour la substitution de produits issus de ressources fossiles, comme le pétrole ou le gaz.

De par leur caractère hydrosoluble et comestible, certaines protéines constituent une cible dans le domaine des matériaux d'emballages hydrosolubles et/ou comestibles. Ce type d'emballage, présentant la particularité de se dissoudre immédiatement au contact de l'eau, trouve des applications dans plusieurs domaines. Il peut ainsi être utilisé pour le conditionnement de produits d'entretien, de produits agricoles, chimiques ou encore dans le domaine alimentaire. Aujourd'hui, il existe sur le marché des emballages hydrosolubles composés généralement d'alcool polyvinylique. Cependant, leur nature pétrochimique et leur biodégradabilité mise en cause restreignent leurs applications.

Les emballages hydrosolubles et comestibles présentent plusieurs avantages : facilité d'emploi, sécurité de produits dangereux, possibilité du conditionnement de produits pré-dosés et économie des frais d'élimination des emballages traditionnels usagés. De ce fait, les protéines hydrosolubles constituent une matière première prometteuse pour le développement de nouvelles applications hydrosolubles et/ou comestibles, notamment dans le domaine agro-alimentaire.

L'objectif de ce travail consiste à développer un matériau biodégradable et hydrosoluble entièrement ou partiellement biosourcé à base d'une protéine laitière, de manière à proposer une alternative réaliste sur le plan économique aux plastiques synthétiques possédant ces propriétés, particulièrement de se dissoudre dans l'eau. La protéine du lait retenue pour ce projet est le caséinate, une forme neutralisée de la caséine qui est la protéine la plus abondante du lait. Le choix de cette protéine s'explique par l'originalité de ses caractéristiques. En effet, la structure ouverte en pelote statistique ainsi que sa capacité à former des liaisons hydrogènes, électrostatiques et hydrophobes intermoléculaires lui procurent des propriétés de thermoplasticité, de filmabilité et de résistance à la dégradation thermique. Ces caractéristiques sont nécessaires à la mise en œuvre de matériaux plastiques. Mettre au point la méthodologie de transformation du caséinate par extrusion réactive sera l'objectif principal de ce travail.

Ce manuscrit, présentant les résultats de recherches menées au laboratoire Ingénierie des Matériaux Polymères, est organisé en quatre chapitres.

La première partie sera consacrée à une analyse bibliographique portant sur l'organisation structurale des protéines d'une manière générale et des protéines laitières de façon plus précise. Nous rapporterons également les résultats de recherches cités dans la littérature et

portant sur la valorisation des protéines en tant que matière première pour la mise en œuvre de matériaux plastiques. Enfin, nous décrirons les technologies et les conditions optimales citées dans la bibliographie qui ont déjà permis la mise en forme des caséines et caséinates.

Dans une seconde partie, nous mettrons l'accent sur la description de l'extrusion bi-vis, le procédé de mise en œuvre utilisé pour la transformation de caséinate de sodium en granulés thermoplastiques. Nous expliciterons, par la suite l'influence des différents paramètres, susceptibles d'influencer la qualité du compound, lors du procédé d'extrusion.

Le troisième chapitre sera dédié à la caractérisation physico-chimique du matériau thermoplastique à base de caséinate de sodium. Une étude sur les propriétés mécaniques de ce matériau sera aussi menée pour évaluer sa tenue mécanique.

Enfin le dernier chapitre exposera le procédé d'extrusion soufflage de gaine permettant la fabrication de films fins, à partir de granulés thermoplastiques basés totalement ou partiellement sur du caséinate de sodium. Une première partie de ce chapitre sera consacrée à l'étude des propriétés du film fin de caséinate de sodium. Dans une seconde partie, nous étudierons l'association du caséinate de sodium avec un autre polymère biodégradable afin de concevoir un nouveau matériau dont les propriétés mécaniques seront améliorées.

Chapitre I

Les protéines dans la fabrication des matériaux plastiques

Sommaire

Introduction	18
I.1. Classification des biomatériaux	19
I.2. Structure des protéines	22
I.2.1. Les différentes interactions	25
I.2.2. La structure primaire	26
I.2.3. Les structures secondaires	26
I.2.4. La structure tertiaire	27
I.2.5. La structure quaternaire	28
I.2.6. La dénaturation des protéines	29
I.3. Les protéines comme matériaux	30
I.3.1. Les Protéines végétales	30
I.3.1.1. Les protéines de soja	31
I.3.1.2. Le Gluten	32
I.3.1.3. La Zéine	33
I.3.2. Les protéines animales	34
I.3.2.1. Le collagène	34
I.3.2.2. La gélatine	35
I.4. Les protéines laitières et les matériaux dérivés	36
I.4.1. Les protéines du lactosérum	37
I.4.1.1. La β -lactoglobuline	38
I.4.1.2. L' α -lactalbumine	39
I.4.1.3. Les matériaux à base des protéines du lactosérum	40
I.4.2. Les caséines	42
I.4.2.1. Les différents concepts de la structure micellaire	42
I.4.2.2. Les structures de la caséine	44
I.4.2.3. L'extraction des caséines	46
I.4.2.4. Les propriétés fonctionnelles des caséines	47
I.4.2.4.1. La solubilité	47
I.4.2.4.2. L'hydratation et l'absorption d'humidité	48
I.4.2.4.3. Les propriétés émulsifiantes	49
I.4.2.4.4. Les propriétés thermiques	49
I.4.2.4.5. Les propriétés rhéologiques	50
I.4.3. Les matériaux à base de caséines et de caséinates	50
I.4.3.1. La galalithe	51
I.4.3.2. Les films de caséinates	52
I.4.3.2.1. La mise en œuvre des caséines et des caséinates	52
I.4.3.2.2. La réticulation des caséinates et/ou des caséines	53
I.4.3.2.3. Les propriétés mécaniques des films	56
I.4.3.2.4. Les propriétés barrières à la vapeur d'eau	60
I.4.3.2.5. Les propriétés barrières aux gaz	62
Conclusion	64

Chapitre I

Les protéines dans la fabrication des matériaux plastiques

Introduction

Les plastiques ont envahi la vie quotidienne, se substituant souvent avantageusement à des matières comme le verre, le papier ou le bois. Pour certaines applications, ils concurrencent aussi les métaux, et même certains matériaux de construction.

L'histoire du plastique a commencé à l'aube de la révolution industrielle, en Angleterre au début du XIX^{ème} siècle.

Alexander Parkes fait partie de ces inventeurs de l'époque, n'ayant aucune formation scientifique particulière. S'étant occupé un temps de la fabrication du caoutchouc naturel, il s'intéresse à la création de matières pouvant avoir des qualités proches de celles du caoutchouc et obtient un premier type de celluloïd baptisé Parkésine dont les premiers échantillons sont présentés au cours de l'exposition universelle à Londres en 1862. De l'autre côté de l'Atlantique, à l'occasion d'un concours, les frères Hyatt, imprimeurs de l'Etat de New York, cherchent un substitut à l'ivoire pour la fabrication des boules de billard. En 1870, à partir du camphre et de la cellulose ils mettent au point la première véritable matière plastique : le nitrate de cellulose dit celluloïd.

L'année 1893 fut marquée par l'invention de la galalithe lorsqu'un chercheur français M. Trillat a découvert la propriété d'insolubilisation des caséines que possède le formaldéhyde. Cette invention fut reprise et améliorée par deux chimistes allemands A. Spitteler et W. Krische en 1897. En effet, à cette époque W. Krische recherchait la possibilité d'obtenir des ardoises blanches, lavables et incassables [1]. A. Spitteler, de son côté, a montré que l'utilisation de la caséine dans certaines conditions permet d'obtenir une substance souple, analogue à la corne et insoluble. Les deux chercheurs allemands ont obtenu un brevet anglais

en octobre 1897 et leur procédé a été pris en considération par la ‘galalith company’ de Harbourg [2].

Ce n’est qu’en 1909 que le vocable « plastique » fut introduit par Baekeland, chimiste américain d’origine belge, qui a fait réagir du formaldéhyde avec du phénol afin de produire une matière thermodurcissable 100% synthétique : la bakélite. Il déposera le brevet de la fabrication de la bakélite un an plus tard.

Après la première guerre mondiale, la fabrication des premières matières plastiques entre dans l’ère industrielle. Le pétrole, matière première principale dans la fabrication du plastique est accessible, et la pétrochimie se diversifie, donnant naissance à la plasturgie dont le but est de concevoir et de fabriquer des objets en plastique. Les années 1950 marquent la diversification, l’entrée dans l’ère de la production et de la consommation en masse, la créativité s’exprimant dans la recherche des formes et des couleurs données aux plastiques. Cependant, ces matières plastiques, issues du pétrole, sont utilisées sur une période de temps très réduite et génèrent rapidement un volume de déchets important. Malgré un développement considérable des filières de gestion des déchets, leur traitement et leur élimination posent encore de nombreux problèmes. L’année 1973 a connu le premier choc pétrolier, provoqué par une hausse du prix et la diminution des réserves de pétrole.

La combinaison de l’augmentation de la quantité des déchets plastiques et la raréfaction des ressources pétrolières, a amené un développement important de nouveaux matériaux plastiques biosourcés. Ces nouveaux bioplastiques possèdent généralement l’avantage d’être biodégradables. Même si leur prix reste encore un frein à leur développement, les polymères biodégradables commencent à quitter les niches commerciales pour accéder à des marchés de masse où ils remplacent les plastiques synthétiques.

I.1. Classification des biomatériaux

«Biomatériaux », « agromatériaux », « biopolymères » ou encore « biodégradables », sont des termes largement utilisés, aujourd’hui, pour promouvoir ces matériaux à vertus environnementales. Cependant, la clarification de la signification de chacun de ces termes qui rendent ces polymères substituables aux polymères synthétiques, s’avère indispensable. Selon l’AGRICE (Agriculture pour la Chimie et l’Energie), un biomatériau est un matériau synthétisé par le vivant (animal ou végétal). Il inclut les agromatériaux et les biopolymères. Les premiers sont formés de mélanges de fibres naturelles et de polymères (ainsi que le bois

matériau en tant qu'élément de construction dans les structures). Les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables (plantes, algues ou animaux). Ces biopolymères sont regroupés en trois familles principales : les polysaccharides, les protéines et la lignine. Ils sont en général directement extraits de la biomasse, mais ils peuvent être obtenus également par des procédés industriels de synthèse (polymérisation).

En ce qui concerne le terme « biodégradable », la norme européenne EN 13432 :2000 l'a défini comme étant un matériau susceptible de subir une dégradation par action enzymatique des micro-organismes, en dioxyde de carbone, composés inorganiques, nouvelle biomasse et eau (en présence d'oxygène) ou méthane (en absence d'oxygène) [3]. Cette dégradation peut être mesurée par des tests standards sur une période de temps définie. Cette norme européenne diffère de la norme internationale ASTM D-5488-94d (American Society for Testing and Materials), uniquement au niveau des conditions du compost (humidité, température) [3]. Selon la norme EN 13432 :2000, si les tests de biodégradabilité sont mesurés dans un composteur industriel (en andain ou en tas) pendant 12 semaines maximum, on parle alors de compostabilité [4]. Tout matériau compostable est biodégradable, mais tout ce qui est biodégradable n'est pas compostable [4].

Les matériaux polymères biodégradables combinent les bonnes qualités d'usage des plastiques synthétiques et la capacité à être dégradés par une attaque microbienne. La figure I.1 illustre la classification des polymères biodégradables, selon leur origine ou procédé de synthèse. Certains sont issus de ressources renouvelables, d'autres de la pétrochimie. Deux grands groupes se distinguent. Le premier groupe comprend principalement des polyesters biodégradables :

- Les polymères bactériens obtenus principalement par fermentation, tels que les polyhydroxyalcanoates (PHA) avec par exemple le polyhydroxybutyrate (PHB) ou le poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV).
- Les polymères dont seuls les monomères sont issus de la biomasse, tels que les polymères dérivés des acides lactiques ; l'acide polylactique (PLA).
- Les polymères dont les monomères sont issus de ressources fossiles. Il s'agit des polycaprolactones (PCL), polyesteramides (PEA) et différents copolyesters aromatiques ou aliphatiques ; le poly(butylène adipate-co- téréphtalate) (PBAT) et le poly(butylène succinate-co-adipate) (PBSA).

Le second groupe, englobe les polymères extraits directement de la biomasse (agro-polymères) et leurs dérivés. Les plus couramment employés dans cette catégorie sont les polysaccharides et les protéines.

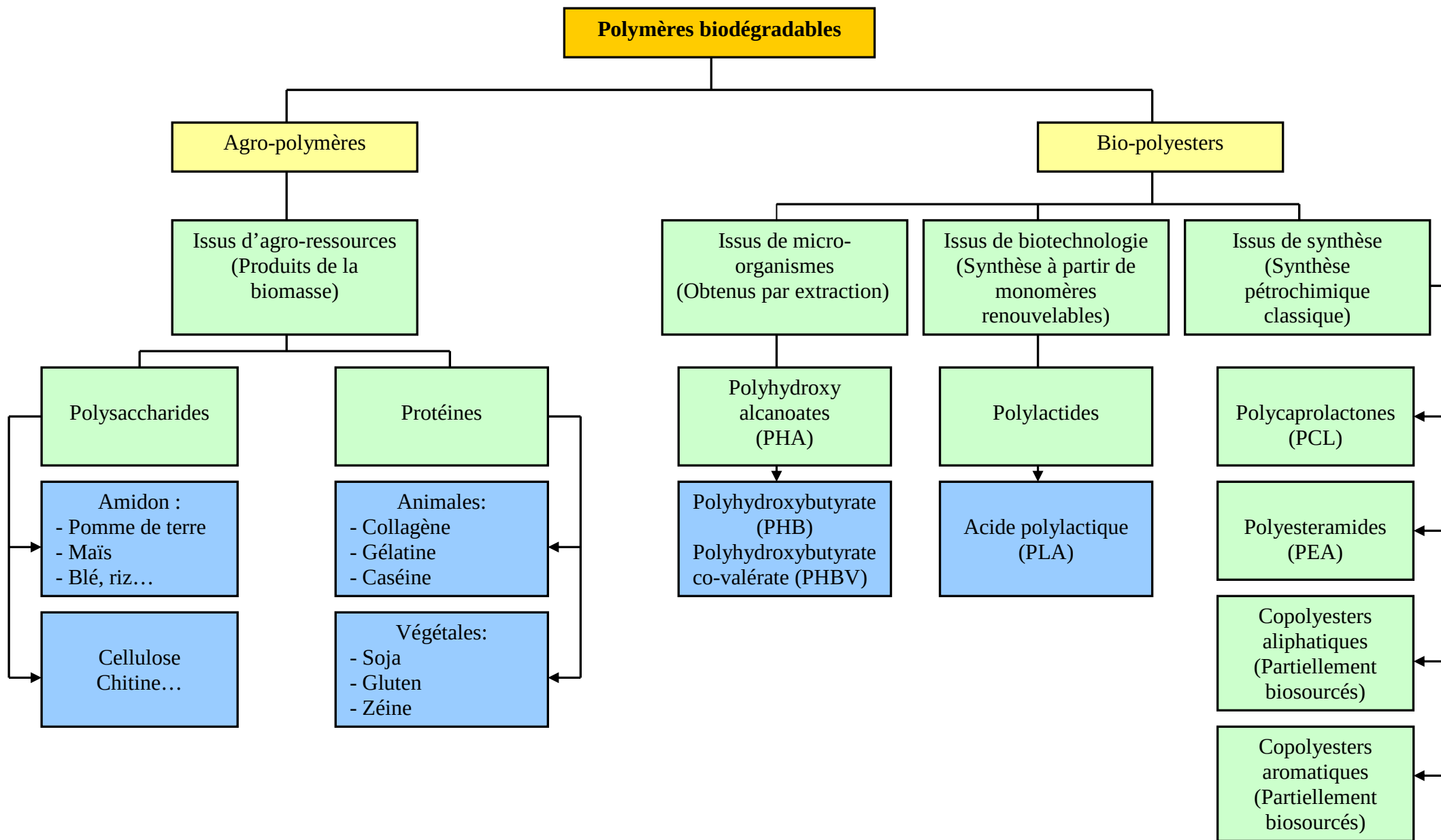


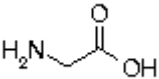
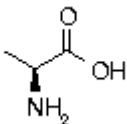
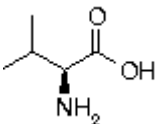
Figure I.1 : Classification des polymères biodégradables [3].

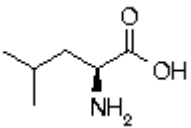
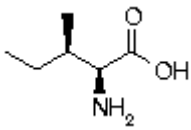
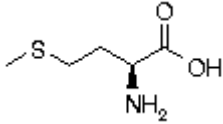
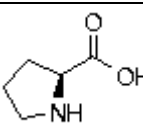
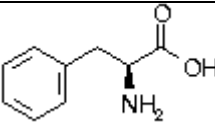
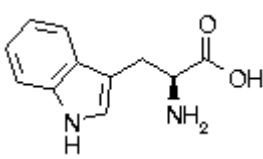
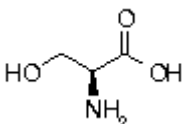
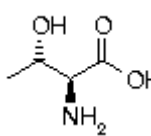
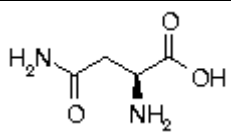
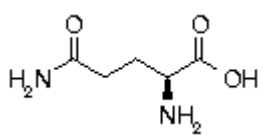
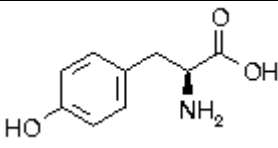
Plusieurs travaux de recherche se sont intéressés à la valorisation des Polysaccharides, notamment l'amidon, et des protéines en tant que matériaux. Ceci pourrait être dû à leur disponibilité, leur facilité d'extraction, à la connaissance et la maîtrise de leurs architectures structurales ainsi qu'aux interactions qui les régissent. Dans ce chapitre bibliographique, nous nous limiterons à la description des caractéristiques structurales des protéines ainsi que leur utilisation dans la filière des biomatériaux.

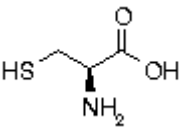
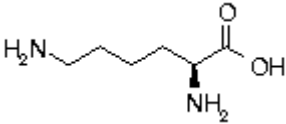
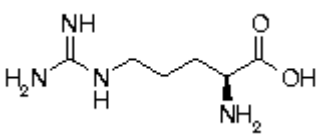
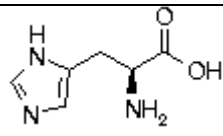
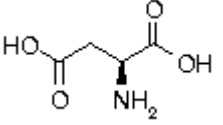
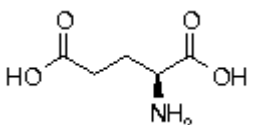
I.2. Structure des protéines

Présentes chez tous les êtres vivants, des bactéries à l'Homme, les protéines sont des macromolécules complexes ; leur poids molaire varie d'environ 5000 à quelques millions de daltons (équivalents à des grammes/mol) [5]. Ce sont des hétéropolymères, composés de l'enchaînement d'acides aminés, constituant l'unité monomérique, unis par des liaisons peptidiques, en une chaîne linéaire non ramifiée. Ces acides aminés constitutifs, appartiennent principalement à un groupe restreint de vingt acides aminés différents (tableau I.1). Les chaînes comportant moins de 100 motifs acides aminés sont appelées polypeptides. Au-delà, elles portent le nom de protéines.

Tableau I.1 : Structure et masse molaire des 20 acides aminés ainsi que leur fréquence dans les protéines [6].

Nom (Abréviations)	Structure chimique	Masse du résidu (g/mol)	Fréquence moyenne dans les protéines (%)
Acides aminés non polaires			
Glycine (Gly, G)		57.0	6.8
Alanine (Ala, A)		71.1	7.6
Valine (Val, V)		99.1	6.6

Leucine (Leu, L)		113.2	9.5
Isoleucine (Ile, I)		113.2	5.8
Méthionine (Met, M)		131.2	2.4
Proline (Pro, P)		97.1	5.0
Phénylalanine (Phe, F)		147.2	4.1
Tryptophane (Trp, W)		186.2	1.2
Acides aminés polaires non chargés			
Sérine (Ser, S)		87.1	7.1
Thréonine (Thr, T)		110.1	5.6
Asparagine (Asn, N)		114.1	4.3
Glutamine (Gln, Q)		128.1	3.9
Tyrosine (Tyr, Y)		163.2	3.2

Cystéine (Cys, C)		103.1	1.6
Acides aminés polaires chargés			
Lysine (Lys, K)		128.2	6.0
Arginine (Arg, R)		156.2	5.2
Histidine (His, H)		137.1	2.2
Acide aspartique (Asp, D)		115.1	5.2
Acide glutamique (Glu, E)		129.1	6.5

La nature, le nombre et la séquence d'enchaînement de ces différents acides aminés conduisent à une multitude de combinaisons, et le nombre de protéines différentes sur terre est estimé à 10^{14} . A cet égard, les protéines diffèrent des polysaccharides où seulement quelques monomères sont impliqués dans leur structure. Par exemple, la cellulose et l'amidon, les polymères de polysaccharides les plus fréquents, contiennent un seul monomère, le glucose [7].

La plupart des protéines n'existent que dans l'un des deux états suivants, appelés conformations : à l'état étendu, sous forme de tiges relativement rigides, ou bien à l'état de globules, donc sous une forme compacte. Les protéines possèdent une structure complexe, qui peut se diviser en plusieurs niveaux. Mais avant d'envisager ces différentes structures, il faut connaître les interactions qui les rendent possibles. Kauzman [8] a défini les différentes interactions responsables du maintien de la configuration native des protéines dont les plus connues sont décrites ci-dessous.

I.2.1. Les différentes interactions

Liaisons hydrogènes : ce type d'interaction, non covalente, se forme lorsque sont à proximité l'un de l'autre, d'une part un atome d'oxygène d'un groupement carbonyle, et d'autre part un atome d'hydrogène d'un groupement amide. Ces liaisons sont importantes dans le repliement du squelette protéique.

Liaisons hydrophobes : presque toutes les chaînes protéiques contiennent un certain nombre d'acides aminés ayant une chaîne latérale hydrophobe, non polaire (valine, leucine, phénylalanine...) qui ne forme pas de liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau ; ces chaînes latérales ainsi repoussées ont tendance à se rapprocher, ce qui permet ainsi des interactions entre différentes parties d'une chaîne polypeptidique.

Liaisons ioniques (ou salines) : les attractions électrostatiques entre un radical chargé positivement et un autre chargé négativement, constituent un facteur important dans le maintien de la structure native des protéines malgré leur faible énergie (non covalente).

Liaisons de Van der Waals : ces associations non covalentes entre des molécules électriquement neutres, se forment à partir d'interactions électrostatiques entre dipôles. Les forces de Van der Waals sont responsables d'interactions multiples, d'intensités variables entre atomes voisins non liés [6].

Contrairement aux interactions non covalentes, citées ci-dessus, les liaisons covalentes (ponts disulfures) nécessitent une forte énergie libre pour les rompre.

Les ponts disulfures : ce sont des liaisons qui s'établissent entre deux résidus de cystéine appartenant soit à la même chaîne peptidique, soit à deux chaînes différentes. Puisque ces interactions se forment en même temps que la protéine se replie pour prendre sa conformation native, ils participent à la stabilisation de sa structure tridimensionnelle [6]. Ces ponts disulfures, localisés dans la chaîne protéique, ne lui permettent pas de se replier en une autre configuration qui pourrait être plus stable [8].

Les caractéristiques structurales d'une protéine résultent d'un équilibre entre ces différentes interactions qui assurent le maintien de la cohésion d'une protéine. Quatre niveaux structuraux se distinguent [9]:

I.2.2. La structure primaire

Bien que des protéines différentes se distinguent aussi par leur composition brute, c'est l'ordre dans lequel s'enchaînent les acides aminés qui est déterminant et confère à chaque protéine ses propriétés distinctives. La figure I.2 illustre l'enchaînement des acides aminés de la caséine κ B, protéine du lait. La séquence des résidus d'acides aminés, liés entre eux par des liaisons covalentes (liaisons peptidiques), correspond à la structure primaire de la protéine. Les résidus sont numérotés depuis l'extrémité aminée ($-\text{NH}_3^+$) de la chaîne polypeptidique jusqu'à son extrémité carboxyle ($-\text{COO}^-$).

${}_3\text{HN}^+$ -PyroGlu¹-Glu-Gln-Asn-Gln-Glu-Gln-Pro-Ile-Arg¹⁰-Cys-Glu-Lys-Asp-Glu-Arg-Phe-Phe-Ser-Asp²⁰-Lys-Ile-Ala-Lys-Tyr-Ile-Pro-Ile-Gln-Tyr³⁰-Val-Leu-Ser-Arg-Tyr-Pro-Ser-Tyr-Gly-Leu⁴⁰-Asn-Tyr-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Val-Ala-Leu⁵⁰-Ile-Asn-Asn-Gln-Phe-Leu-Pro-Tyr-Pro-Tyr⁶⁰-Tyr-Ala-Lys-Pro-Ala-Ala-Val-Arg-Ser-Pro⁷⁰-Ala-Gln-Ile-Leu-Gln-Trp-Gln-Val-Leu-Ser⁸⁰-Asp-Thr-Val-Pro-Ala-Lys-Ser-Cys-Gln-Ala⁹⁰-Gln-Pro-Thr-Thr-Met-Ala-Arg-His-Pro-His¹⁰⁰-Pro-His-Leu-Ser-Phe¹⁰⁵-Met¹⁰⁶-Ala-Ile-Pro-Pro¹¹⁰-Lys-Lys-Asn-Gln-Asp-Lys-Thr-Glu-Ile-Pro¹²⁰-Thr-Ile-Asn-Thr-Ile-Ala-Ser-Gly-Glu-Pro¹³⁰-Thr-Ser-Thr-Pro-Thr-Ile-Glu-Ala-Val-Glu¹⁴⁰-Ser-Thr-Val-Ala-Thr-Leu-Glu-Ala-Ser-Pro¹⁵⁰-Glu-Val-Ile-Glu-Ser-Pro-Pro-Glu-Ile-Asn¹⁶⁰-Thr-Val-Gln-Val-Thr-Ser-Thr-Ala-Val¹⁶⁹-COO⁻

Figure I.2 : Structure primaire de la caséine κ (variant B) bovine [10].

I.2.3. Les structures secondaires

La structure secondaire d'un polymère correspond à la conformation locale de son squelette. Dans le cas des protéines, certaines régions de la chaîne protéique adoptent des motifs réguliers dont deux sont particulièrement bien connus :

L'hélice α : c'est l'élément le plus frappant de la structure secondaire des protéines. L'hélice α est une hélice droite contenant 3 à 6 résidus acides aminés par tour de spire. Cette structure permet l'établissement d'une liaison hydrogène entre l'oxygène d'un résidu et l'hydrogène du quatrième résidu qui lui fait suite dans la chaîne en direction de l'extrémité

C-terminale. Un ruban enroulé en spirale autour d'un cylindre, est la représentation schématique de cet élément de structure (figure I.3).

Le feuillet plissé β : il est constitué de deux portions relativement étendues du squelette polypeptidique dans lesquelles les acides aminés adjacents sont inclinés alternativement dans des directions opposées, d'où le plissage. Les groupes N-H et C=O pointent vers l'extérieur, dans des directions approximativement perpendiculaires au squelette du feuillet et la structure est stabilisée par des liaisons hydrogènes qui se forment entre ces groupes de deux chaînes pratiquement parallèles. Dans une protéine, cette structure est schématiquement représentée par un ruban portant une tête de flèche qui indique la direction de l'extrémité C-terminale (figure I.3).

Le coude β : les éléments de structure secondaire régulière cités ci-dessus, où les résidus consécutifs adoptent la même conformation, sont connectés par des *boucles*. Celles-ci sont des motifs de structure secondaire non répétitive irrégulière et de longueur variable. *Le coude β* est le type de boucle le plus courant. Il se compose de quatre acides aminés, avec une liaison hydrogène entre l'oxygène du carboxyle (C=O) du premier résidu et l'atome d'azote (N-H) du groupe amide du quatrième.

Lorsque la conformation locale d'un segment protéique ne correspond à aucune de ces structures secondaires, on dit qu'il adopte une conformation en pelote statistique (**random coil**) qui désigne l'ensemble des conformations totalement désordonnées et fluctuantes. Ce type de structure est le plus souvent associé aux boucles. Pelote statistique ne signifie pas pour autant absence de structuration.

I.2.4. La structure tertiaire

Cette structure correspond à des reploiements intrachaînes, c'est-à-dire à un arrangement relatif préférentiel de séquences ordonnées plus ou moins longues. Une représentation de ce niveau supérieur d'organisation peut être donnée par un assemblage tridimensionnel des structures secondaires, permettant une stabilité thermodynamique maximale de la protéine (figure I.3). De multiples liaisons intrachaînes interviennent dans la stabilisation de cette structure : liaisons hydrogènes, interactions de Van Der Waals, ioniques ou hydrophobes, ou encore liaisons covalentes (ponts disulfures).

Ainsi la structure tertiaire des protéines permet de distinguer celles qui sont de type fibrillaire de celles qui sont de type globulaire. Certaines familles de protéines comme les prolamines

(gliadines, glutélines) peuvent être classées dans les deux catégories. En fait, la structure tertiaire d'une protéine globulaire peut être considérée comme une succession de régions ordonnées en hélice α ou en feuillet β , réunies par des zones non ordonnées, donc amorphes.

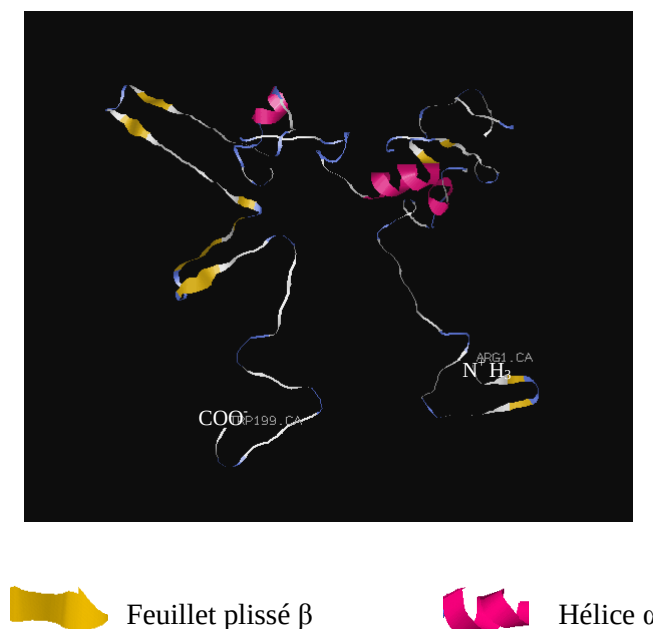


Figure I.3 : Représentation tridimensionnelle de la structure tertiaire de la caséine α_{s1} .

I.2.5. La structure quaternaire

C'est l'association de molécules protéiques qui, prises isolément, ne possèdent pas l'activité biologique. Ces molécules peuvent être identiques (oligomère) ou différentes. L'organisation de ces molécules est assurée par des liaisons interchaînes de même type que dans la structure tertiaire.

Ainsi selon leur structure tertiaire, les protéines peuvent être considérées comme des biopolymères cristallins ou semi-cristallins.

Cependant, sous l'effet de la température, de la pression, du cisaillement ou des agents chimiques, ces différents niveaux d'organisation moléculaire peuvent être détruits ou modifiés. C'est la dénaturation.

I.2.6. La dénaturation des protéines

La dénaturation résulte d'une modification des structures quaternaire, tertiaire et secondaire, par rupture des liaisons intra et intermoléculaires entre les résidus protéiques qui stabilisent ces structures, sans fragmentation de la chaîne peptidique.

Les conditions physiques, chimiques et thermiques qu'une protéine peut rencontrer, induisent des changements au niveau du squelette protéique. Ces variations structurales se produisent suite à plusieurs conditions : élévation de la température, pH extrêmes (particulièrement alcalins), exposition à des conditions oxydantes et addition ou retrait du solvant (fréquemment l'eau) [11]. La figure I.4, illustre quelques changements de la structure d'une protéine en fonction de la variation du degré du traitement thermique [11]. Le changement très subtil à faible température, se traduit par l'augmentation de la mobilité des chaînes latérales et le début de la destruction des zones cristallines assurées par les structures secondaires. Quand la température du processus augmente, ces changements s'accroissent par rupture des ponts disulfures qui se traduisent par la perte de la structure tertiaire. Enfin, à des traitements thermiques sévères, la protéine se dégrade en peptides par destruction des liaisons peptidiques reliant les acides aminés.

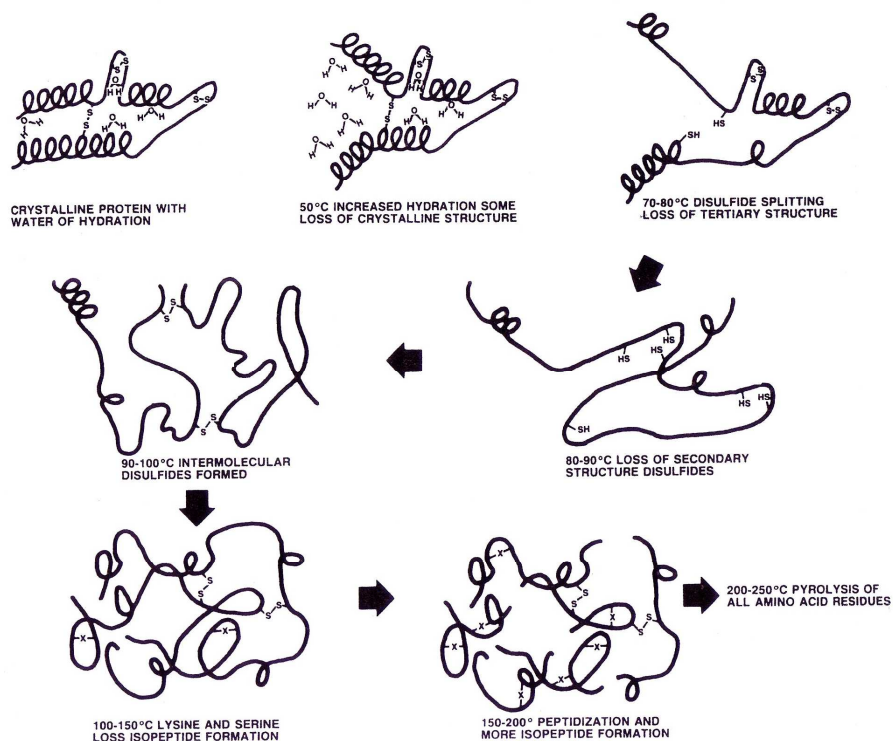


Figure I.4 : Changements structuraux que peuvent subir une protéine suite à un traitement thermique [11].

I.3. Les protéines comme matériaux

Les protéines sont de potentiels biopolymères pour l'élaboration de matériaux plastiques biodégradables et ce pour plusieurs raisons :

✓ Etant basées sur 20 acides aminés constituant l'unité monomérique, les protéines sont des polymères, potentiellement de grandes masses molaires, possédant de nombreuses fonctions chimiques différentes. Chaque acide aminé a une chaîne latérale qui lui est spécifique [7]. Elle peut être non polaire (hydrophobe), polaire (hydrophile), chargée positivement ou négativement à pH7 [5]. Cette diversité structurale confère aux protéines une multitude de fonctions chimiques [12] et plusieurs types d'interactions et de structures avec des propriétés variables, sont possibles [13].

✓ Leur structures secondaire, tertiaire ou encore quaternaire peuvent être modifiées par plusieurs agents, physiques ou chimiques (température, pression, irradiation, traitement acide ou alcalin, traitement mécanique...) [5]. Ceci permet de contrôler les propriétés physiques et mécaniques des films de protéines [14]. Cette propriété de modification de structure que possèdent les protéines, est largement utilisée dans la mise en œuvre de films à base de protéines pour optimiser les propriétés finales du matériau [7].

✓ Les protéines sont des biopolymères biodégradables et comestibles [15]. En effet, en fonction de la formulation, la méthode de transformation et la nature des traitements, les films de protéines peuvent être, à la fois, comestibles et biodégradables [7].

✓ Les matériaux à base de protéines possèdent des propriétés mécaniques satisfaisantes, et sont d'excellentes barrières à l'oxygène, au dioxyde de carbone et aux lipides, particulièrement à faible taux d'humidité [16].

I.3.1. Les Protéines végétales

Depuis longtemps, plusieurs protéines ont été employées pour produire des matériaux, on peut citer : le soja [17-29], le gluten [30-35] et la zéine [36-38].

Les premiers travaux dans ce domaine datent des années 1930, ils consistaient au moulage des protéines plastifiées à l'eau. Les objets obtenus sont ensuite trempés dans une solution de formaldéhyde pour les endurcir [26]. Plusieurs difficultés rencontrées dans cette période, ont entravé le développement du moulage des protéines ; les objets moulés devaient sécher à l'air libre ce qui causait leur rétrécissement d'autant plus que les objets finis restaient poreux ce

qui augmente leur absorption de l'humidité. D'un autre côté les matériaux obtenus étaient très fragiles [26]. Récemment, les contraintes imposées par la gestion et le devenir des déchets de plastiques synthétiques, ont réactivé les recherches autour des matériaux à base de protéines. La synthèse bibliographique sera portée sur les protéines les plus utilisés pour le développement et la fabrication des biomatériaux.

I.3.1.1. Les protéines de soja

Les protéines de soja sont constituées d'un mélange d'albumines et de globulines dont 90% possèdent une structure globulaire. La classification de ces protéines est basée sur le taux de sédimentation des fractions issues de l'ultracentrifugation [15]. Plus le nombre de Svedberg (S), unité de mesure du taux de sédimentation, est élevé plus la protéine est grande [39]. La protéine de soja contient quatre constituants dont les plus importants sont : 7S (conglycinine, 35%) et 11S (glycinine, 52%). A l'inverse de la glycinine, la conglycinine a une teneur faible en acides aminés soufrés [39].

Leur faible coût, leur disponibilité ainsi que leur biodégradabilité font d'elles une potentielle alternative pour remplacer les polymères pétrochimiques [27]. Les protéines de soja sont les premiers biopolymères qui ont été employés pour la fabrication des matériaux moulés. En effet, en 1930 Brother avait commencé à fabriquer des pièces pour des automobiles Ford avec un mélange de phénol/formaldéhyde/farine de soja [26]. Cette production a été arrêtée en raison du coût de l'extraction de cette protéine et de l'émergence des plastiques synthétiques. Dans les années 1970, des travaux se sont focalisés sur la synthèse de films à partir des isolats de protéines de soja par voie solvant [40]. Cette méthode consiste à étaler une solution de protéines sur une plaque (verre, téflon ou plexiglass) puis décoller le film une fois que tout le solvant s'est évaporé [41]. Cependant, sans l'utilisation de plastifiants, les produits sont cassants et fragiles ce qui limite leur emploi [25]. Shen [42] a remarqué que le film qui a été obtenu par voie solvant n'avait pas une bonne apparence, ce qui l'a amené à conclure que la protéine de soja est insoluble au pH utilisé pour cette expérience (pH6). En se basant sur cette constatation, Brandenburg et al. [25] ont procédé à un traitement alcalin des isolats de protéines de soja. Ce traitement a pour but de dénaturer la protéine et par la suite augmenter sa solubilité afin d'améliorer les propriétés et l'aspect du film obtenu. La dénaturation permet de détruire la structure globulaire de la protéine en chaîne allongée pour faciliter

l'établissement d'interactions protéines-protéines ce qui pourrait diminuer la perméabilité du film et augmenter sa tenue mécanique [25].

Certains auteurs [17,22,27,43] ont choisi de transformer les protéines de soja par compression. Ce processus combine température et pression élevées, temps de mise en forme court et faible teneur en eau. Ceci provoque le passage d'un système protéine-plastifiant en un mélange viscoélastique [15].

D'autres, ont opté pour le procédé d'extrusion afin d'augmenter le potentiel commercial des matériaux biodégradables dérivés de ces protéines [19,20]. Ainsi, l'équipe de Zhang [19] a démontré la faisabilité de l'extrusion des isolats de protéines de soja en films. Ceux-ci ont été réalisés en deux étapes : les extrudats obtenus par une extrudeuse bi-vis ont été granulés, puis repris dans une monovis pour la mise en œuvre de films.

I.3.1.2. Le Gluten

Le gluten est une protéine complexe associée aux glucides et lipides. Il représente 10% du poids sec de la farine et il est obtenu après extraction des grains d'amidon. Le gluten est composé de prolamines et glutélines, protéines hydrophobes. Les glutélines sont constituées de gliadines (20 à 50kDa) et de gluténines (environ 250kDa). Les propriétés technofonctionnelles du gluten sont la résultante des caractéristiques de ses constituants et des interactions apparues entre eux. Le caractère visqueux de la farine est assuré par les macromolécules de gluténines, tandis que les gliadines sont à l'origine de ses propriétés élastiques [13].

Le gluten a été utilisé en tant que matériau plastique pour la première fois en 1972 par Anker et al. [33] qui ont étudié la synthèse de films à base de gluten de blé par voie solvant, en dispersant ces protéines dans une solution alcaline. Cette dernière est constituée d'eau, d'éthanol, de glycérol et d'hydroxyde d'ammonium. Les films obtenus ont été utilisés ensuite comme emballage pour des produits alimentaires. Le même procédé a été adopté par Gennadios et al. [41]. Ces auteurs ont testé l'effet du pH sur le film de gluten. Ils ont montré que la formation de film a été entravée dans des pH extrêmes ($\text{pH} < 2$ et $\text{pH} > 13$). Un pH de 10-11 a été retenu. La force de traction est importante dans le cas des films synthétisés à pH supérieur à 9 alors que l'allongement à la rupture n'est pas affecté par le pH. Ces résultats ne concordent pas avec les résultats de recherche de Gontard et al. [44] et d'Herald et al. [45] qui ont montré que les films de gluten préparés à partir d'une solution d'éthanol à pH acide sont

homogènes, résistants, transparents et moins hydrosolubles que ceux synthétisés dans des conditions alcalines. Ceci a été expliqué par la réduction des liaisons disulfures dans ces conditions. Pour améliorer la tenue mécanique des films de gluten et baisser leur perméabilité, certains auteurs se sont focalisés sur le traitement chimique [34], thermique [45] ou encore physique [34] du gluten. D'autres, ont procédé à l'utilisation de l'extrusion en tant que méthode de réalisation des films de gluten [30,32,46]. Durant ce processus, des interactions disulfures s'établissent, principalement, pour former des extrudats rigides et compacts [32]. Ceci a été confirmé plus tard par les résultats de densimétrie, couplée à l'électrophorèse sur gel d'acrylamide, obtenus par Fischer [30]. En revanche, à une température de la filière de 180°C et une teneur en eau du gluten de 20%, cet auteur a remarqué une augmentation de la solubilité des extrudats dans le SDS (Sodium Dodécyl Sulfate), par rapport à la protéine native, et des groupements sulfhydryles libres. Pour expliquer ses observations, l'auteur a proposé l'hypothèse suivante : les interactions disulfures, se produisant dans la première partie de l'extrudeuse, se rompent dans les dernières zones de celle-ci ou dans la filière.

I.3.1.3. La Zéine

La zéine se trouve sous forme d'agrégats de protéines, solubles dans l'alcool, liés entre eux par des liaisons disulfures. Elle constitue au moins 50% des protéines totales de l'endosperme de maïs. La zéine se trouve sous trois fractions ; zéine- α , zéine- β et zéine- γ [47]. La zéine- α compte pour 75 à 85% des protéines totales [37] et est dominée par deux groupes Z19 (23 à 24 kDa) et Z22 (26 à 27kDa) [48,49].

La formation de films plastiques à base de zéine a été le sujet de plusieurs publications [36,50-52]. Ces films ont été essentiellement synthétisés par voie solvant, en solubilisant la protéine dans une solution alcoolique contenant un plastifiant pour augmenter la flexibilité, l'extensibilité du film et diminuer sa fragilité. Le glycérol est très utilisé pour plastifier la zéine, cependant, il a tendance à exsuder à la surface du film s'il est en excès [37]. Ceci pourrait être expliqué par les faibles interactions entre les chaînes protéiques et le glycérol [53]. Une étude plus récente, réalisée par Gillgren et al. [54], permet de confirmer cette hypothèse. Ces auteurs ont démontré par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier et de spectroscopie diélectrique que, ni l'eau ni le glycérol n'ont un effet sur la conformation du squelette protéique, et que se ne sont pas de bons plastifiants pour la transformation de la zéine. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Park et al. [53]. Cette équipe de recherche a

prouvé que le module d'Young du film à base de zéine plastifié au glycérol est très faible par rapport à celui de la zéine plastifiée avec un mélange du polyéthylène glycol/glycérol (50/50). D'un autre côté, ils ont remarqué que l'exsudation du glycérol a un impact sur l'aspect du film, transparent initialement, il devient gris après migration du glycérol à la surface.

Une méthode alternative, consiste en une plastification de la zéine en solution alcoolique, par des acides gras suivie d'une précipitation de la masse solide molle (résine) par l'eau froide [37]. Les films sont ensuite obtenus par étirage des résines molles fraîchement récupérées [37], ou par extrusion bi-vis des résines séchées [38]. Les acides gras saturés donnent des films rigides, alors que ceux insaturés permettent d'obtenir des films flexibles [38].

I.3.2. Les protéines animales

I.3.2.1. Le collagène

Le collagène est une protéine fibreuse, très répandue chez les animaux. Elle se trouve dans le cartilage, la peau, les tissus conjonctifs et les os. C'est une protéine trimérique constituée de trois chaînes polypeptidiques maintenues par des liaisons hydrogènes, en une triple hélice. Chaque chaîne a une masse molaire d'environ 100kDa. Elle est constituée principalement de glycine, proline et hydroxyproline qui est une forme modifiée de la proline [55].

Des films de collagène ont été traditionnellement employés pour préparer le boyau de saucisse comestible [56]. Bien que ces films ne soient pas aussi durs et forts que la cellophane, ils possèdent de bonnes propriétés mécaniques [56]. Ils ont, en grande partie, remplacé les boyaux intestinaux des saucisses. Le film de collagène est le film comestible à base de protéines, le plus réussi commercialement. En plus de fournir l'intégrité mécanique aux produits à base de viande, les films dérivés du collagène constituent une bonne barrière à l'oxygène et à l'humidité [57]. Ces films ont été employés pour réduire le transfert de gaz et d'humidité dans les viandes.

L'utilisation du collagène s'est rapidement développée dans le domaine biomédical grâce à sa très faible antigénicité, l'absence de l'immunoréaction [58], sa biocompatibilité, sa non toxicité, son hydrosolubilité et aussi sa capacité à relarguer lentement les médicaments [59,60].

La caractérisation des films à base de collagène, synthétisés le plus souvent par évaporation d'une solution acide de collagène, a été le sujet de plusieurs publications [58,61-65].

Sionkowska [64] a montré que le traitement de films de collagène par des irradiations UV diminue leur stabilité thermique et cause des fissures ce qui rend les mesures mécaniques impossibles. Dans une autre étude, Chirita [58] a proposé l'ajout d'acétate de calcium à la solution de collagène pour augmenter la tenue mécanique des films. Cet objectif a été atteint à faible taux de calcium, néanmoins l'auteur a remarqué que la contrainte de traction ainsi que l'allongement à la rupture décroissent avec l'augmentation de la concentration de calcium dans le film qui devient fragile et friable. A ces concentrations élevées en calcium, la solubilité des films dans un sérum physiologique ou dans une solution alcaline diminue. D'un autre côté, la diffusion de certains médicaments modèles à travers les matériaux à base de collagène a été le sujet d'une étude réalisée par Ho et al [62]. Cette équipe a choisi la réticulation du collagène par le glutaraldéhyde pour contrôler le taux de relargage en fonction de la concentration de ce dernier. Cette réticulation consiste en l'interaction entre un groupement amine libre de la lysine ou hydroxylysine de la protéine et le groupement aldéhyde du glutaraldéhyde [66]. Cependant, il est important de l'utiliser à faible concentration pour éviter la cytotoxicité locale qui pourrait être induite par ce réticulant [62]. L'équipe de Ho [62] a mis en évidence la concentration optimale en glutaraldéhyde (0.2%) permettant le contrôle du relargage des médicaments modèles étudiés et la réduction de l'effet cytotoxique du glutaraldéhyde.

I.3.2.2. La gélatine

La gélatine provient de la dénaturation thermique ou de la dégradation physique et chimique de la structure trimérique du collagène. Sa masse moléculaire varie de 3 à 200 kDa [16]. C'est une protéine semicristalline, ayant une structure chimique simple et caractérisée par sa grande affinité avec l'eau [13]. Pendant la gélification de la gélatine, les chaînes subissent une transition conformationnelle qui tend à récupérer la structure en triple hélice du collagène [67].

La gélatine est reconnue pour sa non antigenicité dans des conditions physiologiques, ce qui pourrait expliquer son utilisation massive dans les secteurs pharmaceutique et biomédical [68]. La fabrication de capsules est l'une des anciennes applications industrielles de la gélatine dans le domaine des agro-matériaux [69]. Elle est employée aussi pour la fabrication de biofilms pour des applications médicales [68]. Mais c'est principalement ses propriétés adhésives qui sont employées dans le secteur des matériaux [13].

Malgré ses succès dans le domaine biomédical, cette protéine biodégradable manque de tenue mécanique [68,70] et nécessite une étape de déshydratation pour être utilisée en tant que biomatériau plus stable dans le temps [70]. Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'amélioration de la tenue mécanique de films de gélatine. Bigi et al. [71] ont montré que l'étirage uniaxial à un taux d'allongement constant, succédé par un séchage à l'air, améliore les propriétés mécaniques des films obtenus. Ceci a été expliqué par l'orientation et l'alignement, des chaînes protéiques, parallèlement au sens de la déformation, favorisés par l'étirage. Aussi, les résultats de DSC proposés par de Bigi [71,72] montrent que l'amélioration des propriétés mécaniques est due aussi à la régénération de la structure trimérique, dénaturée suite au traitement thermique. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par les chercheurs Achet et He [73], quelques années auparavant. D'un autre côté, l'utilisation de matériaux à base de gélatine pour des applications médicales à longue durée de vie s'avère limitée par leur hydrosolubilité. La réticulation chimique de la gélatine pourrait remédier à ce problème. A faible teneur en glutaraldéhyde, Bigi et al.[68] ont montré que le degré de réticulation de la gélatine atteint les 100%. En plus de réduire la solubilité des films dans une solution physiologique, ce traitement permet aussi d'augmenter de 20 fois le module d'Young et d'amplifier la stabilité thermique des films réticulés, en rehaussant la température de dénaturation de la protéine.

Malgré l'intérêt important pour la gélatine, sa transformation reste restreinte à la voie solvant et aucune étude n'a traité de sa mise en œuvre par les techniques habituellement utilisées dans la plasturgie, notamment l'extrusion.

Une autre grande catégorie de protéines animales est constituée par les protéines laitières, celles-ci étant le sujet de ce manuscrit, leur description fait l'objet du paragraphe I.4.

I.4. Les protéines laitières et les matériaux dérivés

Le lait est une réponse physiologique suite à la naissance d'un jeune mammifère. C'est un aliment complet qui contient protéines, lipides, glucides, minéraux et certaines vitamines. Les protéines laitières sont les mieux caractérisées de toutes les protéines alimentaires, ceci est dû à leur extraction facile du lait ce qui est probablement responsable du choix de ces protéines pour de nombreuses études [74].

Les variations importantes de composition du lait entre différentes espèces de mammifères concernent à la fois la proportion et la nature des protéines (tableau I.2). Ceci est en relation avec les besoins du jeune mammifère. Le lait humain par exemple est très riche en lactose, ce qui reflète les besoins du nouveau né qui sont liés au développement du cerveau dont les tissus sont riches en galactosides. Dans la suite de ce manuscrit, nous ne nous intéresserons qu'aux protéines du lait bovin.

Tableau I.2 : Composition du lait de différents mammifères en g pour 100g de lait [75].

Lait de	Matières sèches	Matières Azotées	Protéines totales	Caséines	Urée	Matières grasses	Lactose	Cendres
Femme	12.6	-	1.6-1.2	0.5-0.8	-	3.75	6-7	0.21
Vache	13.0	3.266	3.105	2.8	0.014	3.9	4-6	0.9
Brebis	18.4	5.69	5.5	4.53	0.035	7.19	4.66	0.9
Chèvre	-	3.085	2.818	2.331	0.038	3.381	4.4-4.7	0.5-0.8
Jument	-	-	2.0	-	-	-	-	0.4
Chamelle	12.4	-	3.0	-	-	5.38	3.3	0.7

Les protéines du lait peuvent être subdivisées en deux grandes catégories, protéines du lactosérum et caséines, qui correspondent à deux formes structurales très différentes.

I.4.1. Les protéines du lactosérum

Elles sont aussi appelées protéines du "petit-lait", protéines sériques ou encore, protéines solubles car elles ne précipitent pas lors de la coagulation du lait, après ajout de chymosine (présure) ou lors de l'acidification. Elles constituent environ 20% des protéines totales laitières.

Les protéines du lactosérum se répartissent en fonction de leur quantité dans le sérum en protéines majeurs et mineurs. Les premières, sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine. Le deuxième groupe comporte les immunoglobulines, la sérum albumine, la lactoferrine et des enzymes dont la plasmin. Celle-ci est responsable de l'hydrolyse de la caséine β générant par la suite la caséine γ et les protéoses-peptones que l'on trouve dans le lactosérum [75].

I.4.1.1. La β -lactoglobuline

C'est une protéine dont la masse moléculaire se situe autour de 18,3 kDa et sa concentration dans le lait bovin varie entre 2 et 4 g.l⁻¹. C'est la plus abondante des protéines sériques, elle constitue 50-60% des protéines totales du petit-lait [76]. Sa structure tertiaire est représentée sur la figure I.5.

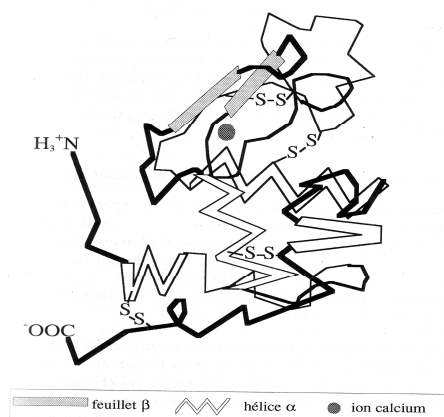


Figure I.5 : Modèle de la structure tertiaire de la β -lactoglobuline d'après Sawyer et al. [77] et Papiz et al.[78].

Très peu d'études se sont focalisées sur la mise en œuvre de films plastiques à base de la β -lactoglobuline. Ceci est dû peut être au coût de l'extraction et de la purification de cette protéine. D'autant plus que Mate et Krochta [79], ont montré qu'il n'y a pas de différence significative au niveau des propriétés barrières à la vapeur d'eau et à l'oxygène entre des films synthétisés à partir de la β -lactoglobuline et ceux issus de protéines du petit-lait. Lors d'une étude visant à expliquer ces résultats, Sothornvit et Krochta [80] ont testé l'effet de la nature du plastifiant sur les propriétés mécaniques des films de la β -lactoglobuline. La figure I.6 permet de résumer les résultats obtenus par cette équipe.

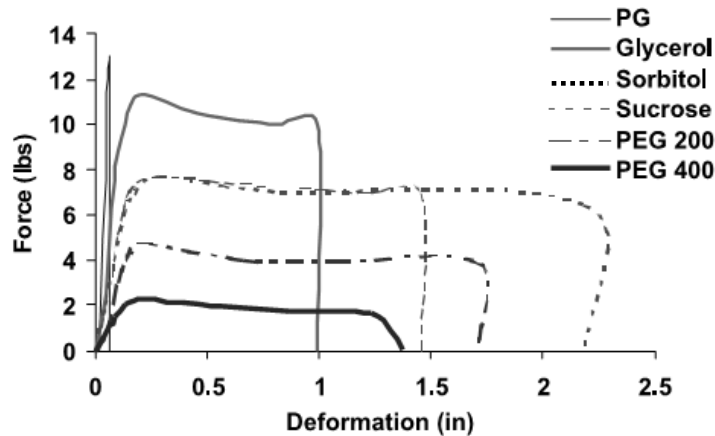


Figure I.6 : Courbes force-déformation des films dérivés de la β -lactoglobuline plastifiés par différents plastifiants [80].

Ils ont conclu de leur étude que la contrainte à la rupture et le module d'Young sont principalement influencés par la quantité du plastifiant alors que l'allongement à la rupture est plus affecté par la nature du plastifiant.

I.4.1.2. L' α -lactalbumine

Il s'agit d'une métalloprotéine dont la structure tertiaire (figure I.7) est fortement ordonnée par des ponts disulfures et un ion calcium. Sa concentration dans le lait est de l'ordre de 1 à 1,5 g.l⁻¹ et sa masse molaire est de 14,2 kDa.

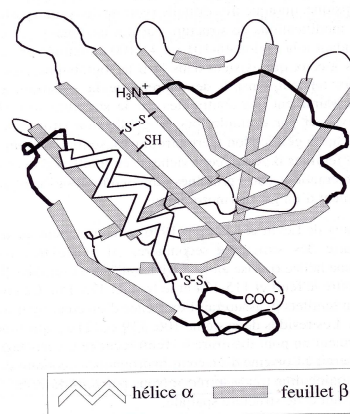


Figure I.7 : Modèle de la structure tertiaire de l' α -lactalbumine d'après Alexandrescu et al. [81] et Ewbank et Creighton [82].

La structure primaire des protéines sériques est différente de celle des caséines, ce qui explique leurs uniques propriétés physico-chimiques et fonctionnelles [83]. Ces protéines contiennent une faible concentration en proline et en acides aminés hydrophobes et ne possèdent pas d'ester de phosphate, ni de résidus glucosidiques. Cependant, elles contiennent dans leur structure primaire beaucoup d'acides aminés sulfurés et ont une distribution égale de tous les types d'acides aminés le long de leurs chaînes polypeptidiques [84]. Ainsi, les protéines du lactosérum manquent de propriétés amphiphiles par rapport aux caséines. Aussi, leur faible teneur en proline leur confère une conformation globulaire avec une contenance substantielle en hélice α . C'est probablement leur structure globulaire qui explique leur sensibilité aux traitements thermiques et aux agents dénaturants, ainsi que la perte de solubilité et la réduction des propriétés fonctionnelles [85].

La dénaturation thermique de ces protéines modifie la conformation globulaire native en conformation aléatoire "random coil" ce qui permet l'établissement d'interactions multiples : Interactions protéines-protéines (liaisons hydrophobes, disulfures...), via des ions Ca^{2+} , des liaisons S-S ou encore hydrophobes [85].

I.4.1.3. Les matériaux à base des protéines du lactosérum

La formation de films à base de protéines du petit-lait nécessite une dénaturation thermique qui permettra de modifier la structure tridimensionnelle et d'établir des liaisons disulfures intermoléculaires [86]. McHugh et al. [87] ont montré qu'un chauffage à 75 et 100°C est suffisant pour former un film, par voie solvant, à partir d'une solution de 8-12% d'isolats de protéines du petit lait (WPI).

La dénaturation thermique de ces protéines rend le film insoluble dans l'eau et plus résistant à des déformations importantes [88]. Dans le même contexte, une étude ultérieure menée par Sothornvit et al. [89] a montré que la contrainte à l'étirement et l'allongement à la rupture de films obtenus par compression moulage, sont plus élevés que ceux de la même composition, préparés par voie solvant. La température et la pression élevées, appliquées au cours du processus de compression permettent aux chaînes protéiques d'interagir entre elles beaucoup plus que pendant le traitement thermique qui précède le séchage, dans le cas de la voie solvant [89]. Ces résultats ont été comparés à ceux, de même composition, rapportés par Hernandez-Izquierdo et al. [90] qui ont procédé à l'extrusion des protéines sériques. Ce

processus fait intervenir l'énergie mécanique en plus de la température et de la pression, pour la dénaturation des protéines. Ils ont remarqué que les films extrudés ont la même contrainte à l'étirement que les films compressés. En revanche, parmi les trois procédés, l'extrusion bi-vis confère aux films un meilleur allongement à la rupture. Ce qui est probablement dû à l'alignement des chaînes protéiques parallèlement au sens de l'écoulement [90].

Un autre paramètre affectant les propriétés de ces films, est le pourcentage des protéines dans la matière première. Les travaux de Banerjee et Chen [91] permettent de confirmer ceci. Ces auteurs sont parvenus à montrer que les films effectués à partir de WPI (plus de 90% de protéines), ont des contraintes à l'allongement et à la rupture plus élevées que ceux obtenus par la solubilisation des concentrés de protéine sériques (WPC). Ces derniers sont fragiles à cause de la teneur élevée en impuretés et de la lubrification due aux globules gras résiduels.

Les propriétés barrières à la vapeur d'eau des films à base de protéines sont influencées par le caractère hydrophile de ces biopolymères. La perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) d'un film de protéines sériques est deux fois plus élevée que celle de la cellophane[®] et quatre fois plus que celle du polyéthylène basse densité (LDPE) sous les mêmes conditions opératoires [92]. Pour baisser cette perméabilité, l'incorporation des corps gras au cours de la mise en œuvre, s'avère une alternative [86]. Pérez-Gago et Krochta [92] ont noté que la nature des lipides ainsi que leur concentration dans les films, influencent leur capacité à absorber la vapeur d'eau ; plus la concentration de lipides est grande et les chaînes carbonées des acides ou alcools gras sont longues, plus la résistance à l'humidité des films est grande. Shellhammer et Krochta [93] ont montré que les films dérivés de WPI formés avec des lipides anhydres lactique ou avec de la cire d'abeille sont 90% moins perméables à la vapeur d'eau que les films qui n'en contiennent pas. D'autre part, ces deux corps gras sont plus efficaces à baisser la WVP que les cires de Carnauba et de Candélilla. La WVP des films à base de protéines du petit lait dépend de la nature du plastifiant, mais pas de sa teneur [94]. Les films plastifiés avec du glycérol et compressés sont plus perméables à la vapeur d'eau que ceux plastifiés avec de l'eau, celle-ci s'évapore lors du moulage par compression contrairement au glycérol, ce qui retient l'humidité ambiante [94].

La perméabilité à l'oxygène des films à base des biopolymères a suscité un grand intérêt. En revanche, celle aux arômes est très peu étudiée [95]. Les films des protéines du lactosérum

constituent de bonnes barrières à l'O₂. Leur perméabilité à l'O₂ est inférieure à celle du PEBD et PEHD et comparable à celle de l'EVOH sous des conditions opératoires identiques [92].

Miller et al. [96] ont pu prouver que les films des protéines du lactosérum sont d'excellentes barrières au d-limonène. Contenant 25% de glycérol, leur perméabilité à cet arôme est comparable à celle des films d'EVOH pour le même environnement ambiant (température et HR).

I.4.2. Les caséines

Elles représentent 80% (27g/l) des protéines totales du lait et sont structurées en superstructures sphériques volumineuses formant la micelle de caséine. Ces micelles sont constituées de plusieurs centaines d'unités peptidiques, appartenant aux quatre grandes familles de caséines ; α_{s1} , α_{s2} , β et κ , avec des proportions différentes. Le rapport moyen dans la micelle $\alpha_{s1}/\alpha_{s2}/\beta/\kappa$ est d'environ 4/1/3.7/1.4 [75], ce qui correspond respectivement à 38, 10, 36 et 13% [97]. La forme sphérique avec une surface granuleuse (figure I.8) associe la micelle de caséine à une framboise [75].

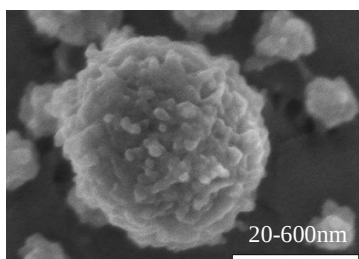


Figure I.8 : Photographie de micelles de caséine vue au microscope électronique à balayage [98].

I.4.2.1. Les différents concepts de la structure micellaire

Plusieurs modèles ont permis de décrire la structure micellaire de la caséine, nous décrirons les plus cités dans la littérature (figure I.9) [75].

- Modèle cœur-enveloppe (modèle de Waugh)

Ce modèle est basé sur la présence de complexes α_s/β au cœur de la micelle ; en présence de calcium leur précipitation est évitée par la formation de complexes α_{s1}/κ situés en monocouches en surface de la micelle (enveloppe).

- Modèle de structure interne uniforme (Modèle de Garnier et Ribadeau-Dumas)

Il est basé sur les propriétés des monomères de caséine. Un trimère de caséine κ se lie à trois chaînes de caséine α_{s1} et β qui peuvent elles-mêmes s'associer à d'autres caséines κ . Ce modèle a été proposé très ouvert et poreux.

- Modèle à sous-unités (submicelles) (modèle de Morr et de Schmidt)

Ce modèle suggère, à la suite d'observations en microscopie électronique, que la micelle est composée de submicelles structurées comme le modèle de Waugh mais reliées entre elles par du phosphate de calcium.

Depuis 1973, tous les modèles proposés démontrent clairement que les micelles sont constituées de submicelles reliées par du phosphate de calcium et que la caséine κ n'est pas uniformément répartie mais est présente de façon prépondérante en surface micellaire [99].

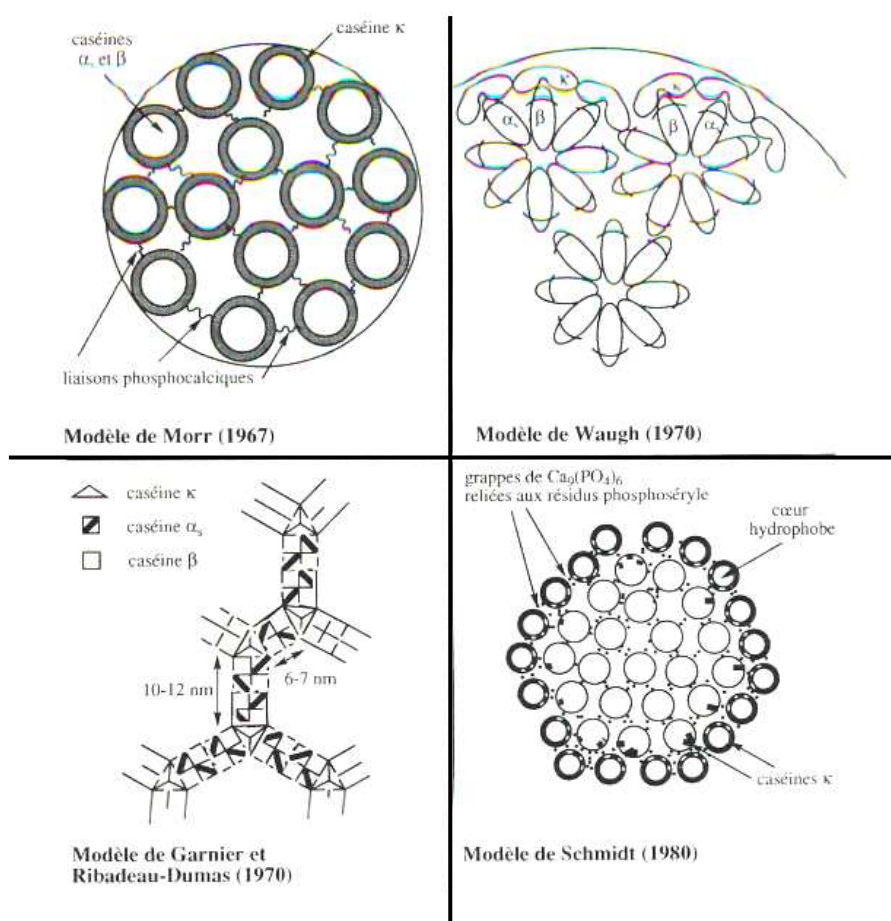


Figure I.9 : Aperçu historique de quelques propositions de modèles de micelle de caséine [75].

La micelle contient 93% de protéines, le reste constitue la partie inorganique dont le plus important composant est le phosphate de calcium colloïdal. Ce dernier joue un rôle considérable dans le maintien de l'intégrité des micelles [75]. Les interactions entre les micelles sont empêchées par la présence, en surface, de la caséine κ qui leur attribue une charge négative nette [97].

Plusieurs interactions entre les sous unités de la micelle sont possibles ; liaisons hydrogènes, interactions hydrophobes, électrostatiques, ponts disulfures et des liaisons avec le calcium dans le cas où il est présent dans le milieu. Ces associations se trouvent toutes dans les caséines. Ceci résulte de la diversité des acides aminés constituant les chaînes protéiques des quatre caséines [99].

I.4.2.2. Les structures de la caséine

Le tableau I.3 représente la composition globale en résidus d'acides aminés des quatre familles de caséines.

Tableau I.3 : Composition en résidus d'acides aminés des quatre types de caséines [5].

Acides aminés	$\alpha_{s1}B$	$\alpha_{s2}A$	βA_2	κ
Aspartate	7	4	4	4
Glutamate	24	25	18	13
Asparagine	8	14	5	7
Glutamine	15	15	21	14
Thréonine	5	15	9	14
Sérine	8	6	11	12
Serine Phosphate	8	11	5	1
Proline	17	10	35	20
Glycine	9	2	5	2
Alanine	9	8	5	15
Valine	11	14	19	11
Isoleucine	11	11	10	13
Leucine	17	13	22	8

Phénylalanine	8	6	9	4
Tyrosine	10	12	4	9
Méthionine	5	4	6	2
Cystéine (R-SH)	0	0	0	0 ou 2
Cystine/2	0	2	0	2 ou 0
Lysine	14	24	11	9
Histidine arginine	5	3	5	3
Arginine	6	6	4	5
Tryptophane	2	2	1	1
Totale	199	207	209	169

Les structures primaires des différentes caséines possèdent quelques similitudes. La séquence d'acides aminés des caséines est caractérisée par une large et inégale distribution des acides aminés acides et hydrophobes tout au long des chaînes polypeptidiques [100]. Ce qui confère à ces protéines, selon Bloomfield et Mead [101], des propriétés amphiphiles qui les rendent susceptibles aux interactions intermoléculaires et à la polymérisation, via des liaisons hydrophobes et des ions Ca^{2+} . Slattery [102] a développé un modèle de conformation des différentes sous unités de la micelle de caséine dans lequel cette protéine adopte une structure en pelote statistique (random coil) avec une faible teneur en structure secondaire, particulièrement en hélice α (figure I.10) . Il attribue ceci à la distribution uniforme de résidus proline le long de la structure protéique des caséines. Les acides aminés sulfurés (cystéine) sont en faible teneur dans les caséines et sont présents seulement dans les séquences primaires des caséines α_{s2} et κ (deux ponts disulfures). Les résidus sérine des caséines sont phosphorylés, ce qui leur confère une nette charge négative [103].

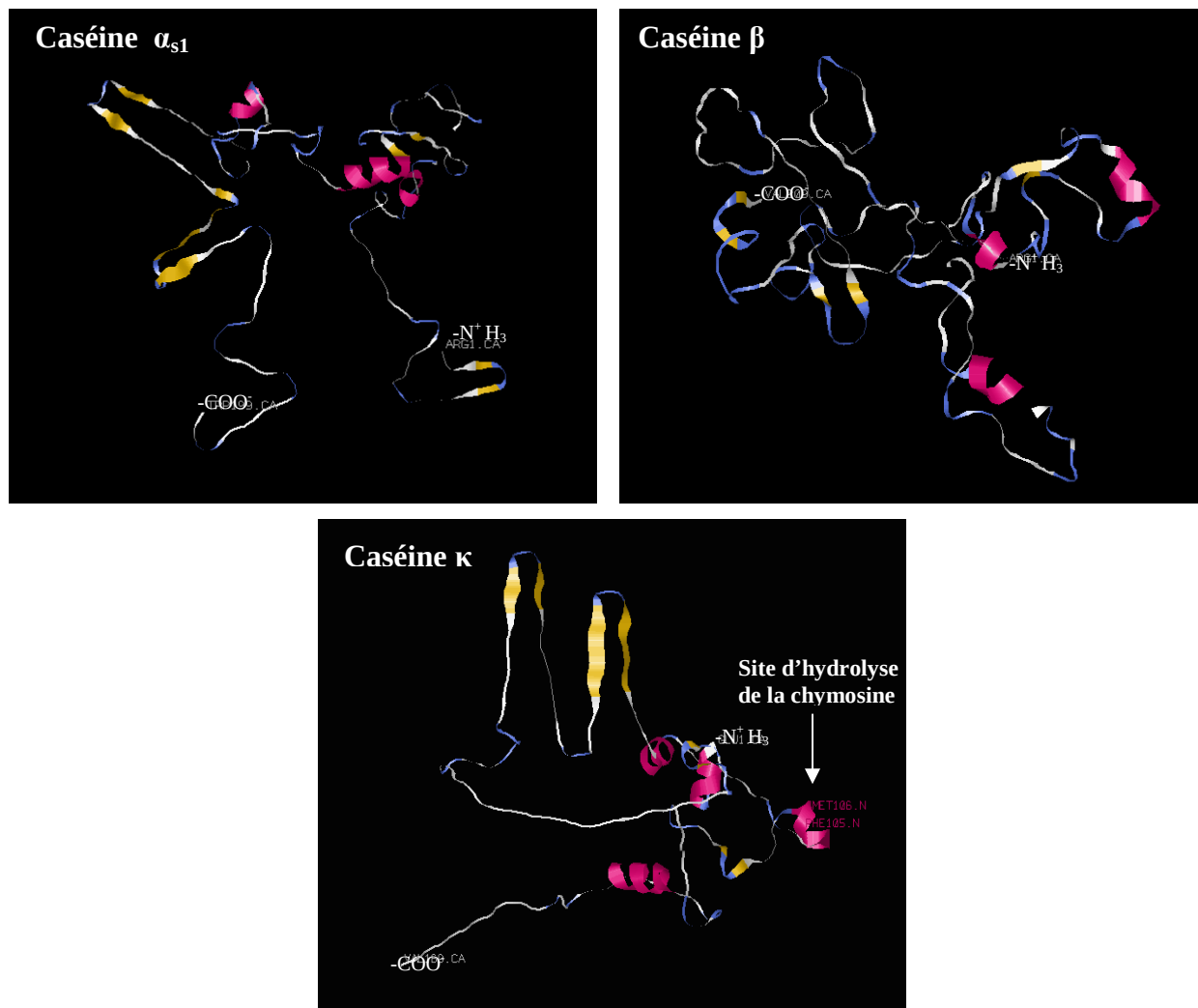


Figure I.10 : Structures tridimensionnelles des caséines α_{s1} , β et κ .

I.4.2.3. L'extraction des caséines

Selon leur mode d'extraction et de purification, plusieurs types de caséine existent [75,97,103-105] :

- La caséine acide : elle est obtenue par précipitation du lait écrémé à pH 4.6 (pour solubiliser le phosphate de calcium) par un acide minéral ou lactique (issu de la fermentation des bactéries lactiques). Dans ce type, la caséine perd sa structure micellaire native par élimination du phosphate de calcium.
- La caséine présure : elle est issue de la coagulation enzymatique de la micelle de caséine par la chymosine (présure). Cette enzyme agit spécifiquement au niveau de la liaison peptidique 105Phe-106Met de la caséine κ . Lors de l'hydrolyse par la présure, la para-

caséine κ reste accrochée à la micelle. Celle-ci, en perdant son pôle hydrophile stabilisant, précipite. Dans le coagulum obtenu, la structure micellaire reste intacte.

Après précipitation de la caséine, le coagulum obtenu est ensuite rincé, égoutté, pressé, séché puis tamisé avant d'être commercialisé.

- Les caséinates : ils sont obtenus par une neutralisation des caséines à l'aide de sels alcalins (sodium, potassium, ammonium ou calcium) suivie d'une pasteurisation puis d'un séchage par atomisation.

I.4.2.4. Les propriétés fonctionnelles des caséines

I.4.2.4.1. La solubilité

La solubilité d'une protéine est sa capacité à fixer les molécules d'eau, elle décrit les interactions protéines-eau en milieu liquide. Opérationnellement, c'est la quantité de protéines qui passe en solution ou en dispersion colloïdale, sans être sédimentée suite à une centrifugation modérée, sous des conditions spécifiques [97]. Plusieurs facteurs peuvent affecter la solubilité des protéines : la nature des protéines, les traitements thermiques, le pH, le type d'ion et la concentration.

La micelle de caséine est très soluble dans l'eau malgré sa teneur élevée en acides aminés apolaires (35 à 45% des acides aminés totaux) [103]. Cette solubilité est due à sa forte teneur en groupements phosphates, sa basse concentration en acides aminés sulfurés et la présence de résidus glucidiques dans la caséine κ [103].

La caséine acide et la caséine présure sont insolubles dans l'eau tandis que les caséinates (Na^+ , K^+ , NH_4^+) sont complètement solubles à un pH > 5.5 [97]. Cependant, au-delà de 20% (m/m) les solutions deviennent très visqueuses. En effet, Mulvihill et Fox [106] ont montré un seuil de concentration pouvant être soluble à un pH compris entre 6 et 8, à 20%. Le caséinate de calcium dans l'eau, existe sous forme d'agrégats (micelles de caséine artificielles) qui sont stables à pH > 5.5 si la concentration en Ca^{2+} n'est pas excessive [106]. Ce type de caséinate forme une suspension colloïdale [97]. A leur pH isoélectrique (pHi=4.6), Kinsella [97] considère que les caséinates sont, en général, insolubles.

Le caséinate de sodium (1%) montre un faible changement de solubilité dans l'eau ou dans 0.2M de chlorure de sodium lors d'un chauffage à 20, 60, 80 et 100°C pendant 30min, contrairement aux protéines du lactosérum dont la solubilité décroît au-delà de 70°C [97].

Les caséines sont plus solubles à basse température. En effet, à faible température les monomères se détachent de l'intérieur de la micelle de caséine et passent en solution par rupture des interactions hydrophobes, ceux-ci ont tendance à moins s'associer entre eux quand la température diminue [97]. Selon Bingham [107], quand la température baisse, la solubilité des caséines augmente particulièrement à un $\text{pH} > 4.8$, cet effet est plus prononcé dans la caséine- β .

La solubilité des caséines dépend aussi de la présence de sels dans le milieu. Les sels, ajoutés avant ajustement du pH, peuvent, soit favoriser la solubilité (effet salting-in), soit la réduire (salting-out) [97]. L'augmentation de la solubilité est attribuée à la diminution des interactions électrostatiques dans la protéine qui sont maximales à leur pHi. Les effets salting-in et salting-out dépendent de la nature de l'ion présent dans le milieu [97]. Ainsi, les caséinates de calcium sont moins solubles que les caséinates de sodium [108]. Dans le cas des ions bivalents, l'ion Mg^{2+} provoque à $\text{pH}=7$ une diminution de la solubilité de la caséine, nettement moins marquée que les ions Co^{2+} , Ca^{2+} et Cu^{2+} [75]. De même, les caséines α_{s1} , α_{s2} et β sont très insolubles en présence d'ions polyvalents [106].

Kinsella [97] a remarqué que l'effet salting-out, pour le caséinate de sodium, à un pH avoisinant 7, commence au-delà de 2M de chlorure de sodium ajouté. Ceci ne concorde pas avec les résultats de Strange et son équipe [109] qui ont montré que le salting-out apparaît à partir d'une concentration de 0.01M en NaCl.

Contrairement aux protéines sériques, les caséines sont incapables d'établir des liaisons disulfures inter ou intramoléculaires qui pourraient rendre ensuite le film partiellement insoluble [103].

I.4.2.4.2. L'hydratation et l'absorption d'humidité

La capacité des protéines à se lier aux molécules d'eau est essentielle. En effet, les interactions protéines-protéines et protéines-eau, dans un milieu aqueux, permettent de délimiter leurs applications dans le domaine alimentaire [97].

Mulvihill et fox [106] ont défini l'hydratation comme étant la quantité d'eau en grammes (g) associée à 1g (en poids sec) de protéine. La caséine possède une grande capacité à se lier à l'eau ; 1g de caséine peut fixer jusqu'à 2.5g d'eau [103]. La capacité des protéines à s'hydrater est affectée par la nature des sels [106]. Ainsi, l'absorption d'eau des caséinates de K^+ est supérieure à celle des caséinates de Na^+ , elle-même est supérieure à celle des caséinates

de Ca^{2+} [75]. Ce dernier cas peut être dû à l'effet chélateur et réticulant des ions Ca^{2+} , ceci a été expliqué par la forte capacité des ions libres Ca^{2+} à se lier à l'eau, dans une solution aqueuse alcaline dépourvue de protéines, par rapport aux ions Na^+ [97].

I.4.2.4.3. Les propriétés émulsifiantes

Les caséines ont une forte activité émulsifiante contrairement aux protéines sériques [110], ce sont d'excellents surfactants, probablement grâce à leur conformation structurale amphiphile capable de fournir à la fois des groupes hydrophiles et des groupes hydrophobes à l'interface huile-eau [111]. Les caséinates procurent une bonne émulsion quels que soient le pH et la concentration ionique, mais ils sont plus efficaces à des pH élevés [100].

I.4.2.4.4. Les propriétés thermiques

La dénaturation des protéines est concomitante à une association, coagulation, précipitation ou gélification des molécules dissociées. Ces transformations dépendent de la protéine, de sa concentration et du taux de chauffage et de refroidissement ainsi que d'autres facteurs (pH, ions...) [106].

Contrairement aux protéines du lactosérum, qui sont thermolabiles, les caséines présentent une résistance à la dénaturation thermique assez remarquable; une solution de caséinate de sodium à pH=6.7, peut résister à un chauffage à 140°C pendant plus de 60 minutes [112]. En revanche, le caséinate de calcium est plus sensible à la dénaturation thermique ; une solution de 1%, forme un gel à 50-60°C [113]. Cette propriété que possède la caséine a été démontrée par des analyses de DSC (Differential Scanning Calorimetry) réalisées par Paulsson et Dejmek [114]. Leurs résultats ont montré l'absence de dénaturation de la caséine quand celle-ci est soumise à un traitement thermique.

Fox [112] a attribué la thermostabilité des caséines, qui les différencie d'autres systèmes protéiques, à leur manque de structure secondaire et tertiaire ainsi qu'à leur structure quaternaire complexe. Pour les mêmes raisons, Swaisgood [74] va jusqu'à considérer la caséine comme étant une protéine naturellement dénaturée.

I.4.2.4.5. Les propriétés rhéologiques

La viscosité des solutions de protéines dépend de plusieurs paramètres ; la nature des protéines et leur concentration, le pH, le taux de cisaillement, la température et la nature des ions présents dans le milieu ainsi que leur concentration [97].

La viscosité des solutions de concentration en caséinates supérieure à 20%, est tellement élevée qu'elle les rend difficilement manipulables. Généralement, la viscosité des solutions de caséines entre 10 et 20% diminue avec l'augmentation de la température. Cependant, l'intensité de cet effet est principalement influencée par le pH et la présence du calcium [97].

La viscosité des caséinates dépend fortement de la nature du cation. Girdhar et Hansen [115] ont rapporté que le caséinate d'ammonium est moins visqueux que le caséinate de sodium à une concentration en protéines élevée, à basse température et fort taux de cisaillement.

Hayes et son équipe [113] ont étudié l'effet du pH sur la viscosité de la caséine acide. Ils ont démontré que la diminution du pH de 7 à 5.5 ou son augmentation de 7 à 9 sont accompagnées d'une augmentation de viscosité. Au delà du pH 9, une brusque diminution de la viscosité est observée.

I.4.3. Les matériaux à base de caséines et de caséinates

La structure "ouverte" en pelote statistique (random coil) et la capacité à former des liaisons hydrogènes, électrostatiques et hydrophobes intermoléculaires, attribuent aux caséinates des propriétés de thermoplasticité, de filmabilité et de résistance à la dénaturation et/ou à la coagulation [116,117]. S'ajoute à cela, leur hydrosolubilité et leur caractère émulsifiant. En outre, l'intérêt de trouver des applications non alimentaires aux protéines laitières, s'amplifie grâce à l'excédent industriel de ces protéines [111].

Ces caractéristiques font des caséinates une matière première intéressante pour le développement de matériaux plastiques dans des applications très particulières [118] comme les emballages comestibles ou les emballages hydrosolubles pour lesquels, ils pourraient remplacer les polymères synthétiques d'origine fossile.

En parallèle, beaucoup d'études s'intéressent aux propriétés barrières à l'humidité des films de caséinates, notamment grâce à la nature amphiphile de ces protéines [86,117,119-121].

I.4.3.1. La galalithe

La fabrication de la galalithe constitue un ensemble d'opérations excessivement délicates, dont les détails sont tenus secrets, non révélés par les brevets [122]. Cependant, des auteurs ont permis de donner un aperçu de la fabrication de la galalithe qui est essentiellement basée sur l'insolubilisation de la caséine présure par le formaldéhyde [2,122-124].

Vers 1900, la galalithe se fabriquait par voie humide, cette méthode consiste en la dissolution de la caséine dans une solution alcaline, suivie d'une précipitation acide. Le précipité est ensuite pressé pour éliminer l'eau. Le produit obtenu était, ensuite, moulé sous pression et l'objet démoulé était trempé dans une solution de formol [123]. Les produits obtenus par ce procédé, étaient cassants. Cette voie a été remplacée par la voie sèche qui était la plus utilisée. Elle comporte plusieurs étapes ; après avoir été broyée et mouillée, la caséine présure est mise en forme par boudinage. Une boudineuse (l'ancêtre de l'extrudeuse) est constituée par une vis qui tourne dans un cylindre et qui permet d'entraîner la matière jusqu'à une extrémité conique où une filière est fixée [123]. Les baguettes, tubes ou rubans de matière obtenus sont découpés et pressés à chaud, pour les transformer en d'autres formes, avant d'être démoulés puis immergés dans une solution de formaldéhyde à 4 ou 5% jusqu'à ce que la réaction avec le formaldéhyde soit complète [2,122]. Après formolage, la galalithe est séchée, d'abord en air froid, puis en air chaud au-dessous de 40°C. Les opérations de finition, comportent le redressage, la rectification, le calibrage, l'emballage et le stockage [123].

Son insolubilité dans tous les réactifs, son ininflammabilité, sa grande résistance à la chaleur et son prix de revient, ont fait de la galalithe une matière précieuse pour divers usages industriels jusque dans les années 1980 : confection de boutons, de poignées de cannes et de parapluies, de manches de couteaux, de touches de pianos... Grâce à ses propriétés diélectriques, elle a aussi pu servir à la fabrication d'isolants pour l'industrie électrique [122].

Très peu d'études portant sur la transformation de la caséine par extrusion ont été évoquées dans la littérature. De ce fait, la synthèse bibliographique sera portée, principalement, sur les travaux de synthèse de films plastiques à base de caséine ou caséinate, par voie solvant. Cette méthode est simple à mettre en œuvre mais reste à l'échelle du laboratoire.

I.4.3.2. Les films de caséinates

I.4.3.2.1. La mise en œuvre des caséines et des caséinates

- **La voie humide : voie solvant**

Exceptés les quelques travaux qui ont fait intervenir l'extrusion comme procédé de transformation de caséine ou caséinate, seul [125] ou en mélange avec de l'amidon [126], toutes les études de fabrication de films dérivés de ces protéines ont été réalisées par voie solvant. Cette technique consiste en l'évaporation de solvant, souvent eau ou eau/alcool, d'une solution protéique [7]. Les propriétés fonctionnelles des films fabriqués par cette méthode dépendent de plusieurs paramètres : concentration en protéine, pH de la solution, la quantité du plastifiant, conditions du séchage et de l'évaporation de la solution... Cependant, dans le cas des caséines ou caséinates, plusieurs auteurs ont procédé de la même manière et adopté des conditions similaires pour transformer ces protéines en films :

- ✓ La solution protéique de concentration massique souvent entre 5 et 12% est préparée à température ambiante sous agitation magnétique permettant une dissolution complète de la protéine. La teneur en plastifiants est ajustée en fonction des tests visés.

- ✓ Filtration mise sous vide de la solution pour éliminer les bulles susceptibles d'apparaître ultérieurement dans le film.

- ✓ L'étalement de la solution en couche mince s'effectue sur une plaque de PVC, de polystyrène ou encore de plexiglas pendant ~24h à température et humidité ambiantes, conditions requises pour l'élimination de la phase solvante par évaporation. Le film formé est ensuite décollé.

Cette technologie est parfaitement maîtrisée à l'échelle de laboratoire mais pas adaptée à l'échelle industrielle [125].

- **La voie sèche : extrusion**

Très peu d'études portant sur l'extrusion des caséines ou caséinates ont été exposées dans la littérature. Ainsi, Fernàndez-Gutiérrez et al. [126] ont montré que l'extrusion du mélange caséine/amidon provoque la fragmentation de l'amidon et la dénaturation de la caséine ce qui induit de fortes interactions inter et intrachâînes entre les deux polymères. Ceci modifie l'absorption de l'eau du mélange extrudé, son indice d'hydrosolubilité ainsi que sa viscosité. Frinault et al. [125] ont développé un procédé adapté à la fabrication industrielle de fibres de textiles à base de caséine. Le procédé consiste à extruder une solution aqueuse de caséine

acide à 17%, dont le pH a été ajusté avec l'hydroxyde de sodium, à travers une filière plate dans un bain coagulant permettant d'éviter la déchirure du film et d'augmenter sa contrainte à l'allongement. Le produit obtenu est ensuite immergé dans un bain contenant 4% d'une solution avec du formol, puis rincé à l'eau avant d'être séché.

I.4.3.2.2. La réticulation des caséinates et/ou des caséines

La nature très hydrophile des films à base de caséinates, limite leur capacité à procurer de bonnes propriétés barrières à l'humidité. L'augmentation de la cohésion entre les chaînes polypeptidiques s'avère efficace pour améliorer les propriétés barrières de ces films [111]. Plusieurs suggestions de réticulation des caséines, ont été évoquées dans la littérature pour diminuer le transfert de l'humidité à travers les matériaux issus de la transformation de ces protéines. La caséine a été réticulée par traitement physique (irradiations γ) et/ou chimique (ajout d'ions bivalents) ou par voie enzymatique (transglutaminase).

- **La réticulation physique : Irradiation**

L'irradiation des protéines est une technique de réticulation très citée dans la littérature. Elle permet d'améliorer les propriétés finales des films dérivés de protéines. Durant l'irradiation, les radicaux formés favorisent les interactions entre les molécules adjacentes en formant un réseau tridimensionnel [127].

L'irradiation d'une solution aqueuse de caséine conduit, dans un premier temps, à la formation de radicaux hydroxyles ($\cdot\text{OH}$), produits de la radiolyse d'eau [128]. Ces radicaux générés, vont ensuite réagir avec les acides aminés aromatiques (tyrosine et phénylalanine) pour donner des radicaux tyrosyls (phénoxy) qui forment par la suite, via des liaisons covalentes, le 2',2-biphénol bityrosine stable [103] (Figure I.11). La formation de bityrosine est facilement détectable par fluorescence.

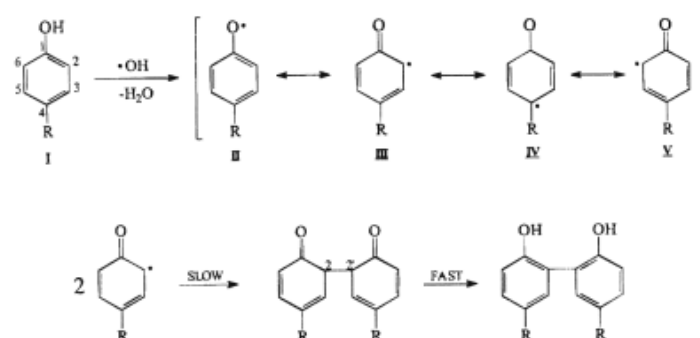


Figure I.11 : Schéma illustrant la réaction entre les radicaux hydroxyyles ($\cdot\text{OH}$) et la chaîne latérale de la tyrosine [128].

Grâce à leur teneur relativement élevée en tyrosine et phénylalanine, les caséines sont de potentiels candidats pour la réticulation par irradiation [103].

La figure I.12 représente les chromatogrammes obtenus par analyse chromatographique des solutions de caséinate de calcium irradiées ou non, réalisés par Lacroix et al. [129]. L'augmentation du premier pic, représentant des chaînes protéiques de grande taille moléculaire (éluées en premier), est concomitante à la disparition du deuxième pic. Les auteurs ont démontré que le traitement des caséinates par des irradiations γ peut augmenter jusqu'à 10 fois la taille moléculaire des chaînes protéiques des caséinates. Ces résultats concordent bien avec le test de bityrosine effectué par Brault et al. [128] et relevant la formation en masse de la bityrosine par les caséinates suite à l'irradiation.

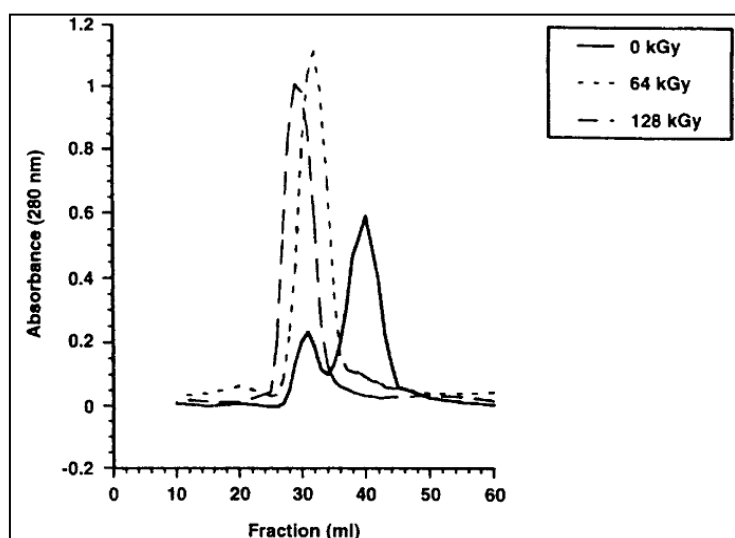


Figure I.12 : Superposition des chromatogrammes des solutions de caséinate non irradiées ou irradiées, à des doses de 64 et 128 kGy [129].

Audic et Chauffer, [127] ont rapporté l'efficacité de l'irradiation sur le temps de solubilité des films de caséinate de sodium pour des temps d'immersion relativement courts. Après 20min, moins de 7% de la quantité initiale de protéines est solubilisé dans le cas des films irradiés à 60kGy comparé à la solubilité des films non irradiés, qui est de 100%, après ce temps. Cependant après 24h d'immersion, la solubilité atteint les 80%. Ceci a été attribué à la dégradation des chaînes protéiques concomitante à la réticulation ; les fragments obtenus sont facilement extractibles par l'eau.

- **La réticulation enzymatique : Transglutaminase**

La transglutaminase est une enzyme calcium dépendante, permettant de catalyser la réaction du transfert d'un acyle entre le groupement γ -carboxyamide du résidu glutamine, le donneur d'acyle, et un groupement amine primaire d'un acide aminé, l'accepteur d'acyle (figure I.13) [130]. Dans le cas d'une chaîne protéique, les résidus lysines servent d'accepteurs d'acyle ce qui génère la formation d'interactions covalentes, ϵ -(γ -glutamyl)lisyl [131,132].

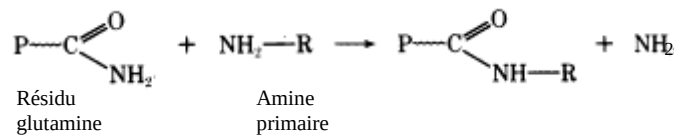


Figure I.13 : Schéma réactionnel du transfert d'acyle entre le groupement γ -carboxyamide d'un résidu glutamine et un groupement amine primaire d'un acide aminé [130].

A cause de sa disponibilité limitée, de son coût élevé et de son efficacité restreinte à l'échelle macromoléculaire, la réticulation enzymatique n'est pas très utilisée dans la fabrication de matériaux [127].

Très peu d'auteurs se sont investis dans la réticulation enzymatique des caséines. Ceci est probablement dû au coût élevé du procédé et à la disponibilité limitée de cette enzyme [111]. Les travaux de Motoki et al. [132] ont été focalisés sur l'utilisation de la transglutaminase dans la formation de films à base de la caséine α_{s1} . Ils ont noté une perte de solubilité dans l'eau, le mercapto-éthanol, l'urée et dans le chlorhydrate de guanidine, et une augmentation des propriétés mécaniques des films réticulés par rapport aux films qui n'ont pas été traités

par la transglutaminase. Ils ont aussi rapporté que les films réticulés restent comestibles après hydrolyse par la chymotrypsine, protéase digestive sécrétée par le pancréas.

- **La réticulation ionique**

Les ions bivalents comme le calcium Ca^{2+} et Mg^{2+} favorisent l'établissement d'interactions entre les chaînes protéiques, ce qui limite les mouvements des chaînes et rend, par la suite la matrice protéique plus compacte [103,120]. Les caséines contiennent une partie hydrophobe stabilisée par des interactions hydrophobes et une partie acide exposée à l'eau et capable d'interagir avec des molécules adjacentes via des ions Ca^{2+} et des liaisons ioniques [102].

Plusieurs auteurs ont étudié la perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films dérivés de caséinate de sodium et de ceux obtenus à partir de caséinate de calcium [91,103,120]. Ils ont tous démontré que les films de caséinate de calcium sont moins sensibles au transfert d'humidité que ceux à base de caséinate de sodium. Ceci a été expliqué par la réticulation des films de caséinate de calcium via les ions bivalents Ca^{2+} . Le traitement des films de caséinate de sodium avec le chlorure de calcium à pH 9.6 réduit de 42% leur WVP [120].

I.4.3.2.3. Les propriétés mécaniques des films

Plusieurs travaux se sont focalisés sur l'étude de l'effet de la nature et de la concentration du plastifiant sur les propriétés mécaniques des films plastiques à base de caséinate.

Audic et Chaufer [118] ont testé six plastifiants polyols différents : le glycérol (Gly), la triéthanolamine (TEA), l'éthylène glycol (EG), di-, tri-, et tétra-éthylène glycol (DEG, TEG, TeEG), sur les propriétés mécaniques de films réalisés à base de caséinate de sodium (CASNa). Avant d'être testés, les films ont été conditionnés pendant 7 jours à 3 humidités différentes (11, 53 et 84%) à température constante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Les figures I.14, I.15 et I.16 illustrent les caractéristiques mécaniques des matériaux obtenus.

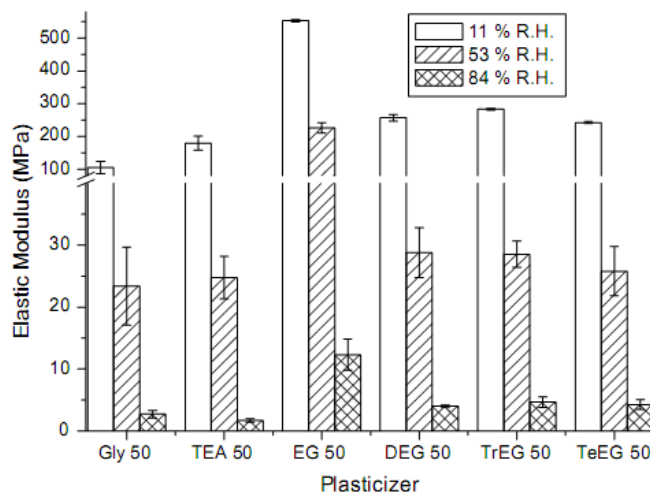


Figure I.14 : Module élastique des films de caséinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, TrEG et TeEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) [118].

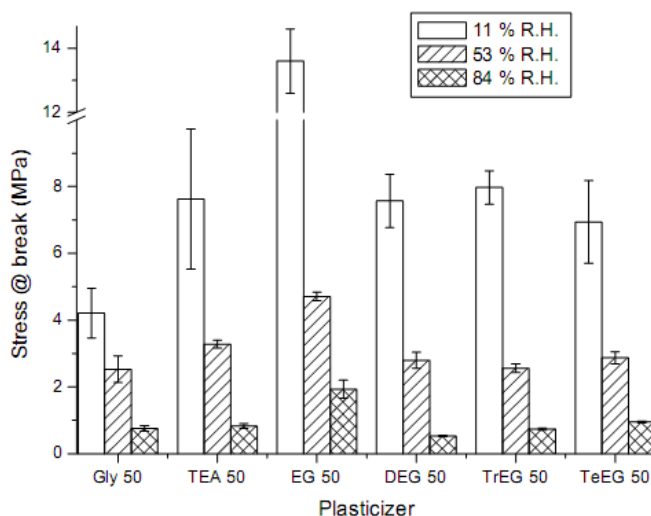


Figure I.15 : Contrainte à la rupture des films de caseinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, et TrEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) [118].

Leurs résultats ont montré que seuls le glycérol et le TEA permettent d'obtenir un compromis entre l'allongement à la rupture et le module d'élasticité. Et quelle que soit la nature du plastifiant, l'augmentation du taux d'humidité entraîne la diminution du module d'Young et de la contrainte à la rupture. Quant à l'élongation à la rupture, les films conditionnés à 53%

d'humidité s'étirent beaucoup plus que ceux conditionnés à 11%, indépendamment de la nature du plastifiant. Ceci peut être expliqué par l'augmentation du taux de plastification, par les polyols [116,118,133,134] ou par les polyols-eau [116,118]. Dans le même sens, Ressouany et al. [135] ont montré que le sorbitol baisse la contrainte à la rupture d'un film de caséinate de calcium (CASCa) par rapport à son isomère, le mannitol, à cause de sa forte solubilité dans l'eau qui augmente le maintien des molécules d'eau dans le film.

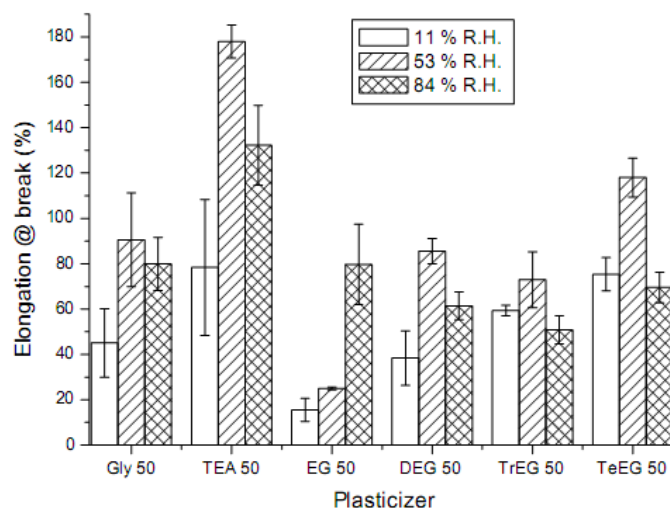


Figure I.16 : Allongement à la rupture des films de caseinate de sodium plastifiés à 50% (rapport plastifiant/protéine) par différents plastifiants (Gly, TEA, EG, DEG, et TrEG) et conditionnés à différents taux d'humidité (11, 53 et 84% HR), à température constante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) [118].

A 84% d'humidité, Audic et Chaufer [118] ont remarqué que l'allongement à la rupture décroît considérablement, excepté pour les films plastifiés à l'EG. Ceci est dû à l'effet combiné de l'excès du plastifiant et de l'eau, procurée par le pourcentage élevé d'humidité [118], ce qui augmente le nombre de liaisons plastifiant-plastifiant, baisse par la suite la cohésion du réseau protéique et fragilise le film [118,133]. Ces constatations sont en accord avec les recherches menées par Siew et al. [133]. Ces auteurs ont démontré, qu'à partir d'une teneur en plastifiant dans le film de 575 mol du complexe plastifiant-atome d'oxygène par mole de caséinate, l'élongation à la rupture commence à chuter dans le cas des deux plastifiants testés (Glycérol et polyéthylène glycol (PEG)). La même équipe a rapporté que les films plastifiés avec du glycérol, ont de bonnes propriétés mécaniques par rapport à ceux plastifiés au PEG.

Plusieurs explications sont proposées pour éclaircir ces constats :

➤ Un plastifiant de petite structure moléculaire, s'insère facilement à l'intérieur de la chaîne protéique [136]. Par conséquent, le glycérol a plus de probabilité de se lier à tous les sites hydrophiles procurés par le squelette protéique. Les interactions interchaînes sont, ainsi, réduites ce qui augmente l'espace entre les chaînes polypeptidiques [136] facilitant, de ce fait, leur mouvement.

➤ Les plastifiants de grande taille moléculaire sont moins efficaces pour rompre les interactions protéines-protéines [118,133]. En effet, l'encombrement stérique de la structure moléculaire du plastifiant, le PEG et ses dérivés par exemple, semblent augmenter le volume libre dans le CASNa, ce qui diminue l'extensibilité du film [118].

➤ Les plastifiants ayant plusieurs groupements hydroxyles (-OH), sont plus efficaces pour la plastification de CASNa [118]. Ces groupements -OH, vont se lier aux acides aminés de CASNa via des liaisons hydrogènes induisant la baisse de la température de transition vitreuse (T_g) du film [137]. En effet, au dessous de la T_g (état vitreux), le module d'élasticité du film est élevé, au dessus de cette température (état caoutchoutique) le module baisse [133].

La température de transition vitreuse (T_g) est définie comme étant la gamme de température à laquelle la mobilité des chaînes des macromolécules est active. La T_g des protéines augmente avec la rigidité du squelette protéique et l'intensité des interactions inter et intramoléculaires [137].

Pour augmenter les propriétés mécaniques du film de CASNa, l'équipe de Ressouany [135] a opté pour l'ajout d'un agent réticulant (CaCl_2) et/ou les irradiations γ . Le CaCl_2 permet d'augmenter la cohésion du matériau via l'établissement de liaisons électrostatiques et d'accentuer la formation de bityrosine par irradiation. Ils ont rapporté que le signal fluorescent de la bityrosine augmente avec l'intensité de l'irradiation signifiant l'établissement d'interactions covalentes entre les unités tyrosines. Ces interactions sont encore plus importantes dans les formulations auxquelles, le CaCl_2 a été ajouté même dans le cas des films non irradiés. L'effet synergique des irradiations γ et du CaCl_2 confère aux films de caséinate une bonne tenue mécanique et augmente leur contrainte à la rupture comme le montre la figure suivante :

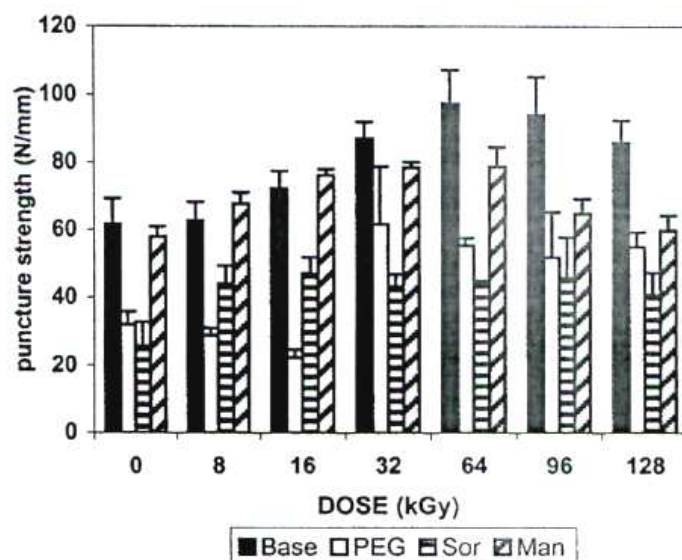


Figure I.17 : Effet de la nature du plastifiant et de l'intensité de l'irradiation sur la force de rupture des films de caséinates de calcium (CASCa) contenant le CaCl_2 (■ solution de base : CASCa + glycérol + carboxyméthylcellulose de sodium) [135].

I.4.3.2.4. Les propriétés barrières à la vapeur d'eau

La perméabilité d'un matériau est influencée par plusieurs paramètres : structure chimique, nature et conditions du procédé, volume libre, cristallinité, polarité, réticulation, nature des additifs...[138]. Le plastifiant augmente la flexibilité du matériau et améliore, par la suite ses propriétés mécaniques. Cependant, il baisse ses propriétés barrières en augmentant le volume libre dans la protéine [127].

Siew et al. [133] ont montré que pour une même concentration en plastifiant, le film réalisé avec le PEG est plus perméable à la vapeur d'eau que celui contenant le glycérol. Ils ont attribué ceci aux changements de la conformation du CASNa suite à l'ajout du plastifiant. A cet effet, ils ont montré que dans le film CASNa/glycérol, le pourcentage de la structure secondaire en hélice α est plus élevé par rapport au film CASNa/PEG. Dans ce dernier, il y a plus de structure en pelote statistique (structure ouverte) ce qui facilite le transfert de l'eau. D'autant plus que le PEG contient 6 sites d'oxygène, chacun d'eux peut se lier avec au moins 2 molécules d'eau [133]. Les travaux de Barreto et son équipe [137] ont confirmé le changement conformationnel du CASNa suite à l'ajout d'un plastifiant. Ils ont prouvé, par des analyses du dichroïsme circulaire, qu'en présence de sorbitol, le CASNa acquiert une

structure secondaire plus ordonnée et par conséquent une structure plus compacte. Ceci s'explique par la combinaison de deux paramètres [139] :

- Le moment dipolaire élevé des plastifiants : il induit la rupture des interactions hydrogènes à l'intérieur de la protéine par compétition entre les groupements -OH (du plastifiant) et -NH (de la protéine) vis-à-vis des groupements -C=O du polymère.
- La constante diélectrique faible des plastifiants : elle peut perturber la structure protéique en réduisant l'effet hydrophobe.

D'autres équipes ont exploité la propriété amphiphile du CASNa, pour le mélanger à des matières grasses (acides gras ou cire) afin de baisser la perméabilité du film à l'humidité. Dans ces films, issus d'une émulsion, la matière grasse procure la résistance aux échanges avec l'humidité, alors que la caséine fournit la cohésion structurale, la liaison avec la surface humidifiée et réduit l'aspect cireux du film plastique. L'efficacité de la diminution de la perméabilité à la vapeur d'eau, dépend de la structure du film (formation de bicouche), de la nature du corps gras et de sa distribution dans la matrice protéique. Les résultats obtenus par Fabra et al. [121] ont montré que l'acide oléique et la cire d'abeille, en plus de leur effet plastifiant important, réduisent la perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) du film CASNa/Glycérol/lipide. Cependant l'acide oléique est moins efficace, ce qui a été octroyé à sa grande polarité. En effet, les interactions entre les groupements polaires de l'acide oléique et l'eau permettent la pénétration de cet acide gras à l'intérieur de la matrice et l'établissement de forces attractives entre le plastifiant et la chaîne polymérique. Ces forces réduisent la cohésion interchaîne, augmente leur mobilité en favorisant ainsi le transfert de molécules d'eau [140]. D'un autre côté, la structure cristalline des films réalisés avec de la cire est liée à leur capacité à réduire le transfert d'humidité d'une manière très efficace [120].

Les études menées par Khwaldia et al. [117] montrent l'effet inverse de l'ajout de matières grasses au film de CASNa sur la WVP. Ils ont rapporté que l'ajout de 10-20% de matière grasse laitière anhydre au mélange CASNa/glycérol n'a pas d'effet significatif sur la WVP. Cependant à 30% le transfert de l'humidité à travers le film augmente considérablement. Cet effet inverse est dû à la distribution hétérogène des globules lipidiques, ce qui affecte la cohésion de la matrice protéique et la stabilité de l'émulsion [141].

Il a été démontré aussi que l'ajout du formaldéhyde à la solution de CASNa/triéthanolamine, augmente la résistance des films de CASNa à l'eau [127]. La solubilité de ces films réticulés est de moins de 6% pendant 40 minutes quelque soit le rapport formaldéhyde/CASNa, alors

qu'elle est de 100% après 10 minutes dans le cas des films non réticulés. Krochta et al. [119] ont montré que des films de caséinate de sodium préparés par voie solvant deviennent insolubles dans l'eau lorsqu'ils ont été trempés dans des solutions tampon (acétate de sodium, ascorbate de sodium, ascorbate de calcium), ajustés à pH4.6, point isoélectrique des caséines, pendant 3 minutes. Néanmoins, le traitement n'améliore pas la résistance des films à la transmission de l'humidité. La perte de l'hydrosolubilité indique que le traitement modifie les molécules de caséine [119]. La caséine β , la protéine la plus hydrophobe du lait, pourrait avoir de bonnes propriétés barrières à l'humidité [142]. Cependant, très peu d'intérêt a été accordé à la mise en œuvre et l'étude des propriétés de matériau à base de caséine isolée [143]. Ceci est probablement dû au prix de revient très élevé de la transformation de ces fractions protéiques. En comparant la perméabilité du film à base de la caséine β avec celle d'un film de caséinate ou de caséinate/lipide décrits dans la littérature, Mauer et al., [143] ont noté que le film provenant de la caséine β est plus résistant au transfert de la vapeur d'eau par rapport aux films cités, testés sous les mêmes conditions d'humidité relative et de température.

I.4.3.2.5. Les propriétés barrières aux gaz

La perméabilité à l'oxygène des films à base de caséinate ou de caséine n'est pas suffisamment explorée dans la littérature. En général, les films de protéines sont d'excellentes barrières aux gaz par rapport aux films de polysaccharides non-ioniques. Ceci est relié à leur nature polaire et leur structure linéaire qui favorise la cohésion interchaînes et réduit, par la suite, le volume libre [95]. Le transport des gaz à travers un matériau, dépendra de ses propriétés barrières et de leur corrélation avec la structure et la composition du polymère [111]. Généralement, la perméabilité diminue simultanément avec l'augmentation de la cristallinité, l'orientation, la densité, la masse moléculaire et la nature d'interaction des molécules avant et durant le procédé de transformation [144].

Kwaldia et son équipe [117] ont noté la bonne perméabilité à l'oxygène du film de CASNa plastifié, en la comparant à celle des matériaux synthétiques. Ils ont rapporté qu'à 50%HR et 23°C, la perméabilité à l'O₂ du film de caséinate est plus faible que celle du polyéthylène et 2 à 3 fois plus élevée que celle de chlorure de polyvinylidène (PVDC). Dans une seconde étape, ces auteurs ont étudié l'effet de l'addition de la matière grasse du lait anhydre sur la perméabilité à l'O₂ du caséinate transformé, plastifié au glycérol. Ils n'ont noté, aucune différence significative de l'augmentation de la concentration en lipides sur la perméabilité à l'O₂ du film. Contrairement à Gontard et al. [145] qui ont rapporté que l'addition de corps gras aux films de gluten baisse leur perméabilité à l'O₂. Arvanitoyannis et al. [134] ont étudié

la perméabilité et la diffusion de trois gaz, O₂, CO₂ et N₂ à travers un système binaire amidon soluble/caséinate de sodium plastifié avec de l'eau ou avec un mélange eau/polyols. Ils ont trouvé que le transfert des molécules gazeuses à travers la matrice nécessite une énergie d'activation plus faible quand la mobilité des chaînes polymérique augmente. Ces auteurs ont conclu que la dépendance de la perméabilité et de la diffusion à la température suit la loi d'Arrhenius :

$$D = D_0 \exp\left(\frac{-E_D}{R \times T}\right) \quad \text{Equation I.1}$$

D est le coefficient de diffusion, E_D représente l'énergie d'activation de diffusion et R est la constante des gaz parfait.

$$P = P_0 \exp\left(\frac{-E_p}{R \times T}\right) \quad \text{Equation I.2}$$

P est le coefficient de diffusion et E_p est l'énergie d'activation de perméabilité.

Conclusion

Cette synthèse bibliographique a confirmé le potentiel de certains matériaux biosourcés et plus particulièrement des caséinates en tant que biomatériaux. Cette première partie permet aussi de dégager les principaux axes de recherche dans le cadre d'un développement industriel d'un tel matériau :

➤ La structure ouverte "random coil" des caséines et caséinates ainsi que leur capacité à former des liaisons hydrogènes, électrostatiques et hydrophobes intermoléculaires, leur confèrent des propriétés de filmabilité et de thermosplasticité, comparables à celles des plastiques classiques issus de la pétrochimie. Aussi, la diversité et la disponibilité de différents caséinates, notamment caséinate de sodium et caséinate de calcium, avec des propriétés différentes permettent de moduler les mélanges en fonction des propriétés désirées. Ces caractéristiques font des caséines et caséinates de bons candidats pour la conception d'un nouvel emballage.

➤ Le procédé d'extrusion est de plus en plus utilisé pour la valorisation des protéines en tant que matériaux. Il permet d'augmenter le potentiel commercial des biomatériaux issus de la transformation des protéines. Cette technique présente l'avantage de conduire des actions thermiques, mécaniques et chimiques en une seule étape, en continu et pendant des temps de séjour courts. Ceci permet de protéger les matières sensibles à la dégradation thermique. Ce procédé peut être appliqué aux caséinates, vu leur thermostabilité due à leur manque en structures secondaires (hélice- α et feuillet- β).

➤ Le glycérol s'avère être un très bon plastifiant pour les caséinates et les caséines. Sa petite masse molaire, ses trois sites de liaisons hydrogène ainsi que son innocuité font de lui un bon candidat pour la mise en œuvre de ces protéines laitières.

La démarche adoptée pour ce projet sera donc, dans un premier temps, la mise au point d'un compound à base de caséinate de sodium plastifié au glycérol. L'étude des propriétés physico-chimiques des extrudats de caséinate devrait nous permettre de développer par la suite un film pour l'emballage, totalement ou partiellement à base de caséinates, par le procédé d'extrusion gonflage.

Chapitre II

Réalisation de granulés thermoplastiques à base de caséinate de sodium par extrusion bi-vis

Sommaire

Introduction	67
II.1. Principe d'extrusion des matières plastiques.....	68
II.1.1. Extrusion bi-vis.....	68
II.1.2. Extrusion des protéines.....	69
II.1.3. Mécanismes de la plastification.....	72
II.2. Description de la ligne complète d'extrusion.....	76
II.2.1. Alimentation des composants.....	78
II.2.2. Refroidissement du jonc et granulation	79
II.2.3. Profils de vis et de température	79
II.3. Optimisation des réglages	81
II.3.1. Débit de la poudre de caséinate	81
II.3.2. Débit du glycérol et de l'eau.....	82
II.3.2.1. Glycérol	82
II.3.2.2. Eau.....	82
II.3.3. Vitesse de rotation des vis	83
II.3.4. Températures	83
II.3.5. Nature du caséinate.....	85
Conclusion.....	86

Chapitre II

Réalisation de granulés thermoplastiques à base de caséinate de sodium par extrusion bi-vis

Introduction

Les plastiques peuvent être mis en forme par un grand nombre de technologies, chacune étant adaptée à la nature du matériau à transformer. Ces machines sont conçues en fonction des propriétés physico-chimiques du polymère, mais également des caractéristiques recherchées pour le produit fini. Les technologies de mise en forme des plastiques sont : l'extrusion, l'extrusion gonflage (soufflage de gaine), le calandrage, le thermoformage, l'injection, le moulage, etc. Dans ce manuscrit, nous nous focaliserons uniquement sur les techniques utilisées dans ce projet, à savoir l'extrusion bi-vis et l'extrusion gonflage. Cette dernière sera plus amplement détaillée dans le chapitre IV.

Dans les années 1900, le terme de boudineuse, forme primitive de l'extrudeuse, apparaît dans le cas de la galalithe. En 1986, Tossavainen et al. [146] ont utilisée pour la première fois l'extrusion des caséines pour produire le caséinate de sodium à partir de la caséine acide. Cette méthode de fabrication du caséinate de sodium leur a permis d'éviter l'étape du séchage. L'extrusion des protéines provoque la rupture des liaisons intramoléculaires et des ponts disulfures. La présence de ces derniers pourrait limiter le dépliement de la protéine durant l'extrusion [147]. Dans ce cas, l'ajout d'agents réducteurs de ponts S-S améliore les propriétés d'écoulement et facilite leur extrusion [148] ce qui indique l'influence de ces liaisons covalentes sur les performances de l'extrusion des protéines.

Dans ce chapitre, nous mettrons l'accent sur le fonctionnement de l'extrudeuse bi-vis utilisée pour la transformation du caséinate de sodium en granulés thermoplastiques. Par ailleurs, nous détaillerons les différentes étapes en discutant leur influence sur la qualité du compound.

II.1. Principe d'extrusion des matières plastiques

L'utilisation de l'extrusion a commencé dans l'année 1935 pour la production des pâtes [149]. De nos jours, l'extrusion est l'une des techniques les plus utilisées pour la mise en œuvre des plastiques. Elle présente l'avantage de conduire des actions thermiques, mécaniques et chimiques en une seule étape et en continu. Quand cette technologie n'est pas utilisée pour la mise en forme d'un produit fini (film, plaque, profilé, tube, etc.), l'extrusion peut aussi être utilisée pour des étapes intermédiaires du procédé de fabrication : compoundage, granulation ou encore polymérisation.

Le terme « extrusion » désigne généralement un système vis-fourreau équipé d'une filière. Le principe général du fonctionnement de l'extrudeuse consiste à transporter, malaxer et plastifier la matière le long du fourreau, du point d'alimentation jusqu'à la filière. Cette technique s'est largement développée dans le secteur des matières thermoplastiques comme moyen de transport et malaxage de la matière, plastification ou fusion du polymère grâce à la chaleur apportée (apport thermique et dissipation visqueuse), et mise sous pression du polymère nécessaire à sa transformation et à son écoulement à travers une filière de mise en forme. Fichtali et van de Voort [150] ont défini ce processus comme étant un réacteur continu à haute température et courte durée.

Dans l'extrusion, la matière brute est introduite, à un débit régulier, à travers une trémie. Elle est ensuite reprise par une vis d'Archimède, tournant à une vitesse contrôlée et dont le rôle est de la transporter le long du fourreau, tout en la soumettant aux forces de cisaillement, jusqu'à la filière [151]. En fonction de leur construction et leur application, deux types d'extrudeuse se distinguent : mono-vis et bi-vis. Nous décrirons, uniquement l'extrusion bi-vis, la technologie de mise en œuvre utilisée dans ce travail.

II.1.1. Extrusion bi-vis

Comme son nom l'indique, l'extrusion bi-vis s'effectue avec une extrudeuse à deux vis dans un fourreau réglé en température. Les deux vis permettent de comprimer et de cisailier la matière contre les parois chauffées du fourreau, de transporter la matière fondue et la forcer à passer par la filière [152].

Développée depuis soixante-quinze ans pour des applications agro-alimentaires et dans l'industrie des polymères synthétiques, cette technologie a conduit à la mise au point de plusieurs types d'extrudeuses bi-vis. Les vis peuvent être coniques ou cylindriques, leurs pas peuvent être constants ou non. De plus, elles peuvent être corotatives (rotation dans le même sens) ou contrarotatives (rotation en sens inverse), interpénétrantes ou non, conjuguées ou non (figure II.1). De nombreuses combinaisons sont possibles, et le choix d'une configuration de vis dépend avant tout de l'action à effectuer sur la matière. Pour les applications de compoundage de matériaux complexes, voire d'extrusion réactive, l'extrudeuse bi-vis à vis corotatives et interpénétrantes, à profil conjugué, est préférée. Elle présente, entre autres, l'avantage d'avoir des vis "autonettoyantes", ce qui permet à la matière de s'écouler régulièrement dans le fourreau.

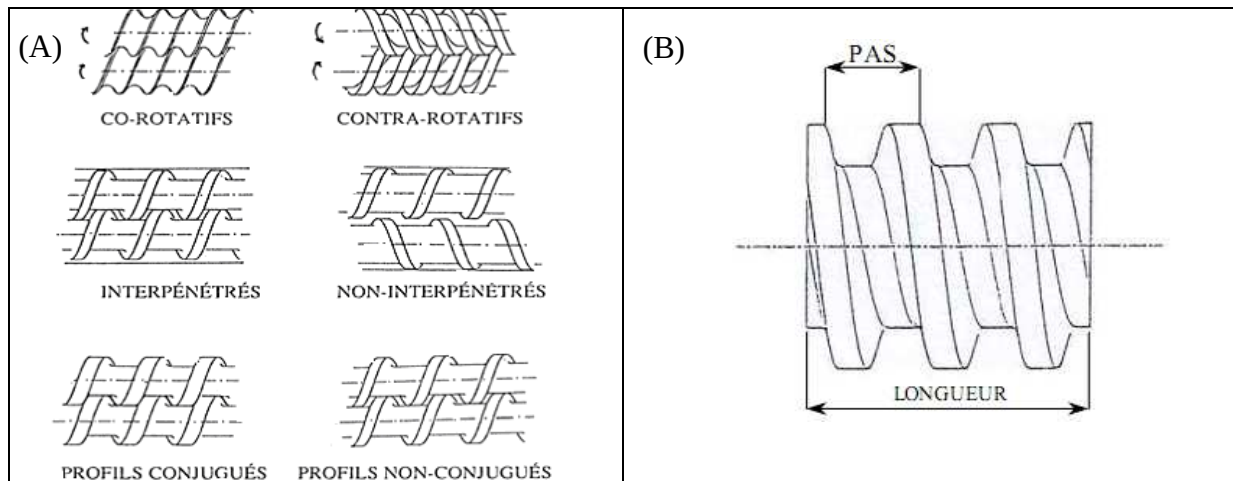


Figure II.1 : (A) Types de configuration des vis [153], (B) Détail d'un élément de vis (mono-filet).

II.1.2. Extrusion des protéines

La combinaison de la température et des forces de cisaillement permet de transformer la matière première en une pâte plastifiée [151]. Pendant le traitement thermique, les protéines se désagrègent, se dénaturent, se dissocient et s'alignent dans le sens de l'écoulement. Ces changements permettent aux molécules de protéine de se recombinaison et d'interagir entre elles par des interactions spécifiques [31]. Selon Dixon Phillips [151], c'est l'importance et la combinaison des paramètres, et non pas leur nature, qui distingue l'extrusion d'autres

processus. Ces paramètres ont une grande influence sur les différentes interactions qui régissent la structure native de la protéine.

- **Ponts disulfures**

Wall et Huebner [154] ont rapporté que le cisaillement est un facteur important permettant, même en l'absence de la température, la destruction des interactions disulfures (S-S) dans la pâte de blé. D'un autre côté, Hager [155] a montré que ces ponts contribuent à l'établissement d'un nouveau réseau protéique produit par extrusion (figure II.2).

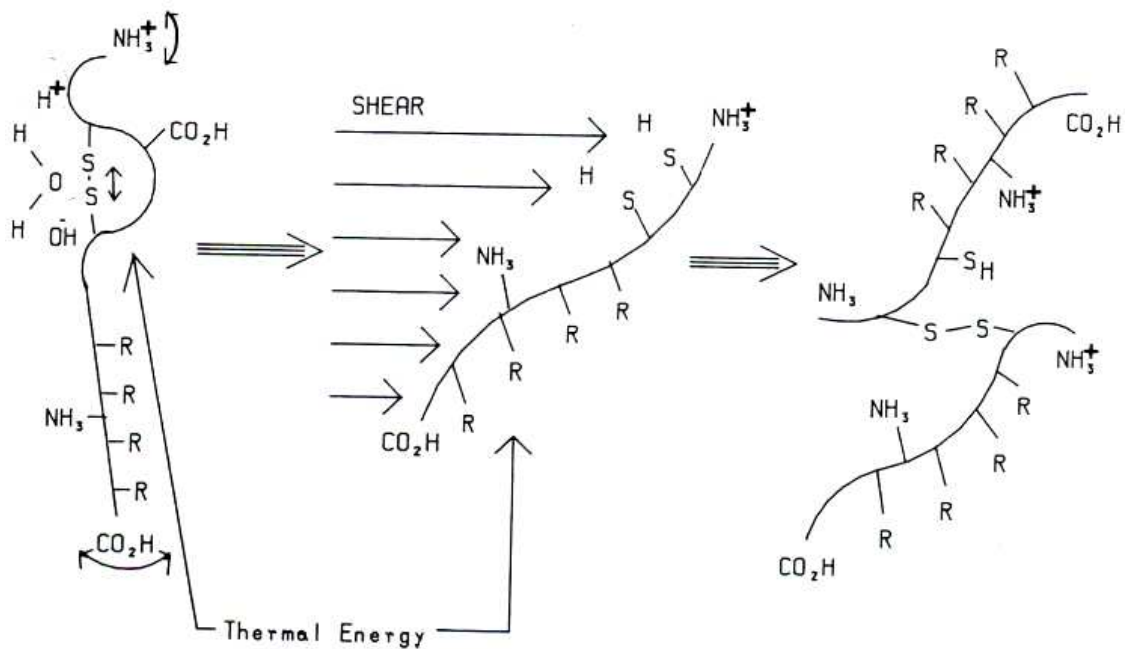


Figure II.2 : Rupture et formation de ponts disulfures (S-S) pouvant s'établir, au sein de la chaîne protéique, lors de l'extrusion [151].

- **Interactions non covalentes**

Une solubilisation des protéines dans un système dilué, à température ambiante et en absence de cisaillement, suffit pour rompre ce type de liaisons. Cependant à faible teneur en eau les forces de cisaillements constituent un facteur important pour leur dénaturation [151].

D'après Dixon Phillips [151], la réduction de la viscosité, des biopolymères, avec le cisaillement implique la réduction du rayon hydrodynamique, ceci s'accomplit par la diminution de la résistance à l'écoulement et le dépliement des protéines globulaires en

protéines étendues s'orientant parallèlement aux champs du cisaillement. Ceci nécessite la rupture des interactions non polaires (figure II.3).

En pratique, l'extrusion produit souvent une dénaturation complète des protéines [156].

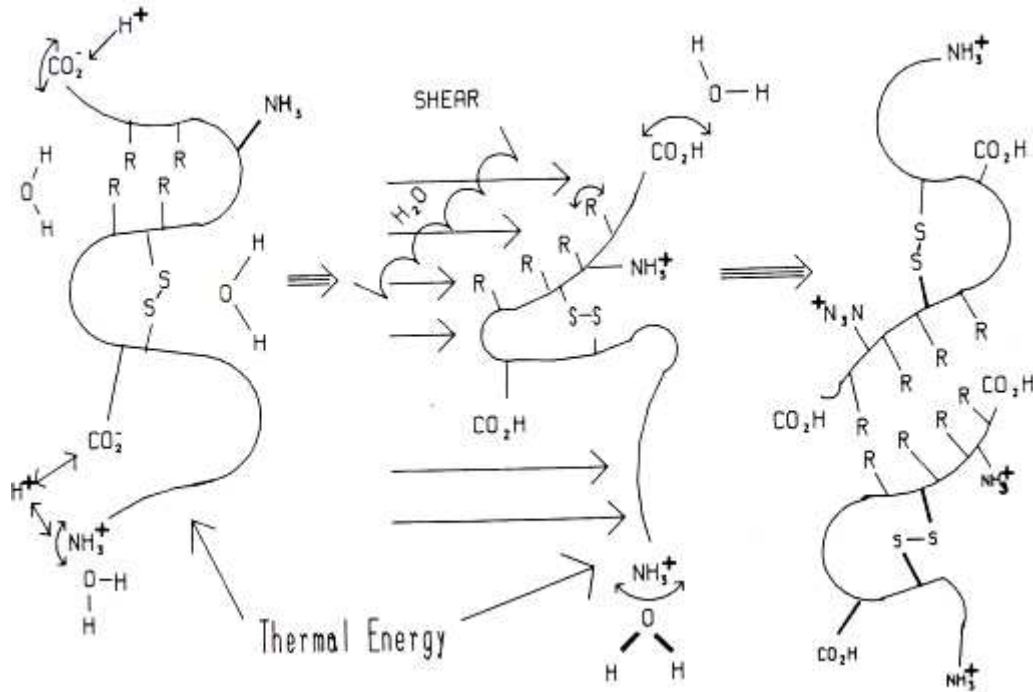


Figure II.3 : Rupture et formation d'interactions non covalentes pouvant se produire, dans la chaîne protéique, lors de l'extrusion [151].

En revanche, ces réorganisations structurales se produisant dans la protéine au cours de l'extrusion pourraient avoir pour conséquences l'augmentation de la température de transition vitreuse (T_g) et de la viscosité. Ceci rend leur mise en œuvre difficile. Pour surmonter ces obstacles, l'ajout de plastifiants s'avère indispensable pour réduire les forces de cohésion entre les chaînes polypeptidiques et augmenter le volume libre dans le réseau protéique. Ainsi la mobilité des chaînes augmente et la T_g décroît. A une température supérieure à la T_g, les protéines plastifiées se transforment en un matériau mou et caoutchouteux qui peut être transformé à volonté [26].

II.1.3. Mécanismes de la plastification

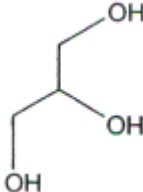
La plastification d'un polymère a deux objectifs principaux et très différents : faciliter la mise en œuvre en lubrifiant la matière plastique et modifier les propriétés finales du matériau. Si le plastifiant est introduit en quantité suffisante, il permet le cisaillement correct dans la vis.

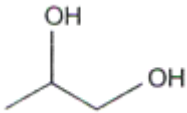
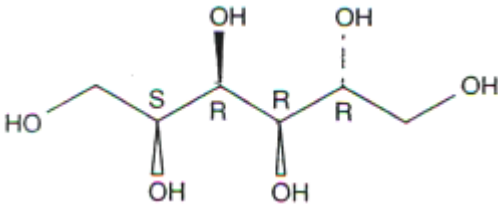
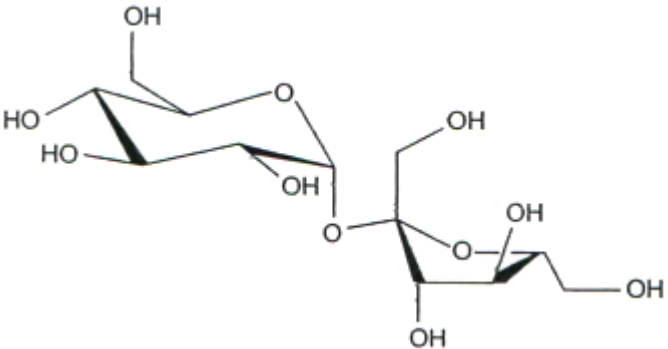
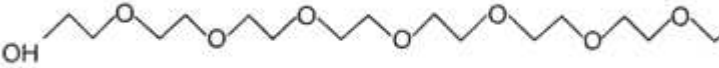
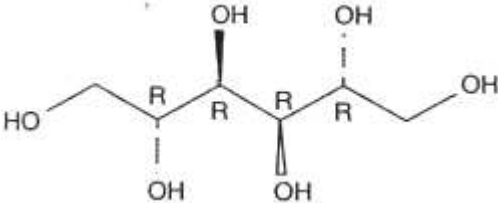
Un plastifiant est une molécule, de petite masse molaire et non volatile, qui diminue la fragilité du film et lui apporte résistance, flexibilité et allongement. En baissant la température de transition vitreuse du produit fini, il augmente la gamme de température de son utilisation [157]. En général, le plastifiant réduit les interactions entre les chaînes du polymère en augmentant, ainsi, le volume libre et la mobilité de ces chaînes [158]. Immergut et Mark [159] ont défini deux types de plastifiants : interne et externe.

Un plastifiant interne est défini comme étant une partie des molécules du polymère. Ces plastifiants ont, en général, une structure encombrante qui en créant de l'espace entre les chaînes du polymère, augmente leur mobilité et les empêche d'interagir entre elles. Cependant, ce type de plastifiants, ramollit le polymère en baissant sa Tg, diminuant ainsi son module élastique.

Un plastifiant externe, est une substance de faible volatilité, qui est ajoutée au polymère sans qu'il y ait une réaction chimique entre eux, mais au contraire elle interagit avec les chaînes polymériques. Ces plastifiants sont avantageux par rapport au premier type parce qu'ils offrent la possibilité de sélectionner, parmi une grande gamme, le plastifiant permettant l'obtention des propriétés désirées [160]. Le tableau II.1 récapitule les plastifiants qui ont été étudiés pour l'élaboration de matériaux plastiques biosourcés.

Tableau II.1 : La masse molaire ainsi que la structure chimique des différents types de plastifiants qui ont été utilisés pour la synthèse de matériaux plastiques biosourcés [161].

Plastifiant	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
Eau	18	H_2O
Glycérol	92	

Propylène glycol	76	
Sorbitol	182	
Saccharose	342	
Polyéthylène glycol 200	200	
Polyéthylène glycol 400	400	
Triéthylène glycol	150	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$
Ethylène glycol	62	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$
Xylitol	152	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{OH}$
Mannitol	182	
1,4-butanediol	90	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_4-\text{OH}$
1,6-hexanediol	200	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_6-\text{OH}$

Triacétine	218	$\text{AcO}-\text{CH}_2-\overset{\text{OAc}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{OAc}$
Glucose	180	
Urée	60	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$
Diéthanamine	105	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$
Phtalate de dibutyle	278	
Tributyrate de glycérol	302	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{n-Pr}-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array} \quad \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{n-Pr}-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$
Tributyle citrate	360	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{OH} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ \text{n-BuO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{OBu-n} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$
Diéthyle tartrate	206	

La synthèse d'Immergut et Mark [159] est différente de celle de Brother et McKinney [26] qui divisent les plastifiants en trois types :

Vrai plastifiant : solvant non volatil, non dispersant, ne s'exsude ni sous pression ni avec le temps, ne s'évapore pas et sa distribution reste permanente et homogène dans le matériau. S'ajoutent à cela, la flexibilité et l'élasticité que procure aux plastiques.

Ramollissant : il interagit fortement avec le plastique en lui offrant de nouvelles propriétés.

Réactant : associé au plastique par une réelle réaction chimique pour produire un nouveau matériau ayant les propriétés recherchées.

La majorité des plastifiants, solides ou liquides, contiennent des groupements hydroxyles permettant, ainsi, d'interagir avec les biopolymères via des liaisons hydrogène ce qui augmente le volume libre et la flexibilité de la matrice. Ainsi, la plupart des plastifiants sont très hydrophiles et hygroscopiques et cette affinité avec l'eau conduit à la formation d'un complexe plastifiant-eau hydrodynamique [14]. Dans le cas des protéines et polysaccharides, le plastifiant détruit les liaisons hydrogène intra et intermoléculaires, augmente la distance entre les chaînes polymériques et réduit les zones cristallines en amorphes [7]. La sélection d'un bon plastifiant s'appuie, d'après Sothornvit et Krochta [161], sur trois critères :

Compatibilité : elle dépend de la polarité, de la configuration structurale et de la masse molaire du plastifiant. Une bonne compatibilité résulte d'une similarité de structure chimique entre le plastifiant et le polymère [159].

Efficacité : c'est la quantité de plastifiant nécessaire pour obtenir les propriétés mécaniques recherchées.

Permanence : ce critère concerne la rémanence des propriétés du matériau plastifié après une certaine durée d'utilisation.

L'efficacité ainsi que la permanence sont fonctions de la taille (masse molaire) du plastifiant et de son taux de diffusion à l'intérieur de la matrice polymérique [159]. Les petites molécules diffusent rapidement dans la matrice, néanmoins elles se volatilisent plus vite lors du processus, ceci résulte de leur faible permanence.

Parmi les plastifiants figurant dans le tableau II.1, l'eau constitue un excellent plastifiant pour les biopolymères. Son efficacité à baisser la Tg est très nette [162]. Son rôle dans la mise en œuvre de la caséine, sera détaillé ultérieurement.

A côté des plastifiants reportés dans le tableau II.1, les acides gras (AG) et leurs dérivés ont été testés dans la littérature pour leur effet plastifiant. Leur nature hydrophobe (non polaire) peut procurer de bonnes propriétés barrières à l'humidité, aux films de protéines ou de polysaccharides.

Rouilly et al. [163] ont étudié l'effet de la combinaison de plastifiants sur un film à base de protéines de tournesol. Ils ont rapporté que le 1,3-propanediol augmente considérablement le module de Young par rapport au glycérol, qui offre un bon allongement au film. Cependant le mélange des deux plastifiants ne permet pas d'améliorer le compromis entre les deux propriétés.

La plastification se produit dans les zones amorphes à forte mobilité molaire, la capacité du plastifiant à interrompre les interactions hydrogène le long des chaînes protéiques dépend de la nature du plastifiant et de sa quantité [80]. Dans une étude menée par Sothornvit et al. [162], l'équipe a montré que la Tg du film à base de β -lactoglobuline est affectée par l'état du plastifiant, mais pas par sa quantité. La même équipe a rapporté que les plastifiants solides (sorbitol et saccharose) sont moins efficaces pour réduire les liaisons hydrogène que ceux liquides (Glycérol, PEG200 et propylène glycol).

Parmi les plastifiants listés dans le tableau II.1 et d'après la littérature, le glycérol semble être le mieux adapté pour la transformation des caséinates.

II.2. Description de la ligne complète d'extrusion

La synthèse exposée dans la première partie du chapitre (paragraphe II.1) a permis de conclure que le compoundage des protéines requiert l'ajustement de plusieurs paramètres :

- ✓ Une température optimale permet de dénaturer la protéine et d'éviter sa dégradation. Une protéine dénaturée offre plus de sites libres à l'établissement de liaisons avec les additifs introduits au cours du procédé d'extrusion.
- ✓ Le cisaillement aide à la rupture des liaisons covalentes intermoléculaires du réseau protéique et assure un mélangeage homogène de la protéine avec les différents additifs.
- ✓ L'ajout de plastifiants est indispensable à la mise en forme des protéines. Leur action facilitant la transformation des protéines et améliorant les propriétés du matériau fini, fait

d'eux un composant obligatoire. Dans le cas des protéines, l'eau est considérée comme étant le meilleur des plastifiants. Néanmoins, son évaporation rapide exige l'addition d'un autre plastifiant possédant une tension de vapeur plus élevée. Le glycérol s'avère être un bon candidat.

En tenant compte de cette analyse, le compoundage des caséinates a été réalisée avec une extrudeuse modulaire bi-vis corotative de type Clextral BC21 (figure II.4).

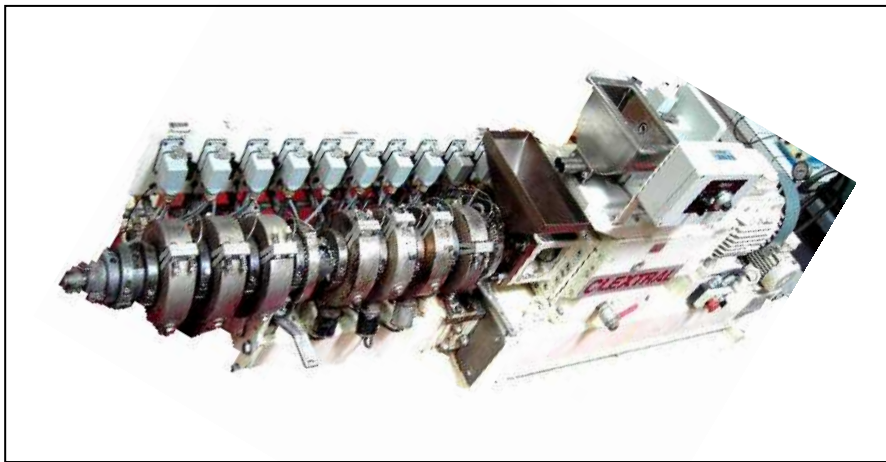


Figure II.4 : Extrudeuse bi-vis Clextral BC21 utilisée pour la transformation des caséinates.

Les vis interpénétrées à double filet ont un diamètre de 25mm et la distance entre les axes des deux vis est de 21mm. Leur longueur totale est de 900mm.

Les vis sont composées d'éléments de longueur et de pas déterminés. La filière utilisée est une filière de type jonc cylindrique de diamètre 4mm. Le fourreau est constitué de 9 tronçons de 100mm thermorégulés de manière indépendante par une double boucle chaud/froid. Deux des tronçons sont ouverts. La première ouverture est située en zone Z1, elle permet l'alimentation en caséinate. La deuxième est placée dans la zone Z7 et permet le dégazage de l'eau avant la montée en pression au niveau de la filière.

Le refroidissement des tronçons par une circulation d'eau froide permet d'obtenir des températures de régulation inférieures à la température ambiante et très différentes entre deux tronçons contigus.

Comme nous l'avons vu, la grande diversité des éléments de vis (pas directs ou inverses, pas larges ou étroits, malaxeurs en sens directs ou inverses...) permet de créer un profil de vis

spécialement dédié à un type d'extrusion (cisaillement élevé ou faible, mélange distributif ou dispersif, zones de recirculation...).

Le détail du profil de vis créé pour l'extrusion "réactive" des caséinates fera l'objet du paragraphe II.2.3.

II.2.1. Alimentation des composants

Le caséinate de sodium se présente sous forme de poudre. Il est introduit dans un premier temps grâce à un doseur volumétrique de type K-tron Soder, au moyen d'une trémie. Afin de pouvoir contrôler indépendamment les débits d'eau et de glycérol, les deux plastifiants sont injectés séparément dans la zone Z2 de l'extrudeuse à l'aide d'une double pompe à pistons de type PCM PP9. Avant chaque campagne d'extrusion, la pompe et le doseur volumétrique sont étalonnés. Les courbes d'étalonnage obtenues sont utilisées pour ajuster et calculer les formulations. Le doseur volumétrique a été remplacé ultérieurement par un doseur pondéral, de type K-tron KCM. Ceci a permis d'éliminer les variations de débit dues à l'imprécision d'un dosage volumétrique (variations de l'humidité de la poudre et de hauteur dans la trémie). La figure II.5 représente les différents composants, cités ci-dessus, utilisés pour l'extrusion du caséinate.

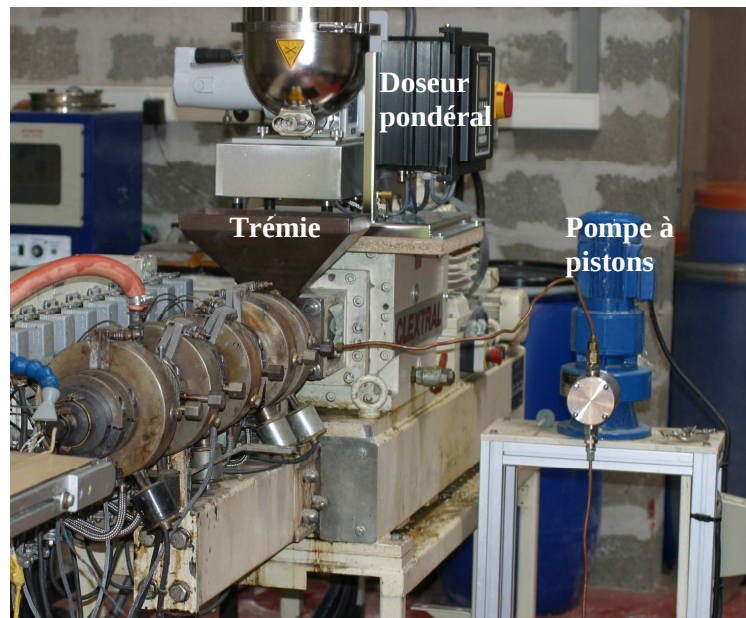


Figure II.5 : Ligne d'extrusion bi-vis du caséinate.

II.2.2. Refroidissement du jonc et granulation

En sortie de filière le jonc de caséinate plastifié est refroidi en plusieurs étapes. Un convoyeur à tapis avec un revêtement en téflon (figure II.6), placé juste en sortie de filière, transporte le jonc vers un bac d'éthanol (refroidi) dans lequel il est immergé. L'éthanol est non-solvant des caséinates et cette solution permet un refroidissement très rapide du jonc. Le réglage de la vitesse du banc de tirage permet d'ajuster le diamètre de l'extrudat. Le jonc est ensuite repris par une chenillette assurant son étirage en continu (figure II.7). Une fois refroidi, le jonc est découpé par un granulateur à fraise de type Scheer.

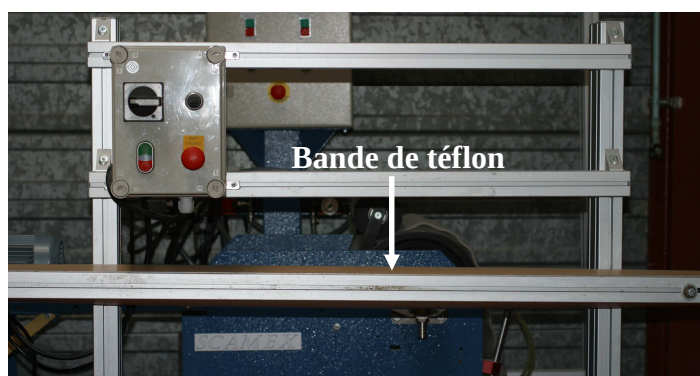


Figure II.6 : Convoyeur à bande téflon.

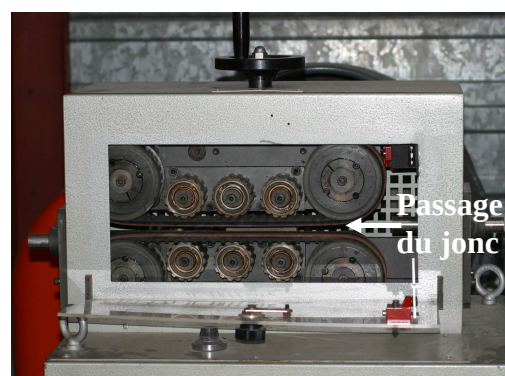


Figure II.7 : Système de tirage

II.2.3. Profils de vis et de température

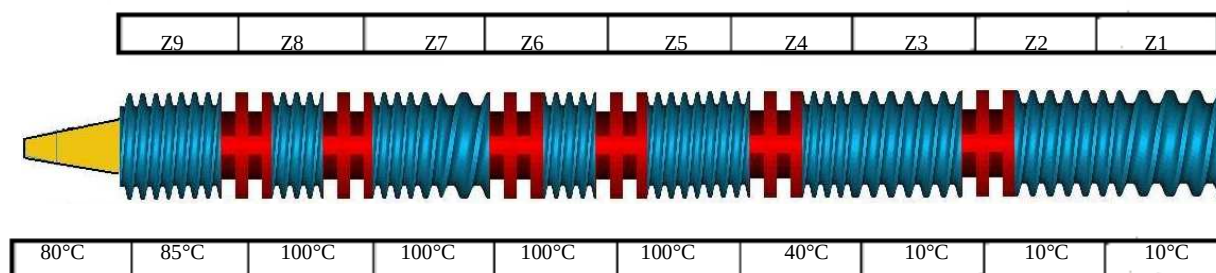


Figure II.8 : Profils de vis et de température utilisés pour l'extrusion de caséinate de sodium plastifié au glycérol.

La configuration de vis choisie (figure II.8) pour la mise en œuvre des caséinates est constituée des éléments de vis suivant :

- la première zone (Z1), juste au dessous de la trémie, est composée d'éléments directs au pas de 33mm permettant de convoier rapidement le caséinate sec à la zone Z2 où sont introduits séparément l'eau et le glycérol. Elle est réglée à basse température (10°C) pour éviter l'adhérence du caséinate aux parois, ce qui pourrait colmater la zone et par conséquent, bloquer l'alimentation au niveau de la trémie.

- Les zones Z2 et Z3 sont composées d'éléments directs au pas moins larges (25mm) permettant d'augmenter le contact et donc l'interaction entre le caséinate et les additifs (eau, glycérol) injectés à ce niveau. Ces deux zones sont séparées par 4 malaxeurs bilobes "indirects". Ces derniers ont un effet de cisaillement et de mélange tout en créant artificiellement un léger flux de retour (recirculation). Dans ces deux zones la température est maintenue à 10°C pour augmenter la solubilité des protéines. En effet, à faible température les unités peptidiques se détachent de l'intérieur de la micelle de caséine et passent en solution par rupture des interactions hydrophobes, ceux-ci ont tendance à moins s'associer entre eux quand la température diminue [97].

- Les zones Z4, Z5 et Z6 sont composées d'éléments directs au pas de 16mm alternés par 4 malaxeurs bilobes "indirects". Ces éléments de vis permettent de confiner la matière et donc de renforcer l'effet du cisaillement et du malaxage afin d'obtenir une matière homogène. Au niveau de ces zones, l'augmentation progressive de la température (Z4=40 ensuite Z5=Z6=100°C) permet de stimuler la rupture des interactions intra et intermoléculaires et ainsi la dénaturation de la protéine.

- La zone Z7 (zone de dégazage) est composée d'éléments directs au pas de 33mm permettant de dépressuriser la matière et de la dégazer. Ce départ d'eau est essentiel pour régler la viscosité du mélange et augmenter la pression dans les deux dernières zones afin d'obtenir un jonc correctement manipulable. Cette zone est réglée aux alentours de 100°C.

- Les deux dernières zones Z8 et Z9 sont composées d'éléments directs au pas de 16mm séparées par deux malaxeurs bilobes "indirects". Dans ces zones la matière est soumise à une pression de quelques dizaines de bars nécessaire pour lui permettre de passer la restriction constituant la filière.

II.3. Optimisation des réglages

Plusieurs paramètres ont été ajustés afin d'augmenter l'efficacité du procédé et d'obtenir un extrudat homogène et transparent. Ces variables sont les débits de la matière première et des additifs (eau et glycérol), la vitesse de rotation des vis, la température des différentes zones de l'extrudeuse et la nature du caséinate.

II.3.1. Débit de la poudre de caséinate

Bien que la capacité maximale de cette extrudeuse se situe aux alentours de 20kg/heure pour du polypropylène (en extrusion simple), dans le cas d'une extrusion "réactive" le débit est volontairement limité afin d'augmenter le temps de séjour. De plus, dans notre cas, la granulométrie des caséinates étant très fine (mesh de 90 à 120) (figure II.9) on assisterait, à fort débit, à un phénomène de voute. La poudre, très hygroscopique, s'agglomérant au bas de la trémie bloquerait ainsi complètement l'alimentation.

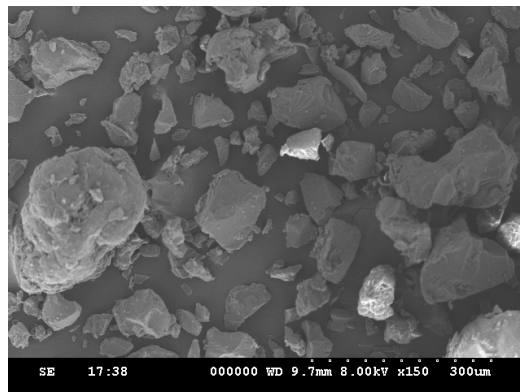


Figure II.9 : Image MEB de la poudre de caséinate capturée à une tension d'accélération de 5kV. Grossissement x150.

De plus, travailler à faible débit permet d'économiser beaucoup de matière lors de la mise au point. Le débit le plus couramment utilisé a été fixé autour de 3kg/heure pour les essais. Ce débit a pu être porté jusqu'à 6 ou 7kg/heure dans le cas de production de lots plus importants. Le doseur pondéral acquis au cours de la thèse a permis d'utiliser des mesh très grands (poudre très fine) inutilisables dans le cas du doseur volumétrique.

II.3.2. Débit du glycérol et de l'eau

II.3.2.1. Glycérol

Comme vu précédemment, le glycérol est introduit en zone Z2 au moyen d'une pompe à pistons PCM PP9 à température ambiante. Le débit est directement lié à la formulation souhaitée. Pour le calcul du taux de glycérol, on ne tient pas compte de l'eau introduite dans l'extrudeuse, ni de l'eau déjà contenue dans la poudre. Ce taux est donc défini comme étant la masse de glycérol divisée par la masse de caséinate et de glycérol soit :

$$\% \text{glycérol} = \frac{m_{\text{glycérol}}}{m_{\text{glycérol}} + m_{\text{caséinate}}} \times 100 \quad \text{Equation II.1}$$

Au-delà d'un pourcentage de 40% de glycérol, il n'est plus possible d'obtenir un extrudat manipulable. Les débits du glycérol se situent, par conséquent, le plus souvent entre 0.6 et 1kg/heure.

II.3.2.2. Eau

Il est facile de comprendre qu'un matériau hydrosoluble tel que le caséinate, possède des propriétés extrêmement dépendantes de l'humidité environnante. Le matériau va récupérer une grande quantité d'eau dans un environnement très humide ou en perdre une grande partie dans un milieu sec. Il est donc impossible de connaître le taux d'humidité du matériau indépendamment de son environnement. L'eau n'est donc pas prise en compte dans les formulations mais elle est néanmoins indispensable. De façon très pratique, l'eau permet d'ajuster la viscosité du matériau pendant l'extrusion. Elle joue le rôle de plastifiant, de dénaturant et de lubrifiant. La zone de dégazage joue alors un rôle essentiel puisqu'elle permet de corriger ce paramètre avant la fin de l'extrusion. L'eau est un très bon plastifiant pour les matériaux biosourcés, cependant, elle est rapidement perdue par déshydratation à faibles humidité relative [164] et/ou à haute température. La présence du glycérol permet donc de diminuer cette perte d'eau en augmentant la proportion d'eau liée et maintenant, ainsi, une faible activité d'eau [14].

La quantité d'eau contenue dans un biopolymère durant l'extrusion est un facteur important. L'eau facilite sa déformation ainsi que sa processabilité [15] et retarde sa dégradation thermique. Sans l'addition d'eau, la dégradation thermique du polymère est atteinte avant même que le matériau soit formé [165]. Cependant, un ajout excessif d'eau durant l'extrusion des protéines peut engendrer une diminution de la viscosité, du couple et de l'énergie mécanique spécifique. En conséquence, la température de la matière chute et la transformation des chaînes protéiques est incomplète. Dans certains cas, l'excès d'eau s'accompagne de l'apparition de défauts de surface dans l'extrudat. En effet, dans le cas où la température du fourreau est élevée, des bulles de vapeur se forment dans le matériau, qui s'éclatent en sortie de filière et occasionnellement, il peut se produire une protubérance, en sortie de filière, due à un pourcentage élevé de vapeur d'eau. Dans d'autres cas, l'excès d'eau se manifeste par l'apparition de bulles minuscules dans le jonc.

Il est donc primordial de contrôler le débit d'eau et la température du fourreau pour pouvoir ajuster la qualité du jonc selon les formulations.

II.3.3. Vitesse de rotation des vis

La vitesse de rotation des vis est un paramètre important pour la transformation des matières plastiques. Il est corrélé aux taux de cisaillement qui détermine l'efficacité du mélangeage du polymère aux autres ingrédients incorporés.

La vitesse des vis est fixée à 120 rotations par minute (rpm). Cette valeur est choisie pour garantir un temps de séjour suffisant au caséinate pour lui permettre de se désagréger en chaînes monomériques pour ensuite s'associer aux additifs (eau et glycérol) injectés en continu au cours du procédé d'extrusion.

Des essais à plus hautes et plus basses vitesses n'ont pas montré d'améliorations importantes.

II.3.4. Températures

Le contrôle de la température de l'extrudeuse est principalement lié à la quantité d'eau injectée dans la deuxième zone. Dans le cas d'une augmentation du débit de l'eau nécessaire dans le cas de certaines formulations, la viscosité de la matière fondue le long du fourreau baisse. Une augmentation de la température au niveau des dernières zones, principalement

celle du dégazage, devient indispensable pour dégazer cet excès d'eau afin d'obtenir un extrudat correct.

Lors de quelques essais pour étudier les limites de température pour l'extrusion du caséinate, les températures ont été augmentées dans les zones Z5 et Z6 de 100 à 150°C. Ceci a été accompagné d'une augmentation du couple moteur (32 à 40N.m) ainsi que de la pression (4 à 28bars). La matière fondue devenant bien plus visqueuse à 150°C conduit à l'obtention d'un extrudat plus rigide, à la sortie de filière, et moins transparent.

Dans le cas d'une suppression totale de l'eau (cas des formulations contenant uniquement le glycérol) l'extrusion nécessite une augmentation de la température des dernières zones pour déplier le réseau protéique et améliorer le malaxage et l'homogénéisation de la protéine avec le plastifiant. Dans ces conditions, le couple est deux fois plus élevé et la pression de butée est cinq fois plus importante par rapport aux conditions d'extrusion en présence d'eau. Le jonc obtenu perd sa transparence et devient opaque, mais reste néanmoins thermoplastique et utilisable.

Notons que l'objectif principal de l'optimisation des températures est de diminuer le coût énergétique. Il faut alors baisser les températures d'extrusion sans pour autant altérer les propriétés et l'aspect de surface de l'extrudat. Il est donc nécessaire de compenser la diminution de température sur la dénaturation de la protéine par un agent extérieur. Le choix s'est porté sur l'éthanol déjà présent dans la chaîne de refroidissement. Effectivement, nous avons observé que l'ajout de 20% d'éthanol, dans l'eau, permet d'extruder le caséinate de sodium à 75°C dans les zones Z5, Z6, Z7, Z8 et Z9 au lieu d'un chauffage de ces zones à 100°C. En effet, en possédant aussi bien des propriétés hydrophobes qu'hydrophiles, l'éthanol agit au niveau des interactions hydrophobes et hydrogènes établies entre les chaînes polypeptidiques et perturbe ainsi la stabilité de la protéine [166]. En dénaturant le caséinate en unités monomériques (caséine α , caséine β et caséine κ), l'éthanol augmente donc sa solubilisation dans l'eau. D'autre part, les liaisons hydrogène entre l'éthanol et les molécules hydriques diminuent la température d'évaporation du complexe eau-éthanol. Aussi, la présence de l'éthanol semble retarder l'apparition de moisissures sur le matériau sans modifier les propriétés mécaniques.

II.3.5. Nature du caséinate

Il existe sur le marché commercial trois principaux types de caséinates (sodium, calcium et potassium). Afin d'étudier l'influence des contre-ions (Na^+ , Ca^{2+} et K^+) sur la mise en œuvre de cette protéine, les trois types ont été testés. De plus, le fournisseur principal de caséinates de cette étude (Epi Ingrédient) a proposé de tester un lot de caséinate de sodium dit "économique".

Dans ce contexte, les différents lots ont été extrudés avec les mêmes profils de vis et de température. Seules les zones Z5, Z6 et Z7 ont été ajustées de $\pm 5^\circ\text{C}$. Les joncs en sortie de filière et après refroidissement ne montrent pas de défauts de surface. Ils sont relativement transparents avec une légère coloration jaune et paraissent homogènes pour tous les caséinates.

Néanmoins, lors du gonflage des films fins, certaines formulations ont montré une quantité importante de défauts superficiels, notamment sur le lot économique et quelques formulations à base de caséinate de calcium. Ce point est abordé en détails dans le paragraphe IV.1.2 du chapitre IV.

Conclusion

A travers ce chapitre, nous avons pu démontrer la faisabilité d'obtention de granulés thermoplastiques de caséinates par extrusion "réactive" bi-vis, procédé classiquement utilisé dans les industries du plastique et de l'agroalimentaire. L'étude des conditions de mise en œuvre des caséinates nous a permis d'optimiser les paramètres permettant d'obtenir un extrudat homogène, transparent, d'un bon aspect de surface et d'une bonne tenue mécanique (figure II.10).



Figure II.10 : Granulés thermoplastiques obtenus après transformation du caséinate de sodium par extrusion bi-vis.

La configuration de vis choisie permet de mélanger, cisailier et transporter la protéine plastifiée jusqu'à la filière. En effet, au niveau de la zone d'alimentation de l'extrudeuse, les éléments de vis choisis sont à pas très larges pour augmenter le contact entre la protéine et les plastifiants (glycérol et eau), ceci n'étant possible qu'à faible température. Dans les zones dites de "cuisson", les éléments de vis à pas étroits alternent avec des éléments malaxeurs bilobes permettant le cisaillement et la rupture des interactions qui assurent la stabilité de la protéine. Une protéine dépliée procure plus de sites libres à la liaison aux additifs ce qui permet d'obtenir une pâte plastifiée et homogène. La combinaison des éléments de vis moins larges et des malaxeurs bilobes à ce niveau assure la préparation de la matière avant sa montée en pression dans les dernières zones de l'extrudeuse. Au niveau de ces zones, les éléments de vis à pas étroits permettent d'augmenter la pression pour forcer la matière fondue à passer à travers la restriction correspondant à la filière.

L'eau est un paramètre essentiel pour l'extrusion des protéines. Effectivement, elle joue un rôle de lubrifiant et de plastifiant permettant de réguler la viscosité de la matière fondue et de faciliter son transport le long du fourreau. De ce fait, il a été difficile de fixer la quantité d'eau injectée. Néanmoins, la régulation séparée des différentes zones du fourreau rend possible un contrôle plus aisé de la teneur en eau au cours de l'extrusion. En effet, l'excès d'eau nécessaire dans les premières zones du fourreau dans le cas de certaines formulations est évacué grâce à une élévation de la température dans la zone de dégazage.

Le glycérol, dont le rôle principal est de plastifier le matériau, permet aussi de retenir une quantité plus importante d'eau grâce aux liaisons hydrogène.

Finalement, il est possible de produire des granulés thermoplastiques à partir des différents caséinates et même à partir des caséines acide ou présure sans grande modification des conditions d'extrusion. Néanmoins, il apparaît que la nature du caséinate (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}), sa méthode de fabrication et sa synthèse influencent la qualité de l'extrudat obtenu.

La présence d'ions bivalents (cations calcium) ou trivalents (anions citrate) dans la matière première engendre l'apparition de défauts superficiels qui n'apparaissent qu'au cours de la mise en forme de films fins. Cet aspect est développé dans le chapitre IV.

Chapitre III

Propriétés physico-chimiques du caséinate de sodium thermoplastique

Sommaire

Introduction	90
III.1. Température de transition vitreuse (T_g) du caséinate de sodium	91
III.2. Influence de l'extrusion sur la structure du caséinate de sodium.....	97
III.2.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)	97
III.2.2. Résultats et discussion.....	98
III.2.3. Conclusion.....	100
III.3. Etude des interactions eau-matériau.....	101
III.3.1. Affinité pour l'eau du caséinate de sodium.....	102
III.3.1.1 Isothermes d'adsorption	102
III.3.1.2 Résultats et discussion.....	103
III.3.2. Notions "eau liée" et "eau libre"	110
III.3.2.1 Calorimètre différentiel à balayage (DSC).....	110
III.3.2.2 Résultats et discussion.....	111
III.3.3. Vitesse de reprise d'humidité.....	113
III.3.3.1 Appareillage	113
III.3.3.2 Résultats et discussion.....	114
III.3.4. Conclusion.....	116
III.4. Dosage du glycérol dans les formulations.....	116
III.4.1. Evaluation de la perte de masse du caséinate.....	117
III.4.1.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)	117
III.4.1.2 Résultats et discussion.....	117
III.4.2. Extraction du glycérol du caséinate plastifié.....	122
III.4.2.1 Analyse par Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS).....	122
III.4.2.2 Résultats et discussion.....	124
III.4.3. Conclusion.....	125
III.5. Etude des propriétés mécaniques	125
III.5.1. Essai de traction	125
III.5.2. Résultats et discussion.....	128
III.5.3. Conclusion.....	131
Conclusion.....	132

Propriétés physico-chimiques du caséinate de sodium thermoplastique

Introduction

L'extrudeuse, assimilée par Fichtali et Van de Voort [150] à un réacteur continu, ne permet pas de suivre les modifications structurales pouvant s'établir au sein de la protéine pendant le procédé. Cependant une comparaison entre la structure de la protéine native (état initial) et celle de la protéine extrudée (état final) permet de caractériser les éventuels réarrangements structuraux produits lors de l'extrusion. En effet, l'effet combiné de la température, de la pression et du cisaillement que procure l'extrusion favorise le dépliement de la protéine en rompant les interactions intramoléculaires et les ponts disulfures ce qui influe sur les propriétés fonctionnelles de la protéine [167].

Les propriétés physico-chimiques, quelles soient thermiques, mécaniques ou de perméabilité, des biomatériaux hydrophiles à base de protéines dépendent des conditions de mise en œuvre, de la nature de la matière première, de la formulation (ajout d'additifs, taux du plastifiants...) et des conditions de température et d'humidité environnantes. Etudier les propriétés du matériau issu de l'extrusion bi-vis du caséinate de sodium permet de donner un aperçu des attributs de ce produit et des caractéristiques pouvant être utiles à telle ou telle application. Ces études sont nécessaires pour des investigations plus poussées afin d'améliorer les propriétés du produit fini en fonction de l'application ciblée. Ceci permet d'élargir les domaines d'applications du matériau. La compréhension de l'influence des conditions externes environnantes sur les propriétés du caséinate plastifié est indispensable à la prédiction des propriétés finales. Par ailleurs, ces propriétés sont fortement dépendantes du taux de glycérol présent dans le matériau et il convient de déterminer précisément ce taux qui doit offrir un compromis entre force d'étirement et allongement à la rupture.

La connaissance de la température de transition vitreuse (T_g) du caséinate de sodium permet d'encadrer les conditions de sa mise en forme et les domaines de son utilisation. Cependant, le pouvoir plastifiant de l'eau vis-à-vis de ce biopolymère, rend difficile la mesure de ce paramètre du fait de l'évaporation de l'eau au cours de l'analyse. Une estimation théorique permet d'encadrer la valeur de la T_g du caséinate de sodium en fonction de son taux en glycérol et de sa teneur en eau. Cette modélisation est exposée dans un premier temps.

Ensuite une évaluation des effets thermiques et mécaniques, établis durant l'extrusion, sur la structure tertiaire de la protéine est réalisée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE). Cette analyse a pour objectif d'éclaircir l'influence de l'extrusion sur les réarrangements structuraux dus à la rupture ou la mise en place de ponts disulfures. Aussi, le comportement des granulés thermoplastiques à base de caséinate de sodium vis-à-vis du pourcentage d'humidité relative ambiante d'un côté et de la teneur en glycérol, plastifiant hygroscopique, de l'autre est décrit. Enfin, l'influence de ces conditions sur la tenue mécanique et la capacité d'allongement du caséinate extrudé est exposée.

III.1. Température de transition vitreuse (T_g) du caséinate de sodium

La température de transition vitreuse (T_g) est un paramètre important, plus particulièrement à l'échelle industrielle, permettant la détermination de la gamme de température de la mise en forme d'un polymère amorphe ou semi cristallin. La température de transition vitreuse des polymères traduit le passage d'une structure vitreuse (rigide) à une structure homogène souple (malléable). De ce fait, un passage à une température supérieure à la température de transition vitreuse induit une augmentation de la mobilité des chaînes polymériques dans les zones amorphes ce qui entraîne des modifications physiques et chimiques du matériau [168].

Chaque polymère possède une transition vitreuse définie. Cependant, l'absorption d'eau est connue pour avoir des répercussions sur la T_g des polymères hydrophiles. Atkins [169] a reporté que la température de transition vitreuse de certains polymères biosourcés (gélatine, gluten, amidon) passe de 200°C (polymère anhydre) à -10°C (polymère humide) suite à l'absorption d'eau par le polymère. La détermination de l'effet de l'eau sur la température de transition vitreuse de ces biopolymères est donc importante pour prévoir les conditions de leur stockage qui devrait se produire, selon Kalichevsky et al. [170], en dessous de leur T_g pour

garantir leur stabilité. Dans leur état sec, les protéines sont des polymères amorphes et possèdent une T_g élevée [170]. Donc, c'est la connaissance de la valeur de leur T_g qui conditionne leur transformation, leur domaine d'utilisation et les propriétés finales de leur exploitation.

La détermination de la température de transition vitreuse du caséinate de sodium est difficile. Sa mesure exacte n'est pas aisée du fait de la dépendance de ce paramètre avec les conditions d'humidité ambiante et donc de la teneur en eau du matériau. L'eau étant un bon plastifiant pour ces protéines, sa présence dans le matériau rend la mesure de la transition vitreuse difficile. En effet, lors de l'analyse thermique différentielle (DSC) d'un échantillon de caséinate plastifié, même si la capsule de mesure est hermétique, l'eau contenue dans le matériau s'évapore au fur et à mesure de la montée en température. La valeur de la T_g est donc incertaine. Ces analyses ont été effectuées sur un calorimètre différentiel à balayage Q10 de TA Instruments sous atmosphère inerte d'azote. Le gaz de purge utilisé est de l'azote à 50ml/min. L'appareil est équipé d'un système de réfrigération (RCS) permettant de réaliser des mesures entre -80 et 300°C. Les résultats sont analysés au moyen du logiciel Universal Analysis 2000 (TA Instruments).

Une solution pour remédier au problème de la présence d'eau au sein du matériau consiste à mesurer la température de transition vitreuse pour des échantillons conditionnés à des humidités relatives très basses. Par exemple, dans des conditions de 14%HR et 40°C, la T_g du caséinate de sodium extrudé contenant 33% de glycérol, est de 83°C (figure III.1). Mais dans ce cas, l'influence de l'Humidité Relative n'est pas mesurée.

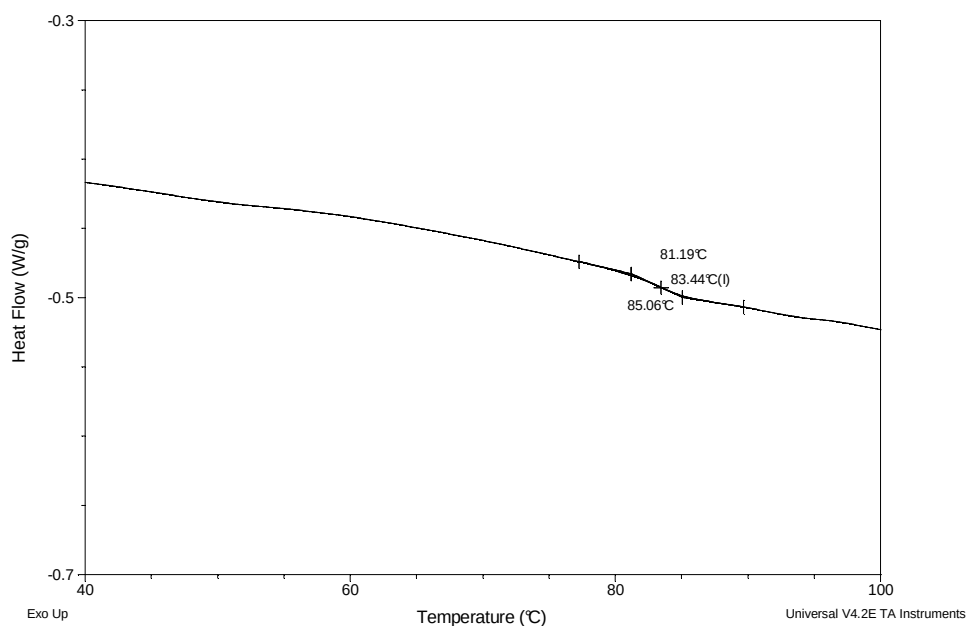


Figure III.1 : Thermogramme DSC de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium contenant 33% de glycérol et équilibrés à 14%HR, 40°C.

Le même problème est rencontré lors de la détermination de la T_g grâce à des mesures de torsion rectangulaire. Un essai dynamique en torsion sur un rhéomètre de type RDA Rheometrics, permet de suivre l'évolution en fonction de la température du comportement élastique du polymère sous une sollicitation dynamique imposée. Une éprouvette est soumise à des oscillations libres en torsion. L'enregistrement de l'amortissement de l'oscillation sinusoïdale permet de calculer le module en torsion et le facteur de perte $\tan \delta$.

La figure III.2 représente l'évolution du facteur de perte $\tan \delta$ dont les maxima correspondent à des transitions dans le matériau. Les trois courbes du caséinate de sodium plastifié avec 30, 38 et 40% de glycérol et testé dans des conditions ambiantes sont superposées sur cette figure.

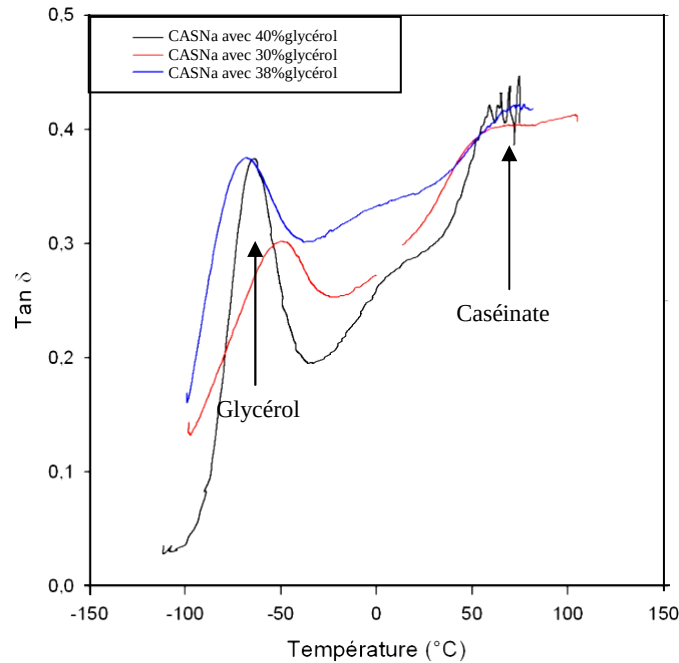


Figure III.2 : Evolution du facteur de perte $\tan \delta$, du caséinate de sodium plastifié avec 30, 38 et 40% de glycérol, avec la température.

Le premier pic autour de -75°C correspond à la transition vitreuse du glycérol. Les pics correspondant à la transition vitreuse des caséinates sont, par contre, très étalés et bruités et ne permettent la détermination d'une T_g .

Néanmoins, pour estimer cette température de transition vitreuse, indispensable pour la mise en œuvre, une approche théorique peut être utilisée. Ainsi, les températures de transition vitreuse des granulés thermoplastiques de caséinate de sodium ont été calculées, sur une large gamme d'HR pour deux teneurs en glycérol (17 et 25%), par l'équation de Gordon-Taylor :

$$T_g = \frac{W_1 \times T_{g1} + k \times W_2 \times T_{g2}}{W_1 + kW_2} \quad \text{Equation III.1}$$

Avec	W_1 et W_2	Les fractions massiques des composants 1 et 2.
	T_{g1} et T_{g2}	La température de transition vitreuse (K) de chaque constituant.
	k	Constante inversement reliée à l'efficacité du plastifiant.

Les paramètres de l'équation de Gordon-Taylor, permettant d'estimer la valeur de la température de transition vitreuse du caséinate de sodium natif et extrudé, sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III.1 : Paramètres utilisés dans l'équation de Gordon-Taylor.

	Tg (K)	Référence
Caséinate de sodium sec	403	[170]
Glycérol	191	[171]
Eau	136	[171]

La constante k a été déterminée en se référant aux travaux de Kalichevsky et al. [170] et en considérant que l'effet plastifiant de l'eau est équivalent à celui du glycérol. Pour un système caséinate de sodium/eau, ces auteurs ont fixé la valeur de k à de 0.76.

Le modèle utilisé permet ainsi d'obtenir, dans un premier temps, une estimation de la valeur de T_g du caséinate de sodium en fonction du taux de plastifiant en l'absence d'eau (figure III.3).

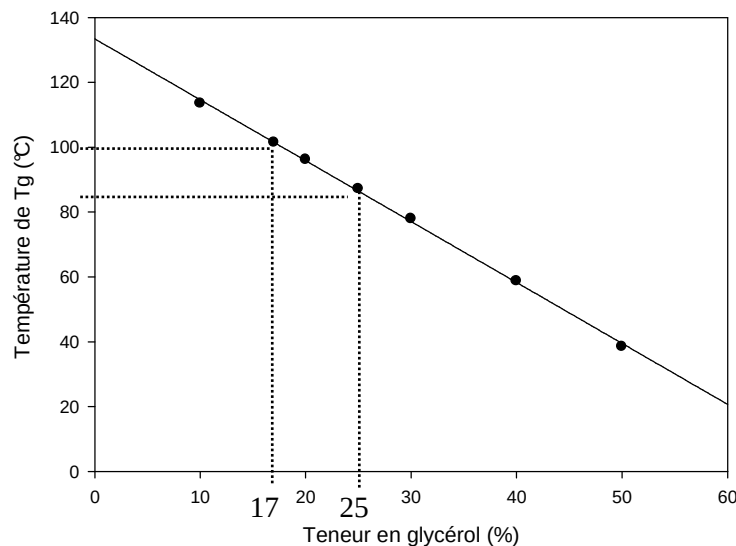


Figure III.3 : Température de transition vitreuse en fonction du taux de glycérol, déterminée par l'équation de Gordon-Taylor.

La courbe exposée sur la figure III.3 montre la dépendance de la Tg du caséinate de sodium avec le taux du glycérol. Celle-ci diminue progressivement avec l'augmentation du glycérol dans le matériau. Pour une variation du taux de glycérol entre 10 et 50%, la température de transition vitreuse passe de 115°C à 40°C. Ces valeurs ne prennent évidemment pas en compte la présence d'eau dans le matériau. C'est pourquoi, les Tg du caséinate de sodium à 17 et 25% de glycérol, déterminées à partir de la courbe exposée sur la figure III.3, sont ensuite évaluées en fonction de la teneur en eau des matériaux (figure III.4).

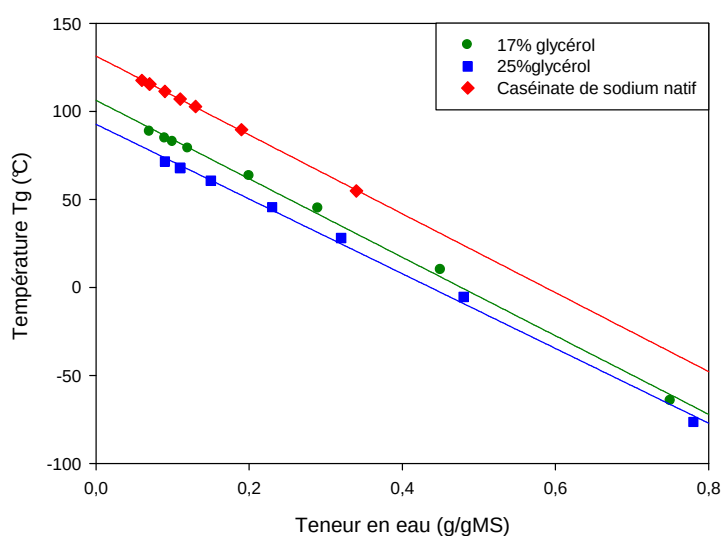


Figure III.4 : Température de transition vitreuse prédite (Gordon-Taylor) en fonction de la teneur en eau, pour différents taux de glycérol (0, 17 et 25%).

La teneur en eau a été obtenue à partir des isothermes d'adsorption d'eau du matériau. Ces mesures, détaillées dans le paragraphe III.3.1.1 de ce chapitre, permettent de rendre compte de la teneur en eau d'un matériau en fonction de l'humidité relative externe à température constante (30°C). La diminution de la température de transition vitreuse du caséinate de sodium est encore plus marquée en présence d'eau dans le matériau. En effet, pour une teneur en eau entre 0.2 et 0.6 g/gMS, la Tg du matériau à 25% de glycérol, passe de 70 à -25°C.

Il est donc évident, à partir des courbes théoriques présentées sur les figures III.3 et III.4, que la Tg du caséinate de sodium dépend fortement du taux du plastifiant et de la teneur en eau procurée par les conditions ambiantes. La diminution de ce paramètre est plus prononcée quand le taux du glycérol dans le matériau est élevé. La synergie entre les deux plastifiants (eau et glycérol) du caséinate s'explique par leur capacité à former des liaisons hydrogène

entre eux d'un côté et vis-à-vis de la protéine de l'autre. L'établissement de ces liaisons entraîne le remplacement, en partie, des liaisons protéine-protéine par des liaisons protéine-plastifiant. Ceci a pour conséquence, l'augmentation du volume libre et la mobilité des chaînes polypeptidiques au sein de la matrice du matériau et donc la diminution de la Tg.

La connaissance de la température de transition vitreuse de l'extrudat de caséinate est indispensable à sa transformation ultérieure, en film fin. Ainsi, un granulé de caséinate de sodium plastifié avec 20% de glycérol et en équilibre avec un environnement contenant 60% d'humidité relative et à 30°C, a une Tg de autour de 50°C. Cette température est convenable pour sa transformation à une température au-dessus de sa Tg et en-dessous de l'évaporation de l'eau.

III.2. Influence de l'extrusion sur la structure du caséinate de sodium

III.2.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) a pour but de séparer les protéines en fonction de leur taille moléculaire et de leur charge électrique au travers d'un gel de polyacrylamide sous l'effet d'un champ électrique.

Les gels de polyacrylamide ont été réalisés selon la technique décrite par Laemmli [172]. Le gel de concentration des protéines (stacking gel) et celui de séparation des protéines (resolving gel) ont été préparés avec une concentration en acrylamide de 5 et 12% respectivement. Pour évaluer la taille en kDa des bandes, un marqueur de taille 'SDS-PAGE Standards Broad range' a été utilisé. Ces protéines étalons sont : Myosine (198,510), β -galactosidase (116,254), albumine sérique bovine (84,796), ovalbumine (53,896), anhydrase carbonique (37,418), inhibiteur de trypsine de soja (29,051), lysozyme (19,809), aprotinine (6,845).

Les solutions de caséinate natif ou extrudé de concentration de 2.15 mg/cm³ ont été préparées dans le tampon Tris HCl 0.5M pH 6.8. Pour charger les protéines et assurer leur migration, un tampon de charge Laemmli 4x a été préparé puis ajouté aux solutions de caséinate (7 μ l du tampon pour 20 μ l de solution protéinique). En effet, le SDS (dodécylsulfate de sodium) détergent anionique, contenu dans le tampon Laemmli se lie à la protéine en lui conférant une charge nette négative proportionnelle à sa longueur ce qui va empêcher son repliement. Ainsi,

les protéines seront séparées uniquement en fonction de leur taille moléculaire. Les solutions ont été préparées en condition dite native (tampon de charge non réducteur) et en condition dénaturante (tampon de charge réducteur contenant 2 μ l de β -mercaptoéthanol dans 100 μ l de tampon Laemmli). Le β -mercaptoéthanol est un agent réducteur des ponts disulfures.

La migration et la séparation des protéines dans la matrice, sous l'effet d'un champ électrique de 160V appliqué dans la cuve d'électrophorèse, s'effectue uniquement en fonction de leurs poids moléculaire. La conduction de l'anode vers la cathode s'effectue grâce au tampon de migration. Après leur migration, les bandes correspondant aux protéines, ont été révélées par coloration avec le bleu de Coomassie puis décoloration permettant de rendre le gel incolore et les bandes visibles.

III.2.2. Résultats et discussion

La figure III.5 illustre le profil d'électrophorèse du caséinate de sodium natif (pistes 1 et 2) et extrudé (pistes 3 et 4). Le profil permet d'observer la présence de deux bandes majeures correspondant à la caséine α_{s1} et la caséine β et quatre bandes mineures identifiées comme caséine κ , caséine α_{s2} , ~ 95 kDa et ~ 200 kDa, plus visibles sur la figure III.6.

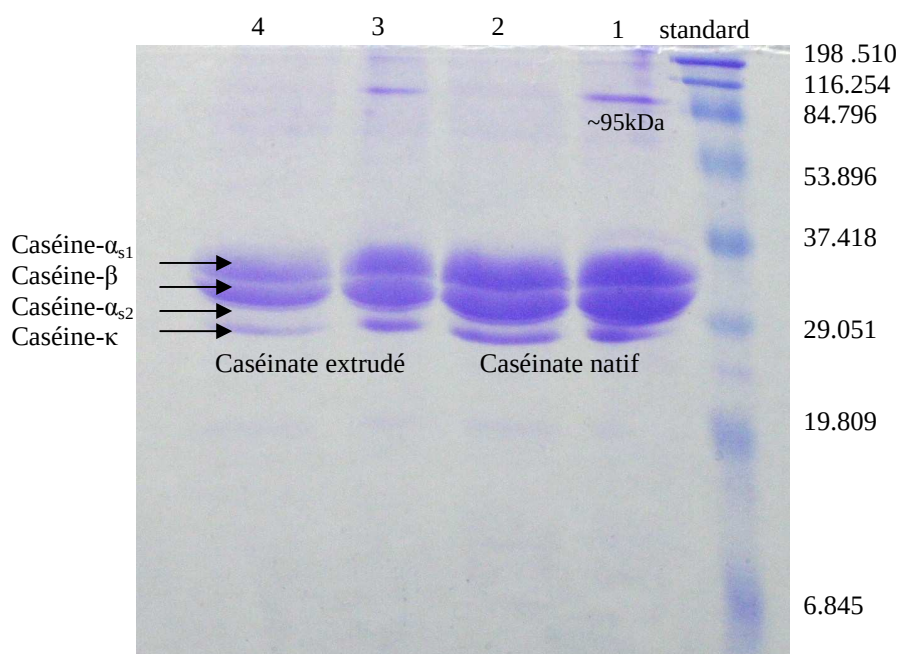


Figure III.5 : Gel d'électrophorèse de la migration de caséinate de sodium avant (pistes 1 et 2) et après (pistes 3 et 4) extrusion bi-vis. 1 : caséinate natif sans β -mercaptoéthanol. 2 : caséinate natif avec β -mercaptoéthanol. 3 : caséinate extrudé sans β -mercaptoéthanol. 4 : caséinate extrudé avec β -mercaptoéthanol.

Cette analyse permet d'étudier l'impact des conditions de l'extrusion (cisaillement et température) sur les changements structuraux et l'établissement ou la réduction de ponts S-S, qui peuvent se produire dans la caséine lors de sa transformation par extrusion bi-vis. Les bandes de masse moléculaire ~95 et ~200kDa correspondent aux interactions disulfures entre les différentes sous unités de la micelle de caséine. Ces complexes sont caractérisés par leur poids moléculaire élevé. En effet, après utilisation du mercaptoéthanol, réducteur de ponts disulfures, ces bandes disparaissent complètement (pistes 2 et 4, fig. III.5). Ces liaisons pourraient résulter de la formation de ponts disulfures entre la caséine α_{s2} et la caséine κ , les seules caséines contenant des résidus cystéine (groupe SH). Contrairement à la caséine de la micelle, dans le caséinate de sodium le groupe SH de la caséine α_{s2} est plus accessible à ces interactions [75]. Cette analyse montre que ces complexes existent déjà dans la protéine native (piste 1), avant son passage dans l'extrudeuse. En conclusion, ces complexes chimiques de masse molaire élevée résultent de l'interaction covalente entre plusieurs sous unités et les conditions de processus d'extrusion n'ont aucun effet sur la structure native de la caséine.

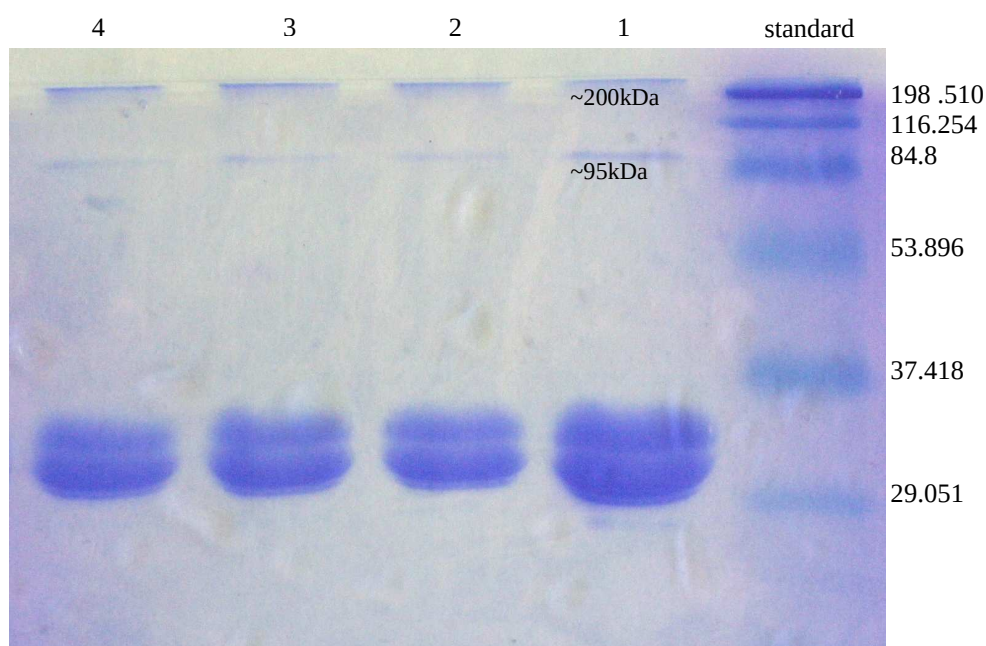


Figure III.6 : Gel d'électrophorèse de caséinate de sodium extrudé à différentes températures (100, 120 et 150°C) des zones de cuisson de l'extrudeuse. 1 : caséinate natif. 2 : caséinate extrudé à 100°C. 3 : caséinate extrudé à 120°C. 4 : caséinate extrudé à 150°C.

La perte de la conformation d'une protéine dépend fortement de la température de l'extrudeuse [173]. Dans une étude récente, Qi et Onwulata [173] ont montré que les protéines du petit lait perdent leur structure globulaire au cours de l'extrusion à 78°C et acquièrent une structure en pelote statistique « random coil » à 100°C. Il semble alors intéressant de tester l'effet de l'augmentation de la température sur la structure de la caséine, notamment sur les réarrangements des ponts S-S. Nous avons procédé à l'extrusion du caséinate de sodium en rehaussant les températures des zones 5 et 6, dites de cuisson, de l'extrudeuse à 120 puis 150°C à la place de 100°C. L'analyse, en électrophorèse sur gel d'acrylamide, de la structure des extrudats obtenus dans ces conditions a été comparée à celle de l'extrudat issu de l'extrusion avec ces mêmes zones à 100°C. La figure III.6 illustre les tailles des chaînes protéiques contenues dans chaque extrudat par rapport à la protéine brute.

Toutes les pistes correspondant au caséinate extrudé à des températures élevées, montrent une similitude avec le profil électrophorétique de la protéine non extrudée (piste 1). Les quatre profils comportent en plus des trois bandes reliées aux trois unités de la micelle de caséine (caséine κ , caséine β et caséine α_s), deux bandes mineures issues des interactions disulfures interchaînes, comme déjà expliqué auparavant. On en déduit que, soit la température est sans effet sur la structure de la caséine, soit les modifications ne sont pas visibles par cette technique. Néanmoins, ceci peut s'expliquer par la stabilité thermique de ces protéines qui découle de leur structure ouverte en pelote statistique « random coil » due aux insuffisances en éléments secondaires (hélice α et feuillet β) et tertiaire. Ces particularités mènent certains auteurs [74] à considérer les caséines comme étant des protéines naturellement dénaturées.

III.2.3. Conclusion

L'analyse par électrophorèse sur gel d'acrylamide de la structure de la caséine extrudée montre que les traitements mécanique et thermique que procure l'extrusion bi-vis ne semblent pas agir sur les interactions disulfures et donc sur la stabilité structurale de la protéine. Effectivement, les ponts disulfures ont pour rôle de stabiliser la structure tertiaire d'une protéine en limitant son dépliement [147]. Cette propriété que possède le caséinate permet d'étendre la gamme de température de transformation de la protéine notamment pour une démarche de fabrication de matériaux composites à base de caséinate de sodium.

III.3. Etude des interactions eau-matériau

L'eau joue un rôle essentiel dans la configuration de certaines macromolécules notamment les protéines et les glucides. La connaissance des différentes forces d'interaction d'eau dans un matériau hydrophile est essentielle pour la maîtrise des risques d'altération au cours de l'utilisation et du stockage. L'eau est considérée comme étant le plus efficace des plastifiants pour les matériaux hydrophiles. Sa petite masse molaire favorise la mobilité des chaînes polymériques en augmentant le volume libre et baissant la viscosité locale [174]. Scott était le premier à introduire le concept de l'activité d'eau (A_w) à la place de la teneur en eau pour expliquer la détérioration des produits alimentaires provoquée par leur hydratation [174]. Ce paramètre permet de décrire le degré de liaison de l'eau à une matrice hydrophile et par la suite sa disponibilité (qui est responsable des détériorations chimique, physique et microbiologique). La notion d'« eau liée » représente la proportion d'eau liée à une matrice par des liaisons hydrogène de forte énergie. Faible pression de vapeur, forte énergie de liaison, mobilité réduite, incongelable à basse température et indisponible aux réactions, telles sont les caractéristiques de ce type de molécules d'eau [175].

L' A_w , largement utilisée dans l'industrie alimentaire, représente la mesure de l'Humidité Relative à l'équilibre (HRE) et est définie par :

$$A_w = \frac{P}{P_0} = \frac{HR}{100} \quad \text{Equation III.2}$$

Avec P pression de vapeur de l'eau à la surface du produit à une température T .
 P_0 pression de vapeur saturante de l'eau pure à la même température.

La relation entre la teneur en eau d'un matériau et son A_w à température constante permet de définir les isothermes de sorption (adsorption, désorption). L'effet plastifiant dans ce cas est équivalent à celui correspondant à l'augmentation de la température à HR constante [176].

III.3.1. Affinité pour l'eau du caséinate de sodium

III.3.1.1 Isothermes d'adsorption

La mesure des isothermes d'adsorption permet d'estimer la teneur en eau à l'équilibre avec l'humidité environnante, d'un matériau à caractère hydrophile (figure III.7). Cette mesure est très utilisée dans le domaine des biomatériaux hydrophiles et biodégradables. Elle permet de prévoir les conditions idéales pour le stockage de ces matériaux plastiques afin de prévenir leur détérioration microbiologique et de conserver leur tenue mécanique.

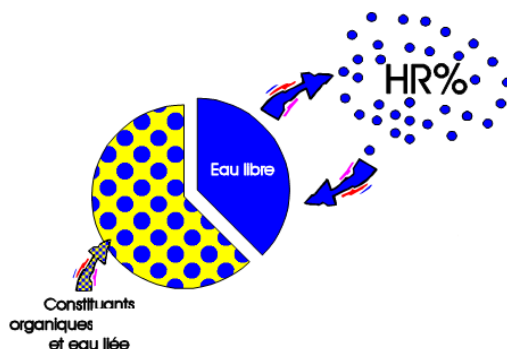


Figure III.7 : Schéma représentant les échanges hydriques entre un matériau hydrophile et l'humidité relative ambiante.

Pour obtenir les courbes des isothermes d'adsorption du caséinate de sodium extrudé et natif, le caséinate de sodium sous forme de poudre et de granulés à deux teneurs en glycérol (17 et 25%), ont été placés dans une enceinte climatique maintenue à une température constante de 30°C et une HR donnée. Les échantillons ont été pesés à intervalle régulier (24h) jusqu'à ce que leur masse ne varie plus, ils sont alors en équilibre avec l'air ambiant (T, HR). Ces mesures permettent d'obtenir la masse humide (m_e) du produit. La masse sèche (m_s) a été déterminée après étuvage sous vide des échantillons à 80°C, 20mbar pendant au moins 24h, jusqu'à ce que la masse soit stable. Ces deux masses (m_e et m_s) permettent de déduire la teneur en eau à l'équilibre (X_{eq}) du produit pour un couple (T, HR).

$$X_{eq} = \frac{m_e - m_s}{m_s} \quad \text{Equation III.3}$$

III.3.1.2 Résultats et discussion

La connaissance des isothermes d'adsorption de matériaux hydrophiles et biodégradables est importante en vue de contrôler leur état hydrique et par la suite ses propriétés fonctionnelles et leur stabilité vis-à-vis des micro-organismes. Ces mesures rendent possible la détermination des différents états de liaison d'eau aux molécules de la matrice ainsi que sa disponibilité fonctionnelle. Dans un matériau hydrophile, l'eau joue un rôle critique en tant que plastifiant. Elle est liée à la température de transition vitreuse (T_g). Celle-ci est d'autant plus basse que la teneur en eau du matériau est élevée.

L'analyse des isothermes d'adsorption d'eau du caséinate de sodium natif (poudre) et extrudé (granulés) avec deux taux de glycérol (17 et 25%) est représentée dans la figure III.8.

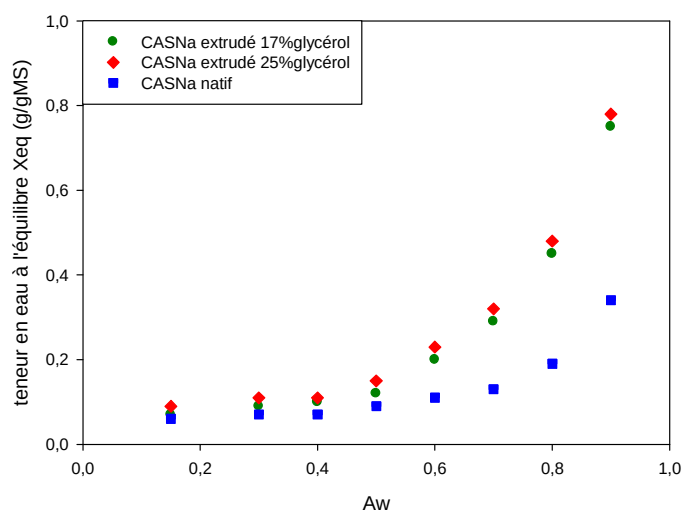


Figure III.8 : Isothermes d'adsorption du caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé avec deux taux de glycérol (17 et 25%), mesurés à 30°C.

Ces données expérimentales ont été ensuite modélisées par les deux modèles les plus utilisés pour estimer les paramètres d'adsorption d'eau par les aliments, GAB (Guggenheim, Anderson et Boer) et BET (Brunauer, Emmet et Teller).

- **Modèle de GAB**

Ce modèle est le plus utilisé pour modéliser l'adsorption d'eau par les biopolymères. Gennadios et Weller [177] ont rapporté que ce modèle est le plus adapté pour représenter les isothermes de sorption des films de zéine, de gluten de blé et de mélanges gluten de

blé/isolats de soja, pour une gamme d' A_w comprise entre 0.11 et 0.84. Le modèle se présente sous forme d'une équation à trois paramètres, M_m , K et C :

$$M = \frac{M_m \times C \times K \times A_w}{(1 - K \times A_w)[1 + (C - 1) \times K \times A_w]} \quad \text{Equation III.4}$$

Avec	M_m	Correspond à la monocouche d'eau adsorbée par le matériau, donnée en g/g de matière sèche (MS).
	C	Constante de Guggenheim, constante d'énergie relative à la chaleur de l'adsorption de la monocouche moléculaire.
	K	Constante correspondante à la chaleur d'adsorption de la multicouche d'eau, relative à l'eau libre.

• **Modèle de BET**

Le modèle BET est représenté par l'équation suivante :

$$M = \frac{M_m \times C \times A_w}{(1 - A_w)(1 - A_w + C \times A_w)} \quad \text{Equation III.5}$$

Cette équation permet de fournir la valeur de la teneur en humidité des couches superficielles (monocouche) M_m ainsi que leur énergie d'adsorption C . Cependant, elle ne permet pas d'estimer la valeur de l'énergie (K) nécessaire à l'adsorption de la multicouche relative à l'eau libre. De ce fait, contrairement à l'équation de GAB, le modèle BET est applicable uniquement pour des gammes d' A_w de 0.05 à 0.45 [178].

Les courbes modélisées par les modèles GAB et BET, permettant de mieux visualiser le comportement du caséinate de sodium natif et extrudé vis-à-vis de l'humidité externe, sont présentées sur la figure III.9.

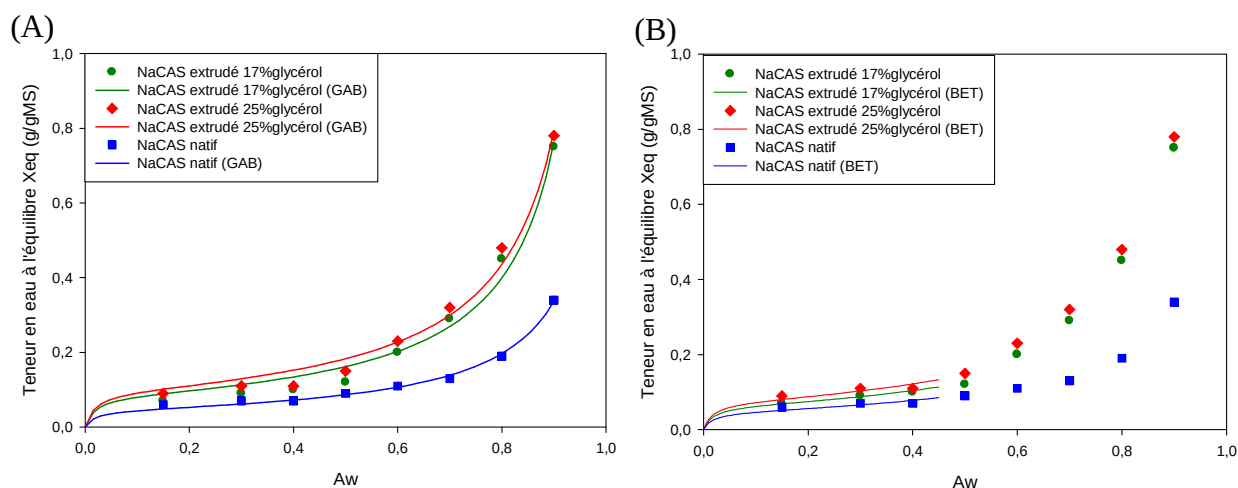


Figure III.9 : Isothermes d'adsorption du caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé avec deux taux de glycérol (17 et 25%), mesurés à 30°C et modélisés par le modèle (A) GAB et (B) BET.

Indépendamment du modèle utilisé, les isothermes d'adsorption de l'eau par le caséinate de sodium (natif ou extrudé) (figure III.9) représentent une allure sigmoïde caractéristique des polymères hydrophiles. Ces courbes peuvent être divisées en trois parties [179]. :

- La première zone est délimitée par une A_w inférieure à 0.3 : l'eau dans cette zone forme la première monocouche moléculaire à la surface du produit, fortement liée aux groupements polaires aisément accessibles. Les protéines constituent des sites préférables pour la fixation d'eau, à basses A_w . L'enthalpie de vaporisation de cette eau est considérablement plus élevée que l'eau pure. L'eau dans cet état est généralement indisponible en tant que plastifiant et aux réactions chimiques, et incongelable. La teneur en eau dans cette zone dépend de la composition du matériau.

Cette partie de l'isotherme correspond à un matériau dans un état solide.

- La deuxième zone se situe entre 0.3 et 0.7 où la teneur en eau augmente progressivement et rapidement avec l'humidité ambiante. La proportion d'eau dans le matériau est dépendante du taux de glycérol dans les extrudats. En effet, les granulés contenant 25% de glycérol fixent, légèrement, plus de molécules d'eau que ceux avec 17%. Aussi, le caséinate plastifié a la capacité d'adsorber deux fois plus de molécules d'eau que le caséinate brut. L'eau dans cette zone est moyennement liée et correspond à l'eau adsorbée sur la première monocouche par condensation capillaire. Cette eau est disponible comme solvant pour des solutés de petites masses moléculaires et pour certaines réactions biochimiques mais elle ne cristallise pas au point normal de congélation. Dans cette zone l'eau agit par son action

plastifiante en baissant la Tg du matériau. Cet effet est amplifié par la présence du glycérol, plastifiant très hygroscopique, dans la protéine. Effectivement, chaque molécule du glycérol offre trois sites supplémentaires pour des interactions hydrogène avec les molécules hydriques. Ainsi, une teneur en glycérol élevée dans le matériau augmente l'adsorption d'eau et donc sa teneur en eau.

- La troisième zone, correspond à des HR au delà de 70%. Dans cette zone, l'eau est libre bien qu'elle soit liée aux couches d'eau déjà formées, par des liaisons hydrogène de faible énergie. Dans cette zone de l'isotherme, l'eau est disponible pour la prolifération microbienne et les réactions chimiques d'hydrolyse. Cette eau se concentre dans les pores du matériau par macro-capillarité.

Le calcul des paramètres du GAB, permet de mieux comprendre le comportement du caséinate de sodium natif ou extrudé avec différents taux de glycérol vis-à-vis de l'humidité ambiante.

Lors de la modélisation des courbes expérimentales par le modèle GAB, les trois paramètres sont laissés libres. Il apparaît alors des fluctuations importantes sur le paramètre C. Une étude similaire [117] permet de déterminer la valeur de ce paramètre, qui est d'environ 56, dans le cas d'un film de caséinate de sodium plastifié à 20% de glycérol. Il semble alors intéressant de fixer la constante C à la valeur de 56, en fonction de laquelle, s'effectuera l'ajustement des autres paramètres (M_m et K) par l'équation du GAB. Le tableau III.2 récapitule les valeurs obtenues.

Tableau III.2: Caractéristiques d'adsorption de l'eau par le caséinate de sodium (CASNa) natif et extrudé à deux taux de glycérol (17 et 25%) calculées par le modèle de GAB.

	Paramètre C fixe			Paramètre C libre		
	M_m (g/gms)	K	C	M_m (g/gMS)	K	C
CASNa natif	0.046	0.96	56	0.045	0.96	1200
CASNa à 17%glycérol	0.083	0.99	56	0.12	0.94	1.89
CASNa à 25%glycérol	0.095	0.98	56	0.12	0.95	3.64

Les valeurs des coefficients M_m et K obtenues dans le cas d'un paramètre $C=56$ sont comparables avec celles calculées par Khawldia et al. [117]. Pour un film de caséinate de sodium contenant 20% de glycérol, ces auteurs ont trouvé $\sim 0.07\text{g/gMS}$ de monocouche moléculaire et une énergie d'adsorption de la multicouche de l'ordre de 1.

La figure III.10 représente l'effet du paramètre C sur la modélisation des isothermes d'adsorption du caséinate de sodium.

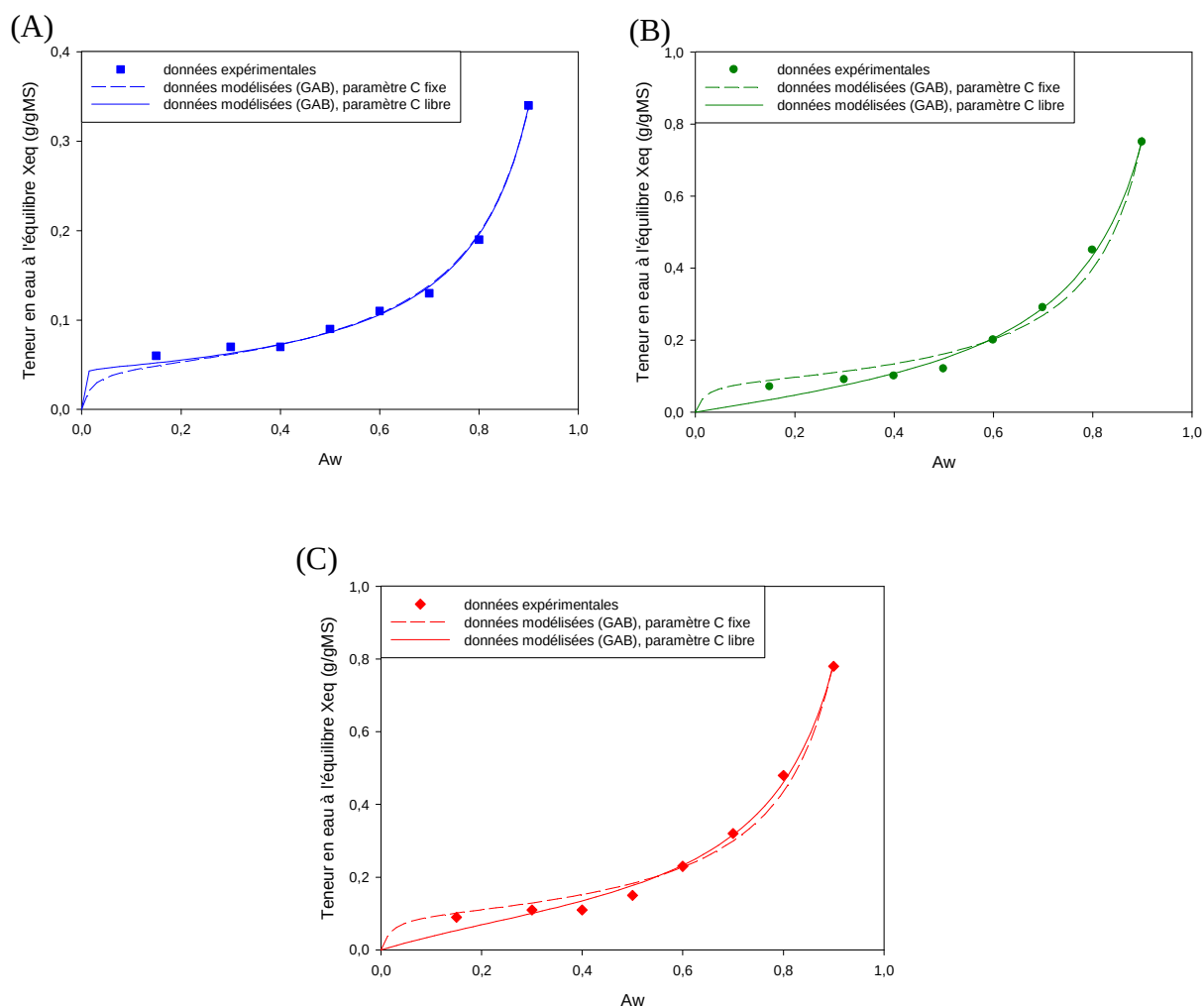


Figure III.10 : Modélisation des isothermes d'adsorption par le modèle GAB, à C fixe (---) et C libre (—), du (A) caséinate de sodium natif, (B) caséinate de sodium extrudé à 17% de glycérol et (C) caséinate de sodium extrudé à 25% de glycérol.

La figure ci-dessus permet de déduire que les points expérimentaux du caséinate natif et les courbes modèles concordent très bien.

Pour estimer la fiabilité de l'ajustement des points expérimentaux par le modèle GAB vis-à-vis du caséinate, celui-ci a été comparé au modèle BET. Les valeurs de la teneur en eau de la monocouche (M_m) déterminées par les deux équations sont présentées dans le tableau III.3, pour une même énergie d'adsorption de $M_m(C)$.

Tableau III.3: Valeurs de la monocouche moléculaire (M_m) du caséinate de sodium natif et extrudé à deux taux de glycérol (17 et 25%), estimées par les équations de GAB et de BET.

	Paramètre C=56	
	GAB	BET
	M_m (g/gms)	M_m (g/gMS)
CASNa natif	0.046	0.048
CASNa à 17%glycérol	0.083	0.064
CASNa à 25%glycérol	0.095	0.075

Les valeurs de M_m déterminées par l'équation de BET sont inférieures à celles déterminées par celle de GAB, sauf dans le cas de la protéine native. Néanmoins, elles évoluent de la même manière, en fonction de l'état du caséinate de sodium. Soit, la teneur en eau de la première couche moléculaire, adsorbée sur le caséinate brut (0.048g/gMS), est inférieure à celle fixée sur le caséinate plastifié à 17% de glycérol (0.064g/gMS), elle-même inférieure à celui contenant 25% en glycérol (0.075g/gMS).

Le paramètre C, caractéristique de l'adsorption de la monocouche moléculaire, est commun aux deux modèles étudiés. Une fois ce paramètre fixé, les coefficients des deux modèles (tableaux III.2 et III.3), permettent de mieux interpréter le comportement du caséinate de sodium (brut et plastifié) vis-à-vis de l'eau :

- La teneur en eau de la monocouche moléculaire (M_m) dépend fortement de la présence du glycérol. En effet, le caséinate de sodium brut nécessite uniquement 0.046g/gMS pour former la première monocouche moléculaire d'eau, contrairement au caséinate plastifié. Ce dernier requiert plus de molécules hydriques pour saturer la monocouche moléculaire. Celle-ci est d'autant plus importante que la teneur en glycérol est élevée dans le matériau (0.083

g/gMS pour le caséinate à 17% de glycérol et 0.095g/gMS à 25% de glycérol). L'augmentation de la quantité d'eau que constitue la monocouche moléculaire est attribuée à la présence du glycérol qui présente une forte affinité pour les molécules d'eau.

- La capacité du matériau à former une multicouche d'eau est indépendante de la présence du glycérol. En effet, la chaleur nécessaire à l'adsorption de la multicouche, donnée par la constante K , est à peu près la même pour le caséinate natif ($K=0.96$) et le caséinate extrudé contenant 17% de glycérol ($K=0.99$) et 25% de glycérol ($K=0.98$).

La figure III.11 présente l'ajustement des données expérimentales par les deux modèles (GAB et BET) dans le cas de chaque matériau.

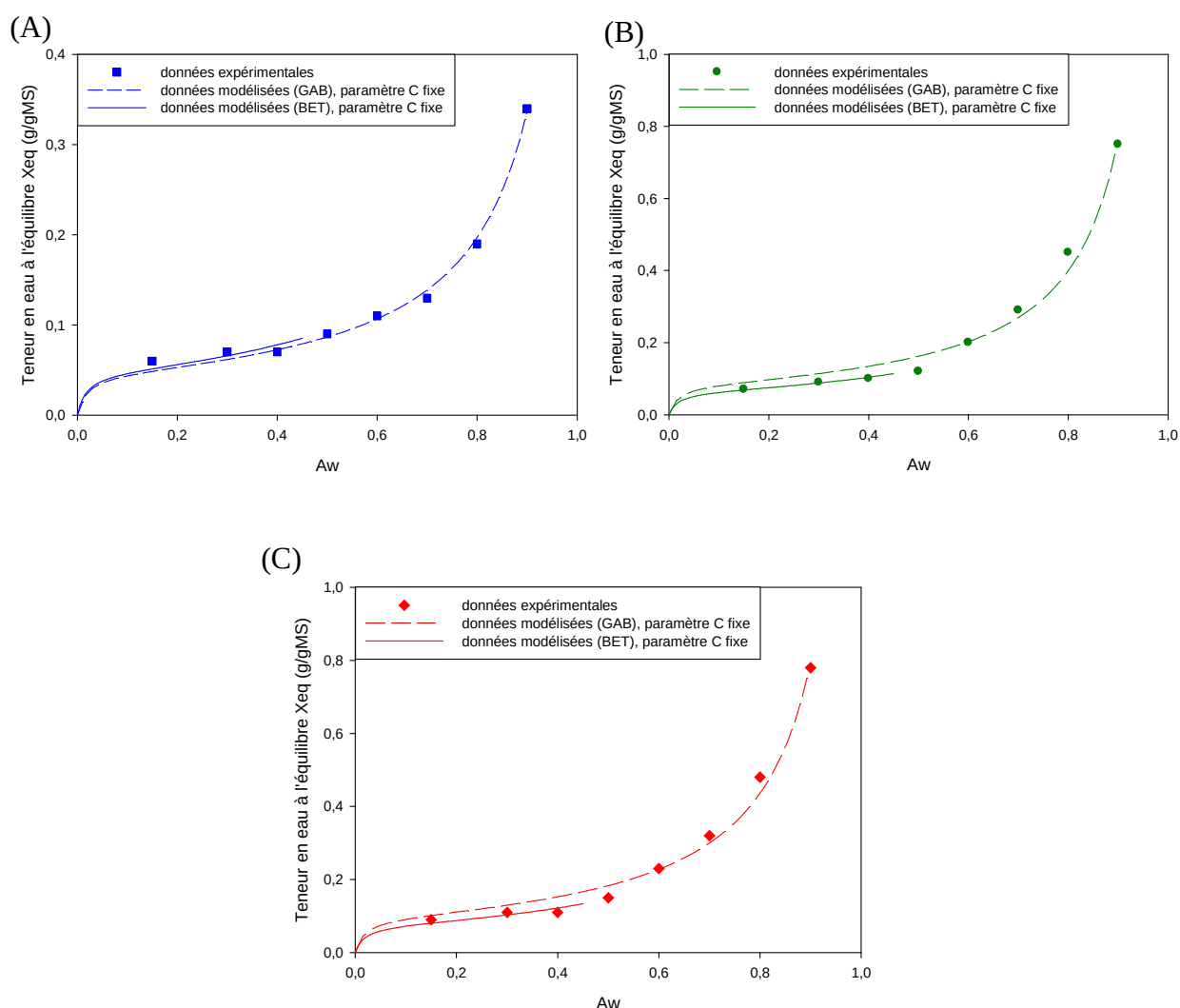


Figure III.11 : Comparaison de l'analyse des isothermes d'adsorption, du (A) caséinate de sodium natif, (B) caséinate de sodium extrudé à 17% de glycérol et (C) caséinate de sodium extrudé à 25% de glycérol, par les modèles GAB, (---) et BET (—) à $C=56$.

La concordance entre les points expérimentaux obtenus pour les caséinate (natif et extrudé) et les modèles GAB et BET paraît satisfaisante, dans l'ensemble. Cependant, l'équation de GAB est moins satisfaisante à des A_w inférieures à 0.6 pour le caséinate extrudé. A l'inverse, l'ajustement des points expérimentaux par le modèle de BET est correct, dans le cas du caséinate natif et extrudé. Néanmoins, les deux modèles permettent d'estimer la capacité d'adsorption d'eau de la protéine en fonction des conditions d'humidité et de température externes.

Les mesures des isothermes d'adsorption d'eau par le caséinate extrudé sont très intéressantes pour évaluer la teneur en eau du matériau en équilibre avec des conditions d'humidité et de température données. Ces analyses sont donc utiles pour estimer la température de la transition vitreuse du matériau à base de caséinate, en fonction des conditions environnantes, à partir de la courbe théorique développée dans la première partie de ce chapitre.

III.3.2. Notions “eau liée” et “eau libre”

III.3.2.1 Calorimètre différentiel à balayage (DSC)

La notion d'eau libre et d'eau liée a été confirmée par une analyse thermique en utilisant un calorimètre différentiel à balayage (DSC) Q10 de TA Instruments sous atmosphère inerte d'azote. Le gaz de purge utilisé est de l'azote à 50ml/min. L'appareil est équipé d'un système de réfrigération (RCS) permettant de réaliser des mesures entre -80 et 300°C.

L'objectif de cette analyse est de déterminer les états d'eau dans le granulé en fonction de l'humidité ambiante à température constante (30°C). En effet, lors d'une montée en température de -80°C à plus de 10°C, l'apparition d'un endotherme de fusion de l'eau cristallisée à 0°C prouve de la présence de l'eau libre liquide, très mobile, dans le matériau. Pour cela, 5mg d'échantillon contenus dans des creusets hermétiques en aluminium, ont été conditionnés à 90 et 40% HR, 30°C pendant au moins 48h avant d'être analysés dans le calorimètre.

La méthode utilisée consiste à refroidir l'échantillon à -80°C à une vitesse de 10°C/min puis évaluer les endothermes de fusion et d'évaporation après une montée en température jusqu'à 300°C à la même vitesse.

III.3.2.2 Résultats et discussion

La figure III.12 présente les thermogrammes DSC de deux caséinates plastifiés dans deux conditions d'HR différentes ainsi que ceux de l'eau pure, d'un mélange eau/glycérol (75/25) et du glycérol pur.

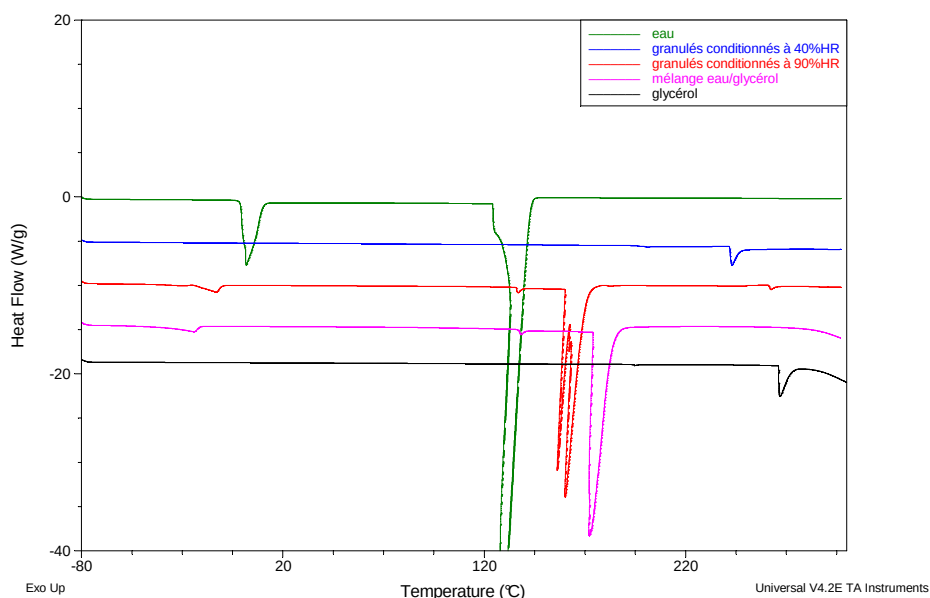


Figure III.12 : Thermogrammes DSC des granulés de caséinate de sodium à 25% de glycérol, conditionnés à 90 et 40% HR à température constante (30°C), de l'eau pure, du mélange eau/glycérol (75/25) et du glycérol pur.

Les courbes montrent plusieurs pics endothermiques correspondant soit à une fusion de la glace soit à une évaporation de l'eau et/ou du glycérol. La nature de ces pics a été évaluée en les comparant aux trois courbes témoins : eau pure, glycérol pur et mélange des deux.

Le pic apparu vers 0°C, dans le cas de granulés conditionnés à 90%HR, correspond à la fusion de l'eau libre congelée, sachant que l'eau liée n'est pas congelable [174]. Le deuxième pic qui apparaît vers 130°C correspond à l'évaporation de l'eau libre vu qu'il est superposable au pic de l'évaporation de l'eau pure et absent dans le matériau équilibré dans des conditions sèches (40%HR, 30°C). Cette évaporation s'effectuant normalement à 100°C à pression atmosphérique est observable à 130°C car les creusets utilisés sont hermétiques et donc la pression à l'intérieur est supérieure à 1atm.

En se référant aux explications avancées lors de l'analyse des isothermes d'adsorption d'eau sur le caséinate, l'eau présente dans les granulés conditionnés à 40%HR est moyennement liée

(zone 2 des isothermes) et par conséquent, elle est non congelable. Ce comportement est différent de celui du caséinate équilibré avec 90% d'HR externe, dans lequel l'eau atteint son état libre (zone 3 de l'isotherme) et donc congelable.

D'autre part, les endothermes intermédiaires (entre l'évaporation de l'eau libre et celle du glycérol pur) apparus vers 160 et 170°C pour le caséinate équilibré à 90%HR et le mélange eau/glycérol, respectivement, pourraient être attribués à l'évaporation du complexe eau-glycérol lié par des liaisons hydrogène.

Pour bien comprendre et élucider la nature de ces pics, nous avons procédé à l'analyse de mélanges eau/glycérol à différentes teneurs en eau par rapport à une quantité constante en glycérol. La figure III.13 présente les thermogrammes DSC de trois mélanges eau/glycérol contenant 30, 50 et 60% d'eau dans un volume constant de glycérol. Les analyses ont été effectuées sur une masse constante et avec la même méthode que celle citée auparavant.

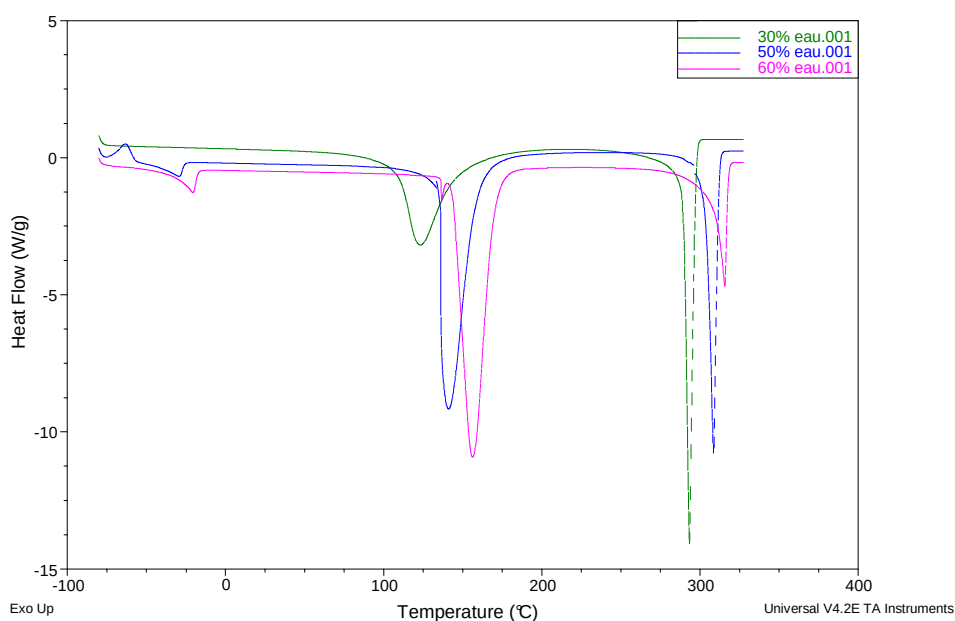


Figure III.13 : Thermogrammes DSC de trois mélanges eau/glycérol se différenciant par leur teneur en eau (30, 50 et 60%) par rapport à celle du glycérol qui reste constante.

Les courbes présentées sur la figure ci-dessus permettent de tirer les observations suivantes :

- A 30% d'eau, le pic de fusion de l'eau congelée étant absent, toutes les molécules d'eau se retrouvent dans un état lié. L'eau libre commence à apparaître à partir de 50% d'eau dans le glycérol.

- La température d'apparition de l'endotherme, dans une gamme de température de 100 à 170°C, est d'autant plus élevée que le pourcentage d'eau, dans le mélange, est important. C'est le cas aussi du pic relié à l'évaporation du glycérol se produisant normalement vers 290°C.
- Quand la teneur en eau augmente dans le mélange eau/glycérol, le pic d'évaporation du glycérol diminue, bien que sa quantité soit constante dans les trois mélanges.

Ces observations permettent de confirmer l'intérêt de l'ajout du glycérol dans les formulations lors de l'extrusion des caséinates. En effet, les interactions hydrogène établies entre les molécules hydriques et celle du glycérol, retardent la perte d'eau en augmentant sa température d'évaporation. Ceci est un avantage pour l'extrusion du caséinate, dans le cas où une élévation de la température au-delà de 100°C est nécessaire pour le compoundage du caséinate de sodium.

III.3.3. Vitesse de reprise d'humidité

III.3.3.1 Appareillage

Cette analyse a pour objectif de mesurer la vitesse de reprise de l'humidité par le matériau à base de caséinate de sodium, en fonction du taux d'humidité externe. Ce test permet de s'assurer de l'équilibre du matériau avec les conditions externes lors des tests physico-chimiques.

Pour que l'expérience soit très proche des conditions réelles de reprise d'humidité d'un film, celle-ci est réalisée sur des films obtenus par extrusion gonflage. Néanmoins, travailler sur des films fins nécessite une très grande précision de la balance et la possibilité de faire varier les échanges hydriques entre le film et les conditions ambiantes. Une thermobalance d'une précision de 0.1mg a été donc modifiée pour permettre des mesures sous humidité contrôlée (figure III.14). Celle-ci est assurée par des solutions saturées.



Figure III.14 : Thermobalance modifiée : précision 0.1mg, capacité 100mg.

Les tests ont été réalisés sur des films fins de caséinate de sodium à 25% de glycérol. Le principe consiste à mesurer l'augmentation de la masse du matériau suspendu par un capteur de masse au sein d'une cellule contenant un taux d'humidité fixe, régulé par des solutions saturées à température constante (30°C). Les analyses ont été effectuées dans des intervalles d'humidité correspondant aux trois zones de l'isotherme d'adsorption du caséinate de sodium extrudé (14-30%HR, 30-70%HR et 70-90%HR) et sur des films de $\sim 30\mu\text{m}$ d'épaisseur. Un logiciel d'acquisition est relié à l'appareil pour relever la variation de la masse toutes les 10 secondes.

III.3.3.2 Résultats et discussion

Cette analyse permet de donner un aperçu sur la vitesse de la reprise d'eau dans les trois zones de l'isotherme d'adsorption du matériau à base du caséinate de sodium. Les courbes obtenues des tests de reprise d'humidité des films de caséinate à différents intervalles d'humidité relative sont présentées sur la figure III.15.

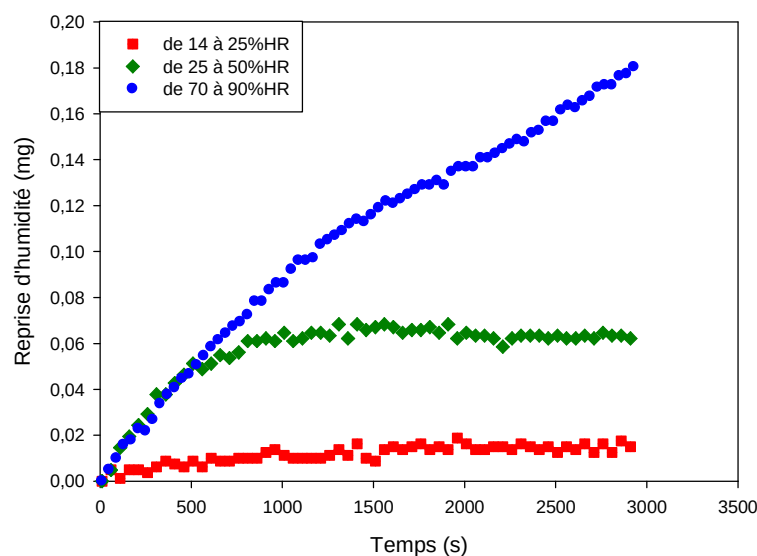


Figure III.15 : Reprise d'humidité à différents intervalles d'Humidité Relative.

La cinétique de la reprise d'humidité par les films de caséinate de sodium permet de tirer les observations suivantes :

- Pour des taux d'humidité externes variant de 14 à 25%HR à 30°C (zone 1 de l'isotherme), la vitesse d'adsorption d'eau sur le matériau est très lente. Celle-ci correspond à la pente de la courbe et vaut $0.3 \cdot 10^{-6} \text{mg.s}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}$. L'adsorption dans cet intervalle d'humidité se fait progressivement jusqu'à saturation de la monocouche moléculaire recouvrant la surface de la protéine. L'eau se fixe sur des sites à forte énergie d'interaction difficilement accessibles. Une fois la monocouche est constituée, le matériau n'absorbe plus d'eau et le plateau de l'équilibre est rapidement atteint. Connaître la valeur de cette monocouche pourrait donner accès à la détermination du nombre total des groupements polaires, de la protéine, d'adsorption d'eau [180].

- Entre 25 et 50%HR (début de la zone 2 de l'isotherme), la vitesse de fixation des molécules vaut $6 \cdot 10^{-6} \text{mg.s}^{-1} \cdot \mu\text{m}^{-1}$, elle est vingt fois plus élevée que celle permettant la fixation de la monocouche moléculaire. Les sites de forte énergie étant occupés, l'adsorption s'effectue sur les sites accessibles et de faible énergie. Dans cet intervalle d'humidité, l'eau est adsorbée sous forme de multicouches se fixant sur la monocouche par des liaisons hydrogène, jusqu'à ce que le matériau soit en équilibre avec l'humidité externe.

- Pour les régions en activité d'eau élevée (entre 70 et 90%HR) correspondant à la troisième zone de l'isotherme d'adsorption du caséinate, la vitesse de fixation de l'eau est

égale à celle d'adsorption d'eau dans la deuxième zone de l'isotherme. L'eau se fixe sur les couches de solvation déjà formées et dans les macro-capillaires. L'eau constitue une phase liquide dans les matériaux très hygroscopiques [179]. Ceci pourrait expliquer pourquoi l'équilibre n'est pas rapidement atteint et l'adsorption continue à s'établir dans cette zone d'humidité relative.

III.3.4. Conclusion

Le matériau à base de caséinate de sodium est très influencé par les conditions d'humidité et de température ambiantes. L'eau par son rôle de plastifiant, affaiblit les liaisons protéine-protéine, augmente le volume libre dans le réseau protéique et abaisse la température de transition vitreuse du produit. Par ces actions, l'eau peut avoir un effet sur les propriétés du produit fini. Le stockage dans des conditions optimales d'humidité et de température éviterait les modifications et les altérations indésirables du produit. La vitesse d'adsorption d'eau dépend de l'humidité ambiante. Faible dans des conditions sèches, la vitesse augmente dès humidification de l'environnement ambiant. D'autre part, l'équilibre du matériau avec un milieu sec est rapidement atteint, ce qui pourrait influencer sur les échanges hydriques au cours des mesures physico-chimiques dans un tel environnement.

La capacité du caséinate à absorber l'humidité externe s'accroît par la présence du glycérol. Celui-ci étant un plastifiant très hygroscopique, il augmente le nombre de sites de fixation des molécules d'eau et par la suite le taux hydrique dans le matériau. En revanche, sa présence dans la formulation au cours de l'extrusion du caséinate est très avantageuse. En se liant à l'eau, le glycérol va permettre de retarder la perte d'eau en augmentant sa température d'évaporation ce qui est utile dans le cas où une augmentation de la température de l'extrusion serait indispensable.

III.4. Dosage du glycérol dans les formulations

La variation des débits des différents doseurs pendant l'extrusion combinée au couple cisaillement/température peut engendrer des variations dans les formulations prévues. La mesure de la teneur en glycérol dans le caséinate de sodium extrudé est alors indispensable pour vérifier la composition des différentes formulations.

III.4.1. Evaluation de la perte de masse du caséinate

III.4.1.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'étude du comportement thermique des granulés à différentes teneurs en glycérol (25 et 33%) a été réalisée par analyse thermogravimétrique en utilisant une thermobalance de type Mettler Toledo. La procédure appliquée est la même pour tous les échantillons. Environ 6mg d'échantillon sont introduits dans un creuset en Aluminium. La température de la thermobalance est portée de la température ambiante (25°C) à 600°C, à une vitesse de chauffe de 10°C/min sous un débit en hélium de 80ml/min. Le comportement thermique des différents granulés a été comparé à celui de la protéine native (poudre) qui a subi la même procédure par ATG. Avant d'être analysés les granulés ainsi que la protéine native ont été conditionnés, pendant au moins une semaine, dans un dessiccateur contenant un desséchant, le gel de silice sec (~15%HR), afin d'éliminer toute eau libre. Ainsi, la perte de masse sera attribuée uniquement à l'évaporation de l'eau liée et/ou du glycérol suivie de la dégradation de la protéine par rupture de liaisons non covalentes et covalentes (liaisons peptidiques et ponts disulfures) inter et intrachâînes.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) couplée à l'ATG permet de caractériser les dégagements gazeux suite à la dégradation thermique de l'échantillon dans la gamme de température choisie. Lors du chauffage du produit, les effluents gazeux sont recueillis dans le spectromètre infrarouge et analysés et les spectres sont réalisés.

III.4.1.2 Résultats et discussion

Les courbes obtenues de l'analyse thermogravimétrique des extrudats de caséinate de sodium comparées à celle de la protéine non extrudée sont représentées sur la figure III.16.

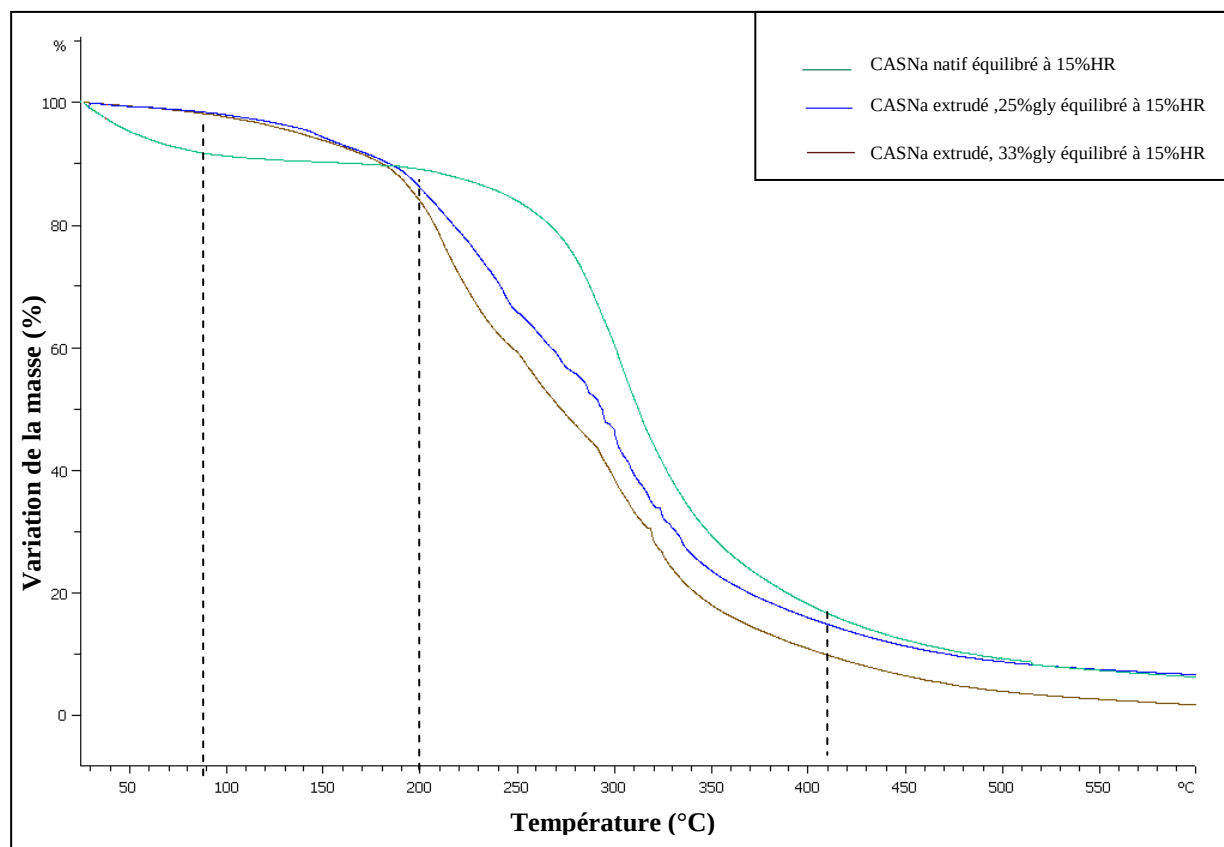


Figure III.16 : Thermogrammes ATG des granulés de caséinate de sodium (CASNa) à 25 et 33% de glycérol et du caséinate de sodium natif, conditionnés à 15% HR à température ambiante.

Les courbes peuvent être subdivisées en plusieurs parties :

- A partir de 25°C et jusqu'à 100°C, le caséinate de sodium non extrudé et séché, subit une perte de masse d'environ 8%. Cette perte de masse correspond à l'évaporation d'eau résiduelle dans cette matière, qui représente 8% à l'équilibre avec un environnement sec (~15%HR). Cette valeur concorde avec le taux d'humidité calculé par le fournisseur du caséinate de sodium qui varie entre 6 et 8%. Remarquons que cette perte de masse, dans le même intervalle de température et les mêmes conditions ambiantes, n'est pas significative dans le cas de la protéine plastifiée et extrudée. Pour ces matières plastifiées, la perte est proche de 2%. Ceci s'explique par la présence du glycérol, facteur de rétention d'eau dans le matériau, comme permet de l'expliquer la figure III.17. Celle-ci représente la perte de masse en fonction de la température de l'eau pure, du glycérol pur et de leur mélange à quantité égale.

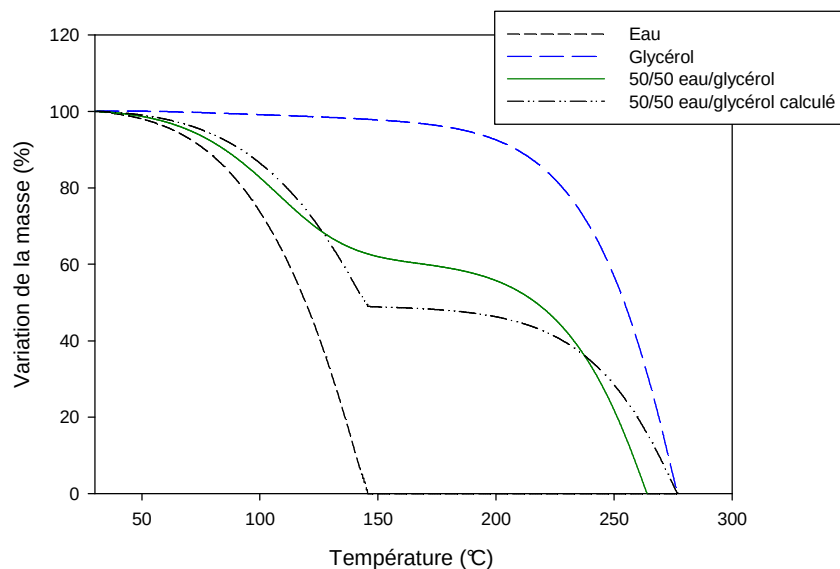


Figure III.17 : Thermogrammes ATG de l'eau pure, du glycérol pur et de leur mélange à quantité égale.

La figure ci-dessus montre qu'effectivement les interactions hydrogène établies entre l'eau et le glycérol, augmentent la température de l'évaporation de l'eau et diminuent celle du glycérol. On remarque alors une différence importante entre la courbe expérimentale d'un mélange eau/glycérol et le calcul théorique à partir des courbes des éléments purs.

- Entre 100 et 200°C, le caséinate de sodium non transformé et déshydraté ne subit presque plus de perte de masse. La protéine, dans son état natif, apparaît stable thermiquement à partir de 100°C et jusqu'à 200°C. Cependant cette analyse ne permet pas de donner des informations sur les changements structuraux que peut subir la caséine dans cette gamme de température et qui sont indépendants d'une perte de masse. Contrairement à la caséine native, celle extrudée continue à perdre en masse jusqu'à atteindre environ 8% de perte à 200°C. Comme expliqué précédemment, cette perte pourrait correspondre à l'évaporation du complexe eau-glycérol lié à la protéine.

- A partir de 200°C, la perte de masse du caséinate, natif ou extrudé, devient significative. En revanche la vitesse de cette perte dépend de l'état de la protéine. Elle est très importante à partir de 200°C dans le cas de la protéine extrudée, contrairement à la protéine native dont la vitesse reste faible jusqu'à une température de 270°C à partir de laquelle elle augmente jusqu'à atteindre les 400°C. Dans cette gamme, la matière perd à peu près 80% de

sa masse initiale. La diminution de la masse, dans ces températures, est due à la dégradation de la protéine. Celle-ci étant plus lente à 200°C dans le caséinate natif, pourrait être assignée au début de la rupture des liaisons disulfures intra et interchaînes, suivie de la rupture des liaisons peptidiques, nécessitant de fortes énergies et correspondant à une vitesse de perte plus élevée.

A l'inverse, la vitesse de perte du caséinate de sodium plastifiée est élevée à partir de 200°C. Nous avons proposé l'explication suivante : l'énergie nécessaire pour rompre les liaisons hydrogène entre la protéine et le glycérol et/ou l'eau étant plus faible, l'évaporation du glycérol et/ou l'eau est concomitante au début de dégradation de la protéine. Ceci s'accompagne d'une vitesse de perte élevée dès que la température de la thermobalance atteint 200°C. Cependant la contribution relative de chacun des composés (glycérol, eau et protéine) de l'extrudat dans cette perte de masse reste difficile à déterminer. Même la caractérisation par infrarouge couplé à l'ATG des gaz dégagés lors de l'analyse thermogravimétrique du matériau, ne permet pas de séparer les effluents gazeux correspondant à l'évaporation ou à la dégradation de chaque composé. En effet, comme c'est exposé sur les figures III.18 et III.19, les trois composants de l'extrudat (eau, glycérol et protéine) donnent des spectres infrarouge très proches les uns des autres lors de leur évaporation ou de leur dégradation.

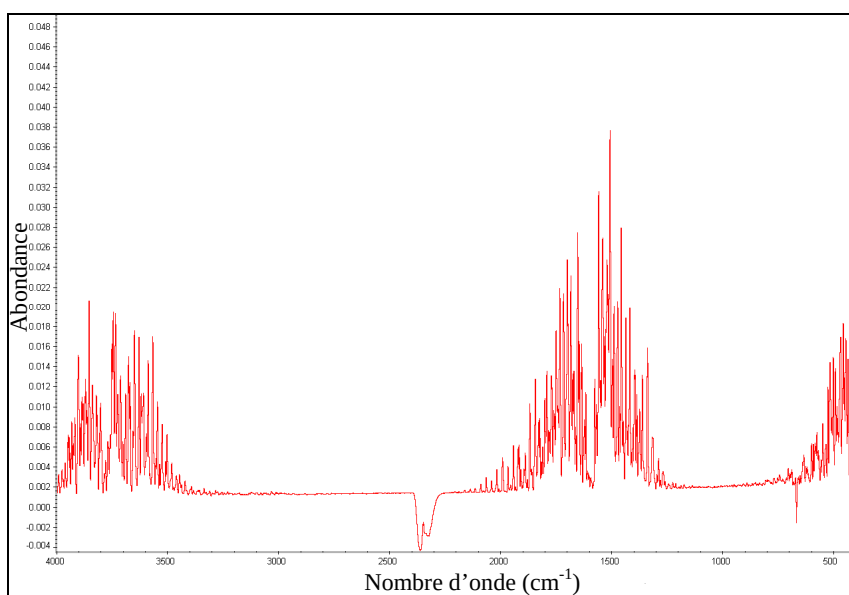


Figure III.18 : Spectre infrarouge des effluents gazeux de l'évaporation de l'eau pure.

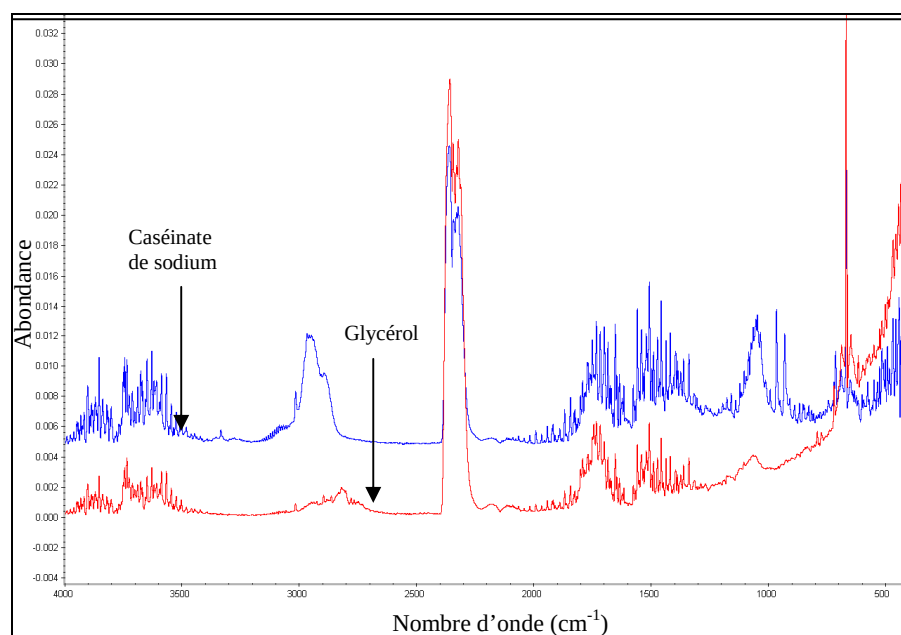


Figure III.19 : Spectres infrarouge des effluents gazeux de la dégradation thermique du glycérol pur et du caséinate de sodium.

- Au delà de 400°C, la perte de masse atteint les 90%, ce qui correspond aux données figurant sur la fiche technique du caséinate qui nous est procuré par le fournisseur. En effet, la matière fournie contient au moins 88% en protéine, le reste se répartit entre minéraux (~5%), matière grasse (~1.5%) et lactose (~0.15%).

En conclusion, la stabilité thermique du caséinate à des températures allant jusqu'à 200°C, confirmée par les travaux de Swaisgood [74], est une indication importante pour des recherches plus poussées visant à mélanger le caséinate avec d'autres polymères en vue d'améliorer les propriétés du matériau fini. D'autre part, l'analyse thermogravimétrique ne permet pas de quantifier la teneur exacte en glycérol du matériau. En effet, la compétition du glycérol et de l'eau vis-à-vis des sites libres procurés par la protéine pour des liaisons hydrogène, ne permet pas de déterminer la contribution séparée de ces constituants, à partir de la perte de masse observée au cours de la montée en température dans la thermobalance. L'analyse par ATG permet néanmoins de donner une valeur du pourcentage de glycérol, proche de celle prévue, en se basant sur la température d'évaporation du complexe eau/glycérol.

III.4.2. Extraction du glycérol du caséinate plastifié

III.4.2.1 Analyse par Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS)

L'objectif principal de ce test est l'extraction du glycérol du matériau dans une phase liquide, suivie d'une analyse par chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS). L'analyse consiste à déterminer la quantité du glycérol extraite dans un solvant (la pyridine), à partir d'une courbe de calibration. Celle-ci est obtenue de l'analyse en CG-MS de cinq solutions étalons préparées par dilution à partir de deux solutions de concentration connue, l'une contient 1.35mg/ml en glycérol, l'autre comporte 1.73mg/ml du cyclohexanone. Le cyclohexanone est utilisé comme étalon interne pour quantifier le glycérol. Les cinq solutions étalons se différencient par leur concentration en glycérol (0.07, 0.13, 0.19, 0.25 et 0.30mg/ml) et en cyclohexanone (0.47, 0.44, 0.42, 0.39 et 0.38mg/ml). Toutes les solutions ont été réalisées dans la pyridine. Avant l'analyse par CG-MS les solutions ont été silylées : 20µl du réactif triméthylsilylation, (N-triméthylsilyltrifluoroacétamide) (MSTFA) a été ajouté à 1ml de solution dans un flacon de chromatographie avec septum. Cette étape a pour but de former des dérivés plus volatils en substituant l'atome de l'hydrogène dans les groupements hydroxyles (-OH) libres par un groupe triméthylsilyl.

Le chromatographe couplée au spectromètre de masse utilisé est de type HP G1800A séries GCD. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1mL/min. La colonne est une colonne capillaire en silice (30m x 0,25mm). L'injecteur et le détecteur sont chauffés à 220°C et 250°C, respectivement. Le volume injecté est de 1µl en utilisant un split ratio de 100. La température du four est initialement maintenue pendant 1min à 80°C, elle monte ensuite à 140°C avec une vitesse de 10°C/min puis le four est stabilisé à cette température pendant 2 min.

Les deux signaux du cyclohexanone et du glycérol sont parfaitement résolus sur les chromatogrammes obtenus, comme c'est présenté sur la figure III.20.

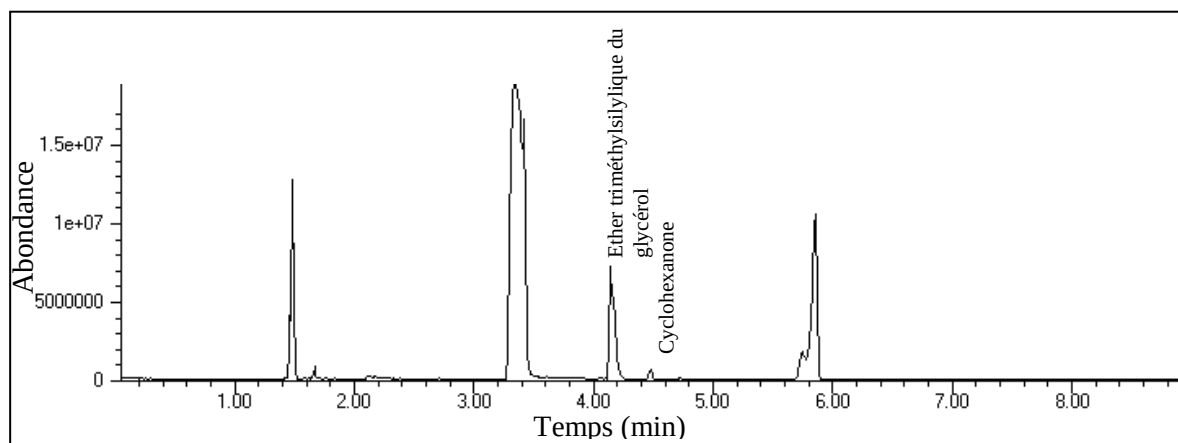


Figure III.20 : Chromatogramme de la solution étalon silylée.

Le rapport d'aire du glycérol et du cyclohexanone (S_{gly}/S_{cyclo}) en fonction du rapport de leurs concentrations (C_{gly}/C_{cyclo}) permet de tracer la courbe de calibration présentée sur la figure III.21.

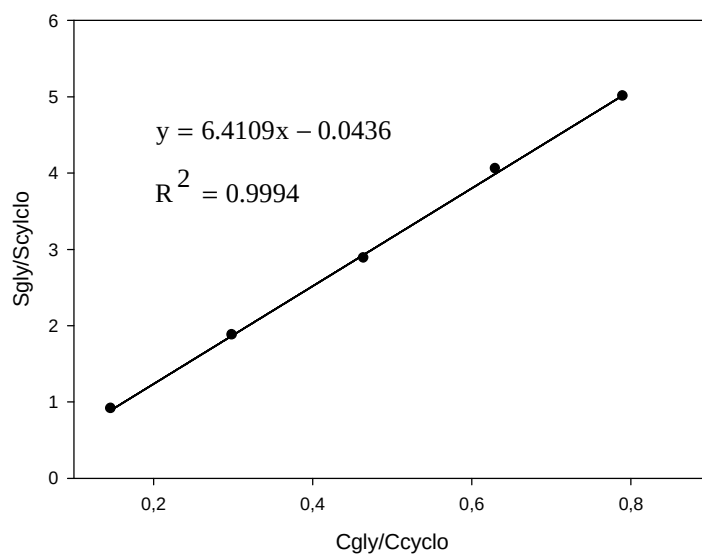


Figure III.21 : Courbe d'étalonnage interne du glycérol réalisée par chromatographie gaz couplée à la spectroscopie de masse (CG-MS).

La désorption du glycérol des granulés du caséinate de sodium (200mg) dans la pyridine (60ml) s'effectue à température ambiante, sous agitation pendant une dizaine de jours. Après ce temps, 4ml de solution sont filtrés à l'aide d'un filtre téflon 0.2 μ m puis ajoutés à 2ml de la solution du cyclohexanone à 1.73mg/ml. La silylation ainsi que l'analyse en CG-MS de cette

solution sont effectuées de la même manière que celles des solutions étalons. Le rapport des aires du glycérol et du cyclohexanone permet de déterminer la masse réelle du glycérol dans les granulés de caséinate de sodium à analyser, à partir de la courbe de calibration (figure III.21)

III.4.2.2 Résultats et discussion

Les résultats permettant le calcul de la quantité du glycérol (m_{gly}) extrait des granulés de caséinate de sodium sont représentés dans le tableau III.4. Les valeurs présentées sont obtenues en faisant la moyenne de trois mesures.

Tableau III.4 : Résultats obtenus à l'issue de l'analyse du glycérol.

A_{gly}/A_{cyclo}	C_{gly}/C_{cyclo}	C_{cyclo} (g/ml)	C_{gly} (g/ml)	m_{gly} (g)
23.9865	3.7483	0.0006	0.0023	0.0954

Ces données permettent de déterminer le pourcentage du glycérol contenu dans les extrudats à base de caséinate de sodium. Effectivement, le rapport entre la masse du glycérol extrait ($\sim 0.095g$) et la masse des granulés ($\sim 0.321g$) pris au départ correspond au pourcentage du glycérol contenu dans l'extrudat, qui est de 30%.

La valeur obtenue par cette méthode est proche de celle calculée lors de l'extrusion qui est de $\sim 33\%$. La fiabilité de la méthode, mise au point par un doctorant du laboratoire, a été testée sur un autre biomatériau (à base d'amidon plastifié). L'évaluation de la teneur en glycérol de ce matériau, correspond à celle introduite au cours de la plastification de l'amidon, à 2% près. Les différences observées entre les deux valeurs, celle calculée à partir de l'extraction du glycérol des extrudats de caséinate et celle calculée à partir du débit de la pompe ont plusieurs origines:

✓ Effet de l'humidité : la teneur en eau contenue dans le caséinate de sodium, qui rentre dans le calcul du pourcentage de glycérol, n'est la même dans la poudre et dans l'extrudat.

✓ Extraction incomplète : Ou bien la méthode utilisée pour la désorption du glycérol dans la pyridine ne permet pas de séparer toute la quantité du glycérol contenu dans les extrudats, ou bien la silylation des groupements hydroxyles était inachevée ou insuffisante.

III.4.3. Conclusion

Les résultats thermogravimétriques permettent de confirmer la stabilité thermique, déterminée auparavant par l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, de la caséine pour des températures allant jusqu'à 200°C. Ceci est une indication importante pour l'extrusion des mélanges de polymères à base de caséinate, dans une perspective d'améliorer les propriétés du produit fini. D'autre part, l'analyse par ATG, ne permet pas de quantifier la teneur en glycérol du matériau. En effet, l'interférence du glycérol et de l'eau vis-à-vis du squelette protéique ne permet pas de déterminer la contribution séparée de ces constituants, à partir de l'évaporation observée au cours de la montée en température dans la thermobalance. Cependant, la désorption du glycérol de la caséine plastifiée et extrudée, suivie de sa quantification au moyen d'une courbe de calibration réalisée par CG-MS, paraît être une méthode satisfaisante pour la vérification de la teneur réelle en glycérol après extrusion.

III.5. Etude des propriétés mécaniques

III.5.1. Essai de traction

Les tests de traction ont été réalisés dans un dynamomètre DY22 (Adamel Lhomargy) à une vitesse de tirage de 50mm/min. les tests ont été effectués sur des éprouvettes type haltère (figure III.22) de dimensions 20x4.5x2 mm découpées à l'emporte pièce à partir de bandes de caséinate. Ces dernières ont été obtenues par extrusion bi-vis des granulés thermoplastiques en utilisant une filière plate en "T" conçue au laboratoire (figure III.23) d'une largeur de 10mm et d'entrefer 2mm.

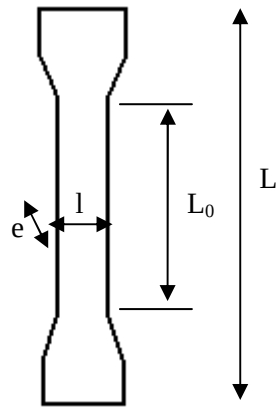


Figure III.22 : Epreuve haltère : $L=50\text{mm}$
 $L_0=20\text{mm}$, $l=4.5\text{mm}$, $e=2\text{mm}$.

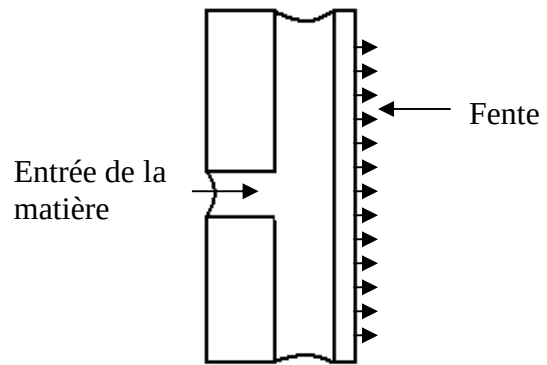


Figure III.23 : Coupe longitudinale de la filière plate utilisée pour réaliser des bandes.

Les données enregistrées, force F (daN) et l'allongement ΔL (mm) correspondant, permettent de calculer la contrainte et la déformation.

$$\sigma = \frac{F}{S_0} \quad \epsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad E = \frac{d\sigma}{d\epsilon} \quad \text{Equation III.6}$$

Avec	$\Delta L = L_t - L_0$	L'allongement de l'échantillon à un instant t
	F	La force de l'étirage correspondant à ΔL
	L_0	La longueur initiale de l'éprouvette
	S_0	La section initiale de l'éprouvette

Le module de Young (E), la contrainte (σ_r) et l'allongement à la rupture (A_r) sont déterminés à partir des courbes contrainte en fonction de la déformation (figure III.24).

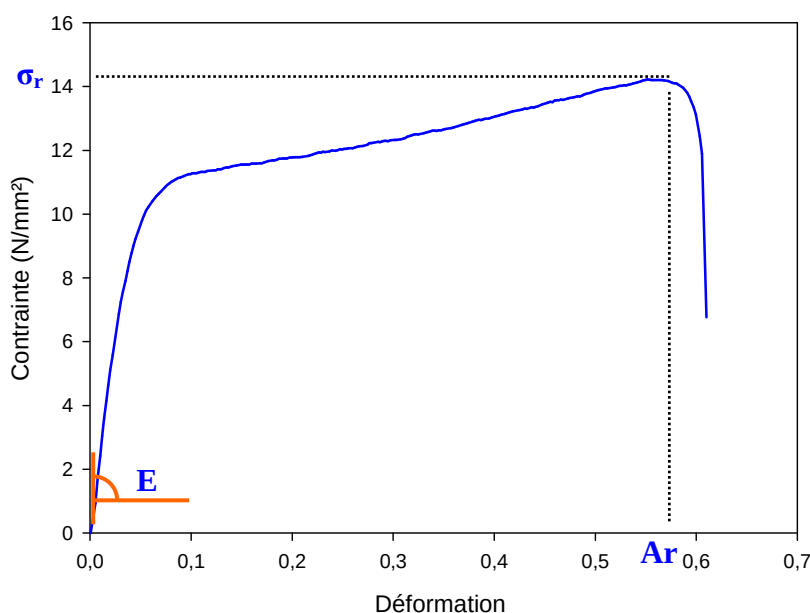


Figure III.24 : Courbe de traction réalisée sur des éprouvettes haltère de caséinate de sodium extrudé.

Afin de tester l'effet des conditions ambiantes sur la tenue mécanique du matériau, 10 éprouvettes de chaque échantillon, ont été conditionnées dans une enceinte climatique à différents taux d'humidité (40, 50, 60, 70, 80 et 90%) et à température constante (30°C) pendant 48h au moins et testées directement après conditionnement.

Pour être sûr que le temps de conditionnement des éprouvettes est suffisamment long et que le temps de mesure est suffisamment court par rapport à la reprise ou à la perte d'humidité dans les éprouvettes, quelques tests ont été effectués. Un premier test de reprise d'humidité sur des films fins (IV.1.3.2) a permis de mettre en évidence des temps d'équilibre d'environ 1 heure pour des films de 30 μ m d'épaisseur. Un deuxième test de reprise d'humidité sur des films à différentes épaisseurs a montré la relation directe entre le temps d'équilibre et l'épaisseur (figure III.25).

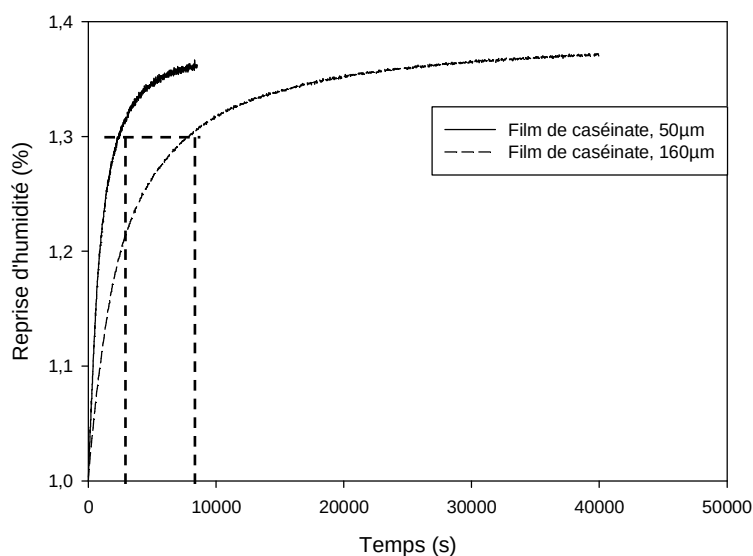


Figure III.25 : Reprise d'humidité de deux films de caséinate de sodium (50 et 160µm).

On observe que le temps nécessaire pour que le film de 50µm reprenne 30% de sa masse en eau est de 2500 secondes. Celui de 160µm nécessite 8000 secondes. Le rapport de ces temps est égal au rapport des épaisseurs. Cette relation nous a permis de fixer un minimum de 48 heures pour le conditionnement des éprouvettes de 2mm d'épaisseur. De plus, dans le cas de films fins, il conviendra de faire le test de traction en humidité contrôlée (paragraphe IV.1.3.2).

III.5.2. Résultats et discussion

La figure III.26 présente l'évolution du module d'Young et la contrainte et l'allongement à la rupture des éprouvettes de caséinate de sodium, à différentes teneurs en glycérol (17, 25 et 33%), en fonction du taux d'humidité ambiante. Les valeurs représentées sont obtenues en faisant la moyenne sur 10 mesures pour chaque échantillon.

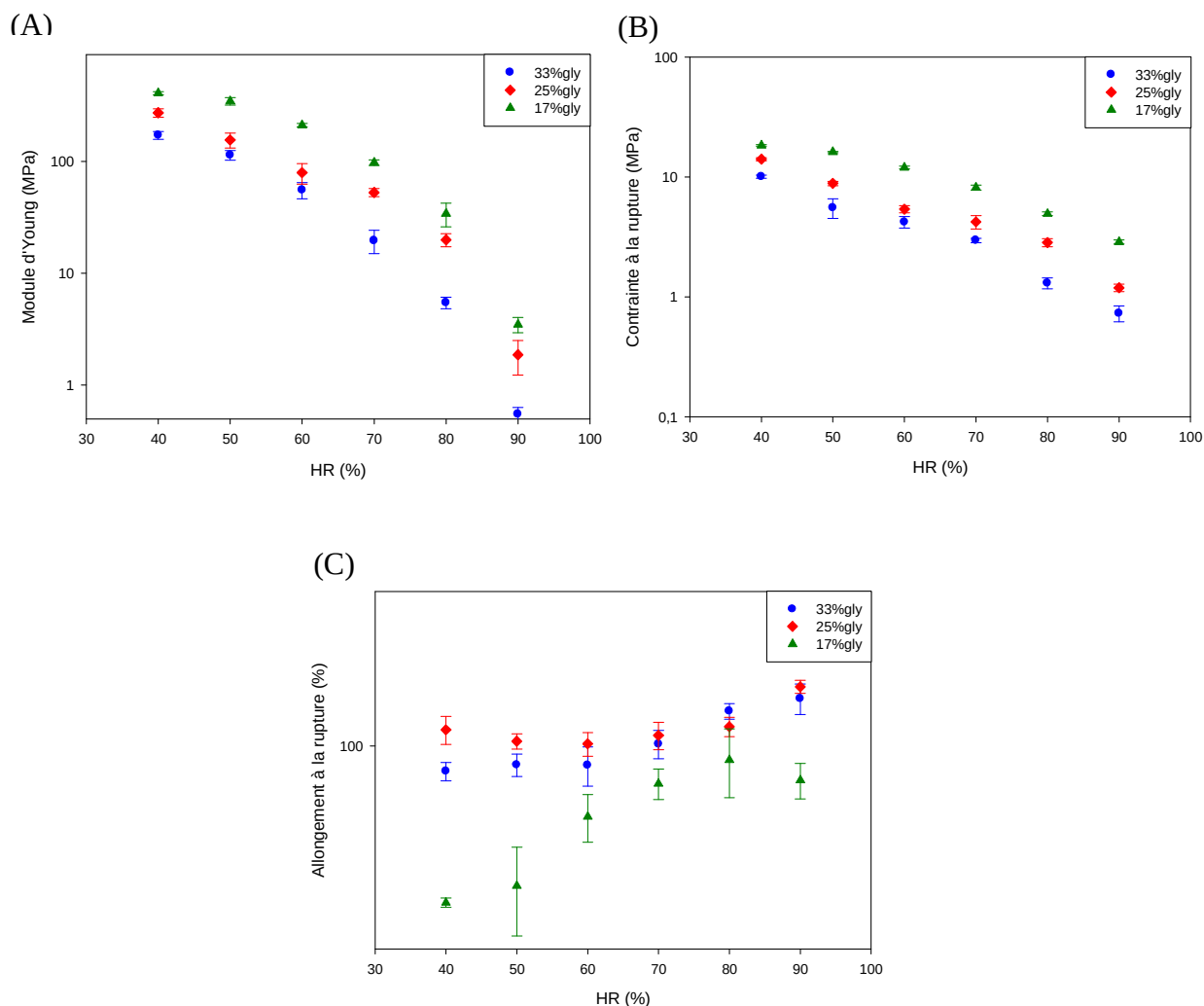


Figure III.26 : Evolution (A) du module de Young E , (B) de la contrainte à la rupture σ_r et (C) de l'allongement à la rupture des éprouvettes haltère du caséinate de sodium à différentes teneurs en glycérol (17, 25 et 33%) et en fonction du pourcentage d'humidité relative ambiante.

Comme le montre la figure III.26, l'augmentation de la concentration en glycérol dans le matériau baisse le module d'Young et la contrainte à la rupture alors qu'elle augmente l'allongement à la rupture. Le module élastique du matériau à 33% de glycérol (120MPa) est trois fois plus faible que celui du caséinate avec seulement 17% de glycérol (350MPa) pour des conditions ambiantes similaires (50%HR, 30°C). Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues dans la littérature, sur des films de caséinate de sodium réalisés par voie solvant et testés dans les mêmes conditions de mesures. Audic et Chaufer [118] ont obtenu un module d'Young de 25MPa pour une concentration en glycérol de 33%. Même remarque pour les valeurs de la contrainte et de l'allongement à la rupture. Cette différence est probablement due

à une reprise d'humidité pendant la mesure réalisée dans des conditions d'humidité et de température non contrôlées.

Au final, le glycérol agit comme un lubrifiant pour faciliter le mouvement du squelette protéique, augmentant par la suite le volume libre. D'autre part, l'ajout du glycérol permet de remplacer les interactions protéine-protéine rigides par des liaisons protéine-plastifiant flexibles. Ceci baisse la T_g du matériau au dessous de laquelle (matériau vitreux), la contrainte à la rupture et le module d'Young sont élevés et au dessus (matériau caoutchouteux) ces caractéristiques baissent. A l'encontre, la flexibilité des chaînes polypeptidique, due à la présence du plastifiant, augmente l'allongement du matériau. Cependant, à partir d'un seuil, le glycérol n'a plus d'influence sur ce paramètre. La figure III.27 schématise l'action du glycérol sur les chaînes protéiques.

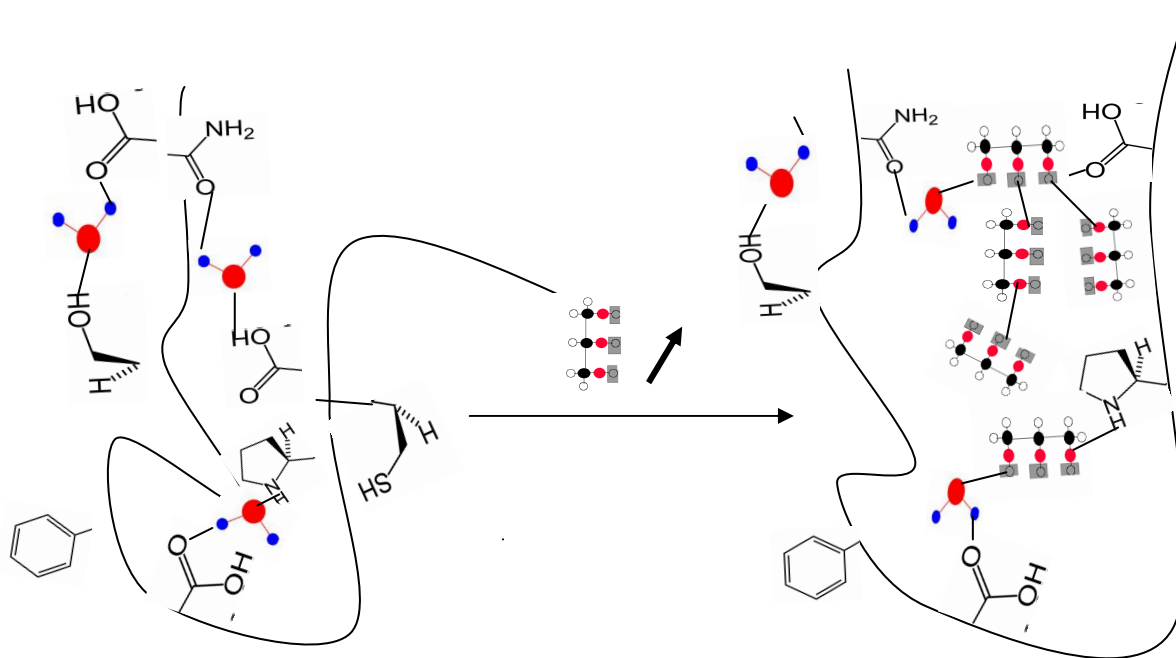


Figure III.27 : Schéma représentant l'effet d'une teneur élevée en glycérol sur la matrice protéique dans un matériau hydrophile.

En effet, selon Siew et al. [133], l'augmentation du glycérol a pour effet d'amplifier les interactions plastifiant-plastifiant qui influent sur l'homogénéité de la matrice protéique et altère sa cohésion. Ces auteurs ont démontré, qu'à partir d'une teneur de 575 mol du

complexe plastifiant-atome d'oxygène/mol de caséinate de sodium, l'élongation à la rupture commence à chuter, quel que soit le plastifiant testé (Glycérol ou polyéthylène glycol (PEG)).

Concernant l'effet de la teneur en eau, comme le montre la figure III.26, la tenue mécanique des éprouvettes de caséinate de sodium est fortement influencée par l'humidité relative ambiante. Quand le taux d'hydratation croît, le module d'élasticité et la contrainte à la rupture chutent progressivement alors que l'allongement à la rupture augmente. Le matériau passe d'un état vitreux à 40%HR ($E=270\text{MPa}$ et $\sigma_r=14\text{MPa}$) à un état caoutchouteux à 90%HR ($E=2\text{MPa}$, $\sigma_r=1\text{MPa}$). A 40% HR, la mobilité des chaînes polypeptidiques est limitée et le volume libre est faible. Dans ce cas, le matériau contenant uniquement 0.1g/gMS d'eau est rigide et sa température de transition vitreuse est élevée ($\sim 75^\circ\text{C}$). Celle-ci passe à -80°C à 90% HR. L'humidité ambiante n'a pas d'influence significative sur l'allongement du matériau contenant 25 ou 33% en glycérol alors qu'elle est flagrante sur le matériau à 17% glycérol. Ce dernier devient plus extensible à haut pourcentage en humidité, il passe de 40% (à 40%HR) à 80% (à 90%HR). L'effet synergique des deux plastifiants, le glycérol et l'eau augmente les interactions plastifiant-plastifiant et donc l'extensibilité du matériau jusqu'à 70% d'humidité. Au-delà de cette valeur, l'amplification de ces interactions n'a pas d'effet sur l'allongement du matériau.

III.5.3. Conclusion

Par ces analyses de traction, nous avons pu démontrer l'effet de la teneur en plastifiant sur les propriétés mécaniques du matériau. L'augmentation de l'espace libre au sein du réseau protéique due à la substitution des interactions protéine-protéine par des liaisons plastifiant-protéine, croît la mobilité des chaînes polypeptidiques en les rendant plus flexibles. L'effet synergique du glycérol et de l'eau accentue cet effet. Un pourcentage en glycérol fixé aux alentours des 25% et un conditionnement dans des conditions ambiantes optimales (50 ou 60%HR, 30°C) permettent d'obtenir un compromis entre module de Young et allongement à la rupture.

Conclusion

L'ensemble des caractérisations physico-chimiques du caséinate de sodium extrudé met en évidence les points suivants :

➤ La mesure expérimentale de la température de transition vitreuse (T_g) du caséinate, protéine hydrophile, est difficile à cause de sa dépendance avec les conditions d'humidité et de température ambiantes. L'analyse de ce paramètre est entravée par l'évaporation de l'eau au cours du test. Cependant, il est possible de l'encadrer, théoriquement, en fonction de la teneur du matériau en glycérol et du taux d'humidité ambiante. Ainsi, un extrudat de caséinate de sodium plastifié avec 20% de glycérol et en équilibre avec un environnement contenant 60% d'humidité relative, a une T_g de $\sim 50^\circ\text{C}$. Cette information est indispensable à la détermination des conditions de mise en forme ultérieure de l'extrudat.

➤ Le caséinate est stable à des températures allant jusqu'à 150°C . Néanmoins, son compoundage à des températures aussi élevées nécessite le contrôle de l'évaporation du glycérol et de l'eau, indispensables à sa transformation par extrusion. La thermostabilité de cette protéine permet d'envisager de la mélanger à d'autres biopolymères dans une perspective d'améliorer les propriétés désirées du produit fini. La température de fusion du biopolymère constituera donc notre critère de choix, température à laquelle le caséinate est stable.

➤ La vérification de la teneur en glycérol de l'extrudat par analyse thermogravimétrique, paraît difficile. Les différentes interactions établies entre la protéine, le glycérol et l'eau, ne permettent pas de déterminer la contribution de chaque composé en référence à sa température d'évaporation ou de dégradation. Néanmoins, il est possible d'évaluer la quantité du glycérol dans la protéine extrudée par désorption du glycérol du matériau, qui paraît une méthode fiable.

➤ L'influence de l'environnement ambiant (humidité et température) sur la qualité de la protéine pourrait être à la fois un inconvénient et un avantage à son utilisation. Un inconvénient si le stockage et le conditionnement du matériau ne sont pas contrôlés. Le matériau devient mou et sa tenue mécanique faible à 80%HR ou bien très rigide avec un

allongement à la rupture faible et un module d'Young élevé à 40%HR. Cependant l'augmentation de teneur en eau dans le matériau est indispensable à sa mise en forme ultérieure en un produit fini.

Chapitre IV

Mise au point d'un film fin pour emballage

Sommaire

Introduction	136
IV.1. Extrusion gonflage des films de caséinate de sodium	137
IV.1.1. Propriétés rhéologiques des granulés de caséinate de sodium.....	137
IV.1.1.1. Rhéométrie capillaire	137
IV.1.1.2. Résultats et discussion	139
IV.1.1.3. Conclusion	141
IV.1.2. Mise en œuvre des films	141
IV.1.2.1. Principe et équipement.....	141
IV.1.2.2. Conditions expérimentales.....	143
IV.1.2.3. Défauts de surfaces de certains films.....	144
IV.1.3. Propriétés physico-chimiques des films de caséinate de sodium.....	147
IV.1.3.1. Hydrosolubilité.....	147
IV.1.3.2. Essai de traction	148
IV.1.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau	151
IV.1.3.3.1. Méthode gravimétrique	151
IV.1.3.3.2. Résultats et discussion	153
IV.2. Les films de caséinates de sodium, de potassium et de calcium. 154	
IV.2.1. Mise en œuvre	154
IV.2.2. Propriétés mécaniques.....	155
IV.2.3. Mélange des caséinates de sodium et de calcium	157
IV.2.3.1. Propriétés mécaniques.....	158
IV.2.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau	160
IV.2.3.3. Propriétés de la mouillabilité de surface	161
IV.2.3.3.1. Description de l'expérience	161
IV.2.3.3.2. Résultats et Discussion.....	164
IV.2.3.4. Conclusion	166
IV.3. Mélange de caséinate de sodium avec un polyester biodégradable.....167	
IV.3.1. Mise en œuvre	169
IV.3.2. Propriétés des films composites.....	170
IV.3.2.1. Propriétés mécaniques.....	170
IV.3.2.2. Morphologie	172
IV.3.2.3. Perméabilité à la vapeur d'eau	175
IV.3.2.4. Mouillabilité de surface	176
IV.3.3. Conclusion	180
Conclusion.....	182

Chapitre IV

Mise au point d'un film fin pour emballage

Introduction

De par sa structure moléculaire ouverte (en pelote statistique), sa nature biosourcée, sa biodégradabilité, son hydrosolubilité et sa comestibilité, le caséinate de sodium combine filmabilité et avantages environnementaux. Ces attributs font de ce biopolymère un bon candidat pour la conception de nouveaux types d'emballage. La réalisation de films à partir du caséinate permettrait donc d'étendre les champs d'application du matériau, sans oublier sa contribution à la substitution des films synthétiques, au moins en ce qui concerne les applications hydrosolubles.

L'extrusion gonflage (soufflage de gaine) est le procédé de transformation prédominant pour la fabrication des films de grande largeur. La répartition des marchés du film, fabriqué par extrusion gonflage, en Europe est illustrée dans la figure IV.1. Environ, 60% des films sont produits par ce procédé [181].

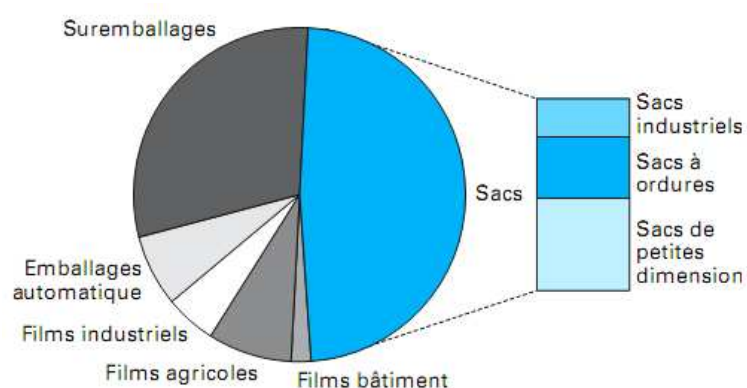


Figure IV.1 : Les principales applications des films issus de l'extrusion gonflage [181].

Le premier objectif de ce chapitre est de démontrer la faisabilité de films fins par procédé d'extrusion gonflage à partir de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium. Les films obtenus seront ensuite caractérisés pour évaluer leur tenue mécanique ainsi que leurs propriétés barrières à l'humidité. Ces expertises nous seront utiles pour des investigations en vue d'améliorer les propriétés du produit fini. Ceci constituera l'objectif de la deuxième partie de ce chapitre, qui s'articule autour de l'étude du mélange du caséinate de sodium avec un biopolymère biodégradable. Cette étude a pour but de développer un nouveau matériau doté d'une synergie des propriétés des deux polymères constitutifs.

IV.1. Extrusion gonflage des films de caséinate de sodium

La mise en forme des granulés thermoplastiques du caséinate de sodium, par procédé d'extrusion gonflage requiert la connaissance du comportement rhéologique du matériau. La sensibilité du caséinate de sodium à l'eau, qui joue à la fois le rôle de plastifiant et de lubrifiant, rend compte de la nécessité de comprendre l'effet primordial de ce paramètre sur la viscosité.

IV.1.1. Propriétés rhéologiques des granulés de caséinate de sodium

IV.1.1.1. Rhéométrie capillaire

La rhéométrie capillaire est une technique de mesure en continu permettant de donner accès aux courbes d'écoulement dans un large domaine de taux de cisaillement. Ces mesures sont directement corrélées aux phénomènes observés lors de la mise en œuvre.

Les courbes d'écoulement du caséinate de sodium ont été réalisées en utilisant un rhéomètre capillaire de type INSTRON 3211. Le matériau est extrudé grâce à un piston se déplaçant à vitesse constante imposée (figure IV.2).

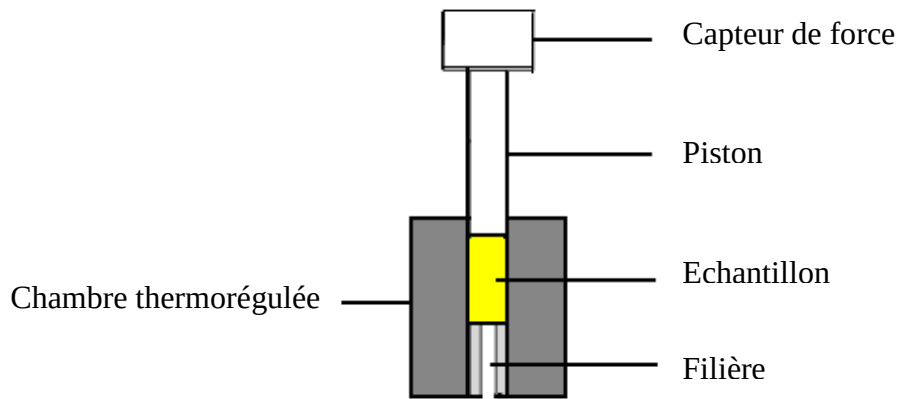


Figure IV.2 : Schéma du dispositif du rhéomètre capillaire utilisé.

La pression d'extrusion est déterminée par un capteur mesurant la force transmise au piston. La filière utilisée, de forme cylindrique, est caractérisée par sa longueur L et son diamètre D . Les caractéristiques techniques du rhéomètre utilisé sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : Détails techniques du rhéomètre capillaire INSTRON 3211.

Réservoir	Longueur, L_B (mm)	250
	Rayon, R_B (mm)	4.625
Filière	Longueur, L_c (mm)	50
	Rayon, R_c (mm)	1
Piston	Vitesse, V (cm/min)	0.06, 0.2, 0.6, 2, 6, 20

Les mesures de vitesse du piston permettent le calcul d'un taux de cisaillement apparent, en admettant une condition d'adhésion parfaite, selon la formule suivante :

$$\dot{\gamma}_{app} = \frac{4Q}{\pi R_c^3} \quad \text{Equation IV.1}$$

Avec $Q = \pi V R_B^2$ Débit d'extrusion

A partir des mesures de force correspondantes à chaque vitesse du piston, une contrainte apparente est estimée :

$$\tau_{app} = \frac{P_0 R_C}{2L_C} \quad \text{Equation IV.2}$$

Avec $P_0 = \frac{F}{\pi R_B^2}$ Pression calculée à partir de la force F mesurée sur le piston en négligeant la perte de charge dans le réservoir.

Cependant, l'expression du gradient de cisaillement (équation IV.1) est réalisée pour des liquides newtoniens, de viscosité constante, ce qui n'est pas le cas de la grande majorité des polymères. La correction de Rabinovitch permet de corriger le gradient de vitesse apparent qui, dans le cas d'un capillaire cylindrique, s'exprime de la façon suivante :

$$\dot{\gamma} = \frac{3n+1}{4n} \dot{\gamma}_{app} \quad \text{Equation IV.3}$$

$$n = \frac{\partial \log \tau_{app}}{\partial \log \dot{\gamma}_{app}} \quad \text{Equation IV.4}$$

IV.1.1.2. Résultats et discussion

Les courbes d'écoulement des granulés du caséinate de sodium en fonction du taux d'humidité environnante sont représentées sur la figure IV.3. Les granulés contenant 20% de glycérol ont été équilibrés à 60 et 80% d'Humidité Relative (HR) et à température constante (30°C) pendant au moins 48h dans une enceinte climatique, avant d'être analysés. Les mesures sont alors effectuées à 80°C.

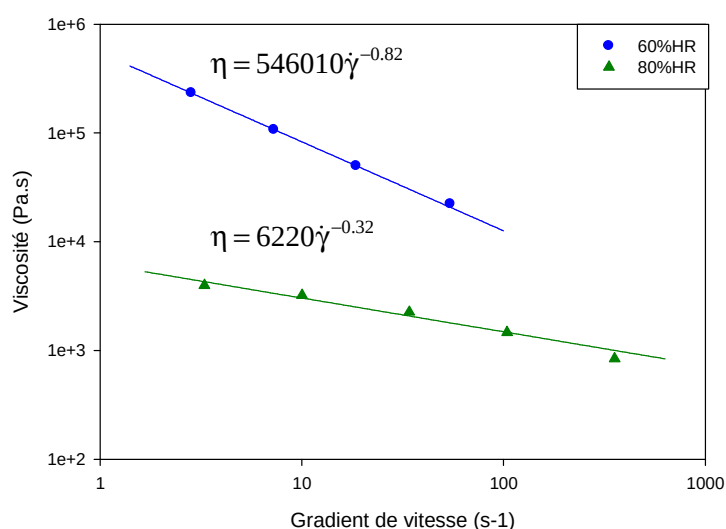


Figure IV.3 : Courbes d'écoulement du caséinate de sodium, plastifié à 20%.

Les courbes de viscosité montrent une allure caractéristique des polymères à l'état fondu, qui correspond à un comportement pseudoplastique en cisaillement ; la viscosité du polymère est d'autant plus faible que le gradient de vitesse appliqué est grand. D'autre part, comme le montre la figure IV.3, la viscosité du matériau change avec le taux d'humidité environnante et la loi de comportement change aussi. L'effet plastifiant de l'eau est confirmé. La viscosité aux bas gradients de cisaillement est près de 50 fois inférieure pour les granulés conditionnés à 80%HR par rapport à ceux conditionnés à 60%HR. Par contre, à ces forts pourcentages en humidité, la rhéofluidification est beaucoup plus faible. Par conséquent, les différences de viscosité aux hauts gradients sont beaucoup plus faibles.

Pour un taux d'humidité de 60%, uniquement 4 points ont été enregistrés, pour des vitesses faibles du piston (0.06, 0.2, 0.6 et 2 cm/min). Pour des taux de cisaillement élevés, au delà de 2cm/min, la force enregistrée augmente rapidement et atteint la force limite du capteur, qui correspond à 2000kg. Par contre, conditionné à 80% d'humidité, le caséinate s'écoule parfaitement et sa viscosité apparente diminue avec l'augmentation du gradient de cisaillement.

Comme nous avons pu montrer précédemment avec les isothermes d'adsorption de l'eau (chapitre III), le caséinate de sodium plastifié par le glycérol absorbe deux fois plus d'eau à 80%HR qu'à 60%HR. L'excédent d'eau absorbée par le matériau à 80%HR lui permet d'assurer son rôle en tant que plastifiant ce qui baisse davantage la Tg de la protéine et permet son écoulement à la température appliquée au rhéomètre (80°C). Ceci n'est pas le cas des échantillons équilibrés à un pourcentage d'humidité de 60%, pour lequel l'eau absorbée par le caséinate peut être considérée comme moyennement liée et donc moins disponible en tant que plastifiant.

Cette mesure s'est avérée difficile dans une large gamme d'humidité relative. En effet, pour des taux d'hydratation inférieurs à 60%HR, l'écoulement dans le capillaire n'a pas pu être obtenu expérimentalement. Dans cet intervalle d'humidité, la mesure était entravée par l'auto-échauffement du matériau, induisant de ce fait une évaporation excessive suivie d'un colmatage de la filière.

IV.1.1.3. Conclusion

Le contrôle de la teneur en eau du matériau à base du caséinate est important pour sa mise en forme ultérieure. Un conditionnement préalable des granulés à des conditions d'humidité et de température optimales (entre 60 et 80%HR à 30°C) permet leur transformation en produit fini. En effet, des conditions sèches abaissent la teneur en eau du matériau et donc entraînent une augmentation de sa transition vitreuse. Dans ces conditions, le matériau est très visqueux et sa mise en forme est difficile. A l'inverse, à des taux d'humidités élevés, la teneur élevée en eau entraîne une baisse de la T_g , et augmente la lubrification de la matrice induisant, de ce fait, un abaissement de la viscosité du matériau qui devient très fluide. Néanmoins, la qualité du produit fini ne dépend pas uniquement de l'humidité mais aussi de la température de sa mise en forme. Celle-ci se manifeste par l'instabilité de l'écoulement, la perte de la transparence et l'apparition de déformations de surface ou bien par l'apparition de bulles d'eau et expansion du produit, selon que la matière est visqueuse ou fluide.

IV.1.2. Mise en œuvre des films

IV.1.2.1. Principe et équipement

L'extrusion gonflage est un processus où le polymère fondu s'écoule par une filière annulaire tête d'équerre. La gaine ainsi formée est gonflée au moyen d'une surpression d'air et étirée à l'aide de rouleaux d'entraînement. Un schéma du principe du procédé d'extrusion gonflage est illustré dans la figure IV.4.

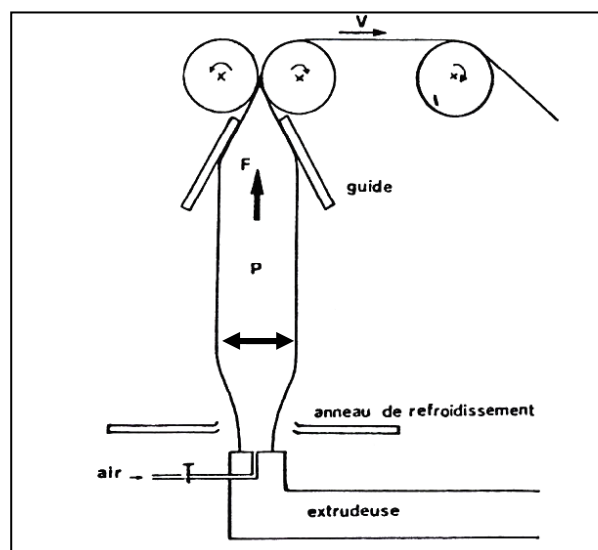


Figure IV.4 : Schéma du procédé de l'extrusion gonflage [182].

L'air est soufflé à l'intérieur de la gaine grâce à une ouverture située au centre de la filière. L'épaisseur est déterminée par le taux de gonflement et la vitesse de l'étirage. La gaine à l'état fondu est soumise à un étirage bi-axial. Elle est étirée longitudinalement par la force de tirage, exercée par les rouleaux d'entraînement et transversalement par la surpression de gonflage. Le refroidissement s'effectue généralement par soufflage d'air au niveau d'un anneau extérieur, situé juste au-dessus de la filière. Une fois la gaine refroidie, sa forme n'évolue plus, elle est entraînée, repliée sur elle-même et bobinée.

La fabrication des films de caséinate a été réalisée au moyen d'une extrudeuse de soufflage de gaine de type Diani (Italie) (figure IV.5).



Figure IV.5 : Extrudeuse de soufflage de gaine de type Diani.

La partie extrudeuse est équipée d'une vis de diamètre 20mm ayant un rapport L/D (Longueur/Diamètre) de 25 et un taux de compression de 2.5. L'extrudeuse est constituée de trois zones chauffantes suivies d'un porte-filtre. La matière fondue est ensuite entraînée dans une filière annulaire (diamètre 40mm) munie de trois canaux spiralés. Le refroidissement des différentes zones de la machine s'effectue par un système de ventilation par air pulsé.

Les filières à canaux spiralés (figure IV.6) sont aujourd'hui les plus utilisées et les plus performantes pour le soufflage des matières plastiques synthétiques.

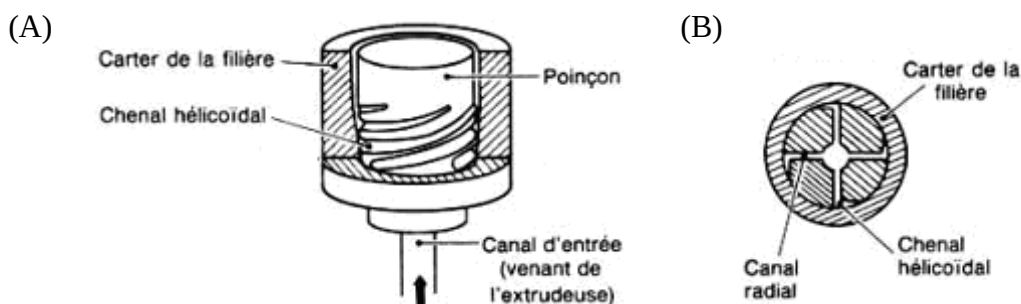


Figure IV.6 : (A) vue générale et (B) coupe transversale d'une filière annulaire verticale, à canaux spirales [182].

Le polymère fondu arrivant par un canal central, est réparti par l'intermédiaire de canaux radiaux dans un chenal hélicoïdal, puis autour du poinçon. Ces filières sont conçues de manière à favoriser un écoulement hélicoïdal permettant d'assurer un profil de vitesse et de température uniforme. En effet, l'entrefer, entre le poinçon et la filière, est conçu de façon à augmenter progressivement pour favoriser graduellement l'écoulement longitudinal. Ainsi, ce type de filière permet d'obtenir des débits importants et une bonne distribution du polymère sur toute la périphérie de la filière, sans ligne de soudure et avec une uniformité du champ de vitesse en sortie de filière [181].

IV.1.2.2. Conditions expérimentales

L'extrusion gonflage du caséinate de sodium, à partir des granulés thermoplastiques, est réalisée à une température de 80°C appliquée à toutes les zones de l'extrudeuse et de la filière. La vitesse de la vis est fixée à 45 rotations par minute (rpm). Celle du groupe de tirage supérieur et de l'enrouleur est réglée en fonction de l'épaisseur désirée.

Le bobinage automatique de la gaine de caséinate de sodium sur cette installation n'est pas possible. En effet, la hauteur entre la filière et les premiers rouleaux d'appel de la machine (1m) n'étant pas suffisante pour assurer le refroidissement complet et permettre son équilibre avec l'humidité ambiante, les deux faces de la gaine collent sur elles-mêmes : elles est donc récupérée manuellement au fur et à mesure par tronçons de 3 mètres de longueur puis étendue pour assurer un équilibrage en humidité relative ambiante.

Les formulations avec une teneur élevée en glycérol (33 et 25%) sont fluides et donc les films obtenus sont fins ($\sim 30\mu\text{m}$) et la largeur de la bulle est d'environ 40cm. A l'inverse, avec une faible teneur en glycérol (17%) l'écoulement est visqueux et l'épaisseur du film est plus

élevée ($\sim 100\mu\text{m}$) et la gaine est deux fois moins large. Donc les épaisseurs peuvent varier entre 30 et $100\mu\text{m}$ selon les conditions de transformation. La largeur peut aller jusqu'à 40cm.

IV.1.2.3. Défauts de surfaces de certains films

Dans le cas de certaines formulations visqueuses du caséinate de sodium, la fabrication d'un film homogène, de bel aspect de surface et en continu s'est avérée difficile. Des irrégularités de l'écoulement en sortie de filière ont été observées à cause de l'apparition, dans le film, de morceaux brunâtres de matière surchauffée (figure IV.7) qui conduisent à des déchirures dans le film et empêchent l'extrusion.

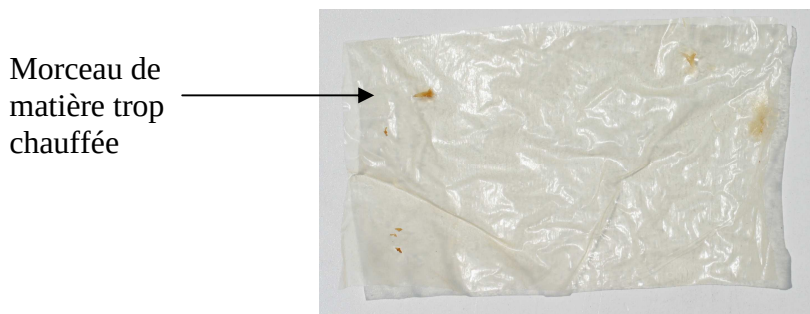


Figure IV.7 : Film de caséinate de sodium plastifié au glycérol présentant des défauts de surface.

Ces défauts de surface proviennent probablement de zones de stagnation dans lesquelles la matière reste trop longtemps en contact avec une paroi chaude (coude juste avant la filière et canaux spiralés). En effet, l'écoulement hélicoïdal augmente le temps de contact caséinate-acier.

Des ajustements ont été effectués pour empêcher l'apparition de ces défauts :

- Variation de la température de la filière.
- Ajout de filtres (tamis inox) au maillage fin (environ $20\mu\text{m}$) au niveau du porte filtre afin d'empêcher le passage de ces parties caramélisées.

Ces réglages n'ayant pas apporté de solutions efficaces, la filière spiralée ainsi que les zones de transport ont été supprimées puis remplacées par une simple filière annulaire à torpille (diamètre 40mm) bridée au plus près de l'extrudeuse (figure IV.8).

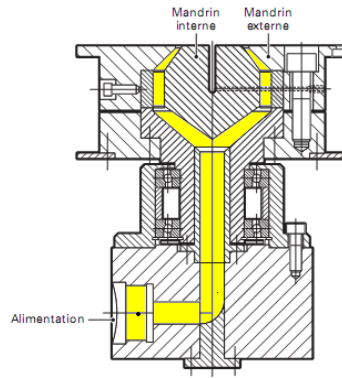


Figure IV.8 : Coupe longitudinale d'une filière annulaire verticale à torpille [181].

Ces filières sont aussi nommées filières par alimentation centrale ou à ailettes. En sortie de l'extrudeuse, la matière fondue est alimentée au centre du mandrin externe et s'écoule le long du mandrin interne. Le mandrin est relié au corps de la filière par l'intermédiaire des ailettes. Ces dernières ont pour effet de perturber localement l'écoulement créant des lignes de soudure [181].

La filière a été mise en place directement en sortie de vis, ce qui a permis d'éliminer les zones mortes représentées par la zone en coude avant la filière et les canaux spiralés de la filière. La figure IV.9 illustre l'installation avant et après remplacement de la filière à canaux spiralés par la filière à torpille.

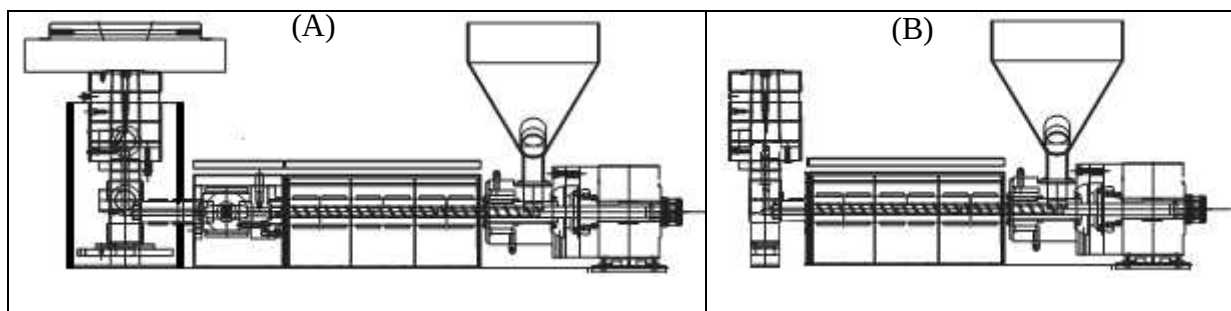


Figure IV.9: Extrudeuse utilisée pour la fabrication de films de caséinate (A) avec la filière à canaux spiralés et (B) après son remplacement par une filière à torpille.

Contrairement à la géométrie de la filière à canaux spiralés, celle à torpille semble être plus adaptée aux caséinates. En effet, le temps de contact ainsi que la surface d'échange

matériau/filière étant réduits, cela a permis d'éliminer les défauts observés et d'obtenir un film homogène, transparent et d'un aspect de surface lisse.

Malgré ces optimisations au niveau de la mise en œuvre des films fins, la réalisation d'un film de bonne qualité à partir du lot de caséinate de sodium dit "économique" n'a pas été possible. Ces films sont hétérogènes et ont un aspect de surface rugueux dû à la présence de "microgels" (figure IV.10). Les granulés, en sortie de bi-vis, qui semblaient pourtant transparents, homogènes et sans défauts superficiels révèlent en fait déjà la présence d'hétérogénéités.



Figure IV.10 : Film obtenu à partir du lot économique de caséinate de sodium (Points blancs correspondent aux microgels).

Un deuxième passage en extrusion, n'a pas permis d'éliminer les microgels observés. Néanmoins, l'augmentation du débit d'eau dans la deuxième zone de la bi-vis accompagnée d'un abaissement de la température des quatre premières zones du fourreau permet de diminuer la quantité de ces microgels. L'excès d'eau est ensuite éliminé par évaporation au niveau de la zone du dégazage qui est portée à 120°C au lieu de 100°C. Il apparaît que la nature de la matière brute prise au départ est à l'origine de ces défauts de surface. En effet, le lot testé est issu de la neutralisation de la caséine acide par du citrate de sodium, au lieu du chlorure de sodium. Ainsi, par rapport au lot habituellement utilisé, ce lot économique se différencie par un faible pourcentage de protéine et de sodium et par la présence de citrate. Comme c'est le cas des micelles de caséine, observées dans le lait, le citrate par son rôle de liant permet la liaison entre les différentes unités de caséine, les rendent insolubles et donnent naissance aux microgels observés.

IV.1.3. Propriétés physico-chimiques des films de caséinate de sodium

IV.1.3.1. Hydrosolubilité

Forte teneur en groupements phosphates, basse concentration en acides aminés soufrés, présence de résidus glucidiques dans la caséine κ et neutralisation des charges négatives, telles sont les caractéristiques des caséinates qui leur procure la propriété d'être hydrosolubles.

Pour bien mettre en évidence le caractère hydrophile du caséinate de sodium transformé, l'hydrosolubilité des films a été testée par une méthode simple, au moyen du dispositif présenté dans la figure IV.11.

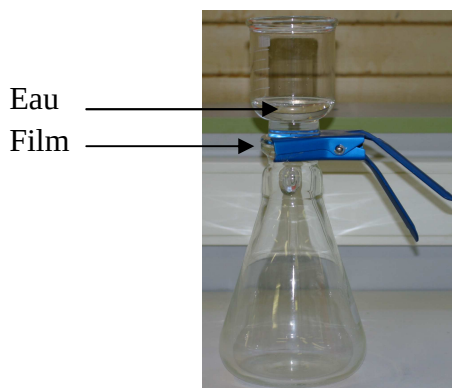


Figure IV.11 : Dispositif permettant d'évaluer le caractère hydrophile des films de caséinates.

Le dispositif est composé d'un erlenmeyer de 1000ml, muni d'un rodage plat et surmonté d'un réservoir d'eau de 300ml également à rodage plat. La surface au contact avec l'eau est de 12.5cm². Cette méthode consiste à déterminer le temps nécessaire à l'eau pour solubiliser le film, pris en sandwich entre les deux verreries tenues par une pince.

Les résultats de ce test montrent qu'un film de caséinate de sodium, en contact avec 20ml d'eau et d'une épaisseur de $\sim 30\mu\text{m}$ résiste pendant environ 40s avant de se solubiliser et de laisser passer l'eau. Le test est réalisé dans les conditions ambiantes.

On verra par la suite (paragraphe IV.3) que ce temps peut passer de quelques secondes à plusieurs heures selon les formulations.

IV.1.3.2. Essai de traction

L'effet de l'humidité sur la tenue mécanique du matériau à base de caséinate de sodium, explicité dans le troisième chapitre, rend compte de l'importance de contrôler l'humidité ambiante au cours des analyses, plus particulièrement dans le cas des films fins. Ayant une surface d'échange très grande, pour une épaisseur très faible, les sortir de l'enceinte climatique, pour les caractériser, corrompt l'équilibre atteint avec les conditions imposées dans la chambre climatique.

L'idéal est de pouvoir disposer d'une mesure de traction en humidité contrôlée. Cet appareil a donc été conçu au laboratoire en adaptant un rétractomètre (PRODEMAT, France) (figure IV.12). Celui-ci, est habituellement utilisé pour mesurer les taux de tirage des films rétractables.

L'appareil est peu encombrant, avec un capteur de force très sensible et permet un déplacement contrôlé avec trois vitesses (10, 30 et 90mm/min). Il est donc possible de le conditionner dans une enceinte climatique pour la réalisation des essais mécaniques dans des conditions contrôlées. Dans un premier temps, des mors pour films fins ont été usinés puis leur fiabilité a été testée (figure IV.13). Ensuite, une enceinte climatique a été conçue en reconditionnant une étuve avec un nébuliseur et un système de régulation de température et du taux d'humidité.



Figure IV.12 : Rétractomètre utilisé pour réaliser les essais mécaniques sur les films fins.

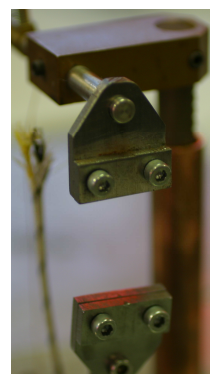


Figure IV.13 : Mors usinés au laboratoire pour réaliser des essais de traction sur les films fins.

La figure IV.14 illustre l'appareil, conçu et développé au laboratoire, permettant de réaliser des essais de traction à humidité contrôlée.



Figure IV.14 : Appareil de traction à humidité et température contrôlées.

Le temps de conditionnement des films de caséinate de sodium requis pour atteindre l'équilibre en fonction du taux d'humidité externe a été estimé en moyen de la thermobalance à humidité contrôlée. L'allure de la courbe obtenue à différentes humidités relatives (22, 50, 65 et 75%) est représentée dans la figure IV.15. Celle-ci permet de déduire que quelque soient les conditions ambiantes, un film fin ($30\mu\text{m}$) de caséinate de sodium requiert un peu plus d'une heure pour s'équilibrer excepté dans des marges d'humidité extrême (inférieur à 22%HR et supérieur à 75%HR).

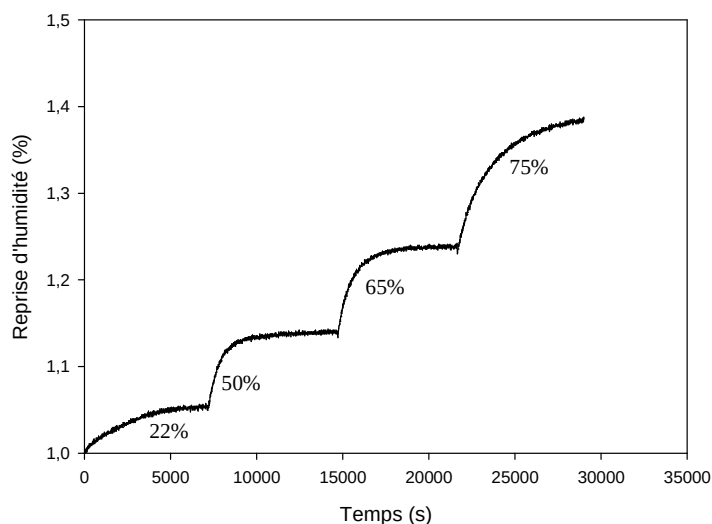


Figure IV.15 : Courbe représentative de la reprise d'humidité d'un film fin de caséinate de sodium.

La vitesse choisie pour la traction des éprouvettes haltère, découpées avec un emporte pièce à partir de films de caséinate de sodium, est de 10mm/min. L'appareil est relié à un ordinateur via un module d'acquisition de données.

Notons que toutes les mesures mécaniques qui suivent, dans ce chapitre, ont été effectuées au moyen de cet appareil, dans les mêmes conditions d'humidité relative (60%), de température (30°C) et de vitesse du tirage 10mm/min).

- **Test sur le film de caséinate de sodium**

La précision de l'appareil a été testée sur un film de caséinate de sodium contenant 20% de glycérol. Le film, accroché aux mors du capteur de force, après avoir été conditionné pendant une heure à 60%HR et 30°C, est tiré. Les valeurs déterminées à partir de la courbe, contrainte en fonction de la déformation du film exposée sur la figure IV.16, représentent la moyenne des mesures effectuées sur cinq éprouvettes haltère:

- Module d'Young (E) : 103 ± 5 MPa
- Contrainte à la rupture (σ_r) : 5.0 ± 0.3 Mpa
- Allongement à la rupture (Ar) : $110 \pm 10\%$

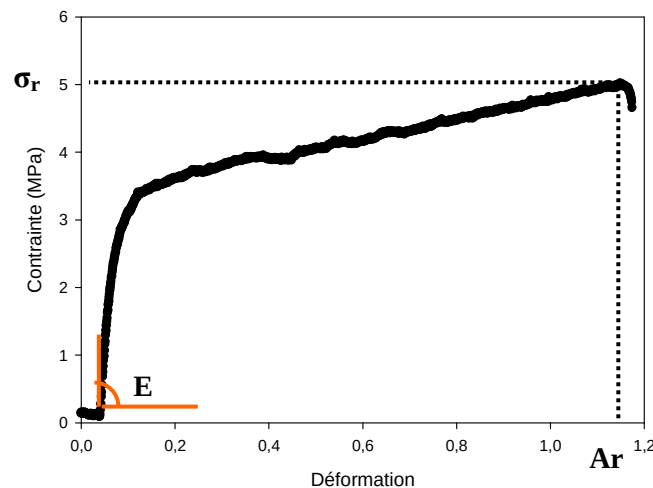


Figure IV.16 : Courbe de traction réalisée sur des films fins de caséinate de sodium, à 20% de glycérol, à 60%HR et 30°C.

Les propriétés mécaniques des films fins sont similaires à celles obtenues avec des éprouvettes beaucoup plus épaisses issues des granulés de caséinate (paragraphe III.5 du

chapitre III), testées dans les mêmes conditions. Les valeurs de la tenue mécanique des films fins avec 20% de glycérol sont en adéquation avec celles obtenues pour une teneur en glycérol de 17 et de 25% comme le montre la figure ci-dessous.

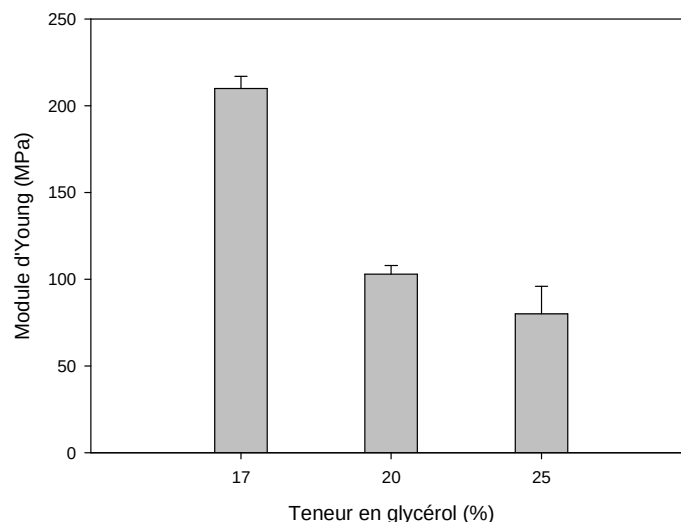


Figure IV.17 : Module d'Young du film fin à 20% de glycérol en comparaison avec celui des éprouvettes à 17 et 25% de glycérol.

IV.1.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau

Le caractère hydrophile des caséinates les rend très perméables aux gaz polaires (vapeur d'eau) mais leur donne de très bonnes barrières aux gaz apolaires (O_2 , CO_2 et N_2). L'estimation de la perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films soufflés à base de caséinate de sodium, à différentes teneurs en glycérol (20, 25 et 33%), a été déterminée par méthode gravimétrique.

IV.1.3.3.1. Méthode gravimétrique

La perméabilité à la vapeur d'eau a été mesurée en utilisant une méthode gravimétrique ASTM E96-80 (1980). Le principe de la méthode repose sur la création d'un gradient d'humidité relative de part et d'autre du film. Ceci conduit au transfert de la vapeur à travers l'échantillon à analyser. Cette méthode consiste à suivre l'évolution de la masse d'une cellule de perméation (figure IV.18) au cours du temps sous des conditions de température et d'humidité relative fixes.

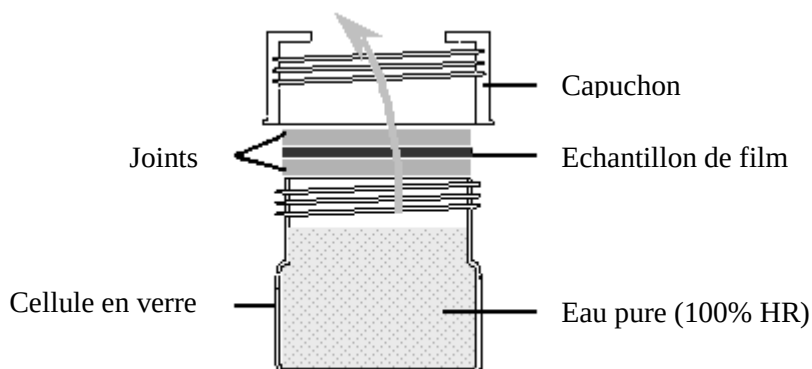


Figure IV.18 : Schéma représentatif d'une cellule de perméation utilisée pour évaluer le transfert de la vapeur d'eau à travers un film.

Les films, équilibrés aux conditions ambiantes pendant 3h, ont été placés en sandwich entre deux joints annulaires en butyle, le tout a été placé au dessus de la cellule et vissé par un bouchon percé permettant d'évaluer le transfert de la vapeur à travers le film. La surface du film exposée au transfert est de 3.2 cm². Chacune des cellules de perméation contient de l'eau distillée permettant de créer un taux d'humidité relative interne fixé à 100%. Les cellules de perméation ont été pesées avant d'être mises dans l'enceinte (t₀). Elles ont été ensuite placées dans une enceinte climatique réglée à 30°C et 60%HR de façon à créer un gradient d'humidité, de part et d'autre du film, de 100-60% HR. Les cellules ont été pesées toutes les 5 ou 12h jusqu'à obtention de 6 points.

Les résultats sont obtenus en faisant la moyenne des mesures sur 4 échantillons pour chaque formulation. La perméabilité des films à la vapeur d'eau (WVP) a été calculée selon la relation suivante :

$$WVP = \frac{\Delta m \times e}{\Delta t \times A \times \Delta P} \quad \text{Equation IV.5}$$

Avec $\Delta m / \Delta t$ (g.s⁻¹)

La masse de la vapeur d'eau transmise à travers le film par unité de temps. Elle correspond à la pente de la courbe $\Delta m = f(\Delta t)$. Le coefficient de régression linéaire est supérieur ou égal à 0.97.

e (mm)

Epaisseur du film.

$A \text{ (m}^2\text{)}$

Surface du film exposée au transfert de l'humidité.

$\Delta P = \frac{\Delta HR}{100} \times P_{\text{vap.sat}}$ (Pa) La différence de pression partielle de vapeur d'eau à laquelle le film a été soumis.

IV.1.3.3.2. Résultats et discussion

Les mesures ont été effectuées en utilisant un gradient d'humidité relative (HR) de 100-60% à température constante (30°C). La réponse des films vis-à-vis du transfert de l'humidité est représentée dans la figure IV.19.

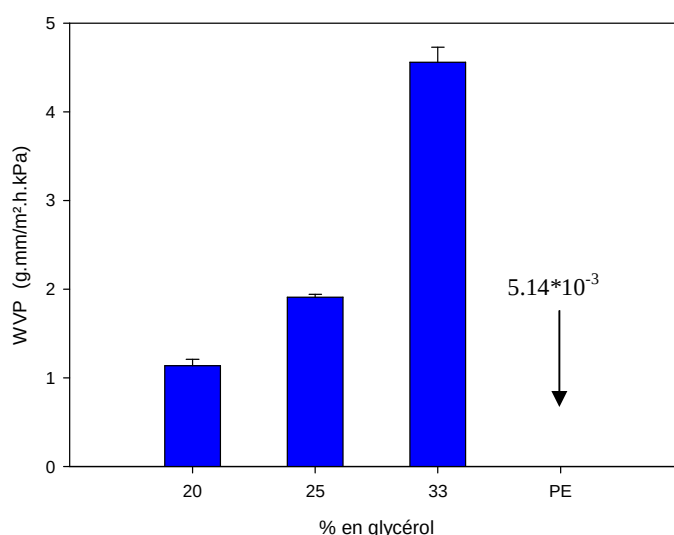


Figure IV.19 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins pour un gradient d'humidité de 100-60% et à 30°C.

Comme le montre la figure IV.19, la perméabilité des films de caséinate de sodium à l'humidité varie en fonction de leur teneur en glycérol. Plus le film est plastifié, moins il est résistant au transfert de la vapeur d'eau. Ainsi les films contenant 20% de glycérol sont plus résistants au transfert de l'humidité (1.15g.mm/m².h.kPa) que ceux qui en contiennent 33% (4.50g.mm/m².h.kPa). D'autre part, quelque soit la quantité du plastifiant dans le matériau, les films de caséinate de sodium sont d'inefficaces barrières hydriques en comparaison avec la perméabilité d'un film de polyéthylène (PE), qui est de l'ordre de 5*10⁻³g.mm/m².h.kPa.

Plusieurs explications permettent d'interpréter ces observations corrélées à l'effet du glycérol sur les propriétés barrières à l'humidité des films de caséinate de sodium :

✓ La teneur élevée en plastifiant augmente le volume libre interchaînes et donc le mouvement des chaînes polymériques et latérales de la protéine. Les chaînes étant plus flexibles, le transfert de la vapeur d'eau est plus important.

✓ L'effet hygroscopique du glycérol augmente la polarité du film et donc la rétention de l'humidité, en s'associant aux molécules d'eau par des liaisons hydrogène. Le complexe glycérol-eau agit sur la cohésion de la matrice protéique en augmentant l'espace libre entre les chaînes polypeptidiques et par conséquent leur mobilité. Ceci a tendance à augmenter le passage de la vapeur d'eau à travers le film. Donc plus on a du glycérol dans le film, plus le volume libre est grand et la perméabilité est importante.

✓ Le transfert de la vapeur d'eau se fait en deux étapes. D'abord les molécules d'eau se fixent sur les groupements -OH libres du glycérol. Celui-ci permet ensuite leur relargage à l'extérieur du film sous l'effet de la différence de pression de part et d'autre du film. Une concentration élevée en glycérol permet de procurer plusieurs sites -OH disponibles aux liaisons hydrogène avec les molécules de la vapeur d'eau.

IV.2. Les films de caséinates de sodium, de potassium et de calcium

Il existe trois principaux types de caséinates sur le marché, selon la nature du sel alcalin incorporé lors de la neutralisation de la caséine acide : le caséinate de sodium, le caséinate de calcium et le caséinate de potassium. Ainsi, les trois caséinates se distinguent par la nature du contre ion (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}). Il est donc intéressant de tester leur mise en œuvre et de comparer leurs propriétés.

IV.2.1. Mise en œuvre

Les granulés thermoplastiques à base de caséinate de potassium ou de calcium ont été synthétisés par extrusion bi-vis en utilisant la même configuration des vis que celle appliquée lors de la mise en œuvre du caséinate de sodium, détaillée dans le chapitre II. Cependant, quelques ajustements ont été effectués sur le profil de température nécessaire à la transformation du caséinate de potassium et du calcium. Au niveau des zones Z5, Z6, Z7 et

Z8 de l'extrudeuse bi-vis, une légère diminution de la température (95°C au lieu de 100°C) était nécessaire pour le compoundage de ces caséinates. Le caséinate de calcium requiert, en plus, une augmentation de la température de la filière (85°C au lieu 80°C). Ces ajustements se sont avérés nécessaires parce que la teneur initiale en humidité des lots des différents caséinates n'est pas la même. Cette différence est due à l'échange hydrique entre la poudre, contenue dans le sac, et l'humidité ambiante.

Le taux du glycérol a été fixé à 20%, teneur idéale pour obtenir un compromis entre module élastique et allongement à la rupture. Ce choix s'est basé sur l'étude des propriétés mécaniques en fonction du taux du glycérol exposée dans le chapitre III.

Les extrudats obtenus ont été ensuite repris en extrusion soufflage de gaine pour la mise en forme de films fins dans les mêmes conditions que celle du caséinate de sodium. L'épaisseur des films à base de caséinate de sodium ou de potassium est de l'ordre de 30µm, alors que celle du film du caséinate de calcium est d'environ 120µm. La différence de viscosité entre les formulations empêche l'obtention d'épaisseurs plus fines. L'augmentation de la viscosité, dans le cas du caséinate de calcium, peut être attribuée à la présence des ions bivalents Ca^{2+} qui permettent d'établir des interactions ioniques entre les chaînes polypeptidiques au cours du procédé d'extrusion [120,183] et augmente ainsi la viscosité.

IV.2.2. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des différents films sont représentées sur la figure IV.20 Celle-ci représente les données mesurées pour chaque échantillon à 60%HR et 30°C. Chaque valeur est la moyenne de cinq mesures par échantillon.

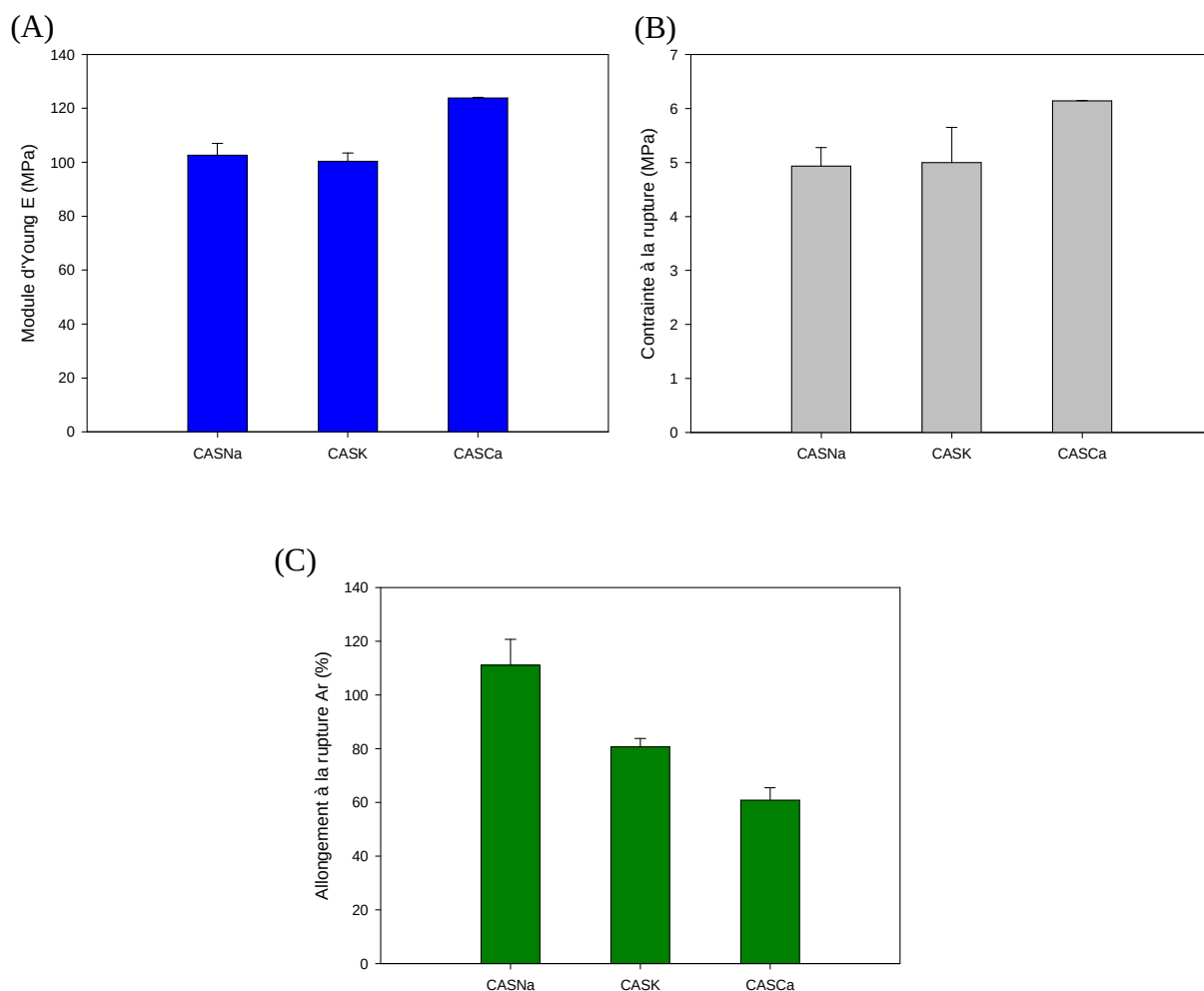


Figure IV.20 : (A) Module d'Young, (B) contrainte à la rupture et (C) allongement à la rupture de films soufflés à partir de granulés thermoplastiques des différents caséinates

La figure IV.20 montre qu'il n'y a pas de différence significative entre le module d'Young et la contrainte à la rupture des films du caséinate de sodium et ceux à base du caséinate de potassium. Pour les deux matériaux, le module avoisine 110MPa et la contrainte à la rupture 5MPa. A l'inverse, l'allongement à la rupture de ces films n'est pas similaire. Les éprouvettes du caséinate de sodium s'allongent un peu plus de 100% de leur longueur initiale avant déchirure, alors que celles du caséinate de potassium s'allongent moins (80%) avant qu'elles ne se déchirent. Contrairement à ces matériaux, le film à base du caséinate de calcium présente un module élastique et une contrainte à la rupture plus élevés (125 et 6MPa, respectivement) et un allongement à la rupture plus faible (60%).

Etant donné, la similitude des conditions de mesure de tous les films analysés, l'écart observé peut être attribué à la nature de la matière première. Effectivement, la valence des ions présents dans la protéine neutralisée est à l'origine de cette différence de propriétés mécaniques. Les ions Ca^{2+} présents dans le caséinate de calcium, étant bivalents permettent d'établir des liaisons interchaînes dans le réseau protéique qui devient plus compact et rigide [103,183]. L'effet des ions calcium est sans doute plus complexe que de simples ponts ioniques. Ces modifications structurales pourraient être attribuées aux traitements appliqués durant le passage de la protéine dans l'extrudeuse, notamment les effets thermiques. Srinivasan et al. [184,185] ont montré qu'un chauffage d'une solution de caséinate de calcium engendre une extensive polymérisation de la caséine α_s , contrairement à une solution de caséinate de sodium, soumise au même traitement. Ils ont noté que les caséines α_{s1} et α_{s2} sont plus sensibles à la température en présence des ions Ca^{2+} . Les mêmes auteurs ont démontré lors d'une étude antérieure [186] que 25% des caséines se trouvent sous forme d'agréats dans une solution de caséinate de calcium. Ces agrégats résultent de la polymérisation des caséines α_{s1} et α_{s2} , via des ponts calcium. En outre, en se liant aux charges négatives de ces caséines procurées par les résidus phosphatés, ces cations diminuent les interactions électrostatiques.

Par conséquent, le volume libre dans la matrice ainsi que le mouvement du squelette protéique diminuent, ce qui rehausse la contrainte d'étirage et abaisse l'allongement à la rupture des films dérivés du caséinate de calcium. Contrairement aux ions Ca^{2+} , les ions monovalents Na^+ et K^+ ne présentent aucun rôle de pontage et donc ils sont sans effet sur la tenue mécanique des films.

De ce fait, il est intéressant d'orienter l'attention sur l'étude des propriétés qu'offre le caséinate de calcium par rapport à celles du caséinate de sodium.

IV.2.3. Mélange des caséinates de sodium et de calcium

Les granulés du mélange de caséinate de sodium et de caséinate de calcium ont été effectués par extrusion bi-vis, avec les mêmes profils de cisaillement et de température utilisés pour transformer le caséinate de calcium pur. Les formulations à différents pourcentages en caséinate de calcium (20, 40, 50, 60 et 80%) ont été réalisées en mélangeant les deux poudres de caséinates en fonction du taux de substitution désiré, préalablement à l'extrusion bi-vis.

Les extrudats ont ensuite subi un deuxième passage en extrusion gonflage pour être transformés en films fins. L'extrusion gonflage de gaine des mélanges des caséinates de sodium et de calcium s'est déroulée dans les mêmes conditions que celles appliquées pour la transformation de caséinate de sodium ou calcium seul.

IV.2.3.1. Propriétés mécaniques

Rappelons que les tests mécaniques ont été menés à 60%HR et 30°C au moyen du rétractomètre à humidité contrôlée. Les données obtenues des tests sur les films fins sont représentées sur la figure IV.21.

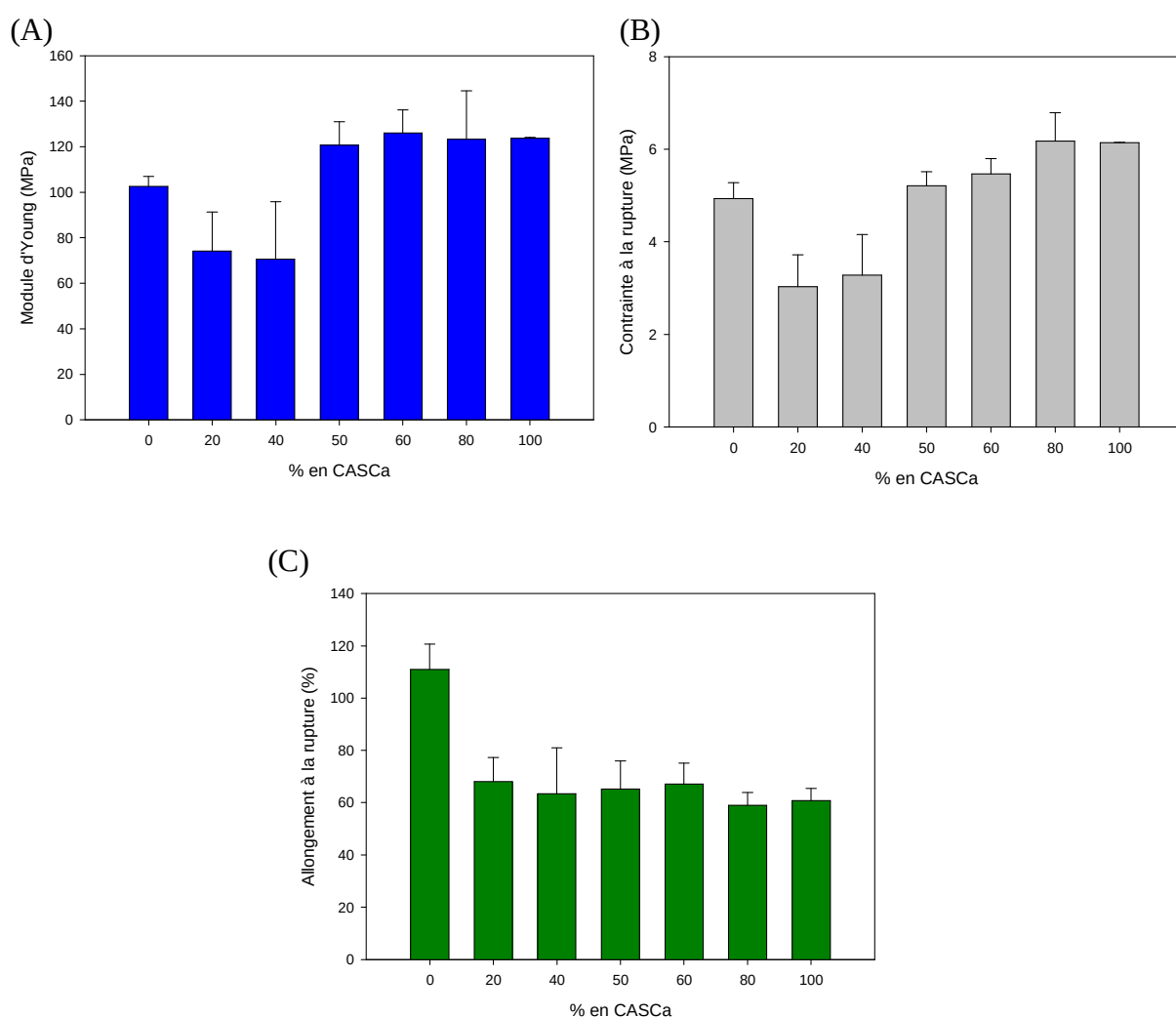


Figure IV.21 : (A) Module d'Young, (B) contrainte et (C) allongement à la rupture des films de caséinates en fonction du taux de substitution du caséinate de sodium par le caséinate de calcium. Les films contiennent 20% de glycérol.

Comme le montre la figure IV.21, l'effet de l'association du caséinate de sodium et du calcium sur le module élastique, la contrainte et l'allongement à la rupture se manifeste dès l'ajout de 20% de caséinate de calcium. Cependant, l'amélioration du comportement mécanique des mélanges n'apparaît qu'à partir de 50% du caséinate de calcium. A partir de ce pourcentage, le module élastique augmente d'environ 30MPa et la contrainte à la rupture de 1MPa. A l'inverse, la synergie des deux caséinates abaisse l'allongement à la rupture dès l'ajout de 20% du caséinate de calcium. Au-delà de cette formulation, les films s'allongent beaucoup moins que ceux contenant uniquement du caséinate de sodium. L'allongement à la rupture proche de 120%, dans ce cas, passe à 70% même à faible teneur en caséinate de calcium.

Au vu de ces résultats, il apparaît clairement que les propriétés mécaniques suivent un comportement plus complexe qu'une simple loi de mélange en fonction de la formulation :

- Lorsque l'on ajoute 20 et 40% du caséinate de calcium, les propriétés chutent, ce qui signifie une mauvaise compatibilité des mélanges puisque l'on s'attend plutôt à trouver des valeurs moyennes de ces propriétés.
- Ensuite, à partir de 50%, on retrouve quasiment les propriétés du caséinate de calcium pur. Il semble que le caséinate de calcium devient la matrice de ces films et impose ses propriétés.

La différence du comportement mécanique des films en fonction de leur teneur en caséinate de calcium est attribuée à la présence des ions calcium dans les formulations.

Pour conclure, lors de l'extrusion des mélanges à base des caséinates de sodium et de calcium, les caséines α_{s1} et α_{s2} interagissent entre elles, au niveau de leurs chaînes latérales phosphatées, via des ponts ioniques assurés par les ions Ca^{2+} . Par conséquent, les liaisons électrostatiques et l'espace libre intermoléculaire diminuent en augmentant par la suite la compacité et la rigidité du réseau protéique. Les films contenant suffisamment d'ions calcium possèdent donc une tenue mécanique importante mais s'allongent moins.

A travers cette étude, il est clair que la présence du caséinate de calcium dans les formulations influe sur les propriétés mécaniques des films et que ceux ayant un taux de substitution du caséinate de sodium de 50%, se munissent d'une bonne tenue mécanique. De plus, nous avons observé qu'au delà de cette composition, la mise en œuvre devient difficile à cause de l'augmentation de la viscosité qui est due, sans doute, à l'effet liant des cations calcium.

S'ajoute à cela l'aspect de surface et la qualité du film qui sont meilleurs dans le cas de 50/50 caséinate de sodium/caséinate de calcium. Pour ces raisons, les tests de perméabilité à l'eau à l'état vapeur et liquide, seront effectués uniquement sur le mélange des caséinate de sodium et de calcium à quantité égale (50/50), qui semble prometteur, en comparaison avec les caséinates de sodium et de calcium purs.

IV.2.3.2. Perméabilité à la vapeur d'eau

La connaissance des propriétés barrières à l'humidité des films plastiques est très importante notamment dans le cas des films plastiques destinés aux emballages alimentaires. Le contact des denrées alimentaires avec l'humidité ambiante pourrait altérer leur qualité sensorielle. L'estimation de la résistance aux transferts d'humidité à travers les films à base de caséinate de sodium et/ou calcium a été déterminée par la méthode gravimétrique ASTM E96-80 (1980) adaptée aux bio-packaging par Debeaufort et al. [187]. Ces analyses ont été effectuées en collaboration avec le laboratoire EMMA, Université de Bourgogne (AgroSup) à Dijon. Les cellules de perméation contiennent de l'eau distillée pour créer une humidité interne fixe de 100%. Les cellules ont été ensuite placées dans une enceinte climatique régulée à 23°C et 25%HR de façon à créer un gradient d'humidité, de part et d'autre du film, de 100-25%. Les essais ont été réalisés sur quatre films pour chaque formulation.

La résistance des films au transfert hydrique est représentée dans la figure IV.22.

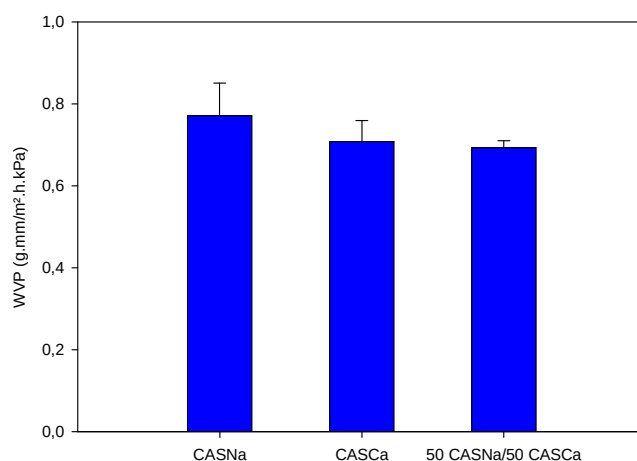


Figure IV.22 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins à base de caséinate de sodium et/ou de caséinate de calcium pour un gradient d'humidité de 25-100% et à 23°C.

Nous remarquons que les films partiellement ou totalement à base de caséinate de calcium sont légèrement moins perméables que ceux qui n'en contiennent pas. Autrement dit, la présence de caséinate de calcium dans le film ralentit le transfert de la vapeur d'eau à travers le film. Les ions Ca^{2+} sont à l'origine de ces variations en agissant en tant que ralentisseur du transfert d'humidité.

Plusieurs hypothèses permettent d'expliquer cet effet :

- ✓ En formant des pontages covalents, via les ions calcium, entre les caséines α_s , celles-ci ont tendance à se resserrer entre elles. Le rétrécissement de l'espace interchaînes retarderait donc le passage des molécules hydriques à travers la matrice protéique.

- ✓ L'interaction des ions calcium avec les groupements -OH chargés négativement, établie au cours de la mise en forme, rend ces derniers indisponibles aux liaisons hydrogène avec les molécules d'eau [183].

- ✓ La résistance au transfert d'humidité pourrait être corrélée également à la taille des ions. En effet, la taille des cations Ca^{2+} étant plus petite que celle des ions Na^+ leur permet d'occuper un espace infime dans la matrice et de combler, ainsi le volume libre [103]. Ceci ralentirait le transfert de la vapeur d'eau.

IV.2.3.3. Propriétés de la mouillabilité de surface

Ces analyses ont pour objectif d'évaluer le comportement de l'eau à la surface des films à base de caséinate de sodium et/ou du calcium. Comprendre le degré du mouillage de l'eau vis-à-vis du matériau apporte des informations sur son caractère hydrophile.

IV.2.3.3.1. Description de l'expérience

Les propriétés de mouillabilité de surface des films à base de caséinates ont été réalisées au laboratoire EMMA, Université de Bourgogne à Dijon. Elles ont été évaluées par la mesure de l'angle de contact en utilisant un goniomètre de type Digidrop DX-GBX équipé d'un logiciel pour le traitement et l'analyse de la goutte. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte, déposée sur le substrat, avec la surface du substrat. La chambre où s'effectue le dépôt de la goutte est reliée à un nébuliseur permettant le conditionnement des films à analyser à 50%HR avant que la goutte d'eau soit déposée. 1 μ l d'eau a été déposé automatiquement par une seringue de précision. La figure IV.23 illustre le dépôt d'une goutte d'eau, sur la surface du film de caséinate de sodium, par la seringue.

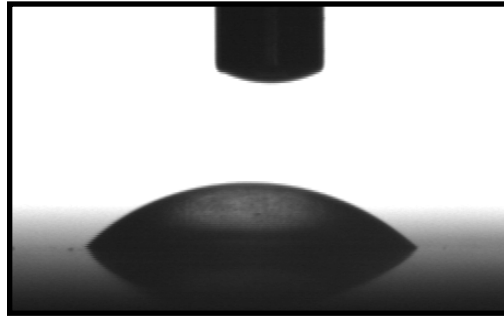


Figure IV.23 : Capture d'image du dépôt de la goutte d'eau, par une seringue de précision, sur un film de caséinate.

Le calcul de l'angle de contact se fait à partir des images capturées par une camera intégrée au goniomètre et au logiciel qui permet ensuite de numériser le contour de la goutte par un traitement des images. Les courbes représentant la diminution du volume, de la base de la goutte et de l'angle de contact sont ensuite tracées par le logiciel.

Cependant, le logiciel ne permet pas d'estimer le volume d'eau évaporée au cours de l'analyse. Pour cela, le mouillage d'une goutte d'eau sur un film du polyéthylène (PE) est analysé. Ce polymère étant hydrophobe, la diminution du volume sera attribuée uniquement à l'évaporation de la goutte d'eau (V_{evp}). Le volume d'eau diffusée (V_{abs}) à l'intérieur du film testé est donc :

$$V_{abs_t} = V_t - V_{evap_t} \quad \text{Equation IV.6}$$

Avec V_t Volume restant à la surface du film à un instant t .

Le flux d'absorption d'eau (F_{abs}) n'est rien d'autre que le volume absorbé par unité de surface A (base de la goutte d'eau) à un instant t donné. Nous l'exprimons par la formule suivante :

$$F_{abs} = \frac{V_{abs_t}}{A \times t} \quad \text{Equation IV.7}$$

La mesure d'angle de contact θ rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. En effet, lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface solide plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé

angle de contact θ (figure IV.24). Celui-ci dépend de trois tensions interfaciales γ_{LG} , γ_{LS} et γ_{GS} qui agissent au niveau du contact entre les phases solide (S), liquide (L) et gaz (G). A l'équilibre, la somme des trois forces est nulle. Les trois grandeurs sont reliées par l'équation de Young :

$$-\gamma_{GS} + \gamma_{LS} + \gamma_{LG} \cos \theta = 0 \quad \text{Equation IV.8}$$

La forme d'une goutte à la surface d'un solide est régie par les trois tensions interfaciales.

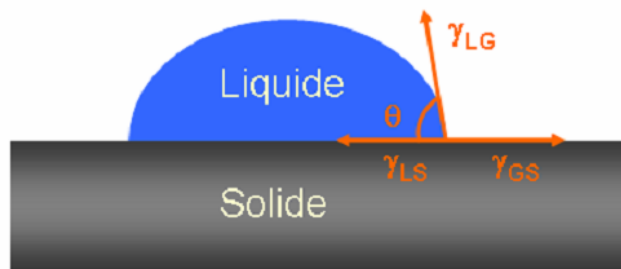


Figure IV.24 : Schéma décrivant la définition d'un angle de contact formé par une goutte de liquide déposée sur un support solide.

La mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre d'une surface. Elle permet aussi la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide/solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile (petit angle, grande énergie de surface) ou hydrophobe (grand angle, faible énergie de surface) d'une surface. L'évaluation de l'angle de contact permet de quantifier la qualité du mouillage. Selon le degré d'étalement d'un liquide sur une surface, on détermine trois cas de mouillage (figure IV.25) : Mouillage nul (surface hydrophobe), mouillage partiel ou encore mouillage total (surface hydrophile).

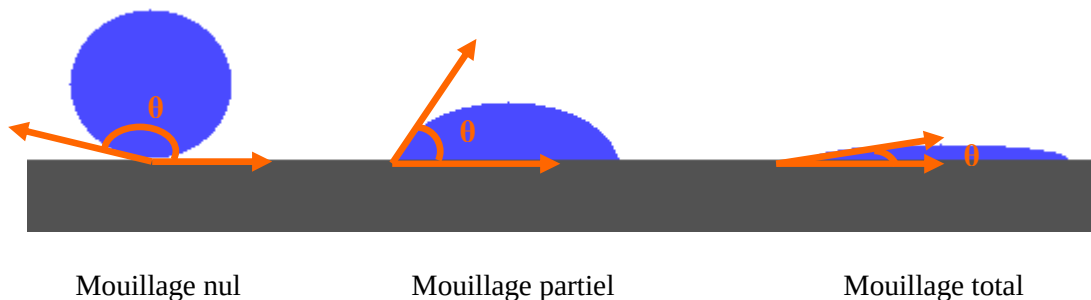


Figure IV.25 : Schéma représentatif de la qualité du mouillage d'une surface par l'eau.

IV.2.3.3.2. Résultats et Discussion

La mesure de l'angle de contact θ permet de prédire l'hydrophobicité du solide. Sa valeur s'échelonne de 0° (mouillage total, surface hydrophile) à 180° (mouillage nul, surface hydrophobe). La qualité du mouillage des films de caséinate de sodium et/ou du calcium a été déterminée par les mesures de l'angle de contact, du volume d'eau absorbée et du flux d'absorption de l'eau, par le matériau, en fonction du temps. Ainsi, le degré d'étalement d'une goutte d'eau à la surface de ces films permet d'estimer leur hydrophilie en fonction de la présence ou l'absence des ions calcium. La figure IV.26 représente une capture d'images comparative de l'étalement d'une goutte d'eau sur la surface des films à base du caséinate de sodium et/ou de calcium à 0, 20, 40, 90 et 170s. Le temps 0s correspond au moment du dépôt de la goutte et 20s à l'équilibre entre le liquide et la surface testée. Le suivi a été effectué jusqu'à disparition de la goutte, pour certaines formulations, due à la diffusion et à l'évaporation de la goutte d'eau. Celle-ci est évaluée par le mouillage d'un film de Polyéthylène (LDPE).

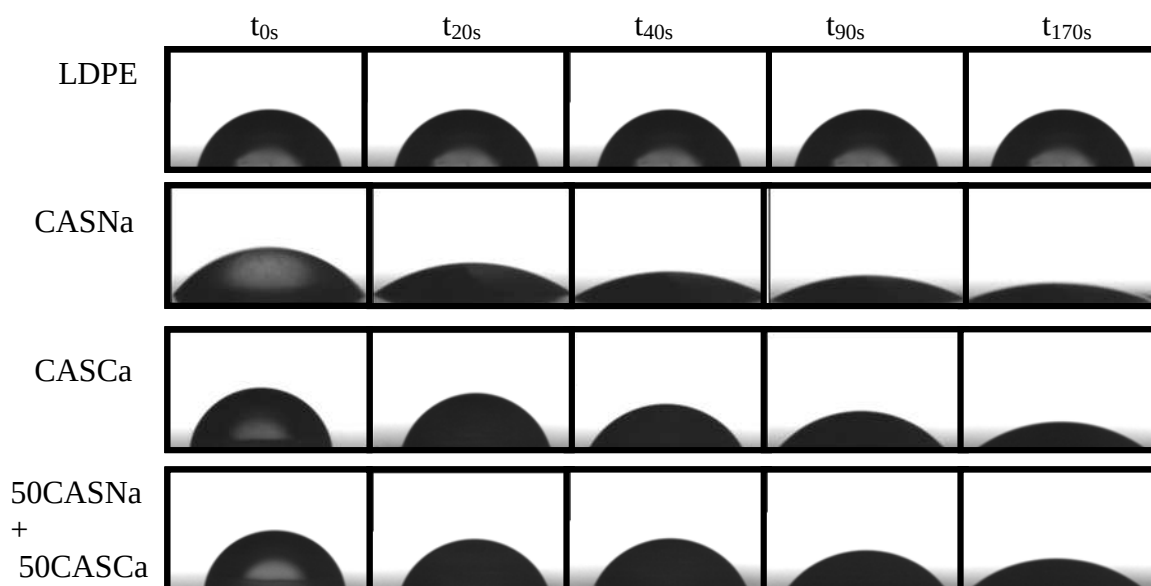


Figure IV.26 : Images de gouttes d'eau déposées sur des films à base de caséinate de sodium et/ou de calcium et sur un film du polyéthylène (LDPE) servant de référence.

La capture d'images exposée sur la figure IV.26, montre que la goutte d'eau s'étale plus rapidement sur le film de caséinate de sodium que sur celui de caséinate de calcium ou de l'association des deux polymères. L'étalement de la goutte sur le film de caséinate de sodium se fait au moment de son dépôt. Ce qui n'est pas le cas des films contenant du calcium dans

leur formulation. Cette étude, consistant à suivre l'évolution de la courbure de la goutte d'eau au cours du temps, concorde bien avec l'évolution de l'angle de contact. Les résultats obtenus de cette étude dynamique sont représentés sur la figure IV.27.

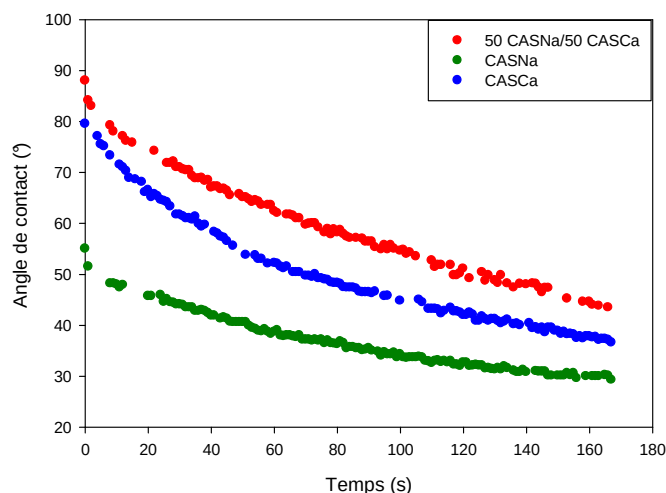


Figure IV.27 : Evolution de l'angle de contact formé par une goutte d'eau et un film de caséinate de sodium et/ou du calcium au cours du temps.

Bien que le volume initial (1 μ l) de la gouttelette d'eau déposée sur les films soit le même, l'angle de contact initial pris au moment du dépôt est très faible ($\sim 56^\circ$) dans le cas du film sans calcium par rapport à ceux qui en contiennent (entre 80 et 90°). Cet écart rétrécit progressivement au cours du temps. Néanmoins, l'angle de contact formé entre la goutte et la surface du film à base de caséinate de sodium uniquement, reste plus petit par rapport à ceux formé à la surface des films de caséinate de calcium pur ou en mélange avec le caséinate de sodium, après 170s.

Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus par le calcul du volume d'eau diffusée à l'intérieur du film ainsi que la vitesse de diffusion représentée par le flux d'absorption. Comme le montre la figure IV.28, l'absorption d'eau par le film à base de caséinate de sodium uniquement, est simultanée au dépôt de la goutte contrairement aux autres compositions avec du caséinate de calcium. La diffusion rapide dans les premières secondes, devient plus faible après ~ 70 s dans le cas des films contenant du calcium, en comparaison à ceux évidés de ce minéral. Ceci témoigne de la grande affinité de l'eau avec le caséinate de sodium et de leurs propriétés de mouillabilité, en comparaison avec celles du caséinate de calcium, malgré la similarité de leur structure primaire.

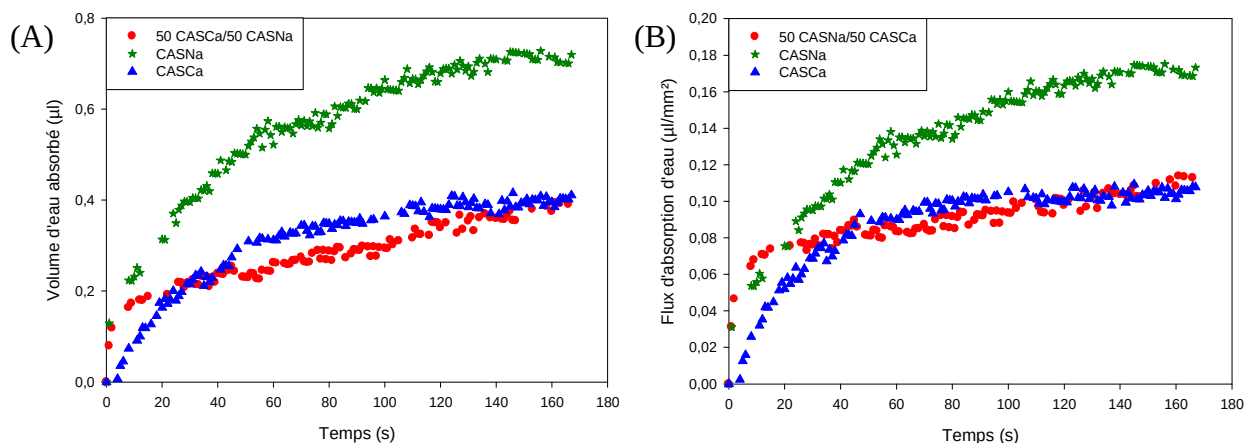


Figure IV.28 : Cinétique (A) du volume d'eau absorbé et (B) flux d'absorption d'eau par des films soufflés à partir de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium et/ou du calcium.

L'explication du caractère hydrophile et de l'hydrosolubilité très prononcés du caséinate de sodium par rapport au caséinate de calcium rejoint celle citée auparavant. Ils devraient être attribués à la présence des ions Ca^{2+} dans les films dérivés partiellement ou totalement du caséinate de calcium. Comme ça était déjà proposé par Jayasekara [188] pour des films à base d'amidon, la différence de diffusion d'eau à travers les films de caséinates pourrait être reliée aux interactions covalentes entre les cations Ca^{2+} et les groupements carboxyles chargés négativement. Ces interactions sont à l'origine de la formation d'une suspension colloïdale du caséinate de calcium dans l'eau [75,97]. Par conséquent, les liaisons ioniques, établies via les éléments calcium, rendent inaccessibles les sites de liaisons avec les molécules hydriques et entraînent la formation d'agrégats de grande taille retardant le transfert d'eau dans le film [100]. Ceci pourrait justifier la dissimilitude de la qualité de mouillabilité des deux caséinates vis-à-vis de l'eau.

IV.2.3.4. Conclusion

Nous avons noté suite à l'association du caséinate de calcium au caséinate de sodium une amélioration autant au niveau des propriétés mécaniques qu'au niveau des propriétés barrières à l'eau dans ses deux états, vapeur et liquide. Ceci a été attribué à la capacité des ions Ca^{2+} à former des pontages entre les chaînes polypeptidiques. La valence des cations calcium présents dans le caséinate de calcium permet d'établir des liaisons interchaînes dans le réseau

protéique qui devient plus compact et rigide. Ceci réduit la flexibilité des chaînes protéiques au sein de la matrice protéique. Par conséquent, les films contenant les ions Ca^{2+} possèdent une bonne tenue mécanique et sont un peu plus résistants au transfert d'eau liquide et vapeur. En plus de ces propriétés le film issu du mélange des deux caséinates à quantité égale possède un aspect brillant et très lisse.

IV.3. Mélange de caséinate de sodium avec un polyester biodégradable

La faisabilité de la mise en forme du caséinate pur, polymère biosourcé, a été démontrée; le caséinate est transformable par extrusion bi-vis et extrusion gonflage, techniques habituellement utilisées dans la plasturgie. Le matériau obtenu possède une bonne tenue mécanique mais il reste fragile à la déchirure et ses propriétés à l'allongement sont faibles.

Dans le but d'améliorer ces propriétés mécaniques, des mélanges avec le Poly(butylène adipate-co-téréphtalate) (PBAT), polyester thermoplastique, biodégradable et hydrophobe ont été étudiés. L'objectif est donc d'augmenter la tenue mécanique du produit fini et de contrôler son temps de biodégradabilité et d'hydrosolubilité afin d'élargir son champ d'application.

Le PBAT est un copolyester aliphatique-aromatique synthétisé à partir de trois monomères de base, le 1,4-butandiol, l'acide adipique et l'acide téréphtalique comme c'est représenté dans la figure IV.29 [189].

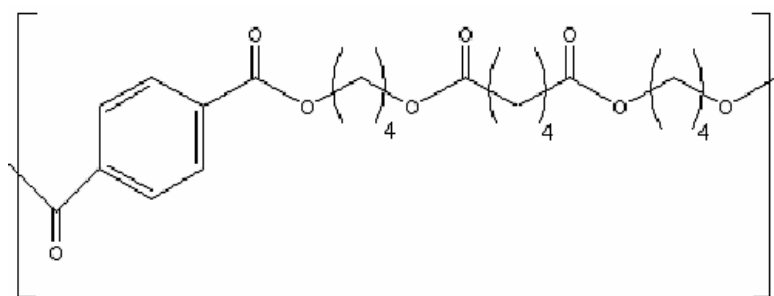


Figure IV.29 : Structure chimique du Poly(butylène adipate-co-téréphtalate) (PBAT) [189].

L'introduction du PBAT sur le marché depuis 1998 a été réalisée par la société BASF. Son objectif de concurrencer les plastiques synthétiques a été atteint. Ce polymère cumule à la fois propriétés, prix compétitifs par rapport aux plastiques synthétiques et biodégradabilité. En effet, le PBAT possède des propriétés similaires aux plastiques synthétiques grâce à sa masse moléculaire très élevée, ses longues chaînes polymériques et sa structure branchée [189]. Sa perméabilité à la vapeur d'eau est modérée. La société productrice a ajusté les propriétés du PBAT en fonction des demandes du marché, par le développement de plusieurs mélanges maîtres.

Il s'avère que les propriétés mécaniques, thermiques et biodégradables du PBAT sont modulables par la teneur en acide téréphtalique. En fait, Witt et al. [190] ont montré que ce copolyester présente de bonnes propriétés mécaniques et thermiques pour une concentration supérieure à 35% molaire en acide téréphtalique, alors que son taux de biodégradation diminue fortement pour une concentration supérieure à 55%. Un compromis entre biodégradation et propriétés d'utilisation pourrait être atteint pour une concentration en acide téréphtalique comprise entre 35% et 55%.

En plus de ses bonnes propriétés mécaniques et de sa biodégradabilité, ce polyester possède une température de fusion proche de 120°C (figure IV.30) ce qui peut permettre une extrusion autour de 130°C, température compatible avec la transformation des caséinates.

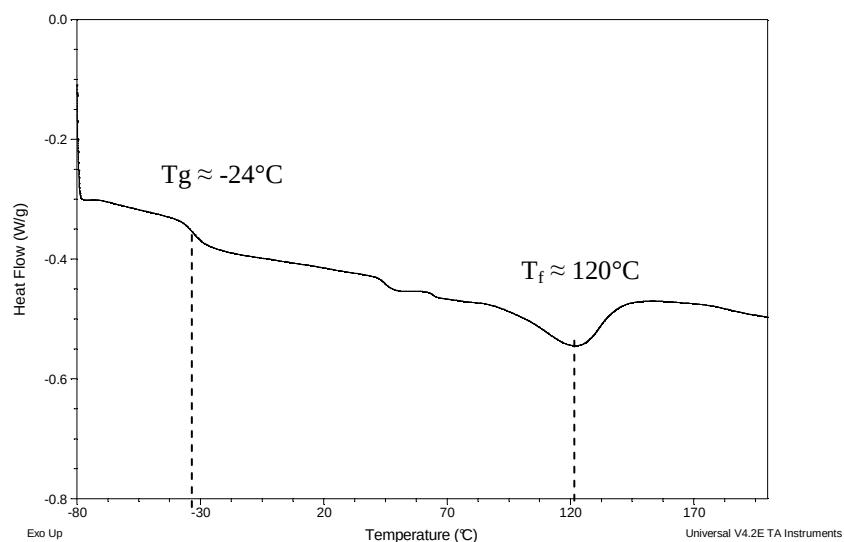


Figure IV.30 : Thermogramme DSC des granulés du polyester PBAT. Mesures effectuées entre - 80 et 200°C avec une vitesse de chauffe de 10°C/min.

Etant donné l'hydrophobicité du polyester et l'hydrophilie de la caséine, on peut supposer que le mélange des deux polymères n'est pas compatible et conduit à l'obtention d'un matériau hétérogène.

IV.3.1. Mise en œuvre

La mise en œuvre des mélanges caséinate de sodium et de PBAT a été effectuée sur la même extrudeuse bi-vis, utilisée pour la transformation du caséinate (chapitre II). La configuration des vis est la même que celle qui a permis d'extruder le caséinate. En revanche, le profil de température a été modifié pour permettre la fusion du polyester sans pour autant provoquer la dégradation thermique de la caséine (figure IV.31)

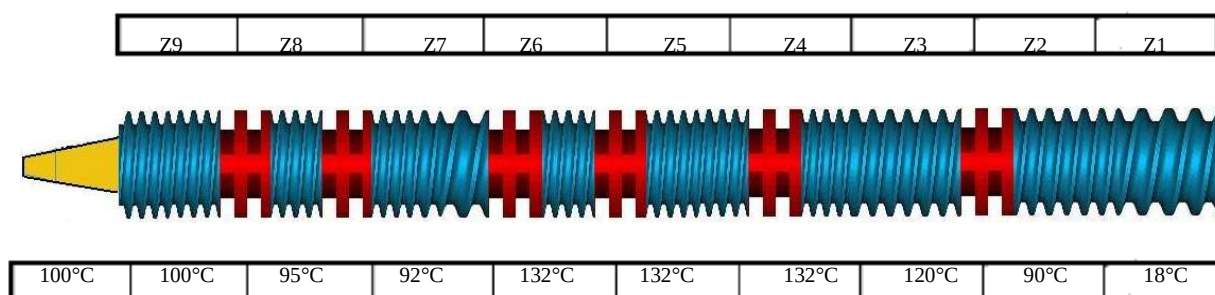


Figure IV.31 : Profils de vis et de température utilisés pour l'extrusion de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium plastifié au glycérol et du PBAT.

Des granulés de caséinate de sodium, plastifiés au glycérol à 20%, ont été produits par extrusion bi-vis dans les mêmes conditions décrites dans le chapitre II. Des mélanges contenant 10, 20 et 30% de PBAT sont ensuite produits en bi-vis avec le profil de température décrit dans la figure IV.31. Les granulés obtenus à l'issue de cette étape, sont repris dans l'extrudeuse mono-vis pour être soufflés en gaine. A la fin de cette étape, le caséinate a subi trois fois les effets thermiques et mécaniques de la mise en œuvre. Les températures idéales lors de l'extrusion des films composites sont de 120°C, température appliquée aux trois zones de l'extrudeuse, et 125°C au niveau des zones de la filière. A 110°C, le film est hétérogène et à 130°C des bulles de vapeur d'eau apparaissent et entraînent l'expansion de la gaine.

A la température appliquée, les films obtenus, d'environ 30µm d'épaisseur, sont homogènes et sans défauts superficiels. Cependant, ils sont moins transparents que ceux contenant uniquement du caséinate. La cristallisation du polyester au cours du refroidissement de la

gaine en est sans doute la cause. Aussi, ces films présentent un aspect moins lisse que celui des films de caséinates.

IV.3.2. Propriétés des films composites

IV.3.2.1. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des films composites à 10, 20 et 30% en PBAT, mesurées par l'appareil de traction contrôlé en humidité et en température sont représentées sur la figure IV.32. Les mesures ont été réalisées à 60%HR et 30°C et les valeurs exprimées par les histogrammes sont la moyenne de cinq essais pour chaque formulation.

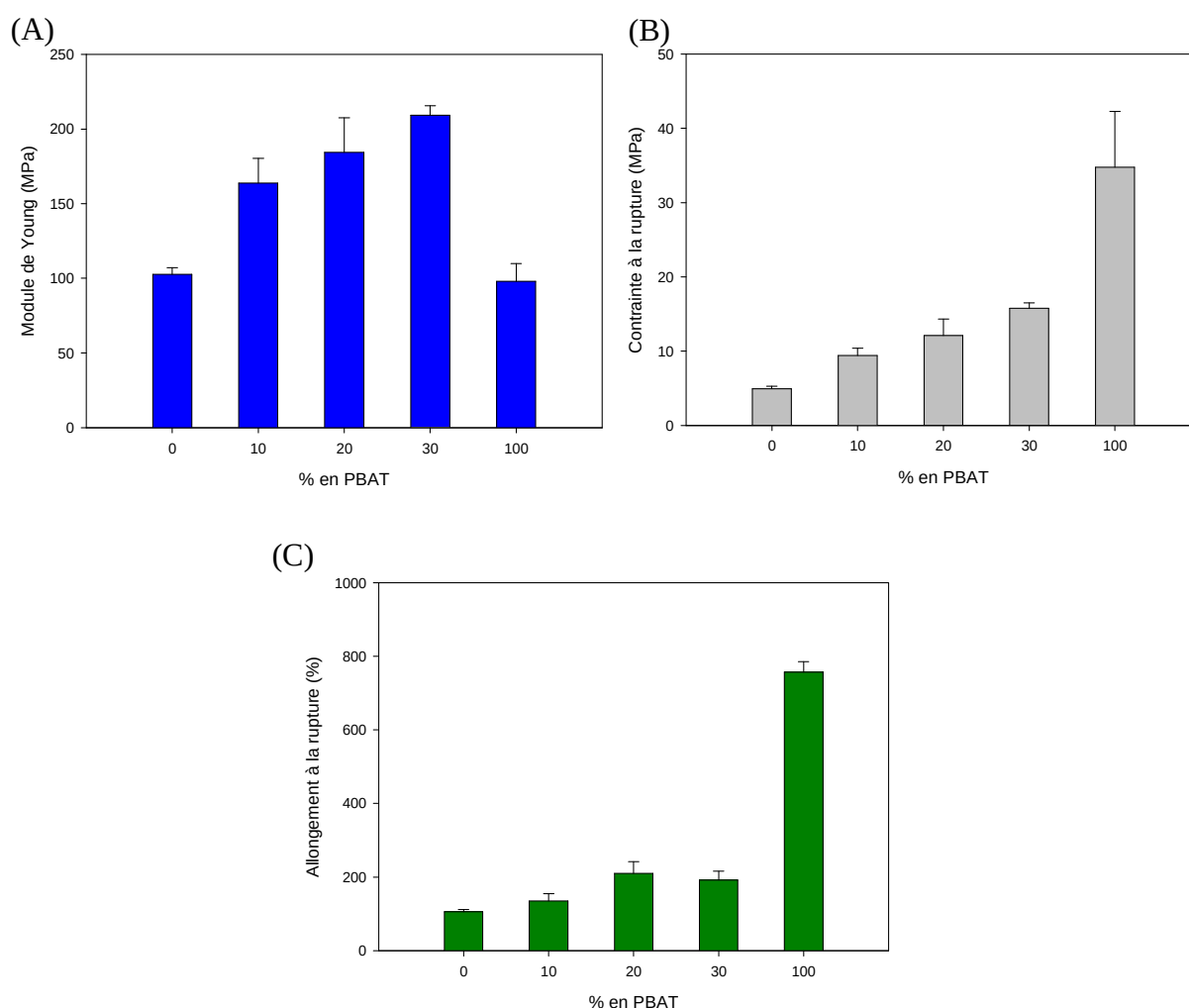


Figure IV.32 : (A) Module d'Young, (B) contrainte à la rupture et (C) allongement à la rupture des films à base du caséinate de sodium et/ou du PBAT déterminés à 60%HR et 30°C.

En comparant le caséinate de sodium pur et le PBAT, on remarque que les modules sont identiques (100MPa) alors que la contrainte et l'allongement à la rupture sont très différents. Le PBAT s'étire huit fois plus que le caséinate de sodium. En ce qui concerne les mélanges, on voit un effet positif pour toutes les propriétés mécaniques dès l'addition du PBAT.

La nature hydrophile du caséinate plastifié et la nature hydrophobe du PBAT conduisent assurément à des mélanges incompatibles. Ces mélanges peuvent présenter plusieurs morphologies (figure IV.33) selon leur composition, leurs propriétés rhéologiques et leurs propriétés de surface.

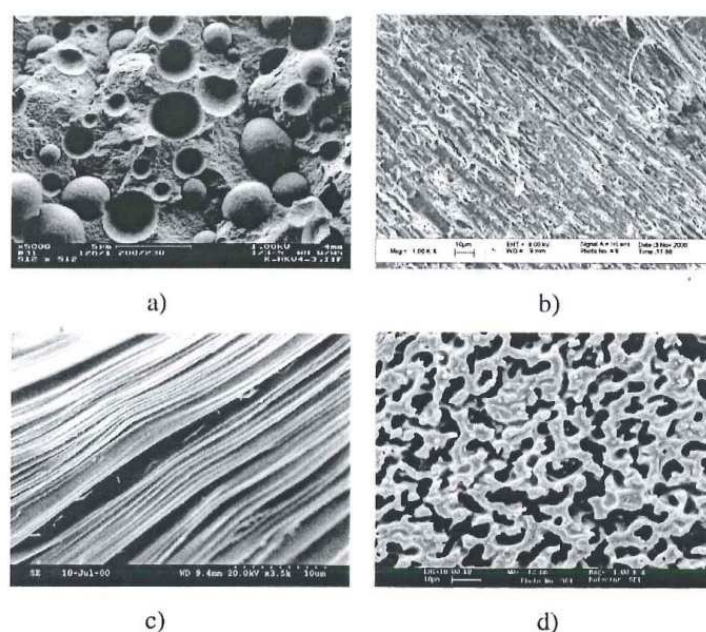


Figure IV.33 : Photos MEB représentant les types de morphologie des mélanges de polymères incompatibles. a) structure gouttelette-matrice. b) structure fibre-matrice. c) structure lamellaire. d) structure co-continue [191].

On peut ainsi rencontrer dans les mélanges caséinate/PBAT, des morphologies de type gouttelette-matrice, fibre-matrice, lamelles ou co-continue.

Afin de déterminer le degré de compatibilité des mélanges caséinate/PBAT, une étude par microscopie électronique à balayage (MEB) a été conduite pour déterminer la morphologie de ces mélanges.

IV.3.2.2. Morphologie

La morphologie des mélanges de caséinate de sodium/PBAT à différents pourcentages a été caractérisée par microscopie électronique à balayage (MEB). La caractérisation a été effectuée sur des échantillons cryofracturés puis métallisés. Les images MEB capturées à différents grossissements sont représentées sur les figures IV.34 et IV.35.

Les échantillons ont été préparés à partir de joncs extrudés par extrusion bi-vis. Ces derniers ont été fracturés à froid dans l'azote liquide. Les échantillons sont ensuite placés sur un porte échantillon et métallisés pendant 60s avec alliage or palladium par pulvérisation cathodique pour les rendre conducteurs. Après ce temps, une solution argentée a été déposée sur chaque coté de l'échantillon pour éviter des effets de charges susceptibles de perturber l'image. Les images ont été obtenues au moyen d'un MEB Hitachi 3000. La tension d'accélération choisie a été fixée à 5kV et la distance de travail entre 4 et 7mm.

La figure IV.34 représente les photos MEB prises pour des mélanges caséinate/PBAT contenant 30% en polyester.

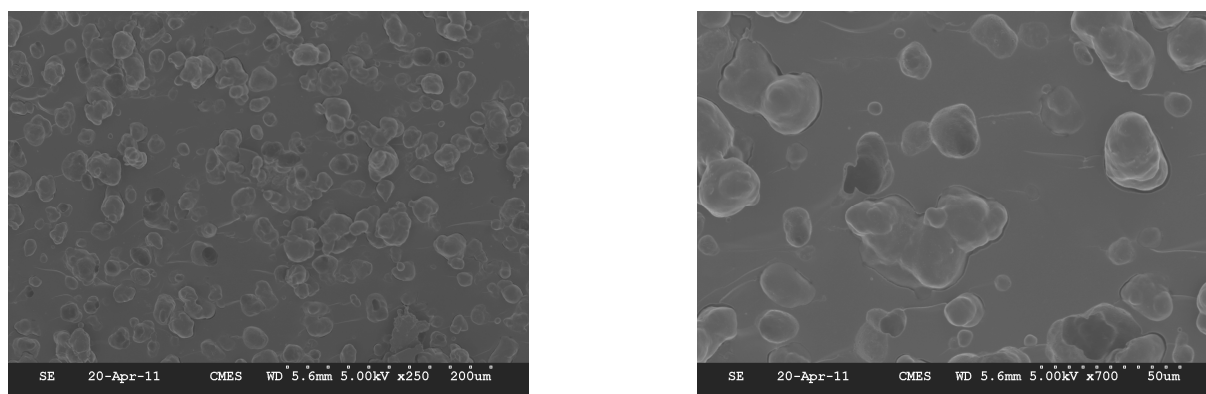


Figure IV.34 : Images MEB capturées aux grossissements x250 et x700 pour des mélanges de caséinate de sodium/PBAT 70/30.

Les images obtenues sur des échantillons majoritaires en caséinate (30% seulement en PBAT) correspondent à une dispersion du polyester dans la matrice protéique. Les extrudats ont été fracturés perpendiculairement au sens d'écoulement dans l'extrudeuse. Les morphologies observées peuvent alors correspondre soit à des gouttelettes soit à des fibres allongées dans le

sens de l'extrusion. Néanmoins cette analyse confirme la nature incompatible de ces deux polymères.

De même, les formulations opposées (20/80 caséinate/PBAT) ont été produites et observées (figure IV.35) pour confirmer cette incompatibilité.

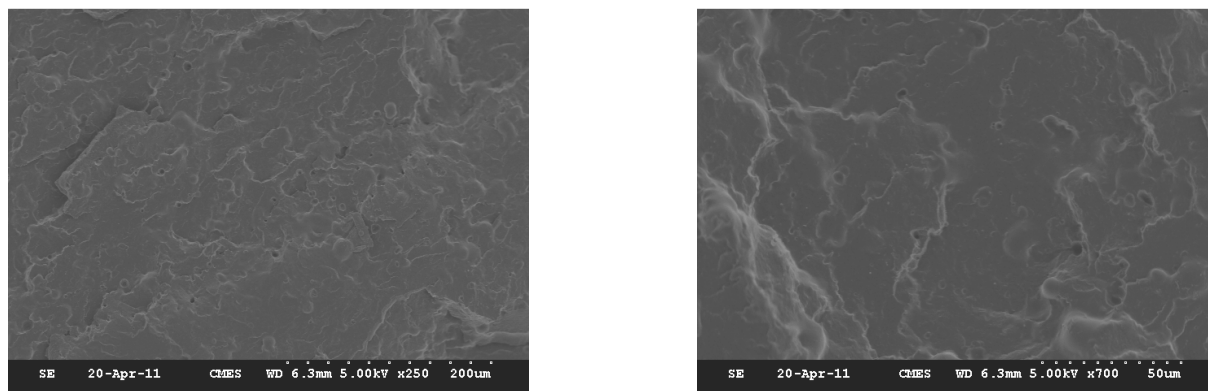


Figure IV.35 : Images MEB capturées aux grossissements x250 et x700 pour des mélanges de caséinate de sodium/PBAT 20/80.

Même si les images présentées sur les figures IV.34 et IV.35, sont beaucoup moins nettes et les tailles des morphologies très différentes, le caractère incompatible des mélanges apparaît clairement.

Il est très difficile de réaliser cette analyse morphologique sur des films très fins après extrusion gonflage parce qu'il est impossible d'obtenir des surfaces cryofracturées. Le procédé déforme obligatoirement ces morphologies de manière importante.

Le test d'hydrosolubilité au moyen du montage décrit dans le paragraphe IV.1.3.1 apporte néanmoins un renseignement important. Après avoir mis le film au contact de l'eau pendant plus de 48 heures, on retrouve une membrane très fine formée d'un réseau de PBAT, qui se tient et empêche le film de passer en solution dans l'eau. La figure IV.36 représente une capture d'image, par microscopie optique, de cette membrane de PBAT, récupérée et séchée à température ambiante.

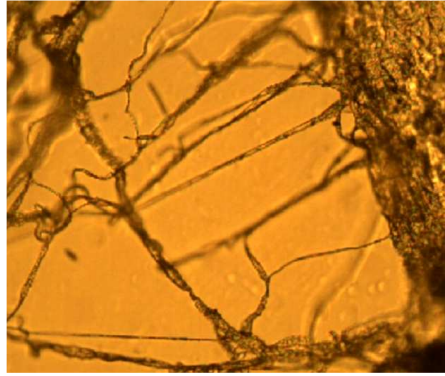


Figure IV.36 : Observation d'un film de caséinate/PBAT 70/30 après solubilisation de la phase protéique, par microscopie optique (200x).

Ces observations montrent que le procédé d'extrusion gonflage étire fortement la structure dispersée du PBAT dans la matrice protéique (figure IV.33-a), des mélanges caséinate/PBAT, pour créer une structure continue (figure IV.33-b).

Cette structure continue de PBAT forme alors un réseau qui renforce le film. L'allongement à la rupture est donc plus important et la contrainte à la rupture aussi. En ce qui concerne l'augmentation des modules d'Young pour les mélanges, l'effet de réseau n'est pas suffisant pour expliquer ce phénomène. Par contre, en considérant l'orientation très importante que subit le matériau lors du soufflage de gaine, on peut considérer que ce réseau est très étiré et orienté. Il convient alors de mesurer le module d'Young d'un fil de PBAT très orienté.

Un jonc de PBAT de 1mm de diamètre est alors étiré sur l'appareil de traction jusqu'à la rupture. Il est ensuite récupéré et on mesure à nouveau son module. Les résultats sont présentés sur la figure IV.37.

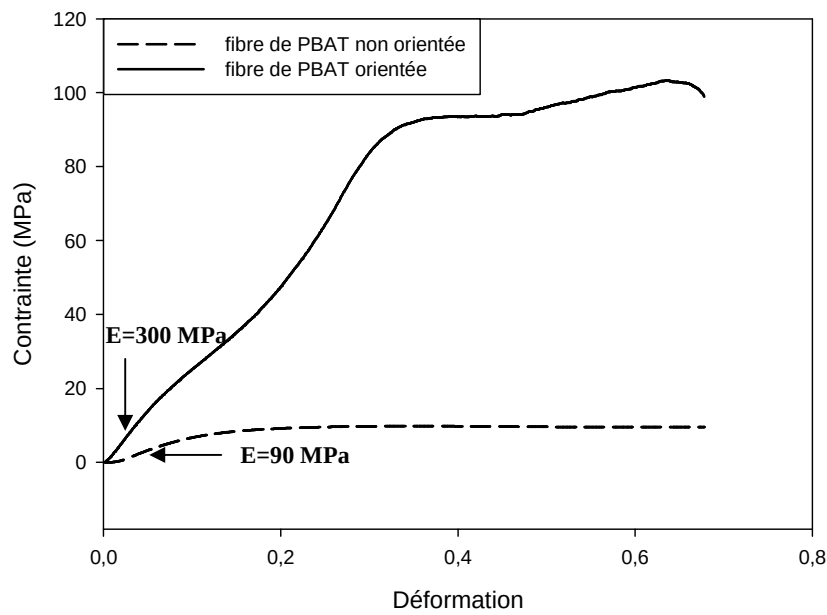


Figure IV.37 : Courbe de traction réalisée sur une fibre du PBAT orientée.

On remarque bien un module beaucoup plus élevé qui peut atteindre environ 300MPa (jusqu'à trois fois plus élevé que le module du PBAT non orienté). Dans les mélanges, on peut imaginer que cette structure étirée apporte au film ses propriétés mécaniques augmentant ainsi globalement le module au-delà d'un simple effet de mélange.

IV.3.2.3. Perméabilité à la vapeur d'eau

Les propriétés barrières à la vapeur d'eau des films à différentes compositions en PBAT ont été étudiées pour un gradient d'humidité de 100-60% à 30°C. La perméabilité aux molécules d'eau des films composites en fonction du pourcentage en polyester est exprimée dans la figure IV.38:

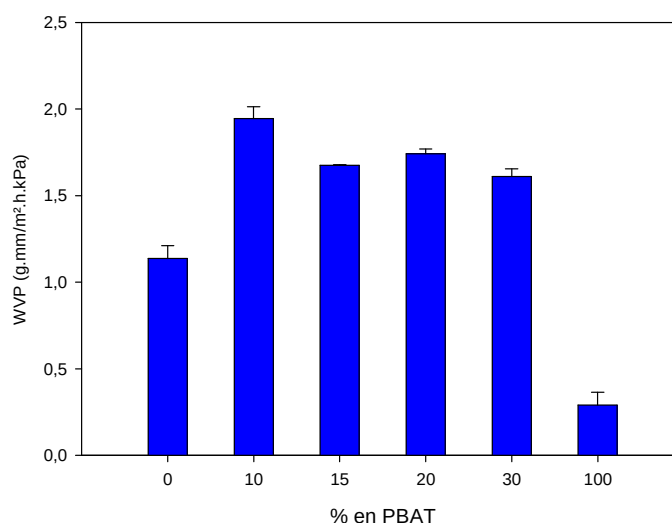


Figure IV.38 : Perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) des films fins à base de caséinate de sodium et/ou PBAT pour un gradient d'humidité de 100-60% et à 30°C.

Le film transformé à partir du caséinate de sodium est environ cinq fois plus perméable au transfert d'humidité que le film de PBAT pur. En revanche, les mélanges présentent des perméabilités supérieures aux composants pris séparément.

L'association du polyester, hydrophobe, et du caséinate, hydrophile, conduit à des mélanges hétérogènes. Les morphologies complexes créées pendant le mélange, présentent alors une interface qui dépend de ces morphologies. En effet, pour de faibles compositions en PBAT, celui-ci est présent sous forme de gouttelettes très étirées, donnant des structures en fibre à fort module élastique, dans la matrice protéique. Ces gouttelettes ayant très peu d'affinité avec la matrice, l'interface laisse passer la vapeur d'eau et la perméabilité augmente. Ensuite, lorsque le pourcentage en PBAT augmente, la morphologie devient plus continue. Dans cette structure, même si la teneur en PBAT est élevée, l'interface diminue. C'est pourquoi les valeurs de perméabilité n'augmentent plus et que l'on observe même une légère diminution.

IV.3.2.4. Mouillabilité de surface

Les propriétés de diffusion de l'eau liquide à travers les films à base du caséinate de sodium et du PBAT ont été aussi étudiées. Ces propriétés ont été évaluées par le calcul de l'angle de contact que forme la surface du film et la tangente du contour de la goutte ainsi que l'estimation du volume d'eau diffusée à l'intérieur du film et le flux d'absorption d'eau en

fonction du temps. La figure IV.39 expose une capture d'image comparative de l'étalement d'une goutte d'eau sur la surface des films à différentes compositions suite au dépôt de $1\mu\text{l}$ d'eau au moyen d'une seringue de précision. Le temps 0s correspond au moment du dépôt de la goutte et 20s à l'équilibre entre le liquide et la surface testée.

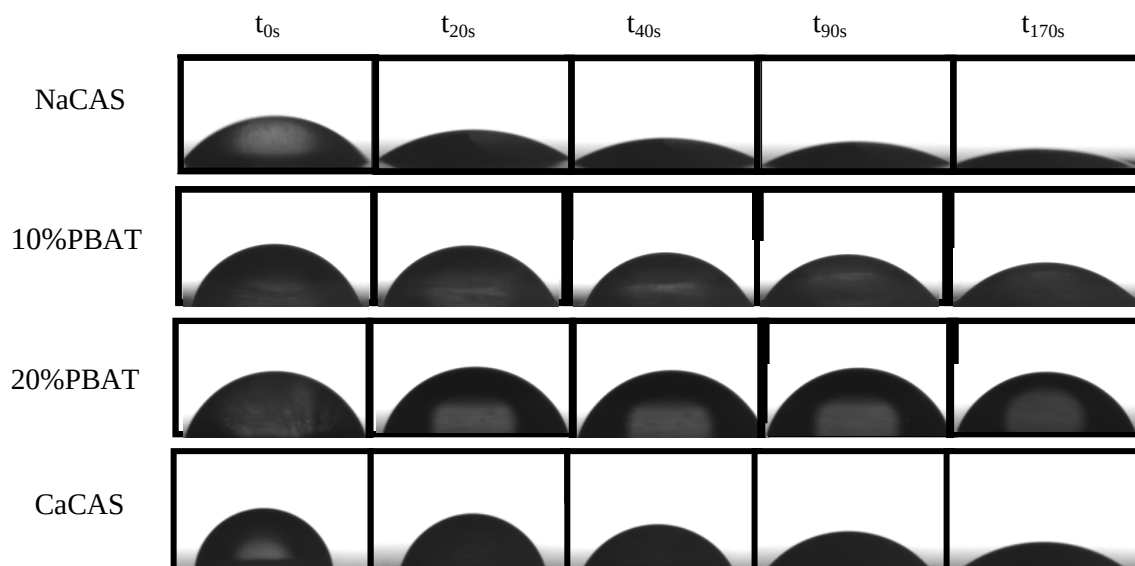


Figure IV.39 : Différentes cinétiques d'une goutte d'eau déposée sur des films à base de caséinate de sodium et/ou du PBAT en comparaison avec un film de caséinate de calcium (CASCa).

Le comportement de la goutte d'eau au cours du temps dépend fortement de la composition du film. Le mouillage du film composé uniquement du caséinate de sodium est simultané au dépôt de la goutte. La goutte d'eau commence à s'étaler une fois au contact avec le film. Sur ce film, le mouillage est presque total après 170s seulement. Quant au film contenant du PBAT dans leur composition, la résistance à la diffusion d'eau liquide est beaucoup plus élevée. Pour ces films, la résistance est d'autant plus élevée que le pourcentage en PBAT dans le matériau augmente et la qualité du mouillage est presque la même, à 20% en PBAT, après 170s. L'angle de contact de ces films est intermédiaire entre celui du caséinate de sodium et du caséinate de calcium dont le film devient plus sensible à l'absorption d'eau au cours du temps.

Ces observations concordent parfaitement avec les valeurs de l'angle de contact mesurées à partir du contour de la goutte, par le logiciel d'acquisition de données et représentées dans la figure IV.40.

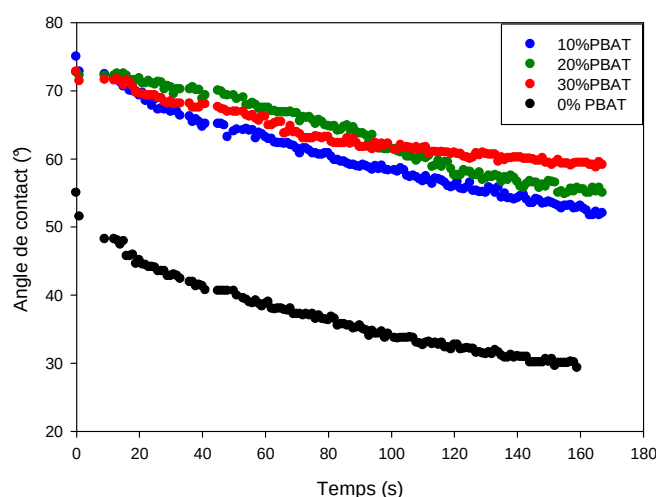


Figure IV.40 : Evolution de l'angle de contact formé par une goutte d'eau et un film de caséinate de sodium et/ou du PBAT au cours du temps.

L'angle de contact entre la goutte d'eau et la surface du film 100% biosourcé, est proche de 55° alors que celui mesuré sur les films composites à 10, 20 ou 30% en polyester est d'environ 75°, au moment du dépôt (t_0). Notons que la diminution de l'angle de contact observée (figures IV.39 et IV.40) est due à la diffusion d'eau dans le film mais aussi à son évaporation.

L'évolution du volume d'eau diffusée dans le film ainsi que le flux d'absorption, en fonction de la composition du film et au cours du temps, est décrite sur la figure IV.41.

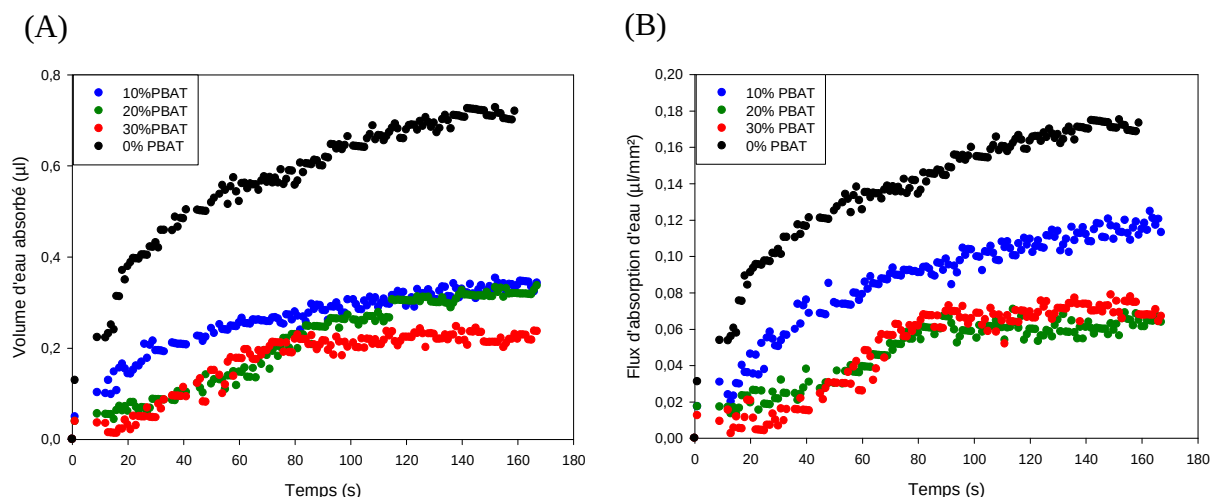


Figure IV.41 : Cinétique du (A) volume d'eau absorbé et du (B) flux d'absorption d'eau par des films soufflés à partir de granulés thermoplastiques de caséinate de sodium et/ou du PBAT.

La figure IV.41 indique que le film dépourvu du polyester est très sensible à la diffusion d'eau liquide et qu'une faible quantité en PBAT décroît cette sensibilité de plus de la moitié après seulement 40s du dépôt. Nous observons aussi qu'après environ 100s, la diffusion d'eau à travers les films composites ralentit et la goutte d'eau est en équilibre avec la surface solide, contrairement à la surface 100% protéique où l'absorption d'eau continue à se faire. On pourrait penser que la présence du polyester dans le film, même à faible quantité, hydrophobise la protéine et la rend plus résistante à l'eau.

La sensibilité du caséinate aux molécules hydriques varie en présence du PBAT. Les courbes exposées sur la figure IV.42 permettent de confirmer ceci. Ces résultats ont été obtenus suite à une analyse de reprise d'humidité au moyen de la thermobalance à humidité contrôlée, détaillée dans le chapitre III. Les analyses ont été menées à ~67%HR, 30°C sur des films en équilibre avec un environnement sec (~14%HR, 30°C).

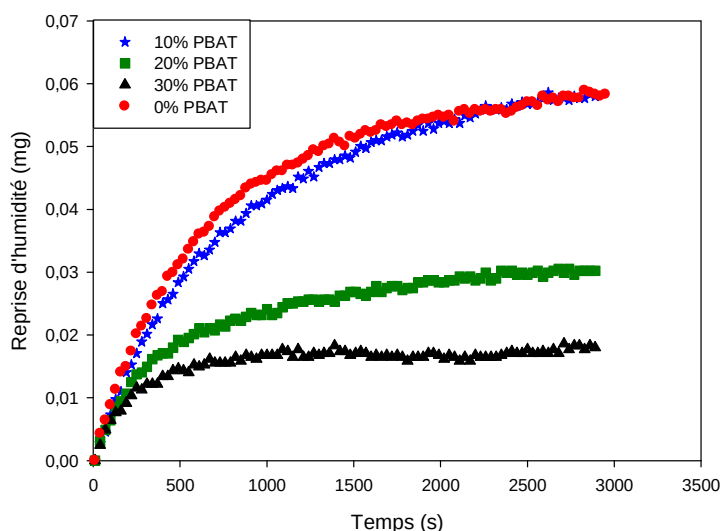


Figure IV.42 : Reprise d'humidité des films fins à base du caséinate de sodium et/ou du PBAT à ~67%HR, 30°C.

La figure ci-dessus témoigne de la capacité d'absorption d'eau des films en fonction de leur teneur en PBAT. La fixation des molécules d'eau, par le matériau, est d'autant plus faible que sa teneur en polyester devient importante. Effectivement, la substitution partielle de la protéine hydrosoluble par le PBAT, polymère hydrophobe devrait décroître le nombre de sites de fixation des molécules hydriques et donc la sensibilité à l'eau du film composite.

Au vu de ces résultats, on conclut que la sensibilité des mélanges caséinate/PBAT vis-à-vis de la vapeur d'eau augmente alors qu'elle baisse au contact avec l'eau liquide. Cette variation du comportement est due à l'hétérogénéité de ces mélanges qui est attribuée à l'incompatibilité des deux polymères.

IV.3.3. Conclusion

À travers cette étude ayant pour objectif d'associer les avantages de deux polymères, le caséinate et le PBAT, pour concevoir un matériau présentant une synergie de propriétés, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

➤ Les propriétés mécaniques du matériau composite sont plus élevées que ceux des deux polymères, caséinate et PBAT, pris séparément. Cette augmentation de la tenue mécanique est affectée au changement de structure des mélanges caséinate/PBAT au cours du procédé

d'extrusion gonflage. La morphologie gouttelette-matrice obtenue après extrusion bi-vis devient fibre-matrice suite à l'orientation des chaînes du PBAT lors de l'extrusion gonflage. Le PBAT très étiré dans ce cas possède un module très élevé.

➤ Le film issu du mélange des deux polymères est plus sensible au transfert hydrique que les deux polymères qui le composent, bien que le polyester soit hydrophobe. Le transfert intensif à travers le matériau est attribué à la présence d'interfaces créées par l'incompatibilité des deux polymères. Cette séparation de phases a été confirmée par microscopie électronique à balayage (MEB).

➤ Le caséinate de sodium est très hydrosoluble contrairement au PBAT qui a un caractère hydrophobe. L'association des deux polymères rend la protéine plus résistante à la diffusion de l'eau liquide et donc moins hydrosoluble.

Conclusion

La mise en forme de films fins pour l'emballage basés sur du caséinate de sodium, par procédé d'extrusion gonflage, était l'objectif principal de ce chapitre.

Au cours de cette étude, la possibilité d'obtenir des films fins à partir des granulés thermoplastiques du caséinate de sodium a été démontrée. Le film obtenu possède une bonne tenue mécanique mais il est sensible à la déchirure. La caractérisation de ce matériau s'est révélée importante en vue d'envisager des investigations pour améliorer certaines propriétés. Dans ce contexte, une stratégie de mélange du caséinate de sodium avec un deuxième polymère biodégradable afin de concevoir un matériau, présentant une synergie de propriétés, a été adoptée. Une amélioration des propriétés mécaniques et une diminution de la sensibilité à l'eau du caséinate de sodium sont visées :

- La substitution partielle du caséinate de sodium par le caséinate du calcium permet de rehausser la tenue mécanique du matériau obtenu et de retarder légèrement le transfert d'eau (liquide et vapeur) à travers le matériau.

- L'association du caséinate de sodium avec le PBAT, polyester biodégradable et hydrophobe, donne un film plastique avec des propriétés mécaniques plus élevées. Ceci est attribué à l'orientation des chaînes polymériques du PBAT au cours de l'extrusion gonflage. Le PBAT ainsi orienté, possède des propriétés mécaniques plus élevées que celles du caséinate pur.

Cependant, les films à base des mélanges sont plus sensibles au transfert hydrique que les deux polymères qui les composent. La présence d'interfaces entre les deux phases constituées par les deux polymères, créées par leur incompatibilité. En revanche, les mélanges sont plus résistants vis-à-vis de l'eau liquide et le caséinate devient moins hydrosoluble.

A travers cette étude, il est donc possible d'ajuster les propriétés du film, destiné à des applications d'emballage, à base de caséinate de sodium en fonction de l'application visée tout en gardant sa nature biodégradable.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les matières plastiques d'origine naturelle, longtemps oubliées au profit de celles issues de la pétrochimie sont de nouveau développées aujourd'hui. La prise de conscience des risques environnementaux et la raréfaction des ressources pétrolières ont augmenté les recherches de valorisation des agroressources. Elles sont devenues une alternative prometteuse pour la substitution des plastiques synthétiques.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent ces travaux de recherche portant sur la valorisation du caséinate, forme neutralisée de la caséine, en tant que matériau plastique pour des applications dans l'emballage et plus spécifiquement alimentaires et hydrosolubles.

La première partie de ce projet porte sur la transformation du caséinate de sodium par extrusion réactive, procédé habituellement utilisé dans les industries de plasturgie. Ce procédé présente l'avantage de combiner les effets thermiques et mécaniques en un temps court et en continu. L'adaptation du profil de vis, de la configuration des températures du fourreau et le choix des conditions opératoires (vitesse de rotation des vis, débits et nature du caséinate) permettent d'obtenir un matériau homogène, transparent, ayant une bonne cohésion et sans défauts visuels. Le profil des vis adopté permet de mélanger, cisailer et transporter le caséinate plastifié jusqu'à la filière. La plastification du caséinate par le glycérol, plastifiant hygroscopique choisi sur une base bibliographique, permet la lubrification des chaînes polypeptidiques et donc la diminution de la température de transition vitreuse (T_g) du caséinate pour permettre son compoundage à des températures au dessous de sa dégradation et de l'évaporation de l'eau. Ce matériau "vivant" évolue en permanence avec la quantité d'eau présente dans son environnement aussi bien pendant sa transformation que lors de son usage.

La caractérisation physico-chimique des granulés thermoplastiques de caséinate de sodium permet de déterminer les attributs de cette protéine en vue de réaliser des recherches plus poussées pour ajuster les propriétés du produit fini en fonction de l'application visée. La caractérisation des granulés du caséinate de sodium plastifiés au glycérol a été l'objectif de cette deuxième partie qui a permis de mettre en valeur les points suivants :

- A travers des tests biochimiques (électrophorèse sur gel de polyacrylamide) et thermiques (analyse thermogravimétrique), la thermostabilité du caséinate a été confirmée. Cette protéine plastifiée peut résister à des températures allant jusqu'à 150°C. Dans cette gamme de température, la combinaison des effets thermiques et mécaniques produits au cours du compoundage du caséinate ne présentent pas de risque de dégradation sur cette protéine.
- Le caractère hydrophile du caséinate, nécessite le contrôle des conditions d'humidité relative ambiante lors des analyses. Les interactions établies, au cours du procédé, entre la protéine et le glycérol, plastifiant très hygroscopique, augmente sa sensibilité à l'humidité environnante. Ainsi, les propriétés du matériau dépendent de l'état de l'eau dans le matériau. En effet, dans des conditions sèches, l'eau est très liée et indisponible en tant que plastifiant. Dans ce cas, le matériau est dur et rigide, sa température de transition vitreuse et sa tenue mécanique sont élevées et ses propriétés d'allongement sont faibles. Quand l'environnement est très riche en humidité, l'eau passant à l'état libre, joue son rôle de plastifiant et devient aussi disponible pour la prolifération des micro-organismes. Le matériau devient mou, sa température de transition vitreuse (T_g) et ses propriétés mécaniques s'affaiblissent mais sa résistance à la déchirure augmente. Des conditions optimales entre la quantité d'eau et le plastifiant permettent d'obtenir un compromis entre tenue mécanique et allongement. Dans ces conditions, la T_g du caséinate plastifié est favorable pour sa mise en forme ultérieure.

La troisième partie concerne la mise au point de films fins, pour l'emballage, totalement ou partiellement à base de caséinate. L'optimisation du procédé d'extrusion gonflage pour la fabrication de films à base du caséinate de sodium pur conduit à l'obtention de films homogènes, transparents, d'un bon aspect visuel et lisses au toucher. Le film possède aussi une bonne tenue mécanique même si ses propriétés à l'allongement sont faibles.

La substitution partielle du caséinate de sodium par le caséinate de calcium permet d'augmenter les propriétés mécaniques des mélanges à partir de 50% de caséinate de calcium, de diminuer légèrement le transfert de la vapeur d'eau à travers le film et de modifier ses propriétés de mouillabilité de surface. Les liaisons ioniques, via les ions calcium, établies dans la matrice protéique est la cause de ces changements. Le pouvoir liant de ces cations bivalents, permet d'augmenter la cohésion de la matrice qui devient rigide et compacte et de diminuer le volume libre entre les chaînes polypeptidiques. Néanmoins, l'addition du caséinate de calcium ne résout pas la sensibilité du matériau aux conditions d'humidité et de température ambiantes.

L'utilisation d'un polyester biodégradable possédant une température de transformation compatible avec celle du caséinate plastifié a permis d'améliorer les propriétés mécaniques du matériau. Le mélange des deux polymères, augmente jusqu'à deux fois le module d'Young du matériau composite par rapport aux composants pris séparément. Ceci a été expliqué par l'orientation des chaînes du PBAT au cours de l'extrusion gonflage des mélanges. Dans ces mélanges, le PBAT orienté possède un module élastique jusqu'à trois fois plus élevé que le PBAT original. Cependant, l'incompatibilité des deux polymères augmente le transfert hydrique à travers les films composites. La perméabilité élevée de ces films est attribuée à la présence d'interfaces, entre les deux phases constituées par la protéine hydrophile et le polyester hydrophobe. En revanche, vis-à-vis de l'eau liquide, les mélanges sont plus résistants et le caséinate devient moins hydrosoluble.

A l'issu de ce travail, la valorisation du caséinate en tant que matériau plastique a été démontrée. Cette protéine constitue une matière première prometteuse pour la conception de films pour l'emballage, ce qui permet d'envisager de manière réaliste leur commercialisation pour des applications hydrosoluble, biodégradable et parfois comestible.

Perspectives

Cette étude ouvre plusieurs pistes d'investigations concernant les films fins à base de caséinate :

➤ De par sa nature biosourcée et comestible, le caséinate est un polymère biodégradable. Néanmoins une étude de la biodégradation des films de caséinate peut être envisagée afin de comprendre les paramètres qui régissent leur dégradation ainsi que sa cinétique selon qu'elle se déroule en sol ou en compost. Il serait aussi intéressant d'étudier les conséquences de la biodégradation réelle de ces matériaux sur l'environnement.

➤ Les travaux de thèse peuvent être aussi poursuivis par une étude des propriétés barrières aux gaz et aux arômes des films à base de caséinate. Ces informations permettent d'évaluer les performances de ces films en tant que barrières à ces molécules pour des applications d'emballage dans le domaine agroalimentaire.

➤ La difficulté de mesurer la transition vitreuse de ce matériau a mis en évidence la nécessité de développer des appareillages spécifiques capables de fonctionner en humidité contrôlée. Quelques essais ont été conduits en torsion rectangulaire avec un rhéomètre adapté.

➤ Des partenariats industriels peuvent être aussi envisagés pour mettre en application ce nouveau matériau. La maîtrise de la mise en forme de plusieurs types de formulations à base de caséinate permet de proposer l'emballage approprié pour chaque application. Plusieurs idées d'utilisation du film sont envisagées. La propriété de l'application dépendra des caractéristiques suivantes : temps de dégradation, degré de dissolution, tenue mécanique et comestibilité. Ainsi, ces films peuvent être utilisés dans des domaines variés pour le conditionnement de divers produits :



Exemples d'applications

- Conditionnement de produits d'entretien pré-dosés : des pastilles de lave vaisselle, des additifs pour le nettoyage des piscines, des flocculants pour éliminer la turbidité de l'eau dans des stations d'épuration... etc.
- Sac à linge hydrosoluble pour le traitement du linge souillé des hôpitaux.
- Sachets comestibles et hydrosolubles pour le conditionnement de produits alimentaires déshydratés (épices, préparations alimentaires, produits aromatiques, infusions...) ou liquides (dosettes de miel).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] Genin G., 1938, « A propos de l'emploi de la caséine dans la fabrication des matières plastiques », *Le Lait*, 18(171), p. 45-47.
- [2] Genin G., 1937, « La caséine dans la fabrication des matières plastiques », *Le lait*, 17(168), p. 815-819.
- [3] Avérous L., 2004, « Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review », 44(3), p. 231-274.
- [4] CNE: Conseil National de l'Emballage, 2009, « Emballages compostables et matériaux plastiques dits «biodégradables» issus de ressources renouvelables ».
- [5] Cheftel J. C., Cuq J. L., et Lorient D., 1985, *Protéines alimentaires*, Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- [6] Voet D., et Voet J. G., 2005, *Biochimie*, Bruxelles, De Boeck.
- [7] Krochta J. M., 2002, « Proteins as raw materials for films and coating: definitions, current status, and opportunities », *Protein-Based Films and Coatings*, Gennadios A., USA, p. 1-41.
- [8] Kauzmann W., 1959, « Some factors in the interpretation of protein denaturation », *Advanced Protein Chemistry*, 14, p. 1.
- [9] Weil J.-H., 2005, *Biochimie générale*, Paris, Dunod.
- [10] Mercier J.-C., Grosclaude F., et Ribadeau-Dumas B., 1971, « Structure primaire de la caséine α 1-bovine: Séquence complète », *European Journal of Biochemistry*, 23, p. 41-51.
- [11] Finley J. W., 1989, « Effects of processing on proteins: an overview », *Protein quality and the effects of processing*, Dixon Phillips R. ; Finley J.W., Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, p. 1.
- [12] Petersen K., Væggemose Nielsen P., Bertelsen G., Lawther M., Olsen M. B., Nilsson N. H., et Mortensen G., 1999, « Potential of biobased materials for food packaging », *Trends in Food Science & Technology*, 10(2), p. 52-68.
- [13] Rouilly A., et Rigal L., 2002, « Agro-materials: a bibliographic review », *Journal of Macromolecular Science Part C-Polymer Reviews*, C42(4), p. 441-479.
- [14] Han J. H., et Gennadios A., 2005, « Edible films and coating: a review », *Innovations in Food Packaging*, p. 239-262.
- [15] Hernandez-Izquierdo V. M., et Krochta J. M., 2008, « Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation-A Review », *Journal of Food Science*, 73(2), p. R30-R39.

- [16] Lacroix M., et Cooksey K., 2005, « Edible films and coatings from animal-origin proteins », *Innovations in Food Packaging*, Elsevier Academic Press, California, USA, p. 301-317.
- [17] Otaigbe J. U., et Adams D. O., 1997, « Bioabsorbable soy protein plastic composites: effect of polyphosphate fillers on water absorption and mechanical properties », *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 5(4), p. 199-208.
- [18] Kunte L. A., Gennadios A., Cuppett S. L., Hanna M. A., et Weller C. L., 1997, « Cast films from soy protein isolates and fractions », *Cereal Chemistry*, 74(2), p. 115-118.
- [19] Zhang J., Mungara P., et Jane J., 2001, « Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets », *Polymer*, 42(6), p. 2569-2578.
- [20] Kurose T., Urman K., Otaigbe J. U., Lochhead R. Y., et Thames S. F., 2007, « Effect of uniaxial drawing of soy protein isolate biopolymer film on structure and mechanical properties », *Polymer Engineering and Science*, p. 374-380.
- [21] Lodha P., et Netravali A. N., 2005, « Thermal and mechanical properties of environment-friendly “green” plastics from stearic acid modified-soy protein isolate », *Industrial Crops and Products*, 21, p. 49-64.
- [22] Sue H.-J., Wang S., et Jane J.-L., 1997, « Morphology and mechanical behaviour of engineering soy plastics », *Polymer*, 38(20), p. 5035-5040.
- [23] Schilling C. H., Babcock T., Wang S., et Jane J., 1995, « Mechanical properties of biodegradable soy protein plastics », *Journal of Materials Research*, 10(9), p. 2197-2202.
- [24] Kumar R., et Zhang L., 2009, « Soy protein films with the hydrophobic surface created through non-covalent interactions », *Industrial Crops and Products*, 29, p. 485-494.
- [25] Brandenburg A. H., Weller C. L., et Testin R. F., 1993, « Edible Films and Coatings from Soy Protein », *Journal of Food Science*, 58(5), p. 1086-1089.
- [26] Brother G. H., et McKinney L. L., 1939, « Protein plastics from soybean products », *Industrial and Engineering Chemistry*, p. 84-87.
- [27] Kumar R., Choudhary V., Mishra S., Varma I. K., et Mattiason B., 2002, «Adhesives and plastics based on soy protein products», *Industrial Crops and Products*, 16, p. 155-172.
- [28] Guerrero P., Retegi A., Gabilondo N., et de la Caba K., 2010, « Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression », *Journal of Food Engineering*, 100(1), p. 145-151.
- [29] Wang S., Sue H.-J., et Jane J., 1996, « Effects of polyhydric alcohols on the mechanical properties of soy protein plastics », *Journal of Macromolecular Science- Pure and Applied Chemistry*, A33(5), p. 557-569.
- [30] Fischer T., 2004, « Effect of extrusion cooking on protein modification in wheat flour », *European Food Research and Technology*, 218(2), p. 128-132.

- [31] Redl A., Morel M. H., Bonicel J., Vergnes B., et Guilbert S., 1999, « Extrusion of Wheat Gluten Plasticized with Glycerol: Influence of Process Conditions on Flow Behavior, Rheological Properties, and Molecular Size Distribution », *Cereal Chemistry*, 76(3), p. 361-370.
- [32] Li M., et Lee T.-C., 1996, « Effect of Cysteine on the Functional Properties and Microstructures of Wheat Flour Extrudates », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), p. 1871-1880.
- [33] Anker C. A., Foster G. A., et Loader M. A., 1972, « Method of preparing gluten containing films and coatings ». Brevet américain N° 3,653,925.
- [34] Micard V., Belamri R., Morel M.-H., et Guilbert S., 2000, « Properties of Chemically and Physically Treated Wheat Gluten Films », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), p. 2948-2953.
- [35] Redl A., Morel M. H., Bonicel J., Guilbert S., et Vergnes B., 1999, « Rheological properties of gluten plasticized with glycerol: dependence on temperature, glycerol content and mixing conditions », *Rheologica Acta*, 38(4), p. 311-320.
- [36] Lawton J. W., 2004, « Plasticizers for zein: their effect on tensile properties and water absorption of zein films », *Cereal Chemistry*, 81(1), p. 1-5.
- [37] Padua G. W., et Wang Q., 2002, « Formation and properties of corn zein films and coatings », *Protein-Based Films and Coatings*, Gennadios A., USA, p. 43-67.
- [38] Ha T. T., et Padua G. W., 2001, « Effect of extrusion processing on properties of zein-fatty acids sheets », *American Society of Agricultural Engineers (T ASABE)*, 44(5), p. 1223-1228.
- [39] Khorshid N., Hossain M. M., et Farid M. M., 2007, « Precipitation of food protein using high pressure carbon dioxide », *Journal of Food Engineering*, 79(4), p. 1214-1220.
- [40] Jaynes H. O., et Chou W. N., 1975, « New method to produce soy protein-lipid films », *Food Product Development*, 9(4), p. 86.
- [41] Gennadios A., Brandenburg A. H., Weller C. L., et Testin R. F., 1993, « Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate film », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, p. 1835-1839.
- [42] Shen J. L., 1976, « Solubility profile, intrinsic viscosity, and optical rotation studies of acid precipitated soy protein and of commercial soy isolate », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24, p. 784.
- [43] Paetau I., Chen C.-Z., et Jane J.-L., 1994, « Biodegradable plastic made from soybean products. 2. Effects of cross-linking and cellulose incorporation on mechanical properties and water absorption », *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 2, p. 211-217.

- [44] Gontard N., Guilbert S., et Cuq J.-L., 1992, « Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology », *Journal of Food Science*, 57, p. 190-199.
- [45] Herald T. J., Gnanasambandam R., McGuire B. H., et Hachmeister K. A., 1995, « Degradable wheat gluten films: preparation, properties and applications », *Journal of Food Science*, 60, p. 1147-1156.
- [46] Strecker T. D., Cavalieri R. P., Zollars R. L., et Pomeranz Y., 1995, « Polymerization and mechanical degradation kinetics of gluten and glutenin at extruder melt-section temperatures and shear rates », *Journal of Food Science*, 60, p. 532-537.
- [47] Esen A., 1987, « A proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (zeins) of maize (*Zea mays* L.) », *Journal of Cereal Science*, 5, p. 117-128.
- [48] Pedersen K., Devereux J., Wilson D. R., Sheldon E., et Larkins B. A., 1982, « Cloning and sequence analysis reveal structural variation among related zein genes in maize », *Cell*, 29, p. 1015-1026.
- [49] Heidecker G., Chaudhuri S., et Messing J., 1991, « Highly clustered zein gene sequences reveal evolutionary history of the multigene family », *Genomics*, 10(3), p. 719-732.
- [50] Aydt T. P., et Weller C. L., 1988, « Edible films produced from corn, wheat and soy proteins », *American Society of Agricultural Engineers (ASAE)*, 88-6522.
- [51] Aydt T. P., Weller C. L., et Testin R. F., 1989, « Mechanical properties of edible corn and wheat protein films », *American Society of Agricultural Engineers (ASAE)*, (89-6621).
- [52] Lai H.-M., et Padua G. W., 1998, « Water Vapor Barrier Properties of Zein Films Plasticized with Oleic Acid », *Cereal Chemistry*, 75(2), p. 194-199.
- [53] Park H. J., Bunn J. M., Weller C. L., Vergano P. J., et Testin R. F., 1994, « Water vapor permeability and mechanical properties of grain protein- based films as affected by mixtures of polyethylene glycol and glycerin plasticizers », *Transactions of American Society of Agricultural Engineers*, 37, p. 1281-1285.
- [54] Gillgren T., Barker S. A., Belton P. S., Georget D. M. R., et Stading M., 2009, « Plastification of zein: a thermomechanical, FTIR, and dielectric study », *Biomacromolecules*, 10, p. 1135-1139.
- [55] Yamauchi K., Takeuchi N., Kurimoto A., et Tanabe T., 2001, « Films of collagen crosslinked by S-S bonds: preparation and characterization », *Biomaterials*, 22, p. 855-863.
- [56] Hood L. L., 1987, « Collagen in sausage casings », *Advances in Meat Research*, 4, p. 109-129.

- [57] Baker R. A., Baldwin E. A., et Nisperos-Carriedo M. O., 1994, « Edible coatings and films for processed foods », *Edible coatings and films to improve food quality*, Krochta J.M.; Baldwin E.A. et Nisperos-Carriedo M.O., Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, p. 89-104.
- [58] Chirita M., 2008, « Mechanical Properties of Collagen Biomimetic Films Formed in the Presence of Calcium, Silica and Chitosan », *Journal of Bionic Engineering*, 5(2), p. 149-158.
- [59] Lee C. H., Singla A., et Lee Y., 2001, « Biomedical applications of collagen », *International Journal of Pharmaceutics*, 221, p. 1-22.
- [60] Rubin A. L., Stenzel K. H., Miyata T., White M. J., et Dunn M., 1973, « Collagen as a vehicle for drug delivery », *Journal of Clinical Pharmacology*, 13(8), p. 309-312.
- [61] Deiber J. A., Peirotti M. B., et Ottone M. L., 2011, « Rheological characterization of edible films made from collagen colloidal particle suspensions », *Food Hydrocolloids*, p. 1-11.
- [62] Ho H.-O., Lin C.-W., et Sheu M.-T., 2001, « Diffusion characteristics of collagen film », *Journal of Controlled Release*, 77(1-2), p. 97-105.
- [63] Maser F., Ströher-Glowienka C., Kimmerle K., et Gudernatsch W., 1991, « Collagen film as a new pervaporation membrane », *Journal of Membrane Science*, 61, p. 269-278.
- [64] Sionkowska A., 2000, « Modification of collagen films by ultraviolet irradiation », *Polymer Degradation and Stability*, 68(2), p. 147-151.
- [65] Goissis G., MarcantonioJunior E., Marcantônio R. A. C., Lia R. C. C., Cancian D. C. J., et Carvalho W. M. de, 1999, « Biocompatibility studies of anionic collagen membranes with different degree of glutaraldehyde cross-linking », *Biomaterials*, 20(1), p. 27-34.
- [66] Olde Damink L. H. H., Dijkstra P. J., Luyn M. J. A., Wachem P. B., Nieuwenhuis P., et Feijen J., 1995, « Glutaraldehyde as a crosslinking agent for collagen-based biomaterials », *J Mater Sci: Mater Med*, 6(8), p. 460-472.
- [67] Ross-Murphy S. B., 1992, « Structure and rheology of gelatin gels: recent progress », *Polymer*, 33(12), p. 2622-2627.
- [68] Bigi A., Cojazzi G., Panzavolta S., Rubini K., et Roveri N., 2001, « Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking », *Biomaterials*, 22, p. 763-768.
- [69] Wittwer F., et Tomka I., 1987, « Method for molding capsules ». Brevet européen N° 0.090.600.
- [70] Cutter C. N., 2006, « Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods », *Meat Science*, 74(1), p. 131-142.

- [71] Bigi A., Bracci B., Cojazzi G., Panzavolta S., et Roveri N., 1998, « Drawn gelatin films with improved mechanical properties », *Biomaterials*, 19(24), p. 2335-2340.
- [72] Bigi A., Borghi M., Cojazzi G., Fichera A. M., Panzavolta S., et Roveri N., 2000, « Structural and mechanical properties of crosslinkined drawn gelatin films », *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 61, p. 451-459.
- [73] Achet D., et He X. W., 1995, « Determination of the renaturation level in gelatin films », *Polymer*, 36(4), p. 787-791.
- [74] Swaisgood H. E., 1986, « Chemistry of milk protein », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York, p. 1-60.
- [75] Cayot P., et Lorient D., 1998, *Structures et technofonctions des protéines du lait*, Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- [76] Dybing S. T., et Smith D. E., 1991, « Relation of chemistry and processing procedures to whey protein functionality: A review », *Cultured Dairy Products Journal*, 57, p. 377-391.
- [77] Sawyer L., Papiz M. Z., North A. T. C., et Eliopoulos E. E., 1985, « Structure and function of bovine β -lactoglobulin », *Biochemical society transactions*, 13, p. 265-266.
- [78] Papiz M. Z., Sawyer L., Eliopoulos E. E., North A. T. C., Findlay J. B. C., Sivaprasadarao R., Jones T. A., Newcomer M. E., et Kraulis P. J., 1986, « The structure of β -lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein », *Nature*, 324, p. 383-385.
- [79] Mate J. I., et Krochta J. M., 1996, « Comparison of oxygen and water vapor permeabilities of whey protein isolate and β -lactoglobulin edible films », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, p. 3001-3004.
- [80] Sothornvit R., et Krochta J. M., 2001, « Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films », *Journal of Food Engineering*, 50(3), p. 149-155.
- [81] Alexandrescu A. T., Evans P. A., Pitkeathly M., Baum J., et Dobson C. M., 1993, « Structure and dynamics of the acid-denatured molten globule state of α -lactalbumin : a two-dimensional NMR study », *Biochemistry*, 32, p. 1707-1718.
- [82] Ewbank J. J., et Creighton T. E., 1993, « Structural characterization of the disulfide folding intermediates of bovine α -lactalbumin », *Biochemistry*, 32, p. 3694-3707.
- [83] Morr C. V., 1979, « Conformation and functionality of milk proteins », *Functionality and protein structure*, A. Pour-El.
- [84] Whitney R. M., Brunner J. R., Ebner K. E., Farrell H. M., Jr Josephson R. V., Morr C. V., et Swaisgood H. E., 1976, *J. Dairy Sci.*, 59, p. 795.
- [85] Morr C. V., 1975, « Chemistry of Milk Proteins in Food Processing », *Journal of Dairy Science*, 58(7), p. 977-984.

- [86] McHugh T. H., et Krochta J. M., 1994, « Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films », *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, p. 307-312.
- [87] McHugh T. H., Aujard J. F., et Krochta J. M., 1994, « Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties », *Journal of Food Science*, 59, p. 416.
- [88] Pérez-Gago M. B., Nadaud P., et Krochta J. M., 1999, « Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films », *Journal of Food Science*, 64(6), p. 1034-1037.
- [89] Sothornvit R., Olsen C. W., McHugh T. H., et Krochta J. M., 2007, « Tensile properties of compression-molded whey protein sheets: Determination of molding condition and glycerol-content effects and comparison with solution-cast films », *Journal of Food Engineering*, 78(3), p. 855-860.
- [90] Hernandez-Izquierdo V. M., Reid D. S., McHugh T. H., Berrios J. D. J., et Krochta J. M., 2008, « Thermal transitions and extrusion of glycerol-plasticized whey protein mixtures », *Food Engineering and Physical Properties*, 73(4), p. E169-E175.
- [91] Banerjee R., et Chen H., 1995, « Functional Properties of Edible Films Using Whey Protein Concentrate », *J. Dairy Sci.*, 78(8), p. 1673-1683.
- [92] Pérez-Gago M. B., et Krochta J. M., 2002, « Chapter 6 : Formation and properties of whey protein films and coatings », *Whey protein films and coatings*, Gennadios A., p. 159-179.
- [93] Shellhammer T. H., et Krochta J. M., 1997, « Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount », *Journal of Food Science*, 62(2), p. 390-394.
- [94] Sothornvit R., Olsen C. W., McHugh T. H., et Krochta J. M., 2003, « Formation conditions, water-vapor permeability, and solubility of compression-molded whey protein films », *Food Engineering and Physical Properties*, 68(6), p. 1985-1989.
- [95] Miller K. S., et Krochta J. M., 1997, « Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review », *Trends in Food Science & Technology*, 8(7), p. 228-237.
- [96] Miller K. S., Upadhyaya S. K., et Krochta J. M., 1998, « Permeability of d-Limonene in whey protein films », *Journal of Food Science*, 63(2), p. 244-247.
- [97] Kinsella J. E., 1984, « Milk proteins: physicochemical and functional properties », *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 21(3), p. 197-262.
- [98] Dalglish D., 2004, « A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy », *International Dairy Journal*, 14, p. 1025-1031.

- [99] Schmidt D. G., 1986, « Association of caseins and casein micelle structure », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York, p. 61-86.
- [100] Morr C. V., 1986, « Functional properties of milk proteins and their use as food ingredients », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York, p. 375-399.
- [101] Bloomfield V. A., et Mead Jr. R. J., 1975, « Structure and Stability of Casein Micelles¹ », *Journal of Dairy Science*, 58(4), p. 592-601.
- [102] Slattery C. W., 1976, « Review: Casein Micelle Structure; An Examination of Models », *Journal of Dairy Science*, 59(9), p. 1547-1556.
- [103] Chen H., 2002, « Chapter 7: Formation and properties of casein films and coating », *Protein-Based Films and Coatings*, Gennadios A., USA, p. 181-211.
- [104] Muller L. L., 1986, « Manufacture of casein, caseinates and co-precipitates », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York, p. 315-337.
- [105] Southward C. R., et Walker N. J., 1980, « The manufacture and industrial use of casein », *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 15, p. 201-217.
- [106] Mulvihill D. M., et Fox P. F., 1989, « Physico-chemical and functional properties of milk proteins », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York.
- [107] Bingham E., 1971, « Influence of temperature and pH on the solubility of α s1-, β - and κ -casein », *Journal of Dairy Science*, 54, p. 1077-1080.
- [108] Bastier P., Dumay E., et Cheftel J. C., 1993, « Physico-chemical and Functional Properties of Commercial Caseinates », *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 26(6), p. 529-537.
- [109] Strange E. D., Van Hekken D. L., et Holsinger V. H., 1994, « Effect of Sodium Chloride on the Solubility of Caseins¹ », *Journal of Dairy Science*, 77(5), p. 1216-1222.
- [110] Graf E., et Bauer H., 1976, « Chapter 7 : Milk and milk products », *Food emulsions*, Stig Friberg, New York and Basel Marcel Dekker, p. 295-383.
- [111] Khwaldia K., Perez C., Banon S., Desobry S., et Hardy J., 2004, « Milk proteins for edible films and coatings », *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 44, p. 239-251.
- [112] Fox P. F., 1986, « Heat-induced coagulation of milk », *Developpments in dairy chemistry*, Fox P.F., Elsevier Appllied Science, London, New York, p. 189-228.
- [113] Hayes J. F., Southby P. M., et Muller L. L., 1968, « Factors affecting the viscosity of caseinates in dispersions of high concentrations », 35(1), p. 31-47.

- [114] Paulsson M., et Dejmek P., 1990, « Thermal denaturation of whey proteins in mixtures with caseins studied by differential scanning calorimetry », *Journal of Dairy Science*, 73, p. 590-600.
- [115] Girdhar B. K., et Hansen P. M. T., 1974, « Soluble casein by Adsorption of ammonia », *J Food Science*, 39(6), p. 1237-1243.
- [116] Arvanitoyannis I., et Biliaderis C. G., 1998, « Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends », *Food Chemistry*, 62(3), p. 333-342.
- [117] Khwaldia K., Banon S., Desobry S., et Hardy J., 2004, « Mechanical and barrier properties of sodium caseinate-anhydrous milk fat edible films », *International Journal of Food Science and Technology*, 39, p. 403-411.
- [118] Audic J.-L., et Chaufer B., 2005, « Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate », *European Polymer Journal*, 41(8), p. 1934-1942.
- [119] Krochta J. M., Pavlath A. E., et Goodman N., 1990, « Edible films from casein-lipid emulsions for lightly-processed fruits and vegetables », *Engineering and Food*, 2, p. 329-340.
- [120] Avena-Bustillos R. J., et Krochta J. M., 1993, « Water Vapor Permeability of Caseinate-Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content », *Journal of Food Science*, 58(4), p. 904-907.
- [121] Fabra M. J., Talens P., et Chiralt A., 2008, « Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures », *Journal of Food Engineering*, 85(3), p. 393-400.
- [122] Fritsch J., 1926, « Matière plastique à base de caséine : Galalithe », *Fabrication des matières plastiques : origine, transformations, applications*, Desforges, Girardot & Cie. Paris, p. 154-161.
- [123] Fournier M., Pinel R., Deroide I., Clément P., Des Closières R., Gautier J. L., Durr A., Chevassus F., Bruslé J., Morel P. H., Blaise R., Lapairy G., Priou R., et Sommet P., 1953, « La Galalithe », *Matières plastiques*, Presses documentaires, Paris, p. 39-52.
- [124] Brigando J., 1941, « La caséine et ses dérivés plastiques », *Le lait*, 21(201-203), p. 17-28.
- [125] Frinault A., Gallant D. J., Bouchet B., et Dumont J. P., 1997, « Preparation of Casein Films by a Modified Wet Spinning Process », *Journal of Food Science*, 62(4), p. 744-747.
- [126] Fernández-Gutiérrez J. A., San Martín-Martínez E., Martínez-Bustos F., et Cruz-Orea A., 2004, « Physicochemical Properties of Casein-Starch Interaction Obtained by Extrusion Process », *Starch/Stärke*, 56(5), p. 190-198.
- [127] Audic J.-L., et Chaufer B., 2010, « Caseinate based biodegradable films with improved water resistance », *Journal of Applied Polymer Science*, 117, p. 1828-1836.

- [128] Brault D., D'Aprano G., et Lacroix M., 1997, « Formation of free-standing sterilized edible films from irradiated caseinates », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, p. 2964-2969.
- [129] Lacroix M., Jobin M., Mezgheni E., Srour M., et Boileau S., 1998, « Polymerization of calcium caseinates solutions induced by gamma irradiation », *Radiation Physics and Chemistry*, 52(1-6), p. 223-227.
- [130] Dutton A., et Singer S. J., 1975, « Crosslinking and labeling of membrane proteins by transglutaminase-catalyzed reactions. », *Proc Natl Acad Sci U S A*, 72(7), p. 2568-2571.
- [131] Flanagan J., et Singh H., 2006, « Conjugation of sodium caseinate and gum arabic catalyzed by transglutaminase », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, p. 7305-7310.
- [132] Motoki M., Aso H., Seguro K., et Nio N., 1987, « α s1-Casein film prepared using transglutaminase », *Agricultural Biology and Chemistry*, 51(4), p. 993-996.
- [133] Siew D. C. W., Heilmann C., Easteal A. J., et Cooney R. P., 1999, « Solution and film properties of sodium caseinate/glycerol and sodium caseinate/polyethylene glycol edible coating systems », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, p. 3432-3440.
- [134] Arvanitoyannis I., Psomiadou E., et Nakayama A., 1996, « Edible films made from sodium caseinate, starches, sugars or glycerol. Part 1 », *Carbohydrate Polymers*, 31(4), p. 179-192.
- [135] Ressouany M., Vachon C., et Lacroix M., 1998, « Irradiation dose and calcium effect on the mechanical properties of cross-linked caseinate films », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, p. 1618-1623.
- [136] Gontard N., Guilbert S., et Cuq J.-L., 1993, « Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water barrier properties of an edible wheat gluten film », *Journal of Food Science*, 58(1), p. 206.
- [137] Barreto P. L. M., Roeder J., Crespo J. S., Maciel G. R., Terenzi H., Pires A. T. N., et Soldi V., 2003, « Effect of concentration, temperature and plasticizer content on rheological properties of sodium caseinate and sodium caseinate/sorbitol solutions and glass transition of their films », *Food Chemistry*, 82(3), p. 425-431.
- [138] Jasse B., Seuvre A. M., et Mathlouthi M., 1994, « Permeability and structure in polymeric packaging materials », *Food packaging and preservation*, Mathlouthi M., Blackie, p. 1-22.
- [139] Subirade M., Kelly I., Guéguen J., et Pézolet M., 1998, « Molecular basis of film formation from a soybean protein: comparison between the conformation of glycinin in aqueous solution and in films », *International Journal of Biology and Macromolecules*, 23, p. 241-249.

- [140] Morillon V., Debeaufort F., Blond G., Capelle M., et Voilley A., 2002, « Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review », *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 42(1), p. 67-89.
- [141] Debeaufort F., et Voilley A., 1995, « Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films », *International Journal of Food Science & Technology*, 30(2), p. 183-190.
- [142] McHugh T. H., et Krochta J. M., 1994, « Milk-protein-based edible films and coatings », *Food Technology*, 48, p. 97-103.
- [143] Mauer L. J., Smith D. E., et Labuza T. P., 2000, « Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible β -casein films », *International Dairy Journal*, 10(5-6), p. 353-358.
- [144] Guilbert S., 1986, « Technology and application of edible protective films », *Food packaging and preservation*, Mathlouthi M., London: Elsevier, Applied Science Publishing Co., p. 371-394.
- [145] Gontard N., Duchez C., Cuq J.-L., et Guilbert S., 1994, « Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties », *International Journal of Food Science & Technology*, 29, p. 39-50.
- [146] Tossavainen O., Hakulin S., Kervinen R., Myllymäki O., et Linko P., 1986, « Neutralisation of acid casein in a twin-screw cooking extruder », *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 19, p. 443-447.
- [147] Taylor D. P., Carpenter C. E., et Walsh M. K., 2006, « Influence of sulfonation on the properties of expanded extrudates containing 32% whey protein », *Journal of Food Science*, 71, p. E17-E24.
- [148] Arêas J. A., 1992, « Extrusion of food proteins », *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 32, p. 365-392.
- [149] Rossen J. L., et Miller R. C., 1973, « Food extrusion », *Food Technology*, 27, p. 46.
- [150] Fichtali J., et Van de Voort F. R., 1989, « Fundamental and practical aspects of twin screw extrusion », *Cereal Food World*, 34(11), p. 921-928.
- [151] Dixon Phillips R., 1989, « Effect of extrusion cooking on the nutritional quality of plant proteins », *Protein quality and the effects of processing*, Dixon Phillips R. ; Finley J.W., Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, p. 219.
- [152] Harper J. M., 1986, « Extrusion texturization of foods », *Food Technology*, 40, p. 70-76.
- [153] Agassant J.-F., Avenas P., Sergent J.-P., Vergnes B., et Vincent M., 1996, *La mise en forme des matières plastiques*, London, Paris, New-York, Lavoisier.

- [154] Wall J. S., et Huebner F. R., 1981, « Adhesion and cohesion », *Protein Functionality in Foods*, Cherry, J.P., Washington: American Chemical Society, p. 111.
- [155] Hager D. F., 1984, « Effects of extrusion upon soy concentrate solubility », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, p. 293-296.
- [156] Rhee K. C., Kuo C. K., et Lusas E. W., 1981, « Texturization », *ACS Symposium Series*, 147, p. 52.
- [157] Sears J. K., et Darby J. R., 1982, *Mechanism of plasticizer action*, John Wiley and Sons, New York, NY.
- [158] Daniels C. A., 1989, *Polymers: structure and properties*, Lancaster, PA: Technomic Publishing Company.
- [159] Immergut E. H., et Mark H. F., 1965, « Principles of plasticization », *Plasticization and plasticizer process*, R.F. Gould, American Chemical Society, USA, p. 1-26.
- [160] Wilson A. S., 1995, *Plasticizers: principles and practice*, The Institute of Materials, London, UK.
- [161] Sothornvit R., et Krochta J. M., 2005, « Plasticizers in edible films and coatings », *Innovations in Food Packaging*, p. 403-433.
- [162] Sothornvit R., Reid D. S., et Krochta J. M., 2002, « Plasticizer effect on the glass transition temperature of beta-lactoglobulin (β -Lg) films », *Transactions of the ASAE*, 45, p. 1479-1484.
- [163] Rouilly A., Orliac O., Silvestre F., et Rigal L., 2001, « DSC study on the thermal properties of sunflower proteins according to their water content », *Polymer*, 42(26), p. 10111-10117.
- [164] Guilbert S., et Gontard N., 1995, « Edible and biodegradable food packaging », *Foods and packaging materials-Chemical interactions*, Ackermann P.; Jägerstad M. et Ohlsson T., The Royal society of Chemistry, Cambridge, UK, p. 159-174.
- [165] Tolstoguzov V., 1993, « Thermoplastic extrusion-the mechanism of the formation of extrudate structure and properties », *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(4), p. 417-424.
- [166] Fukushima D., 1969, « Denaturation of soybean proteins by organic solvents », *Cereal Chemistry*, 46, p. 156-163.
- [167] Onwulata C. I., Tunick M. H., et Qi P. X., 2011, « Extrusion texturized dairy proteins: processing and application », *Advances in Food and Nutrition Research*, 62, p. 173-200.
- [168] Schuck P., Blanchard E., Dolivet A., Méjean S., Onillon E., et Jeantet R., 2005, « Water activity and glass transition in dairy ingredients », *Lait*, 85, p. 295-304.

- [169] Atkins A. G., 1987, « Basic principles of mechanical failure in biological systems », Food structure and behaviour, Blanshard, J.M.V. and Lillford, P., Academic Press, London, p. 149.
- [170] Kalichevsky M. T., Blanchard J. M. V., et Tokarczuk P. F., 1993, « Effect of water content and sugars on the glass transition of casein and sodium caseinate », International Journal of Food Science and Technology, 28, p. 139-151.
- [171] Angell C. A., 2002, « Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions », Chemical Reviews, 102, p. 2627-2650.
- [172] Laemmli U. K., 1970, « Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 », Nature, 227, p. 680-685.
- [173] Qi P. X., et Onwulata C. I., 2011, « Physical properties, molecular structures, and protein quality of texturized whey protein isolate: effect of extrusion temperature. », Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, p. 4668-4675.
- [174] Slade L., et Levine H., 1991, « Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety », Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition, 30, p. 115-360.
- [175] Labuza T. P., et Busk C. G., 1979, « An analysis of the water binding in gels », Journal of Food Science, 44, p. 1379-1385.
- [176] Rowland S. P., 1980, Water in Polymers, American Chemical Society, USA.
- [177] Gennadios A., et Weller C. L., 1994, « Moisture adsorption by grain protein films », Transactions of American Society of Agricultural Engineers, 37, p. 535-539.
- [178] Mallikarjunan K., Antonova I., et Chinnan M. S., 2002, « Modeling water vapor, gas, and solute transport through protein films », Protein-Based Films and Coatings, Gennadios A., USA, p. 329-339.
- [179] Al-Muhtaseb A. H., McMinn W. A. M., et Magee T. R. A., 2002, « Moisture sorption isotherm, characteristics of food products: A review », Food and Bioproducts Processing, 80, p. 118-128.
- [180] Sahu J. K., et Das H., 2010, « Moisture sorption isotherm, properties of sorbed water and heat of sorption of Sandesh- An indian milk product », Journal of Food Processing and Preservation, 34, p. 152-166.
- [181] Gamache E., « Soufflage de gaine », Techniques de l'Ingénieur, traité Plastiques et Composites, (1-18).
- [182] Agassant J.-F., Avenas P., et Sergent J.-P., 1986, La mise en forme des matières plastiques-Approche thermomécanique, Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- [183] Fabra M. J., Talens P., et Chiralt A., 2010, « Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films », Journal of Food

Engineering, 96, p. 356-364.

[184] Srinivasan M., Singh H., et Munro P. A., 2002, « Formation and stability of sodium caseinate emulsions: influence of retorting (121°C for 15min) before or after emulsification », *Food Hydrocolloids*, 16, p. 153-160.

[185] Srinivasan M., Singh H., et Munro P. A., 2003, « Influence of retorting (121°C for 15min), before or after emulsification, on the properties of calcium caseinate oil-in-water emulsions », *Food Chemistry*, 80, p. 61-69.

[186] Srinivasan M., Singh H., et Munro P. A., 1999, « Adsorption behaviour of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions », *International Dairy Journal*, 9, p. 337.

[187] Debeaufort F., Martin-Polo M., et Voilley A., 1993, « Polarity Homogeneity and Structure Affect Water Vapor Permeability of Model Edible Films », *J Food Science*, 58(2), p. 426-429.

[188] Jayasekara R., Harding I., Bowater I., Christie G. B. Y., et Lonergan G. T., 2004, « Preparation, surface modification and characterisation of solution cast strach PVA blended films », *Polymer Testing*, 23, p. 17-27.

[189] Skupin G., « Product Information: Ecoflex® F BX 7011- Biodegradable polyester for compostable film ».

[190] Witt U., Einig T., Yamamoto M., Kleeberg I., Deckwer W.-D., et Müller R.-J., 2001, « Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates », *Chemosphere*, 44, p. 289-299.

[191] Pötschke P., et Paul D. R., 2003, « Formation of co-continuous structures in melt-mixed immiscible polymer blends », *Journal of Macromolecular Science Part C-Polymer Reviews*, C43, p. 87-141.

Résumé

La biomasse représente l'une des principales alternatives à l'utilisation du pétrole dans la plasturgie. Grâce à leurs propriétés fonctionnelles, les caséinates sont une matière première prometteuse pour la fabrication de films plastiques pour des applications dans l'emballage biodégradable et hydrosoluble.

La transformation du caséinate de sodium par les techniques habituellement utilisées dans la plasturgie a été démontrée. Des extrudats de caséinate plastifié au glycérol ont été obtenus au moyen d'une extrudeuse bi-vis corotative. La caractérisation physico-chimique du matériau obtenu a confirmé la thermostabilité de cette protéine et a montré la dépendance du comportement du matériau vis-à-vis de l'humidité ambiante. Pour une variation du taux d'Humidité Relative, de 40 à 90% et une augmentation de la concentration du glycérol, plastifiant hygroscopique, le matériau passe d'un état vitreux (rigide) à un état caoutchouteux (mou). Des films fins ont été ensuite réalisés, à partir des extrudats thermoplastiques, par extrusion gonflage. La perméabilité à la vapeur d'eau des films de caséinate de sodium a été étudiée et a montré que ces matériaux sont de mauvaises barrières à l'humidité.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude de mélanges caséinate de sodium/caséinate de calcium d'un côté et caséinate de sodium/PBAT de l'autre. Le mélange des deux caséinates a permis d'augmenter la tenue mécanique du mélange, à partir de 50% de caséinate de calcium, et de retarder le transfert hydrique à travers le film. Dans le même sens, l'ajout du PBAT, a augmenté jusqu'à deux fois plus, le module d'Young des mélanges mais a baissé la résistance au transfert d'humidité du film à cause de l'incompatibilité des deux polymères.

Mots clés : Caséinates, extrusion bi-vis, glycérol, extrusion gonflage, emballage hydrosoluble, matériau biodégradable, mélange de polymères.

Abstract

Biomass is one of the main alternatives to the use of oil in plastics field. Due to their various functional properties, caseinates are considered as an interesting raw material for making biodegradable and water-soluble packaging.

The transformation of sodium caseinate by the processes used for synthetic plastics industry has been demonstrated. A corotating twin-screw extruder was used to get glycerol plasticized caseinate pellets. The physicochemical properties of the obtained material have confirmed the thermal stability of this protein and demonstrated the influence of surrounding moisture on material behavior. With the Relative Humidity varying from 40 to 90% and increasing the glycerol content, an hydrous plasticizer, the mechanical properties of sodium caseinate based materials changed from those of glassy (rigid) to rubbery (soft) plastics. The pellets were then taken over to make film using a blown-film extruder. The water vapour permeability of blown film was studied and showed that sodium caseinate based films are a poor moisture barrier.

The second part dealt with the sodium caseinate blend. Sodium caseinate/calcium caseinate and sodium caseinate/PBAT blends was performed. Adding calcium caseinate, started from 50%, improved the mechanical properties and delayed hydrous transfer through the film. Concerning the sodium caseinate/PBAT blends, adding PBAT increased until twice more the material's Young modulus but decreased the moisture transfer resistance because of the incompatibility between the two polymers.

Key words: Caseinates, twin-screw extruder, glycerol, blown-film extruder, water soluble packaging, biodegradable material, polymers blend.