



**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**

**FACULTÉ DES SCIENCES  
ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR**  
\*\*\*\*\*

**DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS**

*Mémoire de fin d'étude*

En vue de l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat

**Spécialité : Génie des Procédés**

**Option : Génie Chimique**

**Presenté Par : Maàmri Mohamed Mounir**

*Thème*

*Détermination du diagramme de phase du système  
caséinate de sodium-gomme xanthane-eau*

**GHÉRAF Nouredine M.C**  
**SEKHRI Lakhdar Prof**  
**GENDOUR Zaouia M.A.C.C**  
**REBIHA Mounia M.A**

**Président**  
**Examineur**  
**Examinatrice**  
**Promotrice**

**Année Universitaire 2006/2007**

## *Remerciements*

Nous tiendrons à adresser nos remerciements en premier lieu à Dieu, qui nous a accordé la patient et la volonté pour ce travail de recherche puisse voir le jour.

Nous tiendrons à remercier notre directeur de mémoire, **M<sup>me</sup>REBIHA Mounia**, qui par ses directives, conseils et orientations a pu conduire ce travail de recherche, tout en étant toujours en contact avec nous. Comme témoignage de notre profonde reconnaissance.

Comme nous remercions, **Dr Segni LADJEL**, chef du département de génie des procédés.  
Nous remercions tous les membres de jury..

Nous remercions notre prof ; **BEGGARI ELAICH**, qui nous a beaucoup aidés pendant tout ce mémoire.

Comme nous n'oublions pas de remercier tous les professeurs de notre département et l'équipe de laboratoire de

# إلى الأهل

إلى أُنحلى إنسان فى الوجود إلى التى هى سر وجودى  
أُمى الغالية الحبيبة.  
إلى روح أبى الحبيب .

إلى جميع إخوتى : النذير ، حمزة ، فرحات ، وفاء و زينب  
إلى أعمامى و أخوالى و جميع الأهل و الأصدقاء و كل  
عائلة عمري صغيرهم و كبيرهم و عائلة روائى و  
عائلة عياو و جميع سكان عين القرية



محمد نذير عمري

## Sommaire :

Introduction générale.....	01
<b>Chapitre I</b> Caséines et caséinates	
I-1-Les protéines .....	01
I-1-1-Les protéines du lait.....	01
I-1-2-Dénaturation d'une protéine.....	02
I-1-3-Les gels de protéines.....	02
I-2-Les caséines.....	04
I-2-1-Obtention des caséines de lait.....	05
I-2-2-Les submicelles de caséine : un ensemble très différencié.....	05
I-2-3-Composition et structure des caséines.....	06
I-2-3-1- $\beta$ -caséine.....	07
I-2-3-2- $\alpha_{s1}$ -caséine.....	07
I-2-3-3- $\kappa$ -caséine.....	08
I-3-Micelles de caséine.....	08
I-4-Propriétés des caséines.....	10
I-5-Caséinate de sodium.....	11
I-5-1-préparation des caséinates de sodium.....	12
I-5-2-Caractères des caséinates de sodium.....	13
I-5-3-Application des caséines et caséinates.....	13
<b>Chapitre II</b> Gomme xanthane	
II-1-Historique.....	15
II-2-Quelques notions sur les carbohydrates.....	15
II-3-Structure du xanthane.....	16
II-3-1-Structure primaire.....	16
II-3-2-structure secondaire.....	17
II-3-3-Structure chimique de motif.....	18
II-4-Conformation du xanthane à l'état dilué.....	18
II-4-1-Tasition ordre-désordre.....	18
II-4-2-Etat « natif ».....	19
II-4-3-Etat « dénaturé ».....	19
II-4-4-Etat « renaturé ».....	20
II-5-conformation de l'état concentré.....	20
II-6-Production de gomme xanthane.....	20
II-7-données bibliographiques concernant le xanthane en milieu acide.....	22
II-8-Propriétés acido-basiques du xanthane.....	22
II-9-Application.....	23
II-10-Avenir de la gomme xanthane.....	28
<b>Chapitre III</b> solutions macromoléculaires	
III-1-Solution de polymères.....	30
III-1-1-Intrraction moléculaires.....	30
III-1-1-1-Intrraction de Van der Waals.....	30
III-1-1-2-Liasions hydrogène.....	30
III-1-1-3-Liasions ioniques.....	31
III-1-2- <i>Classification des solutions</i> .....	31
III-1-3-Théorie de Flory-Huggins.....	32
III-1-3-1-Slutions macromoléculaires réelles.....	33
III-1-3-2-Solutions macromoléculaires diluées.....	34
III-1-4-Conditions de miscibilité et de séparation des phase.....	34

III-2-Mélange polymère –tension actif.....	35
III-2-1-classification.....	35
III-2-2-propriétés.....	36
III-2-2-1-Propriétés épaississantes.....	36
III-2-2-2-propriétés gélifiantes.....	36
III-3-Intracation protéine-polysaccharide.....	37
III-4-Diagramme de phase .....	38
<b>Chapitre IV</b> partie expérimental.	
VI-1-Introduction .....	39
VI-2-Matériels et méthodes de mesures.....	39
VI-3-Produits utilisées.....	39
VI-3-1-Caséinate de sodium.....	39
VI-3-2-Gomme Xanthane.....	39
VI-3-3-Azidure de sodium.....	39
VI-3-4-L'eau distillé.....	39
VI-4-Mode de préparation des solutions polymériques.....	40
VI-5-Description de la méthode des rapports de volume.....	40
VI-6-Résultats et discussions.....	41
Conclusion.....	44
Bibliographies.....	45

Symbole	Désignation	Unité
T	Température	[K]
C	Concentration	[mole/l]
Mm	Masse molaire	[g/mole]
$\Delta G_{\text{mél}}$	Variation de l'énergie libre de mélange	[joule]
$\Delta H_{\text{mél}}$	Variation de l'enthalpie de mélange	[joule/K]
$\Delta S_{\text{mél}}$	Variation de l'entropie de mélange	[joule/K]
$\Delta S_{\text{con}}$	Variation de l'entropie conformationnelle	[joule/K]
Z	Nombre d'interaction	/
$n_1$	Molécule de solvant	/
$n_2$	Macromolécule	/
K	Constante de Boltzmann	/
R	Constante de gaz parfait	[joule/mol.K]
Na	Nombre d'Avogadro	/
$\Phi_1$	Fonction volumique de solvant	[1]
$\Phi_2$	Fonction volumique de polymère	[1]
$N_1$	Nombre de mole de solvant	/
$N_2$	Nombre des moles de macromolécules	/
$E_{11}$	Energie solvant-solvant	[joule/K]
$E_{12}$	Energie solvant- segment	[joule/K]
$E_{22}$	Energie segment-segment	[joule/K]
$X_{12}$	Paramètre d'interaction solvant-polymère	[1]
$V_m$	Volume molaire	[m <sup>3</sup> /moule]
$\delta_1$	Paramètre de solubilité de solvant	[1]
$\delta_2$	Paramètre de solubilité polymère	[1]
$X_{12,h}$	Paramètre de contribution enthalpique	[1]
$X_{12,s}$	Paramètre de contribution entropique	[1]
U	La circonférence	[m]
$V_1^\circ$	Volume molaire de solvant pur	[m <sup>3</sup> /moule]
pH	Potentiel de hydrogène	/
pI	Potentiel point isoélectrique	/
CN-Na	Caséinates de sodium	/

## LISTE DE ILLUSTRATION, GRAPHIQUE ET TABLES

Figure I-1 :	Concentration massique [g/l] de différence protéine du lait	02
Figure I-2 :	Modèle tridimensionnel pour la caséine de Kappa	08
Figure I-3 :	Modèle de micelles de caséine proposée par Waugh	09
Figure I-4 :	Modèle pour des micelles de caséine proposée par Morr	10
Figure II-1 :	La formule développée de la gomme xanthane	17
Figure II-2 :	Formule développée du motif du xanthane	18
Figure II-3 :	Schéma bloc du principe de la production de la gomme xanthane	21
Figure III-1 :	Représentation d'une solution macromoléculaire par un réseau. Modèle de Folry-Huggins	32
Figure III-2 :	Interaction protéine-polysaccharide dans une solution aqueuse	37
Figure III-3 :	Diagramme de phase du système eau-methylcellulose-dextran	38
Figure IV-1 :	Illustration schématique de différents résultats obtenus sous forme de courbe $r^+ = f(\alpha)$	42
Figure IV-2 :	Diagramme de phase du système caséine de sodium	43
Tableau I-1 :	Caractéristiques physico-chimique de protéine majeures du lait de vache	02
Tableau I-2 :	Principaux caractères de caséine	07
Tableau I-3 :	Composition moyenne des caséinates de sodium	12
Tableau II-1 :	Principales applications de la gamme xanthane en industrie alimentaire	25
Tableau IV-1 :	Les différences concentrations des mélanges préparés	41
Tableau IV-2 :	Rappelons que $\alpha = C_1^\circ$ et $1-\alpha = C_2/C_2^\circ$ .	42

# Introduction



## Introduction Générale

Les protéines du lait sont largement évaluées pour leurs bonnes propriétés émulsifiantes. Elles sont également des molécules polymériques et se comportent en tant que tels dans des systèmes alimentaires, particulièrement une fois mélangées à des polysaccharides. La complexité des protéines elles-mêmes, et la multicomposition des systèmes alimentaires requièrent des études pour comprendre les propriétés et la stabilité de ces systèmes.

La texture et la stabilité des systèmes dispersés dépendent non seulement des propriétés des protéines et des polysaccharides, mais des mécanismes se produisant entre eux ainsi que de la nature et des forces d'interaction qui peuvent avoir lieu entre les constituants du mélange polymère/polymère.

La possibilité de préparer des produits stables à base du mélange protéine polysaccharide est limitée par une faible compatibilité thermodynamique des composés macromoléculaires en solution conduisant à une séparation de phase. Ceci s'illustre, entre autres, par les interactions entre les protéines et les polysaccharides présentes lorsque certaines conditions sont rencontrées. L'intensité et la nature des interactions varient selon la nature et la concentration des biopolymères et les conditions du milieu le pH, la force ionique et la température.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'équilibre de phase dans le système caséinate de sodium-gomme xanthane-eau et la possibilité de contrôler la compatibilité des deux polymères en solution, en construisant le diagramme de phase.

La présente étude est composée de deux grandes parties, une partie théorique, dans laquelle on retrouve trois chapitres :

- Dans le premier on donne un aperçu sur les caséines et les caséinates, leur composition, leurs propriétés ainsi que les méthodes de leur préparation.
- La seconde est consacrée à une étude bibliographique sur la gomme xanthane.
- Dans le dernier, un aperçu sur les interactions macromoléculaires.

La partie expérimentale comporte :

- Une description du protocole expérimental.
- Discussion des résultats obtenus.

Et on achèvera cette étude par une conclusion générale et des perspectives pour des études ultérieures.

# *Chapitre I*

## **Caséines et Caséinates**

## I-1- Les protéines

### I-1.1 Les protéines du lait

Les protéines du lait sont composées de deux grandes familles. La première est constituée des caséines ( $\alpha_{s1}, \alpha_{s2}, \beta, \kappa$ ) qui représentent environ 80 % des protéines vraies. La seconde regroupe les protéines solubles, qui sont constituées essentiellement de la  $\beta$  — lactoglobuline, de l' $\alpha$  — lactalbumine, du sérum albumine et du immunoglobuline. La figure I-1 permet d'observer le poids de ces différentes familles dans la composante protéinique du lait. Le tableau 1-1 permettra pour sa part de donner un aperçu global des caractéristiques physico-chimiques de ces six protéines laitières principales de lait de vache [1].

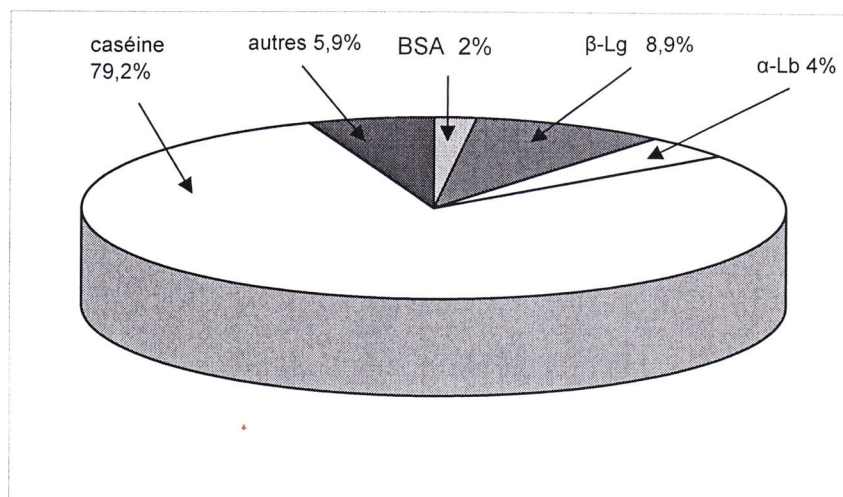


Figure I-I: Concentration massique (g/l) des différentes protéines du lait;

Tableau 1-1 : Caractéristiques physico-chimiques des protéines majeures du lait de vache;

B- Lg=  $\beta$ -lactoglobuline;  $\alpha$ - Lb =  $\alpha$  - lactalbumine ; C = calculée ; E = expérimentale

MM = masse moléculaire; H $\Phi$  l'hydrophobicité totale en KJ par résidu d'acide aminé [1].

protéines	Charge à pH=6.6		Point iso-ionique		Volume Spécifique		Absorption A280nm		MM (Da)	H
	C	E	C	E	C	E	C	E		
Caséine $\alpha$ 1B	-21	-23	6	5.1	0.72	0.73	1.05	1.01	23612	4.89
Caséine $\alpha$ 2A	-15	n.d.	5.3	n.d.	0.72	n.d.	1.1	n.d.	25228	4.64
caséine $\beta$ A2	-12	n.d.	5.2	5.3	0.74	0.74	0.46	0.46	23980	5.58
caséine $\kappa$	-3	n.d.	5.6	5.4	0.73	n.d.	0.95	0.96	19005	5.12
$\beta$ -Lg	-11	-11	5.2	5.3	0.75	0.75	0.92	0.94	18362	5.03
$\alpha$ -Lb	2.6	n.d.	5.4	4.8	0.70	0.73	2.01	2.00	14174	4.68

Toutes les protéines sont formées d'une succession d'acides aminés liés les uns aux autres dans un ordre précis. La séquence des acides aminés d'une protéine (quel acide amine est le premier, le second, le troisième, le dernier) constitue ce qu'on appelle la structure primaire de la protéine. Les acides aminés sont formés d'un carbone auquel sont liés, un groupement amine ( $-NH_2$ ), un groupement acide ( $-COOH$ ), et une portion variable d'un acide aminé à l'autre (radical  $-R$ ) [2].

### **-I-1-2 Dénaturation d'une protéine**

La forme finale qu'adopte la protéine, sa structure tertiaire (ou quaternaire pour celles formées de plusieurs chaînes), dépend des forces responsables des liens reliant entre eux les radicaux des acides aminés constituant sa structure primaire. Dans certaines conditions, ces liens peuvent se défaire. La protéine peut alors changer de forme. La fonction biologique de la protéine est intimement liée à sa forme. La protéine modifiée ne peut donc généralement plus assurer sa fonction. Elle est alors dite dénaturée. Les trois principaux facteurs pouvant provoquer la dénaturation d'une protéine sont:

- **La chaleur:** l'agitation thermique a pour effet de briser les faibles liaisons hydrogène reliant les radicaux de la chaîne.
- **Un pH extrême:** la plupart des protéines se dénaturent en milieu trop acide ou trop alcalin.
- **Un milieu très concentré en électrolytes (ions).**

Une protéine peut également se dénaturer si on la place dans un solvant organique. Les régions hydrophobes se tournent vers l'extérieur alors que les hydrophiles se rassemblent au centre de la molécule. Certaines substances chimiques peuvent aussi réagir avec la protéine et briser les liaisons ioniques ou même les ponts disulfures [2].

### **I-1-4 Les gels de protéines**

Un gel de protéines peut être défini comme un état intermédiaire entre une solution et un précipité, où le liquide empêche l'effondrement du réseau en même temps que le réseau empêche le liquide de s'écouler. Ceci nécessite un équilibre entre les interactions protéines-protéines, protéines-eau, et des forces attractives et répulsives entre les chaînes polypeptidiques adjacentes. Un réseau de protéines est généralement maintenu par des liaisons non covalentes et résulte d'interactions hydrophobes, de liens d'hydrogène ou

d'interactions électrostatiques entre les chaînes polypeptidiques. Des liens covalents de type ponts désulfure peuvent également intervenir dans l'élaboration du réseau. La contribution relative de chaque type de liaisons est fonction des propriétés des protéines et des conditions de l'environnement. L'intégrité physique du gel est maintenue par le contre-équilibre des forces d'attraction et de répulsion entre les chaînes protéiques. Les facteurs qui peuvent affecter la gélification peuvent être soit intrinsèques soit extrinsèques.

Parmi les facteurs intrinsèques, on peut citer [5] :

- **Les interactions électrostatiques** - La charge nette de la molécule de protéine qui modifie les forces d'attraction et de répulsion, affecte les interactions protéine-protéine et protéine-solvant. Ces interactions électrostatiques sont le résultat changements de la force ionique ou du pH.
- **Les ponts disulfure et les échanges thiol-disulfure** - Les ponts disulfure, liens covalents entre les chaînes polypeptidiques impliquées dans la gélification des protéines augmentent la longueur apparente de la chaîne de polypeptide, au lieu de réagir comme un stabilisant initial du réseau. Les liens disulfures ne sont pas essentiels dans la gélification des protéines, mais leur rôle dans la gélification est associé à leur capacité d'accroître le poids moyen du poids moléculaire donc la longueur de la chaîne.
- **La masse moléculaire** - Les variations dans la résistance du gel peuvent être rattachées aux différences dans le poids moléculaire et la forme hydrodynamique de la protéine. Le poids moléculaire critique du polypeptide dans la formation d'un gel est d'environ 23000Da.
- **La composition en acides aminés** - La quantité d'acides aminés chargés versus d'acides aminés hydrophobes joue un rôle important dans le processus de gélification et les caractéristiques des gels résultants.
- **L'hydrophobicité** - L'association des acides aminés hydrophobes forme un amas entouré par une couche résiduelle polaire en contact avec le solvant. En raison de la proportion des résidus d'acides aminés non polaires à se positionner eux-mêmes à l'intérieur d'une molécule de protéine en solution, donc évitant tout contact avec le milieu aqueux qui l'entoure, seulement une portion de ceux-ci peut être retenue à l'extérieur constituant l'hydrophobicité effective. Ce type d'hydrophobicité se réfère

à la valeur représentant l'hydrophobicité de la protéine impliquée directement dans les interactions entre les protéines et le milieu ambiant.

Les facteurs extrinsèques sont les conditions de l'environnement entourant les protéines. Ceux-ci peuvent être relativement bien contrôlés afin de parvenir à une bonne formation d'un gel:

- **La concentration en protéine** - La concentration en protéine conditionne le nombre d'enchevêtrements susceptibles de se former lors de la gélification. En deçà d'une concentration minimale appelée concentration critique, le réseau gel ne peut être formé. La solidité du gel et la possibilité qu'il se déforme sont étroitement dépendants de la concentration en protéine.
- **Le pH** - La charge nette d'une protéine à son point isoélectrique est égal à zéro. Cependant, plus l'environnement autour de la protéine s'éloigne de ce point isoélectrique plus sa charge augmente. En conséquence, plus la charge nette est grande sur une molécule de protéine, plus il y a de répulsions électrostatiques entre les molécules, empêchant les interactions requises pour former la matrice de gel.
- **La température** - La température est un des facteurs les plus importants parce qu'elle conduit la force qui produit le dépliement des domaines protéiques lors de la gélification thermique.
- **La force ionique** - La force ionique a un effet significatif sur l'adsorption de l'eau, le gonflement et la solubilité des protéines ainsi que sur les caractéristiques finales du gel, et notamment sur sa microstructure.
- **Le type de sel** - Les ions monovalents ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ) forment une matrice gélifiée lorsque les forces ioniques sont de l'ordre de 100 mM alors que pour les ions divalents ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ) il suffit de faibles concentrations (10 -20 mM) [5].

## I.2 Les caséines

La caséine est un allergène très actif présent dans le lait [6], ainsi que le principal élément protéinique du fromage. Même les formules de substitution pour nourrissons, dérivées du lait et ayant subi une hydrolyse enzymatique poussée peuvent contenir des résidus de caséine [8]. Du fait de sa haute qualité et teneur en protéines, de sa faible quantité de lactose et de son goût neutre, la caséine est souvent utilisée comme complément alimentaire, ou bien encore pour enrichir certains aliments sur le plan nutritionnel. Parmi

ces produits enrichis en caséine, on peut notamment citer les céréales, les formules de substitution pour nourrissons ainsi que les boissons ou barres énergétiques. Mais on peut également la trouver dans les succédanés de lait en poudre, dans les sauces, les crèmes glacées, les vinaigrettes, les pâtisseries ou encore dans la crème fouettée.

### **1.2.1 Obtention des caséines de lait**

Les caséines se trouvent sous la forme soluble dans le lait. Pour les isoler on suit généralement les procédés suivants:

On verse 10 ml de lait précisément mesuré dans un récipient de 30 à 50 ml et on chauffe légèrement (environ 40°C). On chauffe, par ailleurs, 10 ml de tampon acétate de sodium pH 4.6 à la même température et on l'ajoute petit à petit au lait chaud en mélangeant avec un agitateur. On laisse refroidir le mélange puis, à l'issue de la centrifugation, on jète le surnageant. On remet le précipité en suspension dans 5 ml d'éthanol absolu en agitant sur vortex pour décoller le culot; puis on centrifuge pour jeter le surnageant et on remet alors en suspension dans 5 ml d'éthanol. On centrifuge de nouveau et on rejette le surnageant. Enfin, on étale le précipité sur une plaque de verre et on le fait sécher à l'étuve à 40°C, puis on récupère la caséine et on la pèse [9].

### **1.2.2 Les submicelles de caséine: un ensemble très différencié**

Les submicelles se composeraient de deux familles

- Des submicelles (notées F2) d'un diamètre de 6 nm et d'une masse voisine de 500 kDa contenant des caséines  $\kappa$ ,  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  dans un rapport molaire moyen  $(\alpha_1 + \alpha_2) / \kappa$  de 1:1, et qui sont à l'extérieur de la micelle;
- Des submicelles (notées F3) d'un diamètre de 10 nm et d'une masse entre 100 et 200 kDa, contenant des caséines  $\alpha_1$  et  $\beta$  dans un rapport molaire moyen  $\alpha_1 / \beta$  de 1:1, et qui sont à l'intérieur de la micelle de caséine.

Les submicelles existeraient indépendamment du calcium. L'association des caséines dans la submicelle se ferait par des interactions hydrophobes. Notons que rien ne démontre formellement l'existence des submicelles. A l'inverse, il ne se trouve pas de preuve pouvant infirmer ce modèle. Beaucoup d'arguments en la faveur de leur existence peuvent être cités. Certains chercheurs restent cependant perplexes quant à l'existence de submicelles [1].

Ces submicelles seraient composée d'un cœur hydrophobe (rayon de 3.8 nm en moyenne) entouré d'une zone lâche (floue) pouvant s'imbriquer avec une zone floue extérieure d'une submicelle.

Les submicelle reliées entre elles par des pont phosphocalciques formeraient une micelle dont le rayon moyen serait de 65nm. La micelle ne serait donc pas homogène, tel un gel continu, mais plutôt poreuse, non homogène et chevelue en surface. La chevelure (environ 12nm d'épaisseur) de la micelle, émise par les submicelle F2externes grâce à la présence des caséinesκ, pourrait être en partie à l'origine de la stabilité de la micelle en phase aqueuse [1].

### **I. 2.3 Composition et structure des caséines[10]**

Les caséines sont un complexe protéinique instable, largement répandues comme émulsifiants dus à leurs excellentes propriétés stabilisantes. Ce sont des protéines désordonnées, qui (dans quelques limites) peuvent être traitées en tant que polymères d'enroulement aléatoires spécifiques. Toutes les caséines sont de grosses molécules contenant du phosphore et un grand nombre d'acides aminés, elles présentent une teneur élevée en acide glutamique, en proline, en leucine, mais elles sont très pauvres en cystine. Le phosphore est incorporé dans les molécules sous forme de mono ester phosphorique des acides alcools: sérines thréonines. Les caséines sont les protéines thermostables et insolubles du lait, elles présentent 80 % des protéines totales du lait, les autres sont les protéines solubles: lactoglobulines et lactalbumines. A pH = 4.6, les charges électriques disparaissent et les caséines précipitent sous forme de gros flocons dans le lactosérum, c'est la coagulation acide. L'acidité peut provenir de la fermentation lactique du lactose ou par un apport d'acides dans le lait. Les caséines se comportent différemment que la plupart des protéines, elles ont des structures extrêmement flexibles.

La caséine a été encore fractionnée en trois parties différentes. Le tableau I.1 rassemble les principales caractéristiques des caséines.



**Tableau I.2.** Principaux caractères des caséines [10].

	Caséine $\alpha$ .	Caséine $\beta$	Caséine $\kappa$
Poids moléculaire	24000	24000	19000-23000
Point isoélectrique	4.1	4.5	3.7
Solubilité en présence de $\text{Ca}^{2+}$ à 4°C	"	+	+
Solubilité en présence de $\text{Ca}^{2+}$ à 25°C	"	-	+

### I. 2.3. 1. $\beta$ -caséine[10]

Les  $\beta$ -caséines représentent presque 33-35 % en poids de tout le contenu du caséine de lait de vache. Elles sont les plus intensivement étudiées des monomères de caséines. Cette protéine a toutes les caractéristiques moléculaires essentielles d'un excellent agent émulsifiant et d'un stabilisant polymérique. C'est un polyélectrolyte amphiphilique linéaire flexible qui pourrait être divisé en pièces hydrophiles et hydrophobes, d'un poids moléculaire pas trop élevé (24 k Da), et il porte une charge nette modérée de -15 e- à pH neutre. La protéine a une petite structure secondaire ordonnée et ne présente aucune réticulation covalente intramoléculaire. La distribution non-uniforme des résidus hydrophiles et hydrophobes dans la  $\beta$ -caséine, produit une structure moléculaire distinctement amphiphilique qui ressemble à un agent tensioactif hydrosoluble simple, ou à un copolymère en bloc. Elle s'assemble en micelles rudement sphériques au-dessus d'une certaine concentration critique. Bien que la molécule de  $\beta$ -caséine soit fortement désordonnée en solution, il s'avère qu'une certaine structure secondaire ordonnée peut être induite sur l'adsorption.

### I-2.3-2 $\alpha_{s1}$ -caséine[10]

Le monomère de caséine le plus abondant dans le lait de bovin est le  $\alpha_{s1}$ -caséine, une molécule légèrement plus petite que le  $\beta$ -caséine, mais plus fortement chargé (-22 e- à pH neutre). La molécule de  $\alpha_{s1}$ -caséine a également un caractère amphiphilique, mais l'analyse statistique montre que la distribution des résidus hydrophiles et hydrophobes est plus aléatoire que pour la  $\beta$ -caséine. Contrairement à la micellisation sphérique des  $\beta$ -caséines, les agrégats de  $\alpha_{s1}$ -caséine forment de longues chaînes par une série d'association consécutives. Les surfaces dispersées de particules stabilisées par les  $\alpha_{s1}$ -caséines sont plus fortement chargées que celles couvertes de  $\beta$ -caséine.

### I-2-3.3- $\kappa$ -caséine [10]

Elle est l'un des constituants de la caséine entière le plus intéressant, par sa composition et les propriétés qui en découlent. En présence de calcium à 0.3M, et à température ambiante, on observe une rupture du complexe de caséine. Les caséines  $\alpha_1$  et  $\beta$  précipitent et la fraction  $\kappa$  reste en solution. Elle est pauvre en phosphore, en revanche, la teneur en serine et thréonine est élevée et surtout la présence de cystéine, acide aminé soufré, est remarquable. Enfin, seule de toutes les caséines,  $\kappa$  contient une fraction glucidique formée d'une ou de plusieurs séquences «acide sialique» fixées sur une seule chaîne peptidique, de poids moléculaire égale à 19000, et constituée par 169 résidus d'acides aminés, leur pH est égal à 3,7. La structure proposée pour la  $\kappa$ -caséine est présentée sur la figure I.2. Ce modèle est décrit comme modèle du cheval et de curseur. La section terminale aminée de la molécule compose le cheval et la section de c-terminale le curseur. Les sections de jambe sont très hydrophobes et les auteurs ont postulé que ça peut être l'aire de l'interaction avec d'autres caséines.

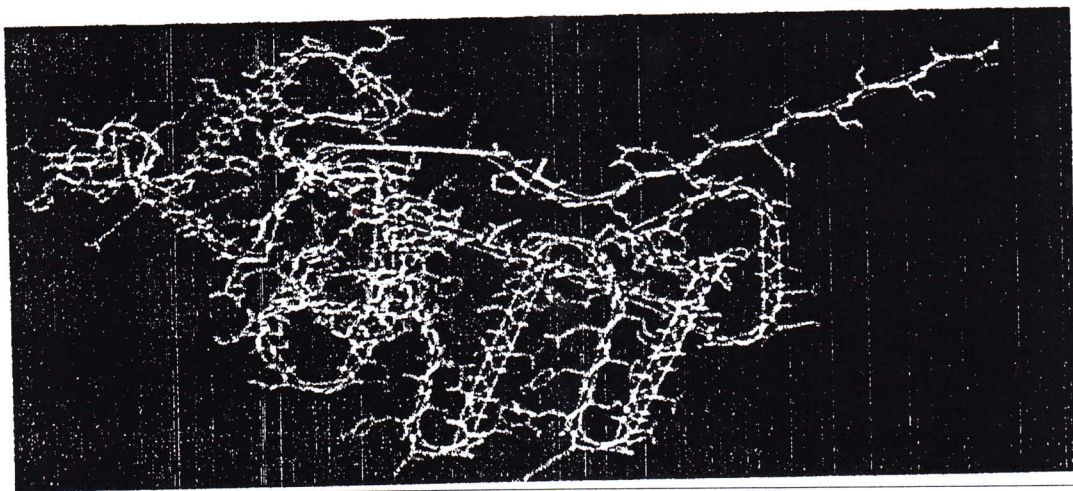


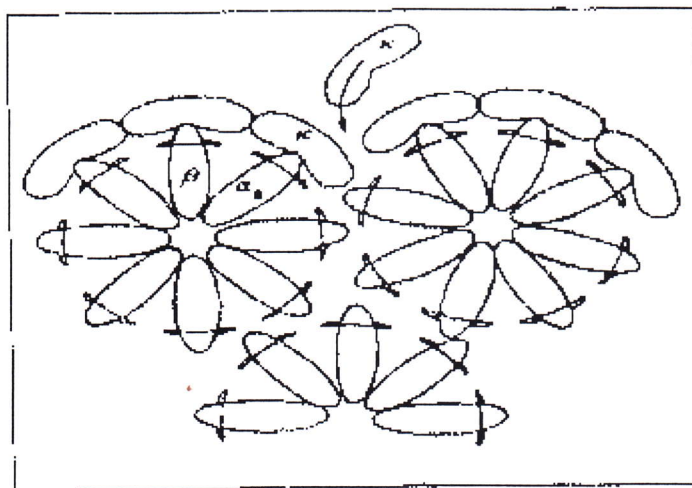
Figure I.2 Modèle tridimensionnel pour la caséine de kappa [10]

### 1. 3. Micelles de caséine[10]

Dans le lait, les caséines existent sous forme de grandes particules colloïdales appelées les micelles. Les micelles de caséine sont les particules protéiques polydispersées qui donnent au lait son aspect laiteux. Ce sont de grands agrégats avec des diamètres de 90 à 150 nm. L'évidence de la microscopie électronique et d'autres moyens, suggère que les micelles se composent d'unités plus petites appelées les sub-micelles ayant des diamètres de 10 à 20 nm. Elles sont constituées de différentes protéines du lait ( $\alpha_{s1}$ -caséine,  $\alpha_{s2}$ -caséine,  $\beta$ -caséine,  $\kappa$ -caséine), liées entre elles par du phosphate de calcium pour former

une structure désordonnée. La structure de la micelle de caséine est suffisamment poreuse pour permettre à d'autres protéines (enzymes par exemple) de diffuser à l'intérieur. Un modèle simple de la micelle de caséine suggère l'existence d'un grand nombre de sub-micelles ( $10^2 - 10^4$ ), associées entre elles par des ponts de phosphate de calcium colloïdal au sein d'une structure désordonnée à peu près sphérique.

Le premier modèle accepté pour la structure de micelle de caséine, était celui proposé par Waugh dans les années 70. Il est décrit par la figure I.3. Les éléments essentiels de ce modèle sont une association hydrophobe de  $\alpha_s$  et  $\beta$  caséines qui sont rudement sphériques. Ces agrégats sont couverts d'une monocouche de  $\kappa$  caséine. Ce modèle a été décrit comme modèle de noyau-manteau en raison de son noyau hydrophobe qui est stabilisé par le manteau de  $\kappa$  caséine.



**Figure I.3.**Modèle des micelles de caséine proposées par Waugh[10]

Après un certain nombre d'observations de la composition de caséine suivant le fractionnement ultracentrifugé, Morr a proposé par la suite le modèle représenté sur la figure I.4. Ce modèle est une variation du modèle proposé par Waugh. Les  $\alpha$ . et  $\beta$ caséines hydrophobiques sont représentées avec des cercles pointillés et sont couvertes par une couche de  $\kappa$  caséine. Le phosphate colloïdal de calcium qui relie les micelles secondaires est représenté par un S dans le diagramme. C'est une molécule très poreuse et s'adapterait à une grande quantité d'eau. Le diagramme suggère que la caséine soluble pourrait entrer dans la micelle, mais la nature de l'interaction n'est pas indiquée.

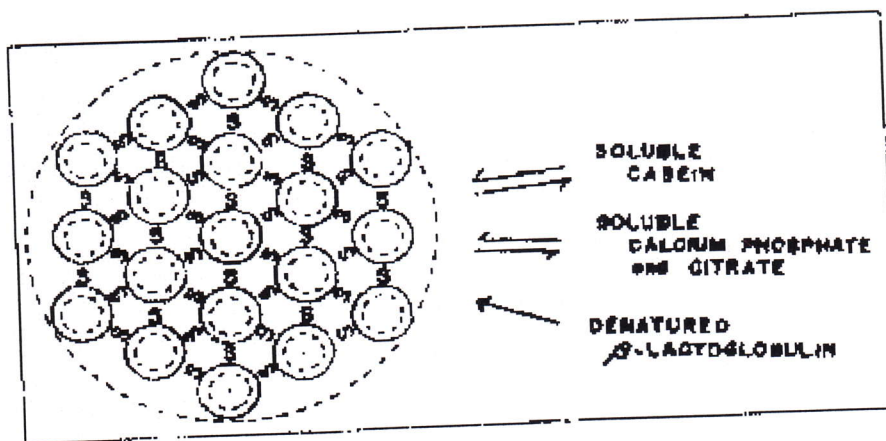


Figure 1. 4. Modèle pour des micelles de caséine proposées par Morr[10]

#### I-4. Propriétés des caséines [10]

La nature ouverte et flexible des caséines les rend peu communes. Tandis qu'elles peuvent avoir une structure secondaire et tertiaire préférable, elles sont souvent dans d'autres conformations. Ces autres structures doivent exposer les groupes hydrophobes au contact avec de l'eau. Les structures atteintes par les caséines peuvent s'adapter à ce contact. Pour la plupart des protéines, l'évolution et l'exposition des groupes hydrophobes à l'eau donne des structures instables.

Les caséines sont très stables au chauffage, elles peuvent être exposées à l'ébullition pendant de longues périodes et restent totalement solubles. C'est une propriété extrêmement utile pour les produits alimentaires qui seront soumis au traitement thermique. Les caséines trouvent également une application où la flexibilité est exigée pour la fonctionnalité.

La viscosité élevée de la solution est un résultat de la structure ouverte, presque aléatoire, des molécules de caséine. Le manque de solubilité en présence de calcium change le comportement de la caséine. Quand du calcium est ajouté à une solution de caséinate de sodium, un certain nombre de changements ont lieu. Le calcium causera l'agrégation de la caséine dans les structures qui ressemblent à des micelles. Dans ce cas, la solution deviendra turbide (trouble) et, les particules deviennent assez grandes pour disperser la lumière (scatter light). Ces deux caractéristiques sont recherchées dans la formulation des émulsions à base de caséinate.

Les caséines montrent également des propriétés fondantes qui sont uniques parmi les protéines. Après protéolyse limitée (cassage de la protéine), la caséine deviendra thermoplastique et coulera sous chauffage. Un semblable effet peut être réalisé par la

chélation de certains ions de calcium. Ces phénomènes sont la base pour la fonte des fromages normaux et la production du fromage de processus ou d'imitation. La structure doit exister avant qu'une substance fonde. Avec les caséines, cette structure peut être obtenue par la précipitation avec du calcium, d'acide ou avec addition de la présure. La stabilité à la chaleur élevée et la capacité de fondre sont les deux propriétés des caséinates qui les rendent difficiles à remplacer dans beaucoup d'applications alimentaires. Dans l'eau pure, à pH neutre, les caséines ont tendance à donner des polymères, c'est-à-dire des associations de molécules identiques, cependant, elles restent toutes solubles. En revanche, en présence du calcium ionisé, leur comportement est différent. Seule la  $\kappa$ -caséine est soluble, et elle a en plus des propriétés stabilisantes vis-à-vis des autres caséines.

### I.5 Caséinate de Sodium

Les caséines sont des produits insolubles dans l'eau. Or, les principaux utilisateurs en industrie, ont besoin d'une forme soluble qui peut être obtenue en raison du caractère amphotère des protéines du lait, soit par la préparation des solutions alcalines «caséinates», soit par dispersion des protéines dans des solutions acides «sels de caséine». On fabrique surtout des caséinates de sodium et de calcium. Les caséinates se trouvent sous la forme de monomères ou de petits polymères. Les protéines du lait dans leur formes solubles et dispersées, ont d'excellentes propriétés émulsifiantes. En raison de sa bonne solubilité, son activité de surface, sa résistance thermique, et ses propriétés de retenir l'eau, le caséinate de sodium est largement répandu comme agent stabilisant des émulsions alimentaires.

Le caséinate de sodium est un mélange de plusieurs composants contenant non seulement les monomères principaux de caséine ( $\alpha_{s1}$ -caséine et  $\beta$ -caséine), mais également d'autres composants importants de caséine tels que la  $\kappa$ -caséine et  $\alpha_{s2}$ -caséine, aussi bien que de petites quantités de lipides et de sels minéraux (particulièrement les ions de calcium) La stabilité au sel des émulsions de caséinate est susceptible d'être principalement déterminée par le rapport des deux principales caséines, avec la  $\kappa$ -caséine (10-15 % de la protéine) ayant un effet substantiel sur la rhéologie interfaciale de la couche de protéine à l'interface huile-eau. Les fractions de caséinate enrichies de  $\beta$ -caséine montrent une activité de surface et une capacité émulsifiante améliorées, mais réduisent la stabilité du film; celles enrichies avec  $\alpha_{s1}$ - / $\kappa$ -caséines montrent le comportement opposé.

Puisque les différentes caséines contiennent des régions hydrophobes et hydrophiles, elles s'associent réversiblement dans le soluté. Une précédente étude de dispersion dynamique de la lumière (Dynamic light scattering) des solutions de caséinate de sodium a montré la coexistence de micelles secondaires, avec un rayon hydrodynamique de  $8,89 \pm 1$  nm, et des ensembles supramoléculaires de  $749 \pm 4$  nm. En utilisant la dispersion de la lumière statique, Lucey et al. ont prouvé que le rayon hydrodynamique des caséinates de sodium varie de 20 à 70 nm. Une étude plus récente menée par Dickinson a montré que le rayon hydrodynamique était d'environ de 100 nm. La taille et la forme exactes des molécules du caséinate de sodium demeurent en grande partie inconnue.

**Tableau I-3** : composition moyenne des caséinates de sodium [11]

constituant	pourcentage
Teneur maximale en humidité	5.5
Protéine(base sèche)	90-40
cendre	4 maximale
pH	6.3-7.0
graisse	1.5maximale
lactose	0.1

### **I.5.1 Préparation des caséinates de sodium**

Les procédés sont ceux décrits par Buston et Al (1987) et Neff (1966). On part soit d'une caillebotte pressé, soit d'une caséine sèche.

#### **A partir de la caillebotte**

On part d'une caillebotte titrant 55à 60% d'eau aussi pauvre que possible en calcium et lactose. Bien entendu-elle doit répondre aux normes hygiéniques habituelles (qualité bactériologique et absence de métaux lourds). Dans un bac équipé d'un agitateur on introduit d'abord l'eau à 50°C, puis progressivement, la caillebotte et la solution de soude en agitant le mélange pour faciliter la dissolution des grains de caillé. Une pompe

centrifuge assure le recyclage permanent de la solution et le contact intime entre la caillebotte et la soude. Au fur et à mesure que progresse la dissolution, la viscosité du mélange s'accroît et il devient nécessaire de réchauffer à 70°C pour limiter le phénomène. Ce réchauffage est effectué soit par injection directe de vapeur, soit par passage à travers un échangeur. Aux concentrations élevées, il devient nécessaire de favoriser la dissolution en faisant passer le mélange de caillé et de soude dans un broyeur colloïdal qui opère par cisaillement et cavitation. Lorsque la dissolution est satisfaisante, on envoie le caséinate dans un réservoir de garde où l'on peut ajuster éventuellement le pH à 7 afin d'obtenir un minimum de viscosité. La solution est ensuite dirigée vers l'atelier de séchage pour préparer 100 kg d'une solution à 20% de caséinate de sodium, il faut mélanger 50 kg de caillebotte et 50 kg d'eau et de soude[12].

- **A partir de la caséine sèche**

Pour obtenir 100 kg d'une solution à 20% de caséinate, on mélange 20 kg de caséine acide sèche et 80 kg d'eau et de soude. La dissolution est plus facile que dans le cas de la caillebotte surtout si l'on prend soin d'utiliser une caséine dont les grains ne sont pas très fins. Il est possible de procéder d'abord au mélange de la caséine et de l'eau puis d'ajouter en fin d'opération la solution de soude en contrôlant le pH[12].

### **1.5.2 Caractères des caséinates de sodium**

La solubilité des caséinates augmente avec le pH et la teneur en calcium. Le caséinate à haute teneur en calcium est moins soluble que celui à basse teneur en calcium. Par ailleurs, une diminution du pH accentue la blancheur des solutions de caséinate, cette blancheur peut être augmentée par l'ajout de chlorure de calcium.

Il faut aussi noter que les caséinates préparés sans précautions particulières ont généralement un goût amer ou de colle qui freine leur utilisation dans l'alimentation.

La viscosité des solutions de caséinates est en fonction de leur concentration, elle croît avec la concentration des caséinates et avec l'abaissement de la température et pour des pH inférieurs à 6[12].

### **1.5.3 Applications des caséines et caséinates**

Si par le passé la principale utilisation de la caséine était la fabrication d'un plastique appelé galalithe, actuellement elle est employée dans les colles, les peintures, l'industrie du papier et des ciments à cause de son pouvoir liant.

Dans l'industrie alimentaire, les caséines et les caséinates sont utilisées pour leurs qualités nutritionnelles et fonctionnelles. Ainsi, la caséine est un ingrédient important dans les fromages fondus et les préparations diététiques.

Les caséinates ont une teneur en protéines sur extrait sec élevée (90 à 95%) et de très bonnes propriétés fonctionnelles. Ainsi, le caséinate de sodium est un bon émulsifiant et a une bonne capacité de rétention d'eau. Pour ces raisons, il est utilisé depuis fort longtemps en tant qu'émulsifiant dans l'industrie de la salaisonnerie. Les mêmes caractéristiques sont exploitées dans la préparation des plats cuisinés, des sauces et potages déshydratés, des crèmes glacées et fouettées. Les caséinates sont aussi utilisés, pour leur teneur élevée en protéines, dans la fabrication de biscuits protéinés, des imitations de fromage pour les pizzas et les plats cuisinés, en diététique, en nutrition clinique sous forme hydrolysée et dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique [13].

Les sels de caséinate sont par ailleurs utilisés dans d'autres domaines pour diverses applications:

- Préparation des céréales, des boissons et des formules de substitution pour nourrissons. Le caséinate est rajouté à ces produits pour améliorer les qualités nutritionnelles.
- Préparation de certains fromages pauvres en matières grasses pour leur donner une texture crémeuse.
- Fabrication des fibres protéiques artificielles à partir de la caséine en transformant la structure globulaire de cette protéine fibreuse. Ces fibres entrent dans la composition de tissus qui possèdent les mêmes propriétés que la laine [13].



# *Chapitre II*

## **Gomme Xanthane**

## **II.1. Historique**

Dans les années 40, le département américain de l'agriculture (USDA) de l'Illinois s'intéressa à la cause d'une maladie affectant certains végétaux notamment les crucifères. Les chercheurs isolent une bactérie qui excrète une substance visqueuse obstruant les pores des feuilles de choux, ce bio film visqueux permet à la bactérie d'adhérer au support et de capturer les nutriments nécessaires à sa croissance. La bactérie présente un aspect mucoïde. En culture submergée, le milieu devient rapidement visqueux. La bactérie est baptisée *Xanthomonas campestris* et la substance sécrétée " gomme Xanthane " le micro-organisme fut déposé au « northern regional research laboratory » dans les années 50.

Le polysaccharide commence à être commercialisé dans les années 60 pour ses propriétés rhéologiques, la gomme Xanthane sera approuvée pour son usage alimentaire par la FDA en 1969, son développement industriel n'a pas cessé de progresser. Elle deviendra le polysaccharide microbien de loin le plus vendu [15].

### **11.2 Quelques notions sur les carbohydrates :**

Les carbohydrates ont pour formule générale  $-C_m(H_2O)_n-$  et sont scindés en trois sous ensembles :

\* Les oses (ou monosaccharides) : ce sont des polyalcools de 4 à 8 atomes de carbone, composés réducteurs, non-hydrolysables. Ils comportent une fonction aldéhyde ou une fonction cétone.

**Exemples:** - pentoses (xylose, ribose...), hexoses (glucose, mannose ...).

\* Les osides (ou oligosaccharides) ce sont des enchaînements de 2 à 10 oses. Ces oses sont sous forme cyclique, reliés par des liaisons glycosidiques, c'est-à-dire des liaisons éthers entre deux carbones de deux cycles successifs. Exemples lactose, maltose, saccharose. Ils donnent par hydrolyse un ou plusieurs oses.

Les polysaccharides, (osides de haut poids moléculaire), oses reliés en longues chaînes linéaires ou ramifiées, structures en arrangements spatiaux particuliers (hélice, ruban...). Ils ont tendance à ne pas prendre de forme particulière on dit qu'ils sont amorphes. Ils sont insolubles dans l'eau, et ils n'ont pas de pouvoir sucrant.

On distingue 2 catégories de polysaccharides:

\* Les homopolysaccharides : constitués du même monosaccharide .

Deux groupements carboxyliques confèrent à la gomme xanthane un caractère anionique. Les contre ions les plus couramment rencontrés sont  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  [34]

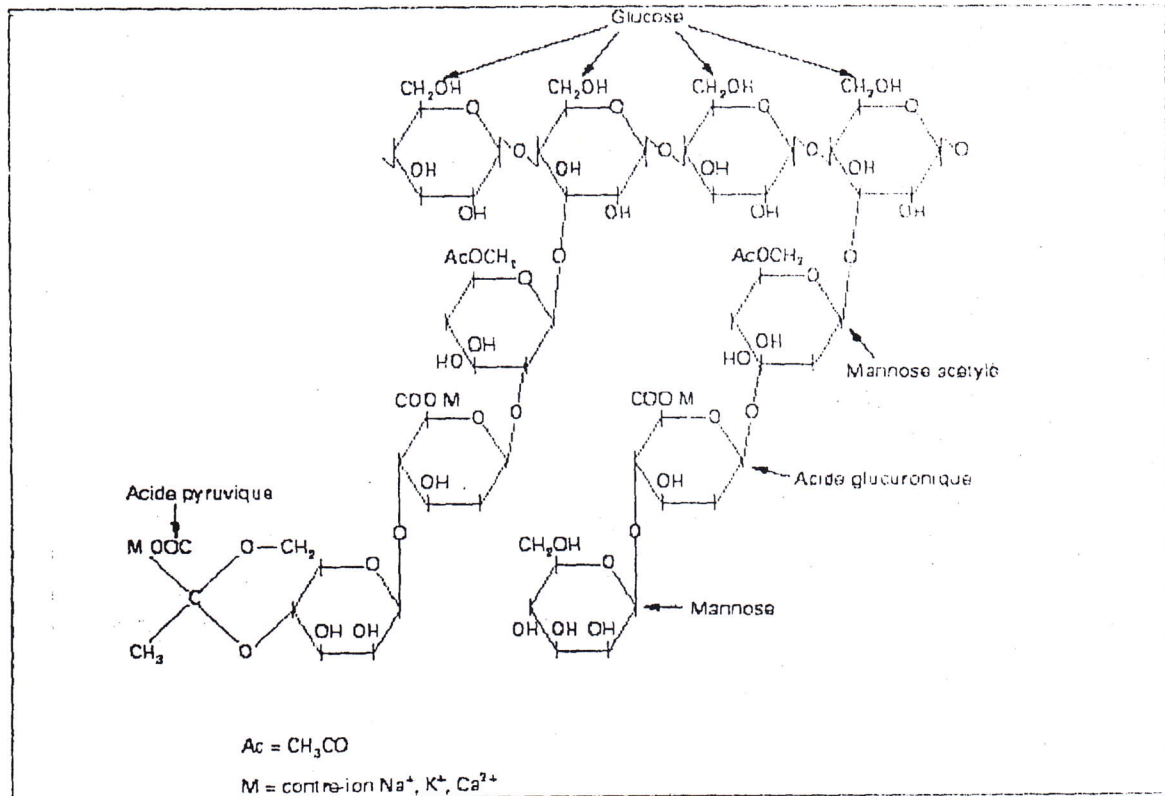


Figure II.1 : La formule développée de la gomme xanthane [15]

### II 3.2. Structure secondaire :

La gomme xanthane fait encore l'objet d'un débat controversé.

\* **L'état solide**, la chaîne principale se présente sous forme d'une hélice droite dont le pas mesure 4,7 nm et totalise 5 unités répétitives.

\* **En solution aqueuse**, cet état correspond à une structure hélicoïdale stabilisée par les acétyles et déstabilisée par les répulsions des pyruvyles. Cette conformation est modélisée par des bâtonnets semi-rigides. Lorsque la concentration en gomme augmente, des liaisons intermoléculaires faibles entre le groupe méthyle du pyruvate et les oxygènes hémiacétal des sucres d'une autre molécule donne naissance à un réseau enchevêtré et ordonné de plus en plus complexe, sans toutefois donner un gel. Ces agrégats sont facilement dissociables sous l'effet des forces de cisaillement. Cette conformation native est dénaturée lorsque l'on augmente la température ou que l'on abaisse la force ionique. L'état dénaturé correspond à une

structure désordonnée en pelote. Les liaisons hydrogènes entre les chaînes latérales et principales sont rompues et les groupements chargés des chaînes latérales exercent une répulsion électrostatique. Après refroidissement, on passe à un état renaturé, différent de la conformation native. La structure est à nouveau ordonnée, hélicoïdale, mais différente, liaisons hydrogène stabilisent cette structure [24].

### **II.3.3 Structure chimique du motif :**

La composition chimique de référence du motif a été établie par Jansson et al en 1975 [16] et confirmée par Melton et al, en 1976 [17]. Il existe de multiples travaux antérieurs, mais l'ensemble des références plus récentes semble s'accorder sur le motif décrit par Jansson représenté sur la figure II-2

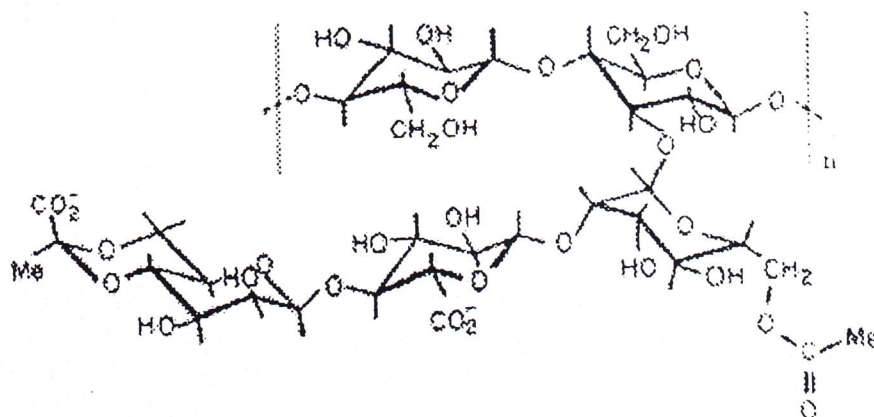


Figure II-2-formule développée du motif du xanthane.

Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

- Un groupement acétate sur le cycle le plus proche du squelette principal.
- Un acide glucuronique sur le cycle intermédiaire .
- Un acide pyruvique sur le cycle terminal.

Du fait de la présence de deux charges négatives (les deux acides), le xanthane devrait avoir théoriquement le comportement en solution d'un poly électrolyte anionique. Des écarts à ce comportement ont pourtant été constatés et il s'est avéré que plusieurs autres facteurs comme les conformations adoptées par la macromolécule ou la concentration en polymère pouvaient expliquer ces anomalies.

## **II.4 Conformations du xanthane à l'état dilué :**

### **II.4.1 Transition ordre – désordre :**

Les macromolécules de xanthane en solution aqueuse subissent une transition conformationnelle au-delà d'une certaine température  $T_m$  « melting temperature ». La valeur

de  $T_m$  est fortement dépendante de la force ionique  $I$  de la solution. Au-dessous de  $T_m$ , la molécule est dans un état ordonné. Lorsque la température dépasse  $T_m$  l'ordre conformationnelle « fond ».

Ainsi, la température et la salinité des solutions déterminent la conformation des molécules de xanthane dans le solvant. Dans des conditions peu salines et/ou à des températures élevées, la conformation adoptée par la macromolécule est celle d'une pelote désordonnée, flexible. A l'inverse, si la salinité est forte et/ou si l'on se place à température ambiante, la macromolécule adoptera une conformation ordonnée, semi-rigide ou rigide.

Il a été établi par ailleurs que le degré de substitution des fonctionnalités acétate et pyruvate de la chaîne latérale affecte aussi la température de transition. Le groupement pyruvate, porteur d'une charge, déstabilise la forme ordonnée du fait des répulsions électrostatiques qu'il occasionne (il diminue  $T_m$ ). Au contraire, le groupement acétate permet d'établir des liaisons hydrogène et participe donc à la stabilisation de la forme ordonnée (il augmente  $T_m$ ).

De plus, cette transition semble ne pas être réversible [18] : un échantillon « natif » de xanthane transitera vers un état « dénaturé » au-delà de  $T_m$  ( par abaissement de la force ionique ou par chauffage), puis lors du refroidissement, ne reprendra pas nécessairement sa conformation initiale et se trouvera dans un état dit « renaturé ».

#### **II 4.2. Etat « natif » :**

L'état natif correspond à la conformation adoptée par la macromolécule après dissolution complète de la poudre de polymère dans l'eau à température ambiante. C'est une structure hélicoïdale (le diamètre de l'hélice est de quelques nanomètres) ou les ramifications sont alignées le long du squelette principal et assurent la rigidité de la structure. De plus, les macromolécules s'associent deux à deux en «double hélice » (à l'instar de l'ADN) pour former un état ordonné plus rigide encore. L'état ordonné peut résulter aussi de structures hybrides ou une séquence ordonnée coexiste avec une séquence désordonnée au sein d'une même macromolécule.

#### **II. 4.3. Etat « dénaturé » :**

L'état dénaturé est observé à une température supérieure à  $T_m$ . Il résulte du déploiement des chaînes latérales du polymère. A température ambiante, les ramifications du polymère interagissent avec le squelette principal par des liaisons hydrogène qui créent un ordre local. L'agitation thermique (ou une baisse de force ionique) provoque la rupture de ces liaisons permettant à la macromolécule de s'étendre. Il peut en résulter un découplage du double brin

en deux simples brins. Cet état peut aussi être interprété comme une structure hybride ou cette fois les portions ordonnées, rigides seraient largement minoritaires [19], de manière à former globalement des ensembles plus flexibles de type pelote expansée.

#### **II. 4.4. Etat « renaturé » :**

Lors du retour à la température ambiante (ou par l'augmentation de la force ionique) la nature de la structure adoptée n'est pas clairement établie. La molécule est semi-rigide et en double brin même si la conformation diffère de celle de l'état initial l'éventualité d'un processus d'association intramoléculaire par repliement d'un simple brin (type "épingle à cheveux ") n'est pas exclue, il est probable aussi que des agrégats (microgels) apparaissent (même en solution diluée).

#### **II. 5. Conformation de l'état concentré :**

En solution diluée, la dénaturation de la molécule de xanthane se traduit par une dissociation irréversible de la double hélice en deux mono filaments et la renaturation s'effectue probablement selon un processus intramoléculaire à masse macromoléculaire constante n'impliquant qu'un seul brin.

En solution plus concentrée, au-delà de 1 % en polymère, la dénaturation a lieu sans dissociation des deux brins de la double hélice ou avec dissociation partielle, limitée aux extrémités de chaînes [19]. La perte de l'ordre local par ouverture des chaînes latérales rend plus flexible l'ensemble, mais la structure de double hélice est globalement conservée. L'enchevêtrement des chaînes est cependant rendu possible par le gain en flexibilité lors de la montée en température. Parallèlement, des zones de jonctions intermoléculaires [20] apparaissent et créent un réseau tridimensionnel qui renforce le caractère de type " gel faible" (gel physique) de la solution. La salinité favorise la création de ces ponts intermoléculaires lors de la montée en température, et à forte concentration en sel la forme ordonnée peut même être conservée : le sel diminue l'activité des molécules d'eau donc leur potentiel de coordination par liaisons H aux groupements latéraux.

#### **II. 6. Production de gomme xanthane :**

La gomme xanthane est synthétisée et excrétée par la bactérie xanthomonas campestris. La classification des espèces du genre xanthomonas est faite sur le bas de leur phytopathologiste. La paroi des gram a une structure complexe constituée d'une membrane plasmique renfermant le xanthane des protéines et des phospholipides, d'un espace peu

plasmique contenant le peptidoglycane et d'une membrane externe riche en protéine fonctionnelle, lipopolysaccharides et lipoprotéine. Les industriels ont amélioré progressivement les performances de la souche par des techniques classiques de mutagenèses et de sélection bactérienne [15].

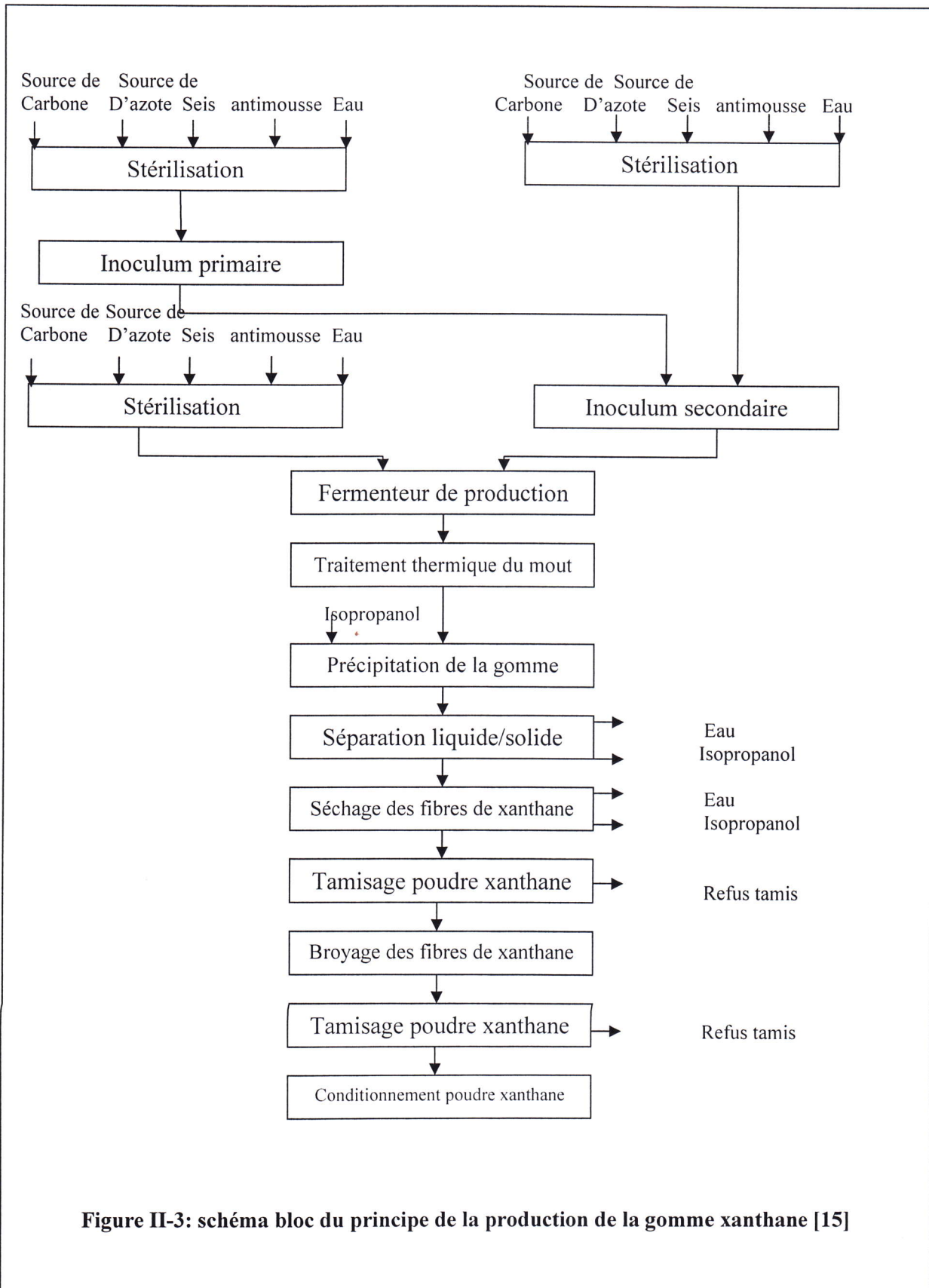


Figure II-3: schéma bloc du principe de la production de la gomme xanthane [15]

### **II.7. Données bibliographiques concernant le xanthane en milieu acide:**

Le xanthane est souvent mentionné dans la bibliographie pour sa stabilité vis-à-vis des milieux acides [21,22]. Il présente en effet des cinétiques de dégradation en milieu acide beaucoup plus lentes que d'autres polymères hydrosolubles. L'industrie pétrolière l'utilise abondamment comme gélifiant pour la récupération assistée du pétrole en raison de cette stabilité sur de longues périodes.

Le phénomène de dépolymérisation du xanthane a été abondamment étudié par Christensen et al. Au début des années 90. La conformation de la molécule en solution semble être l'élément déterminant de la résistance, en termes de viscosité, à l'acidité [42] et à l'oxydation [24]. Tous les paramètres contribuant à maintenir l'état ordonné des molécules permettent de diminuer la sensibilité de la viscosité intrinsèque du xanthane à l'acidité température inférieure à  $T_m$  force ionique élevée, degré de substitution en groupement pyruvate faible, agencement en double hélice..., A pH = 4, une solution faiblement saline de xanthane ( $I = 0,01 \text{ M}$ ) sera oxydée cinq fois plus vite qu'une solution plus concentrée en sel ( $I = 0,5 \text{ M}$ ).

La chute de la viscosité des solutions résulte de la rupture des liaisons situées sur la chaîne principale (liaisons glycosidiques joignant les cycles de glucose). Mais la viscosité sera abaissée seulement si les ruptures des liens glycosidiques se produisent de façon suffisamment rapprochée sur la chaîne principale et de façon concomitante sur les deux bords de cette dernière dans le cas d'une double hélice. Par ailleurs, les chaînes latérales subissent rapidement une dégradation qui affecte essentiellement le cycle portant du groupement pyruvate (le plus externe) mais qui ne permet pas d'engager le processus de dépolymérisation de la molécule.

### **II.8. Propriétés acido-basiques du xanthane:**

La gomme xanthane est très sensible à son environnement électrostatique. Ce qui est caractéristique des poly électrolytes Les charges qu'ils portent dans son motif mais aussi l'ensemble de ses groupements polaires sont à l'origine des interactions physiques qui gouvernent l'organisation inter- et intramoléculaire du polymère. Le groupement pyruvate influence notablement la température de transition ordre désordre par exemple La présence d'une charge supplémentaire dans le motif déstabilise la structure ordonnée du xanthane du fait des répulsions électrostatiques avec le groupement glucuronique et abaisse ainsi  $T_m$ . La



précipitation en présence de sels tétravalents résulte de fortes interactions électrostatiques entre les dérivés carboxyliques du motif et des cations dont la densité de charge est élevée. La détermination des degrés de substitution revêt donc d'un intérêt non négligeable dans l'analyse du comportement du polymère en solution. Par un dosage potentiométrique, les degrés de substitution des acides glucuronique et pyruvique peuvent être obtenus simultanément. Le degré de substitution du groupement ester acétate pourrait être déterminé par RMN du proton.

### **II.9. Application [15]**

La gomme xanthane est classée comme agent de texture, dans la catégorie des additifs et non des ingrédients, car elle n'est pas assimilable par l'homme. Le rôle d'un additif peut être considéré à 2 niveaux :

-Au cours du procédé, il peut être ajouté dans le but de faciliter certaines opérations unitaires de confection du produit.

-Dans le produit fini, comme agent conférant une fonctionnalité (agent stabilisant, agent viscosifiant .. ) .

La gomme xanthane, seule ou en synergie avec d'autres additifs, a un ensemble de propriétés caractéristiques. La gomme xanthane est en compétition avec d'autres additifs, notamment les autres polysaccharides. Ceux-ci sont essentiellement d'origine végétale (carraghénane, amidon, cellulose, gomme arabique,..). Les propriétés caractéristiques de la gomme xanthane sont les suivantes

• **prix de vente relativement élevé** variable suivant les grades et généralement supérieur à 100\$/kg. Les principaux de coût de la gomme sont :

- Les matières premières : La variation des prix agricoles a un impact important. L'intégration sur des matières premières est un atout.

-L'énergie, les stérilisations, l'aération, l'agitation et les séparations liquide solide sont très consommatrices d'énergie. La recherche de technologies efficaces, et l'optimisation des procédés.

-La maintenance des machines sont soumises à rude épreuve

• **Qualité reproductible.**

- **Possibilité** d'obtention de nombreux grades répondant aux besoins de plus en plus spécifiques des marchés : On peut obtenir des changements conformationnels, purifier plus ou moins le polysaccharide (enzymes, sels, biomasse) jusqu'aux qualités transparente et filtrable, modifier la granulométrie .

- **Agent stabilisant**

La taille et la densité des particules en suspension engendrent une contrainte de cisaillement inférieure au seuil d'écoulement, les suspensions seront stables. La gomme est efficace à 0.5% contre au moins 1% pour d'autres polysaccharides.

La propriété de stabilisation est mise à profit dans de nombreuses applications.

- En cosmétique, 0.7 à 1% de xanthane les émulsions caractéristiques des crèmes seront stabilisées avec 0.2 à 0.5% de gomme xanthane.

- Les formulations pharmaceutiques seront stabilisées avec 0.1 à 0.5 % de gomme xanthane.

- Les pigments contenus dans les peintures à l'eau seront maintenus en suspension avec 0.1 à 0.7% de gomme xanthane.

- En alimentation animale, des ingrédients resteront en suspension en présence de 0.1 à 0.4% de gomme.

- En alimentation humaine, le tableau II.1 donne les principales applications de la gomme xanthane dans l'industrie alimentaire

Tableau II-1 : principales applications de la gomme xanthane en industrie alimentaire [15]

Produits alimentaires concernés	Dose d'emploi Recommandée (%)	Rhéologie		Stabilité				Synergie Galaco-mamames	Divers					
		Pouvoir Une suspension	viscosité	Pseudo-plasticité	Sels	Acides	Température		Solubilité à froid	Inhibition de la Synérèse	Modificateur De texture	Adhérence	contrôle de la cristallisation	Stabilisation du Foisonnement
Sauces pour salades	0.2 à 1	■	■	■	■	■	■	■			■	■		
Sauces bouillons potages	0.1 à 0.4	■	■		■	■	■			■		■	■	
Préparation instantanée (sauces, soupes, potages, boissons)	0.1 à 0.2 (1)		■	■	■	■	■		■	■	■	■		
«pickles».aspics	0.2 à 1	■			■	■	■			■		■		
Plats cuisinés	0.2 à 0.5	■			■		■	■		■		■		
Plats surgelés	0.2 à 0.5	■	■		■	■				■		■	■	
Produits laitiers, laits aromatisés	0.05 à 0.3	■		■		■	■	■		■	■			■
Crèmes foisonnée, mousses	0.1 à 0.3		■	■	■	■	■	■	■	■	■			■
Dessert instantanés	0.1 à 0.3 (1)	■	■					■	■		■			■
Crèmes glacées, sorbets	0.1 à 0.4	■				■	■	■		■	■		■	■
Produits de cuisson de céréale (boulangerie, pâtisserie, biscuiterie, biscotterie)	0.05 à 0.2			■			■	■	■					
Boissons au fruit concentré d'arômes	0.05 à 0.2	■		■	■	■	■		■					
Confitures et gelées réparation de fruits, nappage	0.2 à 0.5	■		■		■	■	■		■	■	■		
Alimentation animale	0.2 à 0.5	■	■		■		■	■		■				

(1) dans le produit fini

**\* Agent viscosifiant**

La gomme xanthane a des propriétés épaississantes des les basses concentrations (0.1 %). Cette propriété sera mise à profit en industrie alimentaire.

La gomme xanthane est neutre en goût et non digestible. La vitesse de cisaillement en bouche (10 à 50s-1)..

Dans l'industrie des cosmétiques, la gomme xanthane permet la coulabilité de la pâte lors de la pression sur le tube et confère de la viscosité au repos sur la brosse à dents.

Dans l'industrie des détergents, le pompage et la vaporisation des produits sont possibles grâce à la pseudo plasticité.

**II.10.Avenir de la gomme xanthane :**

Le marché alimentaire aux Etas-Unis continue d'augmenter et l'Europe ainsi que l'Asie que l'Amérique du sud devraient suivre. En effet, l'américanisation des habitudes alimentaires et le confort que procurent les aliments industriels auprès des familles qui consacrent de moins en moins de temps à la cuisine devraient entraîner le développement de la gomme xanthane. Ce sont les graisses et les sucres qui jouaient le rôle de texturants. L'incorporation de gomme xanthane non digestible pallie en partie ce handicap.

Le marché des produits cosmétiques grand—public explose aussi . Les gels douchent, crèmes et autres pâtes dentifrices .

Les systèmes de délivrance contrôlée des médicaments basés sur l'enrobage de ceux-ci par les polysaccharides sont amenés à se développer également. Les recherches s'effectuent suivant quatre axes complémentaires :

**• Abaissement du prix de revient**

Les facteurs limitants sont de deux ordres:

**\* Génie chimique**

Dans les réacteurs de grande taille, l'homogénéité du mout ne peut pas être assurée convenablement. Le transfert d'oxygène entre les phases gazeuse et liquide y est difficile et l'accès aux nutriments par transfert liquide/solide au niveau du *Slime* polysaccharidique est fortement dépendant du cisaillement. Les opérations d'extraction peuvent être améliorées dans le but de les rendre plus fiables et moins consommatrices en énergie.

**\* facteurs physiologiques**

L'identification des facteurs physiologiques limitant passe par une meilleure connaissance des voies de biosynthèse et de leur régulation. De cette étude physiologique découlera les axes d'amélioration du micro-organisme par mutagenèse classique. Les rendements de production et d'extraction sont déjà excellents.

**\* *développement de grades différenciés***

Une meilleure connaissance des relations structure-fonction permettra de modéliser les structures de gomme idéales pour chaque application.

**\* développement de systèmes**

Toutes les combinaisons entre les grades différenciés de la gomme xanthane et les grades différenciés des autres polysaccharides, dans différentes conditions et pour toutes les applications actuelles est à venir.

**\* Service aux clients**

Une meilleure connaissance des besoins des clients et de leurs contraintes technologiques de mise en oeuvre de la gomme xanthane permettra de proposer le grade le mieux adapté et des conseils pour une utilisation optimale [15].

# *Chapitre III*

## **Solutions macromoléculaires**

### III-1-Solution de polymères

L'étude du comportement des polymères en solution est essentielle, c'est à l'état de soluté qu'un polymère peut être le mieux caractérisé ; aussi bien pour ce qui concerne sa masse molaire que ses dimensions moléculaires « statistique ».

L'osmomètre, la chromatographie stérique, la viscosimétrie ou la diffusion de lumière sont de technique très importantes qui permettent d'accéder à des informations telle que le rayon de giration, la distribution des masses molaires et leur valeur moyenne. Ces techniques requièrent toutes des solutions diluées de polymères. Par ailleurs, les solutions de polymère font l'objet de nombreuses applications (peintures, vernis, huile de lubrification de moteurs...) dans lesquelles leurs propriétés particulières à viscosité élevée sont mises à profit.

#### III-1-1-interactions moléculaires

La plus part des propriétés de polymères, qui sont exploitées dans une très grande variété d'applications, sont étroitement liées à leur cohésion ; celle-ci dépend essentiellement de l'intensité des interaction moléculaires qui se développent entre groupements moléculaire. Trois types d'interactions peuvent servir pour donner de la cohésion aux polymères [25].

##### III-1-1-1-Interaction de Van der Waals

Ce sont des forces d'attraction entre dipôles qui peuvent avoir différentes origines:

- les forces de Keesom : correspondent à l'attraction mutuelle de deux dipôles permanents. On rencontre ces interactions dans les polymères qui possèdent des groupements polaires.
- Les forces de Debye : correspondent à l'attraction mutuelle d'un dipôle permanent avec le dipôle qu'il induit sur un groupement moléculaire polarisable voisin.
- Les forces de London ou forces de dispersion : résultent de la dissymétrie de la configuration électronique instantanée des atomes [25].

##### III-1-1-2 Liaisons hydrogène

Elles sont d'origine électrostatique ou ionique et même dans certains cas covalent. Elles se développent entre un atome d'hydrogène porté par un atome d'un élément fortement électronégatif et un groupement moléculaire contenant un atome fortement électronégatif.

A et B sont des élément fortement électronégatif.

La liaison- II induit des cohésions particulièrement élevées dans les polymères qui les contiennent. De telles interactions peuvent se développer dans les protéines [25]

**III-1-1-3 Liaisons ioniques**

Elles sont créées pour accroître la cohésion des polymères, elles sont alors appelées ionomères. Lorsque les anions sont associés à des cations monovalents, ils génèrent des paires d'ions qui s'assemblent en agrégats, conduisant ainsi à une réticulation physique des systèmes macromoléculaires. Lorsque ces anions sont associés à des cations bivalents, ces derniers forment, en plus des agrégats, des ponts entre les chaînes [25]

**III-1-2 Classification des solutions**

Le mélange de deux composés chimiques, qu'il s'agisse de molécules simples ou de chaînes macromoléculaires, se traduit par une variation de l'entropie (S), de l'enthalpie (H) et même du volume de la solution. Ces variations entraînent un changement de l'énergie libre pour un mélange isotherme ; sont :

$$\Delta G_{mel} = \Delta H_{mel} - T\Delta S_{mel}$$

T : étant la température des deux composés est obtenue pour :  $\Delta G < 0$ .

Les solutions peuvent être classées en cinq catégories principales [26].

➤ **Solution idéale :**

Se caractérisant par une enthalpie de mélange nulle et une entropie de mélange égale à l'entropie conformationnelle ; cette dernière est liée à la multiplicité des arrangements conformationnels que peut adopter une macromolécule qui est souvent qualifiée de configurationnelle.

➤ **Solution athermique :**

Elle se caractérise par une enthalpie de mélange nulle mais une entropie de mélange supérieure à l'entropie conformationnelle, en raison de l'existence d'une entropie d'excès.

➤ **Solution régulière :**

Elle est définie par une enthalpie de mélange non nulle et une entropie de mélange égale à l'entropie conformationnelle.

➤ **Solution irrégulière ou réelle :**

Elle correspond à une solution pour laquelle l'entropie de mélange n'est pas nulle et dont l'entropie de mélange contient un terme d'excès autre que le terme conformationnel.

➤ **Solution dans les conditions théta :**

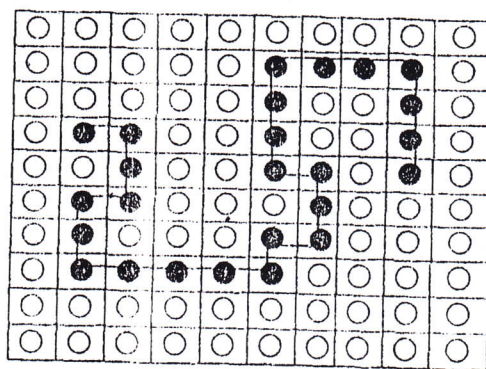
Elle correspond à une solution pour laquelle l'entropie de mélange compense le terme d'excès de l'entropie de mélange à une température donnée. A cette température, la solution peut donc être considérée comme idéale.



### III-1-3 théorie de Flory-Huggins

La thermodynamique statique permet de calculer les contributions enthalpiques et entropiques à l'énergie libre du mélange, à partir des moyens statiques.

**Flory et Huggins** ont proposé un modèle propre aux polymère, rendant mieux en polymère ou la solution est identifiée à un réseau tridimensionnel cristallin constitué de cellules. Chaque molécule de solvant prend place dans une cellule de ce réseau tandis que les macromolécules vont occuper des cellules toutes adjacentes. En nombre égale à celui de leur degré de polymérisation(X) [25].



**Figure III-1** Représentation d'une solution macromoléculaire par un réseau.

Modèle de Flory – Huggins.

A partir d'un tel modèle, il est possible de calculer l'entropie conformationnelle du mélange, qui est fortement influencée par la connectivité du polymère par l'existence d'un lien covalent entre les unités répétitives.

$$\Delta S_{con} = -K \left[ n_2 \ln \frac{Xn_2}{n_t} + ntLn \frac{n_1}{n_t} \right] + Kn_2 [LnX - X + 1 + LnZ + (X - 2)Ln(Z - 1)] \quad (I-1)$$

$$n_t = n_1 + n_2X$$

K : constant de Boltzmann.

$n_1$  : molécule de solvant.

$n_2$  : macromolécule

Z: nombre de coordination ou bien le nombre d'interaction.

L'entropie de mélange  $\Delta S_{mel}$  pour les mélanges à faible enthalpie  $\Delta H_{mel}$  ; c'est dire ne concerne que les système athématique ou des mélanges donnant lieu seulement à de faibles interaction entre molécule, peut être calculée à partir de cette relation.

$$\Delta S_{mel} = R(N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2) \dots \dots \dots (I - 2)$$

$$R = K \cdot N_a$$

Avec : R : constant des gaz parfait.

$N_a$  : nombre d'avogadro.

K : constante de boltzmann.

$\phi_1$  et  $\phi_2$  : étant respectivement les fractions volumiques du solvant et du polymère.

$N_1$  et  $N_2$  : étant respectivement le nombre des moles de solvant et de macromoléculaires.

Le calcul de l'enthalpie de mélange  $\Delta H_{mel}$  pour les solutions macromoléculaires dans la théorie **Flory –Huggins** est inspiré de celui de l'enthalpie de mélange d'une solution régulière simple ou on prend en considérations trois types d'interactions :

- Les interactions solvant-solvant, caractérisées par l'énergie  $E_{11}$ .
- Les interactions solvant-segment, caractérisées par l'énergie  $E_{12}$ .
- Les interactions segment-segment, caractérisées par l'énergie  $E_{22}$ .

La proportion des différentes interactions dépend des proportions relatives du solvant et du soluté l'enthalpie de mélange d'un tel système peut être calculée de la relation suivante :

$$\Delta H_{mel} = Z \cdot \frac{n_1 n_2}{(n_1 + n_2 X)} \Delta E_{12} \dots \dots \dots (III-3)$$

$$\Delta E_{12} = E_{12} - \left( \frac{E_{11}}{2} + \frac{E_{22}}{2} \right) \dots \dots \dots (III-4)$$

En faisant apparaître une notation molaire, posant :

$$Z \frac{\Delta E_{12}}{RT} = X_{12} \dots \dots \dots (III-5)$$

$X_{12}$  est appelé le paramètre d'interaction solvant-polymère, avec :

$$X_{12} = V_m (\delta_1 - \delta_2)^2 / RT \dots \dots \dots (III-6)$$

$V_m$  : volume molaire

$\delta_1$  et  $\delta_2$  : représentent les paramètres de solubilité des deux constituants.

L'énergie polymère-solvant s'établit aisément, par la relation suivante :

$$\Delta G = RT (N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2 + X_{12} N_1 \phi_2) \dots \dots \dots (III-7)$$

**III-1-3-1 Solutions macromoléculaires réelles :**

Dans les solutions à constituants polaires, les interactions segment-segment peuvent être favorisées et perturber une disposition aléatoire des chaînes macromoléculaires ; ce qui a attaché Flory à modifier la version initiale de son modèle.

Il a proposé d'introduire dans l'expression de l'entropie de mélange un terme qui traduit l'existence de telles interactions en la qualifiant d'énergie de contact :  $\Delta E_{12}$ . Dans ce cas l'entropie et l'enthalpie de mélange s'écrivent :

$$\Delta S_{mel} = -R[N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2 + \frac{\partial(X_{12}T)}{\partial T} N_1 \phi_2] \dots \dots \dots (III-8)$$

Et

$$\Delta H_{mel} = -RT^2 N_1 \phi_2 \left[ \frac{\partial X_{12}}{\partial T} \right] \dots \dots \dots (III-9)$$

Avec :  $X_{12}$  paramètre d'interaction qui s'écrit :

$$X_{12} = (Z-2) \frac{\Delta E_{12,11}}{RT} (Z-2) \frac{E_{12,S}}{R} = X_{12,11} + X_{12,S} \dots \dots \dots (III-10)$$

$X_{12,11}$  et  $X_{12,S}$  : représentent respectivement les contributions enthalpique et entropique.

**III-1-3-2 Solution macromoléculaire diluées**

Dans un milieu dilué idéal, les chaînes sont isolées et elles sont ne en contact qu'avec des molécules de solvant. Ces chaînes compactes s'excluent mutuellement du volume qu'elles occupent. Ce rejet de toute autre chaîne d'un certain volume dit « exclu » a pour origine des interactions à longue distance d'ordre stérique ; les interactions d'origine enthalpique peuvent être négligées. Le calcul de l'entropie de mélange est fondé sur le postulat que la contribution de chaque macromolécule à l'entropie du système dépend du nombre de macromolécules dans la solution. Dans ces conditions :

$$\Delta S_{mel} = -RN_2 \left( \ln \phi_2 - \frac{U}{2V_1^0 X} Na \phi_1 \right) \dots \dots \dots (III-11)$$

$N_2$  : Nombre des moles du polymère.

U : La circonférence.

$V_1^0$  : Volume molaire du solvant pur.

Puisque une solution diluée est considérée comme athermique.

$$\Delta G = -T\Delta S \dots \dots \dots (III-12)$$

**III-1-4 Conditions de miscibilité et de séparation des phases**

Les mélanges polymère-solvant sont le plus endothermiques caractérisés par une enthalpie de mélange positive, il en est ainsi parce que les interactions qui se développent au sein de la solution sont des force répulsives intermoléculaires du type Van der Waals.

Dans le cas de mélange polymère-solvant non polaires, ces interactions sont en effet conditionnées par la polarisabilité électrique des constituants.

Le paramètre d'interaction  $X_i$  qui reflète l'ensemble de ces interactions peut s'écrire.

$$X_{12} = A(\alpha_1\alpha_2)^2 \dots\dots\dots(III-13)$$

Où

A : constante

$\alpha_1$  et  $\alpha_2$  : sont les polarisabilités du solvant et du polymère.

Cette expression établie, en prenant en compte que les interactions de Van der Waals de type London, montre que l'interaction entre unités dissemblables est nécessairement répulsive,  $X_{12}$  a donc vocation à être positif. La dissolution d'un polymère est conditionnée par la valeur que peut prendre l'enthalpie de mélange. D'après la théorie Flory -Huggins, le mélange de deux constituants ne se fait que si ce terme enthalpique positif est compensé par le terme entropie-T $\Delta$ S.

Dans le cas d'interactions spécifique de plus forte énergie telles les liaisons hydrogène, le paramètre d'interaction peut prendre des valeurs négatives ; solvant et polymère sont alors miscibles en toutes proportions [25].

### **III-2 Mélange polymère-tension actif**

Les agents de texture hydrophiles sont pour la plupart des macromolécules capables d'augmenter considérablement la viscosité des phases aqueuses dans lesquelles ils sont dispersés. Très longtemps utilisés comme agents de consistance en agroalimentaire ; ils sont de plus en plus employés en cosmétique notamment pour épaissir ou gélifier des phases aqueuses ou des systèmes dispersés comme les suspensions et les émulsions. Leur rôle dans ces derniers systèmes est multiple ; ils doivent :

- Contribuer à stabilité de la formule.
- Donner de la consistance de façon à ce que la viscosité réponde à une application précise [26].

#### **III-2-1 Classification**

Les agents de texture hydrophiles sont classés en trois catégories suivant leur origine, on distingue :

- Les agents naturels,
- Les agents semi-synthétiques.
- Les agents synthétiques.

Les agents naturels, qui constituent la catégorie la plus importante, peuvent être d'origine microbienne ou minérale. Parmi Les agents d'origine microbienne on peut citer les polysaccharides comme le xanthane et les protéines comme les caséines [26].

### **III-2-2 Propriétés**

Les propriétés que donnent les agents de texture hydrophiles aux solutions dans lesquelles ils sont dispersés dépendent principalement de trois paramètres :

- la formule adoptée par les macromoléculaire en solution,
- leur rigidité,
- et leur mode d'association.

Le produit se présentera sous la forme d'une solution visqueuse (épaississement) ou d'un gel (gélification). Il est possible de différencier les agents de texture hydrophile épaississants des agents gélification selon qu'ils forment ou non un réseau tridimensionnel (figure I-2) [26]

#### **III-2-2-1 Propriétés épaississantes**

Les agents hydrophiles présentent des propriétés épaississantes lorsqu'ils ne peuvent pas s'associer fortement entre eux. Leur simple présence gêne la mobilité du liquide dans lequel ils sont dispersés et conduit à une augmentation de la viscosité de la solution [27]. cette augmentation est liée à la concentration en macromolécules et à leur masse molaire.

Les molécules peu déformables, souvent assimilées à des bâtonnets rigides forment au repos des édifices stabilisés par des faibles interactions (liaisons hydrogènes, force de Van der Waals). Ces édifices relativement stables se fluidifient moins facilement que les systèmes formés par des particules déformable (moins rigides) [26].

#### **III-2-2-2 Propriétés gélifiantes**

Les agents hydrophiles présentent des propriétés gélifiants s'ils sont capables de s'assembler pour former un réseau tridimensionnel poreux au sein duquel le liquide de dispersion est immobilisé [28]. Pour former ce réseau, les macromolécules s'interagissent fortement entre elles sur des zones limitées appelées « zones des fixation ou zone de jonction ». La solidité et le nombre des zones de fixation déterminent les caractères rigides de réversibles d'un gel. Les molécules gélifiantes sont caractérisées par des structures relativement organisées et par un faible degré de ramification [28], en effet, la présence de groupements substituant (méthyle, sulfate...) d'irrégularités (coudes) sur les chaînes polymériques défavorise considérablement le rapprochement des macromolécules et empêche le phénomène de gélification. Néanmoins, un ordre structural trop important peut également gêner la gélification en favorisant l'interaction entre chaînes sur des zones de jonction trop

grandes, les chaînes polymériques tendent à cristalliser et ne forment en aucun cas un réseau tridimensionnel[26].

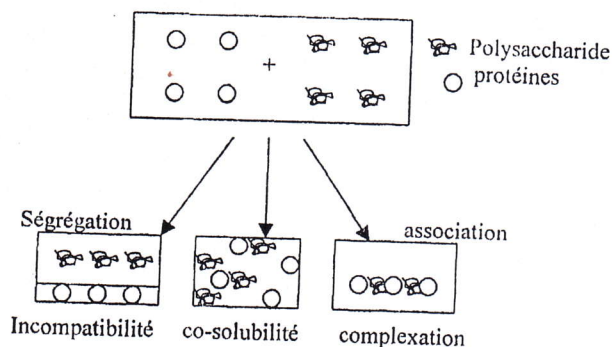
### III-3- Interactions protéine-polysaccharide

Les interactions protéine-polysaccharide ont été étudiées considérablement depuis que ces deux biopolymères apparaissent dans la plupart des produits alimentaires. Ces interactions ont une relation directe avec les propriétés macroscopiques des produits tel que la stabilité, l'aspect, la fluidité et même la sensation au goût [28].

Les protéines et les polysaccharides diffèrent par leur forme et par leur structure, ainsi la caséine est utilisée comme émulsifiant dans les émulsion alimentaires, alors que le xantane comme agent épaississant pour améliorer la stabilité de tels système.

La ségrégation conduit à la diminution de la concentration du polymère près d'une autre particule protéinique. Cette diminution est due à une perte de l'entropie de conformation des polymères près de l'interface. La diminution de la concentration du polymère à l'interface est appelée déplétion.

Si la quantité en polymère n'est pas assez importante pour s'associer aux protéines, le polysaccharide peut s'absorber à plusieurs protéines, le phénomène est nommé la conversion (complexe) (figure III-2) [28].



**Figure III.2 :** Interaction protéine-polysaccharide dans une solution aqueuse.

Dans le cas de conversion, le complexe restera liquide au lieu de se précipiter. Ce phénomène se produit souvent dans un mélange des biopolymères ayant des échanges positifs. L'interaction des polyélectrolytes dans un mélange des biopolymères est influencée par le pH, la force ionique, la densité de charge et la concentration des biopolymères [28].

### III-4-Diagramme de phase

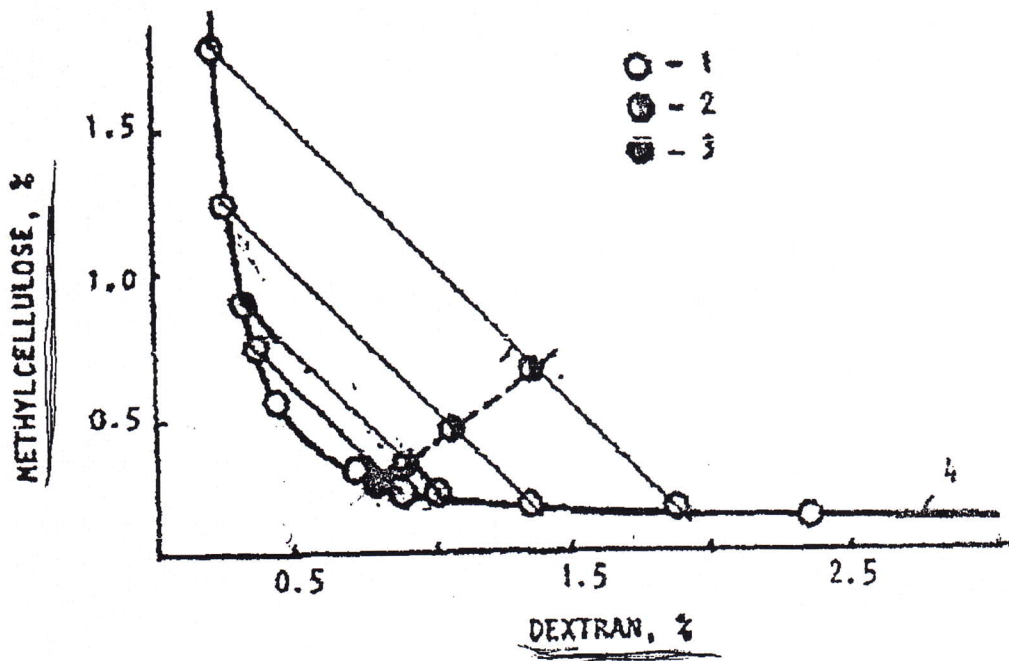
Un diagramme de phase est une expression utilisée en thermodynamique ; elle indique une représentation graphique, généralement à deux ou trois dimensions, représentant les domaines de l'état physique d'un système (corps pur ou mélange de corps purs), en fonction de variables, choisies pour faciliter la compréhension des phénomènes étudiés.

Les diagrammes les plus simples concernent un corps pur avec pour variables la température et la pression ; les autres variables souvent utilisées sont l'enthalpie, l'entropie, le volume massique, ainsi que la concentration en masse ou en volume d'un des corps purs constituant un mélange[29].

Beaucoup de chercheur se sont intéressé à étudier les systèmes de polymère-polymère, protéine-polymère ou protéine-protéine, et de déterminer le phase de ces systèmes.

Tolstoguzov et al.[30,31] ont appliquée la méthode des rapports de volumes pour la détermination du diagramme de phase, cette méthode consiste à la détermination exacte des coordonnées des points critiques du système quasi-binaire polymère-solvant.

La figure III-4 présente le diagramme de phase du système eau-méthylcellulose-dextran à 20C° obtenu à l'aide de la méthode des rapports de volume.[30]



# *Chapitre IV*

**Partie expérimentale**



## **IV-1-Introduction**

L'objectif de ce travail est de constituer de diagramme de phase de système caséinate de sodium-gomme xanthane-eau.

Dans ce chapitre est divisé en trois parties, la première on consacre à la description de l'équipe de mesure et des produits utilisés, dans la seconde on présente la mode de préparation des solutions et la méthode adoptée pour tracer le diagramme et on finira par l'exploitation de résultats obtenus.

## **IV-2-Matériels et méthodes de mesures**

**Centrifugeur de marque Hettich UNIVERSAL.**

**Plaque chauffage avec agitation magnétique :** la dissolution des constituants.

**pH mètre**

La mesure du pH se fait directement avec un pH-mètre en marque HANNApH211, à électrode en verre.

## **IV-3-Produits utilisés :**

### **IV-3-1-Caséinate de sodium**

Le Caséinate de sodium est une protéine animale anionique équilibrée, qui se présente sous forme de poudre blanche soluble dans l'eau à pH neutre. Il joue le rôle d'agent émulsifiant et viscosifiant dans beaucoup de formulations tels que les crèmes glacées, yaourts, produits diététiques et certaines crèmes cosmétiques.

### **IV-3-2-Gomme xanthane**

C'est un biopolysaccharide anionique naturel ; produit par la fermentation de « *Xanthomonas campestris* », sa masse moléculaire est estimée entre  $1,5 \times 10^6$  et  $5 \times 10^6$  daltons, soit 1,5 à 5 t/mole [1]. Le xanthane est soluble dans l'eau froide et chaude ; insoluble dans les solvants organiques ; compatible avec les sels, son pH varie de 6 à 8 et il a des propriétés épaississantes hydrophiles et gélifiantes.

### **IV-3-3-Azidure de sodium $N_3Na$**

L'azidure de sodium se présente sous forme de cristaux blancs ; soluble dans les solutions aqueuses. C'est un agent antimicrobien, jouant le rôle de conservateur.

### **IV-3-4-L'eau distillé**

L'eau est l'excipient le plus utilisé en cosmétique et en pharmacie. L'eau utilisée est une eau distillée pure, elle est caractérisée par :

- Conductivité électrique =  $2,9 \mu\text{s}/\text{cm}$ .
- pH = 6,4.
- Tension superficielle =  $70,7 \text{ dyne}/\text{cm}$ .
- Viscosité =  $0,001 \text{ Pa.s}$ .

#### **IV-4-Mode de préparation des solutions polymériques :**

##### **1<sup>ère</sup> étape : préparation des solutions mères**

On prépare une solution mère de caséinate de sodium à concentration  $120 \text{ g}/\text{L}$  et solution mère de gomme xanthane à  $10 \text{ g}/\text{L}$ .

Pour ce faire, on pèse la quantité de Caséinate de sodium et Gomme Xanthane nécessaire pour les concentrations désirées. On fait dissoudre cette quantité dans de l'eau distillée.

La dissolution des constituants est assurée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24 heures, elle se fait à pH neutre et à température d'environ  $40^\circ\text{C}$ .

##### **2<sup>ème</sup> étape : mesure de pH**

Après la préparation et la récupération des solutions de caséinate de sodium et de xanthane, on mesure le pH dans chaque solution :

- Pour la solution de caséinate de sodium à  $25^\circ\text{C}$  pH = 6.27.
- Pour la solution de xanthane à  $25^\circ\text{C}$  pH = 5.13.

##### **3<sup>ème</sup> étape : préparation des mélanges de caséinate de sodium /gomme xanthane :**

Les solutions sont préparées en faisant dissoudre les quantités appropriées de solution de caséinate de sodium ou de xanthane, en présence de 0.01% d'azidure de sodium pour protéger contre les contaminations microbiennes.

#### **IV-5-Description de la méthode des rapports de volume:**

Pour tracer le diagramme de phase du système caséinate- xanthane – eau, on va utiliser la méthode des rapports de volumes [ ].

Pour ce faire, on a préparé séparément une solution mère de caséinate de sodium de concentration  $C_1^\circ = 120 \text{ g}/\text{l}$  et une solution mère de xanthane de concentration  $C_2^\circ = 10 \text{ g}/\text{l}$ , en faisant dissoudre les masses nécessaires dans l'eau distillée, en présence de 10 ppm d'azidure de sodium comme conservateur, et on porte à agitation magnétique pendant 24h pour assurer la dissolution totale de la poudre.

On prépare par la suite le mélange des deux biopolymères à des rapports massiques différents. La concentration du caséinate et du xanthane dans le mélange est respectivement  $C_1$  et  $C_2$ . La composition du mélange est exprimée par les fractions massiques:

$$\alpha = C_1 / C_1^\circ$$

$$1 - \alpha = C_2 / C_2^\circ$$

On réalise à chaque fois une série de N essais, on choisie x gramme de la solution mère de caséinate et y grammes de la solution mère de xanthane, on mélange le tous, puis on partage ce mélange en N parts. On dilue ces parts avec de l'eau distillée. Puis on les centrifuge à une vitesse de 4000t/min pendant 3heure.

Après que la séparation de phase a eu lieu, on mesure les hauteurs des deux phases coexistantes, on note  $H^+$  et  $H^-$  les hauteurs supérieure et inférieure respectivement.

On calcule le rapport  $r^+$ :  $r^+ = H^+ / (H^+ + H^-)$ ., on aura une courbe avec N points:  $r^+ = f(\alpha)$ . On trace la courbe  $r^+ = f(\alpha)$ ,  $r^+$  devrait à chaque fois tendre soit vers 1 ou vers 0. Dans les deux cas limites on obtient un point de la binodale du diagramme de phase. On extrapole la courbe vers 0 ou vers 1 (selon le cas) et on détermine  $\alpha$  pour lequel on a un point binodal du diagramme.

#### **IV-6-Résultats et discussion:**

Dans le tableau IV.1 on présente les différentes concentrations des mélanges préparés:

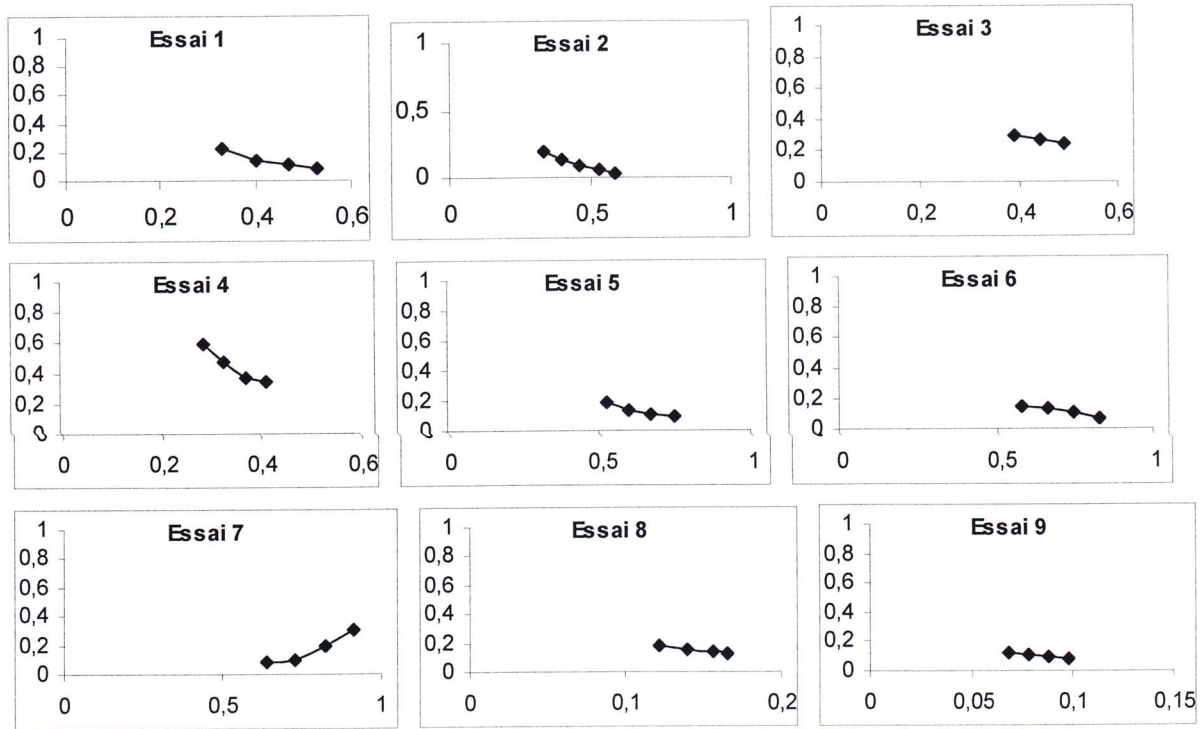
Essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$C_1$ (g/l)	72.223	79.96	59.71	49.81	89.89	99.58	109.71	21.01	11.77
$C_2$ (g/l)	3.98	3.33	5.02	5.84	2.50	1.70	0.85	8.24	9.01

Chaque essai est divisé en plusieurs parts, diluées avec des proportions différentes d'eau distillée, puis centrifugé.

A noter que la séparation de phase a été difficilement obtenue.

On mesure les hauteurs des deux phases obtenues, on calcule  $r^+$  puis on trace  $r^+ = f(\alpha)$

Les courbes obtenues sont des droites, elles sont représentées sur la figure IV-1.



**Figure IV-1:** Illustration schématique des différents résultats obtenus sous forme de courbes

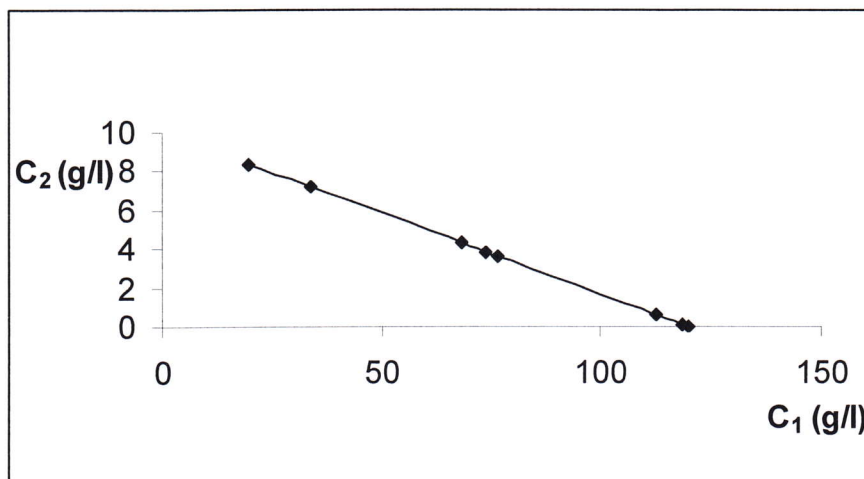
$$r^+ = f(\alpha)$$

Les courbes représentées ci-dessus montrent que  $r^+$  tend à chaque fois vers 0. On extrapole les courbes et on détermine les valeurs de  $\alpha$  pour lesquelles  $r^+ = 0$ .

Les résultats sont résumés dans le tableau IV-2. Rappelons que  $\alpha = C_1 / C_1^\circ$  et  $1 - \alpha = C_2 / C_2^\circ$ .

$\alpha$	0.162	0.28	0.57	0.617	0.64	0.94	0.986	1
$C_1$	19.44	33.6	68.4	74.04	76.8	112.8	118.32	120
$C_2$	8.38	7.2	4.3	3.83	3.6	0.6	0.14	0

Ces résultats nous permettent de tracer le diagramme de phase  $C_2 = f(C_1)$ . Le diagramme de phase du système caséinate de sodium- gomme xanthane- eau, déterminé à l'aide de la méthode des rapports de volumes est présenté dans la figure IV-2.



**Figure IV-2:** Diagramme de phase du système caséinate de sodium- gomme xanthane- eau

Le diagramme obtenu n'est pas représentatif. L'allure de la courbe d'un diagramme de phase devrait être une parabole.

On va s'efforcer d'expliquer les raisons pour lesquelles on n'a pas obtenu le diagramme de phase du système étudié.

Tout d'abord,  $r^+$  ne tendait que vers 0, selon la figure IV-1, cela explique que les points obtenus de la binodal ne présentaient qu'une seule partie du diagramme (la partie inférieure). On a essayé de varier les concentrations comme le montre le tableau IV-1, mais la séparation de phase a toujours été difficilement obtenue, donc  $H^+$  petit et  $r^+$  tend vers 0.

Il est à signaler que les mélanges étaient très concentrés, malgré la diversité des concentrations, le mélange était soit concentré en caséinate (essais: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) en en xanthane (essais: 3, 4, 8, 9). On obtenait difficilement la séparation de phase, car les systèmes étaient presque gélifiés, empêchant les deux biopolymères de s'interagir entre eux. Il fallait peut être diminuer les concentrations, quoi que, théoriquement, on sait qu'à faible concentrations, les interactions ségréгатives entre le xanthane et le caséinate n'ont pas lieu. Ou il fallait encore chauffer avant de centrifuger pour diminuer la viscosité et libérer les polymères du gel leur permettant de s'interagir.

La tentative de tracer le diagramme de phase nous a permis de maîtriser la méthode des rapports de volumes, puis de découvrir les limites des mélanges choisis.

Conclusion

## **Conclusion générale et perspective:**

L'étude des systèmes dispersés, à base de protéine et de polysaccharide, sur le plan physicochimique, reste une tâche difficile pour le chercheur. En effet, cette difficulté est inhérente à la mise en évidence des interactions inter-biopolymères (floculation par déplétion, incompatibilité thermodynamique, interaction électrostatique,...) et intra-biopolymère (formation de sub-micelles, de micelles, réseau polymérique...) qui conditionnent le sort du système en matière de stabilité et de façon générale de son comportement de phase.

L'objectif de ce modeste travail était de déterminer le diagramme de phase du système caséinate de sodium- gomme xanthane- eau en utilisant la méthode des rapports de volume. Cette méthode est très simple à réaliser, nécessitant peu de moyens.

Le diagramme de phase obtenu n'était pas représentatif, pour des raisons expérimentales. On peut citer parmi ces raisons:

- Les concentrations élevées des deux biopolymères dans le mélange ont donné lieu à un système gélifié, empêchant la séparation de phase.
- Pour détruire ce gel, libérant la protéine et le polysaccharide leur permettant de s'interagir, il fallait diminuer la viscosité en chauffant le mélange.
- L'ajout du sel permet au caséinate de se rassembler en micelles, donc d'augmenter sa taille et de mieux s'interagir avec le xanthane.

Cette étude n'est qu'un premier pas dans un long parcours de recherche, grâce à laquelle on n'a pu maîtriser la méthode des rapports de volumes. Il serait intéressant de reprendre ce travail en changeant les conditions expérimentales.

# Bibliographies



## **Bibliographie :**

- [1] : ph. Cayot « structures et techno fonction de protéine du lait » Ari lait Recherches.
- [2] : Internet : <http://icicegep-ste-foy.qc.ca/profs/gbourbonnais/pasca/fya/chimcell/notes/molecules/protines.htm>.
- [3] : TECHNIQUE D'INGENIEUR-Agroalimentaire- F1-F10 10-10
- [4] : Internet : <http://arbl.cvmbs.colostant.edu/hbooks/molecules/aminoacids.html>.
- [5] : Internet [WWW.theses](http://WWW.theses.ulaval.ca-2003/20851/CH01.html) Ulaval.ca-2003/20851/CH01.html.
- [6] : Docona ,GH;Fernandez ,R;Chirdo, FG;Fossati, CA. identification of casein as the major allergenic and antigenic protein of cow's milk. *Allergy*; 51:412-416; 1996.
- [7] : oldaeus,G;Bjorkstén, B; Einarsson, R; Kjellman, N-IM. antigenicity and allergenicity of cow milk hydrolysates intended for infant feeding. *pediatrAllergy Immunol*; 4:156-164;1991.
- [8] : Sampson,HA;James,JM;bernhisel-Broadbent,J. Safety of an amino-acide driven infant formulae in children allergic to cow milk. *Pediatrics*; 90:463-465; 1992
- [9] : «Isolement de caseine» [WWW.didier-pol.net/2FTCAS.html](http://WWW.didier-pol.net/2FTCAS.html).
- [10] : Mounia REBIHA, Magister en génie des procédés « ETUDE RHEOLOGIQUE ET PHYSICO-CHIMIQUE DES EMULSION A BASE DE CASEINATE DE SOUDIUM ».
- [11] : D<sup>r</sup> Alexandre Haeffner, «Application à l'Hémodynamique des lois de la Mécanique des Fluides », Tes&DOC, Lavoisier,(1996).
- [12] : Roger Veisseyre, « Technologie du lait, Constitution, Récolte, Traitement et transformation du lait » 3<sup>ème</sup> édition entièrement refondue de techniques laitières, (1979).
- [13] : Dérivés laitières  
1. Uimann's Encyclopedia of Industrial Chemistry: Milk and Dairy Products.  
2. J. Stein et K. Imhof revise par R. Jost.  
3. Milk protien fractions : an Overview. Communication personnelle.
- [14] : Internet : « <http://fr.wikipedia.org/wiki/Polysacchariden> »
- [15] : Technique de l'ingénieur. La gomme xanthane, F4 300, J6 670.
- [16] : Jansson P. -E., Kenne, L., Lindberg, B., " Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* , " *Carbohydrate Research*, vol.45, 275-282, (1975).
- [17] : Melton, L.D., Mindt, L., Rees, D.A., Sanderson, G.R., " Covalent structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* evidence from partial hydrolysis studies ", *Carbohydrate Research*, vol. 46, 245-257, (1976).
- [18] : Capron, I., Brigand, G., Muller, G., "About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide ", *Polymer*, vol. 38, 5289-5295, (1997)
- [19] : Liu, W. , Sato, 'F., Norisuye, 1., Fujita, H' , Fherinally induced contbrmat tonal change of xanthan in 0,01 M aqueous sodium chloride ', ("arhohydiwe Re. ol I o 267-281, (1987)
- [20] : Capron, 1., Traitement thermique des mouts de fermentation et organ on inoldcu L 'c du xanthane, consequences rhéologiques ', 'l'hése de doctorat, Rouen, France, (1996).
- [21] : Laba D., Rheological properties of cosmetics and toiletries ", New York Laba D editions, 416 pages (1993).
- [22] : Crowe, C.W., Martin, R.C., Michaelis AM., Evaluation of acid-gelling agents for use in well stimulation ', Society of Petroleum Engineers Journal, vol. 2 1, 415-424(1981).

- [23] : Christensen, BE., Smidsrod, O, Elgsaeter, A., Stokke, B.T , Depolymerisation of double-stranded xanthan by acid hydrolysis ; characterization of partially degraded double strands and single-stranded oligomers released from the ordered structures *Macromolecules*, vol. 26, 6111-6120 (1993).
- [24] : Christensen, BE., Myhr, M.H , Smidsrod, O., “ Degradation of double-stranded xanthan by hydrogen peroxide in the presence of ferrous ions comparison with acid hydrolysis , (*Carbohydrate Research* vol. 280, 85-99 (1996)).
- [25] : Christensen, BE., Smidsrod, O , Hydrolysis of xanthan in dilute acid effect on chemical composition, conformation and intrinsic viscosity , *Carbohydrate Research*, vol. 214, 55-69 (1991). [45] : Jean, Marie Lhen-chimie et physico-chimie des polymères-1<sup>er</sup> édition 2001
- [26] : Glaude Martini. M, Monique SEILLER- actif et additif en cosmétologie TEC et DOC Lavoisier 2<sup>eme</sup> édition 0191-7-1999
- [27] : SBI de colloïde- monographie SBI
- [28] : De Kruif. C. G, Tuinieu. R, polysaccharides protéine interactions-journal of food biotechnology 15.555.563-2001
- [29] : Application of Phase-Volume-Ratio Method for Determining the phase Diagram of Water-Casein-Soybean Globulins System.V.I,poly
- [30] : A,N,Nesmeyandy Institute of Organo-Compounds(Director :Academician A,V,Foxin),A study of gelatine-methylcellulose compatibility in aqueous media.E,V,
- [31] : « [http://fr.wikipedia.org/wiki/Diagramme\\_de\\_phase](http://fr.wikipedia.org/wiki/Diagramme_de_phase) »

## RESUME

L'objectif de ce travail est de tenter de déterminer le diagramme de phase du système caséinate de sodium –gomme xanthane -eau à l'aide de la méthode des rapports de volumes.