



HAL
open science

Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans les hydrogels d'alginate de calcium :

Delphine Mazens

► **To cite this version:**

Delphine Mazens. Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans les hydrogels d'alginate de calcium :. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2005. Français. NNT : 2005INPL118N . tel-01752497

HAL Id: tel-01752497

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752497>

Submitted on 29 Mar 2018

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE
Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques
Laboratoire des Sciences du Génie Chimique
Ecole Doctorale RP2E

THESE

Présentée en vue d'obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INPL
Spécialité : Génie des Procédés

Par

Delphine MAZENS

**Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans
les hydrogels d'alginate de calcium**

Soutenue publiquement le 15 décembre 2005

Jury

Rapporteurs : Mme. S. BRIANCON (LAGEP, Lyon)
M. M. ROQUES (LATEP, Pau)

Examineurs : M. T. NGUYEN (PBM, Rouen)
Mme M. LEONARD (LCPM, Nancy)
M. C. CASTEL (GEMICO, INPL, Nancy)
M. E. FAVRE (LSGC, INPL, Nancy)

Résumé

Ce travail porte sur l'étude de la diffusion de solutés macromoléculaires (des pullulanes de masse moléculaire M_w comprise entre 780 et 788 000 g.mol⁻¹) dans des particules sphériques de gels d'alginate de calcium de fraction volumique Φ_p variable. La variation de M_w et Φ_p a ainsi permis de balayer une large gamme de situations expérimentales par l'intermédiaire de variations de la taille du soluté et de la densité du réseau.

Le suivi des cinétiques de diffusion a été réalisé grâce à la mise en œuvre de 3 types d'essais : suivi après dosage de prélèvements au cours du temps, essais sans prélèvement par utilisation d'une boucle d'analyse et utilisation de colonnes de laboratoires. Les essais en système fermé avec boucle d'analyse ont fait l'objet d'une étude de l'effet perturbateur de la boucle conduisant à la définition de domaines de travail adaptés (où l'erreur reste acceptable). D'autre part, une analyse de sensibilité de paramètre a conduit à la détermination d'un optimum des cinétiques de diffusion pour la détermination du coefficient de diffusion.

L'application de ces recommandations au système alginate/pullulane a permis l'estimation des paramètres diffusionnels tandis que diverses méthodes ont été utilisées pour la caractérisation du gel et du soluté. Ces deux niveaux d'étude du système (structure/transfert) ont finalement été associés dans le but de la modélisation prédictive de relations structure/paramètres diffusionnels afin de permettre la conception rationnelle de systèmes à libération contrôlée. Parmi les nombreux modèles testés, une description correcte a pu être obtenue, tant pour les coefficient de partition que pour les coefficients de diffusion, avec une approche de type hydrodynamique postulant l'existence de pores de dimension caractéristique r_p .

Mots-clés : alginate de calcium, hydrogel, macromolécules, diffusion, partition, relation propriété/structure, méthodologie, libération, incorporation

Abstract

This study deals with diffusion of macromolecules (pullulans with a large range of molecular weights standing from 780 to 788 000 g.mol⁻¹) into spherical particles of calcium alginate hydrogel. Thanks to variations of polymer volumic fraction in the hydrogel and of solute molecular weight, different experimental situations have been experimented.

Measurements of diffusion kinetics have been performed with 3 independent methods which have demonstrated various adaptability to this situation: uptake experiments using or not an analysis loop and column experiments. This assays showed that uptake experiments with an analysis loop is more convenient. Effect of the analytic loop on the results has been studied and lead to the definition of experimental recommendations. Moreover, a parameters sensibility analysis enables the determination of an optimum of sensibility for diffusion coefficient determination.

Applying these recommendations, diffusion and partition coefficients have been estimated. Characterisation of the system alginate/pullulan and transfert data were used to modelling relationships between structural and diffusional properties. Both results obtained in diffusion and partition showed that a hydrodynamic approach postulating a porous model for the gel gave the best adequation between models and experiments.

Key-words: calcium alginate hydrogels, macromolecules, diffusion, partition, modelling diffusional behavior/structural properties, methodology, release, uptake

Remerciements et Pensées d'après thèse

Mes plus chaleureux remerciements vont, en tout premier lieu, au Professeur Eric Favre qui a accepté de diriger ce travail. Pendant ces trois années, j'ai eu un réel plaisir à travailler sous sa direction et à m'enrichir à son contact. J'ai trouvé en lui un directeur ouvert et toujours disponible, qu'il reçoive, ici, ma profonde gratitude et ma respectueuse affection. En particulier, je le remercie d'avoir été à l'initiative de mes premiers pas Outre-Atlantique et en tant que speaker, merci pour nos nombreuses conversations, pour son soutien tout au long de ce travail.

Je tiens également à remercier Christophe Castel, pour avoir co-encadré ce travail avec enthousiasme, bonne humeur et intérêt. Je tiens ici à lui adresser un merci tout particulier pour son aide dans la modélisation ainsi que les nombreuses discussions et réflexions qui ont ponctué ces trois années.

De même, je remercie Michèle Léonard, directrice de recherche au LCPM pour avoir accepté de co-encadrer cette thèse. Ses conseils avertis, son soutien, sa rigueur et sa grande connaissance des polymères ont été d'une aide précieuse tout au long de ce travail.

Je souhaiterais également resituer le cadre dans lequel ces trois années se sont déroulées. En effet, ce travail de thèse, financé par une allocation ministérielle, a été réalisé avec la collaboration de trois laboratoires du groupe ENSIC. A ce titre, je tiens à remercier, Michel SARDIN, professeur à l'ENSIC et Directeur du Laboratoire des Sciences du Génie Chimique pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire (LSGC). J'associe à ces remerciements, Lionel Choplin, professeur à l'ENSIC et Directeur du Centre de Génie chimique des Milieux rhéologiquement Complexes (GEMICO) où j'ai passé ces trois années de doctorat. De même, je remercie Edith Dellacherie, professeur à l'ENSIC et Directrice du Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire (LCPM) au début de ce travail, laboratoire dans lequel mes essais ont débuté.

Je remercie Stéphanie Briançon du Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP) et Maître de Conférence à l'Université de Lyon I et Michel Roques, Professeur à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (Laboratoire de Thermique, Energétique et Procédés) qui ont accepté de rapporter ce travail ainsi que le professeur Trong N'Guyen (Laboratoire Polymère, Biomatériaux, Membranes), qui m'a fait l'honneur de diriger le jury de thèse.

Ceux qui ont contribué à faire que ces trois années resteront un agréable souvenir sont nombreux et à défaut de pouvoir tous les citer, qu'ils reçoivent ici mes sincères remerciements : membres du LSGC, du LCPM, du Gémico et, plus généralement, de l'ENSIC.

Ces trois années ont été également marquées par mon monitorat à l'IUT du Montet et à l'ENSIC. Je remercie Dominique Thomas et Souhila Poncin, mes tuteurs de monitorat ainsi que mes collègues de TP et TD pour ces bons moments dans le département Génie Chimique de l'IUT et à l'ENSIC.

Je tiens également à associer à ce travail ceux dont le soutien technique a été si précieux : l'atelier de mécanique pour la réalisation du montage avec boucle d'analyse et notamment, Pascal, Gilbert, Alain, Patrick, Christian, Yann, Mathieu pour l'acquisition des résultats, Marie-Odile pour les prêts de matériel, Jean-Marie pour son aide, Xavier pour les bons tuyaux, Philippe pour les essais de rhéométrie, Jean-François pour la microscopie, Céline pour les essais de fluorimétrie.

Je remercie également les filles du secrétariat du LSGC pour leur aide administrative, pour leur disponibilité et leur bonne humeur.

J'adresse aussi ma reconnaissance aux membres du LCPM pour m'avoir accueillie dans leurs murs : merci notamment à Cécile qui a guidé mes premiers pas en DEA, Elise, Cécile, Emmanuelle, Fred, Ahmed pour leur agréable compagnie, Marie-Christine pour ses caractérisations, Alain pour sa gentillesse et ses indications averties...

Ces trois années sur la « mezzanine » resteront également d'excellents souvenirs, je salue ici ceux que j'y ai côtoyés : Joachim, Chrystel, Maud, Dorra, Sébastien, Oscar, Nadia, Marianna, Fernando, Johanna, Isabelle, Andréa, Carole, les stagiaires Isabelle, Victor Hugo, Béatriz, Maria José, sans oublier Mickel... Muchas gracias a todos! Resteront aussi parmi les bons souvenirs les pauses cafés du Gémico et leurs discussions, j'adresse ici toute ma sympathie à ceux qui y ont contribué: Véronique pour sa compagnie agréable, Philippe pour son intérêt dans nos travaux et les nombreuses discussions scientifiques ou non, Josianne B. pour son aide dévouée, ses carambars et sa bonne humeur, Eric pour sa disponibilité, sa sympathie et son soutien.

Je n'oublie pas, bien sûr, les bons souvenirs partagés avec mes camarades de RU, de coinche et autre : Séb, Mamar, Céd, Cédric LB, Juan David, Marie, Toutie, Steffy, Guigui, Maud, Ann'Soph', Fred, Thibault, Chrystel, Olivier, Isa, Nico, Aurélien, Jean-Jean, Rico, Dom, Eric, Nader.

Merci aussi à nos amis coureurs du CAC pour les séances de décompression bien utiles à certains moments !

Je ne saurais terminer sans un clin d'oeil mes proches qui ont fait le trajet depuis le Sud-Ouest pour assister à la soutenance de cette thèse : merci Francine, Cathy, Mimi, Gérard...et à Simon qui a même pris des notes. Merci aussi aux autres pour leur soutien!

Je terminerai par un énorme merci à mes parents qui m'ont soutenu avec un amour et une confiance sans limite tout au long de ces années d'étude.

Enfin, un tendre merci à celui avec qui j'ai partagé chaque jour de ce travail et bien plus : merci Fred, pour ton soutien, ta patience, tes petites attentions...

Sommaire

Sommaire	1
Introduction Générale.....	7

Chapitre I Problématique générale : Gels et transfert de matière

Introduction	10
A/ Système.....	11
I. Entre liquide et solide : le gel.....	11
I.1. Définition.....	11
I.2 Transition sol-gel.....	12
I.3 Hydrogels.....	12
II Critères de choix du système opératoire.....	13
II.1 La matrice gel.....	13
II.2 Le soluté.....	14
III. Choix du système d'étude : Alginate de Calcium/Pullulane	16
III.1. L'alginate de calcium.....	16
III.2 Le pullulane.....	21
B/ Problématique générale	22
I. Partition de polymères dans un gel.....	22
I.1 Définition du coefficient de partition.....	22
I.2 Interprétation : Approche système homogène ou hétérogène ?	22
II. Diffusion dans les gels.....	29
II.1 Phénomène de diffusion : généralités.....	29
II.2 Approche de la diffusion par Fick.....	30
II.3 Diffusion non fickienne.....	32
III. Méthodes de mesure des paramètres de diffusion	34
III.1 Méthodes à gradient de concentration en régime stationnaire	34
III.2 Méthodes à gradient de concentration en régime transitoire	35
III.3 Méthodes instrumentales.....	40
III.4 Bilan des méthodes et choix pour notre système	41
C/ Bilan et objectifs du travail	43
Conclusion.....	46
Table des Figures	47
Liste des Tableaux	49

Chapitre II

Caractérisation physico-chimique du système modèle

Introduction	50
A/ Mise en forme des gels d'alginate	51
I. Gels physiques	51
I.1 Préparation des solutions	51
I.2 Mise en forme	51
I.3 Durée de gélification.....	53
II. Gels chimiques et gels mixtes	54
II.1 Objectifs.....	54
II.2 Protocole de synthèse : réticulation chimique de l'alginate par l'acide adipique dihydrazine	55
B/ Caractérisation du système.....	57
I. L'alginate de sodium.....	57
I.1 Taux d'humidité.....	57
I.2 Mesure par diffusion de la lumière multiangle, de la masse molaire de l'alginate	57
I.3 Caractérisation structurale par dichroïsme circulaire.....	59
I.4 Caractérisation par RMN ¹ H après dépolymérisation enzymatique partielle	60
II. Les gels d'alginate	62
II.1 Préambule : détermination de ξ ou r_p : <i>mythe ou réalité</i> ?.....	62
II.2 Mesure de la taille des billes, reproductibilité.....	65
II.3 Fraction volumique en polymère dans le gel.....	66
II.4 Evaluation de l'hétérogénéité des gels cylindriques.....	67
II.5 Rhéologie de gels d'alginate de calcium	68
II.6 Microscopie électronique à balayage	72
III. Le pullulane.....	75
III.1 Masse moléculaire.....	75
III.2 Mesure du rayon du soluté	76
Conclusion.....	79
Table des Figures.....	80
Liste des Tableaux.....	81

Chapitre III

Etude méthodologique appliquée à l'estimation des paramètres diffusionnels

Introduction	82
PARTIE 1 Méthode par incorporation de soluté dans des particules sphériques de gel dispersées en système fermé	83
A/ Détermination des coefficients de diffusion par la méthode avec particules sphériques dispersées en système fermé	83
I. Préambule : choix de la libération ou de l'incorporation.....	83
II. Méthodologie de détermination de D via une cinétique de diffusion.....	83
II.1. Résolution analytique : volume infini de solution.....	84
II.2. Résolutions analytiques : volume fini de solution.....	85
III. Erreurs expérimentales associées : mises en garde de la littérature et sensibilité de paramètres	86
III.1. Influence des prélèvements	87
III.2. Sensibilité à M/M_∞ : Cas du volume fini de solution.....	88
B/ Estimation de l'erreur méthode par simulation dans le cas d'un système fermé avec boucle d'analyse.....	91
I. Illustration de l'effet perturbateur de la boucle d'analyse	91
II. Principe de modélisation du système expérimental.....	93
II.1 Schéma du montage et principe du modèle	93
II.2 Paramètres du modèle.....	95
II.3 Simulations préliminaires de l'hydrodynamique.....	95
III. Estimation de l'erreur méthode par simulation	97
III.1. Simulations préliminaires.....	97
III.2 Définition d'un paramètre caractéristique du problème.....	98
PARTIE 2 Méthode en colonne chromatographique.....	100
I. Les phénomènes de transfert.....	100
II. Aspect théorique : les modèles de transport linéaire en colonne.....	104
II.1 Théorie de la distribution des temps de séjour (DTS).....	104
II.2 Modèles théoriques de caractérisation des écoulements en colonne.....	105
Conclusion.....	111
Table des Figures.....	113
Liste des Tableaux.....	114

Chapitre IV

Partition de macromolécules dans un hydrogel

Introduction	115
A/ Modèles de partition dans les gels.....	116
I. Description du système soluté/matrice	116
II. Soluté rigide, matrice fibreuse.....	117
III. Soluté flexible, matrice fibreuse.....	119
IV. Soluté rigide sphérique, matrice poreuse	121
V. Soluté flexible, matrice poreuse	122
B/ Détermination expérimentale des coefficients de partage	122
I. Protocole de détermination	122
II. Dosage du pullulane par la méthode colorimétrique à l'anthrone.....	123
III. Programme expérimental	124
C/ Résultats expérimentaux.....	126
I. Effet de la température.....	126
II. Effet de la concentration.....	126
III. Coefficients de partage en fonction des paramètres structuraux du système.....	127
IV. Partition ou sorption superficielle ?	129
IV.1 Effet du volume spécifique	130
IV.2 Perspectives de travail : visualisation par microscopie de fluorescence.....	130
D/ Modélisation Propriétés/Structure	132
I. Soluté rigide sphérique, matrice fibreuse.....	133
I.1 Modélisation par le modèle d'Ogston.....	133
I.2 Validité de la description du soluté.....	135
I.3 Ecartés liés à la modélisation de la matrice	137
II. Soluté flexible, matrice fibreuse	143
II.1 Modélisation par le modèle de White et Deen	143
II.2 Conformation du soluté	144
II.3 Effet de la taille du soluté via le degré de polymérisation.....	145
III. Soluté rigide, matrice poreuse	147
IV. Soluté flexible, matrice poreuse.....	150
E/ Bilan des modélisations, perspectives	151
Conclusion.....	154
Table des Figures.....	157
Liste des Tableaux.....	159

Chapitre V

Diffusion de solutés macromoléculaires dans l'alginate de calcium

Introduction	160
A/ Méthode de détermination des coefficients de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium.....	161
I. Essais d'incorporation du soluté dans des particules sphériques d'alginate dispersées en système fermé.....	161
I.1 Protocole expérimental	161
I.2 Validation de la méthode	163
I.3 Programme des essais	165
II. Essais en colonne chromatographique.....	166
II.1 Principe expérimental	166
II.2 Injections de pullulanes dans une colonne remplie de particules sphériques d'alginate de calcium	172
II.3. Résultats et Discussion des essais préliminaires	174
B/ Résultats expérimentaux.....	180
I. Cinétiques de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium	180
II. Coefficients de diffusion du pullulane dans les gels d'alginate de calcium	182
II.1 Modélisation des cinétiques pour l'estimation de D	182
II.2 Récapitulatif des valeurs de D mesurées	182
C/ Modélisation de la diffusion de solutés dans les hydrogels : Etat de l'art.....	185
I. Modèles de type obstruction	185
II. Modèles de type hydrodynamique.....	188
III. Théorie du volume libre	191
IV. Lois d'échelle.....	193
V. Lois empiriques	193
D/ Modélisation de la diffusion des pullulanes dans l'alginate de calcium.....	196
I. Modèles de coefficient de diffusion de solutés en phase aqueuse	196
I.1 Equation de Stokes-Einstein	196
I.2 Approche De Gennes : „flexible coil“	196
I.3 Equation empirique de Chang et Wilke [Wilke, 1955 ; Chang, 1955]	197
I.4 Données extrapolées	197
II. Problématique de la modélisation.....	198
II.1 Observation des données brutes : vers une approche à deux régimes ?	198
II.2 Modèles explicites sans paramètre ajustable	202
II.3 Modélisations avec ajustements	206
III. Bilan des modélisations et discussion	212
III.1 Bilan général	212
III.2 Bilan des modèles sans paramètre ajustable	215
III.3 Bilan des modèles avec paramètre ajustable	215
Conclusion.....	222
Table des Figures.....	224
Liste des Tableaux.....	227

Conclusion Perspectives.....	228
Nomenclature.....	232
Références bibliographiques	235
ANNEXES.....	245
Annexe II.1: Méthodes analytiques : Généralités sur la diffusion de la lumière multiangle.....	246
Annexe II.2: Méthodes analytiques : Généralités sur le dichroïsme circulaire.....	248
Annexe III.1 : Calcul de l'erreur relative sur le coefficient de partage	249
Annexe III.2 : Calcul de la différentielle de K_p (relation de White et Deen, 2000) par rapport à n	251
Annexe III.3 : Données fournisseur concernant l'utilisation des pullulanes	252
Annexe V.1 : Protocole expérimental détaillé pour la méthode de chargement de billes dispersées dans un batch.....	253
Annexe V.2 : Exemples de cinétiques de diffusion expérimentales pour quatre types de gels d'alginate de calcium.	257
Annexe V.3 : Exemples de modélisations de cinétiques de diffusion expérimentales. ...	259

Introduction Générale

Entre liquide et solide, un état intermédiaire se retrouve dans de multiples applications : le gel. Si des exemples de gels viennent à l'esprit de chacun, une définition unanime de cet état de la matière est moins aisée. En effet, les gels se réfèrent à un groupe extrêmement large de produits caractérisés par le mélange d'une matière colloïdale et d'un liquide.

Ce type d'état de la matière se rencontre fréquemment dans les domaines médical et pharmaceutique : on les retrouve dans divers systèmes de libération contrôlée, depuis les patches jusqu'aux gels gastriques ou aux lentilles de contact. Parmi ces derniers, la catégorie des hydrogels dans lesquels le liquide de gonflement est de l'eau, est particulièrement adaptée au domaine du vivant, notamment du fait de la très grande proportion d'eau qui leur confère des propriétés de biocompatibilité. Les hydrogels, caractérisés par la stabilité des liaisons mises en jeu dans la formation du réseau tridimensionnel, sont un matériau d'intérêt dans le domaine de l'ingénierie tissulaire [Drury, 2003]. En effet, on peut considérer que la plupart des tissus des organismes, exception faite des tissus durs comme les dents et les os, sont formés d'eau majoritairement. Pour autant, ils conservent leur forme dans l'eau et peuvent, par conséquent, être considérés comme des gels. Il apparaît, dès lors, tout naturel que les gels soient d'excellents candidats dans les applications d'ingénierie tissulaire. Leurs applications y sont multiples : on peut citer des exemples d'utilisation comme matériau de comblement (lésions arthrosiques, par exemple) dont la structure tridimensionnelle stimule la prolifération cellulaire ou comme vecteur de principes actifs.

De même, avec l'essor des nanotechnologies, certaines études pharmaceutiques se sont orientées vers la mise en œuvre de « gels intelligents » [Peppas, 1993]. Ces gels, aptes à des réponses adaptées aux stimuli de leur environnement trouvent leurs applications notamment dans le domaine médical. A titre d'exemple, une variation de pH entraînant un gonflement du gel permet la libération d'insuline. Ces travaux devraient permettre de remplacer les injections classiques par des prises par voie orale moins contraignantes [Foss, 2004]. D'autres gels sont sensibles à la température, à des irradiations ou des variations de la force ionique [Peppas, 1993].

Un point commun apparaît pour l'ensemble de ces domaines d'application des gels : leur développement réside dans une problématique commune : la compréhension du transport de macromolécules (ADN, protéines, liposomes, etc...) dans des gels complexes dans le but d'une conception raisonnée d'un système à la délivrance adaptée. Pour parvenir à cet objectif, des problématiques de deux ordres sont à considérer : la caractérisation des hydrogels et la mesure précise des coefficients de diffusion.

En effet, il apparaît que le paramètre clé influençant la diffusion d'un soluté dans un gel est le rapport de la taille du soluté à la maille du réseau formé par le gel (Figure 1). Le déplacement d'un soluté au sein d'un gel sera, en effet, d'autant plus lent que le soluté sera encombrant et le réseau dense. A ce titre, l'étude de la diffusion de solutés dans les hydrogels implique des essais sur une large gamme de tailles de solutés et de maillages du réseau. En outre, des paramètres tels que l'affinité entre gel et soluté peuvent intervenir dans le transfert de matière. Découpler ces effets de ceux liés aux paramètres structuraux est par conséquent indispensable, pour établir des relations propriétés structure et traiter méthodologiquement ce problème. Il apparaît donc qu'une série de critères devra être remplie par le couple gel/soluté utilisé de façon à en faire un système « modèle ». L'énoncé de ces critères ainsi que le choix d'un système adapté à ce travail (système alginate de calcium/pullulane) fera ainsi l'objet de la première partie du chapitre I.

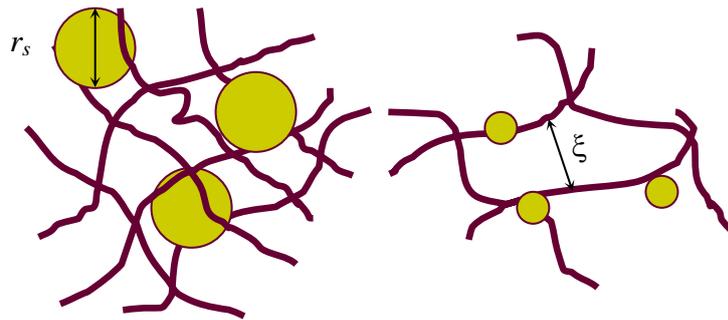


Figure 1 : Représentation schématique des principaux paramètres intervenant dans le processus de diffusion de solutés dans les gels.

D'autre part, la détermination des paramètres diffusionnels devra être conduite avec une méthodologie adaptée de façon à appliquer les méthodes classiques de mesure dans les liquides à ce type de systèmes. La précision des mesures est en effet un point clé dès lors que des relations propriétés/structure sont à établir tandis que la littérature permet de répertorier des variations s'échelonnant sur plusieurs ordres de grandeurs dans la mesure des coefficients de diffusion. Par paramètre diffusionnel, nous entendons, à la fois, mesure de données à l'équilibre, sous la forme du coefficient de partage, et mesure au cours de la cinétique de diffusion via l'estimation du coefficient de diffusion. Ces différents paramètres seront décrits au chapitre I, partie B et C. La dernière partie de ce chapitre se propose de réaliser un tour d'horizon des différentes méthodes expérimentales permettant d'accéder aux coefficients de diffusion dans les gels afin de sélectionner les méthodes mises en œuvre pour cette étude.

La caractérisation du couple soluté/gel choisi est présentée au chapitre III. Ce chapitre permettra d'insister sur les difficultés actuelles de caractérisation, notamment en ce qui concerne le gel.

La méthodologie étant au cœur de la détermination du coefficient de diffusion, elle fera l'objet d'un chapitre à part entière dans lequel des recommandations seront formulées, tant au niveau expérimental qu'au niveau de l'exploitation des données. Ces recommandations seront le fruit de la mise en œuvre d'une analyse de sensibilité de paramètre et de l'étude par simulation du système expérimental permettant d'accéder aux coefficients de diffusion de macromolécules dans l'hydrogel.

Par souci de méthodologie, le partage des macromolécules entre la phase gel et la solution environnante a été traité de manière indépendante. Les résultats de cette étude sont présentés au chapitre IV. L'utilisation de la caractérisation du système réalisée au chapitre II aboutit à une évaluation du caractère prédictif des modèles de partage de la littérature. Devant les difficultés importantes rencontrées dans la caractérisation du gel, notamment, cette étude est traitée sous le jour d'une analyse de sensibilité de paramètres appliquée aux différents modèles. Ceci permettra de mettre en exergue l'effet de la mésestimation des divers paramètres sur les prédictions des modèles. En outre, l'utilisation des modèles de la littérature fournira une indication sur le type de représentation le mieux adapté à la modélisation de nos données expérimentales.

L'étude du transfert diffusionnel fait finalement l'objet du chapitre V dans lequel les recommandations énoncées au chapitre III sont appliquées et donnent accès aux coefficients de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium. Afin de traiter les résultats obtenus, une analyse semi-empirique est, dans un premier temps, proposée. Les valeurs de ces coefficients

sont ensuite testées de façon à évaluer le caractère prédictif des modèles de la littérature. Et leur comparaison permet, comme à l'équilibre, de déterminer quelle approche est la plus à même de décrire nos données expérimentales. Il sera ainsi possible d'établir un parallèle entre les résultats obtenus à l'équilibre et en diffusion.

Ainsi, pour satisfaire les exigences de ce sujet, trois laboratoires du groupe ENSIC ont été mis à contribution : le Laboratoire des Sciences du Génie Chimique (UPR-CNRS 6811) pour l'approche méthodologique associée à la détermination des coefficients de diffusion en système fermé et en colonne, le Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire (LCPM, UMR-CNRS 7568) pour la caractérisation des biopolymères constituant notre système d'étude et le Centre de Génie des Milieux Rhéologiquement Complexes (GEMICO) pour sa compétence dans le domaine des systèmes complexes et du génie des produits.

Chapitre I

Problématique générale : Gels et transfert de matière

Introduction

Ce premier chapitre, constitue une revue bibliographique concernant les différents aspects de l'étude des mécanismes de transfert des solutés macromoléculaires dans les gels.

Dans un premier temps, le choix du système expérimental sera discuté grâce à une étude bibliographique portant sur les gels envisageables en tant que matrice et sur les solutés. Cette revue permettra de déterminer le couple gel/soluté le mieux adapté à ce travail.

Les concepts à la base de la description des équilibres de partage seront ensuite sommairement commentés grâce à la distinction entre les deux approches descriptives du système : solution homogène ou milieu hétérogène.

La diffusion sera abordée du point de vue de sa description phénoménologique et de sa conceptualisation mathématique.

Dans une dernière partie, les différentes méthodes envisageables pour la détermination de coefficients de diffusion dans les gels seront répertoriées et leur analyse critique permettra de définir la méthode qui sera employée dans la suite de ce travail.

A l'issue de ce chapitre, le système expérimental ainsi que les méthodes mises en œuvre par la suite seront définis tout comme les concepts clés de la diffusion et du partage de solutés macromoléculaires dans les gels. Cette revue nous permettra finalement de formuler les objectifs et les problématiques de cette recherche.

A/ Système

I. Entre liquide et solide : le gel

I.1. Définition

Gel n.m. (lat. gelu) II.1. CHIM. Mélange d'une matière colloïdale et d'un liquide qui se forme spontanément par floculation et coagulation. 2. Produit de beauté à une seule phase, généralement translucide et de consistance molle.[Le Petit Larousse illustré].

Les gels, un quatrième état de la matière ? Matière étrange [Science et Vie, 2004]? Parfois également qualifié de matière molle [Papon, 2001], le gel a fait l'objet de différentes définitions.

C'est notamment à cause de la diversité des apparences qu'il peut prendre que le gel est parfois difficile à définir. Un gel fortement gonflé s'apparente à divers égards à un liquide ; par exemple, le coefficient de diffusion de petits solutés est très élevé, proche de celui du soluté dans le solvant pur. Au contraire, certains gels ont des comportements mécaniques similaires à ceux des solides : ils peuvent être découpés et l'application d'une contrainte se traduit par leur déformation.

Cependant, il semble que l'on puisse s'accorder à le caractériser comme un état dans lequel un réseau tridimensionnel est capable d'absorber un solvant en gonflant jusqu'à un certain degré sans toutefois se dissoudre.

Le réseau tridimensionnel du gel est obtenu par des pontages (physiques ou chimiques) entre les chaînes de polymère (Figure 2). Ainsi, les pontages existant dans un gel et lui conférant une structure tridimensionnelle ne sont pas forcément dus à des liaisons covalentes fortes mais peuvent être induits par des liaisons hydrogènes ou toute autre réticulation physique. Ces pontages conduisent ainsi à une structure où les chaînes de polymères n'en forment qu'une et le gel acquiert son caractère insoluble.

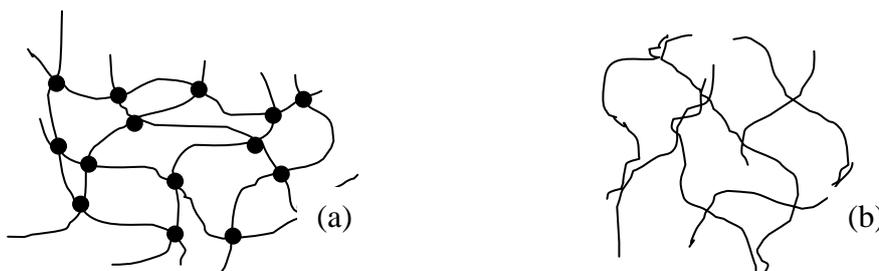


Figure 2 : Représentation schématique de gels obtenus par réticulation chimique (a) et réticulation physique (b).

La deuxième caractéristique du gel est son gonflement au contact avec un solvant. Ce gonflement est indépendant de la quantité de liquide en contact avec le gel : le degré de gonflement est gouverné par un équilibre entre solvant et polymère et il est limité par la structure du réseau tridimensionnel du gel. Cette propriété le situe particulièrement comme un intermédiaire entre les états liquide et solide et démontre à quel point il est difficile de le définir. Ce constat purement descriptif sera développé dans la partie B de ce chapitre dans laquelle nous verrons que cette ambivalence de comportement du gel conduit, dans leur modélisation à des visions antagonistes, basées soit sur une vision proche de la solution, soit au contraire proche du solide poreux.

I.2 Transition sol-gel

“Sol-gel transition = the transition of a suspension of solid particles in a liquid (sol) to a apparent solid, jelly-like material (gel) [IUPAC Compendium of chemical terminology (1997)]”

En fonction de la concentration d'une solution de polymère, différents régimes peuvent être rencontrés (Figure 3). Une solution diluée est caractérisée par des chaînes macromoléculaires occupant un volume propre, sans interaction intermoléculaire. Lorsque la concentration augmente, on atteint une concentration critique (notée C^*) à partir de laquelle les chaînes polymères commencent à se chevaucher. Enfin, pour les solutions dont la concentration est supérieure à C^* (appelées solutions semi-diluées), les chaînes s'interpénètrent. Si la concentration est encore accrue, le régime concentré est finalement atteint.

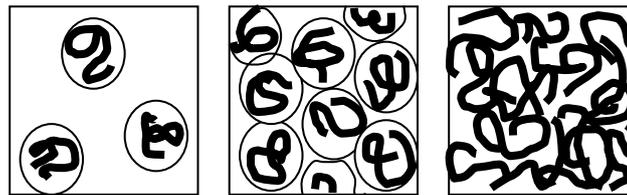


Figure 3 : Effet de la concentration en polymère sur la structure d'une solution polymère. De gauche à droite : solution diluée, début du recouvrement ($C \approx C^*$) et solution semi-diluée.

Si les forces attractives ne suffisent pas à compenser l'entropie de dispersion, on a affaire à un système microdispersé (un sol) et à l'inverse on observe une floculation ou même une précipitation. Lorsque la précipitation n'a pas lieu, un réseau tridimensionnel de macromolécules se forme : c'est le phénomène de gélification.

Dans une solution de polyélectrolyte (polymère chargé tel que l'alginate), des forces antagonistes sont mises en jeu : des forces attractives, essentiellement intermoléculaires, de nature polaire, complexantes ou ioniques et des forces répulsives liées à l'entropie de dispersion des chaînes polymères dues à la grande affinité des polymères pour l'eau. Dans ce cas, les transitions de régime ne sont pas seulement liées à des variations de concentration mais sont influencées par la concentration en espèces ioniques en solution.

I.3 Hydrogels

L'hydrogel est un type particulier de gel formé par un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel le solvant de gonflement est de l'eau. Sa principale caractéristique est sa capacité à gonfler en présence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore. Cette propriété est, bien entendu, liée à la nature et la densité des chaînes constituant le réseau.

Suivant la nature des pontages mis en œuvre dans le réseau, il est possible de distinguer les hydrogels « chimiques » et les hydrogels « physiques ». Dans les hydrogels chimiques, des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et, l'équilibre de gonflement est, en grande partie, déterminé par le taux de réticulation.

Les hydrogels « physiques » présentent, quant à eux, des pontages ioniques, des interactions de type Van der Waals ou des interactions électrostatiques. Ils sont réputés plus hétérogènes que les hydrogels chimiques à cause de la présence de larges domaines d'enchevêtrement de chaînes. Un cas particulier est celui des polyélectrolytes qui, combinés avec un ion multivalent de charge opposée, peuvent former un hydrogel physique connu sous le nom « d'hydrogel ionotropique » et dont l'alginate de calcium constitue un exemple.

II Critères de choix du système opératoire

II.1 La matrice gel

II.1.a Caractéristiques recherchées

Les gels sont largement présents dans la vie quotidienne (patch, gels alimentaires, gels pharmaceutiques...) et des phénomènes de transfert de matière conditionnent, le plus souvent, leurs domaines d'application. Les problématiques du transfert de solutés macromoléculaires dans les gels suscitent à ce titre un grand intérêt. Certains critères sont donc requis quant au choix du gel afin que celui-ci s'apparente à un système modèle. Etant donné les paramètres d'intérêt pour ce type d'étude, à savoir, le ratio entre la taille des mailles du réseau (notée ξ) et le rayon du soluté (r_s), la matrice gel devrait idéalement pouvoir comporter une large gamme de taux de gonflement de façon à couvrir toutes sortes de structures de gel, du plus lâche au plus dense (Figure 4), tout en permettant une caractérisation de la taille des mailles.

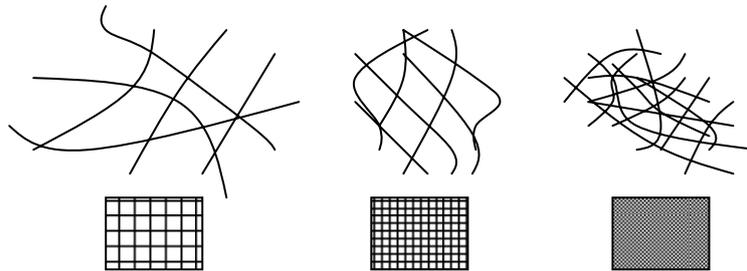


Figure 4 : Schématisation d'une densification du réseau par augmentation de la concentration en polymère.

II.1.b Matrices envisageables

Les études traitant des problématiques de diffusion dans les gels utilisent fréquemment des gels chromatographiques commerciaux. On peut citer le Superose [Hussain, 1991 ; Dubin, 1993] permettant des séparations entre 1 000 et 5 000 000 Da, dans des systèmes à pression intermédiaire. Le Superdex présente une meilleure sélectivité sur des gammes de masses moléculaires entre 100 et 600 000 Da et supporte de hautes pressions. Le Sepharose [Moussaoui, 1992] et le Sephadex connus pour la séparation des petits peptides ou autres petites biomolécules et le dessalement [Moussaoui, 1990] ont également été utilisés. Ces gels commerciaux se présentent sous forme de poudres de faible granulométrie de l'ordre de la dizaine ou de la centaine de microns. Ils sont donc parfaitement adaptés à des études en lit fixe de type chromatographique. Par contre, leur faible granulométrie est un inconvénient dans le cas de protocoles en système fermé avec recirculation ou prélèvements pour lesquels l'accès au surnageant isolé n'est plus possible.

Le cas de solutions de polymères concentrées (au-dessus de C^*) a été également traité, les polymères rencontrés étant l'alcool poly(vinyle) (PVA), le dextrane [Amsden, 2002], le poly(éthylène oxyde) (PEO) ou le guar [Cheng, 2002]. Cependant, dans le cas de solutions de polymère, les méthodes analytiques de suivi de diffusion sont plus lourdes, mettant fréquemment en jeu des méthodes RMN ou de retour de fluorescence après photoblanchiment. En outre, l'accès à des maillages très serrés du réseau est limité par la solubilité du système.

L'alginate de calcium a fait l'objet de plusieurs études [Amsden, 1998 ; Amsden, 2001] tout comme les gels d'agarose [Johnson, 1996 ; Johnston, 1999] ou les gels de polyacrylamide [Williams, 1998]. Ces gels permettent la formation d'objets massiques homogènes facilement utilisables dans des suivis d'incorporation ou de libération de solutés. Notre choix s'est tourné vers les gels d'alginate de calcium permettant une mise en forme aisée, un travail en solvant aqueux et une large gamme de fractions volumiques. En outre, la chimie de l'alginate laisse la possibilité d'envisager des réticulations chimiques. Cependant, la caractérisation directe de la taille des mailles du réseau n'est pas aisée. Les seules informations relatives à la structure de ce type de gels sont indirectes et feront l'objet d'une analyse détaillée au chapitre II. En tout état de cause, un paramètre caractéristique restera accessible : la fraction volumique en polymère Φ_p du gel. Celle-ci, beaucoup plus simple d'accès, est d'ailleurs préférée dans nombre de modèles de diffusion au paramètre de maille ξ .

II.2 Le soluté

II.2.a Caractéristiques recherchées

Le choix du soluté doit, lui aussi, répondre à un cahier des charges précis afin de pouvoir tester les modèles de la littérature et apporter des informations sur les mécanismes de diffusion de macromolécules. Des solutés isomoléculaires sont requis, ce qui permet de définir une espèce diffusante par son rayon moyen. Pour maintenir constantes les interactions soluté/matrice, quelle que soit la taille du soluté, il est primordial de choisir une famille d'homologues. Celle-ci devra également présenter une large gamme de masses moléculaires afin de balayer un large spectre de ratios r/ξ . On veillera en outre à choisir un soluté peu ou pas interactif avec le gel. Etant donnée la matrice gel choisie, il devra être soluble dans l'eau et préférentiellement non chargé. Enfin, la concentration en soluté devra être suffisamment faible pour pouvoir se placer dans des conditions de solution idéale.

II.2.b Solutés envisageables

Dans la littérature, de nombreux solutés ont été testés mais le plus souvent, ceux-ci n'appartenant pas à une famille d'homologues, il est impossible de s'assurer de la constance des interactions soluté/matrice. Des protéines telles que l'albumine (BSA), l'ovalbumine ont été employées. Des séries de protéines de 13 700 à 669 000 g/mol constituées de ribonucléase, lysozyme, myoglobine, b-lactoglobuline, albumine, b-globuline, catalase, apoferritine et thyroglobuline ont été également utilisées [Dubin, 1993]. Ces travaux ont ainsi démontré l'importance des interactions solutés/matrice et leur variabilité en fonction des couples mis en jeu. L'illustration d'interactions répulsives ou attractives y est faite par l'intermédiaire de déviations de ces solutés par rapport aux courbes de calibration de chromatographie d'exclusion stérique.

Les polysaccharides sont également fréquemment rencontrés. Le dextrane, de structure linéaire légèrement branchée, est le plus utilisé mais il présente l'inconvénient d'être souvent polymoléculaire sous sa forme commerciale, nécessitant des étapes préliminaires afin d'obtenir des fractions monomoléculaires [Williams, 1998 ; Poitevin, 1998]. Il sera utilisé, dans ce travail pour certains essais de mise au point. Les ficolls de structure rigide et globulaire sont largement étudiés mais présentent le même inconvénient que les dextrans : ils requièrent un traitement préalable de fractionnement [Kosto, 2004; Hussain, 1991].

Afin de s'affranchir de tout problème de polymolécularité, le choix du soluté s'est porté sur des kits de calibration pour chromatographie d'exclusion stérique (SEC). Divers solutés sous

cette présentation sont disponibles dans le commerce : polystyrène, polyméthylméthacrylate, polyéthylène (linéaire ou branché), polyéthylène glycol, polysaccharides... Parmi ces solutés, seuls les polysaccharides sont solubles en milieu aqueux. Le choix de l'alginate de calcium obligeant à travailler en milieu aqueux ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ en NaCl et $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ en CaCl_2), nous avons donc choisi comme soluté modèle le pullulane. Outre, les problèmes de solubilité, sa nature polysaccharidique identique à celle de l'alginate permet d'éliminer les interactions entre le soluté et la matrice.

III. Choix du système d'étude : Alginate de Calcium/Pullulane

III.1. L'alginate de calcium

III.1.a. L'alginate de sodium

Par le terme alginate, sont désignés l'ensemble des polysaccharides appartenant à la famille des copolymères constitués des résidus de l'acide D-mannuronique et de l'acide L-guluronique, dans des proportions et des arrangements séquentiels différents.

L'alginate de sodium est un polysaccharide linéaire, polyanionique, naturel, extrait des algues brunes (voir Figure 5 et Figure 6). Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes : *Macrocystis pyrifera* aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* ou encore *Ascophyllum nodosum* en Europe. L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec.



Figure 5 : De gauche à droite : *Macrocystis pyrifera* (a), *Laminaria hyperborea* (b) et *Laminaria digitaria* (c) (illustrations : sites internet oceanlight, lebrusc, sb-roscoff)

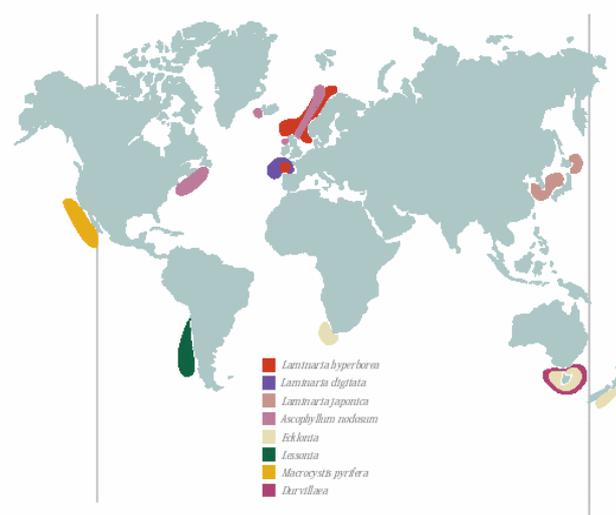


Figure 6 : Répartition géographique des algues utilisées industriellement pour la production d'alginate (illustration : site internet fmcbiopolymers)

Des bactéries telles que la bactérie aérobique fixatrice d'azote *Azotobacter vinelandii* et la bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* produisent également de l'alginate. Cependant, seules les bactéries *A. vinelandii* produisent des alginates présentant des structures de type copolymères en blocs.

Généralement, le prix de l'alginate issu des algues brunes est inférieur à celui d'origine microbienne mais la production du premier est soumise aux conditions climatiques, à la pollution, c'est pourquoi la commercialisation d'alginate microbien issu d'*A. vinelandii* se développe [Saude, 2002]. Par ailleurs, certaines applications requièrent une parfaite maîtrise de la structure de la chaîne polymère, point que permettent les récents progrès en génomique sur les bactéries *A. vinelandii* [Ertesvåg, 1998].

En présence de cations divalents, tels que le calcium, l'alginate peut former des gels dont la force et les propriétés sont notamment corrélées à la proportion et la longueur des blocs d'acide L-guluronique (blocs poly-G) de la chaîne polymère [Martinsen, 1987]. De même, ses propriétés rhéologiques sont très dépendantes de la structure de la chaîne copolymère. L'alginate de sodium est ainsi utilisé comme gélifiant ou viscosifiant dans un large domaine d'applications industrielles. Il est fréquemment employé pour l'encapsulation des cellules ou des enzymes. On le retrouve notamment sous les appellations E400 (acide alginique) dans les glaces, E401 (alginate de sodium) et E402 (alginate de potassium) dans les desserts, les crèmes, les nappages, E403 (alginate d'ammonium) dans les charcuteries, E404 (alginate de calcium) dans les crèmes glacées et E405 (alginate de propylène glycol) dans les sauces pour accompagnement d'entremets, produits de nettoyage antimousse, anti-redéposition...

III.1.b. Structure de l'acide alginique

L'acide alginique est un polysaccharide constitué de deux unités acides uroniques [Fischer, 1955] : l'acide D-mannuronique (noté M) et son épimère en C₅, l'acide L-guluronique (noté G) associés en 1→4, selon un enchaînement régulier de trois types de blocs [Ertesvåg, 1998] (voir Figure 7) :

- des blocs homopolymères de résidus d'acide mannuronique, notés -M-M-M- ;
- des blocs homopolymères de résidus d'acide guluronique, notés -G-G-G- ;
- des blocs de résidus d'acides mannuronique et guluronique, notés -M-G-M-G-.

L'occurrence et la proportion des unités uroniques sont déterminées par l'origine des algues dont l'alginate est extrait [Saude, 2002], mais, également de nombreux autres facteurs tels que la date de la récolte, les conditions climatiques, la localisation dans l'algue [Bruneton, 1993]. Comme le montre la Figure 7, il existe des différences structurales importantes entre les différents types de blocs. Les blocs -M-G- sont les plus flexibles et plus solubles aux bas pH que les deux autres types de blocs. Les blocs poly-G forment des chaînes rigides et deux blocs poly-G de plus de 6 résidus peuvent se lier et former une structure « egg-box », en présence de cations divalents (Ca⁺⁺, Ba⁺⁺, Sr⁺⁺), conduisant à la formation d'un gel [Grant, 1973].

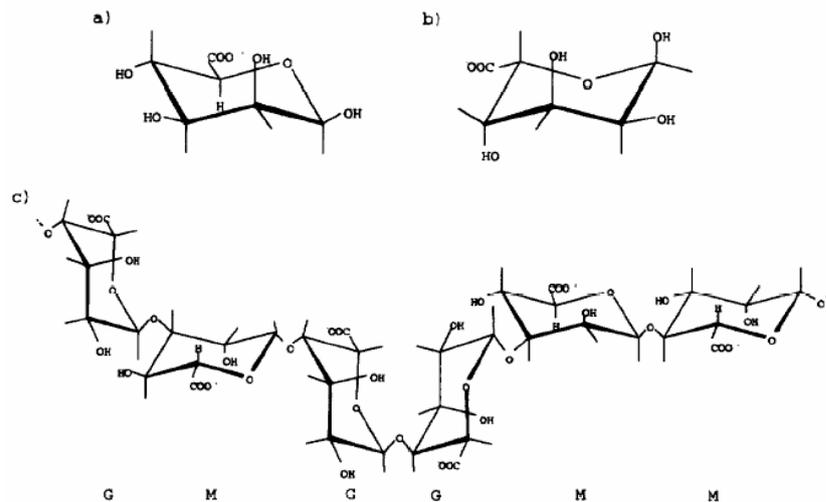


Figure 7 : Structure de a) l'acide β -D mannuronique, b) l'acide α -L guluronique et c) l'alginate.

III.1.c. Propriétés physico-chimiques des alginates en solution : formation des gels d'alginate de calcium

Les propriétés structurales de l'acide alginique, dont, notamment, la proportion et l'occurrence des résidus mannuroniques et guluroniques, influencent directement ses propriétés physico-chimiques. En milieu aqueux, les alginates présentent des propriétés rhéologiques modulables, notamment par variation de la concentration (Figure 8).

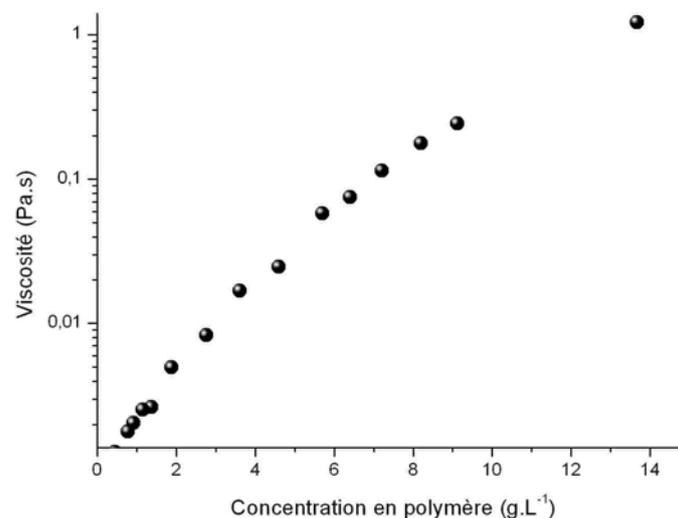


Figure 8 : Effet de la concentration sur la viscosité de solutions de l'alginate de calcium utilisé dans ce travail.

Les alginates possèdent, en outre, des propriétés gélifiantes utilisées, dans notre cas, pour la mise en forme de billes de gel. Les interactions à l'origine des propriétés gélifiantes de polysaccharides tels que l'alginate ont été décrites par le modèle « egg-box » [Grant, 1973]. Dans le cas des alginates, cette gélification est induite par un processus dans lequel sont impliqués des blocs de résidus guluroniques (poly-G). Ce mécanisme se traduit par l'échange d'ions sodium présents sur l'acide guluronique de l'alginate par des cations divalents. En effet, les ions calcium s'associent préférentiellement aux blocs d'acide guluronique car leur conformation spatiale est plus propice à une chélation plus forte. Les ions calcium sont alors

retenus dans une boîte et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Un réseau tridimensionnel se forme, du fait des enchaînements réguliers de type « egg-box » reliés entre eux par des segments poly-M ou poly-M-G- (Figure 9).

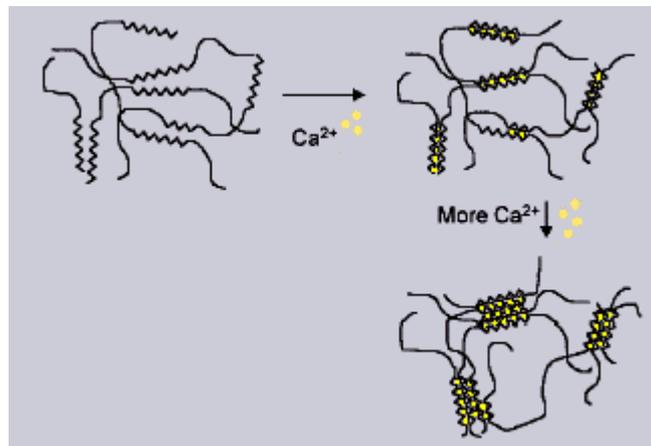


Figure 9 : Représentation schématique de la formation d'egg-box (illustration : site internet fmcbiopolymers).

Lorsque l'alginate est utilisé sous forme de gel, les paramètres physico-chimiques d'importance sont, bien évidemment, la force du gel, mais également, la densité du réseau, les phénomènes de gonflement/rétrécissement. Il existe une dépendance entre la tenue mécanique d'un gel d'alginate et la densité du réseau polymère le constituant. Par ailleurs, les gels obtenus à partir d'alginate riche en résidus guluroniques présentent les propriétés rhéologiques les plus élevées et les vitesses de diffusion de solutés les plus grandes [Martinsen, 1992]. Une explication de ce comportement est que le taux important d'acide guluronique, avec de longs blocs poly-G et de courts segments élastiques est responsable de la formation d'un réseau ouvert, rigide et statique, par rapport à un réseau contenant un faible taux de résidus guluroniques, avec de longs segments élastiques et caractérisé par des enchevêtrements et une structure dynamique (Figure 10).



Figure 10 : Modèles de structures proposées pour des réseaux de gels formés à partir d'alginate possédant des blocs d'acide guluronique de longueur différente : à gauche, taux de G élevé ; à droite, taux de M élevé.

III.1.d. Techniques de gélification

Deux types de mécanismes de gélification sont possibles : la gélification par diffusion ou par dialyse et la gélification interne [Neiser, 1999].

Dans le cas de la gélification par diffusion, les ions calcium diffusent au sein de la solution d'alginate ou bien à travers une membrane à dialyse (cette dernière voie est notamment appliquée pour la mise en forme de gels de plus grande taille). La gélification par diffusion est utilisée pour l'obtention de billes, fibres et films d'alginate, lorsque le gel est employé dans l'immobilisation cellulaire ou dans des applications liées à la restructuration des aliments.

La gélification interne est, quant à elle, fréquemment employée dans l'industrie alimentaire ou pour la réalisation de milieux de culture de cellules végétales. Une forme inactive de l'ion calcium est mélangée à la solution d'alginate, ainsi qu'un agent retardateur à partir duquel la libération d'ions H^+ conduit à l'activation du cation chélatant au sein même du mélange de polymère, d'où l'appellation gélification interne [Draget, 1997].

Si la gélification est réalisée à partir d'ions calcium, trois états de gel peuvent être distingués en fonction de la concentration en calcium et en alginate (Figure 11). Pour les très faibles concentrations en alginate, il se forme un microgel (gel ne pouvant percoler) caractérisé par des agrégats de gel provoquant la diminution de la viscosité du gel. A de fortes concentrations en calcium, un phénomène de synérèse (séparation du liquide d'un gel) se produit conduisant à un taux de gonflement moindre et une expulsion d'eau du réseau. Pour les concentrations intermédiaires, les macromolécules se réarrangent pour former un réseau tridimensionnel (gel continu). Nous nous placerons dans ce travail à des concentrations en calcium de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ et des solutions d'alginate comprises entre 0,5 et 1,7 % dans l'eau, ce qui nous situe dans le domaine des gels continus.

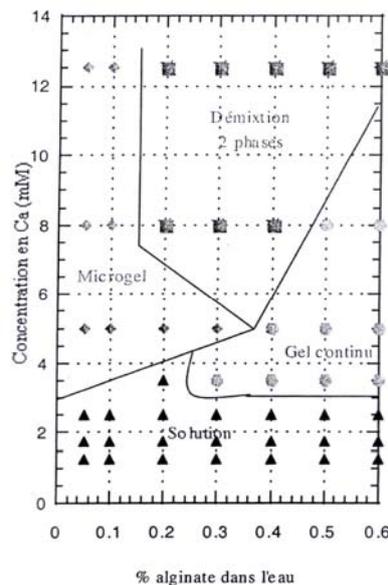


Figure 11 : Diagramme de phases alginate/ Ca^{2+} [Rastello, 2002].

En outre, l'expérience montre que des gels formés dans une solution ne contenant que des ions calcium sont inhomogènes car, du fait de la diffusion, la gélification se produit de l'extérieur vers l'intérieur de la bille conduisant la migration du polymère vers la zone de gélification et à l'apparition d'un gradient de concentration en alginate à l'intérieur du gel. Dans le cas d'études portant sur la diffusion, il est important de disposer de gels homogènes. C'est pourquoi du chlorure de sodium est ajouté à la solution de chlorure de calcium ainsi

qu'à la solution d'alginate. De ce fait, l'équilibre des charges entre la solution d'alginate et la solution de chlorure de calcium évite le déplacement de l'alginate vers la zone de gélification.

III.2 Le pullulane

Le pullulane est un polysaccharide, produit extracellulaire du champignon *Aureobasidium pullulans* (Figure 12), composé d'une chaîne macromoléculaire neutre linéaire et flexible.



Figure 12 : *Aureobasidium pullulans* (illustration: site internet mold-help)

Il s'agit d'un α -D-glucane avec des liaisons α -1-6 linéaires, incluant des molécules de maltotriose et de maltotréalose liées en α -1,4 (Figure 13). De par sa structure linéaire, il est très hydrosoluble. Il a été démontré [Kato, 1984] que le pullulane se présentait, en milieu aqueux, sous la forme d'une pelote statistique ; cependant, la conformation des pullulanes de faible masse moléculaire reste incertaine.

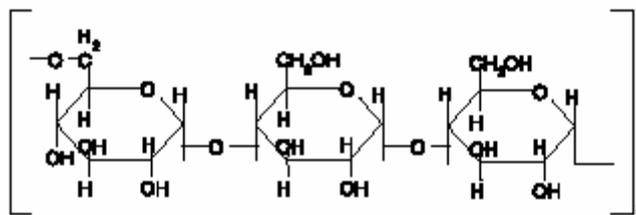


Figure 13 : Structure de la molécule de pullulane.

Ses propriétés en font un excellent candidat pour des applications dans la cosmétique, l'alimentaire et l'industrie pharmaceutique. L'intérêt majeur du pullulane réside dans sa capacité à former des films ou des fibres élastiques résistants. Le pullulane et ses dérivés peuvent, ainsi, être utilisés comme agent d'enrobage dans l'alimentaire (au Japon application en solution directement sur l'aliment conduisant à la formation d'une couche inodore et incolore), matériau d'emballage ou en papeterie [Lazaridou, 2003]. Une application potentielle en tant qu'agent d'encapsulation est également envisageable [Selim, 2000].

Le pullulane présente, en outre, une résistance à l' α -amylase qui permet son utilisation dans l'alimentation basse-calorie et en remplacement de graisses dans les préparations alimentaires. Il est, donc, comme la cellulose et la pectine, non digestible.

Le pullulane existe dans une très large gamme de masses moléculaires, caractéristique intéressante dans l'étude de la diffusion de solutés macromoléculaires, car permettant de balayer une large gamme de tailles d'espèces diffusantes sans modification des interactions avec le système.

Enfin, sa nature polysaccharidique (comme l'alginate) assure des interactions nulles ou faibles entre le soluté et le gel.

B/ Problématique générale

I. Partition de polymères dans un gel

I.1 Définition du coefficient de partition

Le coefficient de partition d'un soluté entre deux phases, noté K_p , est défini comme le rapport des concentrations (ou autres quantités de matière : masse, volume...) de ce soluté dans chacune des phases à l'équilibre.

Il peut être utilisé pour caractériser la situation d'équilibre d'un système tel que le système alginate/pullulane/eau, c'est-à-dire composé d'un gel d'alginate gonflé d'une solution saline dans lequel peut diffuser une espèce en solution, le pullulane.

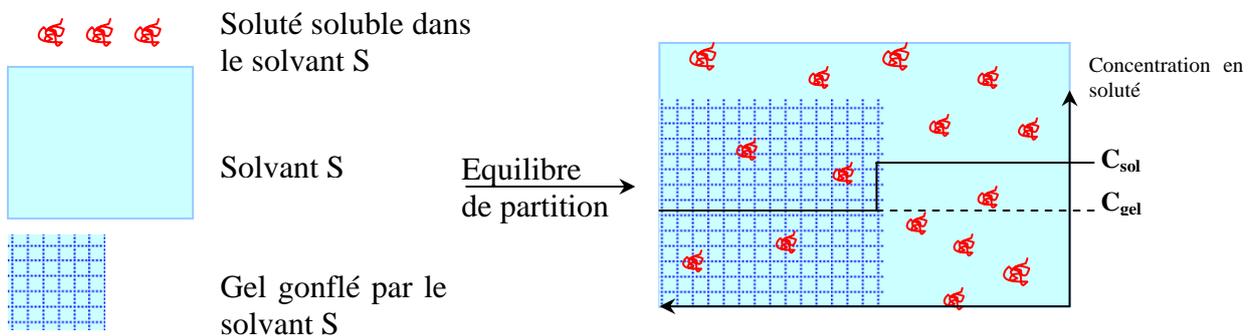


Figure 14 : Représentation schématique de l'équilibre de partage d'un polymère entre une solution et un gel gonflé.

Le coefficient de partition (K_p , sans unité) est défini comme le rapport de la concentration en soluté dans le gel (notée C_{gel}) sur la concentration en soluté dans la solution environnante (notée C_{sol}):

$$K_p = \frac{C_{gel}}{C_{sol}} \quad (I.1)$$

I.2 Interprétation : Approche système homogène ou hétérogène ?

La difficulté de description des gels a déjà fait l'objet de remarques au début de ce chapitre, du point de vue, très descriptif, de sa définition. Cette difficulté se retrouve dans le formalisme employé dans l'interprétation des caractéristiques de partage en fonction des propriétés du milieu. A ce titre, deux approches différentes se rencontrent dans la littérature, à rapprocher de la description macroscopique et situant les gels à la charnière entre les états liquide et solide... Dans cette partie, l'approche de type solution (système homogène) basée sur les travaux de Flory sur la thermodynamique des équilibres en solution sera brièvement abordée, dans un premier temps. Puis, dans une seconde partie, l'approche hétérogène, illustrée par les travaux de Giddings, sera présentée avec une terminologie proche de celle des solides et où interviennent les notions de pore ou de maille de réseau.

I.2.a Approche homogène ou solution

Le système peut d'abord être considéré sous la forme homogène d'une solution. Ce type de vision n'envisage pas l'agencement moléculaire supposé de la matrice qui est entièrement caractérisée comme élément d'un système ternaire composé d'un solvant, d'un soluté et d'un polymère (le gel).

Si les mélanges de petites molécules peuvent être décrits par la loi de Raoult pour les solutions idéales, les solutions de polymère présentent une nette déviation par rapport à l'idéalité. Ceci est d'autant plus vrai que la masse du polymère est élevée. D'après la loi de Raoult, l'activité a_1 du solvant dans une solution doit être égale à sa fraction molaire x_1 . Dans une solution binaire composée d'un solvant et d'un polymère de grande masse moléculaire, une très faible fraction massique de solvant est suffisante pour obtenir une fraction molaire x_1 en solvant proche de l'unité. Dans ce cas, la pression partielle du solvant devrait être proche de celle du solvant pur, si la loi de Raoult était vérifiée. Ceci n'est pas confirmé par l'expérience : les solutions dans lesquelles le soluté est un polymère de grande masse moléculaire présentent de forts écarts à l'idéalité. Pour des concentrations supérieures à quelques pourcents, les déviations par rapport à l'idéalité deviennent telles que les lois basées sur l'hypothèse des solutions idéales sont inutiles. De nouvelles approches sont alors nécessaires pour corrélérer les propriétés thermodynamiques de ces solutions.

Flory et Huggins ont développé, indépendamment, dans les années 1940, la théorie du réseau afin de rendre compte de ce cas particulier. Le système est représenté (Figure 15) par un réseau de $N_0 = N_1 + rN_2$ cellules identiques où l'indice 1 se réfère au solvant et 2 au polymère. Ces cellules sont agencées suivant le nombre de coordination z (par exemple, $z=6$ pour un réseau cubique). Les chaînes polymères sont supposées de masse molaire identique (polymère homomoléculaire) et composées de r segments identiques définis par le rapport des volumes molaires du polymère et du solvant. La chaîne est supposée parfaitement flexible (en particulier, à partir du troisième segment, la chaîne peut se replier sur elle-même). Chaque cellule du réseau peut contenir une molécule de solvant ou un segment de la chaîne de polymère.

L'entropie de mélange est obtenue en évaluant le nombre de conformations accessibles par une chaîne de polymère dans le réseau vide. Les macromolécules sont ainsi ajoutées les unes après les autres et le calcul d'entropie est effectué en tenant compte du nombre décroissant de possibilités de conformations dans le réseau. Le solvant vient ensuite compléter le réseau donnant une représentation schématique de la solution. Le taux d'occupation reste quasi inchangé lors de l'ajout progressif d'une nouvelle chaîne (valable à fort taux de remplissage seulement) et le mélange se fait à volume constant.

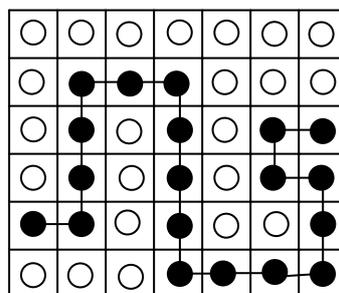


Figure 15 : Théorie du réseau : représentation de segments d'une chaîne polymère agencés dans un réseau liquide.

Si on part d'une situation schématique représentée par la Figure 15, où j molécules de polymère sont censées occuper $j.r$ cellules d'un réseau (r est le nombre de segments de la chaîne). La méthode développée par Flory consiste à étudier les possibilités d'insérer successivement les n segments d'une $j+1^{\text{ème}}$ chaîne de polymère dans le réseau. Le premier segment peut ainsi être inséré dans les $N_0 - r.j$ cellules vacantes. Le deuxième pourra occuper une des cellules voisines, soit z possibilités (égales au degré de coordination). Le troisième segment, comme les suivants, n'aura que $z-1$ possibilités. Dans ce cas, le nombre de possibilités de placer les r segments est :

$$\omega = (N_0 - r.j).z.(z-1)^{r-2} \quad (\text{I.2})$$

Ceci n'est valable que si les j premières chaînes polymère n'affectent pas l'insertion de la $j+1^{\text{ème}}$. Or, la présence des j chaînes restreint la possibilité d'arrangements. Flory suppose alors que la probabilité pour qu'une des cellules contiguës de la nouvelle chaîne soit occupée par un segment d'une autre chaîne est proportionnelle au taux de remplissage du réseau. Le nombre de sites disponibles pour la molécule est donc :

$$v_{i+1} = (N_0 - r.j).z.(z-1)^{r-2} \left(1 - \left(\frac{N_0 - r.j}{N_0} \right) \right)^{r-1} \quad (\text{I.3})$$

Le calcul aboutit finalement à l'expression suivante :

$$\Omega_2 = \left((z-1)^{(r-1)^{N_2}} \right) \cdot \left(\frac{r}{e^{(r-1)}} \right)^{N_2} \cdot \left(\left(\frac{N_0}{N_1} \right)^{N_1} \cdot \left(\frac{N_0}{rN_2} \right)^{N_2} \right) \quad (\text{I.4})$$

Le premier facteur correspond donc au nombre d'arrangements possibles en l'absence d'interférences intermoléculaires, le second terme est un facteur correctif tenant compte des compétitions entre les différentes chaînes de polymère pour un site donné, le troisième traduit l'effet de dilution du solvant qui augmente le volume à disposition et donc, le nombre de sites possibles.

L'entropie de mélange ΔS_m , d'origine combinatoire, est donnée, moyennant plusieurs simplifications, par l'expression :

$$\Delta S_m = -k_B (N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2) \quad (\text{I.5})$$

où ϕ_1 et ϕ_2 sont les fractions volumiques en solvant et polymère, respectivement et k_B la constante de Boltzmann.

La relation I.5 révèle une analogie intéressante avec l'entropie de mélange idéale. Les fractions molaires utilisées dans le cas de solutions idéales sont remplacées par des fractions volumiques lorsque les molécules ont des tailles différentes. Le cas des solutions idéales n'est valable que lorsque les volumes molaires du soluté et du solvant sont égaux. On peut donc en déduire que le cas idéal n'est qu'un cas particulier de l'expression générale de mélange.

L'entropie du système est inférieure à celle du modèle monomérique décrit précédemment et diminue drastiquement avec une augmentation de la longueur des chaînes du polymère. En effet, le nombre de conformations possible est limité par les segments d'une même molécule de polymère, lesquels doivent occuper des cellules adjacentes.

Cette approche suppose, cependant, un certain nombre d'approximations et de limitations. Nous avons supposé, implicitement, que la répartition des segments et du soluté était entièrement aléatoire. Si des interactions préférentielles existent entre espèces, la probabilité d'arrangement dans les cellules se trouvera modifiée. Les expressions de l'entropie de mélange ont été modifiées, à cet effet, par Orr et Guggenheim qui ont pris en compte l'influence des interactions préférentielles. Il a ainsi été démontré un effet significatif de cette répartition non aléatoire sur l'entropie de mélange devant d'autres approximations.

L'arrangement aléatoire des chaînes dans le réseau impose également que l'enthalpie de mélange soit faible devant l'agitation thermique, ce qui n'est possible que pour des couples polymère/solvant à interaction faible.

La théorie de base de Flory-Huggins considère que la formation d'une solution ne demande ni ne dégage d'énergie ($\Delta H_m=0$). L'énergie libre de Gibbs peut donc être résolue uniquement par la mesure de l'entropie de mélange. L'énergie libre de Gibbs est alors donnée par l'équation :

$$\Delta G_m = k_B T (N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2) \quad (\text{I.6})$$

Flory et Huggins complètent leur traitement en considérant que le mélange a pour effet de créer des hétérocontacts solvant/polymère au détriment de contacts solvant/solvant ou polymère/polymère. L'enthalpie de mélange provient de la formation de la totalité des hétérocontacts dans la solution puisqu'un segment bénéficie de $z-2$ cellules pour établir un contact solvant/segment et que la probabilité pour qu'une de ces cellules soit occupée par une molécule de solvant est ϕ_1 . On peut noter que cette dernière hypothèse n'est valable que pour les degrés de coordination z élevés. Elle revient à considérer que les cellules du réseau possèdent une probabilité identique de contenir une molécule de solvant ou de soluté et que celle-ci est égale à la fraction volumique de solvant dans le mélange. ΔH_m peut s'écrire simplement :

$$\Delta H_m = \Delta w \cdot (z-2) \cdot r \cdot N_2 \cdot \phi_1 = \Delta w \cdot (z-2) \cdot \left(\frac{r N_2 \cdot N_1}{N_1 + N_2} \right) \quad (\text{I.7})$$

où Δw correspond au changement d'énergie par hétérocontact créé.

Définissons, maintenant, le paramètre d'interaction solvant polymère de Flory-Huggins :

$$\chi = \frac{\Delta w \cdot (z-2)}{kT} \quad (\text{I.8})$$

Finalement, l'expression de l'enthalpie de mélange, produit de l'énergie d'interaction d'une paire solvant/polymère par la probabilité d'occurrence de ce type de paire peut s'écrire :

$$\Delta H_m = k.T.\chi.N_1.\phi_2 = k.T.\chi.r.N_2.\phi_1 \quad (\text{I.9})$$

En conséquence, l'enthalpie libre de mélange s'écrit :

$$\Delta G_m = k.T.(N_1 \ln \phi_1 + N_2 \ln \phi_2 + \chi.N_1.\phi_2) \quad (\text{I.10})$$

Notre système expérimental se situe à un degré de complexité supplémentaire. En effet, la partition d'un soluté macromoléculaire entre un gel et un solvant correspond à un système ternaire tel que celui représenté schématiquement à la Figure 16. Le solvant correspond aux ronds

blancs tandis que les deux polymères (gel et soluté) sont représentés par des ronds gris ou noirs.

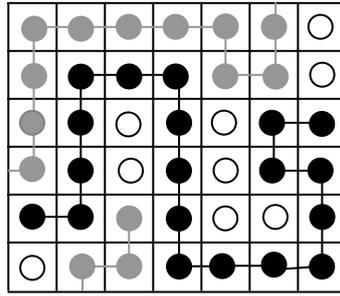


Figure 16 : Représentation schématique d'un système ternaire composé d'un gel, d'un solvant et d'un soluté macromoléculaire.

Ce cas a été traité par Brooks et *al.* [Brooks, 2000] en application à la chromatographie d'exclusion stérique. Ces auteurs ont souligné que les théories décrivant la chromatographie d'exclusion stérique expliquent généralement la partition à partir de limitations géométriques. Ils proposent, au contraire, un développement théorique basé sur le calcul du coefficient de partition à partir d'un modèle thermodynamique pour l'énergie libre de mélange d'un soluté avec une phase gel.

Le coefficient de partage est exprimé comme le rapport des fractions volumiques en soluté dans les phases gel et la solution environnante :

$$K_p = \frac{\phi_{gel}}{\phi_{solution}} = \exp \left[\frac{Vm_{soluté}}{Vm_{solvant}} \Phi_p \left(1 - \frac{Vm_{solvant}}{Vm_{gel}} - \chi_{solvant/soluté} + \chi_{gel/soluté} \right) \right] \quad (I.11)$$

En posant :

$$\chi = \chi_{solvant/soluté} - \chi_{gel/soluté} \quad (I.12)$$

Et, en supposant le volume molaire du gel infini, l'équation 11 peut être simplifiée :

$$\ln K_p \approx \frac{Vm_{soluté}}{Vm_{solvant}} \Phi_p (1 - \chi). \quad (I.13)$$

Par ailleurs, le rapport des volumes molaires du solvant et du soluté, est supposé égal à une fonction de la masse molaire du soluté:

$$\frac{Vm_{soluté}}{Vm_{solvant}} \propto M_w \quad (I.14)$$

Finalement l'expression du coefficient de partage est:

$$\ln K_p \propto M_w \Phi_p (1 - \chi) \quad (I.15)$$

I.2.b Approche hétérogène du système

De nombreux auteurs ont utilisé une vision très différente de la situation d'équilibre d'un soluté entre un liquide et un gel basée sur une approche hétérogène du système.

Giddings [Giddings, 1968] décrit par exemple la matrice comme une structure poreuse dans laquelle l'équilibre de partition de solutés sphériques s'établit entre le gel et la solution du surnageant (Figure 17). La notion de coefficient de partage y est déclinée en termes de ratio de volume accessible à un soluté de rayon a sur le volume total de pore, sur des critères géométriques.

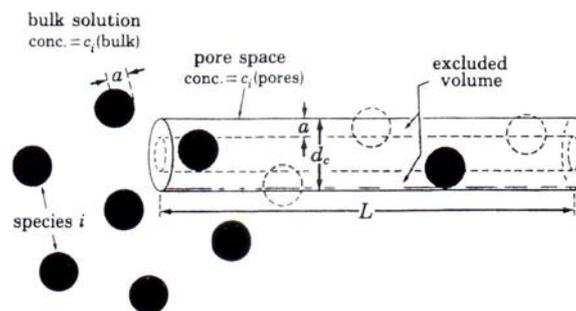


Figure 17 : Partition de sphères entre le surnageant et un pore cylindrique idéal. Les sphères exclues du volume de pore car elles se superposent au pore apparaissent non coloriées [Giddings, 1991].

Le coefficient de distribution au sein du pore est donné par une relation entre a le rayon de la sphère et d_p le diamètre de pore (ou r_H le rayon hydrodynamique et r_p le rayon de pore avec notre système de notation) :

$$K = \frac{\text{volume accessible}}{\text{volume vrai}} = \frac{\pi(\frac{1}{2}d_c - a)^2 L}{\pi(\frac{1}{2}d_c)^2 L} = \left(1 - \frac{2a}{d_c}\right)^2 = \left(1 - \frac{r_H}{r_p}\right)^2 \quad (\text{I.16})$$

L'évolution du coefficient de partage d'un soluté pour différents systèmes caractérisables par un rayon de soluté et un rayon de pore est présentée Figure 18.

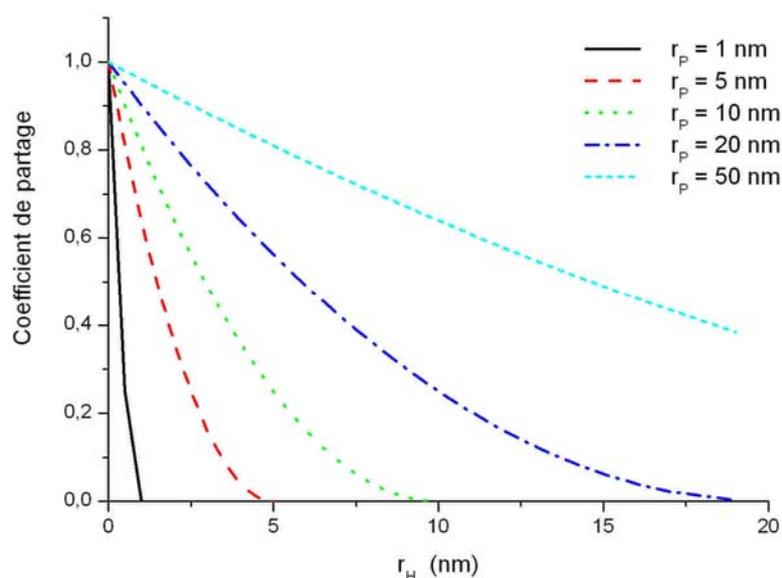


Figure 18 : Graphe représentant K_p en fonction du rayon hydrodynamique du soluté pour différents rayons de pore de la matrice d'après le modèle de Giddings.

Pour des représentations plus complexes du soluté (cigare ou chaîne flexible déployée), le phénomène d'exclusion est lié non seulement à la proximité du cloisonnement du pore mais également à l'orientation du soluté. La Figure 19 représente ce genre de situations d'un point de vue schématique.

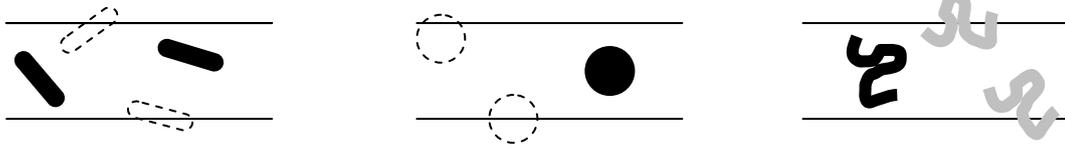


Figure 19 : Vue schématique des configurations autorisées ou non de solutés de formes variées dans un pore (d'après Giddings [Giddings, 1968]).

Dans ces cas, le coefficient de partage ne peut plus être considéré comme un simple ratio de volumes. A la place, K_p devient le rapport de volumes dans un espace dans lequel toutes les positions, conformations et orientations sont à considérer. La complexité de ce type de problèmes est accrue et néanmoins d'intérêt dans nombre d'applications.

Différentes approches ont été développées pour prendre en compte certaines de ces situations avec la même vision hétérogène du système. Elles font intervenir des modélisations diverses de la matrice (fibreuse ou poreuse) et du soluté (rigide sphérique, flexible...). Ces théories feront l'objet d'une présentation plus détaillée dans le chapitre IV dédié aux résultats de partition obtenus pour le pullulane dans les gels d'alginate de calcium.

II. Diffusion dans les gels

II.1 Phénomène de diffusion : généralités

Un exemple expérimental bien connu consiste à verser des cristaux de permanganate de potassium dans un récipient rempli d'eau. Le permanganate se dissout, dans un premier temps en formant, à la proximité du cristal, une solution violet sombre. Puis, il est possible de suivre la diffusion du permanganate dans l'eau par la progression de la zone violette en solution (Figure 20).

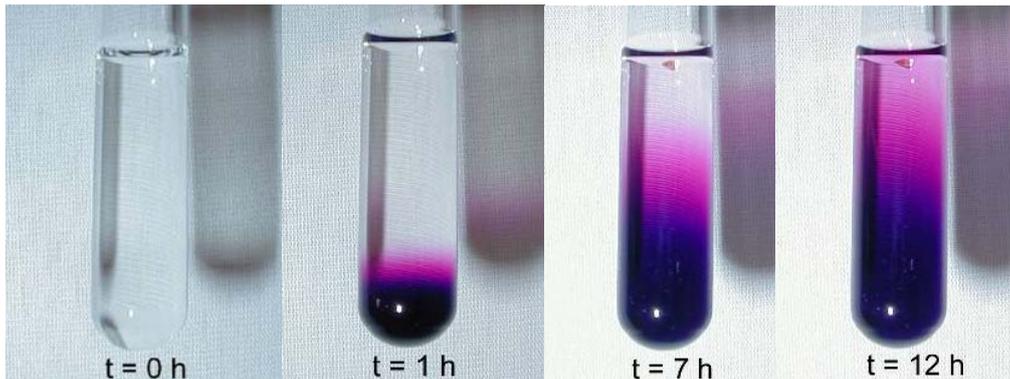


Figure 20 : Visualisation du phénomène de diffusion du permanganate de potassium dans l'eau (illustrations : site internet chem.yorku).

Considérons le cas général d'une solution de molécules. Si, à un certain instant, par suite d'une perturbation extérieure ou d'une fluctuation quelconque, la proportion de soluté n'est pas parfaitement uniforme dans l'espace de la solution, un flux de molécules non nul apparaît qui tend à rétablir l'uniformité des concentrations. Il s'agit d'une observation macroscopique du phénomène de diffusion.

La rapidité à laquelle le système rétablit l'homogénéité des concentrations est fonction de plusieurs paramètres parmi lesquels le type de milieu dans lequel le soluté va diffuser. Une illustration de cette dépendance au milieu est donnée par la Figure 21 où du permanganate de potassium a été déposé au même instant dans deux milieux différents : de l'eau sur la partie gauche et un gel d'agar sur la droite. Il apparaît que la diffusion a été retardée dans le cas du gel.

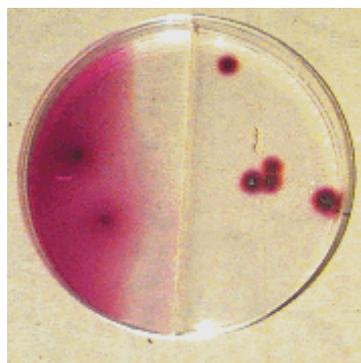


Figure 21 : Comparatif de diffusion du KMnO_4 à gauche dans de l'eau, à droite dans un gel d'Agar (illustration : site internet sciweb.hfcc.net).

Enfin, le type de soluté influence lui aussi la vitesse de diffusion. Le Tableau 1 donne les ordres de grandeur des vitesses de diffusion dans divers milieux.

Temps	H ₂ O/Air	H ₂ O/EtOH	H ₂ /Fer
1 seconde	300 μm	4 μm	1 μm
1 minute	4 cm	30 μm	6 μm
1 heure	30 cm	300 μm	50 μm

Tableau 1 : Valeur de progression de front de diffusion dans différents milieux [Favre, 2002].

Intéressons-nous, après ces observations macroscopiques, à leur origine moléculaire. Le phénomène de diffusion est, en effet, dû aux mouvements moléculaires des espèces. Or, les mouvements au hasard de molécules supposent que celles-ci n'ont pas de direction préférentielle de déplacement et on a vu que le phénomène diffusif était lié à l'établissement d'un flux dans le sens opposé au gradient de concentration. Ces deux phénomènes *a priori* antagonistes peuvent être réconciliés si on considère une section séparant deux fines zones A et B de volume identique (voir Figure 22). Bien qu'on ne puisse pas dire quelle molécule va bouger et dans quelle direction pendant un intervalle de temps donné, on peut affirmer, qu'en moyenne, une fraction des molécules de A va traverser cette frontière artificielle et qu'une même fraction de molécules de B va, elle aussi traverser en sens inverse, dans le même intervalle. Par conséquent, si un des éléments (A, par exemple) est plus riche en soluté que l'autre, il y aura un flux net de celui-ci de la zone la plus concentrée vers la zone la plus pauvre en soluté, résultant des mouvements moléculaires aléatoires.

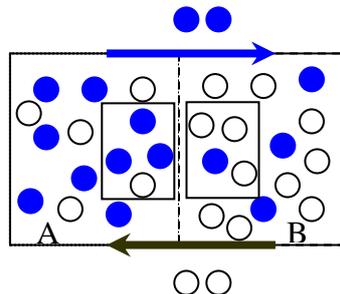


Figure 22 : Représentation schématique du mouvement brownien lors d'un processus de diffusion, les flèches caractérisent le flux global de chacune des espèces lorsqu'on considère que 4 molécules sont échangées entre les deux compartiments.

Dans cette partie, le traitement des phénomènes de diffusion par la loi de Fick sera présenté. Nous soulignerons également, les différences entre les types de paramètres diffusionnels rencontrés dans la littérature. Enfin, des cas de diffusion de complexité accrue seront évoqués avant de définir le cadre de nos travaux et nos objectifs.

II.2 Approche de la diffusion par Fick

Les travaux les plus anciens dans le domaine de la diffusion remontent aux années 1830 où Thomas Graham démontra expérimentalement que le flux de matière causé par la diffusion était proportionnel au gradient de concentration dans le milieu.

Quelques années plus tard, Fick a permis une seconde grande avancée dans le domaine en découvrant l'analogie entre diffusion et conduction thermique. En d'autres termes, il s'est proposé de traiter la diffusion sur les mêmes bases mathématiques que les lois de Fourier.

L'hypothèse sur laquelle reposent les lois mathématiques relatives à la diffusion dans des milieux isotropes est une proportionnalité entre flux du soluté par unité de surface et gradient de concentration normal à la section définissant les deux régions considérées. L'expression du flux molaire N_A dans le cas d'un mélange binaire de A et B est :

$$N_A = -D \frac{\partial C_A}{\partial x} + x_a (N_A + N_B) \quad (\text{I.17})$$

N_A est le flux ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) de A vers B : $N_A = C_A u$

x_a est la fraction molaire de A

C_A est la concentration en soluté (mol.m^{-3})

u est la vitesse de déplacement globale dans le référentiel (m.s^{-1})

Le premier terme du membre de droite que nous noterons F par la suite est le flux de soluté attribuable à la diffusion moléculaire (de Fick) tandis que le second est lié au mouvement d'ensemble de convection.

Dans le cas de la diffusion de Fick, on suppose que $F=N_A$ d'où:

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (\text{I.18})$$

Ceci est vérifié à la condition que la contre diffusion soit équimolaire :

$$N_A = -N_B \quad (\text{I.19})$$

F est le flux de soluté par unité de surface ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$),

C la concentration en soluté (mol.m^{-3}),

D est le coefficient de diffusion ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) de l'espèce diffusante,

x la coordonnée d'espace normale à la section (m) ou longueur de diffusion.

Lorsque le composé B est immobile, seul un flux net de A est observé. Ce cas s'apparente bien à notre situation pour laquelle nous travaillerons, en outre, à de très faibles fractions molaires de A. Dans ce cas également, on peut supposer que le flux est :

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (\text{I.18})$$

Le signe négatif est lié au fait que le flux de matière s'établit dans le sens opposé au gradient de concentration. Cette relation est valable en l'absence de convection, dans un milieu isotrope homogène pour lequel la structure et les propriétés diffusionnelles sont constantes dans l'environnement proche et dans des conditions isothermes et isobares. Dans les cas favorables (par exemple, milieu fortement dilué), le coefficient de diffusion peut être considéré comme indépendant de la concentration.

Comme Fourier pour la conduction, Fick a également défini une équation de conservation que l'on peut retrouver à partir de l'expression du flux. Soit, en coordonnées sphériques :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(D r^2 \frac{\partial C}{\partial r} \right) + \frac{1}{\sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(D \sin \theta \frac{\partial C}{\partial \theta} \right) + \frac{D}{\sin^2 \theta} \frac{\partial^2 C}{\partial \phi^2} \right\} \quad (\text{I.20})$$

Si la diffusion est purement radiale, on retrouve l'équation en une dimension en régime transitoire souvent appelée deuxième loi de Fick [Cussler, 1984 ; Crank, 1975 ; Bird, 2002] :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (\text{I.21})$$

La résolution de cette équation sera abordée dans le chapitre V consacré à la diffusion.

Il est important de souligner que le coefficient de diffusion du soluté à dilution infinie, noté D_0 , dépend fortement de la température dans le milieu. A ce titre, l'équation de Stokes Einstein est souvent utilisée pour quantifier la variation du celui-ci avec la température :

$$D_0 = \frac{k_B T}{6\pi\mu_0 r_H} ; \quad (\text{I.22})$$

avec k_B la constante de Boltzmann ($1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$),
 T température absolue (K),
 μ_0 viscosité du solvant (Pa.s),
 r_H rayon hydrodynamique du soluté (m).

Dans le cadre de ce travail une correction de température pourra être effectuée, pour obtenir $D_0(T)$, par cette méthode, lors du traitement des résultats.

Dans le cas où le soluté diffuse dans un gel et non plus en milieu aqueux, l'équation de Fick peut être adaptée par la définition d'un nouveau coefficient de diffusion, noté D et caractéristique du couple soluté/gel :

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial r}. \quad (\text{I.23})$$

Dans ce cas, la concentration en soluté et le flux de matière sont ramenés au volume ou à la masse de gel.

Ce coefficient traduira l'accroissement du trajet diffusionnel effectif dans le réseau de gel. Ainsi, la plupart des résultats de diffusion dans ce type de milieu seront présentés sous la forme du rapport D/D_0 permettant de comparer le flux de diffusion dans le gel à celui en milieu aqueux.

Nombre de modèles se proposent, à cet effet, de prédire les valeurs de ce rapport à partir de données structurelles concernant le soluté et la matrice gel. Les paramètres requis dans ce type d'approche sont la taille du soluté (rayon ou diamètre) et concernant le gel, sa porosité (si le gel est assimilé à un milieu poreux) ou une taille de maille, un rayon de fibre (s'il est considéré comme fibreux). Ces modèles propriétés /structure seront envisagés dans le détail dans le chapitre V de ce manuscrit.

II.3 Diffusion non fickienne

Il a été souligné que le domaine d'application de la diffusion de Fick se restreint au cas des gaz et des liquides fortement dilués. Au fur et à mesure que l'on s'éloigne de ces situations, la complexité des phénomènes s'accroît et d'autres approches sont requises pour la modélisation des mécanismes diffusionnels mis en jeu. C'est notamment le cas pour les polymères vitreux lorsque l'espèce diffusante génère un gonflement important de la matrice, se traduisant par des modifications structurales importantes. Finalement, la comparaison des vitesses relatives

de diffusion et de relaxation du polymère s'avère utile pour classer les types de mécanismes de diffusion :

- Cas 1 ou diffusion fickienne quand la vitesse de diffusion est beaucoup plus faible que les mécanismes de relaxation
- Cas 2, c'est l'autre extrême pour laquelle la diffusion est beaucoup plus rapide que la relaxation du système
- Cas 3 ou diffusion anormale ou non-fickienne qui se produit pour des vitesses de diffusion et de relaxation comparables.

De nombreux exemples expérimentaux sont rencontrés dans la littérature. De façon schématique, on peut regrouper les différents types de comportements par la Figure 23.

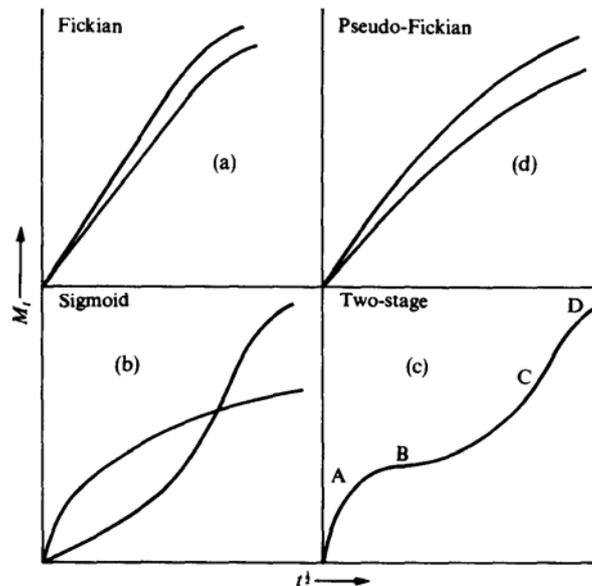


Figure 23 : Courbes de sorption désorption non-fickiennes comparées à des courbes vérifiant la loi de Fick [Rogers, 1965].

Divers modèles mathématiques ont été développés dans le but de décrire ces situations diffusionnelles. Toutefois, aucun ne permet de décrire avec succès la diversité des observations expérimentales.

Ce type de comportement sera, en principe, évité dans notre étude, en nous plaçant à des niveaux de concentration suffisamment faibles ne générant pas de variations du gonflement des hydrogels.

III. Méthodes de mesure des paramètres de diffusion

Dans cette partie nous aborderons les méthodes généralement mises en œuvre pour la détermination du coefficient de diffusion de solutés dans les gels. Nous ne développerons pas le cas de la détermination du coefficient de partage étant donné que celui-ci est accessible par simple mesure des concentrations en soluté dans le surnageant à l'instant initial et à l'équilibre. La problématique de ces mesures est donc purement liée à la détection du soluté. Au contraire, la détermination de D est beaucoup plus complexe et le choix d'une méthode adaptée est un point crucial de l'étude.

III.1 Méthodes à gradient de concentration en régime stationnaire

III.1.a Cellule à diaphragme en régime permanent ou pseudo permanent

Il s'agit d'une méthode ancienne dont les débuts datent des mesures de diffusion dans les liquides pour lesquelles un diaphragme en verre poreux était utilisé.

On retrouve ce type de méthode adapté à la diffusion de sels dans les gels de silice dès 1934 [Patrick et Allan, 1934]. Le montage de ces auteurs est schématisé Figure 24.

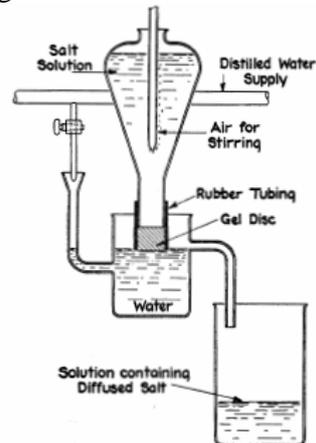


Figure 24 : Ancêtre des cellules à diaphragme [Patrick, 1934].

Ces méthodes [Reinhart et *al.*, 1984] sont adaptées de la méthode de Colton et Kaufmann/Leonard. Deux cellules parfaitement agitées et remplies du solvant sont séparées par une membrane du matériau au sein duquel la diffusion d'un soluté soluble dans le solvant veut être étudiée (voir Figure 24 et Figure 25).

Chacune des cellules est donc munie d'un dispositif d'agitation et le système est contrôlé thermiquement. Les membranes ayant, la plupart du temps, des propriétés mécaniques limitées, celles-ci seront maintenues entre les deux cellules par un fritté dont l'influence sera prise en compte dans les calculs. On peut noter qu'une des difficultés de la méthode est la mise en forme de membranes d'épaisseur constante et de propriétés homogènes.

Ce type de méthode requiert un flux de matière constant entre les deux compartiments.

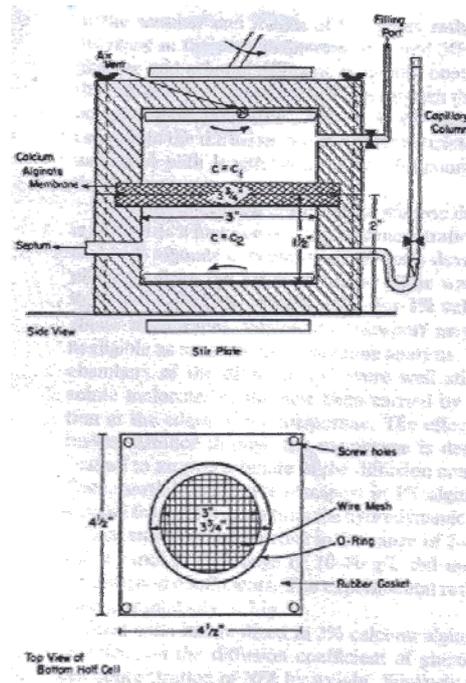


Figure 25 : Exemple de cellule à diaphragme [Reinhart, 1984].

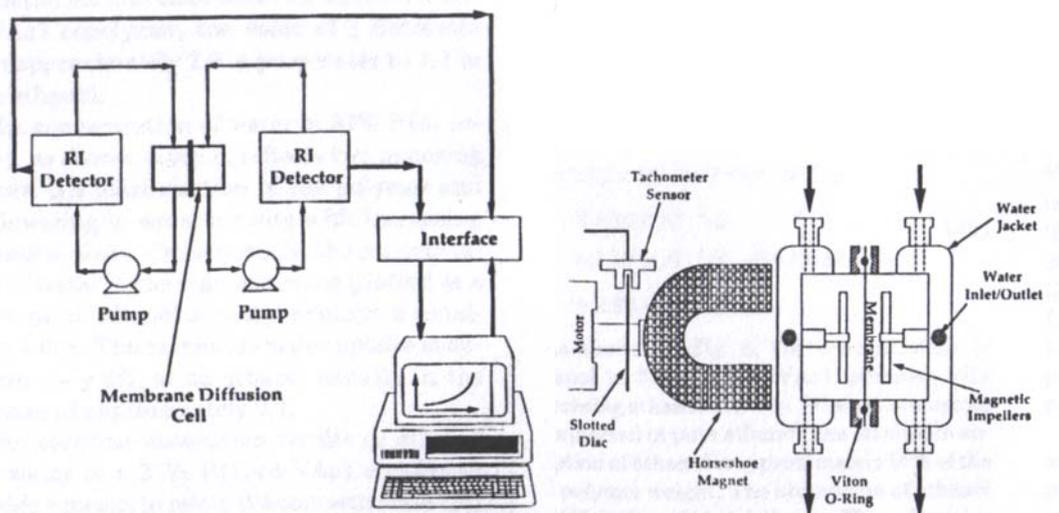


Figure 26 : Autre exemple de cellule à diaphragme avec suivi de la concentration dans chacune des cellules [Dinh, 1992].

Dans le cas de la méthode en régime permanent strict, un courant à concentration constante balaye la cellule amont tandis que la cellule aval est balayée par un flux à concentration nulle. La méthode pseudo-stationnaire autorise, quant à elle, de faibles variations de concentration.

III.2 Méthodes à gradient de concentration en régime transitoire

III.2.a Méthode du temps retard ou Time-lag

La concentration dans le compartiment donneur est constante et le deuxième compartiment est initialement vierge de soluté. On s'intéresse, cette fois-ci, à la courte période après atteinte du régime stationnaire. Le gradient de concentration dans ce type de système peut être schématisé Figure 27.

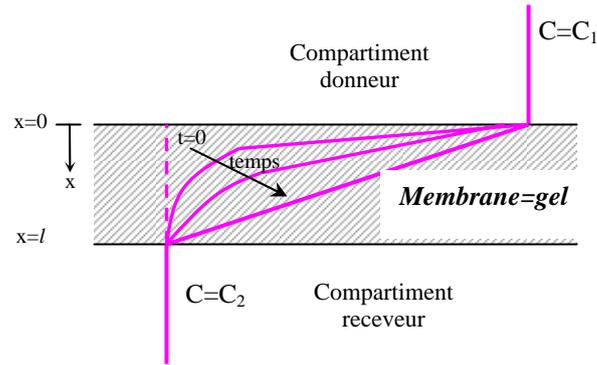


Figure 27 : Méthode du temps retard : gradient de concentration dans le gel.

Dans cette méthode, on suppose qu'il n'y a pas de résistance au transfert (ou qu'elle est négligeable) dans la couche limite entre la solution et la membrane. On suppose que les concentrations dans les deux compartiments restent constantes bien que le soluté diffuse de l'une vers l'autre. Cette approximation sera justifiée pour des compartiments suffisamment grands pour lesquels les variations de concentration seront négligeables.

Le processus de diffusion transitoire au sein du gel est gouverné par l'équation différentielle (avec D , le coefficient de diffusion) :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (\text{I.25})$$

Les conditions aux limites sont donc :

$$\begin{aligned} C &= C_1 \quad \text{pour } x = 0 \\ C &= C_2 \quad \text{pour } x = l \end{aligned} \quad (\text{I.26})$$

Si l'espèce diffusante est initialement absente de la membrane, on peut écrire :

$$C = 0 \quad 0 \leq x \leq l \quad \text{pour } t = 0 \quad (\text{I.27})$$

La solution de l'équation différentielle est, avec ces conditions aux limites et la condition initiale :

$$C = C_1 + (C_2 - C_1) \frac{x}{l} + \frac{2}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{C_2 \cos n\pi - C_1}{n} \sin \frac{n\pi x}{l} \exp \frac{-Dn^2 \pi^2 t}{l^2} \quad (\text{I.28})$$

Le plus souvent, la concentration étant nulle dans le compartiment receveur, cette expression peut être simplifiée ($C_2=0$).

$$C = C_1 \frac{l-x}{l} + \frac{2}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{-C_1}{n} \sin \frac{n\pi x}{l} \exp \frac{-Dn^2 \pi^2 t}{l^2} \quad (\text{I.29})$$

En différenciant cette équation, le flux instantané dans la chambre peut être exprimé par intégration entre $t = 0$ et t_s et en multipliant par l'aire A de la membrane, on peut obtenir la quantité totale de soluté transférée à travers la membrane à t_s . Pour des temps suffisamment longs, les termes d'ordre supérieur peuvent être négligés et obtient une relation linéaire entre la quantité totale de soluté Q_{t_s} et le temps :

$$Q_{ts} = \frac{ADC_1}{l} \left(t_s - \frac{l^2}{6D} \right) \quad (I.30)$$

Par conséquent, le tracé de Q_{ts} en fonction du temps coupe l'axe des temps en $t = l^2 / 6D$. L'interception de la partie linéaire du profil expérimental avec l'axe des temps est connu sous l'appellation de « time lag ». Le coefficient de diffusion est obtenu par mesure du time lag et de l'épaisseur du gel (Figure 28).

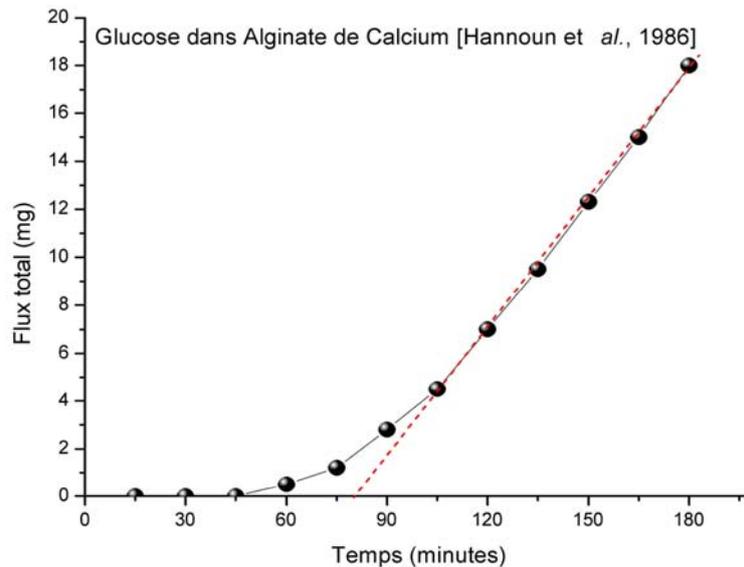


Figure 28 : Exemple de résultat par la méthode du temps retard pour la diffusion de glucose dans de l'alginate de calcium à 2% [d'après Hannoun et al., 1986].

III.2.b Incorporation/libération dans des gels contenus dans un système agité

Ce type d'expérimentation se propose de mesurer le coefficient de diffusion en suivant la cinétique d'incorporation ou de libération d'un soluté dans un gel lui-même dispersé dans une solution agitée. La cinétique est obtenue par suivi de la concentration en soluté dans le liquide de dispersion.

On distinguera les méthodes d'incorporation pour lesquelles la concentration en soluté va s'accroître dans le gel et les méthodes de libération pour lesquelles on assistera à un épuisement ou une diminution de la quantité de soluté initialement présente dans le gel. La forme du gel utilisé est également variable : géométrie sphérique [Petersen, 1991 ; Westrin, 1991], cylindres, disques ou plaques. La solution dans laquelle le gel est dispersé peut être de volume fini ou assimilable à un volume infini (en d'autres termes, on supposera qu'il n'y a pas de variation de la concentration). Ce type de méthode présente l'avantage de se situer au plus près de la réalité des applications des systèmes étudiés.

III.2.c Profil de concentration dans des plaques semi infinies

Dans la méthode précédente, on se proposait un suivi dans le temps de la concentration en espèce diffusante. Dans cette méthode, c'est un suivi dans l'espace qui sera réalisé. Un gel initialement vierge d'espèce diffusante est mis en contact avec une solution contenant le soluté.

Cette méthode peut être destructive ou non, en fonction des méthodes analytiques de mesure de la concentration en soluté.

Dans le cas de la méthode destructive, le gel est sectionné en tranches en vue d'une analyse ultérieure. Un exemple est présenté Figure 29 où le suivi du taux d'humidité entre deux cylindres de gels est utilisé à des fins de modélisation de l'humidification de formes alimentaires.

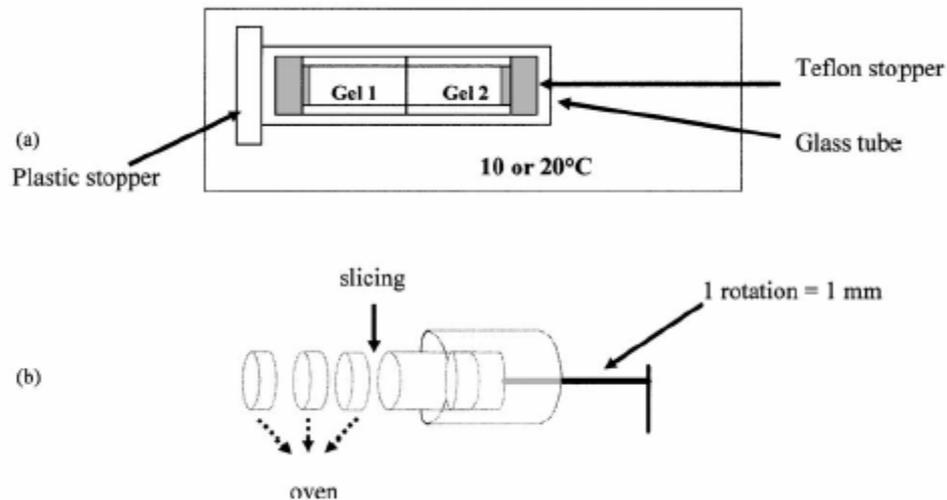


Figure 29 : Exemple de méthode destructive pour le suivi du taux d'humidité dans deux cylindres de gel initialement à taux d'humidité différents [Boudhrioua, 2003].

Les méthodes non destructives sont avantageuses car elles sont répétibles sur un même échantillon et permettent une réutilisation du gel. Les clichés obtenus par Lewus et *al.* sont présentés Figure 30. Cette étude a été menée sur des gels à base de poly(acrylamide) et le soluté est du cytochrome c coloré grâce à une protéine cationique de couleur rouge. La méthode de dosage est basée sur une analyse d'image. Les images numérisées sont analysées en niveaux de gris après avoir réalisé un étalonnage des niveaux de gris par des solutions de concentration connue.

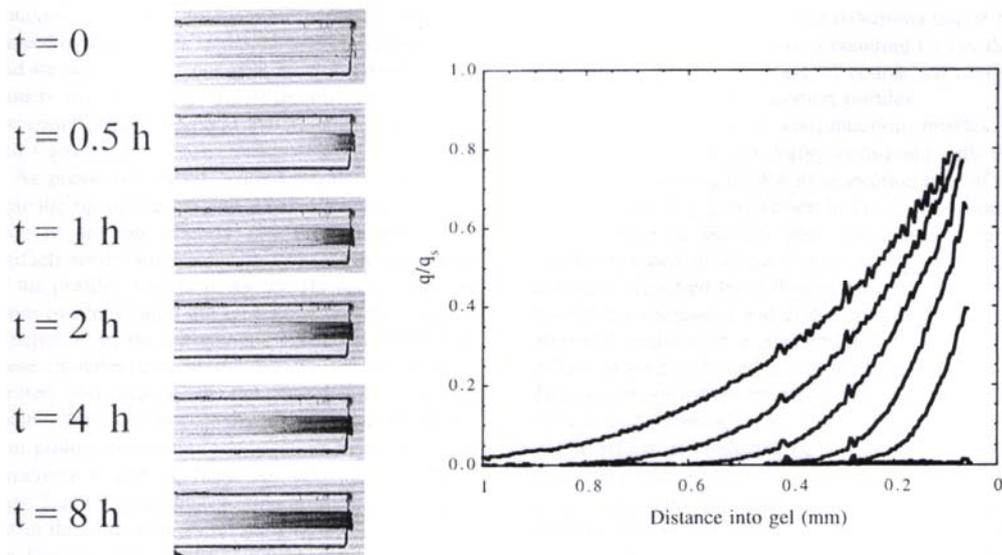


Figure 30 : Images du front de diffusion du cytochrome c dans un gel et courbes de profil de concentration associées [Lewus et *al.*, 2002].

Nombre de techniques analytiques peuvent être associées à ce type d'essais : retour de fluorescence après photo blanchiment (Fluorescence Recovery After Photobleaching ou FRAP) [Poitevin et Wahl, 1998], [Cheng, 2002], Adsorption UV Visible, Fixation de sondes, Interférométrie laser holographique, Imagerie à Résonance Magnétique (IRM), FT-PGSE (Fourier Transform Pulsed Gradient Spin Echo).

Dans notre cas, la difficulté principale de ce type de méthode réside dans la possibilité de mettre en forme des gels d'alginate homogènes et de taille importante. La méthode visuelle par microscopie reste toutefois séduisante et a fait l'objet d'essais préliminaires par marquage du pullulane par des sondes fluorescentes afin de réaliser dans l'avenir des suivis par microscopie de fluorescence.

III.2.d Couples finis

Contrairement aux méthodes précédentes qui sont basées sur la mesure de profils de concentration en solution et des profils dans l'espace dans le gel en fonction du temps, la méthode des couples finis utilise la mesure de la concentration moyenne d'une plaque initialement vierge de soluté et mise en contact d'une plaque contenant le diffusant. Ce type de méthode a été utilisé par Spalding [Spalding, 1973] qui souhaitait s'affranchir de phénomènes de convection en mesurant la diffusion dans des gels dans le but d'accéder aux coefficients de diffusion en solution.

III.2.e Divers

Des méthodes très variées ont fait l'objet d'études beaucoup plus ponctuelles. C'est le cas de mesures par des électrodes recouvertes d'une fine couche du gel dans lequel on souhaite estimer la diffusion d'un soluté quantifiable par voie électrolytique. Renneberg et al. ont utilisé des électrodes recouvertes de divers gels (dont de l'alginate de calcium) afin de mesurer la diffusivité de l'oxygène dans ces matrices. Les résultats sont rapides mais l'inconvénient de la méthode est qu'elle se limite au soluté quantifiable par l'électrode utilisée [Renneberg, 1988].

III.2.f Méthodes indirectes

Toutes les méthodes présentées précédemment sont mises en œuvre de sorte que la diffusion soit le seul phénomène observé. Cependant, il existe un certain nombre de méthodes indirectes dans lesquelles les observations résultent de la combinaison de plusieurs phénomènes physiques ou chimiques. Un exemple bien connu est l'exploitation des courbes de percée en chromatographie. Dans ce cas, le calcul des coefficients de diffusion requiert de prendre en compte l'hydrodynamique de la colonne.

Si certains auteurs [Westrin, 1994] reportent une difficulté extrême quant à l'estimation correcte de coefficients de diffusion, cette méthode présente sans conteste l'avantage de permettre de tester dans un même système toute une série de solutés dans un délai très court. Cette méthode a, en outre, été utilisée pour étudier le transport d'ions dans des hydrogels d'alginate [van Beinum, 1999].

III.3 Méthodes instrumentales

Des méthodes instrumentales ont fait leur apparition dans les applications liées à la diffusion dans les gels. Elles ont l'avantage de la rapidité d'exécution, d'être non destructives et la plupart du temps, d'utiliser de faibles volumes de réactifs. En outre, elles évitent les prélèvements et les analyses consécutives, ce qui leur donne une grande précision par rapport aux méthodes conventionnelles. Cependant, les équipements sont lourds et les compétences techniques importantes pour leur utilisation et, inconvénient majeur, les systèmes d'études doivent être bien choisis pour être applicables à ces méthodes innovantes.

III.3.a Fourier Transform Pulsed Gradient Spin Echo (FT-PGSE)

Les méthodes de résonance magnétique nucléaire ont été largement employées depuis les années 1950. Différentes variantes de la méthode ont été rencontrées, depuis. Cependant, à l'heure actuelle, la plus largement répandue est connue sous l'acronyme FT-PGSE pour Fourier transform pulsed-gradient spin-echo. Le revue bibliographique de Stilbs [Stilbs, 1987] fournit les développements théoriques à la base de la méthode et en souligne les avantages.

III.3.b Diffusion de la lumière dynamique

Il s'agit de l'ensemble des méthodes de diffusion de la lumière qui fournissent des informations sur la dynamique des molécules. Le principe de ces méthodes est l'étude de l'effet de particules ou de molécules en solution sur un faisceau de lumière laser cohérent et monochromatique. En analysant la fréquence de la lumière diffusée par les particules (ou les macromolécules), on peut avoir accès au coefficient de diffusion. Cependant, ce type de méthode reste destiné à des tailles de solutés importantes [Westrin, 1994].

III.3.c Spectroscopie de relaxation holographique

La méthode d'interférométrie holographique est basée sur la visualisation de variations d'indice de réfraction (sous la forme de franges d'interférences) dues à des modifications de la concentration. Par l'intermédiaire de la loi de Fick, ces variations de concentration peuvent être reliées à un coefficient de diffusion. En effet, en mesurant les distances auxquelles les franges apparaissent et le temps entre lesquels les variations de concentration se produisent, on a accès à la diffusivité.

Cette méthode présente un avantage par rapport aux méthodes conventionnelles : il n'est pas nécessaire de mesurer la concentration. De plus, elle possède des points forts par rapport aux autres méthodes holographiques : plus simple, elle ne requiert pas, en outre, de cellules de qualité optique supérieure, les inhomogénéités ne produisant pas de perturbation des mesures. Cette méthode a été appliquée par Ruiz-Beviá et *al.* [Ruiz, 1989] à la détermination de la diffusivité du glucose dans des gels d'alginate de calcium.

Le prédécesseur de l'interférométrie holographique est le FRAP (retour de fluorescence après photoblanchiment). Dans cette méthode, le dispositif est constitué d'un faisceau lumineux sortant du laser divisé en deux. Le premier faisceau contenant la majorité de l'énergie et pouvant être bloqué par un obturateur, est le faisceau de photoblanchiment. Le second, atténué, est le faisceau d'interrogation.

Il est possible de diviser le processus de FRAP en trois étapes. Dans un premier temps, le faisceau d'interrogation éclaire un volume de la solution à étudier et contenant le fluorophore. La longueur d'onde d'excitation est choisie de façon à coïncider avec la bande d'absorption

de celui-ci. Dans cette première phase, la fluorescence initiale émise par le fluorophore est enregistrée.

Ensuite, le faisceau de blanchiment est activé pendant un temps très faible (inférieur au temps de transport du processus à étudier). Il en résulte une destruction rapide et irréversible du fluorophore contenu dans ce volume.

Finalement, dans la troisième étape, le faisceau d'interrogation est à nouveau utilisé. On enregistre le retour de la fluorescence excitée par ce faisceau. Une information sur la diffusion des molécules fluorescentes est ainsi obtenue.

Ce type de méthode a été utilisé sur divers systèmes. On peut citer les travaux de Poitevin et Wahl [Poitevin, 1998] et la thèse de Moussaoui [Moussaoui, 1990] sur des gels commerciaux de séparase et de séphadex. Plus récemment, Cheng et Prud'homme ont utilisé cette technique sur des solutions de guar [Cheng, 2002].

III.4 Bilan des méthodes et choix pour notre système

Méthode	Coût de l'équipement (€)	Temps total minimum (h)	Temps total intensif (h)	Essais simultanés	Type de coefficient de diffusion	Commentaires
<i>Cellule à diaphragme, régime permanent</i>	<1000	5	2	Peu	D_e et D_e^*	
<i>Cellule à diaphragme, time-lag</i>	<1000	5	2	Peu	D et D^*	
<i>Chargement/ Libération en solution agitée</i>	<500	1	1	Peu	D et D^*	
<i>Profils de concentration, destructifs</i>	<500	10	1	Nombreux	D et D^*	
<i>Profil de concentration, Interférométrie laser holographique</i>	<15000	5	2	Aucun	D	Gels transparents
<i>Couples fini</i>	<500	1	1	Nombreux	D et D^*	
<i>FT-PGSE</i>	<100000	0,5	0,5	Aucun	D^*	Solutés petits ou intermédiaires, autres limitations de systèmes
<i>Diffusion de lumière dynamique</i>	<100000	0,5	0,5	Aucun	D	Gels transparents, très gros solutés
<i>Colonnes chromatographiques</i>	<1000	5	1	Aucun	D	

Tableau 2 : Bilan des méthodes à disposition en terme de temps, coût et nécessités [Westrin, 1994]

D^* est le coefficient de diffusion d'un traceur dans le gel, défini comme D , en supposant un gradient de concentration très faible voire nul comme c'est le cas en self diffusion (soit un système homogène en concentration), D_e est le coefficient de diffusion effective.

Dans le tableau récapitulatif (Tableau 2), les coûts indiqués ne tiennent pas compte du prix des solutés et gels, le temps minimum est le temps d'un essai pour un coefficient de diffusion de $10 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et un diamètre ou une épaisseur de gel de 2 mm. Le temps total intensif correspond au temps employé par l'opérateur. Une indication est également donnée sur la possibilité de conduire des essais en parallèle.

Notre choix s'est porté vers la méthode d'incorporation de soluté dans des billes en solution agitée dont le coût d'équipement est limité et la mise en œuvre relativement simple. La revue

bibliographique précédente nous a, cependant, permis de souligner la nécessité d'une méthodologie soignée afin de limiter les erreurs. L'alginat ayant été choisi comme matrice gel, il s'est avéré que le plus simple serait de l'utiliser sous forme de billes. Du point de vue méthodologique, ce choix est également intéressant car la méthode a parfois été contestée. Des auteurs comme Itamunoala et al. (1988) soulignent que des erreurs de 29 à 600% peuvent être commises avec cette mise en forme. D'autres auteurs estiment, au contraire, qu'il est possible de réduire ces erreurs [Petersen et al., 1991] et ce, grâce à une méthodologie appropriée. En outre, la facilité de mise en œuvre est un argument incontestable et il serait dommage de se priver de ce type de méthode sous prétexte que des erreurs importantes peuvent être commises si la méthodologie utilisée est inadaptée. La méthodologie concernant ces essais a donc fait l'objet d'une étude préliminaire présentée au chapitre III afin de se placer dans des conditions optimales pour la détermination de D .

La mise en forme des gels se fait sous forme de billes sphériques et on choisira de travailler en chargement. Les billes initialement vierges de soluté seront chargées en pullulane et le suivi de ce processus se fera par mesure de la concentration en soluté dans le liquide surnageant au moyen d'un dosage en ligne, grâce à un réfractomètre ou, après prélèvements via un dosage colorimétrique.

Une seconde méthode, indirecte, sera également testée grâce à des essais en colonne chromatographique, avec le même type de détecteur. Pour ce faire, les outils de la chromatographie monoconstituant sont utilisés afin de découpler l'hydrodynamique de la colonne et la diffusion.

Ces méthodes feront l'objet d'une description détaillée et d'une analyse méthodologique dans les chapitres III et V.

C/ Bilan et objectifs du travail

Ce premier chapitre nous permet finalement de décrire dans le détail les objectifs de ce travail en dressant le bilan de cette étude bibliographique. Trois axes principaux peuvent être dégagés : expérimental, méthodologique et prédictif.

1^{er} objectif : Compléter la connaissance expérimentale du problème. (*Amélioration du choix du système modèle et étude des domaines correspondants aux grandes masses moléculaires de solutés et aux faibles fractions volumiques dans les hydrogels*)

Ce premier objectif peut se résumer par les recommandations faites par Muhr et Blanshard [Muhr, 1982] qui soulignent le faible nombre de données expérimentales concernant la diffusion de solutés macromoléculaires dans les gels. Ce faible nombre de données est notamment lié à la difficulté de détermination de D dans ces systèmes. En effet, le transfert de solutés dans les gels a fait l'objet de nombreux travaux comme en témoignent les données existantes à l'équilibre mais les données de diffusion restent plus rares.

C'est dans cette optique que la Figure 31 recense un certain nombre de résultats expérimentaux de partage d'un soluté macromoléculaire entre une phase aqueuse et un gel de polymère. Ce graphe traduit, au contraire, le grand nombre d'études conduites dans le domaine du partage.

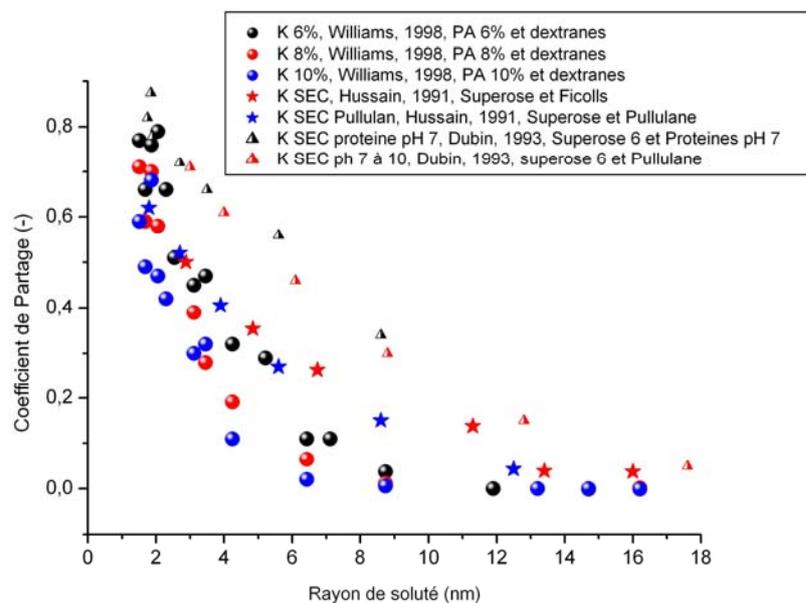


Figure 31 : Données de la littérature concernant le partage de molécules dans des gels.

Cependant, si notre attention se porte sur les solutés étudiés, ceux-ci ont, le plus souvent, des tailles de l'ordre de la dizaine de nanomètres mais jamais au-delà de 20 nm. Or, dans nombre d'applications, les rayons des solutés considérés peuvent atteindre facilement 30 nm. A titre d'exemple, depuis l'essor des nanotechnologies, les solutés et autres particules de ces ordres de grandeur se sont multipliés, d'où l'intérêt porté au transfert de matière de macromolécules. Ces échelles nous situent au cœur des problématiques liées aux macromolécules telles que les virus, le matériel génétique, les polymères.

En outre, les protéines sont largement utilisées dans les études de partage (Figure 31). Elles ont certes un avantage incontestable quant à leur isomolécularité et leurs formes et tailles parfaitement définies. Par contre, il existera autant d'interactions avec le gel que de types de protéines. En ce qui concerne les matrices gels, la plupart de celles étudiées sont fortement réticulées. Il serait intéressant, à ce titre, de tester l'effet d'un gel plus lâche sur l'équilibre de partage et la robustesse des modèles face à cette situation peu étudiée.

C'est grâce à ces observations et à la recherche bibliographique présentée dans ce chapitre que nous nous sommes orientés vers le choix du couple hydrogel d'alginate de calcium/pullulane pour étudier la diffusion de macromolécules dans les gels. L'étude sera notamment étendue aux faibles fractions volumiques en polymère dans le gel et aux grands rayons de solutés de façon à compléter les données de partition de la littérature par l'exploration de la partie correspondante de la Figure 31 du coefficient de partage en fonction du rayon des solutés. De même, les mesures en diffusion viendront compléter la connaissance de la diffusion de macromolécules dans les gels.

2^{ème} objectif : Evaluer le caractère prédictif des modèles de la littérature.

S'il apparaît intéressant d'accumuler les données diffusionnelles pour compléter la littérature, il est également légitime de se demander à quelles fins... Tout d'abord, en raison d'enjeux très appliqués, car les gels sont au cœur d'applications de la vie quotidienne pour lesquelles les problématiques de transfert de matière sont primordiales.

Et, si les applications sont nombreuses, des efforts restent à accomplir dans la compréhension et la prédiction de la diffusion dans les gels afin d'être en mesure de concevoir des matrices adaptées à leurs applications. Un autre objectif de ce travail est donc l'évaluation du caractère prédictif de modèles de la littérature en jugeant leurs qualités et leurs faiblesses et avec le souci de proposer des pistes pour leur amélioration. Des modèles efficaces permettraient en effet, une meilleure conception *a priori* des matériaux en fonction des applications visées.

3^{ème} objectif : Analyse méthodologique critique.

Pour tester correctement ces modèles, il est indispensable de posséder des données expérimentales fiables tant du point de vue de la structure du système que des propriétés de transfert du soluté dans le gel. Ces pré-requis sont à la base d'un autre objectif de travail lié à l'analyse critique de la méthodologie d'accès aux paramètres diffusionnels tant du point de vue expérimental que du traitement des données.

Que ce soit au niveau de l'évaluation de la structure des gels ou de la détermination des coefficients de diffusion, les données de la littérature sont parfois très dispersées suivant les auteurs. De même, on a vu que, même du point de vue théorique, les modèles peuvent avoir des représentations du système gel/soluté/solvant très divergentes... Devant ce constat, nous avons entrepris un travail méthodologique aux divers niveaux de cette étude. La difficulté principale de l'étude de la partition de solutés dans les gels réside ainsi essentiellement dans la caractérisation du système (traitée au chapitre II) tandis que l'étude de la diffusion cumule les difficultés de caractérisation du système et d'estimation de D . A ce titre, la revue bibliographique sur les méthodes de détermination du coefficient de diffusion dans les gels nous a permis de sélectionner deux méthodes, l'une bien adaptée à notre cas : la méthode d'incorporation en solution agitée et une seconde plus prospective avec des colonnes garnies de billes d'alginate. En outre, partage et diffusion feront l'objet de mesures indépendantes

étant donné que le coefficient de partage est requis lors de l'estimation de D . Cette pratique n'est pas généralisée car D et K_p sont accessibles par un seul et même essai : l'équilibre permet de déterminer K_p qui peut ensuite être utilisé pour estimer D . Toutefois, les obtenir indépendamment permet d'éviter le cumul des erreurs.

Une approche méthodologique devra donc être mise en œuvre au niveau expérimental pour :

- la caractérisation du système,
- la détermination des coefficients de partage et de diffusion.

Sur un plan plus théorique, cette méthodologie se retrouvera dans :

- le traitement des données brutes,
- l'utilisation des modèles de la littérature.

Conclusion

Cette étude bibliographique a permis d'aboutir au choix du système expérimental retenu pour ce travail. Le gel choisi est l'alginate de calcium. Celui-ci présente l'avantage d'autoriser de grandes variations de la fraction volumique en polymère par l'intermédiaire de la concentration en polymère dans la solution mère utilisée pour la mise en œuvre du gel. L'alginate a, par ailleurs, fait l'objet d'un grand nombre d'études et, à ce titre, il est relativement bien connu. Il est, en outre, fréquemment utilisé dans des applications liées à la libération contrôlée, thématique proche des problèmes de transfert de macromolécules qui nous intéressent dans ce travail.

Concernant le soluté, c'est le pullulane qui a été choisi car il satisfait l'ensemble des critères en faisant un excellent candidat à l'étude de la diffusion de macromolécules. Il est disponible sur une large gamme de masses moléculaires (700 à 800 000 g.mol⁻¹) tout en présentant une très faible polymolécularité. Il est, en outre non chargé, et la possibilité d'utiliser des polymères homologues nous assure de limiter l'effet d'interactions entre soluté et matrice. Enfin, soluble en milieux aqueux, il est parfaitement adapté pour une association avec l'alginate de calcium et son dosage sera possible via les nombreuses méthodes adaptées aux polysaccharides.

Le système expérimental ayant été défini, la suite du chapitre a été consacré à la familiarisation avec les concepts liés à la partition et à la diffusion dans les gels qui seront réutilisés pour cette étude.

Enfin, même si les techniques de mesure de la diffusion dans les gaz et les liquides sont nombreuses et maintenant classiques, leur adaptation au cas des gels n'est pas toujours aisée. La partie B.III de ce chapitre en dresse le bilan et conduit au choix des méthodes les mieux adaptées à notre cas.

A l'issue de ce chapitre, il apparaît que notre problématique devra s'articuler autour de trois objectifs : expérimental, méthodologique et prédictif. Chacun de ces objectifs mettra en jeu deux axes principaux : d'une part, la caractérisation fine de la structure de l'alginate de calcium et du pullulane et d'autre part la détermination des paramètres de diffusion et de partage pour ce couple soluté/gel. Une fois ces deux objectifs remplis, leur confrontation devrait permettre d'établir des relations propriétés / structure à des fins prédictives. Le chapitre II s'intéressera donc à la caractérisation de l'alginate et du pullulane utilisés dans ce travail.

Table des Figures

Figure 1 : Représentation schématique des paramètres d'importance dans la diffusion de solutés dans les gels.....	8
Figure 2 : Représentation schématique de gels obtenus par réticulation chimique (a) et réticulation physique (b).....	11
Figure 3 : Effet de la concentration en polymère sur la structure d'une solution polymère. De gauche à droite : solution diluée, début du recouvrement ($C \approx C^*$) et solution semi-diluée.	12
Figure 4 : Schématisation d'une densification du réseau par augmentation de la concentration en polymère.	13
Figure 5 : De gauche à droite : <i>Macrocystis pyrifera</i> (a), <i>Laminaria hyperborea</i> (b) et <i>Laminaria digitaria</i> (c) (illustrations : sites internet oceanlight, lebrusc, sb-roscoff).....	16
Figure 6 : Répartition géographique des algues utilisées industriellement pour la production d'alginate(illustration : site internet fmcbiopolymers).....	16
Figure 7 : Structure de a) l'acide β -D mannuronique, b) l'acide α -L guluronique et c) l'alginate.....	18
Figure 8 : Effet de la concentration sur la viscosité de solutions de l'alginate de calcium utilisé dans ce travail.....	18
Figure 9 : Représentation schématique de la formation d'egg-box (illustration : site internet fmcbiopolymers).	19
Figure 10 : Modèles de structures proposées pour des réseaux de gels formés à partir d'alginate possédant des blocs d'acide guluronique de longueur différente : à gauche, taux de G élevé ; à droite, taux de M élevé.	19
Figure 11 : Diagramme de phases alginate/ Ca^{2+} [Rastello, 2002].	20
Figure 12 : <i>Aerobasidium pullulans</i> (illustration : site internet mold-help).....	21
Figure 13 : Structure de la molécule de pullulane.....	21
Figure 14 : Représentation schématique de l'équilibre de partage d'un polymère entre une solution et un gel gonflé.....	22
Figure 15 : Théorie du réseau : représentation de segments d'une chaîne polymère agencés dans un réseau liquide.	23
Figure 16 : Représentation schématique d'un système ternaire composé d'un gel, d'un solvant et d'un soluté macromoléculaire.	26
Figure 17 : Partition de sphères entre le surnageant et un pore cylindrique idéal. Les sphères exclues du volume de pore car elles se superposent au pore apparaissent non colorées [Giddings, 1991].....	27
Figure 18 : Graphe représentant K_p en fonction du rayon hydrodynamique du soluté pour différents rayons de pore de la matrice d'après le modèle de Giddings.	27
Figure 19 : Vue schématique des configurations autorisées ou non de solutés de formes variées dans un pore (d'après Giddings [Giddings, 1968]).....	28
Figure 20 : Visualisation du phénomène de diffusion du permanganate de potassium dans l'eau (illustrations : site internet chem.yorku).	29
Figure 21 : Comparatif de diffusion du KMnO_4 à gauche dans de l'eau, à droite dans un gel d'Agar (illustration : site internet sciweb.hfcc.net).....	29
Figure 22 : Représentation schématique du mouvement brownien lors d'un processus de diffusion, les flèches caractérisent le flux global de chacune des espèces lorsqu'on considère que 4 molécules sont échangées entre les deux compartiments.	30
Figure 23 : Courbes de sorption désorption non-fickiennes comparées à des courbes vérifiant la loi de Fick [Rogers, 1965].	33

Figure 24 : Ancêtre des cellules à diaphragme [Patrick, 1934].	34
Figure 25 : Exemple de cellule à diaphragme [Reinhart, 1984].....	35
Figure 26 : Autre exemple de cellule à diaphragme avec suivi de la concentration dans chacune des cellules [Dinh, 1992].....	35
Figure 27 : Méthode du temps retard : gradient de concentration dans le gel.	36
Figure 28 : Exemple de résultat par la méthode du temps retard pour la diffusion de glucose dans de l'alginate de calcium à 2% [d'après Hannoun et <i>al.</i> , 1986].	37
Figure 29 : Exemple de méthode destructive pour le suivi du taux d'humidité dans deux cylindres de gel initialement à taux d'humidité différents [Boudhrioua, 2003].	38
Figure 30 : Images du front de diffusion du cytochrome c dans un gel et courbes de profil de concentration associées [Lewus et <i>al.</i> , 2002].	38
Figure 31 : Données de la littérature concernant le partage de molécules dans des gels.....	43

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Valeur de progression de front de diffusion dans différents milieux [Favre, 2002].	30
Tableau 2 : Bilan des méthodes à disposition en terme de temps, coût et nécessités [Westrin, 1994].....	41

Chapitre II

Caractérisation physico-chimique du système modèle

Introduction

Dans ce chapitre, nous nous attacherons à définir et caractériser le système modèle choisi afin d'appréhender les mécanismes de transfert de solutés macromoléculaires dans les hydrogels. Une des finalités de ce travail est l'établissement de relations propriétés-structure. Ainsi, la connaissance de la structure du milieu étudié prend une importance majeure. Etant donné la complexité des gels et les difficultés de caractérisation de telles matrices, une première étape a consisté à répertorier les différents couples soluté/gel envisageables (voir Chapitre I). Les techniques de caractérisation appliquées à ce système seront décrites dans ce chapitre et conduiront, à défaut d'une description parfaite, à une série d'informations permettant une caractérisation du système Alginate/Pullulane. Le paramètre fondamental en diffusion étant le ratio de la taille du soluté à la maille du réseau, nous insisterons particulièrement sur le lien théorique entre ce paramètre de maille (ou le rayon de pore) et la fraction volumique. En ce qui concerne le soluté, sa dimension caractéristique sera définie par le rayon hydrodynamique ou le rayon de giration suivant l'approche considérée. La première partie sera, en conséquence, consacrée à la mise en forme des gels d'alginate de calcium. La deuxième partie abordera la caractérisation des différents éléments du système : alginate de sodium à la base de la mise en forme des hydrogels, gels d'alginate de calcium et pullulanes.

A/ Mise en forme des gels d'alginate

Avant même d'envisager la caractérisation de la matrice gel, il convient de définir un protocole de mise en forme des hydrogels, parfaitement répétable. Cette partie se propose de décrire la mise au point de ce protocole et les précautions assurant l'homogénéité des lots utilisés. Par ailleurs, la chimie de l'alginate permet l'utilisation de gels chimiques dont la synthèse sera ensuite décrite.

I. Gels physiques

Ce premier type de gels est celui que nous utiliserons dans la plupart des essais. La formation des gels physiques d'alginate de calcium résulte directement de la formation de « egg-box ». Nous avons veillé à définir un protocole le plus reproductible possible et avec le souci d'obtenir des gels homogènes. Nous verrons que si cet objectif est atteint pour des objets de petite taille, certaines précautions devront être prises dans le cas de gels de plus grandes dimensions.

I.1 Préparation des solutions

L'alginate de sodium est dissous dans une solution de chlorure de sodium $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ et placé sous agitation vigoureuse pendant 24 heures. La solution visqueuse obtenue peut parfois contenir de fines bulles d'air. Afin de les éliminer, la solution d'alginate est stockée au repos une nuit car l'usage des ultrasons à cet effet risquerait d'induire des ruptures de chaîne polymère.

La solution de chlorure de sodium utilisée pour dissoudre l'alginate de sodium, préparée en grande quantité, sert de solution de base pour la préparation de la solution calcique ($0,1 \text{ mol.L}^{-1} \text{ NaCl}$; $0,1 \text{ mol.L}^{-1} \text{ CaCl}_2$). Ceci permet de maintenir une concentration constante en NaCl entre la solution d'alginate et la solution calcique dans laquelle les gels d'alginate sont mis en forme. Cette précaution associée à une concentration modérée en chlorure de calcium [Bouffar, 1989] permet de s'assurer d'une plus grande homogénéité du gel [Rastello et *al.*, 2004]. En effet, lors de la formation du gel, le front de gélification se déplace vers le centre de la bille tandis que les chaînes d'alginate se déplacent en sens inverse, depuis le cœur vers la périphérie des billes. Si le déplacement des chaînes est plus rapide que la gélification, la concentration en polymère est hétérogène dans la bille. L'ajout de chlorure de sodium permet d'accroître l'enchevêtrement des chaînes et de ralentir leur migration favorisant ainsi une homogénéité du gel.

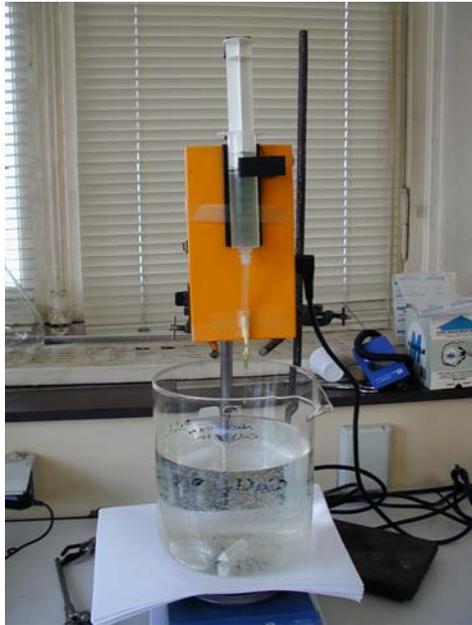
I.2 Mise en forme

Différentes géométries ont été mises en œuvre en fonction de l'utilisation du gel. Les protocoles offrant la possibilité de former des objets aussi divers que des films, des billes ou des cylindres sont décrits dans cette partie.

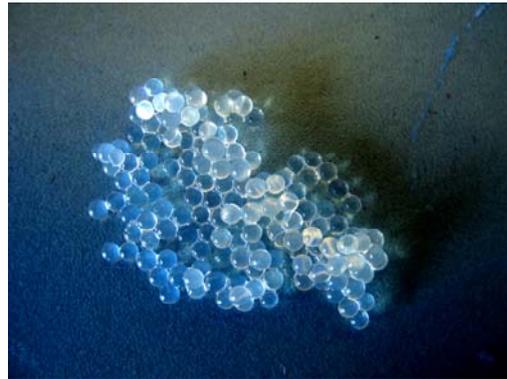
I.2.a Gels sous forme de billes

Afin de former des billes de gel d'alginate, la solution d'alginate de sodium est versée goutte à goutte dans la solution calcique en maintenant une agitation modérée de façon à éviter la coalescence des billes récemment formées. Le dispositif expérimental utilisé est représenté

par la Figure 32 (a). Il est composé d'un pousse-seringue muni d'une seringue et d'une aiguille tronquée afin de former des billes parfaitement sphériques. Des vérifications de la forme et la taille des billes ont été effectuées et seront présentées dans la partie destinée à la caractérisation des gels d'alginate de calcium. L'aiguille est placée à 5cm environ de la surface afin d'éviter des déformations importantes des gouttes qui conduiraient à des billes irrégulières.



(a)



(b)

Figure 32: Montage pour la fabrication de billes d'alginate de calcium (a) et billes d'alginate de calcium après gélification (b).

I.2.b Gels sous forme de films

Ce type de présentation des gels d'alginate est utilisé pour les mesures rhéologiques. Des cassettes de dialyse sont utilisées afin de mettre en forme les films de gel.

La solution d'alginate de sodium est coulée dans la cassette (constituée de deux cadres et de deux feuilles de membrane de dialyse) en veillant à ne pas générer des bulles d'air qui provoqueraient des hétérogénéités supplémentaires durant la phase de gélification. Les cassettes sont ensuite placées dans un bécher contenant la solution de NaCl et CaCl₂ sous agitation pendant le temps nécessaire à la formation du gel (Figure 33). Les gels obtenus seront finalement découpés suivant les dimensions requises par la taille des plateaux du rhéomètre.

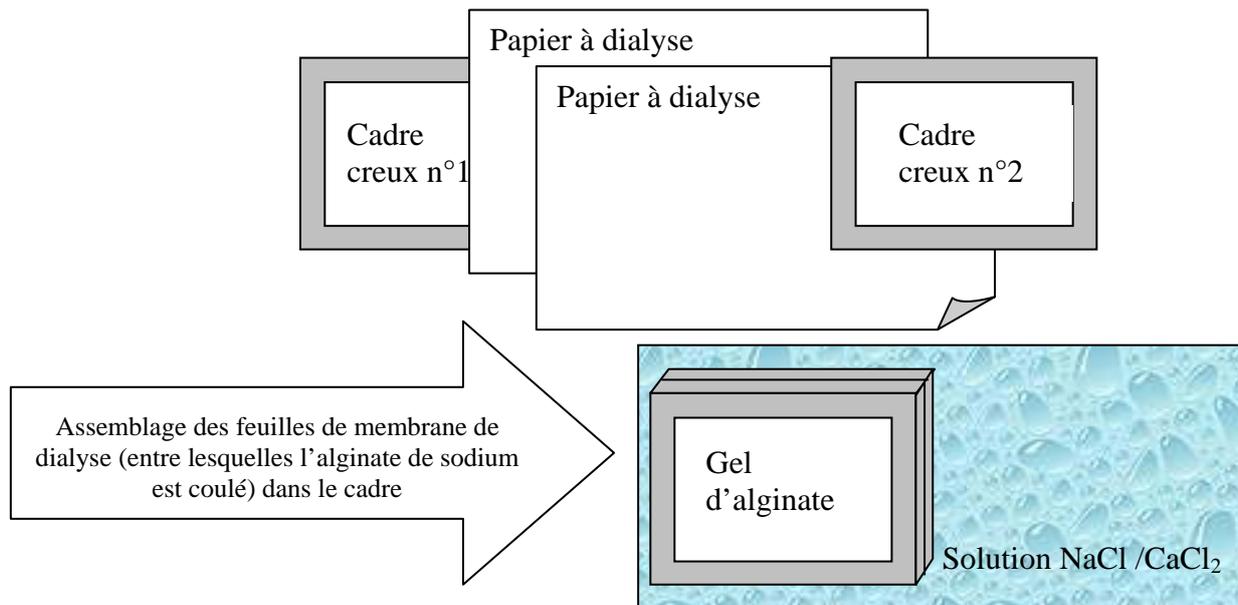


Figure 33 : Protocole de mise en forme des films d'alginate de calcium.

I.2.c Gels sous forme de cylindres

Comme précédemment, le gel est coulé sans générer de bulles mais, dans ce cas, des boudins de dialyse noués sont utilisés et mis en contact avec la solution calcique (Figure 34).



Figure 34 : Protocole de mise en forme des cylindres d'alginate de calcium.

I.3 Durée de gélification

La durée optimale de la période de gélification a été déterminée via des mesures de taux de gonflement conduites après des périodes variables de gélification dans la solution calcique. Les résultats (Figure 35) montrent qu'une période d'au moins 48 heures permet de s'affranchir de problèmes de variation du taux de gonflement susceptibles de fausser les essais de diffusion, dans le cas des gels sous forme de billes. Pour des gels plus massifs tels que les films et les cylindres, cette durée devra bien évidemment être accrue.

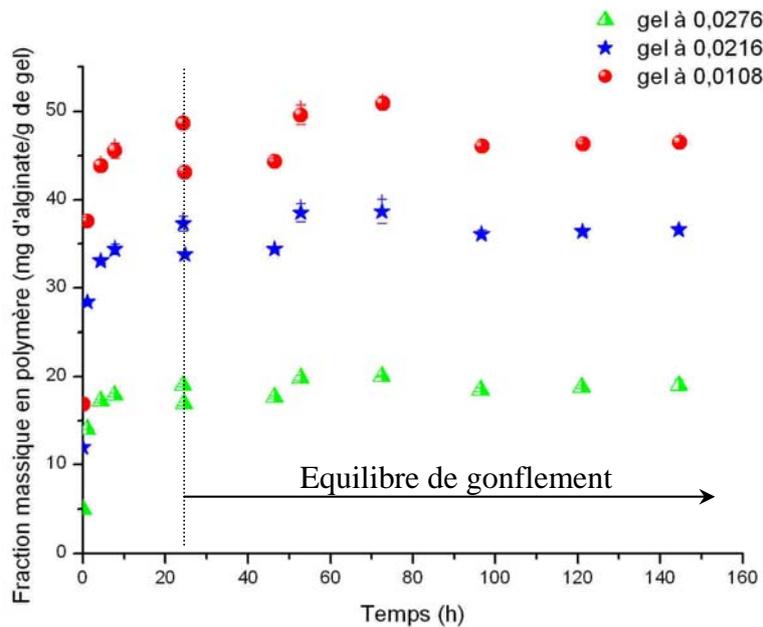


Figure 35 : Evolution de la fraction massique en polymère dans les billes en fonction du temps pour trois gels d'alginate de calcium de fraction volumique comprise entre 0,0108 et 0,0276.

II. Gels chimiques et gels mixtes

II.1 Objectifs

La chimie de l'acide alginique permet d'envisager la formation de gels chimiques par réaction sur les fonctions carboxyliques du polymère. Cette modification chimique a pour but de modifier les propriétés structurales de l'alginate et de tester leur effet éventuel sur le partage. Les variations structurales attendues sont une rigidité variable des chaînes d'alginate dans le gel mais le risque de telles modifications est de générer des variations d'affinité entre soluté et matrice gel. Ces différents paramètres seront approchés par des essais en rhéologie et la mesure de coefficients de partage dans les gels chimiques.

Par ailleurs, la mesure du paramètre de maille des réseaux repose sur un certain nombre d'hypothèses qui font que les gels chimiques sont mieux adaptés à l'utilisation de modèles développés dans la littérature. C'est également à ce titre qu'il était attrayant d'envisager la synthèse de gels chimiques d'alginate. Cependant, les difficultés de quantification du taux de réticulation chimique, requis dans les modèles, nous ont conduit à abandonner cet objectif et à nous contenter de mesures de partition.

Un autre objectif était, par la formation d'un réseau chimique, de s'offrir la possibilité de travailler avec des solvants différents permettant de moduler au maximum le taux de gonflement du réseau et donc la taille des mailles de la matrice gel. Ceci a pu être initié dans les essais de partition grâce à la synthèse de gels chimiques. Comme nous l'avons précisé, ces gels ont été peu caractérisés (pas de dosage du taux de réticulation) et par conséquent, les résultats obtenus sont qualitatifs et constituent la base de perspectives à ce travail.

Lee et *al.* ont réticulé un alginate polyG (poly L-guluronique) avec de l'acide adipique dihydrazine. Ces auteurs ont montré que les propriétés rhéologiques ainsi que le taux de gonflement de ces gels chimiques pouvaient être contrôlés par le biais de la longueur des

chaînes polymères et du degré de réticulation du réseau. Ces observations pouvant être reliées à une modification de la structure du gel correspondent donc parfaitement à nos objectifs de travail, ce qui nous a conduit à envisager cette voie de synthèse.

II.2 Protocole de synthèse : réticulation chimique de l'alginate par l'acide adipique dihydrazine

II.2.a Préparation des solutions

Le tampon MES/NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 6 (Morpholine Ethane Sulfonic Acid, Sigma) est préparé en pesant les poudres et en les dissolvant sous agitation dans un volume d'eau distillée. La solution est ajustée à pH 6 en ajoutant de la soude à 1 mol.L^{-1} . Le volume de la solution finale est ajusté de façon à obtenir un tampon contenant $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl.

L'alginate est mis en solution dans le tampon MES de façon à obtenir une solution à 25 g.L^{-1} . L'agitation est maintenue pendant 24 heures puis la solution est stockée une nuit au réfrigérateur au repos afin d'éliminer les bulles d'air.

L'agent de couplage (EDC : 1-[3-(diméthylethylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide hydrochloride (Aldrich)) permettant d'initier la réaction est mis en solution dans le tampon MES.

De la même façon, les solutions de NHS (N-hydroxysuccinimide (Sigma)) et de AAD (Adipic Acid Dihydrate (Sigma)) sont préparées par dissolution des poudres dans le tampon MES.

II.2.b Protocole de synthèse

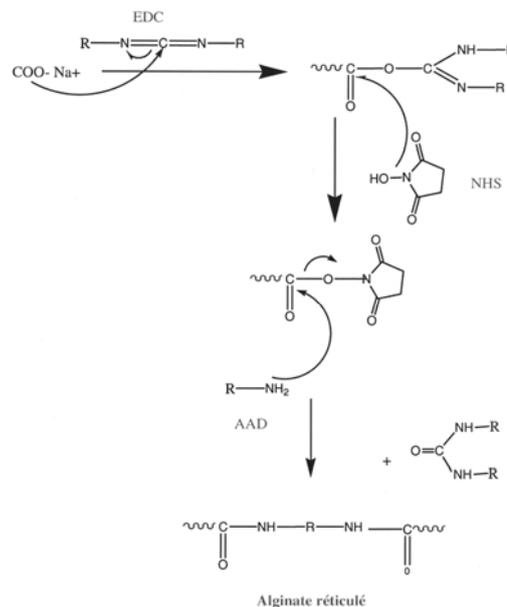


Figure 36 : Schéma réactionnel du greffage chimique d'un gel d'alginate.

A une masse connue de la solution d'alginate à 25 g.L^{-1} sont ajoutés des volumes connus de la solution de NHS puis d'EDC selon la stoechiométrie une mole de NHS pour 2 moles de COO^- et une mole d'EDC par mole de COO^- . Ce mélange est agité pendant 30 minutes.

Un volume exactement connu de la solution d'AAD est ajouté selon le taux de réticulation visé (théorique car le dosage du taux de réticulation n'a pas pu être mis au point) et le mélange est complété avec du tampon MES de sorte à obtenir une concentration finale en

alginate de 17 g.L^{-1} . La durée de réaction est de 48 heures pour les films et de 72 heures pour les cylindres.

Les gels obtenus sont rincés au tampon MES (4 fois en 48 heures).

Pour le cas particulier où une géométrie sous forme de billes est visée, les billes seront préalablement formées par réticulation physique dans une solution calcique. La réticulation chimique sera donc conduite sur des billes déjà formées et conduira à la formation de gels mixtes. Un lavage final par une solution de citrate permettra, ensuite, d'éliminer au besoin les jonctions physiques permettant ainsi l'obtention de billes de gels chimiques.

Dans les autres mises en formes, à l'issue de la réticulation chimique, le gel chimique est mis en contact, pendant au moins 48 heures avec une solution calcique ($\text{NaCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{CaCl}_2 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$).

B/ Caractérisation du système

La caractérisation du système expérimental est une étape clé de ce travail étant donné qu'un de nos objectifs est l'établissement de relations entre propriétés diffusionnelles et de partage et paramètres structuraux du système alginate de calcium/pullulane.

Dans cette optique, nous avons accordé une importance toute particulière à la caractérisation de notre système dans le but, notamment, d'estimer la taille de la maille du réseau de gel (ξ). Les différentes méthodes d'accès ont été recensées, mais aucune n'a pu fournir de résultats entièrement satisfaisants, nous contraignant, comme l'ensemble des auteurs de la littérature travaillant sur ces systèmes, à utiliser des paramètres accessibles tels que la fraction volumique en polymère et à formuler des hypothèses quant à la structure supposée du gel.

Dans cette partie, les efforts de caractérisation du soluté et du gel mis en œuvre seront présentés. Les limites des méthodes à disposition seront soulignées, notamment en ce qui concerne le gel.

I. L'alginate de sodium

Cette première série de caractérisation concerne le produit de départ utilisé dans la mise en forme des gels et non directement le gel. Elle servira notamment à s'assurer que l'alginate utilisé peut être comparé aux données de la littérature dans le domaine et à nous permettre, en cas de similarité, d'exploiter les mesures de certains auteurs dans cette étude.

I.1 Taux d'humidité

Une masse connue d'alginate est placée dans une étuve à 80°C pendant 24 heures. Après retour à la température ambiante, l'alginate sec est pesé et le pourcentage d'humidité peut être calculé.

Le pourcentage d'humidité de l'alginate utilisé a été mesuré par extrait sec et estimé à environ 9%. La connaissance du taux d'humidité permet de corriger les masses d'alginate pesées lors de la préparation des solutions servant à la préparation des gels. Les concentrations seront, par la suite, exprimées en masse d'alginate sec par masse de solution.

I.2 Mesure, par diffusion de la lumière multiangle, de la masse molaire de l'alginate

La détermination de la masse molaire de l'alginate peut être réalisée par différentes techniques. Par chromatographie d'exclusion stérique (SEC), des informations sur la distribution des masses molaires peuvent être obtenues mais cette technique requiert l'utilisation d'étalons tels que le pullulane ou le dextrane [Ci et *al.*, 1999]. L'électrophorèse capillaire a également été utilisée [Stefansson, 1999]. Cependant, la méthode la plus fréquemment utilisée à l'heure actuelle est l'association de la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) à la diffusion de la lumière multiangle (MALLS), notée SEC-MALLS. Elle donne accès aux masses molaires moyennes en nombre M_n et en masse M_w ainsi qu'aux profils de distribution pour les polymères polymoléculaires, sans qu'il soit nécessaire d'effectuer un étalonnage préliminaire. Les fondements théoriques à la base de cette méthode sont présentés Annexe II.1

I.2.a Appareillage

Le diffusiomètre laser multiangle (MALLS pour Multi Angle Laser Light Scattering) est associé à une série de colonnes chromatographiques d'exclusion stérique.

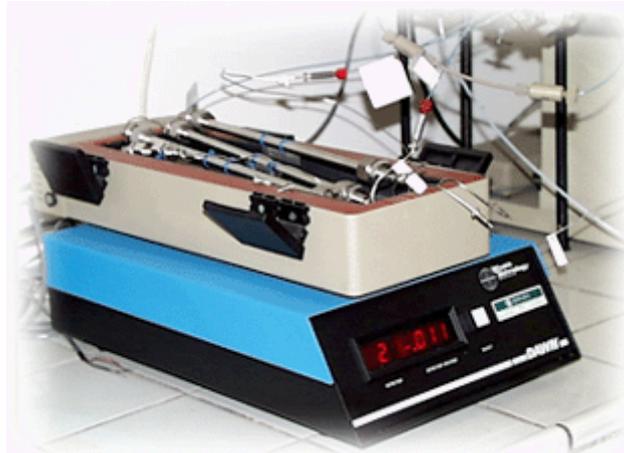


Figure 37 : Diffusiomètre Laser Multi-Angle (MALLS).

Le système de chromatographie d'exclusion stérique est constitué d'une pompe Waters 590, d'un dégazeur (Degazys DG 1310, Uniflow), d'une boucle d'injection (200 μL) et d'une série de colonnes PL aquagel (Polymer Laboratories) avec une pré-colonne de même type.

A la sortie des colonnes, le photodiffusiomètre (Wyatt Technology Corporation) termine le montage (Figure 37). La longueur d'onde du laser est fixée à 690 nm (par le constructeur) et trois photodiodes mesurent l'intensité de la lumière diffusée à 45, 90 et 140°. Un détecteur d'indice de réfraction de marque Waters permet une double détection.

I.2.b Protocole expérimental

Le poids sec des échantillons ayant été déterminé, des solutions de concentration précise peuvent être préparées. L'éluant NaNO_3 0,1 mol.L^{-1} est préparé avec de l'eau milliQ (système de filtration Millipore) puis filtré sur membrane Millipore de 0,1 μm . Il a été vérifié dans des études préalables que les polymères étaient élués de façon quantitative. Le débit de la pompe est fixé à 0,7 mL.min^{-1} et 24 heures sont nécessaires pour que le système soit à l'équilibre. Les solutions de polymère sont préparées la veille de façon à obtenir une complète dissolution, à une concentration de 1 g.L^{-1} . Elles sont filtrées avant injection sur des filtres Millex GS (Millipore) de 0,22 μm . Chaque solution est injectée deux fois.

L'alginate de sodium utilisé dans cette étude a été fourni par la société SIGMA (Alginic Acid, Sodium Salt, Medium Viscosity). Cet alginate est issu de l'algue *Macrocystis pyrifera* et appartient aux lots 111K0005 et 50K0180. Une analyse par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de lumière aux petits angles fournit des masses molaires moyennes en masse de 300 000 g.mol^{-1} et 240 000 g.mol^{-1} , respectivement. Les alginates, sujets à des dégradations bactériennes [Draget, 2000], ont été analysés plusieurs fois au cours de ce travail afin de s'assurer que la masse moléculaire n'avait pas diminué au cours du temps. Aucune dégradation n'a été détectée.

I.3 Caractérisation structurale par dichroïsme circulaire

Les fondements théoriques de la méthode sont rappelés Annexe II.2.

I.3.a Matériel et conditions expérimentales

Les mesures de dichroïsme circulaire ont été réalisées sur dichrographe CD6TM (Jobin Yvon Optics & Spectroscopy) au Laboratoire de maturation des ARN et Enzymologie Moléculaire de l'Université Henri Poincaré de Nancy.

Les solutions d'alginate ont été préparées dans de l'eau ultra-pure (milliQ, système de filtration Millipore).

Les mesures ont été réalisées à température ambiante, en faisant varier la longueur d'onde de 190 à 300 nm par pas de 2 nm, pour un temps d'intégration de 0,2 s. Pour chaque solution, nous avons effectué 5 spectres. Le spectre utilisé pour les calculs est la résultante de la moyenne de ces 5 enregistrements. De même, nous avons mesuré le spectre de l'eau dont le spectre moyen sera retranché à celui de la solution d'alginate. Cette opération permet d'obtenir le spectre de l'alginate seul (Figure 39).

I.3.b Application au lot d'alginate utilisé dans cette étude

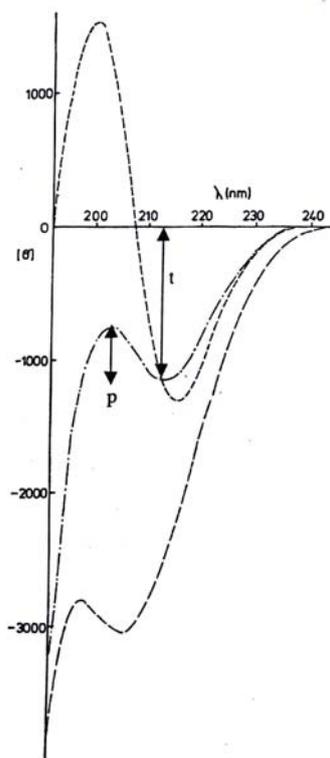


Figure 38 : Spectres de dichroïsme circulaire de blocs poly-guluroniques (— —) de blocs poly-mannuroniques (- - -) et d'un alginate de composition M/G=29/71 (- . . -) dans l'eau [Morris, 1980]

D'après les travaux de Morris et *al.*, il est possible d'interpréter les spectres de dichroïsme circulaire des alginates en terme de rapport M/G. Pour ce faire, il convient de mesurer (voir Figure 38) la hauteur du pic positif (notée p) situé à 200 nm et celle du pic négatif situé vers 212 nm (noté t). La Figure 39 donne le spectre de dichroïsme circulaire de l'alginate utilisé dans le cadre de cette étude. Connaissant le rapport p/t, il est possible de remonter au rapport

M/G grâce aux courbes de corrélation proposées par ces auteurs. La courbe de corrélation utilisée est représentée Figure 40.

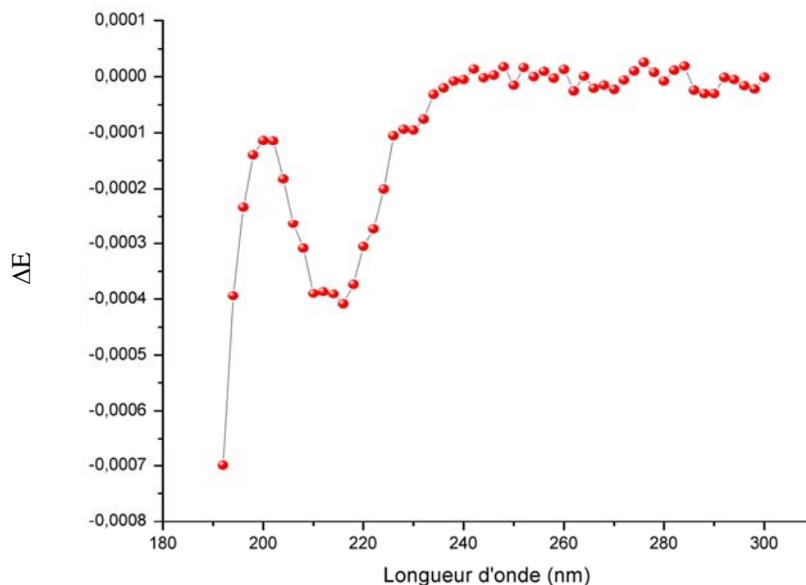


Figure 39 : Spectre de dichroïsme circulaire de l'alginate étudié
($t = -0,00040892$ $p = -0,00029537$ $p/t = 0,72$).

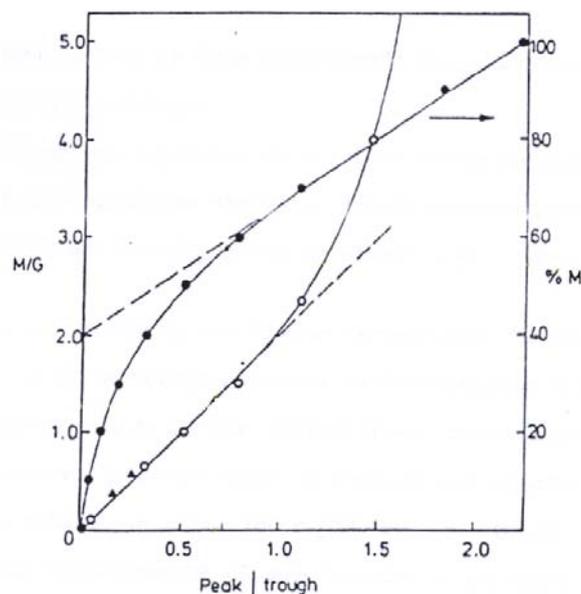


Figure 40 : Courbes de corrélation [Morris, 1980].

Dans notre cas $p/t=0,72$ et les courbes de corrélation permettent d'estimer M/G à 1,45. L'alginate de sodium utilisé est donc composé de 59% de résidus β -D mannuroniques et de 41 % de motifs α -L guluroniques. Il s'agit de pourcentages conformes à ceux rencontrés pour des alginate d'origine *Macrocystis pyrifera*.

I.4 Caractérisation par RMN ^1H après dépolymérisation enzymatique partielle

Cette étude a été réalisée au Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales (CERMAV) de l'Université Joseph Fourier à Grenoble, grâce à la collaboration de M. Alain Heyraud, directeur de recherche dans l'équipe Structure et Fonction des Polysaccharides.

I.4.a Hydrolyse enzymatique

Par dégradation enzymatique des alginates, il est possible de caractériser plus précisément leur structure et, notamment, de remonter à des informations concernant la longueur des blocs mannuroniques (MM), guluroniques (GG) et alternés (MG).

La lyase poly β -D-mannuronate, spécifique des liaisons β -D-mannuroniques des blocs (MM), fournit des oligosaccharides (DP 2 à 4). Les blocs guluroniques ne sont pas dégradés.

I.4.b Résonance magnétique nucléaire (R.M.N.)

La résonance magnétique du proton permet de déterminer la séquence et la composition en acides uroniques des alginates. Le rapport mannuronate/guluronate (M/G) est obtenu à partir des intensités des signaux des protons anomères [Grasdalen *et al.*, 1979]. En travaillant à haut champ (300MHz ou 400mHz), il est même possible d'obtenir des informations sur les triplets centrés guluronates et sur les doublets GG [Bouffar- Roupe, 1989].

Les travaux de thèse de Bouffar-Roupe ont permis, grâce à la RMN du proton et du carbone sur les oligomères modèles, de mettre en évidence les signaux caractéristiques de ces enchaînements.

I.4.c Application au lot d'alginate utilisé dans cette étude

L'étude conduite sur l'alginate utilisé dans nos travaux conduit à un rapport M/G de l'ordre de 1,80 ou 1,85 soit 65 % de résidus β -D mannuroniques et 35 % de motifs α -L guluroniques (résultats proches de ceux obtenus par dichroïsme) avec environ 50% des unités guluronates liées à une unité mannuronate.

Ceci est en accord avec une structure constituée de blocs M, entre lesquels s'intercalent des zones où se succèdent des alternances M-G et des domaines G-G relativement courts (3 à 5 unités). Par conséquent, l'alginate utilisé possède environ 20 % de motifs M-G, 20 % de motifs G-G et 60% de M-M. Si on considère des domaines G-G de l'ordre de 3 à 5 unités, ceci correspond à 5% de pontages. On se trouve donc dans une configuration avec de longs segments élastiques et un réseau ouvert comme ceux représentés au Chapitre I figure 10. Le maillage du réseau de gel est donc directement lié à l'enchevêtrement des chaînes de polymère, à l'image de l'enchevêtrement dans les solutions de concentration supérieure à C^* .

En outre, ces méthodes (RMN, dichroïsme) permettent de vérifier que le lot d'alginate de calcium utilisé est conforme à ceux rencontrés dans la littérature. Ainsi, certains paramètres relatifs à l'alginate et proposés par des auteurs pourront être exploités également dans notre cas.

II. Les gels d'alginate

Un des objectifs de notre travail était de proposer, dans cette partie, des éléments de caractérisation fins de la matrice gel dans le but de les relier, dans un second temps, aux paramètres de diffusion mesurés en vue de l'établissement de relations propriétés structures. En d'autres termes, il s'agissait de déterminer ξ , le paramètre de maille du réseau ou r_P dans le cas d'une approche de type milieu poreux.

II.1 Préambule : détermination de ξ ou r_P : mythe ou réalité ?

Cet objectif est lié à un constat d'échec de la littérature à l'heure actuelle à pouvoir décrire avec précision les gels tels que l'alginate de calcium. Un bilan des approches théoriques de la littérature peut être proposé, traduisant la multitude des approches et la dispersion des valeurs obtenues pour un même type de gel.

Quelques-unes de ces valeurs sont représentées Figure 41 et permettent de démontrer que des variations importantes sont rencontrées pour un même type de gel. Cette variabilité est d'autant plus grande lorsque l'on compare différents types de gels. En d'autres termes, il apparaît difficile, si ce n'est impossible, de corrélérer *a priori* fraction volumique et grandeur caractéristique du réseau, avec les modèles de la littérature.

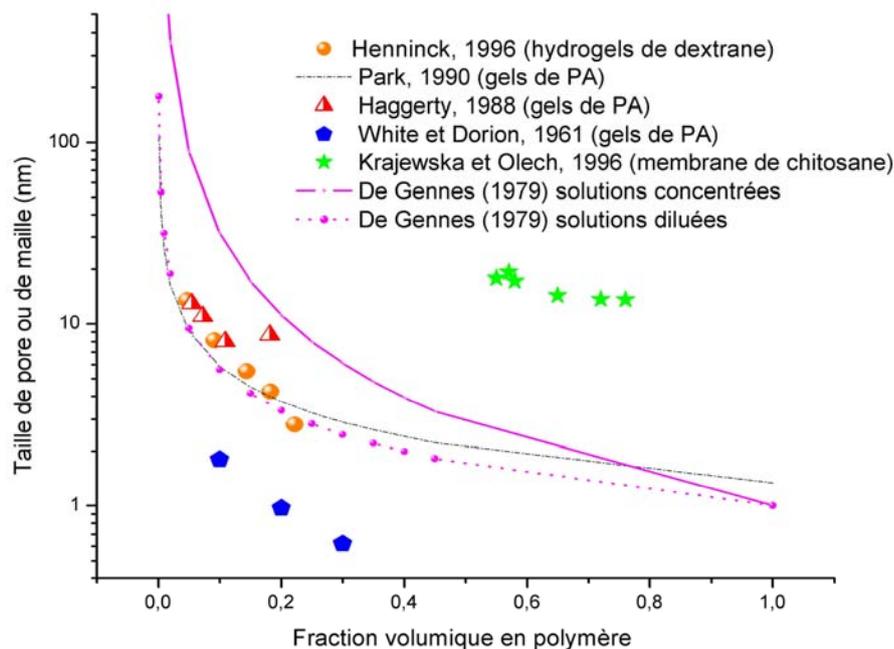


Figure 41 : Relation entre taille des mailles du réseau ou des pores et fraction volumique en polymère dans le gel : données de la littérature.

- **Haggerty et al.** (1988) ont estimé le paramètre de maille de leur gel à partir de mesures du module élastique grâce à la relation :

$$\xi = \left(\frac{G' N_A}{RT} V_0 / V_g \right)^{-1/3} \quad (\text{II.1})$$

avec N_A , le nombre d'Avogadro,

G' , le module élastique mesuré,

R , la constante des gaz parfaits,

V_o/V_g est un facteur correctif faisant intervenir le rapport des volumes de gel gonflé ou non.

• **White et Dorion** [White, 1961] ont estimé ce rayon de pore via des mesures de perméabilité. Dans un premier temps, le coefficient de traînée de Faxen (F_x) est déterminé à partir des coefficients de diffusion du soluté dans le gel (D) et dans l'eau pure (D_0), de la fraction volumique en eau ($1-\Phi_p$) et d'un facteur de tortuosité (h) :

$$D = \frac{D_0(1-\Phi_p)F_x}{h} \quad (\text{II.2})$$

F_x peut être corrélé au rayon de pore du gel (r_p) par l'intermédiaire du rayon du soluté (r_s) :

$$F_x = 1 - 2,104 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right) + 2,09 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right)^3 - 0,95 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right)^5 \quad (\text{II.3})$$

Ces auteurs ont supposé un facteur de tortuosité de 1. Par minimisation des écarts entre D donné par la relation et la valeur expérimentale, un rayon de pore (Figure 42) issu d'ajustement a été estimé par ces auteurs.

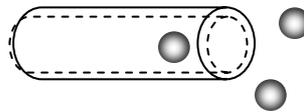


Figure 42 : Représentation schématique du gel « poreux ».

• La corrélation de **Park et al.** (1990) [Park, 1990] est obtenue grâce à la mesure de coefficients de diffusion collective (D_c) par spectroscopie à corrélation de photons (PCS). Ces auteurs indiquent qu'il a, en effet, été montré que ce coefficient de diffusion était en correspondance avec la formule de Stokes-Einstein :

$$D_c = \frac{k_B T}{6\pi\mu\xi} \quad (\text{II.4})$$

Le paramètre ξ (Figure 43) est ainsi obtenu expérimentalement. Cette estimation de ξ (donné en Å) est corrélée à la concentration en polymère (g.mL^{-1}) dans le gel et fournit la relation :

$$\xi = 12,6 C_{\text{polymère}}^{-0,64} \quad (\text{II.5})$$

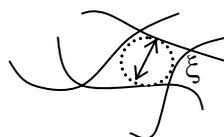


Figure 43 : Représentation schématique du gel « réseau fibreux » faisant apparaître le paramètre de maille ξ .

• **Henninck et al.** ont estimé le paramètre de maille à partir de la théorie de Flory-Rehner en utilisant des mesures de gonflement et les équations suivantes :

$$\xi = (\Phi_p)^{-1/3} \sqrt{\bar{r}_0^2} \quad (\text{II.6})$$

où $\sqrt{\bar{r}_0^2}$ est la distance entre deux points de jonctions du gel et Φ_p la fraction volumique en polymère à l'équilibre de gonflement. $\sqrt{\bar{r}_0^2}$ dépend de la masse moléculaire entre deux points de réticulation M_c :

$$\xi = 0,071 \cdot (\Phi_p)^{-1/3} \sqrt{M_c} \quad (\text{II.7})$$

Finalement, M_c peut être calculée en utilisant la relation de Peppas et Merrill (1976) :

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{(\bar{v}/V_1) [\ln(1 - \Phi_p) + \nu_{2,s} + \chi \Phi_p^2]}{\nu_{2,r} \left[\left(\frac{\Phi_p}{\nu_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{1}{2} \left(\frac{\Phi_p}{\nu_{2,r}} \right) \right]} \quad (\text{II.8})$$

M_n est la masse moléculaire moyenne en nombre du polymère avant réticulation,

\bar{v} est le volume spécifique du polymère,

V_1 est le volume molaire du solvant,

χ est le paramètre d'interaction de Flory polymère/solvant,

$\nu_{2,r}$ et Φ_p sont les fractions volumiques en polymère avant (immédiatement après réticulation) et après gonflement.

Henninck et al. ont commenté les valeurs de taille de maille obtenues par cette approche et ont conclu que celles-ci étaient très certainement sous-estimées. Cette approche repose en effet sur un certain nombre d'hypothèses qui peuvent l'éloigner de la réalité physique de nombre de gels. Par exemple, elle suppose une fonctionnalité de 4 pour l'ensemble des points de réticulation (Figure 44).

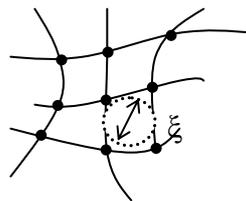


Figure 44 : Représentation du réseau avec une fonctionnalité de 4.

• **Krajewska et Olech** (1996) ont utilisé l'équation de Renkin, supposant un gel poreux (Figure 42) et utilisant le ratio du coefficient de perméabilité (P en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) au coefficient de diffusion dans la solution (D en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) et n le nombre de pore par Å^2 de membrane:

$$\frac{P}{D} = n \pi r_p^2 f(q) \quad (\text{II.9})$$

avec :

$$f(q) = \frac{(1-q)^2(1-2,105q+2,087q^3-1,707q^5+0,726q^6)}{1-0,759q^5} \quad (\text{II.10})$$

où

$$q = \frac{r_s}{r_p} \quad (\text{II.11})$$

Dans cette approche, le gel est supposé constitué de pores de taille identique dans lesquels diffuse le soluté.

- **Le modèle de « blob » développé par de Gennes** permet de quantifier le taux de gonflement d'une chaîne de polymère. D'après de Gennes, pour des solutions de polymère semi-diluées, caractérisées par des fractions volumiques $\Phi_p \leq 0,01$, on peut relier ξ à Φ_p selon :

$$\xi \approx \Phi_p^{-3/4} \quad (\text{II.12})$$

Des travaux tendent à démontrer que cette relation s'applique aux gels fortement gonflés [Canal et Peppas, 1989].

Aux fortes concentrations en polymère, cette loi d'échelle devient :

$$\xi \approx \Phi_p^{-1/2} \quad (\text{II.13})$$

Par conséquent, notre objectif d'associer à une fraction volumique en polymère dans le gel, une taille de maille, semble difficile. La figure 10 montre bien que suivant la méthode employée des écarts de plusieurs décades sont répertoriés. En outre, ces différentes approches utilisent des visions très différentes du gel et des hypothèses simplificatrices fortes quant à sa structure conduisent à penser que la confrontation des modèles à la réalité est difficile pour certains gels. Conscients de la difficulté de la caractérisation, nous avons toutefois abordé cette problématique expérimentale en répertoriant et en testant, lorsque cela était possible, les diverses méthodes à notre disposition. Les résultats de cette caractérisation sont présentés dans cette partie même s'ils ont conduit seulement à une vision qualitative de la matrice.

II.2 Mesure de la taille des billes, reproductibilité

La taille des billes utilisées pour les études de cinétique de diffusion est un paramètre d'importance pour une détermination précise des paramètres de transport, notamment. La mesure de taille a été, dans un premier temps, conduite à l'aide d'un microscope optique équipé d'une règle graduée sur un échantillon représentatif de billes. La précision de la méthode de mise en œuvre est estimée par l'écart type (Figure 45).

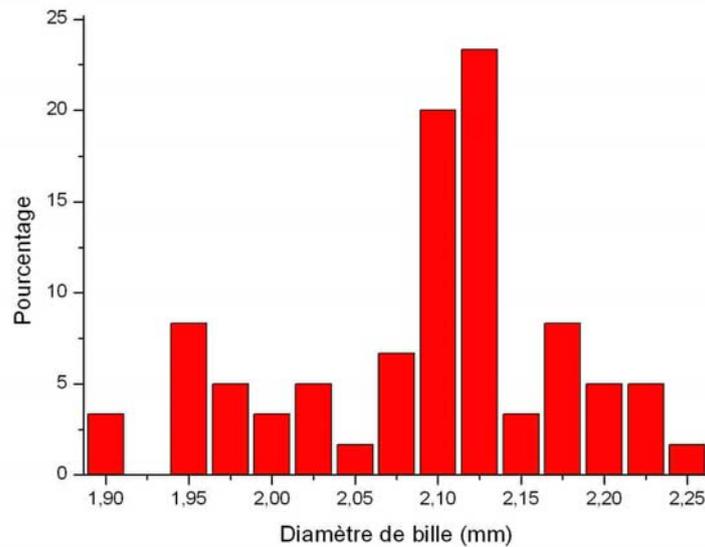


Figure 45 : Répartition de la taille des billes formées par goutte à goutte dans une solution calcique.

Afin de compléter ces mesures, une étude d'analyse d'image de clichés représentant un échantillon de 20 g de billes a été entreprise pour trois concentrations en polymère dans le gel.

II.3 Fraction volumique en polymère dans le gel

Lors de chaque mise en forme de gels d'alginate, le taux de gonflement θ (sans unité) est mesuré de façon à avoir accès à la fraction massique en polymère dans les gels. Il est défini de la façon suivante :

$$\theta = \frac{m_{\text{fin de gélation}}}{m_{\text{initiale}}} \quad (\text{II.14})$$

Où :

$m_{\text{fin de gélation}}$: masse des 50 billes en fin de gélation.

m_{initiale} : masse de la solution d'alginate utilisée pour former 50 billes.

Chaque mesure est conduite trois fois et les résultats présentés correspondent à la valeur moyenne. Ce taux de gonflement permet de calculer la fraction massique φ_p (g d'alginate.(g de gel)⁻¹) de polymère dans le gel, connaissant la concentration de la solution d'alginate de sodium de départ (notée [AA] en g.g⁻¹):

$$\varphi_p = \frac{[AA]}{\theta} \quad (\text{II.15})$$

Dans la plupart des modèles, la proportion de polymère dans le gel est exprimée par la fraction volumique Φ_p (cm³.cm⁻³). Celle-ci est accessible par la connaissance du volume spécifique de l'alginate de calcium, $\nu = 0,6$ cm³/g [Amsden, 1998] et en supposant la masse volumique du gel d'alginate de calcium égale à celle de l'eau:

$$\Phi_p = \nu\varphi_p \quad (\text{II.16})$$

II.4 Evaluation de l'hétérogénéité des gels cylindriques

La mise en forme des gels s'accompagne le plus souvent de l'apparition de zones hétérogènes. Bien visibles, dans le cas de pièces massives comme les cylindres où un canal apparaît parfois au centre, cette hétérogénéité est plus difficile à estimer pour les objets de faible volume. Afin d'évaluer l'importance des hétérogénéités de concentration des gels, des mesures d'extrait sec de cylindres concentriques découpés à partir des cylindres mis en forme ont été conduites. Chaque histogramme correspond à un cylindre ou à la portion de gel entre deux cylindres sur lequel a été effectué l'extrait sec (Figure 46).

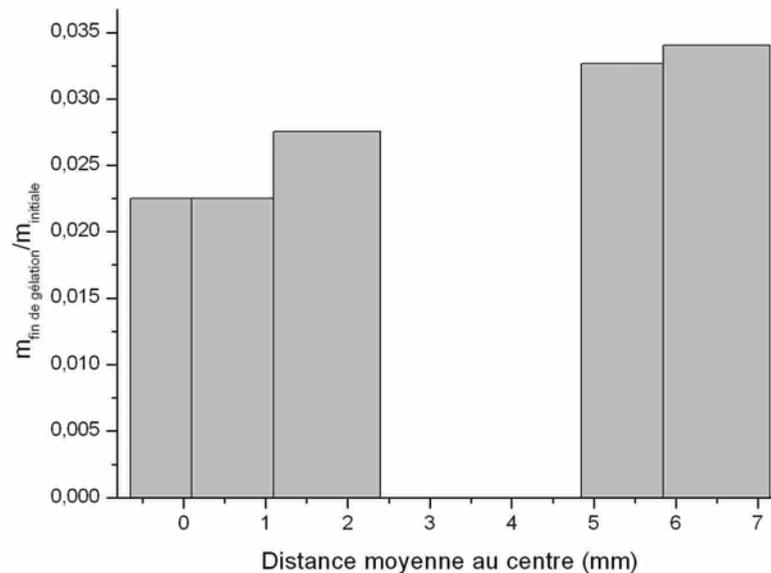


Figure 46 : Evolution de la concentration en polymère en fonction du rayon dans le cas d'un cylindre centimétrique.

Ces essais tendent à mettre en évidence l'existence d'un gradient de concentration en polymère du centre à la périphérie des cylindres. Ce type d'hétérogénéité affectera surtout les objets de taille conséquente et on peut supposer que les billes de taille millimétrique présenteront une concentration à peu près constante suivant la distance à leur centre. Par ailleurs, cette méthode via la mesure des extraits secs en différents points n'est pas réalisable pour de plus petits objets. Des essais de microscopie pourraient être envisagés afin de quantifier ces disparités de concentration dans le cas des billes. Une méthode optimale permettant d'évaluer le profil de concentration a été proposée par Thu et *al* [Thu, 1997]. Ces auteurs ont obtenu une cartographie (Figure 47) de la concentration en calcium dans le gel par SRIXE (synchrotron-radiation induced X-ray emission).

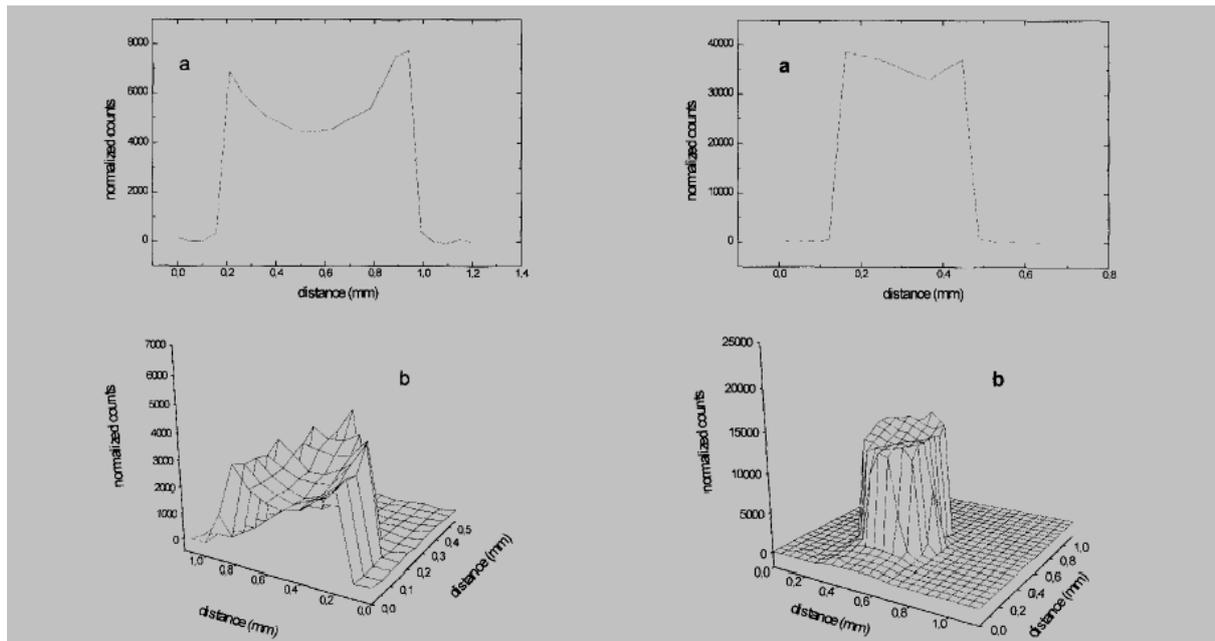


Figure 47 : Résultats des clichés SRIXE [Thu *et al.*, 1997] de billes d'alginate mises en forme dans une solution 100mM de Ca^{2+} (a) et dans une solution de Na^+ (75mM) et Ca^{2+} (20mM) (b).

Les résultats présentés par ces auteurs démontrent, par une cartographie des ions calcium dans les billes de gel, la présence d'hétérogénéités de concentration lorsque les conditions de préparations ne sont pas optimisées. En effet, lorsque les ions calcium diffusent au sein de la goutte de solution d'alginate de sodium, le pontage rapide du Ca^{2+} formant le réseau provoque l'établissement d'un front de gélification qui évolue depuis la périphérie vers le cœur de la bille tandis que les chaînes d'alginate progressent en sens inverse, générant une zone de déplétion au cœur de la bille. Globalement, le gradient de concentration en polymère dans la bille résulte donc de la différence entre les vitesses de diffusion des chaînes et des ions Ca^{2+} . Cependant, une formulation adéquate permet de limiter les hétérogénéités de la matrice. L'utilisation d'alginate de haut poids moléculaire, avec des concentrations élevées en Ca^{2+} impliqués dans la gélification et l'ajout d'ions Na^+ non impliqués dans la gélification permettent de limiter la migration des chaînes d'alginate vers la périphérie des billes.

II.5 Rhéologie de gels d'alginate de calcium

Cette étude rhéologique sommaire a été entreprise dans le but de recueillir deux types d'informations liées à la taille des mailles du réseau et à la comparaison des temps caractéristiques de diffusion et de relaxation du réseau. Ce dernier point est particulièrement important étant donné que, dans la plupart des modèles, le réseau est considéré comme statique. La vérification expérimentale via la détermination des temps caractéristiques du réseau est donc particulièrement intéressante à ce titre. Cependant, les résultats obtenus se sont avérés qualitatifs : il est possible de faire un classement relatif des gels, les uns par rapport aux autres mais en déduire une valeur de taille de maille ou de temps caractéristique reste illusoire.

II.5.a Objectifs de l'étude rhéologique

Pour les longues chaînes, le module élastique G' est indépendant de la longueur des chaînes de polymères. Par conséquent, pour des chaînes flexibles, G' mesure essentiellement le nombre de points d'enchevêtrement du réseau transitoire. Le module est souvent exprimé en

fonction de l'intervalle moyen entre deux points d'enchevêtrement par unité de volume le long d'une chaîne N_e , de la température T et de la concentration C . Cette expression [De Gennes, 1979] traduit bien la relation existant entre module élastique et nombre de points d'enchevêtrement :

$$G' = \frac{CT}{N_e} \quad (\text{II.17})$$

Dans le cas d'une solution semi-diluée, De Gennes propose une relation entre G' et une taille de maille du réseau notée ξ :

$$G' \cong \frac{T}{N_e \xi^3} \quad (\text{II.18})$$

Par conséquent, pour un volume donné de gel, un taux de réticulation croissant peut être associé à une taille de maille plus faible et un module accru. Si on est capable, pour un gel bien connu, de mesurer N_e et G' , alors on doit pouvoir, en théorie, en déduire un paramètre caractéristique du maillage du réseau.

Des modèles permettent (voir relation II.8), par ailleurs, de calculer une longueur moyenne M_c entre des nœuds de réticulations chimiques à partir d'une étude du taux de gonflement (Flory et Rehner (1943) modifié par Peppas et Merrill (1976)).

Cette expression se réduit à l'expression de Flory et Rehner lorsque $\nu_{2,r}=1$, c'est-à-dire quand les réticulations sont introduites à l'état solide.

Par contre, il n'existe pas d'expression permettant de déduire N_e dans le cas de gels physiques. C'est une des raisons pour laquelle nous avons envisagé la synthèse de gels chimiques d'alginate. En effet, leur gélification permet souvent un dosage du taux de réticulation qui devrait permettre d'accéder à la taille des mailles du réseau avec la méthodologie décrite.

Le second objectif de cette étude est la détermination de temps caractéristiques de relaxation du réseau. En effet, comme nous l'avons évoqué dans le paragraphe dédié à la diffusion non-fickienne, la comparaison des temps de diffusion et de relaxation du réseau fournit des informations de choix dans la compréhension des mécanismes de transport mis en jeu. En outre, la plupart des modèles supposant le réseau comme statique, il était intéressant de vérifier la validité de cette hypothèse.

II.5.b Dispositif expérimental

Une difficulté largement rencontrée lors de l'étude des propriétés de gels forts par rhéologie est le glissement de ceux-ci sur le plan du rhéomètre. Afin de remédier à ce problème, plusieurs options sont fréquemment envisagées. Les plateaux du rhéomètre peuvent être recouverts de papier de verre afin d'accroître la rugosité de ceux-ci et de maintenir le gel. Cette solution s'avère souvent insuffisante et présente l'inconvénient de modifier l'état d'humidité du gel dont le solvant risque d'être absorbé par le papier.

Une autre possibilité consiste à strier les plateaux du rhéomètre. Ceci résout les problèmes d'absorption du solvant mais les aspérités des plateaux ne sont pas suffisantes dans le cas de nos gels.

Nous avons donc envisagé une nouvelle méthode, à notre connaissance jamais rapportée à ce jour. Les plateaux de rhéomètre ont été munis de fines aiguilles de 2 mm de longueur disposées régulièrement sur chacun des plateaux (Figure 48). En outre, le plateau inférieur présente une géométrie particulière en forme de récipient avec des rebords permettant de couler du solvant autour du gel et de limiter l'évaporation du solvant contenu dans le gel.

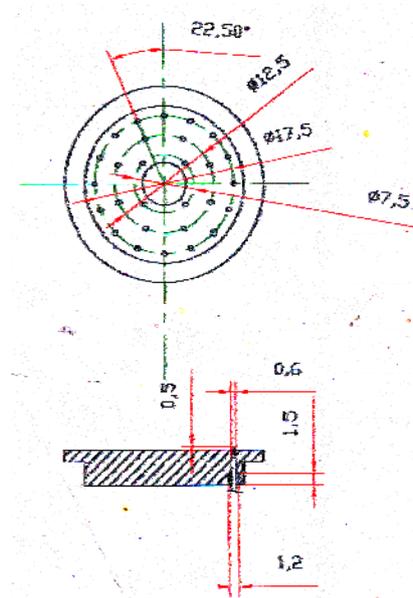


Figure 48 : Plan d'un plateau de rhéomètre avec position des aiguilles (Pascal Beaurain, Atelier LSGC).

II.5.c Conduite des essais

Les gels utilisés dans l'étude rhéologique sont des films ou des découpes de cylindres d'alginate de calcium.

De la sorte, deux types d'essais ont été conduits afin de satisfaire chacun de nos objectifs. Dans un premier temps, la mesure des modules élastiques a pu être réalisée. Des exemples de rhéogrammes sont présentés Figure 49.

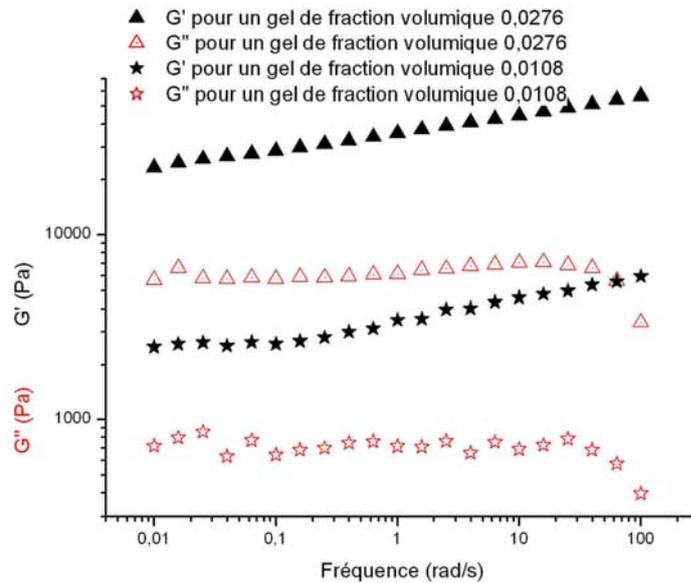


Figure 49 : Rhéogrammes de deux gels physiques d'alginate de calcium de fraction volumique en polymère différentes.

Notre premier objectif était la détermination de ξ . Cependant, comme nous l'avons précisé au début de ce chapitre, le dosage du taux de réticulation du gel chimique n'a pas été possible. Ne connaissant pas N_e , il est impossible d'estimer la taille des mailles du réseau via la relation de Peppas, bien que nous ayons résolu le problème de la mesure du module élastique des gels (cf. Figure 49). Nous vérifions, par contre, que le module élastique est accru avec le taux de réticulation supposé dans le cas des gels chimiques et avec la fraction en polymère dans le cas de gels physiques, ce qui confirme la potentialité de la démarche sur des gels modèles plus simples que les alginates.

Haggerty et al. [Haggerty, 1988] proposent une autre relation permettant d'estimer ξ à partir du module élastique et du gonflement du gel (équation II.1).

L'application numérique à notre système (gels physiques) donne des rayons de pores de 17 nm et 7 nm pour les gels de fraction volumique Φ_P de 0,0108 et 0,0276, respectivement.

Afin d'accéder aux temps de relaxation, des essais de relaxation ont été conduits sur différents gels. L'allure générale des courbes obtenues est présentée à la Figure 50.

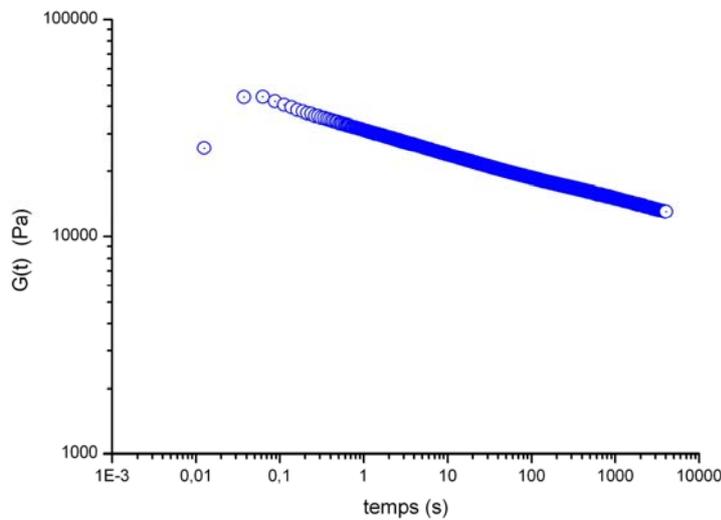


Figure 50 : Courbe de relaxation pour un gel physique d'alginate de calcium à 0,0276.

En ce qui concerne les temps caractéristiques de relaxation, la conclusion est tout aussi décevante. Les courbes de relaxation ne montrent pas d'épaulements synonymes de temps caractéristiques marqués (cf. Figure 50). La modélisation de la relaxation reste possible par des exponentielles étendues. Mais, rapprocher les temps caractéristiques de modélisation à des grandeurs physiques du système est impossible. Ces temps n'ont d'autre valeur que celle de grandeurs d'ajustement.

II.6 Microscopie électronique à balayage

Afin de visualiser la structure des billes d'alginate, des essais ont été conduits en microscopie électronique à balayage. Cette méthode requiert cependant un traitement préalable de cryolyophilisation de l'échantillon de gel afin de figer sa structure et d'obtenir un produit sec. Le gel est congelé dans l'azote liquide puis, lyophilisé pendant au moins 48 heures. Le protocole de congélation est l'étape critique de la méthode. Des études conduites sur des systèmes similaires [Shapiro et Cohen, 1997 ; Chung et *al.*, 2002] ont démontré que son protocole et notamment le gradient thermique appliqué conduisent à des structures très différentes. Deux types de régimes de congélation sont ainsi décrits : le premier, rapide, utilisant de l'azote liquide conduit à des pores de faible taille, tandis que le second, plus long, utilisant un congélateur à -20°C forme des pores plus larges. Ces différences sont expliquées par la différence de transfert thermique. La taille des pores étant contrôlée par la taille des cristaux de glace formés, il vient que, plus la congélation se fait rapidement, plus les cristaux sont petits et la porosité fine.

La Figure 51 présente les résultats obtenus par Chung et *al.*, sur des éponges composées de mélanges alginate/chitosane ayant subi des protocoles de congélation différents.

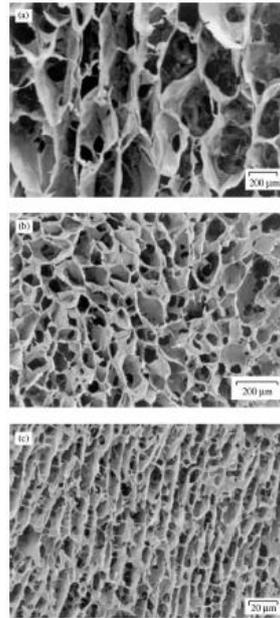


Figure 51 : Eponges de mélanges alginate/chitosane ayant subi des congélations à différentes températures : (a) -20°C , (b) -70°C , (c) azote liquide [Chung et *al.*, 1997].

Ces travaux incitent, par conséquent, à la plus grande prudence quant aux conclusions formulées suite à des observations par MEB. Ces observations ne peuvent, en aucun cas, être considérées comme représentatives de la structure du gel à l'état humide étant donné les perturbations générées par le protocole de préparation des échantillons. Il est cependant intéressant de préciser qu'une structure poreuse homogène est obtenue dans le cas d'une congélation à l'azote liquide contrairement aux autres protocoles présentés. Dans nos observations microscopiques (Figure 52), la structure observée traduit des tailles de pores variables et du même ordre de grandeur que les essais de Chung et *al.* pour un procédé de congélation équivalent. Cependant, connaissant les perturbations subies par le gel pendant sa préparation, il est impossible de relier l'ordre de grandeur des pores observé à un rayon de pore en phase humide.

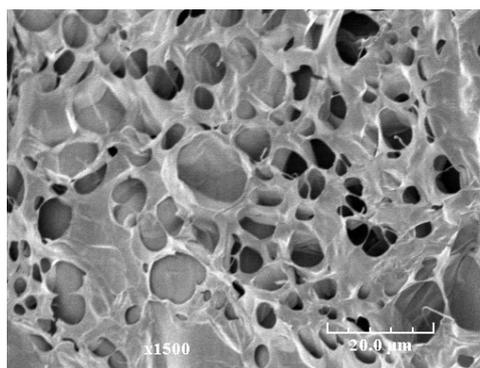


Figure 52 : Observation par microscopie électronique à balayage de nos billes d'alginate de calcium lyophilisées après congélation dans l'azote liquide.

Une autre technique microscopique aurait pu être envisagée. La microscopie électronique à transmission (TEM) a, en effet, souvent été mise à profit dans la description d'arrangements moléculaires tels que les micelles de tensio-actifs, ou même les gels. Cependant, le problème de la préparation des échantillons reste entier : on ne peut s'affranchir des perturbations infligées au gel lors de celle-ci. Le protocole habituel [Walkenström et *al.*, 2003] requiert une étape de déshydratation du gel dans une série de solutions d'éthanol de concentration

croissante. L'éthanol, qui modifie certainement le degré de gonflement du gel, est ensuite remplacé par une résine époxy qui polymérise à 60°C. Finalement, les billes ainsi préparées sont sectionnées au microtome en fines lamelles de 70 nm environ avant d'être colorées à l'acide périodique, thiosemicarbazide et silver-proteinate (PA-TSC-SP).

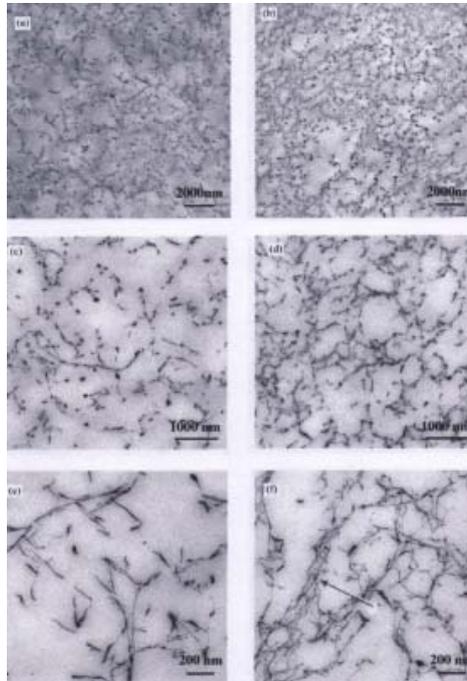


Figure 53 : Clichés TEM réalisés sur des gels de mélanges Alginate/pectine à 1,5% en masse, à 20°C et pour trois grossissements différents [Walkenström et al., 2003].

On voit qu'il apparaît, malgré le protocole de préparation complexe, difficile de déduire de ces clichés un ordre de grandeur de la taille des mailles du réseau, tout du moins pour l'usage que l'on souhaite en faire. Ces clichés fort utiles pour estimer, par exemple, les effets d'une formulation, sur la structure globale restent difficilement exploitables à des fins de caractérisation fine des gels. Et, l'inconvénient majeur de la méthode est lié à la préparation de l'échantillon dont on peut craindre qu'elle modifie quelque peu la structure du réseau.

III. Le pullulane

Le choix du soluté utilisé dans cette étude constitue un enjeu d'importance car celui-ci doit répondre à plusieurs attentes. Le pullulane a été choisi car il présente, sous sa forme commerciale, une monomolécularité suffisante. Il est disponible sous forme de kits de calibration (Polymer Laboratories) mettant à disposition une large gamme de masses moléculaires (de 780 à 788000 g.mol⁻¹). Enfin, l'utilisation de polymères issus de la même famille d'homologues permet de maintenir constantes les interactions entre soluté et matrice gel. Ces caractéristiques font du pullulane un soluté de choix pour l'étude de cinétiques de diffusion en fonction des paramètres structuraux du système. En outre, le pullulane est un polysaccharide neutre dont la structure ne sera pas influencée par les variations de force ionique du milieu et, sa nature polysaccharidique, tout comme l'alginate, permet d'éviter des interactions soluté/matrice.

III.1 Masse moléculaire

Les masses moléculaires utilisées dans les calculs sont celles données par le certificat du fournisseur (Tableau 3). Elles ont été vérifiées pour certains pullulanes de la série par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de la lumière aux petits angles (SEC-MALLS). Cette méthode est décrite en détail dans la partie I.2 de ce chapitre.

M_w (g.mol ⁻¹)	Indice de polymolécularité
788000	1.23
404000	1.13
212000	1.13
112000	1.12
47300	1.06
22800	1.07
11800	1.10
5900	1.09

Tableau 3 : Données du fournisseur utilisées dans les calculs : masse moléculaire et polymolécularité associée.

M_w (g/mol) Fournisseur	M_w (g/mol) SEC-MALLS	Indice de polymolécularité
212000	203 800	1,0
	205 200	1,0
404000	406 100	1,0
	410 200	1,0
788000	722 700	1,0
	724 300	1,0

Tableau 4 : Vérifications par SEC-MALLS de la masse moléculaire et de l'indice de polymolécularité.

Le pullulane P788 présente, d'après le fournisseur (Tableau 3) une moins bonne isomolécularité que les autres polysaccharides de la série. A ce titre, nous avons effectué une vérification de son indice de polydispersité (Tableau 4). Les résultats expérimentaux donnent un indice conforme à nos attentes (proche de l'unité). Cependant, les résultats obtenus pourront être discutés, en tenant compte de cette particularité, dans la partie traitant du partage

et de la diffusion des solutés. Nous retiendrons les données fournisseurs comme base de nos calculs.

III.2 Mesure du rayon du soluté

III.2.a Rayon hydrodynamique et rayon de giration

Afin de caractériser la taille de macromolécules en solution, plusieurs rayons peuvent être définis. Les modèles de partition et de diffusion n'utilisent pas, de façon systématique, un seul de ces rayons, les théories à la base de ces modèles reposant sur des descriptions variables du soluté. C'est pourquoi il est nécessaire de connaître, pour l'ensemble des solutés, les valeurs de ces deux rayons.

La définition du rayon de giration est basée sur une approche probabiliste de l'agencement d'une chaîne de polymère supposée constituée de N segments de longueur l . Ce type de théorie n'est valable pour la description du comportement des polymères que dans le cas des très longues chaînes. Il est défini comme la moyenne au carré des distances au centre de gravité de la pelote de polymère.

Le rayon hydrodynamique ou rayon de Stokes est défini en considérant la macromolécule comme une sphère indéformable de coefficient de friction équivalent.

III.2.b Méthode de mesure du rayon de giration

La diffusion de la lumière multiangle permet, à partir de la réalisation d'un diagramme de Zimm, d'accéder à la masse molaire M du soluté considéré comme isomoléculaire ainsi qu'au second coefficient du viriel A_2 . Ces données permettent finalement d'accéder au rayon de giration moyen (voir §I.2).

Dans notre cas, lorsque le rayon de giration sera requis dans la modélisation, nous utiliserons les données fournies par Kato et al. [Kato et al., 1984] qui corrélient le rayon de giration, r_g (exprimé en nm) à la masse molaire moyenne en masse M_w (en $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) avec la relation :

$$r_g = 1,47 \cdot 10^{-2} M_w^{0,58} \quad (\text{II.19})$$

Dans certains cas, des modèles requièrent deux paramètres associés au rayon de giration : la longueur de persistance l et n le nombre de segment de longueur l du polymère considéré. Ce paramètre parfois appelé longueur du segment de Kuhn, est accessible expérimentalement et il est possible de calculer le nombre de segments n grâce à la définition du rayon de giration :

$$r_g = \left[\frac{(n-1) \cdot (n+1)}{6n} \right]^{1/2} \cdot l \quad (\text{II.20})$$

La plupart des auteurs s'accordent, pour le pullulane, à une longueur de persistance l de 1,6 nm [Adolphi et Kulicke, 1997 ; Muroga et al., 1987]. C'est la valeur que nous utiliserons pour les calculs présentés dans ce travail.

Les valeurs calculées pour notre série de pullulanes sont présentées dans le Tableau 5.

M_w (g.mol ⁻¹)	r_g (nm)	n
180	0,30	1
738	0,68	2
5900	2,26	12
11800	3,38	27
22800	4,95	58
47300	7,56	134
112000	12,47	364
212000	18,05	764
405000	26,28	1619
788000	38,66	3504

Tableau 5 : Calcul du rayon de giration à partir de la relation de Kato et *al.* et du nombre de segments pour une longueur de persistance de 1,6 nm.

III.2.c Méthode expérimentale de mesure des rayons hydrodynamiques

Les rayons hydrodynamiques ont été, par ailleurs, mesurés au laboratoire par l'utilisation d'un granulomètre à rétrodiffusion hautes performances (High Performance Particule Sizer ou HPPS, Figure 54). Cette méthode convient particulièrement pour la mesure des tailles de protéines et de macromolécules en solution qui nécessite une grande sensibilité. Equipé d'un laser hélium-néon, le HPPS dispose d'une sensibilité supérieure aux lasers à diodes qui souffrent d'une plus grande dispersion du faisceau, d'une moindre cohérence et donc d'une répétabilité inférieure.



Figure 54 : Granulomètre à rétrodiffusion hautes performances (HPPS).

Les essais ont été conduits sur les solutions préalablement filtrées de façon à éliminer d'éventuelles impuretés. Les pullulanes ont été dissous dans une solution saline (0,1 mol.L⁻¹ NaCl, 0,1 mol.L⁻¹ CaCl₂) identique à celle dans laquelle sont réalisés nos essais. L'indice de réfraction de la solution saline a été estimé à 1,337 [Leyendekkers et Hunter, 1977] afin de réaliser les calculs présentés Tableau 6.

	M_w (g/mol)	$r_{H \text{ exp}}$ (nm)
P788	788000	32,1
P404	404000	18,2
P212	212000	17,0
P112	112000	10,0
P47	47300	6,3
P22	22800	5,1
P11	11800	3,7
P5	5900	2,6

Tableau 6 : Données expérimentales HPPS (chacun des points correspond à la moyenne de plusieurs essais).

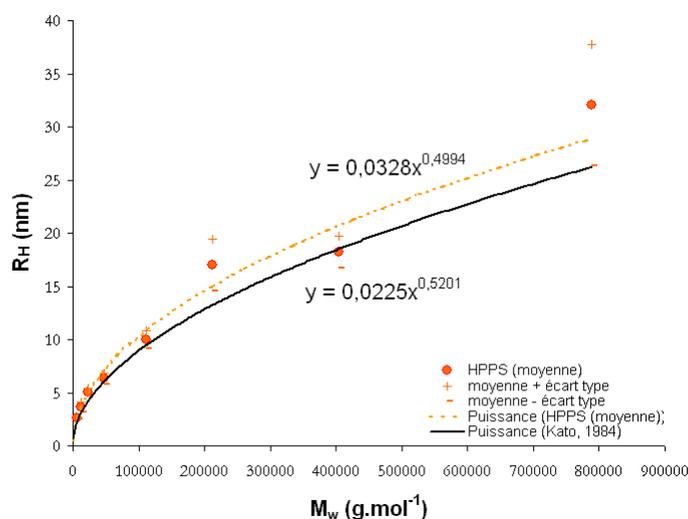


Figure 55 : Comparaison entre la corrélation obtenue via mesures HPPS et celle fournie par Kato *et al.* (1984).

Dans la suite de cette étude les rayons hydrodynamiques seront estimés à partir de la corrélation fournie par Kato *et al.* (1984) étant donné que nos mesures sont suffisamment bien modélisées par le modèle proposé par ces auteurs (Figure 55) :

$$R_H = 0,0225.M_w^{0,5201} \quad (\text{II.21})$$

	M_w (g/mol)	r_H (nm)
P788	788000	26,2
P404	404000	18,5
P212	212000	13,2
P112	112000	9,5
P47	47300	6,0
P22	22800	4,2
P11	11800	2,9
P5	5900	2,1

Tableau 7 : Rayons hydrodynamiques calculés par la relation de Kato *et al.* et utilisés pour les calculs.

On peut noter (Tableau 7) que, pour le pullulane P788, les rayons hydrodynamiques simulés et mesurés sont très différents. Nous garderons, en première approche, comme valeur du rayon, la valeur simulée, en vérifiant, à l'heure des discussions, que ce choix ne conduit pas à des conclusions erronées.

Conclusion

Dans notre approche de la problématique de la diffusion des macromolécules dans les hydrogels d'alginate de calcium, nous avons souhaité traiter la caractérisation avec la même méthodologie et la même rigueur que la détermination des paramètres de diffusion. La finalité de cette étude étant la compréhension des mécanismes de diffusion par des relations entre propriétés diffusionnelles et structure du système, nous avons voulu estimer aussi précisément chacun des deux aspects à mettre en relation.

Cependant, les difficultés pressenties par l'examen de données de la littérature imprécises quand il s'agit de déterminer les tailles de mailles ou les rayons de pores de matrices gels se sont confirmées dans le cas de la caractérisation expérimentale de l'alginate de calcium.

Notre étude expérimentale de la caractérisation des hydrogels d'alginate de calcium ne nous a pas permis de mesurer directement un paramètre de maille et les modèles de la littérature n'ont pas démontré suffisamment d'efficacité pour leur accorder un caractère prédictif strict. Par conséquent, le gel a été caractérisé, en première approche, par la fraction volumique en polymère. A ce titre, la fraction massique en polymère est estimée en supposant le volume spécifique de l'alginate sec égal à $0,6 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$. Cette valeur de la littérature peut être présumée valable dans le cas de l'alginate utilisé dans cette étude car les analyses de caractérisation de l'alginate (RMN, dichroïsme...) ont montré qu'il était comparable à ceux de la littérature.

D'autres données macroscopiques (taille des billes, homogénéité radiale, rhéologie...) ont été compilées de façon à s'assurer de la constance des propriétés des gels mis en œuvre et en vue de l'obtention de données de diffusion comparables d'un lot de gel mis en forme à l'autre.

Le soluté a été plus facilement caractérisé, par l'intermédiaire des rayons de giration (r_g) et hydrodynamique (r_H). r_H a été déterminé expérimentalement par HPSS et comparé aux relations de la littérature entre M_w et r_H avec une bonne adéquation. Seul le pullulane de masse moléculaire la plus élevée s'écarte de la relation proposée par Kato et al. La particularité de ce dernier pullulane se retrouve également dans l'indice de polymolécularité relativement élevé affecté à ce produit par le fournisseur. Le pullulane P788 fera donc l'objet d'une attention particulière lors de la discussion des résultats de façon à ne pas tirer de conclusion hâtive le concernant.

Le rayon du soluté peut donc être représenté par deux valeurs différentes (r_g ou r_H). Cette ambiguïté est palpable dans la littérature où les deux rayons se retrouvent parfois assimilés sous le nom de rayon de soluté r_s . Cependant les deux rayons ne représentent pas la même réalité physique. Nous tâcherons, donc, par la suite, de justifier l'utilisation de l'un ou de l'autre. Si on considère, très simplement que le soluté est assimilable à une sphère rigide, le rayon de soluté sera pris égal au rayon hydrodynamique. Cette hypothèse se prête particulièrement bien au cas de protéines. Par contre, pour des macromolécules telles que celles utilisées dans cette étude, le choix est plus discutable. Cette discussion sera abordée dans la présentation des résultats de partage et de diffusion lorsque les propriétés diffusionnelles seront reliées à la structure du système.

Table des Figures

Figure 1 : Montage pour la fabrication de billes d'alginate de calcium (a) et billes d'alginate de calcium après gélification (b).....	52
Figure 2 : Protocole de mise en forme des films d'alginate de calcium.	53
Figure 3 : Protocole de mise en forme des cylindres d'alginate de calcium.....	53
Figure 4 : Evolution de la fraction massique en polymère dans les billes en fonction du temps pour trois gels d'alginate de calcium de fraction volumique comprise entre 0,0108 et 0,0276.....	54
Figure 5 : Schéma réactionnel du greffage chimique d'un gel d'alginate.	55
Figure 6 : Diffusiomètre Laser Multi-Angle (MALLS).....	58
Figure 7 : Spectres de dichroïsme circulaire de blocs poly-guluroniques (— —) de blocs poly-mannuroniques (- - -) et d'un alginate de composition M/G=29/71 (- . - . -) dans l'eau [Morris, 1980]	59
Figure 8 : Spectre de dichroïsme circulaire de l'alginate étudié ($t = -0,00040892$ $p = -0,00029537$ $p/t = 0,72$).....	60
Figure 9 : Courbes de corrélation [Morris, 1980].	60
Figure 10 : Relation entre taille des mailles du réseau ou des pores et fraction volumique en polymère dans le gel : données de la littérature.	62
Figure 11 : Représentation schématique du gel « poreux ».	63
Figure 12 : Représentation schématique du gel « réseau fibreux » faisant apparaître le paramètre de maille ξ	63
Figure 13 : Représentation du réseau avec une fonctionnalité de 4.	64
Figure 14 : Répartition de la taille des billes formées par goutte à goutte dans une solution calcique.....	66
Figure 15 : Evolution de la concentration en polymère en fonction du rayon dans le cas d'un cylindre centimétrique.....	67
Figure 16 : Résultats des clichés SRIXE [Thu et <i>al.</i> , 1997] de billes d'alginate mises en forme dans une solution 100mM de Ca^{2+} (a) et dans une solution de Na^+ (75mM) et Ca^{2+} (20mM) (b).....	68
Figure 17 : Plan d'un plateau de rhéomètre avec position des aiguilles (Pascal Beurain, Atelier LSGC).	70
Figure 18 : Rhéogrammes de deux gels physiques d'alginate de calcium de fraction volumique en polymère différentes.....	71
Figure 19 : Courbe de relaxation pour un gel physique d'alginate de calcium à 0,0276.....	72
Figure 20 : Eponges de mélanges alginate/chitosane ayant subi des congélations à différentes températures : (a) $-20^{\circ}C$, (b) $-70^{\circ}C$, (c) azote liquide [Chung et <i>al.</i> , 1997].	73
Figure 21 : Observation par microscopie électronique à balayage de nos billes d'alginate de calcium lyophilisées après congélation dans l'azote liquide.....	73
Figure 22 : Clichés TEM réalisés sur des gels de mélanges Alginate/pectine à 1,5% en masse, à $20^{\circ}C$ et pour trois grossissements différents [Walkenström et <i>al.</i> , 2003].	74
Figure 23 : Granulomètre à rétrodiffusion hautes performances (HPPS).....	77
Figure 24 : Comparaison entre la corrélation obtenue via mesures HPPS et celle fournie par Kato et <i>al.</i> (1984).	78

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Données du fournisseur utilisées dans les calculs : masse moléculaire et polymolécularité associée.	75
Tableau 2 : Vérifications par SEC-MALLS de la masse moléculaire et de l'indice de polymolécularité.	75
Tableau 3 : Calcul du rayon de giration à partir de la relation de Kato et <i>al.</i> et du nombre de segments pour une longueur de persistance de 1,6 nm.	77
Tableau 4 : Données expérimentales HPPS (chacun des points correspond à la moyenne de plusieurs essais).	78
Tableau 5 : Rayons hydrodynamiques calculés par la relation de Kato et <i>al.</i> et utilisés pour les calculs.	78

Chapitre III

Etude méthodologique appliquée à l'estimation des paramètres diffusionnels

Introduction

Une des problématiques de ce travail est l'approche méthodologique de la détermination des paramètres diffusionnels, dans le but d'une estimation précise des coefficients de partage et de diffusion. La difficulté d'accès au coefficient de diffusion fait qu'une approche méthodologique est particulièrement importante pour ce paramètre.

Ce chapitre s'intéressera, par conséquent, à la démarche mise en œuvre pour l'estimation des valeurs de D dans le cas du transfert diffusionnel de pullulanes dans les hydrogels d'alginate de calcium. Les deux méthodes sélectionnées à l'issue de la revue bibliographique seront analysées successivement.

Dans un premier temps, la méthode en système fermé avec boucle d'analyse, mettant en œuvre un suivi de l'incorporation du soluté dans des particules de gel dispersées, sera abordée sous deux angles. Du point de vue expérimental, l'influence d'une boucle d'analyse sera étudiée et conduira à des recommandations afin d'en limiter les effets. Une analyse de sensibilité de paramètres permettra, par ailleurs, la définition d'une démarche lors de l'exploitation des cinétiques de diffusion.

Dans un second temps, des essais en colonnes ont été envisagés, dans le but, notamment, d'une meilleure estimation des coefficients de diffusion des solutés de masse moléculaire élevée pour lesquels les temps de manipulations rendent les essais en système fermé moins précis.

PARTIE 1 Méthode par incorporation de soluté dans des particules sphériques de gel dispersées en système fermé

A/ Détermination des coefficients de diffusion par la méthode avec particules sphériques dispersées en système fermé

I. Préambule : choix de la libération ou de l'incorporation

Une des méthodes classiquement utilisée pour la détermination de coefficients de diffusion dans les gels est basée sur le suivi de la cinétique du soluté dans des billes de gels dispersées dans un solvant en milieu parfaitement agité.

Deux possibilités sont envisageables pour l'étude de la diffusion d'un soluté dans l'hydrogel : soit une étude en libération pour laquelle le gel devra être préalablement chargé en soluté, soit au contraire, un suivi de l'incorporation du soluté dans le gel. L'étude en libération présente l'avantage de se conformer à la réalité des applications courantes telles que la libération contrôlée d'un principe actif dans l'organisme mais requiert la connaissance de la concentration initiale en soluté dans le gel, ce qui n'est pas toujours aisé. Le suivi de l'incorporation permet, quant lui, une meilleure maîtrise des conditions initiales, c'est pourquoi nous avons choisi cette voie expérimentale en s'assurant, dans un premier temps, que la diffusion est le seul mécanisme mis en jeu grâce à une incorporation suivie d'une libération à partir des mêmes billes.

II. Méthodologie de détermination de D via une cinétique de diffusion

Lorsque la diffusion se produit dans des sphères, selon la deuxième loi de Fick, pour une géométrie sphérique, l'évolution de la concentration suit la relation :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (\text{III.1})$$

D est le coefficient de diffusion du soluté dans le gel, supposé constant.

Si on effectue le changement de variable :

$$u = Cr \quad (\text{III.2})$$

Il est possible de se ramener à un problème linéaire :

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial r^2} \quad (\text{III.3})$$

Cette écriture permet de résoudre immédiatement les cas simples de transfert radial dans des sphères. Deux types de résolutions sont alors envisageables : soit numérique avec un programme d'optimisation permettant de déterminer D , soit par une résolution analytique (après vérification des hypothèses simplificatrices : volume infini ou non).

II.1. Résolution analytique : volume infini de solution

Ce premier cas, le plus simple, correspond à une concentration à la surface du gel constante car la variation de concentration est faible, si elle est ramenée au volume de solution. La méthodologie présentée dans cette partie sera donc valable seulement pour les cas où le volume de solution est grand devant celui des billes. Dans ce cas unique, la concentration en soluté dans la solution pourra être considérée comme constante.

Si, comme précédemment, on effectue la substitution $u=Cr$, le système d'équations se ramène à :

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u}{\partial r^2} \quad (\text{III.4})$$

Avec les conditions aux limites et la condition initiale :

$$u = 0, \quad r = 0, \quad t > 0, \quad (\text{III.5})$$

$$u = aC_0, \quad r = a, \quad t > 0, \quad (\text{III.6})$$

$$u = rf(t), \quad t = 0, \quad 0 < r < a \quad (\text{III.7})$$

où C_0 est la concentration constante à la surface de la sphère. Ce système est similaire aux équations de diffusion à travers un plan d'épaisseur a dont les limites se situent à $r=0$ et $r=a$ avec une concentration nulle et aC_0 , respectivement, soit un profil linéaire de concentration dans la bille.

La solution correspondante, dans le cas de la libération d'un soluté, est donnée par l'expression :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 6 \left(\frac{Dt}{a^2} \right)^{\frac{1}{2}} \left\{ \pi^{-\frac{1}{2}} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \text{ierfc} \frac{na}{\sqrt{Dt}} \right\} - 3 \frac{Dt}{a^2} \quad (\text{III.8})$$

L'équation se simplifie pour $M/M_\infty < 0,9$:

$$\frac{M}{M_\infty} = 6 \left(\frac{Dt}{a^2} \right)^{\frac{1}{2}} \left\{ \frac{1}{\sqrt{\pi}} \right\} - 3 \frac{Dt}{a^2} \quad (\text{III.9})$$

Dans ce cas, deux types de résolutions analytiques sont envisageables pour remonter au coefficient de diffusion.

La première méthode utilise la pente aux temps courts. En effet, pour $M/M_\infty < 0,2$, on peut faire l'approximation suivante :

$$\frac{M}{M_\infty} \cong 6 \sqrt{\frac{Dt}{\pi a^2}} \quad (\text{III.10})$$

La Figure 56 présente le tracé des relations proposées par Crank pour les temps courts et les deux simplifications pour $M/M_\infty < 0,9$ et $M/M_\infty < 0,2$.

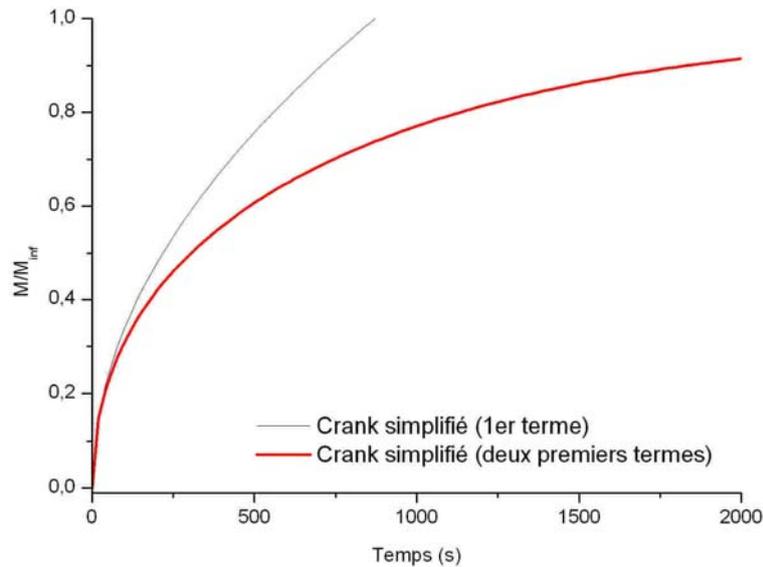


Figure 56 : Comparaison des deux solutions de Crank simplifiées, pour $M/M_\infty < 0,9$ et $M/M_\infty < 0,2$, dans le cas d'une libération de soluté.

Une seconde possibilité consiste à linéariser l'équation pour $M/M_\infty < 0,9$:

$$\frac{M}{M_\infty \sqrt{t}} \cong \frac{6}{a} \sqrt{\frac{D}{\pi}} - 3 \frac{D}{a^2} \sqrt{t} \quad (\text{III.11})$$

Cette linéarisation permet d'accéder au coefficient de diffusion de deux façons : soit par l'ordonnée à l'origine de la fonction linéarisée, soit par la pente de cette même courbe. Cette méthode de linéarisation présente l'avantage, par rapport à la méthode de la pente aux temps courts d'utiliser davantage de points expérimentaux et non pas seulement les points initiaux souvent entachés d'erreurs expérimentales.

II.2. Résolutions analytiques : volume fini de solution

Si le gel est en contact avec une solution dont le volume est, cette fois, fini, la concentration en solution va chuter fortement au fur et à mesure de la diffusion de celui-ci dans le gel. Si la solution est parfaitement agitée, la concentration en solution dépend uniquement du temps et suit un principe de conservation de la quantité de soluté totale entre le gel et la solution. Ce cas de figure est très utile expérimentalement car il permet, par un suivi de la concentration homogène en solution, de déduire la vitesse de diffusion.

Considérons la diffusion d'un soluté depuis une solution parfaitement agitée de volume limité V_{sol} (en L) vers une sphère initialement vierge de soluté de rayon a (en m). La quantité totale de soluté M_t dans la sphère après un temps t (en s) peut être exprimée en rapport avec la quantité correspondante au bout d'un temps infini M_∞ par la relation [Crank, 1975] :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(\alpha+1)\exp(-Dq_n^2 t / a^2)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \quad (\text{III.12})$$

Où les q_n sont les racines de :

$$\tan q_n = \frac{3q_n}{3 + \alpha q_n^2} \quad (\text{III.13})$$

Et,

$$\alpha = \frac{3V_{sol}}{4\pi a^3 K_p} \quad (\text{III.14})$$

Si plusieurs sphères (d'un volume total V_{gel}) sont en contact avec un volume de solution V_{sol} , la fraction de soluté incorporé (fractional uptake) notée α devient :

$$\alpha = \frac{V_{sol}}{V_{gel} \cdot K_p} \quad (\text{III.15})$$

Avec K_p , coefficient de partition du soluté entre les phases liquide et gel à l'équilibre.

C'est dans ce cas de figure que seront réalisés nos essais. La détermination du coefficient de diffusion se fera donc en utilisant cette solution, basée sur la résolution de la loi de Fick par la méthode de séparation des variables [Crank, 1975]. Le coefficient de partage ayant été déterminé expérimentalement dans la partie destinée à l'étude du partage du pullulane, celui-ci pourra être imposé et le seul paramètre d'ajustement sera le coefficient de diffusion D . L'ajustement se fera grâce à une minimisation de la somme des carrés des écarts relatifs entre points expérimentaux et modèle. On supposera, en outre, que les coefficients de diffusion et de partition sont constants avec la concentration en soluté.

La méthodologie d'accès au coefficient de diffusion ayant été exposée, le paragraphe suivant s'intéressera aux erreurs expérimentales associées à ce type d'expériences sur la base, notamment, d'étude rencontrées dans la littérature et complétées de calculs de sensibilité de paramètre.

III. Erreurs expérimentales associées : mises en garde de la littérature et sensibilité de paramètres

Les sources d'erreur fréquemment rencontrées sont de deux ordres principalement : expérimentales ou liées à l'exploitation des données. Harland et Peppas [Harland, 1993] proposent un résumé des erreurs les plus fréquemment rencontrées. Ils insistent notamment sur les erreurs expérimentales pouvant survenir à cause d'un montage mal adapté : une agitation insuffisante, par exemple. De même, l'utilisation de solutions trop concentrées en soluté peut induire une dépendance en concentration du coefficient de diffusion. Enfin, dans

le cadre de ce travail, il est important de préciser que nous nous placerons dans le cas de solutions très fortement diluées. L'expulsion de solvant restera donc extrêmement faible pour que l'hypothèse d'une absence de gonflement ou de déformation du gel puisse être faite. Ce pré-requis nous éloigne donc clairement des problématiques liées à la déshydratation de matrices alimentaires par exemple. Ces précautions permettent de négliger les effets de gonflement/rétrécissement de la matrice sources d'un terme convectif [Chaussi, 2001].

L'expérimentateur est également un point crucial dans ce type de manipulations et les erreurs dont il est la source sont cumulatives : erreurs sur les volumes prélevés (également liées à l'appareillage de prélèvement utilisé), erreurs de chronométrage (incertitudes sur les points de prélèvement), incertitude sur les quantités de solution et de gel mis en contact, sur la technique de dosage...

III.1. Influence des prélèvements

Les protocoles avec prises d'échantillons sont particulièrement générateurs d'erreurs expérimentales. En effet, les prélèvements en régime transitoire perturbent la diffusion par une modification de la concentration locale. Cette modification conduit à une diminution du gradient de concentration et donc à une réduction de la diffusion.

La quantification de ces effets a fait l'objet de travaux préliminaires [Castel, 2002] résumés par la Figure 57. Celle-ci compare les cinétiques obtenues avec et sans prise d'échantillon, dans le cas d'une libération de soluté depuis des billes de gel dans une solution de concentration initialement nulle.

L'erreur consécutive sur l'estimation de D a été estimée à 7 % pour une fraction prélevée de 20 % du volume initial de solution et réduite à 5 % lorsque 10 % sont prélevés. Ces résultats ont été obtenus avec la méthode de linéarisation de Crank simplifiée.

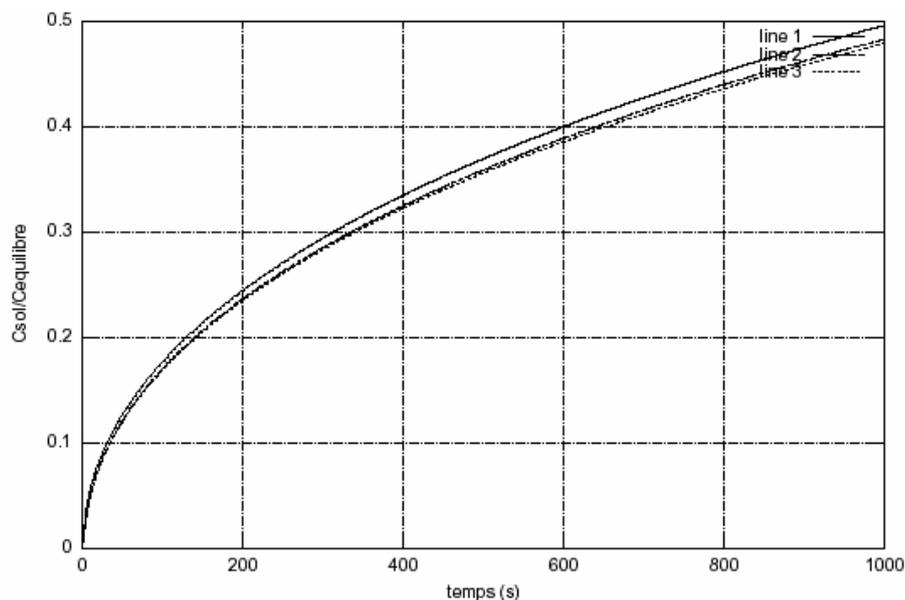


Figure 57 : Influence de prises d'échantillon sur M/M_∞ par simulation. L'évolution de la concentration normalisée correspond à la libération du soluté dans une solution de concentration initialement nulle.

Dans le cadre de cette thèse, ces erreurs ont été éliminées grâce au développement d'une autre méthode sans prélèvement dont l'erreur consécutive à l'utilisation d'une boucle d'analyse sera estimée dans la suite de ce chapitre.

III.2. Sensibilité à M/M_∞ : Cas du volume fini de solution

Ce cas a été traité en partie par Petersen et *al.* [Petersen, 1991] dont le propos était de réexaminer l'analyse d'erreur effectuée par Itamunoala [Itamunoala, 1987] dans le but de démontrer, que, grâce à l'utilisation de conditions expérimentales adéquates, la méthode du chargement de billes en dispersion dans un solvant conduisait à des erreurs du même ordre que pour les autres méthodes.

Ces auteurs ont montré que l'erreur relative de D par rapport à C était une fonction linéaire du paramètre α :

$$\frac{\Delta D}{\Delta C} \cdot \frac{C}{D} = f(\alpha) \quad (\text{III.16})$$

De fait, afin de minimiser l'erreur sur D , ces auteurs préconisent de travailler dans des conditions où α est le plus faible possible. Par conséquent, et pour des raisons expérimentales, le ratio V_{sol}/V_{gel} sera pris égal à la valeur minimale permettant la dispersion des billes étant donné que K_P est imposé par le couple alginate/pullulane considéré.

Une fois α fixé, il convient de poursuivre l'étude afin de déterminer la zone de concentration pour laquelle l'estimation D est la plus fiable. Nous supposons, pour ces calculs, $\alpha = 1$, dans un premier temps.

Le calcul de la différentielle de M/M_∞ par rapport à D donne la relation :

$$\left(\frac{d \frac{M}{M_\infty}}{dD} \right)_\alpha = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{q_n^2 t}{a^2} \cdot \frac{6 \cdot \alpha \cdot (\alpha + 1) \exp\left(-\frac{D q_n^2 t}{a^2}\right)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \quad (\text{III.17})$$

Ce calcul permet de tracer l'erreur relative de M/M_∞ par rapport à D (Figure 58), tracé obtenu en sommant les 6 premiers termes de la série, pour $\alpha = 1$ et $a = 1$ mm.

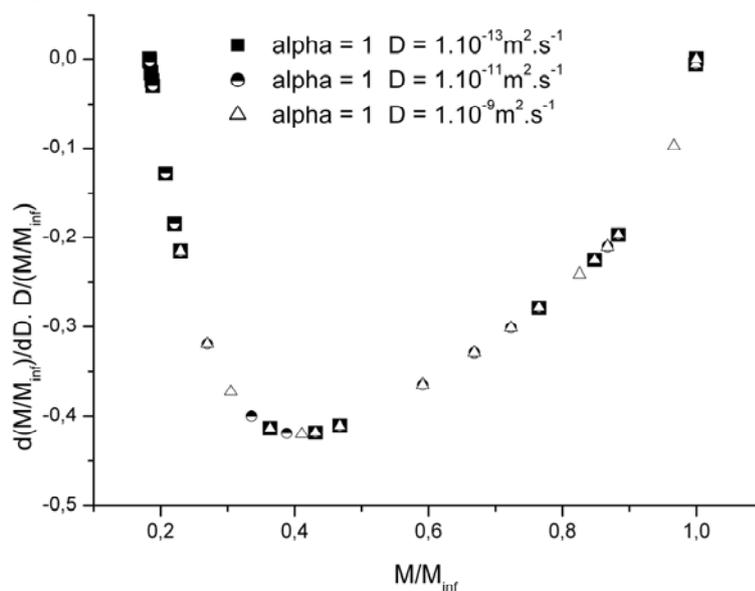


Figure 58 : Erreur relative de M/M_∞ à D en fonction de M/M_∞ pour différentes valeurs du coefficient de diffusion et dans le cas d'une libération, pour $\alpha = 1$.

La Figure 58 montre un optimum de la courbe, signifiant une zone de sensibilité maximale. Il apparaît également que cet optimum est indépendant du coefficient de diffusion du soluté dans le gel. Ce premier résultat intéressant montre que certains des points de la cinétique présentent une grande sensibilité à D , correspondant à un domaine pour lequel les erreurs se trouveront par contre maximisées.

Dans notre cas, comme nous l'avons précisé au début de ce chapitre, nous avons choisi de travailler en incorporation. L'évolution de la concentration en solution est alors donnée par la relation :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6 \cdot (\alpha + 1) \exp(-Dq_n^2 t / a^2)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \quad (\text{III.18})$$

Par conséquent le calcul de la différentielle de M/M_∞ par rapport à D fournit la relation :

$$\left(\frac{d \frac{M}{M_\infty}}{dD} \right)_\alpha = \sum_{n=1}^{\infty} -\frac{q_n^2 t}{a^2} \cdot \frac{6 \cdot (\alpha + 1) \exp\left(-\frac{Dq_n^2 t}{a^2}\right)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \quad (\text{III.19})$$

Les calculs présentés à la Figure 59 ont été obtenus en sommant les 6 premiers termes de la série, pour $\alpha = 1$ et $a = 1$ mm. Les résultats de cette étude démontrent que dans le cas d'un volume fini de solution, il existe également un domaine de concentration pour lequel la variation de M/M_∞ par rapport à D est maximale et cet optimum est indépendant du coefficient de diffusion comme l'illustre la Figure 59. Ce maximum de sensibilité de M/M_∞ correspond domaine de sensibilité accrue pour l'estimation du coefficient de diffusion. Pour l'ensemble des coefficients de diffusion et $\alpha = 1$, celui-ci se situe aux environs de 1,2-1,25 pour le rapport M/M_∞ .

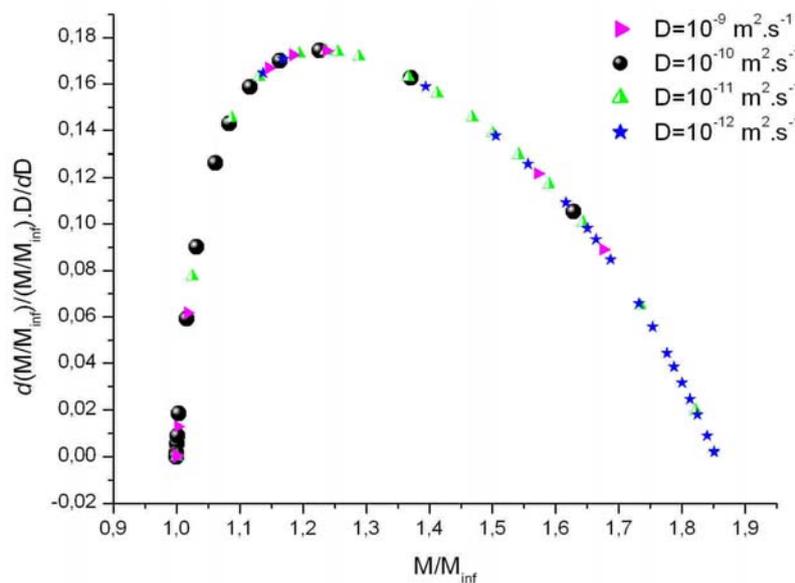


Figure 59 : Sensibilité relative de M/M_∞ à D en fonction de M/M_∞ pour différentes valeurs du coefficient de diffusion et dans le cas d'une incorporation, pour $\alpha = 1$.

La Figure 60 montre, pour un coefficient de diffusion donné et différents α , que le domaine optimal varie entre 1 et 1,3. Ceci confirme que les points initiaux de la cinétique ne sont pas ceux pour lesquels la sensibilité de la détermination de D est optimale et qu'il vaut mieux prendre des points intermédiaires pour estimer D .

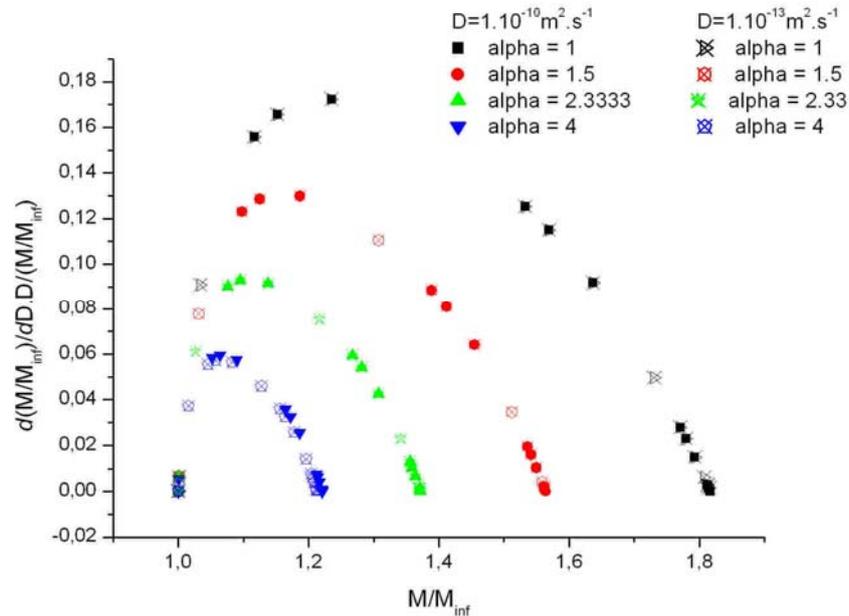


Figure 60 : Erreur relative pour $D=1.10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, $D=1.10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et différents α , dans le cas d'une incorporation.

La zone optimale de détermination de D est donc indépendante du coefficient de diffusion mais variable en fonction du paramètre α .

Ces résultats se retrouvent dans le cas de la libération comme le montre la Figure 61, conduisant également à des courbes à optimum indépendant de D mais fonction de α .

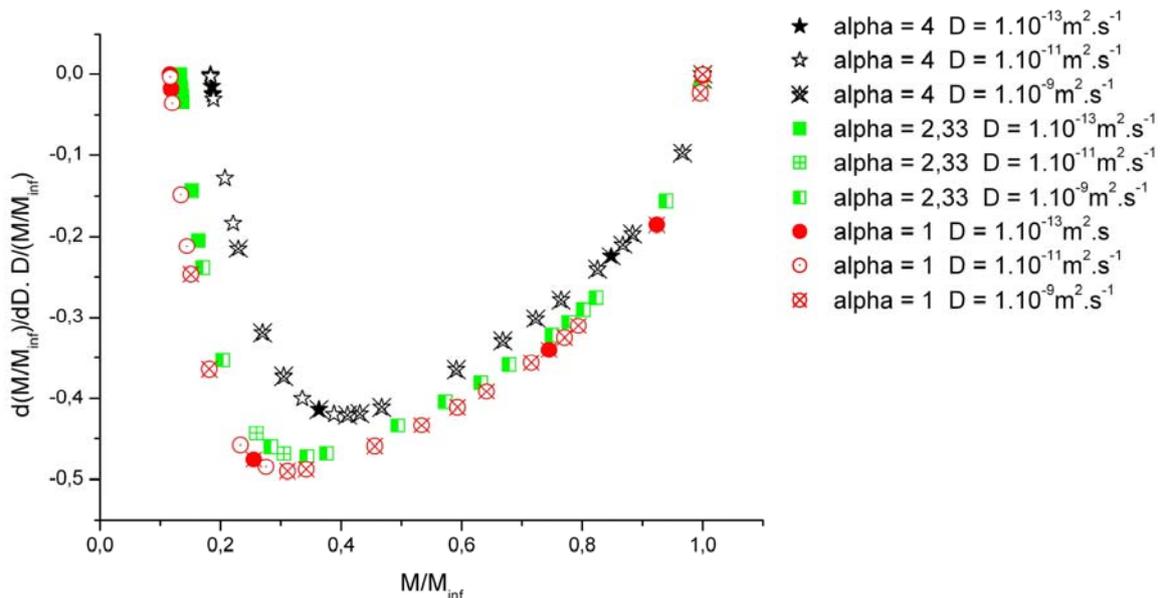


Figure 61 : Erreur relative pour $D=1.10^9 \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, $D=1.10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $D=1.10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, à différents α , dans le cas d'une libération.

Ces résultats sont d'intérêt du point de vue méthodologique car ils permettent de définir une zone en fonction de paramètres du système pour laquelle la sensibilité de détermination de D est accrue. Cependant, l'invariance de ce résultat à D apparaît tout à fait surprenante au vu de

l'expression de la dérivée. L'élimination de ce paramètre dans l'expression de $d \frac{M}{M_\infty} / dD$ est loin d'être triviale analytiquement. A défaut, d'avoir pu le démontrer analytiquement, les courbes numériques illustrent bien cette invariance dont on ne peut dire si elle n'est pas simplement le fait de l'ordre de grandeur attribué à D dans nos applications.

Cette première partie a permis d'aborder les erreurs liées au traitement des résultats dans le cas classique d'essais dans lesquels la diffusion est estimée dans un système où des billes sont dispersées dans un volume de solution contenu dans un réacteur parfaitement agité. Il a été démontré qu'une zone de la courbe de cinétique peut être définie afin de minimiser l'erreur sur l'estimation du coefficient de diffusion. Ce résultat sera utilisé dans le traitement des cinétiques expérimentales à partir d'un calcul préalable de α , permettant de définir les points de la courbe de chargement utilisés pour l'optimisation permettant la détermination de D . L'erreur consécutive de prélèvements en cours d'essais a, par ailleurs, été calculée. Afin d'éliminer cette source d'erreurs, une autre méthode a été mise au point dans le cadre de ce travail : une méthode mettant en jeu une boucle d'analyse en continu. La partie suivante se propose de réaliser une estimation de l'erreur méthode liée à l'utilisation de cette boucle d'analyse (Figure 62), bien que, dans la plupart des travaux de la littérature, on se contente de supposer que le faible volume de celle-ci devant le volume de solution autorise à négliger son influence.

B/ Estimation de l'erreur méthode par simulation dans le cas d'un système fermé avec boucle d'analyse

I. Illustration de l'effet perturbateur de la boucle d'analyse

La distribution des temps de séjour dans un système fermé avec recirculation se traduit par un pic de concentration de traceur suivi d'un amortissement progressif avant l'atteinte d'un équilibre correspondant à la concentration moyenne dans le système et obtenu lorsque le mélange est réalisé dans la boucle et le réacteur.

Afin de vérifier si la prise en compte de la boucle d'analyse était nécessaire, des essais ont été réalisés dans notre système, en l'absence de diffusion. Ces essais ont été conduits dans un batch contenant 20 mL de solution saline et grâce à un traçage au dextrane dont le signal est semblable à celui du pullulane. Les signaux de concentration obtenus pour différents débits sont présentés Figure 63 et Figure 64.

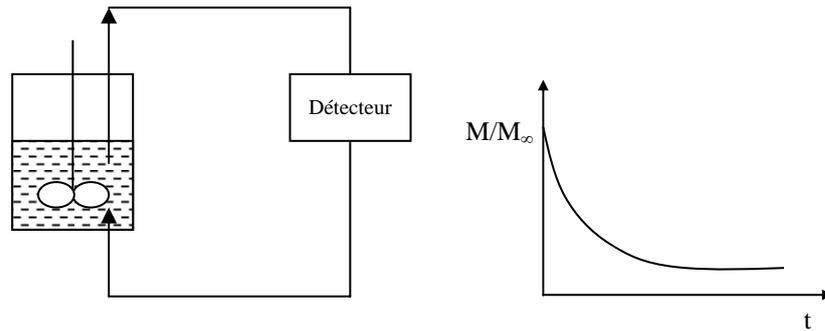


Figure 62 : Schématisation d'un montage avec boucle d'analyse et allure de la courbe de diffusion attendue en l'absence d'effet de la boucle.

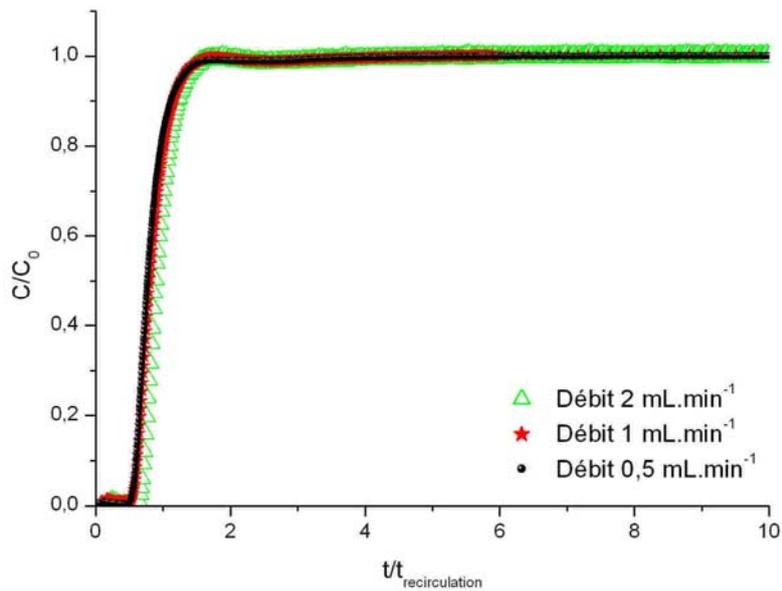


Figure 63 : Distribution des Temps de Séjour (DTS) expérimentale en l'absence de billes et à différents débits suite à une injection de dextrans.

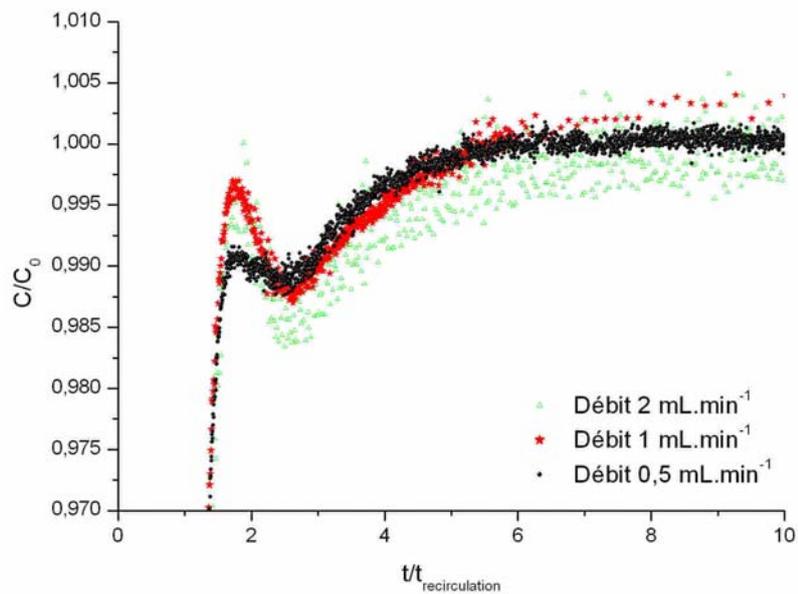


Figure 64 : Zoom sur la DTS expérimentale en l'absence de billes et à différents débits.

Dans le cas testé, les conditions de volumes sont telles que l'effet est peu marqué. Cependant, la perturbation, même très faible doit certainement être prise en compte car le signal obtenu, dans le cas d'un essai avec diffusion, sera la combinaison de l'effet de dilution de la boucle, du retard lié aux capillaires et de la diffusion. En aucun cas, les points initiaux, fréquemment utilisés dans les méthodes classiques, ne pourront l'être tels quels.

Cet effet perturbateur de la boucle d'analyse a été peu décrit dans la littérature ou le nombre de montages de ce type est, pourtant, important. A notre connaissance, seuls les travaux de Brown et Chitumbo [Brown, 1975] mentionnent l'effet de celle-ci sur leurs cinétiques avec un exemple d'enregistrement (voir Figure 65). En outre, la présentation des courbes de diffusion brutes dans les travaux de ce type est rarissime, ce qui ne permet donc pas de recenser d'autres exemples.

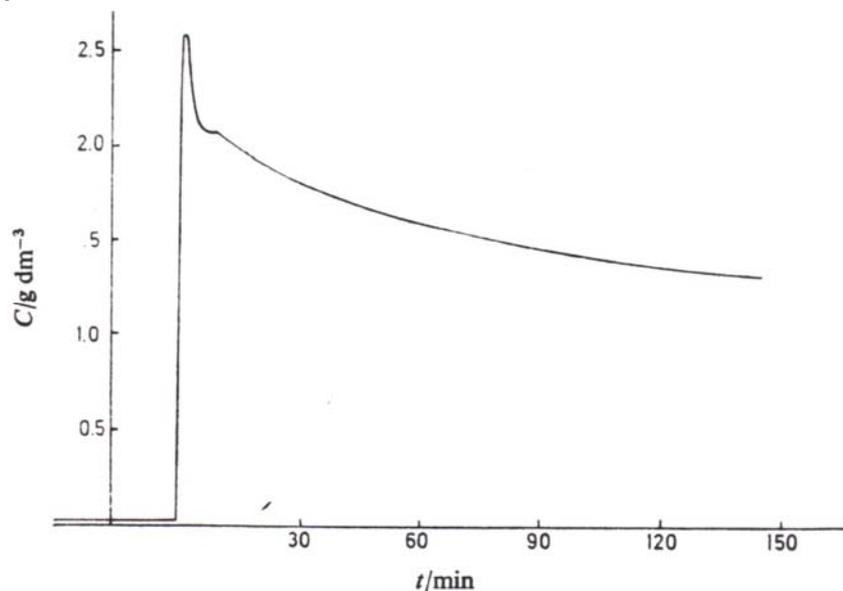


Figure 65 : Enregistrement d'un profil de concentration d'éthanol en fonction du temps pour un montage de type cellule de diffusion équipé d'une recirculation [Brown, 1973].

Brown et Chitumbo associent la décroissance initiale et brutale à une phase de mélange à l'intérieur du système de circulation de la solution. Cependant, ces auteurs n'indiquent pas de méthodologie de traitement particulière pour ces courbes « perturbées ». On peut donc supposer que leur traitement des données n'en tient pas compte.

Afin de définir la méthodologie optimale de détermination des coefficients de diffusion et d'estimer précisément si ces perturbations génèrent des erreurs sur D , une modélisation du système a été réalisée.

Par ailleurs, ces essais préliminaires ont permis de mesurer le temps retard (ou le volume des capillaires avant le réfractomètre) entre le point de prélèvement et le réfractomètre. Par cette méthode, le volume des capillaires avant le détecteur a été estimé à 1,54 mL, soit, pour un débit classique de 2 mL.min⁻¹, un temps retard d'environ 46 s. La totalité du circuit est estimée à 2mL.

II. Principe de modélisation du système expérimental

II.1 Schéma du montage et principe du modèle

Le montage expérimental étudié dans cette partie est schématisé à la Figure 66. Le réacteur dans lequel est étudiée la diffusion du soluté dans la dispersion de billes est identique à ceux

dont il est fait référence dans les protocoles classiques. La seule différence vient de la présence d'une boucle d'analyse, permettant un suivi en continu de la concentration dans la solution grâce à un détecteur (détecteur d'indice de réfraction, par exemple) placé en série dans la boucle.

La représentation schématique du montage expérimental permet de souligner les différences entre les concentrations à un instant t , en divers points du montage (C_1 au point de prélèvement, C_2 dans le réfractomètre et C_3 au retour dans le réacteur). Il est évident que ces différences sont liées au temps retard entre ces divers éléments, et plus particulièrement entre C_1 , concentration dans le batch que nous souhaitons suivre, et C_2 , concentration donnée par le réfractomètre et à laquelle correspondent les enregistrements.

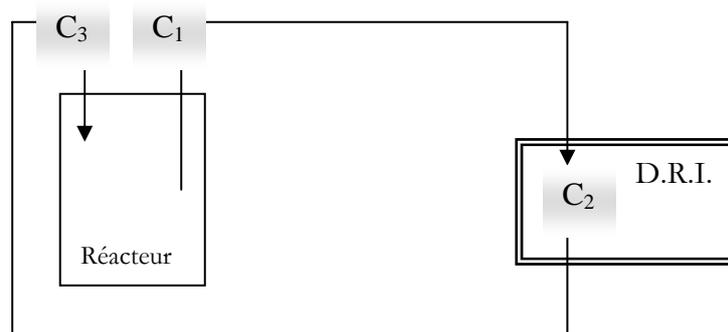


Figure 66 : Schéma simplifié du montage avec localisation des différentes concentrations.

Outre cet effet « retard » induit par la boucle d'analyse, celle-ci est responsable d'une dilution instantanée étant donné que C_3 est différente de C_1 à tout instant du mécanisme transitoire. Il peut s'avérer tentant de négliger cette dilution continue sous prétexte que le volume de la boucle d'analyse est faible devant celui du réacteur.

Cependant le traçage présenté Figure 63 et Figure 64, ainsi que les travaux de Brown et Chitumbo, ont démontré que ces effets de dilution et de retard dus à la boucle d'étalonnage sont visibles lors de l'enregistrement. Dans le but de vérifier si cet artefact induit des variations lors du calcul du coefficient de diffusion à partir des cinétiques expérimentales, le système a été modélisé.

L'hydrodynamique dans les capillaires et le détecteur d'indice de réfraction est supposée de type piston et le réacteur parfaitement agité. L'écoulement dans les capillaires peut être considéré comme de type piston étant donné que le diamètre des capillaires est très inférieur à leur longueur. En outre, le traçage DTS a montré que la réponse à un échelon était quasiment un retard pur, caractéristique de ce type d'écoulement. Les capillaires sont modélisés par une cascade de n réacteurs parfaitement agités et le terme d'accumulation dans chacun de ces réacteurs s'écrit :

$$\frac{dC_j}{dt} = \frac{n \cdot Q}{V_{boucle}} \cdot (C_{j-1} - C_j) \quad (\text{III.20})$$

V est le volume de capillaires et Q le débit de flux dans la boucle d'analyse.

Une valeur de 50 mélangeurs pour modéliser le piston a été utilisée dans nos modélisations.

L'équation de bilan sur chaque mélangeur est résolue numériquement par le modèle classique des mélangeurs en cascade utilisant une méthode prédicteur-correcteur initialisée par une subroutine de Runge-Kutta du 3^{ème} ordre.

La diffusion du soluté dans des billes considérées comme parfaitement sphériques et homogènes peut être décrite par la loi de Fick.

Chaque bille est modélisée par 50 cellules représentant des couches concentriques d'épaisseur constante (Figure 67). Il a été démontré que 50 cellules étaient suffisantes pour assurer une erreur numérique minimale liée à la discrétisation. Le flux de matière F entre les cellules est calculé grâce à la discrétisation de la 1^{ère} loi de Fick (avec A l'aire de contact entre deux cellules en m^2) :

$$F = -DA \frac{\Delta C_{gel}}{\Delta r} \quad (III.21)$$

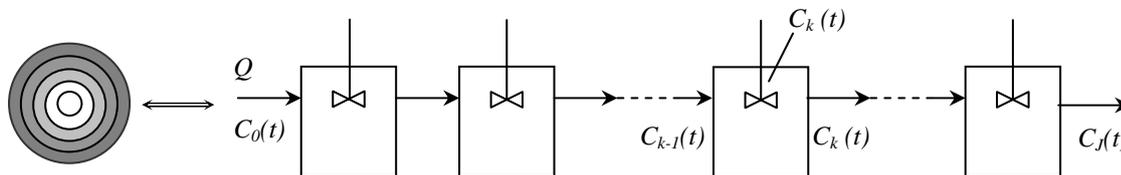


Figure 67 : Modélisation d'une bille par une cascade de réacteurs parfaitement agités (RPA).

II.2 Paramètres du modèle

Une première série de paramètres est liée aux dimensions du système : volume de solution, nombre de billes, diamètre des billes, volume de la boucle d'analyse, débit de recirculation. Les concentrations initiales dans la solution ainsi que dans les billes sont également requises. Des données utilisées dans la résolution, telles que le nombre de mélangeurs dans la cascade de RPA représentant les capillaires, sont entrées par l'utilisateur. Ces paramètres de discrétisation seront choisis de façon à minimiser l'erreur numérique.

Le coefficient de partage K_p ainsi que le coefficient de diffusion sont initialisés pour caractériser l'équilibre consécutif à la cinétique de diffusion du système étudié.

II.3 Simulations préliminaires de l'hydrodynamique

L'hydrodynamique du modèle a été testée, dans un premier temps. Le nombre de mélangeurs de la cascade de RPA a été fixé à 50 pour un compromis de temps de calcul et de précision attendue. Des exemples de simulations obtenues pour des volumes variables de boucle d'analyse sont représentés Figure 68.

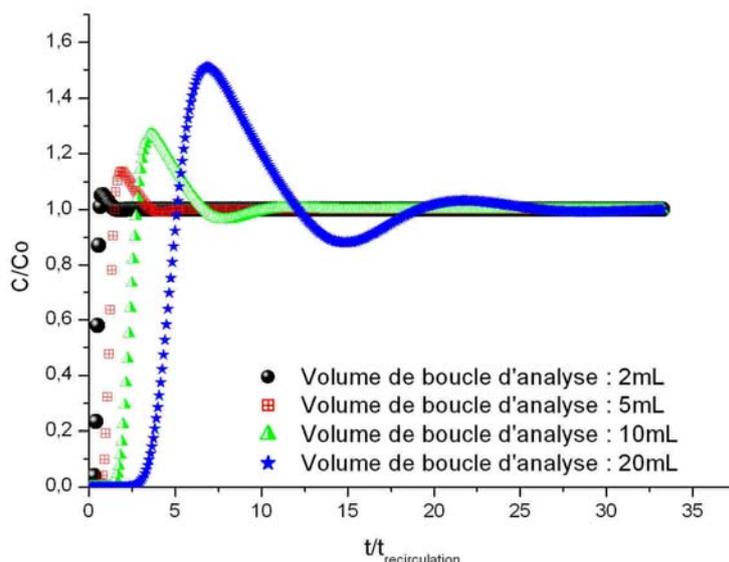


Figure 68 : Courbes simulées en l'absence de diffusion et pour différents volumes de la boucle d'analyse (de 2 à 20 mL) pour 22,5 mL de solution.

La figure simulée (Figure 68) montre que même pour les volumes de boucle d'analyse réduits, de faibles oscillations apparaissent dans les instants initiaux. Si une diffusion est mise en œuvre dans ce type de montage, la présence de ces oscillations au début des cinétiques, risque de générer des erreurs sur l'estimation des coefficients de diffusion d'autant plus que certaines méthodes utilisent préférentiellement les points initiaux pour mesurer D . La présence d'artéfacts dus à cette boucle sur les courbes expérimentales ayant été démontrée, il convient de quantifier son influence sur la mesure des coefficients de diffusion en utilisant les méthodologies décrites dans la première partie de ce chapitre.

La seconde étape de validation consiste à trouver un moyen d'extraire le coefficient de diffusion des courbes expérimentales de $C_2(t)$. L'observation des courbes $C_2(t)$ modélisées pour divers débits de recirculation tend à montrer que pour des temps supérieurs à deux fois le temps de recirculation, les courbes $C_1(t)$ et $C_2(t)$ se superposent (une fois les corrections de dilution faites). Cependant, si on raisonne expérimentalement, dans certains cas, les points supérieurs à deux fois le temps de recirculation présentent des variations de concentration trop faibles car on se situe alors quasiment sur le plateau de l'équilibre. L'idée est donc d'utiliser les points de $C_2(t)$ compris entre $t_{recirculation} = \frac{V_{boucle}}{Q}$ et t_{∞} et d'ajuster le coefficient de diffusion

D sur le modèle de Crank en volume fini. Par la suite, les courbes simulées de $C_2(t)$ sont donc utilisées comme des courbes expérimentales classiques afin de calculer par la résolution de Crank pour les volumes finis, le coefficient de diffusion et de vérifier si cette valeur est identique à celle entrée dans le modèle.

Cette démarche de calcul a été testée sur les courbes de $C_2(t)$ simulées. Les coefficients de diffusion ont été calculés par la résolution de Crank pour les volumes finis appliquée aux points compris entre le temps de recirculation et le temps à l'équilibre, avec pour paramètre d'ajustement le coefficient de diffusion. La méthode s'est avérée extrêmement robuste vu que nous retrouvons le coefficient de diffusion utilisé dans la simulation.

Par conséquent, l'ensemble des résultats présentés par la suite a été obtenu à partir d'un ajustement sur les points situés entre $t_{recirculation}$ et t_{∞} .

L'intérêt de cette étude est de fournir une évaluation de l'erreur commise sur D , sans modifier la méthodologie classique pour le calcul du coefficient de diffusion lors du chargement de billes dispersées dans un volume fini de solution.

III. Estimation de l'erreur méthode par simulation

III.1. Simulations préliminaires

Pour différents D et différents ratios $V_{boucle}/V_{solution}$, «l'erreur méthode» peut être quantifiée en appliquant la méthodologie décrite *Partie A* aux courbes simulées. L'erreur méthode est nulle si les coefficients de diffusion ainsi obtenus (notés D_{out}) sont les mêmes que ceux entrés comme paramètre de simulation et notés D_{in} .

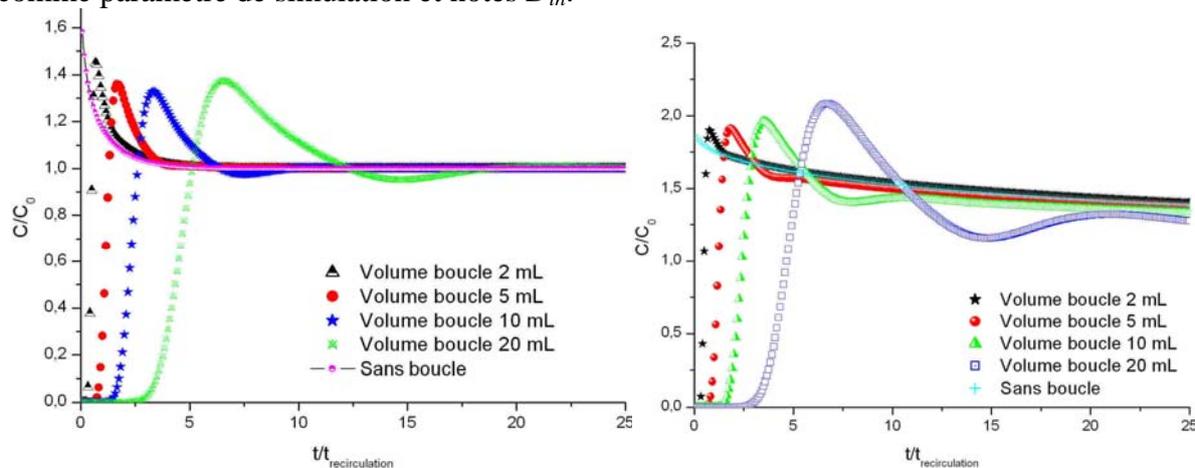


Figure 69 : Comparatifs de courbes pour des ratios $V_{boucle}/V_{solution}$ variables : (à gauche) $D=1.10^{-9} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$; (à droite) $D= 1.10^{-11} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$.

La Figure 69 illustre l'effet perturbateur de la boucle d'analyse. Plus le volume de boucle d'analyse est grand, plus les oscillations sont fortes et l'amortissement retardé. De même, la perturbation modifie d'autant plus la cinétique obtenue que celle-ci est rapide.

Une première série de simulations a permis l'étude du cas suivant : 20 mL de solution pour 20 mL de gel et un débit dans la boucle d'analyse de $2 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$. Le tableau 1 fournit un récapitulatif indiquant l'erreur méthode sur le calcul du coefficient pour les points entre $t_{recirculation}=V_{boucle}/Q$ et t_{∞} , pour différents coefficients de diffusion et volumes de boucle.

		Erreur $(D_{in}-D_{out})/D_{in} * 100$ (%)		
		V_{boucle} (mL)		
		4	10	20
D_{in} ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$)	10^{-9}	30	39	36
	10^{-10}	8	8	27
	10^{-11}	1	1	0

Tableau 8 : Estimation de l'erreur entre D_{in} et D_{out} avec un domaine $[t_{recirculation}; t_{\infty}]$.

Il apparaît clairement que les conditions de procédé sont déterminantes dans l'estimation de coefficients de diffusion précis. L'effet conjugué des paramètres procédés et de la vitesse de

diffusion des solutés illustré par les premières simulations a guidé le choix des paramètres clés dans l'analyse de ce problème : le coefficient de diffusion, le volume relatif de la boucle d'analyse et du volume de solution dans le réacteur ainsi que le débit de circulation dans la boucle d'analyse. Cette première étape de simulation nous a ainsi conduit à la définition d'un paramètre caractéristique du système.

III.2 Définition d'un paramètre caractéristique du problème

Au vu des simulations numériques, un paramètre (τ) a pu être défini correspondant au rapport du temps de diffusion au temps de recirculation du fluide dans la boucle d'analyse :

$$\tau = \frac{Dt_{recirculation}}{a^2} \quad (\text{III.22})$$

où D est le coefficient de diffusion du soluté dans le gel ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) ;

$t_{recirculation}$ est le temps de renouvellement de la boucle d'analyse au débit considéré (s) :

$$t_{recirculation} = \frac{V_{boucle}}{Q} \quad (\text{III.23})$$

a est le diamètre des billes d'alginate (m).

La Figure 70 présente les valeurs de l'erreur en fonction de ce critère. Elle montre qu'il existe une relation entre τ et l'erreur sur D . Ceci permet donc de se fixer une limite du critère en dessous de laquelle l'erreur méthode sera jugée acceptable. Dans le cas de données expérimentales, il conviendra, par conséquent, de se placer avec des paramètres procédés (volume de boucle, débit) favorables à une bonne estimation du coefficient de diffusion par un calcul préalable du critère.

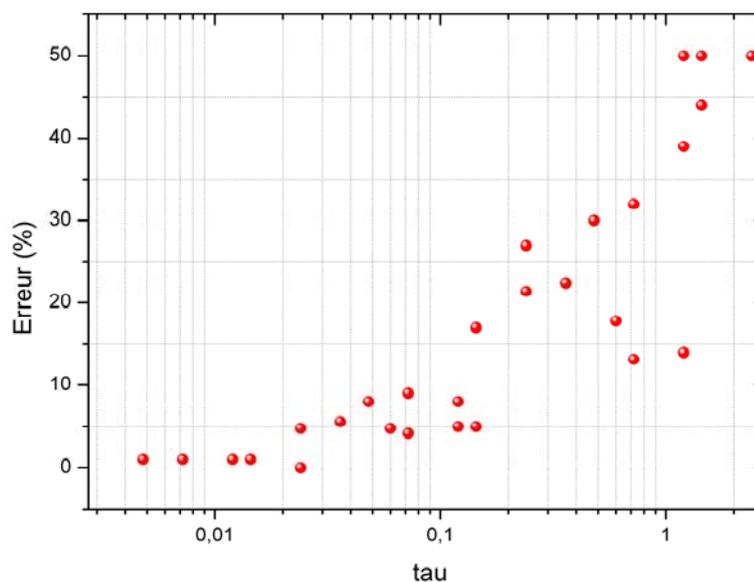


Figure 70 : Pourcentage d'erreur sur D en fonction du rapport des temps caractéristiques de diffusion et de recirculation, pour un volume de solution de 22,5 mL et des volumes de boucle et D variables.

Si l'accroissement du critère se traduit généralement par une augmentation de l'erreur sur l'estimation de D , certains cas ne suivent pas parfaitement cette règle. En effet, la présence d'oscillations, au lieu d'accroître l'erreur, peut la diminuer par compensations. Par

conséquent, le calcul du critère ne saurait être suffisant et l'utilisateur sera attentif à la présence d'oscillations sur un enregistrement de cinétique de diffusion, oscillations caractéristiques du dimensionnement du système. Si celui-ci conduit à la présence d'oscillations, le traitement des données ne pourra se faire par les méthodes classiques présentées dans le cadre de ce travail et la détermination de D devra forcément être numérique.

Afin d'éviter ce cas, il a donc été décidé de se placer dans les conditions pour lesquelles l'erreur sur D reste acceptable en dimensionnant notre système expérimental de façon à éviter l'apparition de ces oscillations et à des faibles valeurs du critère proposé.

Le système expérimental mis en œuvre est composé d'une boucle de 2 mL pour un débit de percolation de 2 mL.min⁻¹. Dans le cas du système alginate de calcium pullulane, nous attendons des coefficients de diffusion compris entre 1.10⁻¹⁰ m².s⁻¹ et 1.10⁻¹³ m².s⁻¹. Le Tableau 9 présente le calcul du critère pour cette plage de coefficients de diffusion.

Coefficient de diffusion (m ² /s)	Critère
1.10 ⁻¹⁰	0,006
1.10 ⁻¹¹	0,0006
1.10 ⁻¹²	0,00006
1.10 ⁻¹³	0,000006

Tableau 9 : Critère attendu pour différents coefficients de diffusion, une boucle de 2mL et un débit de percolation de 2 mL.min⁻¹ et des billes de 2 mm de diamètre.

Ce rapide calcul des critères permet, par comparaison avec la Figure 70, de s'assurer que le dimensionnement de notre système ne sera pas source d'erreurs importantes du point de vue expérimental.

PARTIE 2 Méthode en colonne chromatographique

Les paramètres diffusionnels d'un soluté sont également accessibles par des méthodes indirectes (voir Chapitre I). Dans cette catégorie de méthodes, des phénomènes autres que la diffusion entrent en jeu et doivent être isolés afin d'accéder aux paramètres diffusionnels. Dans le cas des méthodes chromatographiques, l'hydrodynamique des colonnes est à considérer afin de découpler celle-ci de la diffusion. A ce propos, Westrin [Westrin, 1994] qualifie ce type de méthode d'inadaptée pour la mesure de coefficients de diffusion dans les gels, sans toutefois, apporter d'éléments précis appuyant cette affirmation. Un de nos objectifs, sera donc de préciser la faisabilité de la méthode au cas des gels d'alginate de calcium. Les principales approches permettant de traiter ce problème seront abordées dans la deuxième partie de ce chapitre

Nous nous intéresserons, dans cette partie, au cas des colonnes garnies. La colonne est constituée d'un tube de verre généralement rempli de particules solides qui vont former un lit fixe. Ce lit fixe est parcouru par un fluide vecteur qui sert à transporter les solutés à séparer. Le fluide vecteur et les solutés constituent la phase mobile. Les hypothèses de base de ce type d'approche sont :

- un débit constant de fluide porteur,
- une température constante,
- une pression uniforme le long de la colonne.

Classiquement, ce type de montage est utilisé pour étudier le transport en milieu naturel [Tevissen, 1993 ; Benhabib, 2005], en chromatographie inverse lors du transport de gaz dans des polymères [Faridi, 1994], dans le cas des adsorbants [Ouvrard, 2001] ou de la chromatographie d'échange d'ions. Dans cette étude, la phase immobile sera constituée de billes d'hydrogel d'alginate de calcium et, à ce titre, présentera une originalité par rapport aux systèmes généralement utilisés. De même, la large gamme de masses moléculaires, et notamment les masses moléculaires importantes confèrent un autre caractère attractif à ces essais. Les résultats présentés dans ce chapitre sont, à ce titre, exploratoires et permettront de poser les jalons d'études ultérieures en soulignant les limitations actuelles du protocole.

Afin de traiter ce type de problème, deux approches principales permettant de modéliser l'écoulement en vue d'une caractérisation macroscopique peuvent être adoptées. La première consiste à considérer le milieu comme parfaitement homogène et à y appliquer les lois de la mécanique des milieux continus via les équations de Navier-Stokes et la loi de Darcy. La seconde approche, dite « systémique », s'appuie sur la dynamique de systèmes. Elle peut utiliser des modèles continus ou étagés. Cette dernière approche est la plus répandue en génie des procédés et utilise généralement le modèle étagé pour lequel le système est représenté par une série d'éléments homogènes. C'est ce dernier cas que nous avons envisagé dans notre travail.

Dans un premier temps, les mécanismes de transport mis en jeu seront décrits à l'échelle d'une bille puis les outils de modélisation du transport en colonne seront abordés.

I. Les phénomènes de transfert

Quelle que soit l'intensité d'agitation ou la vitesse d'écoulement, l'interface gel/liquide est tapissée d'une couche de liquide d'épaisseur δ au travers de laquelle le soluté ne peut pénétrer que par diffusion moléculaire (théorie de la couche limite). En système fermé, pour limiter la résistance au transfert externe, des conditions de vitesse d'agitation sont mises en œuvre pour que l'écoulement à proximité des billes soit suffisamment turbulent.

Dans le cas de colonnes remplies de billes d'alginate, la situation est similaire : le liquide s'écoulant entre les billes devra posséder une vitesse suffisante pour que la couche visqueuse soit réduite et le temps de transfert externe non limitant.

La densité de flux de transfert ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) du sein du liquide à l'interface est donnée par la loi de Fick :

$$F = -D_0 \frac{\partial C}{\partial x} \quad (\text{III.24})$$

avec D_0 le coefficient de diffusion moléculaire du soluté à dilution infinie.

On lui préfère, cependant, le plus souvent, le modèle simple de la couche de diffusion dit « modèle du film » où le profil de concentration est remplacé par un profil linéaire dans un film de liquide d'épaisseur δ . Si on note C_m la concentration dans le liquide (m pour phase mobile) et C_{im} , la concentration à l'interface, on obtient l'expression de la densité de flux :

$$F = \frac{C_m - C_{im}}{\delta} D_0 \quad (\text{III.25})$$

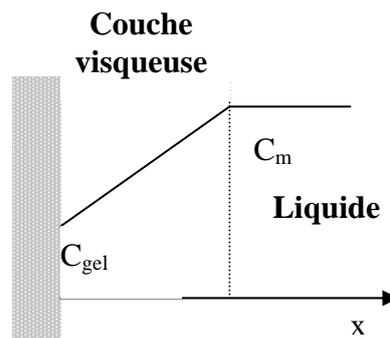


Figure 71 : Modélisation du transfert externe : théorie du film.

Considérons maintenant le flux total arrivant sur un agrégat de volume V_p et de surface externe S_p . Il est possible d'écrire l'égalité entre le flux diffusionnel et l'accumulation de soluté dans le gel (C_{gel} représente la concentration moyenne en soluté dans le gel) :

$$\frac{D_0}{\delta} (C_m - C_{gel}) S_p = V_p \frac{dC_{gel}}{dt} \quad (\text{III.26})$$

Soit en définissant l , la longueur caractéristique de l'agrégat comme le rapport de V_p par S_p :

$$C_m = \frac{l\delta}{D_0} \frac{dC_{gel}}{dt} \quad (\text{III.27})$$

Le temps caractéristique de transfert externe est ainsi défini par la relation [Villermaux, 1981] :

$$t_e = \frac{\delta V_p}{D_0 S_p} \quad (\text{III.28})$$

Afin d'estimer ce temps caractéristique, il est nécessaire de connaître l'épaisseur du film liquide δ . Pour ce faire, des corrélations empiriques existent, généralement données sous la forme d'une relation entre le nombre de Sherwood (Sh), le nombre de Reynolds (Re), le nombre de Schmidt (Sc) et la porosité ε :

$$Sh = A + B Re^n Sc^m \quad (\text{III.29})$$

Avec les expressions suivantes des rapports adimensionnels :

$$Sh = \frac{2a}{\delta} \quad (\text{III.30})$$

$$Re_g = \frac{\rho_l u_l \cdot 2a}{\mu} \quad (\text{III.31})$$

$$Sc = \frac{\mu}{\rho_l D_0} \quad (\text{III.32})$$

Où a est le rayon moyen des particules, ρ_l est la masse volumique du liquide, u_l est la vitesse d'écoulement du fluide et μ sa viscosité.

Différentes relations entre ces trois rapports adimensionnels existent dans la littérature en fonction du régime d'écoulement dans le milieu poreux ou le lit fixe (Tableau 5).

Pour un nombre de Reynolds compris entre 10 et 1000, proposée par Ranz et Levenspiel [Kunii, 1969]

$$Sh = 2 + 1,8 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (\text{III.33})$$

Pour un nombre de Reynolds entre 3 et 10000, la relation de Wakao-Funazkri (1978) peut être utilisée :

$$Sh = 2 + 1,1 Re^{0,6} Sc^{1/3} \quad (\text{III.34})$$

Si $Re \rightarrow 0$, la corrélation de Nelson et Galloway (1975) est fréquemment employée :

$$Sh = \frac{1}{(1-\varepsilon)^{1/3}} \left(\frac{1}{(1-\varepsilon)^{1/3}} - 1 \right) \left(\frac{0,6^2}{2} \right) Re Sc^{2/3} \quad (\text{III.35})$$

Enfin, pour un Reynolds faible (compris entre 0,0015 et 55), on peut citer la relation de Wilson-Geankoplis (1966) :

$$Sh = \frac{1,09}{\varepsilon} Re^{0,33} Sc^{0,33} \quad (\text{III.36})$$

Ces auteurs proposent pour Re compris entre 55 et 1050, cette expression :

$$Sh = \frac{0,25}{\varepsilon} Re^{0,69} Sc^{0,33} \quad (\text{III.37})$$

Equation	Reynolds	Phase	Référence
$Sh = 1.15 \left(\frac{Re}{\varepsilon} \right)^{0.5} Sc^{0.33}$	$Re > 1$	Gaz/Liquide	Carberry, AIChE J., 6, 460 (1960)
$Sh = 2.0 + 1.1 Re^{0.6} Sc^{0.33}$	$3 < Re < 10^4$	Gaz/Liquide	Wakao et Funazkri, Chem. Eng. Sci., 33, 1375 (1978)
$Sh = 1.85 \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right)^{0.33} Re^{0.33} Sc^{0.33}$	$Re < 40$	Liquide	Kataoka et al., J. chem. Eng. Japan, 5, 132 (1972)
$Sh = \frac{1.09}{\varepsilon} Re^{0.33} Sc^{0.33}$	$0.0015 < Re < 55$	Liquide	Wilson et Geankoplis, Ind. Eng. Fundam., 5, 9 (1972)
$Sh = \frac{0.25}{\varepsilon} Re^{0.69} Sc^{0.33}$	$55 < Re < 1050$	Liquide	Wilson et Geankoplis, Ind. Eng. Chem. Fundam., 5, 9 (1966)

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des corrélations pour le coefficient de transfert externe dans les lits d'adsorbants [Perry, 1998]

Ces corrélations illustrent la dépendance du nombre de Sherwood à la vitesse du fluide ainsi qu'à ses propriétés physiques et au diamètre des grains. Connaissant Sh , il est finalement possible de calculer le temps de transfert externe t_e :

$$t_e = \frac{2a.V_p}{D_0 S_p Sh} \quad (\text{III.38})$$

Si t_e est grand, la résistance au transfert dans la couche limite est prépondérante.

Le transfert interne concerne, quant à lui, le transfert du soluté dans la particule de gel par diffusion moléculaire. C'est ce transfert que nous cherchons à estimer dans les essais en colonne de laboratoire.

Pour une sphère, on obtient, à partir du bilan de matière, une estimation de ce temps de transfert interne :

$$t_i = \frac{4a^2}{60D_e} \quad (\text{III.39})$$

Dans le transport au sein de la colonne, ces deux mécanismes peuvent, en réalité, être couplés et leur modélisation en devient plus complexe.

$$t_M = t_e + t_i \quad (\text{III.40})$$

On cherche donc à se placer dans le cas où seul le mécanisme de transfert interne impose sa propre cinétique (il s'agit du processus limitant) et il est le seul à devoir être pris en compte : les autres étapes étant considérées à l'équilibre.

Le calcul des différents temps caractéristiques, rarement possible, permet de déterminer quel est le mécanisme limitant. Le plus souvent, c'est par la variation des conditions opératoires que l'on parvient à discerner l'étape limitante. Le tableau 4 regroupe des expressions permettant de déterminer l'étape limitante.

Propriété de t_M	Etape limitante
$t_M \sim u_L^{-0,5}$	Externe
$t_M \sim l^\alpha$ ($1,0 \leq \alpha \leq 1,5$)	Externe
$t_M \sim l^2$	Interne

Tableau 11 : Récapitulatif des variations de t_M en fonction de l'étape limitante.

Des variations du débit de l'éluant seront envisagées dans notre cas.

II. Aspect théorique : les modèles de transport linéaire en colonne

II.1 Théorie de la distribution des temps de séjour (DTS)

II.1.a Généralités sur la distribution des temps de séjour

La théorie de la distribution des temps de séjour (DTS) est basée sur une approche « systémique » abordée initialement par Danckwerts [Danckwert, 1953] qui a proposé de décrire les écoulements à partir de fonctions de distribution facilement accessibles à l'expérience. Le concept de DTS est directement lié aux notions d'âge interne et d'espérance de vie des molécules dans un système [Villermoux, 1993]. Cette théorie va nous permettre d'exploiter les courbes de percées utilisées pour l'étude de notre système.

L'écoulement est représenté par la distribution des temps de séjour $E(t_s)$ telle que $E(t_s)dt_s$ est la fraction de débit de sortie contenant des molécules d'âge compris entre t_s et t_s+dt_s :

$$E(t_s) = \frac{C(t)}{\int_0^\infty C(t)dt} \quad (\text{III.41})$$

Les conditions de normation conduisent à : $\int_0^\infty E(t_s)dt_s = 1$

Comme toutes les distributions, la DTS peut être caractérisée par ses moments. Le moment d'ordre n μ_n est défini comme :

$$\mu_n = \int_0^\infty t_s^n E(t_s)dt_s \quad (\text{III.42})$$

En pratique, on utilise principalement le moment d'ordre 1, μ_1 (représente le temps de séjour moyen) et l'écart type σ^2 :

$$\mu_1 = \int_0^\infty t_s E(t_s)dt_s \quad (\text{III.43})$$

$$\sigma^2 = \mu_2 - \mu_1^2 = \int_0^\infty (t_s - \mu_1)^2 E(t_s)dt_s \quad (\text{III.44})$$

II.1.b Mesure de la DTS

La mesure de DTS dans une colonne de laboratoire consiste en l'enregistrement du signal de sortie consécutif à l'injection d'un traceur non interactif dans la colonne et en la comparaison des signaux à l'entrée (signal d'injection) et à la sortie du système. Le signal d'entrée peut être de nature différente mais les plus fréquemment utilisés sont l'injection-échelon et l'injection impulsion. Dans tout ce travail, le signal d'entrée est une injection impulsionnelle. Afin d'estimer le temps de séjour moyen et la variance, dans le cas de signaux dissymétriques comme les nôtres, on utilisera le calcul numérique des intégrales définies exprimées au paragraphe I.1.a.

L'obtention de cette DTS permet également de détecter des problèmes de remplissage de la colonne tels que les zones mortes, les volumes stagnants ou les chemins préférentiels par comparaison des moments aux données géométriques du milieu.

II.2 Modèles théoriques de caractérisation des écoulements en colonne

Hypothèses du modèle :

- La colonne de section S contient une fraction de solide Φ_p , uniformément répartie et de porosité ouverte homogène ε
- La porosité ouverte est totalement accessible au fluide par convection et le milieu est saturé ($\theta_{im}=0$). De fait, la fraction mobile θ_m est égale à la porosité : $\theta_m=\varepsilon$;
- Le fluide est incompressible ;
- Le débit volumique est constant ;
- La température est constante.

II.2.a Modèle continu

Hypothèses supplémentaires :

- Le flux de matière est la somme d'un terme convectif et d'un terme dispersif :

$$F = \varepsilon S u_L C + F^* \quad (\text{III.45})$$

où u_L est la vitesse interstitielle (m.s^{-1}).

- Par analogie avec la loi de Fick, le flux de dispersion F^* s'écrit :

$$F^* = -\varepsilon S E \frac{\partial C}{\partial x} \quad (\text{III.46})$$

où E est le coefficient de dispersion hydrodynamique, en général dépendant de la vitesse d'écoulement supposée constante.

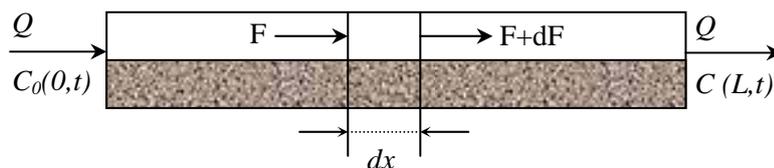


Figure 72 : Représentation schématique du modèle continu.

L'écriture du bilan de matière dans une tranche d'épaisseur dx conduit à la relation classique :

$$u \frac{\partial C}{\partial x} + \frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (\text{III.47})$$

La mise sous forme adimensionnelle de cette expression conduit à introduire deux paramètres : le critère de Peclet et un temps caractéristique.

$$Pe = \frac{uL}{D} \quad (\text{III.48})$$

Et,

$$t_0 = \frac{L}{u} \quad (\text{III.49})$$

où L est la longueur de la colonne(m).

Lorsque le milieu considéré est granulaire, constitué de grains sphériques de rayon a , on peut définir un nombre Reynolds de grain :

$$Re_g = \frac{\rho u \cdot 2a}{\mu} \quad (\text{III.50})$$

avec μ la viscosité du fluide (Pa.s) et ρ sa masse volumique (kg.m^{-3}).

Lorsque Re_g est supérieur à 20 ($L/a > 40$), la dispersion d'un traceur devient gaussienne et peut être modifiée par l'hétérogénéité granulométrique ou l'existence d'une porosité intragranulaire.

Les expressions analytiques de la DTS, en fonction des différentes conditions aux limites, ne dépendent que de Pe et les courbes d'élution théoriques correspondant à une injection impulsion sont indiscernables les unes des autres pour $Pe > 50$. Pour les écoulements fortement dispersifs ($Pe < 50$), la validité de ce type d'approche peut être remise en cause.

II.2.b Modèle étagé : le modèle des mélangeurs en cascade (MC)

Dans ce modèle, la colonne est assimilée à une série de J cellules de même volume V/J . Certaines hypothèses supplémentaires sont, une fois de plus, à envisager :

- La colonne est homogène : chaque cellule contient la même proportion de phase mobile et de phase stationnaire que l'ensemble de la colonne ;
- Dans chaque phase de chaque cellule, les compositions sont uniformes ;
- La composition de la phase mobile est égale, pour chaque cellule à la composition de sortie ;
- La fraction mobile occupe la porosité totale : $\theta_m = \varepsilon$;
- Le débit Q est constant.

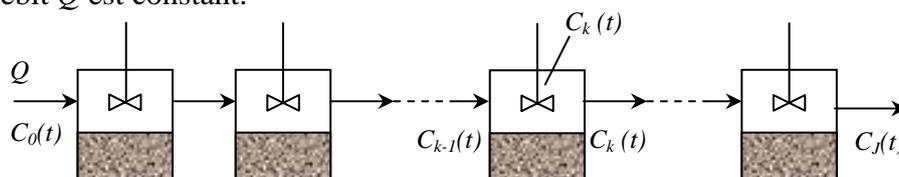


Figure 73 : Représentation schématique du modèle des mélangeurs en cascade.

En supposant que le liquide occupe la porosité totale avec introduction d'un soluté unique sans interaction avec la phase stationnaire, le bilan de matière dans la cellule k s'écrit, par conséquent :

$$Q C_{m,k-1} = Q C_{m,k} + \theta_m \frac{V}{J} \frac{dC_{m,k}}{dt} \quad (\text{III.51})$$

Un nouveau paramètre, le temps de séjour moyen est défini comme :

$$t_m = \frac{\theta_m V}{Q} = \frac{\varepsilon V}{Q} \quad (\text{III.52})$$

Et, en appliquant la transformation de Laplace, le bilan (III.51) peut s'écrire sous forme d'une fonction de transfert pour la $k^{\text{ième}}$ cellule et pour l'ensemble de la colonne :

$$\frac{\bar{C}_{m,k}}{\bar{C}_{m,k-1}} = \left[1 + \frac{st_m}{J} \right]^{-1} \quad (\text{III.53})$$

$$\frac{\bar{C}_{m,J}}{\bar{C}_{m,0}} = \left[1 + \frac{st_m}{J} \right]^{-J} = G(s) \quad (\text{III.54})$$

où $\bar{C}_{m,J}$ est la concentration du traceur en sortie répondant à l'injection $\bar{C}_{m,0}$.

Les moments d'ordre 1 et 2, caractéristiques de cette distribution sont accessibles en appliquant la relation de Van der Laan :

$$\mu_n = (-1)^n \lim_{s \rightarrow 0} \frac{\partial^n G(s)}{\partial s^n} \quad (\text{III.55})$$

Le moment d'ordre 1 est :

$$\mu_1 = t_m \quad (\text{III.56})$$

Le moment centré d'ordre 2 :

$$\sigma^2 = \frac{t_m^2}{J} \quad (\text{III.57})$$

Dès que le nombre de Péclet devient supérieur à 50, les courbes d'éluion obtenues à partir des modèles continus et en cascade deviennent indiscernables et l'on peut relier par identification le critère de Péclet au nombre J de mélangeurs [Villermans, 1981]:

$$Pe = 2(J - 1) \quad (\text{III.58})$$

Les expressions des moments d'ordre 1 et 2 fournies par le modèle continu et le modèle étagé se confondent.

Cette situation ne caractérise pas parfaitement notre système expérimental pour lequel, une partie du fluide est immobile, contenue dans le gel d'alginat de calcium.

II.2.c Mélangeurs en cascade avec échange (MCE)

Faisons maintenant l'hypothèse que seule une partie du fluide est mobile dans le milieu. Soient θ_m la fraction de fluide mobile et θ_{im} la fraction de fluide stagnant (dans notre cas, fraction de gel dans la colonne). L'échange de matière entre ces deux fluides se fait par diffusion moléculaire et cet échange est supposé suivre une loi linéaire où la vitesse de transfert de matière $r_{m,k}$ est proportionnelle au gradient de concentration entre phases mobile et immobile.

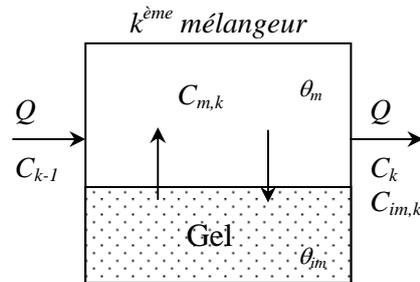


Figure 74 : Modèle des mélangeurs avec échange.

L'écriture du bilan sur le soluté dans la zone mobile conduit à l'expression suivante :

$$Q C_{m,k-1} = Q C_{m,k} + \theta_m \frac{V}{J} \frac{dC_{m,k}}{dt} + \theta_{im} \frac{V}{J} \frac{dC_{im,k}}{dt} \quad (\text{III.59})$$

Dans la zone liquide immobile du gel se produit la diffusion du soluté représentée par la Figure 75.

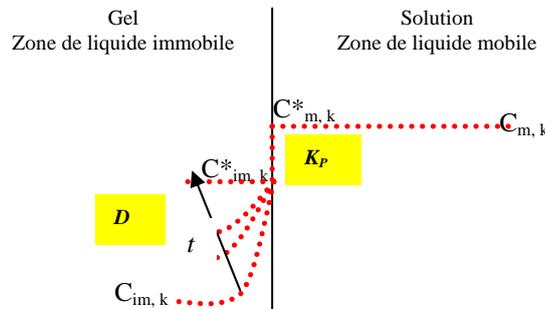


Figure 75 : Schématisation du transfert interne dans la bille d'alginate en supposant un transfert externe négligeable.

Le bilan de matière en soluté dans la phase immobile s'écrit donc :

$$\frac{dC_{im,k}}{dt} = \frac{(C_{im,k}^* - C_{im,k})}{t_M} \quad (\text{III.60})$$

où t_M est défini comme le temps de transfert dans la phase immobile ;
 $C_{im,k}^*$ est la concentration en soluté dans la phase immobile à l'équilibre

Or, par définition le coefficient de partage entre la phase gel et la solution s'exprime comme :

$$K_P = \frac{C_{im,k}^*}{C_{m,k}^*} \quad (\text{III.61})$$

où $C_{m,k}^*$ est la concentration dans la solution à l'équilibre de partage.

En l'absence de limitation au transfert externe, il est possible d'exprimer K_P en fonction de la concentration en soluté dans la phase mobile :

$$K_P = \frac{C_{im,k}^*}{C_{m,k}} \quad (\text{III.62})$$

Par conséquent, le bilan dans la phase immobile peut se réécrire dans le domaine de Laplace sous la forme :

$$\bar{C}_{im,k} = \bar{C}_{m,k} \frac{K_P}{1 + st_M} \quad (\text{III.63})$$

On pose :

$$t_m = \frac{\theta_m V}{Q} \quad (\text{III.64})$$

Et

$$K_{im} = \frac{\theta_{im}}{\theta_m} \quad (\text{III.65})$$

Dans le domaine de Laplace, le bilan dans la phase mobile et l'expression (III.63) permettent d'exprimer la fonction de transfert du $k^{\text{ième}}$ mélangeur :

$$\frac{\bar{C}_{m,k}}{\bar{C}_{m,k-1}} = \frac{1}{1 + \frac{t_m s}{J} \left(1 + \frac{K_{im} K_P}{1 + st_M} \right)} \quad (\text{III.66})$$

Et, de proche en proche, pour les J mélangeurs, on obtient :

$$\frac{\bar{C}_{m,J(s)}}{\bar{C}_{m,0(s)}} = \left[1 + \frac{st_m}{J} \left(1 + \frac{K_{im} K_P}{1 + st_M} \right) \right]^{-J} \quad (\text{III.67})$$

L'application de la relation de Van der Laan conduit à :

$$\mu_1 = t_m (1 + K_{im} K_P) \quad (\text{III.68})$$

$$\sigma^2 = \frac{\mu_1^2}{J} + \frac{2K_{im} K_P}{(1 + K_{im} K_P)} t_M \mu_1 \quad (\text{III.69})$$

Ce modèle permet donc une représentation simple de la diffusion du soluté dans le fluide immobile présent dans un gel. Le nombre de paramètres indépendants est, par contre, accru. Une optimisation numérique sera donc requise pour la détermination des 4 paramètres J , K' , t_M et t_m .

Conclusion

Dans la partie réservée aux essais de chargement en réacteur agité, un certain nombre de recommandations ont été formulées de façon à limiter les erreurs d'estimation. Ces recommandations peuvent être subdivisées en deux parties : celles liées à l'utilisation des résolutions classiques et donc purement associées à l'utilisation des cinétiques de diffusion et celles liées à l'expérimentation.

A l'issue de ce chapitre, une liste de recommandations peut ainsi être formulée.

Recommandations expérimentales

- *Le remplissage du réacteur devra satisfaire la mise en suspension des billes et d'après les travaux de Petersen et al. [Petersen, 1991] α doit être le plus faible possible. Par conséquent, et pour des raisons expérimentales, le ratio V_{sol}/V_{gel} sera pris égal à la valeur minimale permettant la dispersion des billes étant donné que K_P est imposé par le couple alginate/pullulane considéré. Dans notre cas, nous considérerons une dispersion de 20g de billes dans 22,5 g de solution.*
- *L'agitation dans le réacteur devra être suffisante pour éviter les limitations au transfert de matière.*
- *Si des essais avec prélèvement sont réalisés, le volume de ceux-ci n'excèdera pas 10 % du volume de solution si on souhaite limiter les erreurs dues aux prélèvements à 5 % environ. Il est important de souligner que des erreurs supplémentaires interviennent dans ces essais avec prélèvements. En effet, les prélèvements induisent des erreurs liées au temps et au volume de prélèvement et également aux dosages des échantillons. Dans le cas d'essais avec prélèvement, nous avons choisi de ne pas dépasser 10% de prélèvement de la solution initiale.*
- *Dans notre cas, nous avons souhaité éviter cette accumulation d'erreur, en mettant au point une nouvelle méthode sans prélèvement utilisant une boucle d'analyse. Une analyse méthodologique de l'erreur résultant de la boucle d'analyse (même si elle possède un volume réduit) a permis de démontrer que, dans certains cas, cette boucle généralement négligée peut conduire à des oscillations du signal ou à des perturbations plus discrètes tout autant susceptibles de générer des erreurs sur l'estimation de D . Grâce à l'utilisation d'une modélisation du système expérimental, des cinétiques de diffusion ont été simulées et nous ont permis d'estimer l'erreur méthode associée à l'utilisation de la boucle d'analyse. Un critère représentatif des phénomènes concurrents, dans l'utilisation de ce protocole pour l'enregistrement d'une cinétique de diffusion, a été proposé par l'intermédiaire du rapport du temps de recirculation dans la boucle au temps de diffusion du soluté dans une bille, pour des rapports du volume de boucle au volume de solution (22,5 mL) différents. Une relation est établie entre l'erreur estimée et la valeur de ce critère qui permet de vérifier, a priori, quel ordre de grandeur de l'erreur résultera d'un dimensionnement donné.*

Recommandations liées à l'exploitation des données

- *Ces recommandations sont directement liées à une analyse de sensibilité de paramètres effectuée sur les expressions des résolutions formulées par Crank. L'étude détaillée du cas volume fini de solution a permis de montrer qu'il existe un optimum de sensibilité de D par rapport à M/M_{∞} , que l'on se place dans la situation*

expérimentale d'une libération ou d'une incorporation de soluté. Cet optimum indépendant de D est, par contre, fonction des conditions opératoires par l'intermédiaire du paramètre α . Par conséquent, pour chacun des essais, ce paramètre sera déterminé permettant la définition de l'optimum de sensibilité de D et du domaine autour duquel D sera estimé. Une perspective serait d'étendre ces résultats numériques sous forme analytique de façon à, notamment, démontrer analytiquement le domaine d'indépendance de l'optimum à D .

Dans la partie dédiée aux essais en colonne de laboratoire, les concepts issus du transport en milieu poreux ont été adaptés à notre système. Ils seront appliqués dans le chapitre V à des essais exploratoires d'utilisation de ce type de montage.

Enfin, l'observation des résolutions de Crank conduit également à souligner l'importance de la bonne estimation de K_p , le coefficient de partage. Le coefficient de partition d'un soluté entre un gel et une solution diluée est particulièrement important en chromatographie d'exclusion stérique, dans les séparations membranaires ou encore pour comprendre les phénomènes de transport de protéines ou de macromolécules dans les tissus biologiques... Dans d'autres travaux, celui-ci peut être utilisé pour caractériser les propriétés de la matrice gel en contact avec la solution dans laquelle il est en solution. Outre ces deux objectifs de compréhension des mécanismes de transport et de caractérisation des systèmes (traités au chapitre III), la connaissance de K_p relève d'enjeux purement méthodologiques. En effet, partition et diffusion sont intimement liés du point de vue des méthodologies expérimentales. Ce lien résulte non seulement de l'enchaînement chronologique de ces deux mécanismes (l'équilibre de partage intervient une fois la cinétique de diffusion réalisée), mais aussi du fait que le coefficient de diffusion n'est accessible qu'à condition de connaître le coefficient de partage. Une bonne illustration de ce lien peut être donnée par l'expression proposée par Crank (1975), comme résolution de la loi de Fick pour la libération de soluté depuis une sphère dans le cas de volumes finis de solution (relation III.12). Celle-ci illustre la nécessité, dans le cadre d'une approche méthodologique, de la détermination indépendante de chacun de ces paramètres. En effet, bien qu'un seul essai permette d'accéder à ces deux grandeurs, les déterminer indépendamment évite le cumul des erreurs. Le chapitre suivant sera, par conséquent, consacré à l'étude du partage du pullulane dans les hydrogels d'alginate de calcium.

Table des Figures

Figure 1 : Comparaison des deux solutions de Crank simplifiées, pour $M/M_\infty < 0,9$ et $M/M_\infty < 0,2$, dans le cas d'une libération de soluté.	85
Figure 2 : Influence de prises d'échantillon sur M/M_∞ par simulation. L'évolution de la concentration normée correspond à la libération du soluté dans une solution de concentration initialement nulle.	87
Figure 3 : Erreur relative de M/M_∞ à D en fonction de M/M_∞ pour différentes valeurs du coefficient de diffusion et dans le cas d'une libération, pour $\alpha = 1$	88
Figure 4 : Sensibilité relative de M/M_∞ à D en fonction de M/M_∞ pour différentes valeurs du coefficient de diffusion et dans le cas d'une incorporation, pour $\alpha = 1$	89
Figure 5 : Erreur relative pour $D=1.10^{-10}m^2.s^{-1}$, $D= 1.10^{-13}m^2.s^{-1}$ et différents α , dans le cas d'une incorporation.	90
Figure 6 : Erreur relative pour $D=1.10^{-9}m^2.s^{-1}$, $D= 1.10^{-11}m^2.s^{-1}$ et $D= 1.10^{-11}m^2.s^{-1}$, à différents α , dans le cas d'une libération.	90
Figure 7 : Schématisation d'un montage avec boucle d'analyse et allure de la courbe de diffusion attendue en l'absence d'effet de la boucle.	92
Figure 8 : Distribution des Temps de Séjour (DTS) expérimentale en l'absence de billes et à différents débits suite à une injection de dextrane.	92
Figure 9 : Zoom sur la DTS expérimentale en l'absence de billes et à différents débits.	92
Figure 10 : Enregistrement d'un profil de concentration d'éthanol en fonction du temps pour un montage de type cellule de diffusion équipé d'une recirculation [Brown, 1973].	93
Figure 11 : Schéma simplifié du montage avec localisation des différentes concentrations. ..	94
Figure 12 : Modélisation d'une bille par une cascade de réacteurs parfaitement agités (RPA).	95
Figure 13 : Courbes simulées en l'absence de diffusion et pour différents volumes de la boucle d'analyse (de 2 à 20 mL) pour 22,5 mL de solution.	96
Figure 14 : Comparatifs de courbes pour des ratios $V_{\text{boucle}}/V_{\text{solution}}$ variables : (à gauche) $D=1.10^{-9}m^2.s^{-1}$; (à droite) $D= 1.10^{-11}m^2.s^{-1}$	97
Figure 15 : Pourcentage d'erreur sur D en fonction du rapport des temps caractéristiques de diffusion et de recirculation, pour un volume de solution de 22,5 mL et des volumes de boucle et D variables.	98
Figure 16 : Modélisation du transfert externe : théorie du film.	101
Figure 17 : Représentation schématique du modèle continu.	105
Figure 18 : Représentation schématique du modèle des mélangeurs en cascade.	106
Figure 19 : Modèle des mélangeurs avec échange.	108
Figure 20 : Schématisation du transfert interne dans la bille d'alginate en supposant un transfert externe négligeable.	108

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Estimation de l'erreur entre D_{in} et D_{out} avec un domaine $[t_{recirculation}; t_{\infty}]$	97
Tableau 2 : Critère attendu pour différents coefficients de diffusion, une boucle de 2mL et un débit de percolation de $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et des billes de 2 mm de diamètre.....	99
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des corrélations pour le coefficient de transfert externe dans les lits d'adsorbants [Perry, 1998].....	103
Tableau 4 : Récapitulatif des variations de t_M en fonction de l'étape limitante.....	104

Chapitre IV

Partition de macromolécules dans un hydrogel

Introduction

Le partage de solutés moléculaires entre deux phases, lié à la thermodynamique des solutions, a largement été décrit dans la littérature sous le jour de relations entre coefficient de partage et propriétés structurelles du système expérimental.

Cette approche liée à la description du couple soluté/matrice s'est avérée relativement efficace pour des solutés de taille limitée et moyennant, le plus souvent, l'utilisation d'un paramètre d'ajustement. De fait, l'approche prédictive des équilibres de partage reste difficile pour bien des systèmes.

En outre, notre étude bibliographique nous a permis de recenser les données expérimentales de la littérature. Celle-ci a démontré une faiblesse des données correspondant aux très gros solutés et aux matrices peu denses.

Notre travail s'est donc orienté vers ce type de systèmes avec pour but, l'étude des mécanismes de partage et l'application des modèles de la littérature à ces conditions très éloignées de celles pour lesquelles ils ont été initialement conçus.

Dans la première partie, les multiples approches descriptives de systèmes soluté/gel sont abordées en conduisant à différentes expressions du coefficient de partage. Ces expressions fourniront des relations entre coefficient de partage et paramètres structuraux du soluté et de la matrice, basées sur une vision hétérogène du système.

Dans la partie expérimentale, la détermination des coefficients de partage les plus précis possibles a été l'objectif central, de façon à être en mesure de tester les modèles existants. Pour ce faire, une méthodologie a été mise en œuvre de façon à limiter au maximum les erreurs expérimentales. Celles-ci ont, à ce titre, été évaluées par la répétition des essais. Les données brutes et quelques essais préliminaires fonction de la concentration en soluté et de la température sont présentés.

Ces données sont modélisées dans la troisième partie de ce chapitre de façon à déterminer le type d'approche permettant de modéliser le plus finement notre système et afin d'apporter des éléments pour une amélioration éventuelle de ceux-ci. Un soin tout particulier est accordé à la présentation des résultats avec des calculs de sensibilités de paramètres appliqués à certains de ces modèles. Ces calculs permettent de quantifier les effets de la méconnaissance de certains paramètres expérimentaux liés à la description de la matrice ou du soluté.

Bien que certaines données structurelles soient difficilement accessibles, les coefficients de partage expérimentaux permettront d'évaluer l'aspect prédictif des modèles de partage. Sur cette base, un bilan des modèles est dressé et des perspectives expérimentales ainsi que des pistes explicatives sont proposées.

A/ Modèles de partition dans les gels

I. Description du système soluté/matrice

Le Tableau 12 donne une vue schématique de la façon dont notre système alginate de calcium/pullulane peut être décrit. Deux grandes visions peuvent être définies suivant que les polymères du soluté et de la matrice sont décrits sous la forme d'une solution ou non. Les hydrogels peuvent être supposés homogènes (non poreux, non fibreux) : les chaînes polymères ont alors une grande affinité avec le solvant et présentent une grande mobilité. Le système peut, dans ce cas, être considéré comme monophasique. Une vision différente consiste à postuler, les hydrogels comme étant hétérogènes, caractérisés par des zones où les chaînes polymères et le solvant forment deux phases distinctes. Dans ce cas la matrice pourra être décrite comme poreuse ou fibreuse.

Le soluté, quant à lui, peut être considéré comme sphérique et rigide, dans les cas les plus simples, ou, au contraire, comme une chaîne parfaitement flexible.

Bien entendu, cette vision est extrêmement schématique et d'autres améliorations pourront être faites : distribution des rayons de pore, des rayons de fibre, soluté plus ou moins flexible, etc...

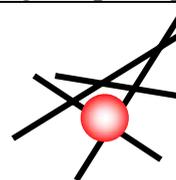
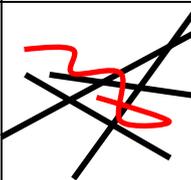
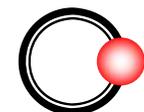
Matrice homogène		Modèle solution et soluté flexible		
				
Matrice hétérogène			Soluté	
			<i>Rigide sphérique</i>	<i>Flexible</i>
	Matrice	<i>Fibreuse</i>		
		<i>Poreuse</i>		

Tableau 12 : Vue schématique des différentes descriptions possibles du couple soluté/matrice.

Ce tableau permet de souligner que le partage est dépendant du rapport des dimensions caractéristiques du soluté et de la matrice et non de chacun de ces paramètres pris indépendamment, d'où la nécessité de modéliser l'un et l'autre de ces composants.

Face à cette description du système, différentes approches ont été mises en œuvre dans le but de relier paramètres structuraux du gel et du soluté et coefficient de partage, approches que l'on peut résumer en trois grandes étapes.

Parmi ces développements, les plus anciens ont été construits grâce à des approches purement géométriques, sous la forme, par exemple, de rapport entre surface réellement accessible à un soluté de rayon r_s et aire totale de la porosité considérée. Dans ces modèles, le réseau est

souvent considéré comme poreux (porosité simplifiée constituée de cylindres uniformes, de plans parallèles...) et le soluté rigide et sphérique.

Sitôt que l'on considère des améliorations supplémentaires, notamment dans la forme du soluté (bâtonnets) on perçoit que des outils probabilistes doivent être mis en œuvre afin de recenser l'ensemble des configurations de soluté dans un environnement donné. Mais, devant l'impossibilité d'inventorier l'ensemble de ces conformations du soluté dans un pore, l'utilisation des probabilités a tout d'abord été appliquée à la définition du gel. Une répartition aléatoire de segments linéaires (les fibres de gel) permet d'énoncer une loi de répartition gaussienne des volumes disponibles au soluté dans une matrice considérée alors fibreuse. Finalement, la probabilité de présence du soluté dans le solvant est ainsi définie.

Une troisième étape s'est traduite par l'amélioration des modèles de partition liée aux progrès de la modélisation moléculaire qui permettent d'envisager dans le réseau de fibres orientées aléatoirement, la partition de molécules flexibles.

Ces approches seront détaillées dans les paragraphes suivants sans toutefois s'attarder sur les développements mathématiques ayant conduit aux relations énoncées mais en soulignant les hypothèses fortes des divers modèles.

II. Soluté rigide, matrice fibreuse

Ce cas est généralement décrit par le modèle proposé à l'origine par Ogston. La description d'un système fibreux est simple si l'on considère que les fibres forment un réseau régulier bi ou tri-dimensionnel. Cependant, la réalité correspond d'avantage à une distribution, au hasard, des fibres au sein du gel, et, par voie de conséquence, à une distribution de la taille des mailles du gel. Ogston [Ogston, 1958] a proposé un modèle décrivant la répartition des espaces au sein d'une suspension fibreuse à laquelle nous pouvons comparer la structure des gels d'alginate.

Les hypothèses de ce modèle sont cependant nombreuses. Les fibres sont considérées comme rectilignes. Chaque fibre est supposée avoir une longueur donnée et sa position peut donc être définie par rapport à son centre. La suspension possède, par hypothèse, une densité uniforme ; par conséquent, le nombre de centres par unité de volume est, en moyenne, constant. L'orientation des fibres est aléatoire car le système est isotrope et elle peut être définie par l'angle ψ formé avec une ligne arbitraire joignant le centre d'une fibre à l'origine. La taille des espaces est définie grâce à un point origine, pris aléatoirement dans la solution et une surface sphérique étendue jusqu'à la fibre la plus proche (soit par un contact tangentiel, soit par contact de l'extrémité d'une fibre, voir Figure 76).

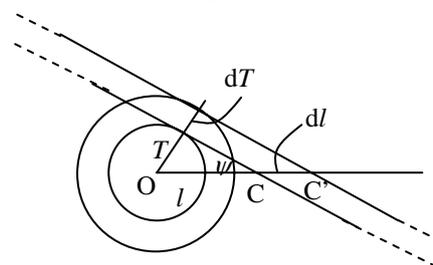


Figure 76 : O est l'origine, C et C' les centres des fibres, l la distance entre l'origine et le centre des sphères, T est la distance tangentielle d'une fibre à l'origine, ψ est l'angle que fait la fibre avec la ligne joignant son centre à O .

Une approche probabiliste des intervalles présents dans la suspension conduit après intégration de la relation obtenue sur le domaine des distances de séparation possibles, pour

un soluté sphérique, à la relation donnant le coefficient de partage en fonction du rayon du soluté r_s , de celui des fibres r_f et de la fraction volumique de fibres Φ_p :

$$K_p = \exp\left(-\Phi_p \left(1 + \frac{r_s}{r_f}\right)^2\right) \quad (\text{IV.1})$$

Bosma et Wesselingh [Bosma et Wesselingh, 2000] proposent une amélioration de ce modèle prenant en compte le chevauchement des fibres. La relation obtenue est voisine de celle de Ogston mais la différence entre les deux devient importante pour les fractions volumiques élevées (voir Figure 77).

Ces auteurs proposent la relation suivante :

$$K_p = (1 - \Phi_p)^{(1 + (r_s/r_f))^2} \quad (\text{IV.2})$$

On note que, pour ces approches, le soluté est décrit par r_s , le rayon de soluté, sans plus de précisions. L'ambiguïté présentée au chapitre II est ici parfaitement illustrée. S'agit-il du rayon du soluté, du rayon de giration ou d'une autre grandeur ? Le modèle de Ogston supposant un soluté rigide et sphérique, r_s sera donc, en principe, assimilé, au rayon hydrodynamique des pullulanes.

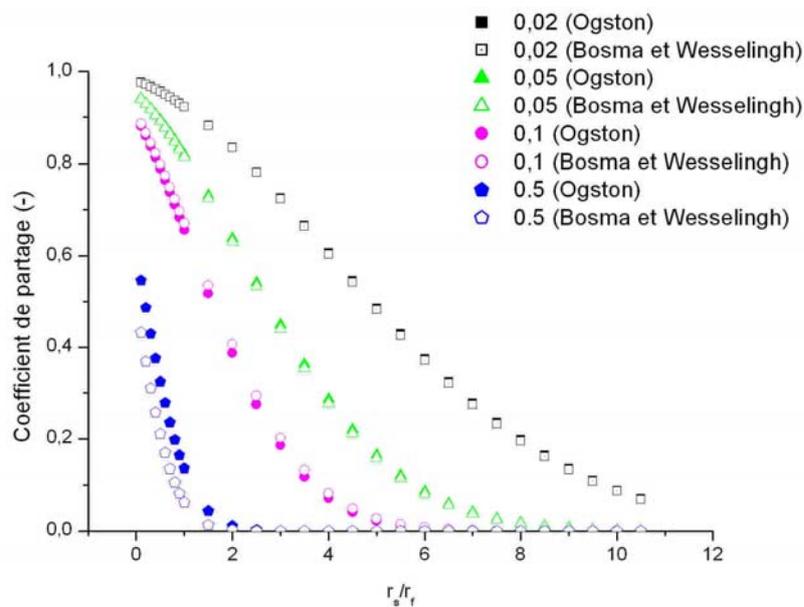


Figure 77 : Comparatif des modèles de Ogston et de Bosma et Wesselingh pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel.

Etant donné que les hydrogels d'alginate de calcium utilisés se situent dans les faibles gammes de fraction volumique en polymère dans le gel, l'intérêt de la modification proposée par Bosma et Wesselingh reste donc, dans notre cas, limité.

III. Soluté flexible, matrice fibreuse

Le modèle de base proposé par Ogston a fait l'objet de nombreuses autres modifications ayant pour but, pour certaines, de tenir compte de l'influence de la flexibilité du soluté.

Les travaux de White et Deen [White et Deen, 2000] en sont un exemple. Le réseau fibreux est similaire à celui du modèle de Ogston, composé de cylindres rectilignes infiniment longs de rayon r_f orientés aléatoirement. Le soluté est considéré comme une chaîne de n points massiques, reliés par $n-1$ segments linéaires de longueur l .

Pour des chaînes libres, le rayon de giration est donné par :

$$r_g = \left[\frac{(n-1) \cdot (n+1)}{6n} \right]^{\frac{1}{2}} l \quad (\text{IV.3})$$

L'espèce diffusante est supposée en solution suffisamment diluée pour que les interactions entre solutés soient négligeables, les seules interactions éventuelles étant celles établies entre le soluté et le réseau polymère.

Dans de tels systèmes, la taille du soluté pouvant excéder celle de l'espace inter fibre du réseau, la chaîne de soluté peut être amenée à interagir avec plusieurs fibres simultanément. Une méthode simplifiée consiste à décrire la position du soluté par la position d'une de ses extrémités et de décrire son environnement par rapport à ce point. Les fibres sont ainsi définies comme plus proche voisin, deuxième plus proche voisin, troisième, *etc.*, par rapport à ce point.

Le coefficient de partage est alors donné comme le produit des probabilités Φ_i , où Φ_i est la probabilité qu'une chaîne placée arbitrairement évite le chevauchement avec la $i^{\text{ème}}$ plus proche fibre :

$$K_p = \prod_{i=1}^{\infty} \Phi_i \quad (\text{IV.4})$$

Si $p(s)$ est la probabilité qu'une chaîne dont l'extrémité se situe à une distance s d'une fibre ne touche pas cette fibre et si $g_i(s)$ est la fonction de densité de probabilité décrivant la distance de la $i^{\text{ème}}$ plus proche fibre alors :

$$\Phi_i = \int_0^{\infty} p(s) g_i(s) ds \quad (\text{IV.5})$$

En d'autres termes, $p(s)$ représente la probabilité d'éviter une fibre donnée, en considérant toutes les distances de séparation. Ici, l'échelle des distances est le rayon de fibre vu que $s \equiv h/r_f$ avec h , la distance à la surface de la fibre.

La fonction densité de probabilité $g_i(s)$ est obtenue par un raisonnement basé sur les travaux d'Ogston.

L'évaluation de $p(s)$ est réalisée à partir de deux méthodes suivant que n est fini ou tend vers l'infini.

Dans le cas où $n \rightarrow \infty$, l'expression de $p(s)$ est obtenue en résolvant une équation différentielle similaire à celles décrivant les phénomènes transitoires de conduction thermique ou de diffusion dans un cylindre. Dans le cas de chaînes libres, avec n fini, une méthode de Monte-Carlo est utilisée pour modéliser $p(s)$.

Le modèle finalement proposé est :

$$K_p = \exp[-(1 + \pi^a \lambda^b) \Phi_p] \quad (\text{IV.6})$$

Avec :

$$a = 1 - \exp\left[-\frac{n-2}{4}\right] \quad (\text{IV.7})$$

Et :

$$b = \frac{3}{2} - \frac{1}{2} \exp\left[-\frac{\sqrt{n-2}}{8}\right] \quad (\text{IV.8})$$

avec λ le rapport du rayon de giration au rayon des fibres.

La figure 3 présente un comparatif du modèle de White et Deen à celui d'Ogston. Les calculs ont été réalisés pour différentes masses moléculaires de soluté permettant de déduire r_H ou r_g suivant le modèle considéré. Il apparaît que la prise en compte d'une certaine flexibilité du soluté conduit à des coefficients de partage accrus, toutes choses égales par ailleurs.

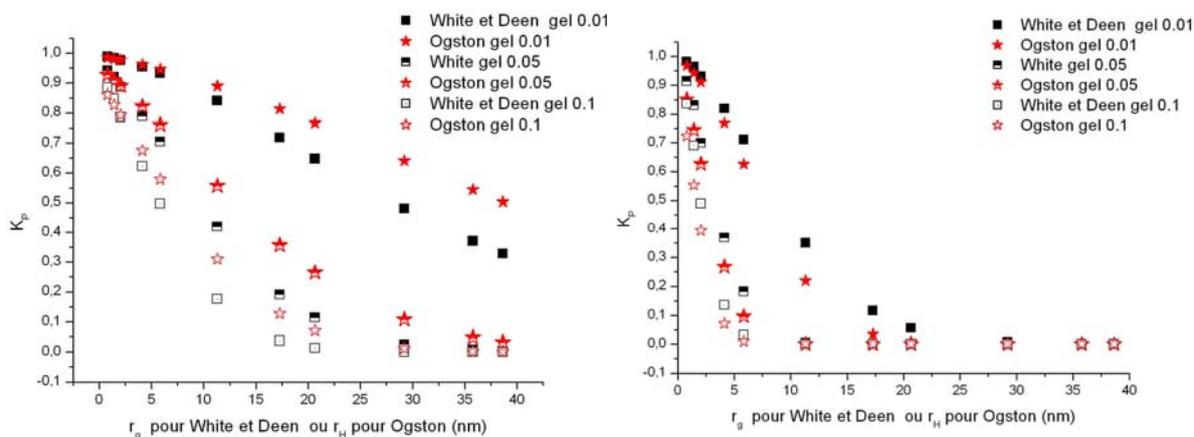


Figure 78 : Comparaison des modèles de Ogston et White et Deen (en posant $r_f = 3,5$ nm (à gauche) et $r_f = 1$ nm (à droite) et $l = 1,6$ nm) et pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel.

On peut se demander si les écarts entre les deux modèles sont dus à la prise en compte de la flexibilité du soluté utilisée dans la méthode de Monte-Carlo dans le cas de la relation de White et Deen ou bien à l'utilisation du rayon de giration plutôt que le rayon hydrodynamique. Le même comparatif a donc été réalisé Figure 79 en utilisant dans la relation d'Ogston, r_g à la place de r_H . Il s'avère que dans ce cas il existe assez peu de différence entre les deux modèles, notamment pour les fractions volumiques en polymère élevées.

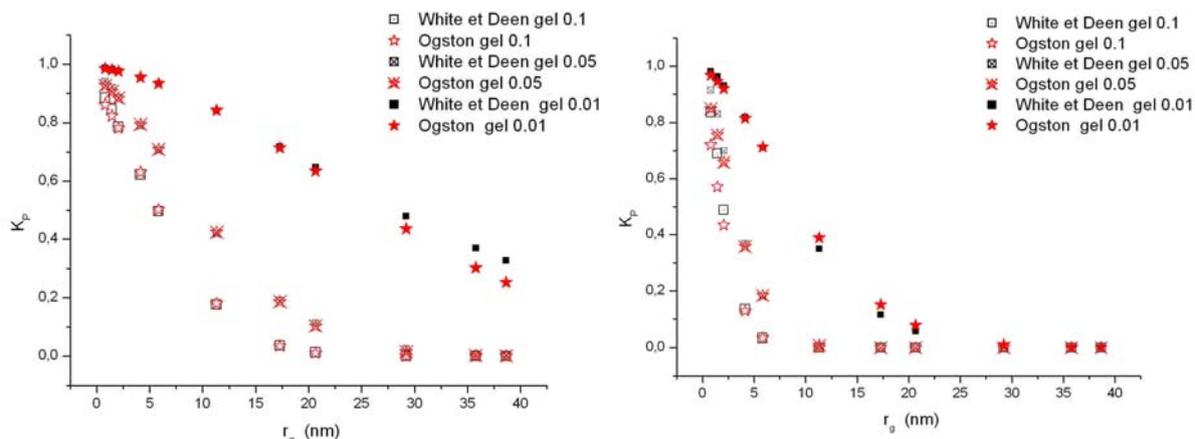


Figure 79 : Comparaison des modèles d'Ogston et de White et Deen (en posant $r_f = 3,5$ nm (à gauche) et $r_f = 1$ nm (à droite) et $l = 1,6$ nm) et pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel. Dans ce cas, le rayon du soluté est pris égal au rayon de giration dans les deux modèles.

La Figure 79 souligne les conséquences importantes de l'utilisation du rayon hydrodynamique et du rayon de giration alors que la distinction n'apparaît pas systématiquement de façon claire dans de nombreux travaux.

IV. Soluté rigide sphérique, matrice poreuse

Une autre approche, certainement la plus simple, considère un soluté rigide sphérique dans des pores circulaires de rayon r_p . Cette approche très ancienne, probablement rencontrée initialement [Lazzara, 2000] dans les travaux de Pappenheimer et *al.* [Pappenheimer, 1951] conduit à la relation (démonstration faite au chapitre I) :

$$K_p = \left(1 - \frac{r_s}{r_p}\right)^2 \quad (\text{IV.9})$$

Ici encore, r_s décrit le soluté. Nous choisirons, comme précédemment dans le cas d'un soluté rigide, de l'assimiler au rayon hydrodynamique.

Giddings et *al.* [Giddings, 1968], grâce à la mécanique statistique et à des arguments géométriques, ont formulé des expressions du coefficient de partition de macromolécules rigides dans des pores de forme simple. Le réseau est obtenu par l'association aléatoire de plans se coupant. Ces travaux présentent non seulement les résultats dans le cas d'un soluté sphérique mais aussi dans celui de bâtonnets, de tores (« doughnuts ») ou d'ellipsoïdes (aplatis ou allongé). La relation générale est :

$$K_p = \exp(-s\bar{L}/2) ; \quad (\text{IV.10})$$

où \bar{L} est la longueur moyenne de la molécule suivant les différents plans. Ceci signifie que cette relation est adaptable à tout type de géométrie pourvu que l'on puisse exprimer \bar{L} . s est la surface par unité de volume libre. En d'autres termes s représente l'inverse de la taille des pores et $s\bar{L}$ est donc un ratio de tailles (de molécule à celle du pore).

V. Soluté flexible, matrice poreuse

Casassa et *al.* [Casassa, 1969] ont montré que le coefficient de partage pour une chaîne flexible dans un pore cylindrique pouvait être calculé en résolvant une équation analogue à celle qui gouverne la conduction de chaleur ou la diffusion en régime transitoire, dans un cylindre. On obtient la relation :

$$K_p = 4 \sum_{i=1}^{\infty} \left(\frac{1}{\alpha_i^2} \right) \exp(-\alpha_i^2 \lambda_G^2); \quad (\text{IV.11})$$

avec :

$$\lambda_G = \frac{r_g}{r_p}, \quad (\text{IV.12})$$

et α_i les racines de $J_0(\alpha)=0$, J_0 représentant la fonction de Bessel de première espèce et d'ordre 0.

Casassa et Tagami [Casassa, 1969] ont étendu, par la suite, ces résultats au cas de polymères branchés.

Les tendances fournies par cette approche adaptée aux polymères possédant un nombre infini de segments de longueur très faible ont été confirmées par Daoud et de Gennes [Daoud, 1977] qui ont utilisé des notions de loi d'échelle. Ces derniers ont étendu les résultats obtenus pour le cas de chaînes polymères en solvant θ au cas des bons solvants. Malheureusement, leur approche ne fournit pas de coefficients numériques, rendant impossible toute comparaison quantitative.

On peut noter que l'approche de Giddings et *al.* [Giddings, 1968], dans le cas d'un soluté sous la forme d'un bâtonnet rigide constitue un comportement limite de cette approche : la chaîne à un seul segment.

B/ Détermination expérimentale des coefficients de partage

I. Protocole de détermination

Les billes de gel, à l'équilibre de gonflement, sont mises en contact avec une solution de pullulane à 1 g.L⁻¹ dans NaCl / CaCl₂ (0,1 mol.L⁻¹ / 0,1 mol.L⁻¹). L'incorporation du soluté dans le gel des billes initialement vierges de soluté conduit à une situation d'équilibre de partage. Connaissant les volumes des phases en contact (V_{sol} et V_{gel}), les concentrations initiales ($C_{sol, init.}$) et à l'équilibre ($C_{sol, équ.}$) en pullulane, il est possible d'accéder au coefficient de partage du pullulane K_p entre l'hydrogel d'alginate de calcium et la solution :

$$K_p = \left(\frac{C_{gel}}{C_{sol}} \right)_{\text{équilibre}} = \frac{C_{sol, init.} \cdot V_{sol} - C_{sol, équ.} \cdot V_{sol}}{C_{sol, équ.} \cdot V_{gel}} \quad (\text{IV.13})$$

La variance de K_p (voir Annexe IV. 1) peut s'écrire :

$$\sigma_{K_p} = \sqrt{\left(\frac{C_0 \cdot V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{C_{sol, \acute{e}qu.}}^2 + \left(\frac{V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{C_0}^2 + \left(\frac{C_0 - C_{sol, \acute{e}qu.}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{V_{sol}}^2 + \left(\frac{V_{sol} \cdot (C_0 - C_{sol, \acute{e}qu.})}{C_{sol, \acute{e}qu.} \cdot V_{gel}^2} \right)^2 \sigma_{V_{gel}}^2} \quad (IV.14)$$

Les calculs présentés en annexe IV.1 montrent qu'il faut utiliser la plus grande proportion possible de gel d'alginate de calcium permettant une dispersion des billes, c'est-à-dire, limiter le volume de surnageant. Ce résultat est à rapprocher des conditions préconisées en diffusion [Petersen, 1991], Chapitre II. Ils suggèrent également une estimation de l'erreur sur K_p .

Par conséquent, 3,75 g de billes d'alginate sont mis en contact avec 4 g de solution de pullulane à 1 g.L⁻¹ (dans la solution calcique utilisée pour la mise en forme des billes), dans des pilluliers fermés hermétiquement. Après atteinte de l'équilibre, le surnageant est dosé en même temps que la solution initiale de pullulane.

Avant les essais, le temps nécessaire à l'atteinte de l'équilibre a été estimé sachant que les coefficients de diffusion attendus pour le système alginate de calcium pullulane étaient compris entre 1.10⁻⁹ m².s⁻¹ et 1.10⁻¹³ m².s⁻¹. Cette première hypothèse a été vérifiée *a posteriori* avec les essais de diffusion.

Le temps nécessaire à l'atteinte de l'équilibre est estimé grossièrement à partir de la relation (IV.15) déduite de la loi de Fick, dans le cas d'une concentration constante à l'extérieur et des temps courts:

$$\frac{M}{M_\infty} = \frac{6}{a} \left(\frac{Dt}{\pi} \right)^{0.5} - \frac{3Dt}{a^2}. \quad (IV.15)$$

Pour un rayon $a = 1$ mm, le Tableau 13 donne le temps nécessaire, d'après cette relation pour atteindre 90% de M/M_∞ .

D (m ² .s ⁻¹)	1.10 ⁻⁹	1.10 ⁻¹¹	5.10 ⁻¹³	1.10 ⁻¹³
t_∞	heure	jour	semaine	mois

Tableau 13 : Estimation des temps d'équilibrage pour différents coefficients de diffusion.

Par conséquent, les dosages ont été réalisés entre 24h et 7 jours (suivant le soluté) après la mise en contact de façon à attendre suffisamment pour se trouver à l'équilibre sans toutefois risquer de dégradation du pullulane (cf. notice fournisseur Annexe IV.3).

II. Dosage du pullulane par la méthode colorimétrique à l'antrone

Cette technique est basée sur la réaction de l'antrone avec les motifs glucose des sucres (pullulane, ici) qui conduit, en milieu acide chaud, à la formation d'un complexe vert quantifiable par spectrophotométrie dans le visible.

La solution d'anthrone est préparée en introduisant 1 g d'anthrone et 150 mL d'eau osmosée dans un bécher de 1 litre placé dans un bain d'eau froide. 350 mL d'acide sulfurique concentré sont ensuite ajoutés lentement sous agitation. L'anthrone se dissout, de façon très exothermique, au fur et à mesure conduisant à un mélange visqueux de couleur jaune intense. Après homogénéisation et retour à température ambiante, la solution est stockée à 4°C et à l'abri de la lumière.

Le dosage est réalisé en ajoutant à 5 mL d'anthrone 100 µL de la solution de pullulane dans des tubes de verre qui, après fermeture sont homogénéisés au vortex. Les tubes sont ensuite placés dans un bain-marie à 80°C pendant 40 minutes. Après retour à température ambiante et une seconde homogénéisation au vortex, les densités optiques de la gamme étalon et des échantillons sont mesurées par spectrométrie dans le visible à 625 nm.

Il est nécessaire de réaliser un étalonnage simultané avec des solutions de pullulane de concentrations connues dans le milieu aqueux concerné, contre un blanc préparé avec 100 µL du solvant. La concentration en pullulane n'excèdera pas 1 g.L⁻¹ de façon à se situer dans la zone de linéarité de la densité optique avec la concentration en polymère. Un exemple de courbe d'étalonnage est donné Figure 76.

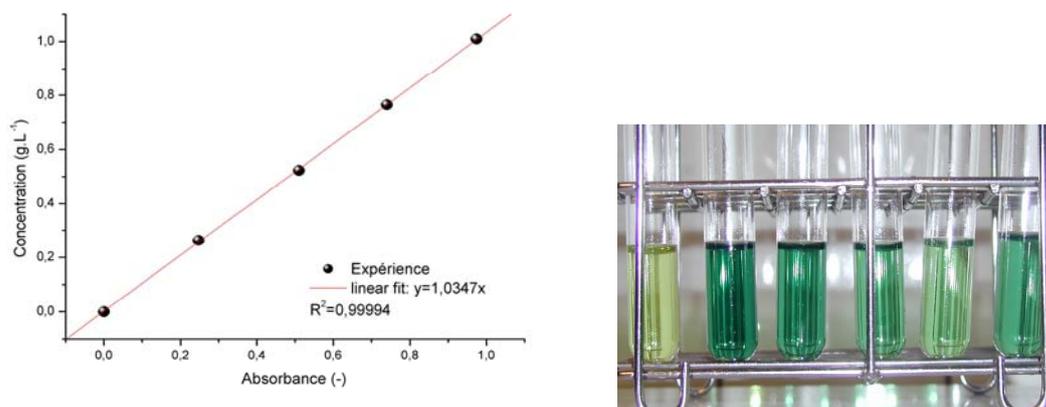


Figure 80 : Exemple de gamme d'étalonnage réalisée lors d'un dosage à l'anthrone.

III. Programme expérimental

Les coefficients de partage ont été déterminés, par la méthode batch avec dosage à l'anthrone. Trois types de gels physiques d'alginate de calcium ont été étudiés, avec des fractions volumiques comprises entre 0,0108 et 0,0276. Les essais réalisés sont répertoriés Tableau 14.

Pullulane	Gel 0,0276	Gel 0,0216	Gel 0,0108
P788	✓	✓	✓
P404	✓	✓	✓
P212	✓	✓	✓
P112	✓	✓	✓
P47	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
P22	✓	✓	✓
P11	✓	✓	✓
P5	✓	✓	✓
P0	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓

Tableau 14 : Tableau récapitulatif des essais réalisés sur les gels physiques.

Cette première série a été entièrement doublée et certains pullulanes ont fait l'objet de triplets de répétitions. Ceci permettra d'estimer l'erreur expérimentale.

L'effet de la température (Tableau 15) a été étudié pour le gel $\Phi_p=0,0276$ et le pullulane P112 pour 3 températures : 4°C (correspondant à un stockage en réfrigérateur), 25°C (température ambiante) et 37°C (température du corps humain). Des températures inférieures n'ont pas été envisagées afin d'éviter la congélation tandis qu'au-delà de 37 °C, une dénaturation des gels et de leur structure était à craindre.

	4°C	25°C	37°C
P112/Gel 0,0276	✓	✓	✓

Tableau 15 : Essais réalisés à différentes températures

L'effet de la concentration en soluté a également été testé (Tableau 16), pour trois types de gels physiques et le pullulane P212, pour des concentrations comprises entre 0 et 5 g.L⁻¹.

Concentration (g.L ⁻¹)	Gel 0,0287	Gel 0,0255	Gel 0,0104
0,5	✓	✓	✓
1	✓	✓	✓
1,5	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓
5	✓	✓	✓

Tableau 16 : Essais réalisés à différentes concentrations.

Enfin, des essais faisant intervenir des gels chimiques (Tableau 17) ont été conduits pour chacun des pullulanes de la série, dans une solution à base de tampon MES (Morpholine Ethane Sulfonic acid) utilisé pour la synthèse.

Pullulane	Gel Physique	Gel Mixte	Gel Chimique
P788	✓	✓	✓
P404	✓	✓	✓
P212	✓	✓	✓
P112	✓	✓	✓
P47	✓	✓	✓
P22	✓	✓	✓
P11	✓	✓	✓
P5	✓	✓	✓
P0	✓	✓	✓

Tableau 17 : Récapitulatif des essais réalisés sur des gels de nature différente dans MES.

C/ Résultats expérimentaux

I. Effet de la température

Une série d'essais a été réalisée avec un couple gel/soluté de façon à tester l'effet de la température. Ce test a pour but de vérifier que des interactions chimiques (sorption, réaction) n'interviennent pas sur notre système modèle. Si ceci est vérifié, la température ne doit jouer aucun rôle sur les équilibres de partage ; seule la cinétique de diffusion se trouvera accélérée.

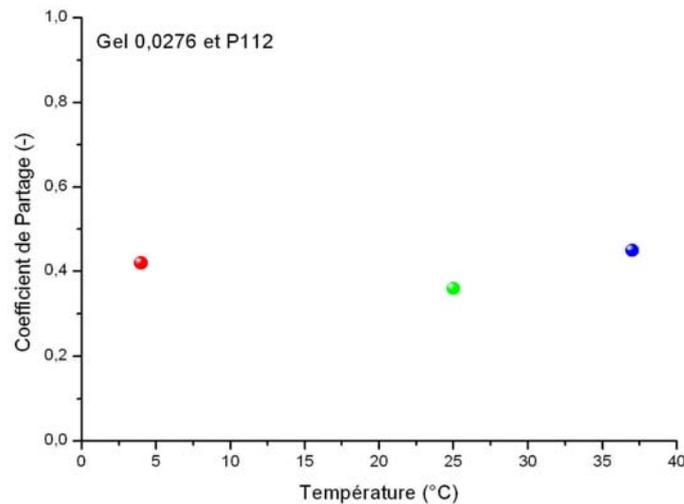


Figure 81 : Effet de la température sur le coefficient de partage, pour un gel à 0,0276 et le pullulane P112.

Après 72h de contact, les résultats de partition fournissent des valeurs très proches (voir Figure 81) sur la gamme de température considérée, les variations observées restant inférieures à la limite de précision de la méthode de dosage.

L'absence d'effet de la température vérifie, par conséquent, l'hypothèse selon laquelle seuls les paramètres structuraux influenceront la diffusion du pullulane au sein du gel. Pour l'ensemble des essais réalisés par la suite, la température a été contrôlée et l'ensemble des résultats présentés a été obtenu à 25°C.

II. Effet de la concentration

Il convenait également de vérifier l'hypothèse d'idéalité des solutions de pullulane dans la gamme de concentrations étudiée. Trois types de gels ont été testés dans cette perspective et ont démontré une légère dépendance du coefficient de partage à la concentration de la solution de pullulane avec laquelle ils ont été mis en contact. Cependant, les variations observées se situant dans la limite de l'erreur expérimentale (Figure 82), on considèrera que, en travaillant à des concentrations en soluté inférieures à 1 g.L^{-1} , nos solutions pourront être considérées comme idéales.

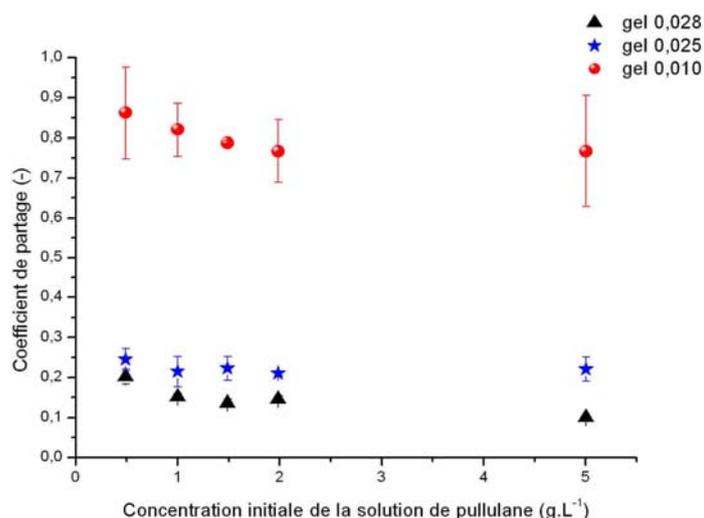


Figure 82 : Effet de la concentration en soluté (P112) sur le coefficient de partage de trois gels physiques.

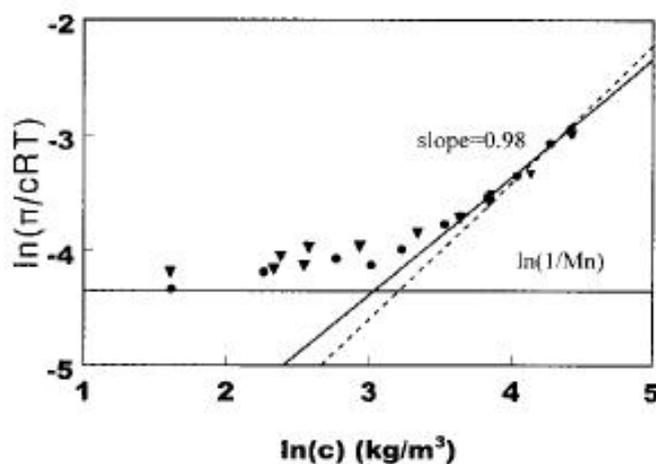


Figure 83 : Pression osmotique d'une solution de pullulane ($M_w = 115000 \text{ g.mol}^{-1}$) en fonction de la concentration sans sel (\blacktriangle) et avec $0,18 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl (\bullet) [Wang, 2001].

La Figure 83 fournit un argument supplémentaire assurant qu'en travaillant à des concentrations inférieures ou égales à 1 g.L^{-1} , on se situe bien dans la zone des solutions diluées. Les conditions d'idéalité seront donc respectées.

III. Coefficients de partage en fonction des paramètres structuraux du système

Ces essais ont été réalisés sur trois types de gels physiques, ce qui nous a permis de balayer une large gamme de fractions volumiques en polymère dans le gel. Chacun des points expérimentaux correspond à trois mesures de la concentration dans le surnageant, à l'équilibre. Les barres d'erreur indiquées Figure 84 correspondent à l'écart type expérimental tandis que le point correspond à une valeur moyenne. Pour trois pullulanes (P0, P47 et P788), les valeurs indiquées sont issues de trois essais indépendants et pour chacun desquels trois dosages du surnageant ont été réalisés. La moyenne, pour ces trois points, correspond donc à 9 mesures de concentration dans le surnageant et maximise ainsi l'estimation de l'erreur expérimentale.

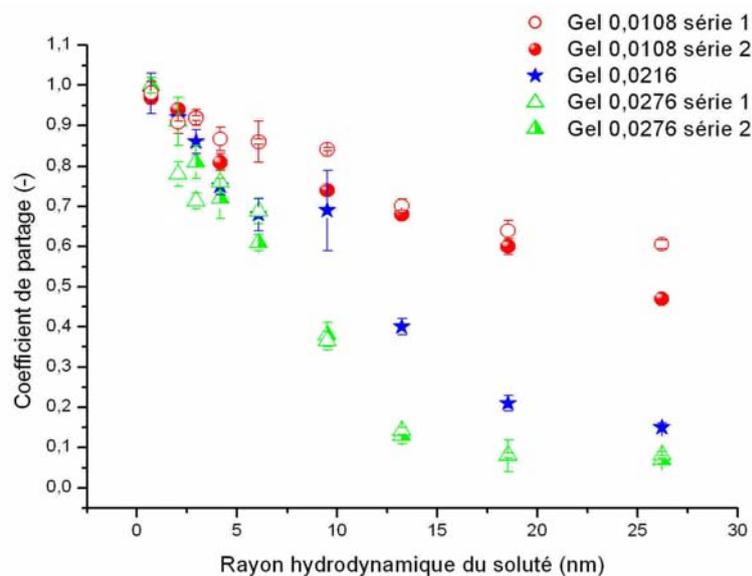


Figure 84 : Coefficients de partage de la série de pullulanes pour trois gels physiques

L'ensemble des modèles de la littérature prévoit une décroissance du coefficient de partage avec l'augmentation de la taille du soluté et la diminution des vides laissés par le polymère du gel. Ceci est bien vérifié expérimentalement pour le système alginate de calcium/pullulane. On peut, en effet, considérer qu'un accroissement de la fraction volumique en polymère se traduit par un maillage plus dense du réseau et une diminution des volumes au sein desquels le polymère peut pénétrer. Les résultats de la Figure 84 sont donc la démonstration que le coefficient de partage est fonction du rapport de la taille du soluté à la taille des mailles (ou des pores) du réseau formé par la matrice gel.

Le cas des gels chimiques n'a pas été traité par la suite étant donné que l'effet du type de liaison n'a pas été démontré par les essais préliminaires (Figure 85).

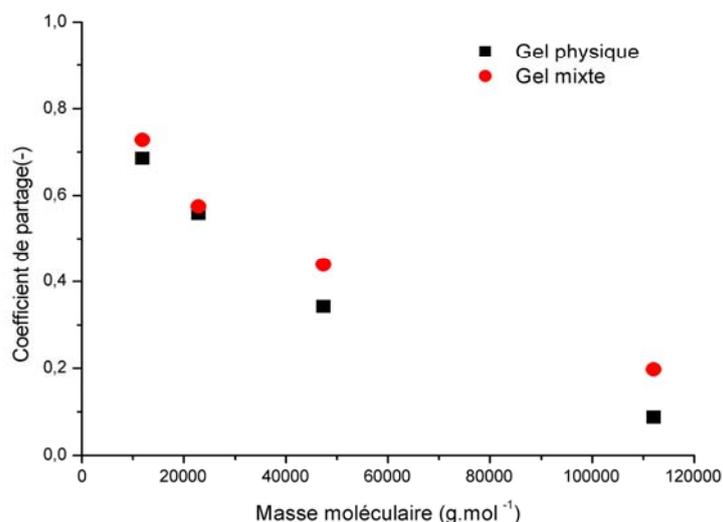


Figure 85 : Comparaison des coefficients de partage de pullulanes dans des gels de natures différentes et issus d'un même lot de billes.

Un autre enjeu de ces essais est l'exploration des domaines de rayons de solutés et de fractions volumiques en polymère dans le gel encore peu décrits dans la littérature. Il est donc

intéressant, à ce stade, de replacer nos points expérimentaux au cœur des points de la littérature (voir Figure 86).

La Figure 86 montre que deux domaines peu abordés dans la littérature ont été complétés : celui de grandes masses moléculaires des solutés et celui des gels plus faibles, c'est-à-dire des fractions volumiques en polymère faibles. Ces données expérimentales ayant été déterminées avec le plus grand soin, nous sommes en mesure de tester les modèles de partage de la littérature en les adaptant à ce système. La prochaine partie se propose d'utiliser ces modèles en vue d'une détermination *a priori* de l'équilibre de partage dans des systèmes similaires. Les différents modèles décrits dans la première partie de ce chapitre seront utilisés à des fins de modélisation de ces données.

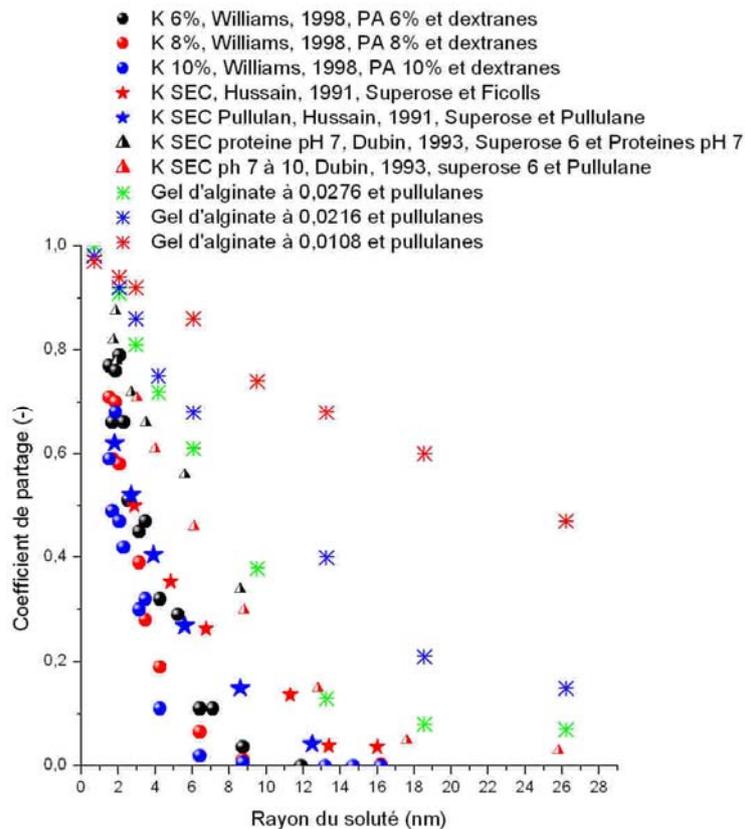


Figure 86 : Comparatif entre les résultats de la littérature et résultats expérimentaux de cette étude (gels d'alginate de calcium/ pullulane).

Ces premiers résultats bruts comparés aux données de la littérature montrent des coefficients de partage nettement plus élevés au fur et à mesure que la fraction volumique en polymère dans le gel s'élève. Bien que ce résultat soit tout à fait cohérent, des essais complémentaires ont été réalisés afin de s'assurer que les K_p n'étaient pas surestimés. Les résultats de ces essais complémentaires sont présentés dans le paragraphe suivant.

IV. Partition ou sorption superficielle ?

La méthode de dosage utilisée est basée sur la mesure d'une diminution de la concentration dans la solution de dispersion entre l'instant initial et l'équilibre. Par différence, il est alors possible de déduire la concentration dans le gel et de calculer K_p . Cependant, une telle

méthode ne permet pas de faire la différence entre une partition vraie et une partition à la surface du gel (voir Figure 87).

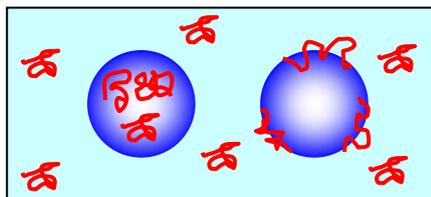


Figure 87 : Deux situations de partage équivalentes pour notre méthode expérimentale.

IV.1 Effet du volume spécifique

Afin de vérifier que notre mesure traduit bien une partition vraie au cœur de la bille d'alginate, certains essais ont été répétés en modifiant la géométrie du gel. Les billes millimétriques sont remplacées par un unique cylindre de gel. La méthode permet de diminuer la surface externe du gel d'un facteur 6. Les résultats montrent peu de variations entre les deux mises en forme (voir Figure 88).

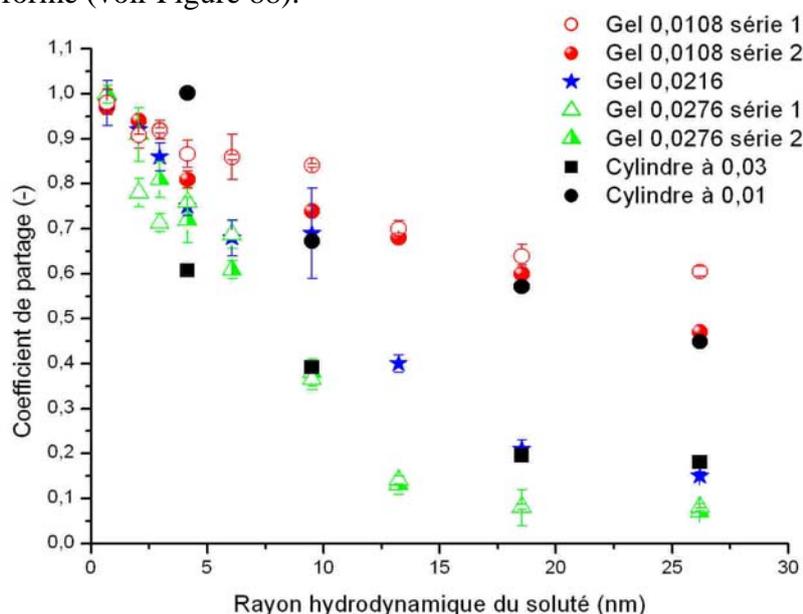


Figure 88 : Comparaison des coefficients de partage de cylindres et de billes présentant des aires spécifiques différentes.

Les faibles variations observées tendent à démontrer que la partition est liée à un phénomène de partage isotrope au cœur du gel et non à une sorption en surface de la matrice. Des écarts sont tout de même observés notamment pour les plus gros pullulanes dans le gel le plus dense mais ils vont dans le sens d'une partition favorisée dans la phase gel, contraire à une hypothèse de partition en surface. Ces écarts sont sans doute dus à des erreurs expérimentales, les gels sous forme de cylindre ne présentant, par exemple, pas exactement la même fraction volumique en polymère et une hétérogénéité de celle-ci en fonction du rayon.

IV.2 Perspectives de travail : visualisation par microscopie de fluorescence

Dans le but de conforter les résultats obtenus en faisant varier l'aire spécifique une autre approche a été entreprise. La microscopie de fluorescence apparaît particulièrement intéressante car elle donne la possibilité d'effectuer une cartographie en trois dimensions par

l'utilisation de la microscopie confocale. Ainsi, la visualisation de sondes fluorescentes au cœur d'une bille fournirait des clichés démontrant clairement la diffusion des macromolécules les plus grosses au sein de la matrice gel. Cependant, même si cette étude préliminaire constitue une perspective intéressante à ce travail, les problèmes de mise en œuvre sont nombreux et ne nous ont pas permis l'obtention de tels clichés.

La difficulté principale de la méthode réside dans la modification des pullulanes dans le but de les rendre fluorescents. Une première partie du travail a donc consisté en la mise au point d'un protocole de synthèse conduisant à une macromolécule greffée avec une sonde fluorescente, la coumarine. Puis, des essais préliminaires en microscopie de fluorescence ont été conduits sans toutefois permettre de finaliser la méthode.

IV.2.a Synthèse d'un polysaccharide greffé avec une coumarine

Le choix de la sonde fluorescente s'est porté sur une coumarine, sonde fréquemment rencontrée dans la littérature pour le marquage de composés variés et notamment du dextrane [Even et *al.*, 2001].

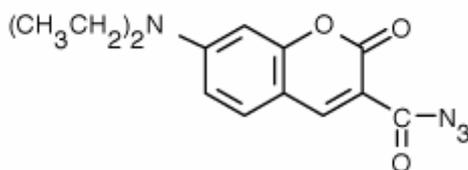


Figure 89 : Formule de la 7-diéthylaminocoumarin-3-carbonyl azide

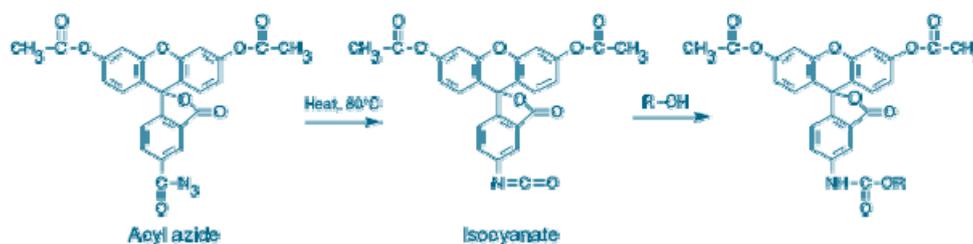


Figure 90 : Réaction en trois étapes de la fluorescéine-5-carbonyl-azide sur un alcool.

Dans notre cas, nous avons choisi une coumarine, possédant une fonction carbonyl-azide (comme la fluorescéine dont le mécanisme réactionnel est présenté Figure 90) pour réaliser les deux premières étapes de ce schéma réactionnel sur l'alginate ou le dextrane qui possèdent des fonctions alcool réactives. Sous l'effet de la chaleur, un réarrangement de l'acyl azide se produit, conduisant à la formation d'un isocyanate. L'isocyanate réagit ensuite avec les fonctions hydroxyles du pullulane (ou du dextrane) en formant un uréthane.

Le protocole a dans un premier temps été établi sur le dextrane, possédant une structure voisine du pullulane mais moins coûteux.

Le protocole réactionnel consiste en la dissolution du dextrane préalablement séché 24h à l'étuve dans le DMF. Le dextrane est alors mis en contact avec la coumarine dissoute dans le DMF et le mélange est placé sous agitation, à 80°C, pendant 24h de façon à ce que la réaction se produise.

Une purification par précipitation a été envisagée mais des problèmes de récupération ont été observés (filtration difficile due à la présence de particules trop fines). Par conséquent, le produit de réaction est placé, à l'issue de la synthèse, dans un boudin de dialyse en contact

avec une grande quantité d'eau pour purification et élimination du DMF et des résidus de synthèse. L'ensemble du protocole est conduit à l'abri de la lumière de façon à éviter la dégradation de la coumarine.

A l'issue de l'étape de purification, le produit de synthèse est séché par cryo-lyophilisation.

IV.2.b Essais en microscopie de fluorescence

Après les premières synthèses, la fluorescence du produit a pu être démontrée par des essais au fluorimètre. Les premières synthèses basées sur un taux de greffage de 5‰ (5 coumarines tous les 1000 motifs du polysaccharide) ont montré une fluorescence relativement faible. Par conséquent, nous avons porté le taux de greffage à 15‰ afin de s'assurer d'un signal suffisant avant de procéder à une observation en microscopie de fluorescence.

De même les longueurs d'onde d'excitation (433 nm) et d'émission (450-500nm) ont été déterminées.

Les premiers essais de fluorescence ont été réalisés en observant une bille d'alginate de calcium vierge de dextrane fluorescent et une autre chargée en composé fluorescent. Les clichés ont montré une très faible différence entre les deux billes avec une fluorescence légèrement plus marquée pour la bille chargée. Ceci démontre la présence d'une auto fluorescence de l'alginate, confirmée par les travaux de Sharma et Gupta [Sharma, 2002]. Ces auteurs associent la fluorescence de l'alginate à la présence de polyphénols et en proposent une méthode de purification par la méthode TPP (three phase partitioning). Leur suivi de purification se fait, à ce titre, par fluorescence. La longueur d'onde d'excitation est 366 nm et l'émission se fait aux environ de 450 nm.

Par conséquent, à moins d'étapes de purification de l'alginate, l'utilisation de la coumarine comme sonde greffée au pullulane en vue de son suivi dans l'espace semble difficile à cause de la superposition des signaux de la coumarine et des polyphosphates.

Une possibilité autre que la purification consisterait en l'utilisation d'autres types de sondes fluorescentes possédant un spectre d'émission bien distinct de celui de l'alginate.

Malgré la difficulté du procédé et étant donné qu'un protocole de synthèse a pu être mis en œuvre, conduisant à des dextrans fluorescents, la méthode semble prometteuse et constituera une perspective de travail intéressante.

D/ Modélisation Propriétés/Structure

Dans l'ensemble des modélisations présentées, le paramètre d'ajustement employé est du type moindre carré des écarts relatifs. Si on désigne par y_{exp} la grandeur expérimentale et $y_{théo}$ la grandeur modélisée, et que cette grandeur dépend d'une variable x , pour chaque couple (x, y) , le résidu sera défini par :

$$\chi_x^2 = \left[\frac{(y_{exp} - y_{théo})}{y_{théo}} \right]^2. \quad (IV.16)$$

La somme des résidus sur l'ensemble des x sera donc le paramètre minimisé.

I. Soluté rigide sphérique, matrice fibreuse

I.1 Modélisation par le modèle d'Ogston

Le modèle de Ogston requiert la connaissance de plusieurs paramètres :

- fraction volumique en polymère dans le gel Φ_p , estimée via le taux de gonflement expérimental ;
- rayon hydrodynamique du soluté r_H , modélisé par la relation de Kato [Kato, 1988] ;
- rayon des fibres du réseau d'alginate de calcium r_f ,
- coefficient de partage K_p estimé expérimentalement.

La modélisation a donc été réalisée avec un seul paramètre d'ajustement, le rayon des fibres. Deux possibilités sont offertes : réaliser un moindre carré des écarts entre le modèle et les points expérimentaux pour chacune des fractions volumiques ou bien considérer que le rayon des fibres est constant pour les trois gels testés.

Nous supposons, dans un premier temps, que le rayon des fibres ne dépend que de la nature du gel, c'est pourquoi la modélisation a été faite avec une valeur unique de r_f pour les différentes fractions volumiques (voir Tableau 18). Cette pratique utilisant un même rayon de fibre pour un type de gel donné est la plus fréquemment employée [White et Deen, 2000]. Elle repose sur le fait que la fraction volumique ne joue pas sur le rayon des chaînes de polymère mais seulement sur la taille des intervalles présents entre les chaînes. Cette vision des choses est, en outre, basée sur des données expérimentales de mesures de rayon de fibres d'alginate par l'intermédiaire de données obtenues par analyses aux rayons X de l'état cristallin [Nilsson, 1992].

Auteurs	Gel	r_f (nm)	Φ_p
Dubin et al.	Superose 6 (agarose)	1,9	0,06
Hussain et al.	Superose 12 (agarose)	1,9	0,12
Tong et Anderson	Polyacrylamide	0,33-0,43	0,02-0,14
William et al.	Polyacrylamide	0,33-0,43	0,03-0,08

Tableau 18 : Propriétés de quelques hydrogels utilisés dans la littérature [d'après White et Deen, 2000].

Amsden propose, dans une autre publication [Amsden, 2002] un calcul de r_f par l'intermédiaire d'une relation fonction de M_m , la masse moléculaire du soluté, de l_m , la longueur du monomère, de v le volume spécifique du polymère, de r_w , le rayon d'une molécule d'eau et N_A , le nombre d'Avogadro :

$$r_f = \left(\frac{M_m \cdot v}{l_m \cdot \pi \cdot N_A} \right)^{1/2} + r_w \quad (\text{IV.17})$$

Si on considère que le rayon d'une molécule d'eau est $1,85 \text{ \AA}$, la masse moléculaire de l'unité pullulane est 180 g.mol^{-1} , le volume spécifique de l'alginate est $0,6 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ et la longueur du monomère $5,14 \text{ \AA}$ [Amsden, 1999]. L'application de cette relation à l'alginate de calcium fournit un rayon de fibre de $5,2 \text{ \AA}$ et confirme que r_f doit être supposé identique pour un type de gel donné, quelle que soit sa fraction volumique en polymère.

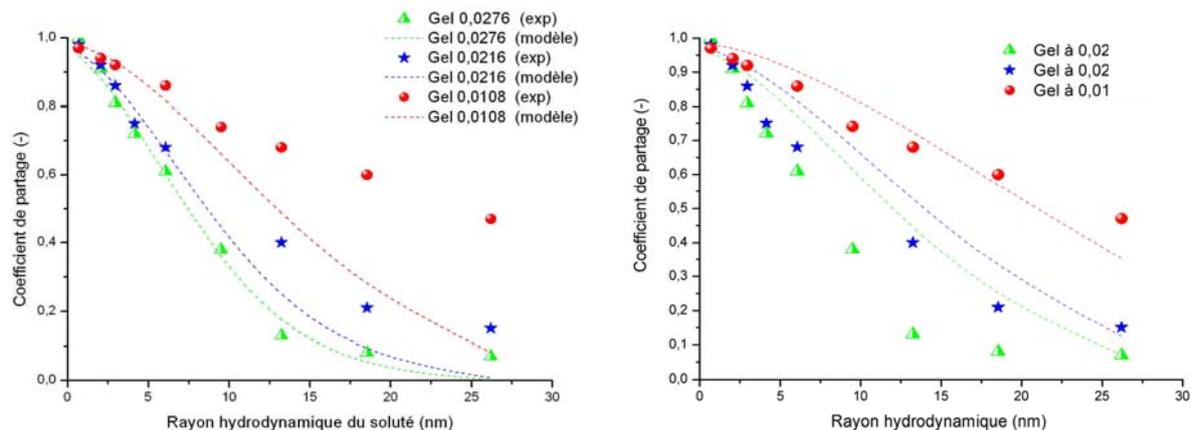


Figure 91 : Modélisation des points expérimentaux (ajustement sur r_f supposé constant pour les trois fractions volumiques dans le gel et en utilisant les 5 plus petits pullulanes (à gauche) et toute la série (à droite)).

Ogston	r_f ajusté sur la série ou sur 5 pullulanes $r_s = r_H$ calculés par la relation de Kato				
$K_p = \exp(-\Phi_p (1 + \frac{r_s}{r_f})^2)$	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276	Total	r_f (nm)
Résidu (série)	0,135	0,277	1,157	1,569	2,97
Résidu (5 pullulanes)	1573,5	428,25	23,51	2025,26	1,85

Tableau 19 : Résidus dans le cas de modélisations par la relation de Ogston.

La modélisation (Figure 91 et Tableau 19) conduit à l'estimation de r_f à 1,85 nm si l'ajustement est réalisé sur les 5 plus petits pullulanes de la série. Si on utilise l'ensemble des points, r_f est estimé à 2,97 nm. On peut noter qu'Amsden [Amsden, 1998] fournit une valeur de 3,6 Å pour des gels d'alginate de calcium, valeur déduite d'analyses par rayons X. La Figure 92 fournit les résultats d'une modélisation des points expérimentaux en fixant r_f à cette valeur expérimentale. Cet exercice illustre le faible caractère prédictif du modèle.

En outre, dans une autre publication [Amsden, 2001], cet auteur propose pour l'alginate une valeur de 8 Å pour l'ajustement des modèles aux données expérimentales. Ces valeurs de r_f variables proposées par cet auteur soulignent également l'incertitude liée à son estimation.

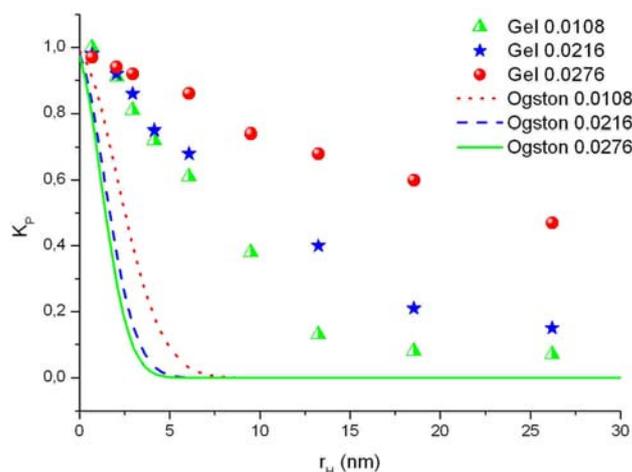


Figure 92 : Modélisation des points expérimentaux via la relation de Ogston en posant $r_f = 3,6$ Å, c'est-à-dire sans paramètre ajustable.

En outre, les estimations du rayon de fibre fournies par ces auteurs ont été réalisées à l'état solide sec (rayons X) ou bien en estimant seulement le rayon de la chaîne d'alginate en solution. Elles ne tiennent donc pas compte de la présence de jonctions « egg-box » connues pour pouvoir se superposer. Dans ce cas de figure, on imagine aisément que l'ordre de grandeur d'un rayon de fibre moyen doit être supérieur à la dizaine d'angström, rendant plausibles nos valeurs de rayons de fibre ajustées.

Toutefois, d'importants écarts entre théorie et expérience sont relevés pour les masses moléculaires élevées. Nous allons tenter de les analyser sous deux angles : celui de la modélisation de la matrice et celui de la représentation du soluté par ce type de modèles.

Quelle que soit la méthode choisie pour la modélisation des données expérimentales, certaines remarques peuvent, en outre, être énoncées. On vérifie bien que, pour les solutés les plus petits, ce modèle permet une bonne représentation des données expérimentales. Par contre, pour les solutés de taille supérieure à 15 nm, l'écart entre modèle et expérience devient conséquent et ce d'autant plus que les gels présentent une fraction volumique faible. Ceci conduit donc à s'interroger sur la représentation du soluté dans ce modèle.

I.2 Validité de la description du soluté

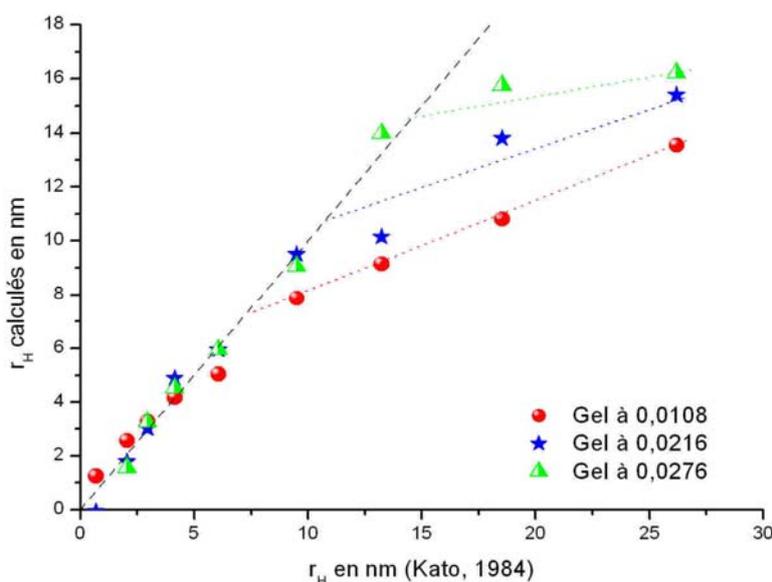


Figure 93 : Comparaison des rayons hydrodynamiques donnés par Kato et des rayons hydrodynamiques calculés via le modèle d'Ogston.

La Figure 93 se propose de comparer les rayons hydrodynamiques de notre gamme de pullulanes (mesurés au chapitre II et corrélés par la relation de Kato) à la valeur de r_H obtenue à partir de la relation de Ogston en imposant r_f à 1,85 nm (valeur issue de nos modélisations) et connaissant K_p . Cette figure illustre bien que, pour les solutés de taille inférieure à 10 nm, une bonne adéquation entre modèle et expérience peut être observée. Par contre, au-delà, d'importants écarts sont relevés comme en témoigne la déviation par rapport à la première bissectrice.

Cette information est d'autant plus intéressante que l'on voit que cette limite des 10 nm est fonction de la fraction volumique du gel. Elle intervient d'autant plus précocement que le gel est peu dense. Intéressons-nous, maintenant, à la signification de cette déviation. Dans tous les cas, l'estimation via le modèle d'Ogston fournit des valeurs du rayon hydrodynamique

inférieures ou égales à celles obtenues en solution et pour lesquelles on suppose le soluté sous la forme sphérique. En d'autres termes, le coefficient de partage est supérieur à celui attendu par la théorie : les macromolécules pénètrent davantage dans le gel que ne le prévoit ce modèle.

Ces observations laissent penser que les macromolécules adoptent une conformation plus avantageuse afin de pénétrer dans les gels. Ceci corrobore l'hypothèse d'une conformation du soluté s'adaptant à son environnement. Cependant, ces résultats sont paradoxaux car, pour un gel plus dense, on s'attend à un maillage plus serré que dans le cas d'un gel peu concentré. Or, le rayon du soluté limite la pénétration dans le gel aux environs de 7 nm pour le gel à 0,0108 tandis que le soluté ne doit modifier sa conformation qu'à partir de 12 nm pour le gel à 0,0276. Assez paradoxalement, c'est donc pour les gels les plus faibles que la précocité de la supposée modification de conformation apparaît.

Cependant, si on compare ces valeurs pour lesquelles le modèle de Ogston n'est plus satisfaisant aux résultats de l'estimation par rhéologie de la taille des mailles du réseau (Chapitre II, § II.5.c) une analogie dans l'ordre de grandeur peut être faite. La limite du modèle de Ogston, dans le cas de notre système se situe, en effet, entre 7 et 15 nm environ. Les données rhéologiques permettaient, quant à elles, d'estimer le paramètre de maille de nos gels aux environs de 7 et 17 nm pour les gels de fraction volumique 0,0276 et 0,0108, respectivement.

Finalement, cette représentation des résultats confirme ceux rencontrés dans la littérature : pour les masses moléculaires de soluté faibles, le modèle d'Ogston permet une bonne représentation des expériences et pour les M_w élevées, d'autres approches sont requises.

Si on suppose que le volume du soluté reste inchangé durant le processus de partage (sphère dure), il est possible de calculer le grand axe, noté b , de l'ellipsoïde associé à la supposée nouvelle conformation grâce à la relation donnant le volume d'un ellipsoïde :

$$V_{\text{ellipsoïde}} = \frac{4}{3} \pi a^2 b \quad (\text{IV.18})$$

Ces résultats sont schématisés à la Figure 94.

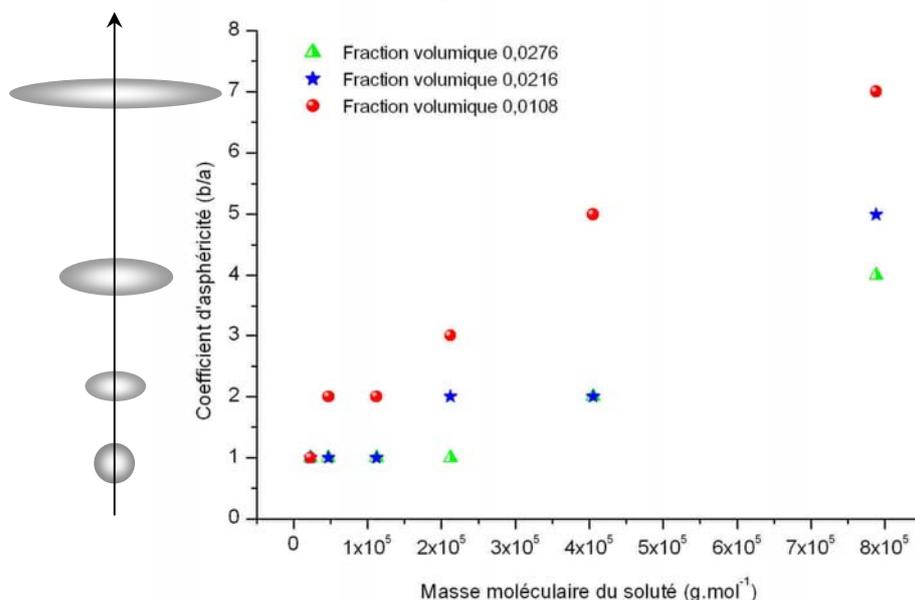


Figure 94 : Conformation supposée (via le coefficient d'asphéricité) du soluté en fonction de sa masse moléculaire et de la fraction volumique du gel.

Cette représentation des solutés n'a rien de définitif, elle se propose de vérifier, grâce à de rapides calculs, le caractère plausible de nouvelles conformations du soluté au voisinage du gel. En outre, comme précisé dans le chapitre I, ce type d'approche requiert de prendre en considération l'angle de pénétration du soluté dans le gel. Une formalisation de ce problème reviendrait à comptabiliser l'ensemble des orientations du soluté à l'entrée de la matrice, chose encore délicate à l'heure actuelle. Par contre, supposer que cette conformation résulte de la flexibilité des chaînes aux abords du gel reste envisageable (cette possibilité sera discutée plus loin via les travaux de Hermesen et *al.*) et elle pourrait correspondre à la configuration adoptée par le soluté, en milieu confiné.

I.3 Ecarts liés à la modélisation de la matrice

Deux paramètres caractérisent la matrice dans le modèle proposé par Ogston : le rayon des fibres, r_f qui est aussi notre paramètre ajustable, et la fraction volumique en polymère. Nous nous interrogerons, dans cette partie, sur les conséquences, sur la valeur de K_p , d'erreurs d'estimations de ces paramètres.

I.3.a Ecarts liés au rayon des fibres

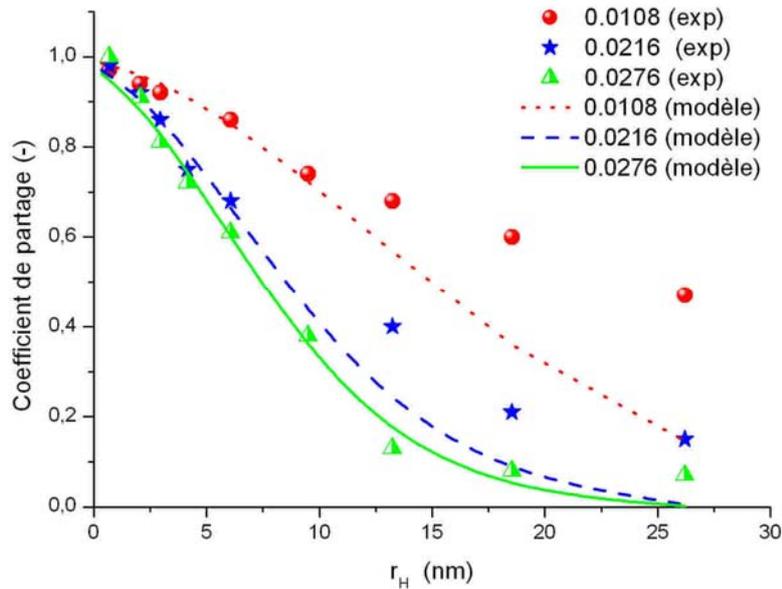


Figure 95 : Modélisation via la relation de Ogston avec r_f ajusté pour chaque fraction volumique en polymère (gel 0,0108 : $r_f = 2,1$ nm ; gel 0,0216 : $r_f = 1,8$ nm et gel 0,0276 : $r_f = 1,8$ nm).

La modélisation présentée Figure 95 se propose d'ajuster r_f de façon indépendante pour chacune des fractions volumiques. Des valeurs de r_f du même ordre de grandeur sont obtenues mais présentant toutefois une variation de l'ordre de 20 %. Aussi, il serait utile de savoir si un écart relatif de cet ordre est représentatif de variations importantes sur K_p , en d'autres termes de connaître la sensibilité relative de K_p par rapport à r_f .

$$K_p = \exp\left(-\Phi_p \left(1 + \frac{r_s}{r_f}\right)^2\right). \quad (\text{IV.19})$$

$$\left(\frac{dK_p}{dr_f}\right)_{r_s, \Phi_p} = 2\Phi_p \left(1 + \frac{r_s}{r_f}\right) \frac{r_s}{r_f^2} \exp\left(-\Phi_p \left(1 + \frac{r_s}{r_f}\right)^2\right) \quad (\text{IV.20})$$

$$\left(\frac{\partial K_P}{\partial r_f} \right)_{r_s, \Phi_P} \frac{r_f}{K_P} = 2\Phi_P \frac{r_s}{r_f} \left(1 + \frac{r_s}{r_f} \right) \quad (\text{IV.21})$$

On suppose une erreur relative de 20 % sur r_f . La Figure 96 représente l'erreur relative sur K_P en fonction du rapport de la taille du soluté au rayon des fibres, pour différentes fractions volumiques.

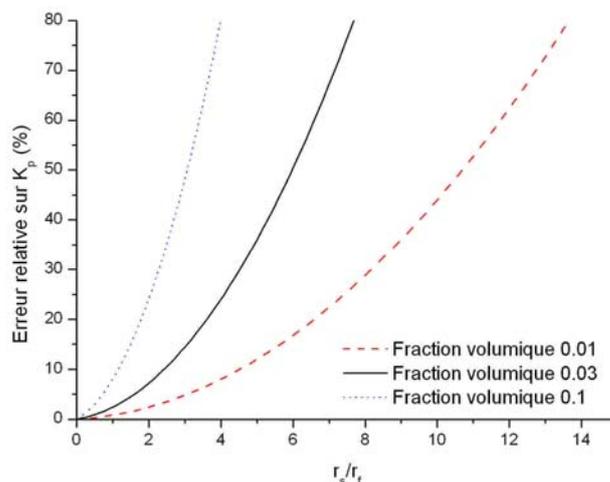


Figure 96 : Sensibilité relative de K_P par rapport à r_s/r_f pour une erreur relative de 20% sur r_f et pour différentes fractions volumiques.

Ce calcul montre l'extrême sensibilité de K_P à ce paramètre. Aussi, les différences observées lors de modélisations avec r_f ajusté indépendamment pour chaque fraction volumique sont réellement significatives mais ne peuvent s'expliquer, pour autant, physiquement.

Si le rayon des fibres n'est pas identique pour chacune des fractions volumiques, les résidus sont légèrement réduits mais la compréhension physique du modèle n'est plus respectée comme en témoignent le Tableau 20 et le Tableau 21 où les valeurs de r_f sont différentes en fonction de Φ_P . Sous la rubrique « Résidus (7/8) » est donnée la valeur des résidus des 7 pullulanes de plus faible masse moléculaire. L'erreur résiduelle peut paraître extrêmement importante. Cependant, il convient de souligner qu'elle provient en grande partie de l'erreur sur le pullulane de masse molaire la plus élevée de la série (P788). Si le même relevé n'est effectué que sur les 7 premiers pullulanes (sur 8), les résidus sont nettement diminués (cas tabulé au Tableau 20, sous la rubrique « Résidus (7/8) »).

Ogston $K_p = \exp\left(-\Phi_P \left(1 + \frac{r_s}{r_f}\right)^2\right)$	r_f ajusté pour chacune des fractions volumiques, sur les 5 premiers pullulanes de la série $r_s = r_H$		
	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276
r_f modélisé (nm)	2,12	1,81	1,84
Résidus (série)	5,394	628	1777
Résidus (7/8)	0,488	5,37	1,94

Tableau 20 : Résultats de modélisation avec ajustement sur r_f pour chaque fraction volumique (ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47\,300 \text{ g.mol}^{-1}$).

Ogston	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276
r_f modélisé (nm)	3,37	3	2,87
Résidus (série)	0,048	0,274	1,115

Tableau 21 : Résultats de modélisation avec ajustement sur r_f ajusté pour chaque fraction volumique (ajustement sur tous les pullulanes).

Ces simulations à r_f variables pour chaque fraction volumique en soluté sont en meilleure adéquation avec les points expérimentaux. Cependant, l'hypothèse de rayons de fibres variables avec la fraction volumique en polymère dans le gel ne peut être retenue que si l'on suppose :

- que des fractions volumiques variables induisent des structures egg-box très différentes
- et que le rayon de fibre r_f est moyenné sur les zones egg-box et les chaînes non impliquées (Figure 97).

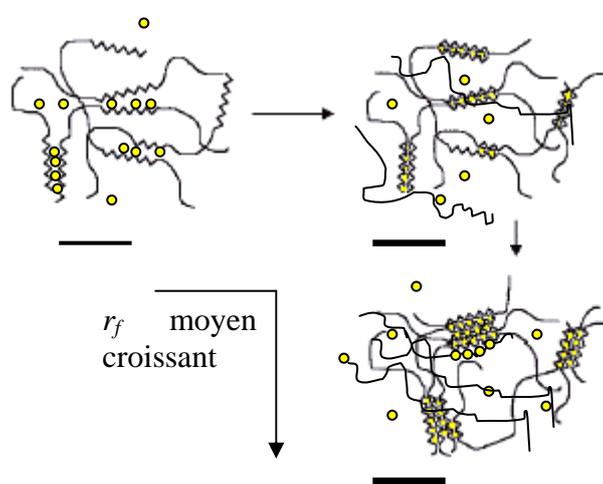


Figure 97 : Illustration de l'hypothèse d'un rayon de fibre variable en fonction de la fraction volumique de polymère dans le gel.

La caractérisation par hydrolyse enzymatique tend cependant à démontrer que l'alginate utilisé possède seulement de l'ordre de 20% de courts segments polyG. Par conséquent, le rayon des fibres du gel sera probablement faiblement pondéré par ces pontages egg-box. Nous supposons donc, par la suite un rayon de fibre constant.

Ce modèle utilisant un second paramètre pour la description du gel, il convient également d'évaluer la sensibilité de K_p à une erreur sur Φ_p .

I.3.b Erreur relative sur la fraction volumique en polymère dans le gel

La fraction volumique nous est apparue comme un paramètre particulièrement sensible étant donnée la difficulté d'une estimation précise de celle-ci. En effet, sa détermination nécessite l'estimation de plusieurs paramètres et des approximations sont requises pour parvenir à sa valeur. En outre, les voies d'accès sont variables suivant les auteurs : extrait sec, mesure du taux de gonflement. Et, chacune de ces méthodes présente des avantages et des inconvénients. Amsden [Amsden, 1998] utilise une mesure de l'extrait sec du gel de façon à accéder à la masse de polymère sec dans le gel. Il multiplie cette masse par le volume spécifique de l'alginate ($0,6 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$) de façon à estimer le volume sec. Finalement, la fraction volumique

est obtenue en divisant ce volume de polymère par le volume du gel gonflé. Cette méthode souffre de deux difficultés. Premièrement, l'extrait sec réalisé sur le gel donne accès non pas seulement à la masse de polymère sec, mais, à la masse de polymère et de sels (CaCl_2 , NaCl), ce qui conduit à surestimer le volume de polymère dans le gel. Par ailleurs, l'estimation du volume de gel gonflé peut être difficile si celui n'est pas parfaitement symétrique dans les 3 dimensions de l'espace.

Dans notre cas, et afin d'éviter le problème lié à la mesure de l'extrait sec, une mesure du taux de gonflement a été réalisée selon le protocole décrit au chapitre I. L'hypothèse forte de cette méthode est d'utiliser la masse volumique de l'eau pour celle du gel d'alginate. Il a été estimé que l'erreur était faible étant donnée la faible proportion de polymère dans le gel et la masse volumique du gel a été vérifiée expérimentalement. Enfin, pour ces deux méthodes, la valeur du volume spécifique n'a pas été vérifiée.

Comme précédemment, on peut calculer :

$$\left(\frac{\partial K_P}{\partial \Phi_P} \right)_{r_s, r_f} \frac{\Phi_P}{K_P} = -\Phi_P \left(1 + \frac{r_s}{r_f} \right)^2. \quad (\text{IV.22})$$

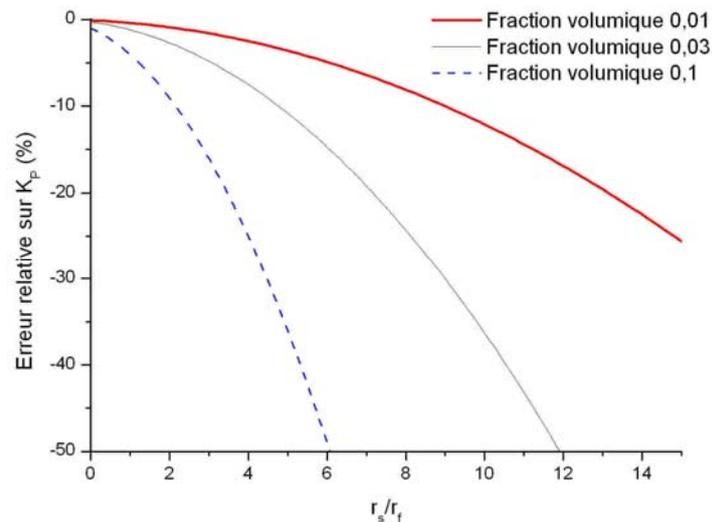


Figure 98 : Effet d'une erreur de fraction volumique de 10 % sur le coefficient de partage en fonction du rapport des tailles de solutés et de fibres et pour différentes fractions volumiques.

La Figure 98 illustre bien que pour les rapports r_s/r_f élevés, l'erreur résultant d'une mauvaise estimation de la fraction volumique en polymère dans le gel est accrue, notamment lorsque la fraction volumique croît. Par conséquent, l'effet d'une erreur sur Φ_P sera d'autant plus grand que le rayon du soluté tendra vers des valeurs importantes. Nous avons donc tenté de modifier de 20% les valeurs de chaque fraction volumique afin de vérifier si une meilleure modélisation peut être obtenue (Figure 99).

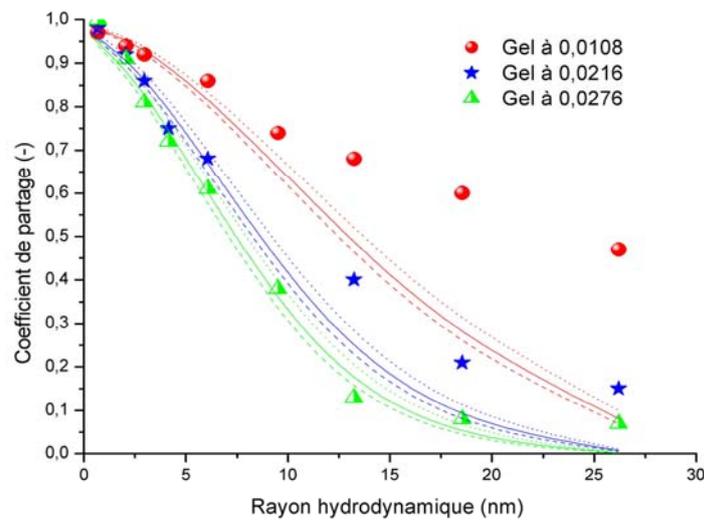


Figure 99 : Effet d'une variation de plus (points) ou moins (tirets) 20 % de la fraction volumique sur les modélisations de K_P par la relation d'Ogston ; modélisation avec ajustement sur les 5 premiers pullulanes.

La Figure 99 représente trois séries de modélisations pour des fractions volumiques augmentées ou diminuées de 20 % par rapport aux valeurs utilisées habituellement. Les sommes des résidus sont présentées Tableau 22. On vérifie bien qu'une augmentation de la fraction volumique contribue à réduire légèrement les écarts entre modèle et expérience. Cependant, le gain est insuffisant pour atteindre une modélisation correcte.

Ogston	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276	Somme
$0,8 \cdot \Phi_P$	1,21	1,69	1,45	4,34
Φ_P	1,1	1,54	1,34	3,98
$1,2 \cdot \Phi_P$	0,938	1,325	1,3	3,56

Tableau 22 : Résidus essais/modèles pour des fractions volumiques différentes et un ajustement sur les 5 premiers pullulanes avec r_f constant pour les 3 gels.

I.3.c Erreur relative globale sur K_P liée à une mauvaise caractérisation de la matrice

Finalement, il convient de considérer l'erreur globale résultant d'erreurs dans la caractérisation de la matrice. L'expression de cette erreur relative sur K_P s'exprime par la relation :

$$\frac{dK_P}{K_P} = 2\Phi_P \left(1 + \frac{r_s}{r_f} \right) \frac{r_s}{r_f} \frac{dr_f}{r_f} - \Phi_P \left(1 + \frac{r_s}{r_f} \right)^2 \frac{d\Phi_P}{\Phi_P} - 2\Phi_P \left(1 + \frac{r_s}{r_f} \right) \frac{r_s}{r_f} \frac{dr_s}{r_s} \quad (\text{IV.23})$$

L'erreur relative sur r_s est supposée nulle et le tracé de l'erreur relative sur K_P pour des erreurs de 20% sur r_f et Φ_P est représentée Figure 100 pour différentes valeurs de fraction volumique.

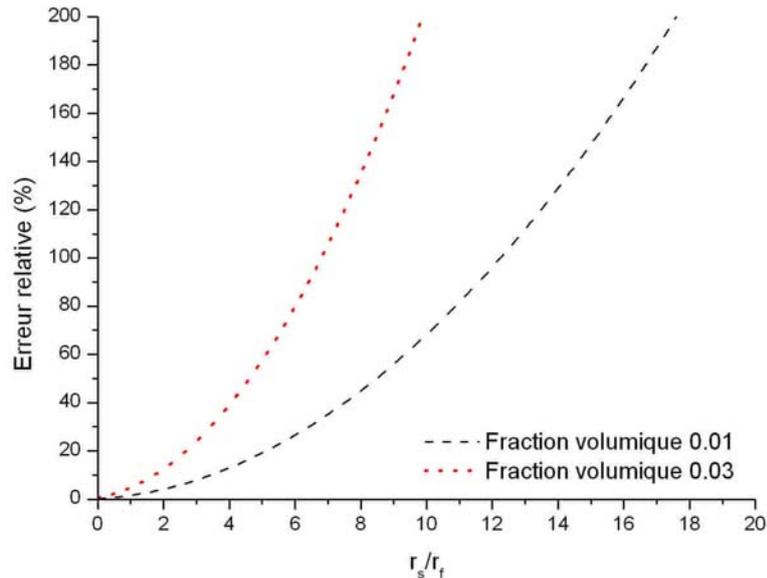


Figure 100 : Erreur relative sur K_p consécutives de +20 % d'erreur dans l'estimation de r_f et -20% pour Φ_p .

L'application de cette erreur à nos données modélisées est représentée Figure 101 où les modèles sont bornés par des valeurs supérieures (+) et inférieures (-). Nous sommes volontairement placés dans le cas de figure le plus défavorable en simulant une erreur de +20% sur le rayon de fibres et de -20% sur la fraction volumique, cas où les erreurs se cumulent.

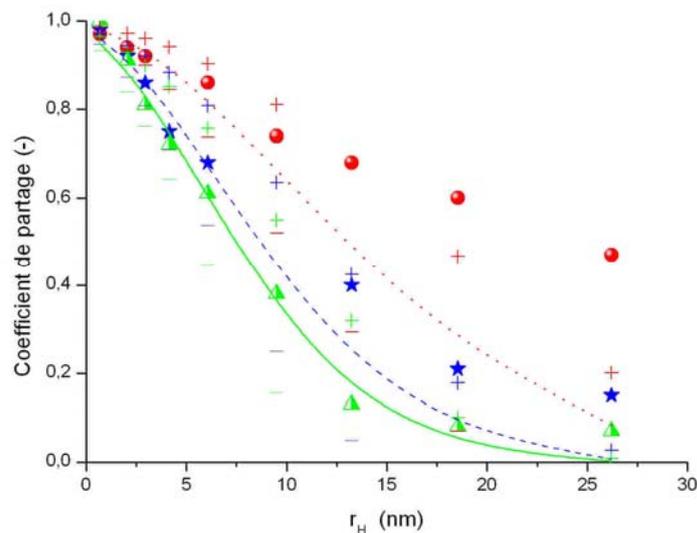


Figure 101 : Erreur théorique sur K_p modélisé d'après le modèle d'Ogston et pour une erreur relative sur r_f de +20% (+) et de -20 % (-) sur Φ_p ($r_f = 1,85$ nm)

Cet exemple montre que l'on se rapproche des données expérimentales sans toutefois suffisamment d'effet pour le cas des solutés de grande masse moléculaire.

Plusieurs tentatives de réponses sont donc formulées pour expliquer ces écarts (liées à la représentation du gel ou du soluté). Dans un premier temps, une autre représentation du soluté sous forme de soluté flexible sera envisagée. C'est pourquoi, un modèle plus complexe, tel que celui de White et Deen a été testé [White et Deen, 2000].

II. Soluté flexible, matrice fibreuse

II.1 Modélisation par le modèle de White et Deen

Cette approche [White et Deen, 2000] décrit le soluté par l'intermédiaire du rayon de giration. Les rayons de giration de notre série de pullulanes ont été calculés au chapitre II (voir tableau 3). Le soluté est donc défini comme un enchaînement de $n-1$ segments de longueur l . La valeur de l est prise égale à 1,6 nm et n est calculé via la définition de r_g .

Les autres paramètres du modèle sont Φ_p et le rayon des fibres, r_f . Par conséquent, et comme pour les modélisations précédentes, seul r_f sera utilisé comme paramètre d'ajustement, commun à toutes les fractions volumiques.

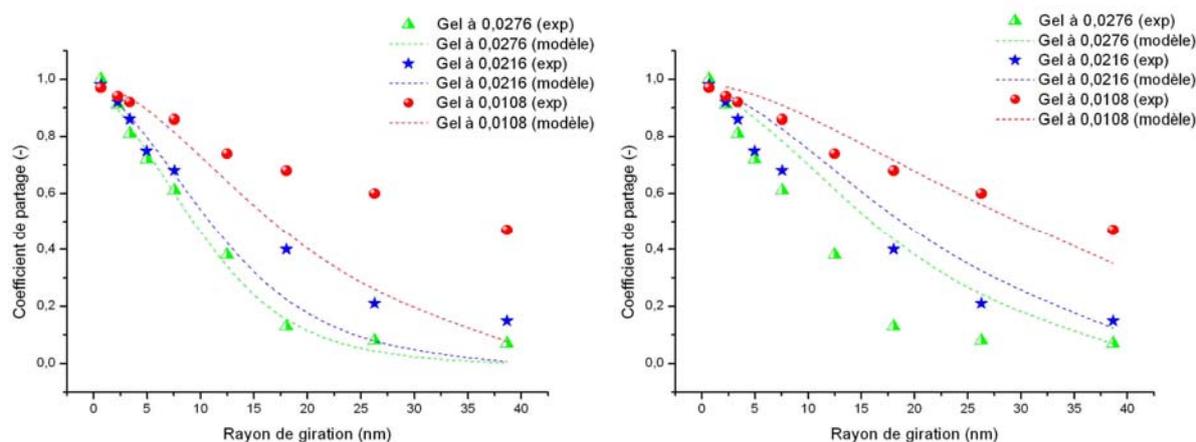


Figure 102 : Modélisation avec la relation de White et Deen, paramètre d'ajustement $r_f = 2,33$ nm, ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47300$ g.mol⁻¹ (à gauche) et $r_f = 3,96$ nm si ajustement sur tous les pullulanes (à droite).

White et Deen $K_p = \exp[-(1 + \pi^a \lambda^b) \Phi_p]$	r_f ajusté sur la série ou les 5 premiers pullulanes r_g déterminé par la relation de Kato				
	Gel 0,0276	Gel 0,0216	Gel 0,0108	Total	r_f (nm)
Résidu (série)	1,13	0,26	0,14	1,53	3,96
Résidu (5 pullulanes)	576	197	15	788	2,33
Résidu 7/8 (5 pullulanes)	1,32	3,5	1,53	6,35	2,33

Tableau 23 : Résidus dans le cas de modélisations par la relation de White et Deen.

Les modèles utilisés dans ce travail ayant fait leurs preuves pour les solutés de petites tailles, on peut supposer que le fait d'ajuster nos modélisations sur les 5 premiers pullulanes de la série nous permettra d'avoir une vision critique des écarts entre modèle et expérience. Dans ce cas, une remarque générale peut être faite concernant la sous-estimation du coefficient de partage des molécules les plus grandes par rapport à l'expérience (voir Figure 102 et Tableau 23). Cette sous estimation générale de K_p pour les grandes masses moléculaires par le modèle de White et Deen est soulignée par ces auteurs [White et Deen, 2000]. Ceci est visible dans leurs travaux à partir d'une valeur du rayon du soluté de l'ordre de 5 nm. Il n'est donc pas surprenant d'obtenir des modélisations peu satisfaisantes avec ce type de modèle, dans notre cas. En outre, représenter des solutés de très faible taille par des pelotes statistiques (via

l'utilisation de r_g) pose problème et semblerait mieux adaptée aux grandes masses moléculaires qui n'ont pas été modélisées, pour cause de limitations de calculs. Concernant les valeurs de rayons de fibre obtenues par ajustement, elles apparaissent sur estimées par rapport à la valeur de $3,6\text{\AA}$ suggérée par Amsden. A ce titre, White et Deen indiquent, dans le cas des modélisations effectuées sur les gels d'agarose, qu'ils choisissent une valeur moyenne de r_f de $1,9\text{ nm}$ étant donné que les mesures expérimentales ont montré que 87% des fibres d'agarose mesuraient $1,5\text{ nm}$ et les 13% restants mesuraient $4,5\text{ nm}$. Cet exemple illustre bien la difficulté d'estimation de ce paramètre et son caractère très certainement multi modal en contradiction avec des modèles considérant un rayon de fibre unique dans tout le gel. Nous nous attacherons, dans la suite de ce chapitre, à apporter des hypothèses en vue de l'amélioration des modèles et de la compréhension du partage accru des solutés de très grande masse moléculaire.

II.2 Conformation du soluté

Une autre hypothèse concernant le soluté, que nous avons déjà évoquée dans le cas des solutés rigides, est la conformation de ceux-ci au voisinage du gel. La Figure 103 illustre cette hypothèse. Les flèches horizontales représentent la diminution du rayon nécessaire à une bonne adéquation entre théorie et expérience.

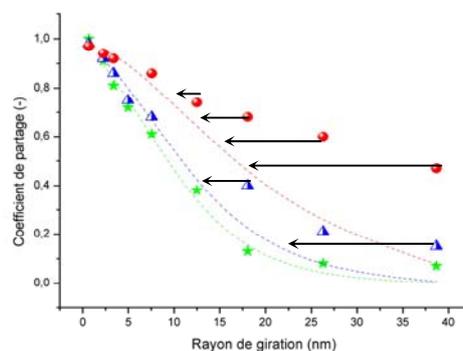


Figure 103 : Illustration de l'hypothèse d'un réarrangement du soluté en vue d'une conformation pour laquelle le rayon équivalent est inférieur à r_g .

De récents travaux [Hermsen, 2002] abondent dans le sens de cette hypothèse. Ces auteurs décrivent, au voisinage de pores cylindriques et rectilignes une conformation dite « flower conformation » pour laquelle la macromolécule change de conformation au fur et à mesure de sa pénétration dans les pores en adoptant la forme d'une fleur dont la queue entre dans la cavité tandis que le reste de la macromolécule se concentre en un bouton. Finalement, elle retrouve au sein de la cavité une conformation en pelote statistique. (Figure 104)

Ces travaux fournissent donc une hypothèse intéressante dans notre cas car elle pourrait expliquer des valeurs de K_p expérimentales supérieures à celles prévues par la théorie. Malheureusement, aucun développement mathématique ne permet à l'heure actuelle de calculer un rayon équivalent lorsque cette conformation est adoptée.

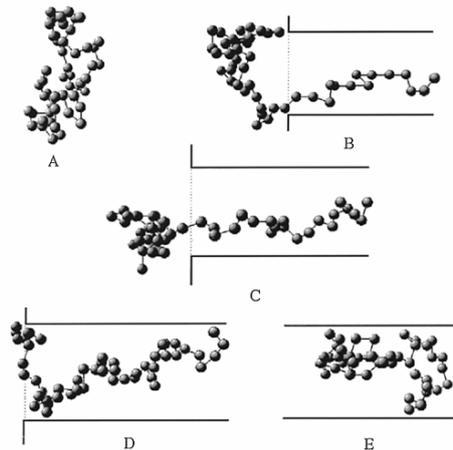


Figure 104 : Représentation de la macromolécule à différents degrés de pénétration dans le pore : (A) dans la solution, (B) 28 % dans le pore, (C) 42 %, (D) 89 % et (E) dans le pore. [Hermsen, 2002]

II.3 Effet de la taille du soluté via le degré de polymérisation

Dans la partie caractérisation du système, il a été souligné que les données fournisseurs indiquaient des différences relativement importantes (10% environ) entre les masses moléculaires mesurées au laboratoire et celles données par le fournisseur pour les pullulanes de M_w élevées. Ces différences induisent des variations dans la valeur du rayon de giration qui intervient, dans le modèle de White et Deen, par le biais de n , le nombre de segments de la chaîne polymère.

Pour estimer l'effet d'une erreur sur M_w , la différentielle de K_p par rapport à n a été calculée pour la relation de White et Deen (annexe IV.2) :

$$\left(\frac{dK_p}{dn} \right)_{r_f, \Phi_p} = \frac{\partial}{\partial n} \left(\exp \left(- \left(1 + \pi^a \lambda^b \right) \Phi_p \right) \right) \quad (\text{IV.24})$$

On en déduit l'expression du rapport des erreurs relatives $\frac{dK_p}{dn} \frac{n}{K_p}$. Ce rapport est dépendant

du rayon des fibres et de la fraction volumique en polymère. Si on suppose une erreur relative de 10%, à une fraction volumique en polymère de 0,0276, le tracé de l'erreur relative sur K_p en fonction de n et pour différents r_f peut être tracé (voir Figure 105).

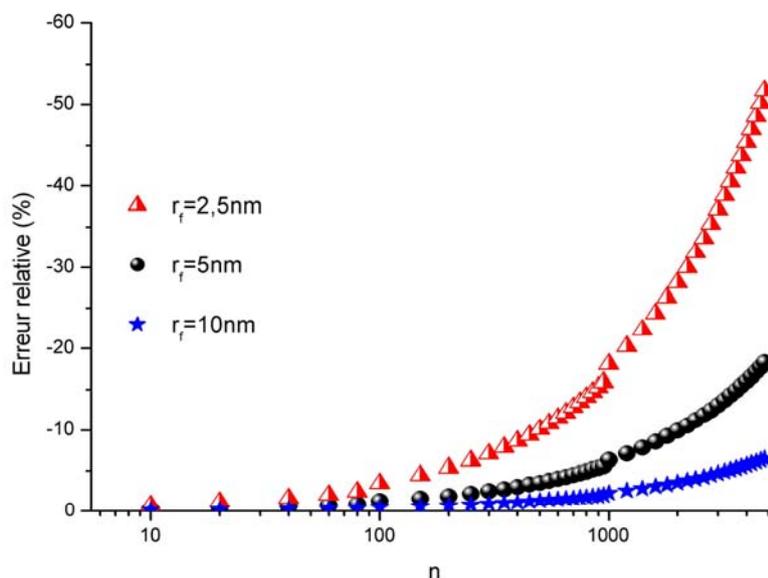


Figure 105 : Erreur relative sur $\Delta K_P/K_P$ pour une erreur relative de 10% sur n et pour trois rayons de fibres.

Il apparaît que pour les valeurs importantes de n (dans le cas des pullulanes, $n_{P788}=3500$), l'erreur relative sur K_P consécutive de 10% d'erreur relative sur n peut dépasser les 50%. Pour savoir si cet écart suffit à expliquer la déviation observée entre modèle et expérience, les erreurs relatives après modélisation ont été calculées, dans notre cas (Tableau 24).

M_w (g.mol ⁻¹)	Gel 0,0276	Gel 0,0216	Gel 0,0108
738	0 %	0%	
5900	9,6%	2,1%	21,0%
11800	45,4%	22,0%	18,9%
22800	67,1%	81,4%	0,0%
47300	25,9%	19,2%	32,9%
112000	53,7%	0%	102,9%
212000	184,6%	683,2%	394,9%
405000	1131,7%	1741,2%	1167,8%
788000	23977,9%	13916,5%	3686,9%

Tableau 24 : Ecarts relatifs théorie/expérience dans le cas d'une modélisation avec ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47300$ g.mol⁻¹.

M_w (g.mol ⁻¹)	Gel 0,0276	Gel 0,0216	Gel 0,0108
738	0 %	0%	
5900	25,2%	29,1%	34,3%
11800	105,8%	70,8%	43,7%
22800	168,6%	160,7%	0%
47300	224,7%	179,6%	55,4%
112000	381,2%	0%	104,4%
212000	695,0%	220,4%	50,7%
405000	640,5%	319,2%	80,3%
788000	15,4%	216,5%	338,5%

Tableau 25 : Ecarts relatifs théorie/expérience dans le cas d'une modélisation avec ajustement sur toute la série de pullulanes.

Dans tous les cas, l'écart entre théorie et expérience est bien supérieur à celui prévu par l'erreur relative théorique sur n . On peut donc en déduire qu'il faut envisager d'autres hypothèses qu'une erreur sur M_w (ou r_g) pour rendre compte de l'imprécision des modèles d'équilibre pour des solutés de très grande masse moléculaire.

Seul un cumul des erreurs sur l'estimation des différents paramètres pourrait expliquer les écarts entre expérience et modèle.

Nous avons jusqu'alors remis en question la description du soluté. Etant donné que la partition dépend du rapport de la taille du soluté à la taille des mailles (ou des pores) du réseau, il convient de vérifier si la description de la matrice peut, elle aussi, être améliorée. Comme nous l'avons précisé dans la première partie de ce chapitre, une approche poreuse est également possible pour la matrice. Le prochain paragraphe se propose d'aborder cette vision de la matrice.

III. Soluté rigide, matrice poreuse

Ce modèle, très simple, fournit des résultats très satisfaisants (Figure 106) par rapport aux modèles plus élaborés testés précédemment. Par contre, on peut s'interroger sur le caractère prédictif de celui-ci étant donné que le rayon des pores a été utilisé comme paramètre d'ajustement.

Les rayons de pore ajustés, d'après le modèle de Pappenheimer, aux résultats expérimentaux, sont présentés, Tableau 26, tout comme les résidus.

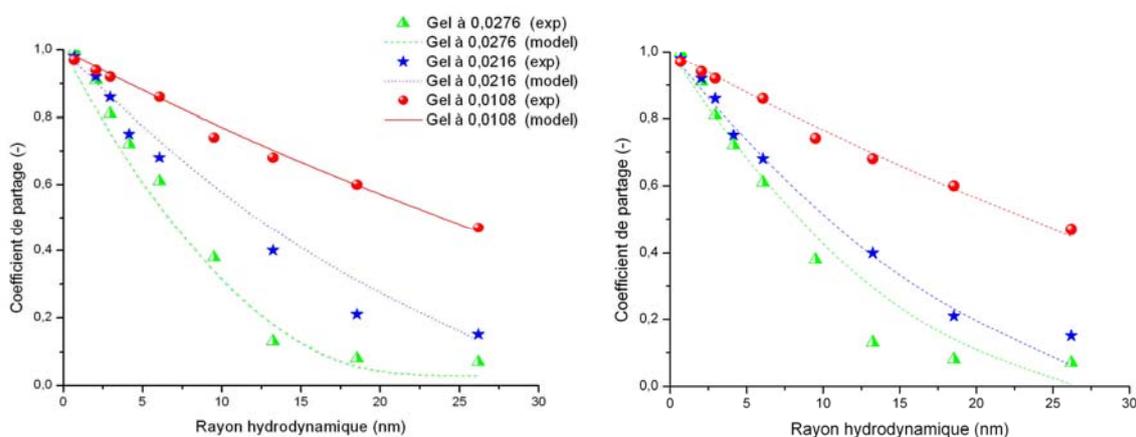


Figure 106 : Modélisation avec le modèle de Pappenheimer avec pour paramètre d'ajustement le rayon de pore : (à gauche) ajustement sur tous les points, (à droite) ajustement sur 5 points.

	r_p ajusté pour chaque fraction volumique			Total
	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276	
$K_p = \left(1 - \frac{r_s}{r_p}\right)^2$				
r_p modélisé (nm)	81	41	22	
Résidus	0,004	0,138	5,01	5,152

Tableau 26 : Récapitulatif des valeurs du rayon de pores ajustées pour les trois gels physiques par le modèle de Pappenheimer ainsi que les résidus (fit sur tous les points).

Certains auteurs [Cifra et Bleha, 2005] suggèrent d'utiliser pour le soluté, le rayon de giration plutôt que le rayon hydrodynamique. Les résultats sont similaires comme en témoignent la Figure 107 et le Tableau 27.

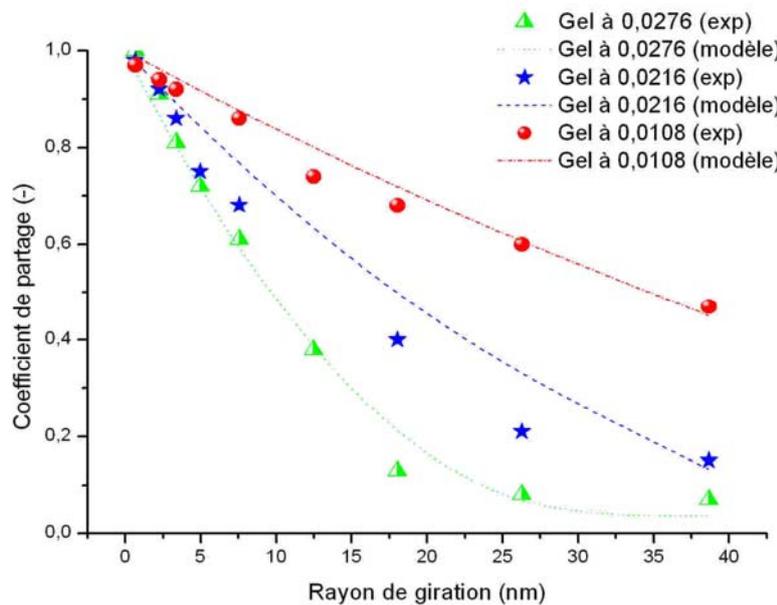


Figure 107 : Modélisation avec pour paramètre d'ajustement le rayon de pore et un soluté décrit par le rayon de giration (ajustement sur tous les points).

$K_p = \left(1 - \frac{r_s}{r_p}\right)^2$	r_p ajusté pour chaque fraction volumique		
	$r_s = r_g$		
	Gel 0,01	Gel 0,02	Gel 0,03
r_p modélisé (nm)	118	61	32
Résidus	0,012	0,2	2,42

Tableau 27 : Récapitulatif des valeurs du rayon de pores ajustées pour les trois gels physiques et un soluté décrit par le rayon de giration.

Même si la qualité de la modélisation est voisine, on peut quand même souligner l'écart non négligeable des valeurs du rayon de pore. La Figure 108 se propose de positionner les rayons de pores obtenus par modélisation sur le graphe présentant, au chapitre I, la grande variabilité des tailles de pores (ou de maille) rencontrées dans la littérature en fonction des modèles théoriques.

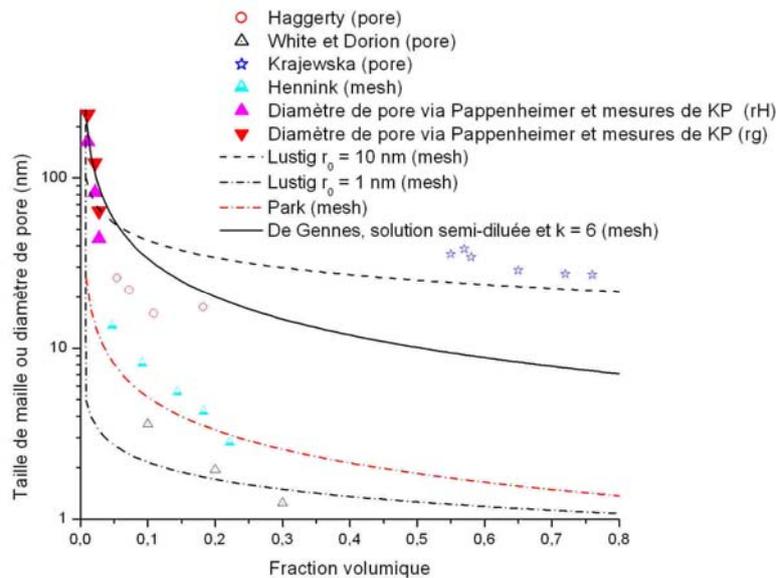


Figure 108 : Comparaison des rayons de pores de la littérature et modélisés pour l'alginate de calcium à partir de K_p et d'un modèle de pore.

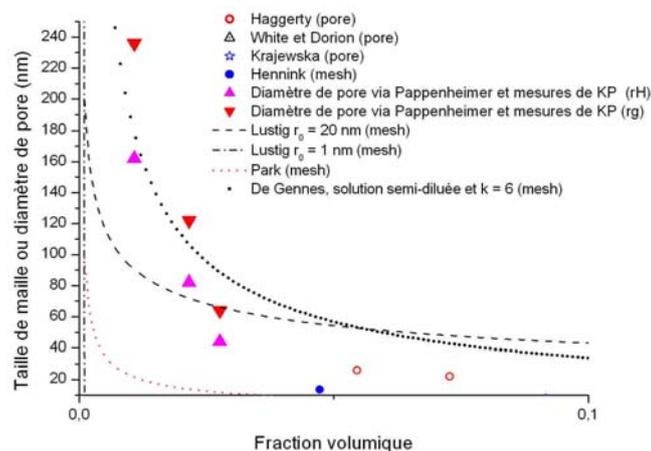


Figure 109 : Comparaison des rayons de pores de la littérature et modélisés pour l'alginate de calcium à partir de K_p et d'un modèle de pore (zoom).

Les rayons de pores de l'alginate sont assez proches de ceux prévus par les modèles de De Gennes dans le cas de solutions semi diluées, ou le modèle de Lustig.

Si on se reporte aux valeurs rencontrées dans la littérature, la revue de Gombotz [Gombotz, 1998] sur la libération contrôlée dans des matrices alginate donne des ordres de grandeurs très différents en fonction des méthodes de détermination (entre 5 et 200 nm par microscopie électronique et de l'ordre de 12 à 16 nm par SEC). Dans cet article, il attribue ces différences à une plus grande constrictivité en surface des billes par rapport au centre, se traduisant par des rayons de pores très différents en fonction de la méthode expérimentale employée.

En conclusion, les grandeurs obtenues par modélisation, même si elles ne peuvent être vérifiées, semblent relativement cohérentes. Toutefois, il est difficile de discerner entre les deux modèles utilisés (rayon de giration ou rayon hydrodynamique). Seuls les ordres de grandeur et la bonne adéquation modèle/expérience seront donc retenus de cette approche.

IV.Soluté flexible, matrice poreuse

Un dernier type de modèle consiste à représenter le système sous la forme d'une matrice poreuse dans laquelle un soluté flexible se partage entre le gel et la solution environnante. Cette approche basée sur les travaux de Casassa, requiert le calcul des racines de la fonction de Bessel J_0 de premier type d'ordre 0. Le coefficient de partage ne dépend que du rapport de la taille du soluté (estimé par l'intermédiaire du rayon de giration) au rayon des pores de la matrice.

Le nombre de racines de la fonction de Bessel étant infini, nous avons considéré les 35 premières en vérifiant que la variation de K_P était, au-delà, négligeable.

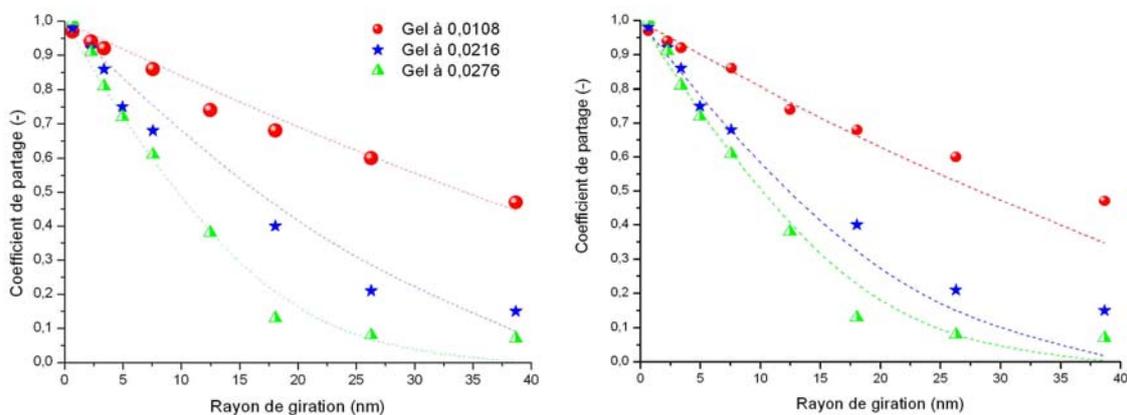


Figure 110 : Modélisation par la relation de Casassa, en utilisant les 35 premières racines de J_0 : (à gauche) sur la série entière de pullulane, (à droite) sur les 5 plus petits pullulanes.

Casassa	r_p ajusté sur la série ou les 5 premiers pullulanes			
	$r_s = r_g$			
$K_P = 4 \sum_{i=1}^{\infty} \left(\frac{1}{\alpha_i^2} \right) \exp(-\alpha_i^2 \lambda_G^2)$	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276	Somme
Ajustement sur tous les points	0,014	0,21	1,07	1,294
Aj. sur 5 petits Pullulanes	0,147	56	509,6	565,747
Résidus (7/8)	0,022	0,5	0,34	0,862

Tableau 28 : Valeurs des résidus pour la modélisation de Casassa.

r_p (nm)	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276
Ajustement sur tous les points	137	72	59
Ajustement sur 5 petits Pullulanes	111	49	40

Tableau 29 : Valeurs des rayons de pores pour la modélisation de Casassa.

Ce modèle fournit donc une bonne représentation de nos données expérimentales. Le paragraphe suivant se propose de réaliser un bilan des modélisations effectuées et de définir des perspectives de travail.

E/ Bilan des modélisations, perspectives

Modèle	Résidu (ajustement sur totalité)	Résidu (ajustement sur 5)
Ogston	1,57	2025
White et Deen	1,53	788
Pappenheimer	5,15	89
Casassa	1,29	565

Tableau 30 : Bilan des modélisations des coefficients de partage.

D'après ces résultats, il semble qu'un modèle de matrice poreuse associé à un soluté flexible soit le plus efficace dans la modélisation du pullulane dans l'alginate de calcium. La robustesse de l'ensemble des modèles peut, en outre, être soulignée pour des conditions expérimentales relativement éloignées de leur application initiale (masses moléculaires élevées, faibles fractions de polymère dans le gel).

Toutefois, on peut s'interroger sur le caractère réellement prédictif de ceux-ci. En effet, si les modèles de pores se sont avérés plus représentatifs de notre système, c'est très certainement du fait de la plus grande flexibilité d'ajustement accordée. En d'autres termes, dans le cas des modèles de matrice fibreuse, il a été supposé que le rayon de fibre était le même pour l'ensemble des fractions volumiques en polymère dans le gel. La fraction en polymère ayant été déterminée expérimentalement, celle-ci a été imposée. Finalement, une seule variable a donc été utilisée pour simuler l'ensemble des points expérimentaux. Au contraire, dans le cas des modèles poreux, vu que l'ajustement du rayon de pores a été réalisé pour chacune des fractions volumiques, le degré de liberté du modèle était plus grand.

Il est donc légitime de supposer que la qualité des résultats est directement liée à la méthode de modélisation employée. Afin de vérifier cette hypothèse des ajustements ont également été réalisés avec $r_f = f(\Phi_p)$ (Figure 95) qui, compilés aux données de caractérisation, ont démontré que les modèles de pores restaient les mieux adaptées à la description de nos données expérimentales, à nombre de paramètre d'ajustement égal.

Les modèles testés, même s'ils restent imparfaits, se sont toutefois avérés efficaces dans la mise en évidence de comportements particuliers aux macromolécules en situation de confinement. Leur utilisation a permis de dresser le bilan des hypothèses à prendre en compte dans une meilleure compréhension de l'équilibre et de la diffusion de macromolécules dans les gels.

Dans le cadre des perspectives à donner à ces modélisations, des travaux concernant un phénomène qualifié « d'entropic trapping » peuvent être cités [Liu, 1999^[a]; Liu, 1999^[b]]. Dans ces travaux, un système expérimental (voir figure 36) constitué d'un gel dans lequel des cavités de taille contrôlée ont été générées permet de mesurer des coefficients de partage entre le gel et la solution mais également entre la solution des cavités et le gel. Les résultats mettent en évidence une partition préférentielle dans les cavités, traduisant expérimentalement le concept de « piège entropique ». Ces notions liées à l'hétérogénéité de la matrice gel n'ont pas fait l'objet, à l'heure actuelle de formalisation mathématique mais restent toutefois d'intérêt dans l'interprétation et l'exploitation qualitative de données de partage.

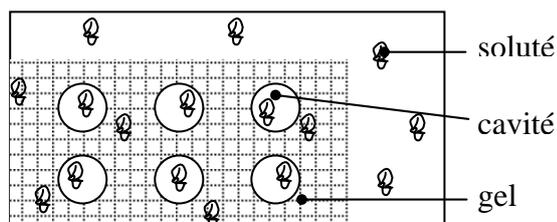


Figure 111 : Représentation schématique du système expérimental de Liu et al. [Liu, 1999^b].

Par ailleurs, l'ensemble des modèles testés jusqu'alors permet de relier le coefficient de partage à des données structurales du système. Les caractéristiques d'interactions entre soluté et matrice ne peuvent pas être prises en compte dans ce type d'approche étant donné qu'une hypothèse forte de l'ensemble de ces modèles est qu'ils ne s'appliquent qu'aux cas où les interactions sont négligeables. Par conséquent, pour ces modèles, une variation de l'affinité du soluté avec la matrice, en gardant constante la structure du soluté et de la matrice ne peut être modélisée.

La seule approche permettant de prendre en compte ces paramètres, semble-t-il liés à des interactions entre soluté et matrice (et/ou solvant), est basée sur la théorie de Flory-Huggins (voir Chapitre I) et sur une vision homogène du système, de type solution. Ces auteurs [Brooks, 2000] proposent une relation entre K_p , les volumes molaires des composés et les paramètres d'interaction. Sa simplification conduit à une unique relation de proportionnalité entre $\ln(K_p)/\Phi_p$ et M_w pour les trois gels physiques dans un même solvant. L'application à nos données expérimentales fournit des résultats relativement satisfaisants pour les pullulanes de masse moléculaire moyenne en masse inférieure à 47300 g.mol⁻¹. Au-delà, les points s'écartent de la droite théorique (la relation n'est plus linéaire) et une dispersion des points est observée entre les différentes fractions volumiques (voir Figure 112).

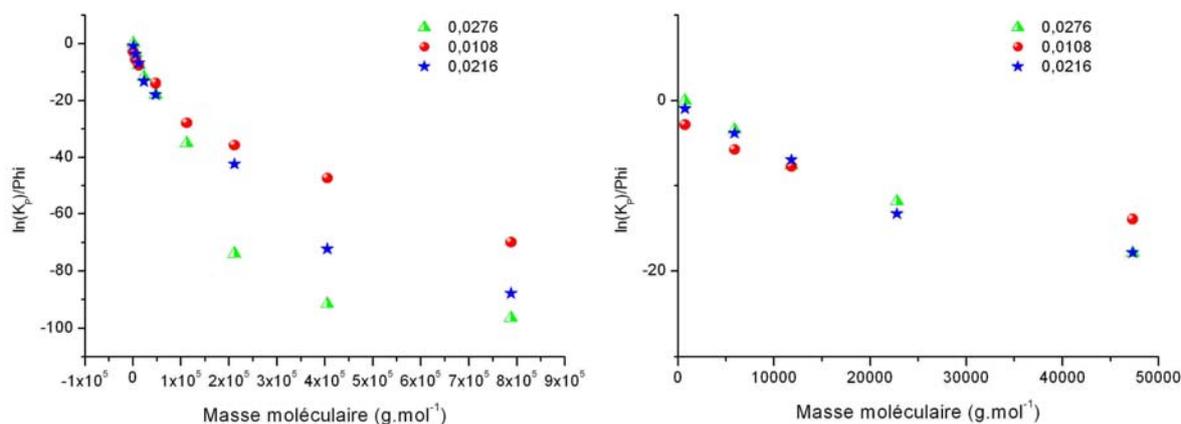


Figure 112 : Tracé de $\ln(K_p)/\Phi_p$ en fonction de M_w : (à gauche) sur toute la série de pullulane et (à droite) zoom sur les pullulanes de M_w inférieure ou égale à 47300.

Des perspectives de traitement par des approches liées à la thermodynamique (via les concepts d'entropic trapping ou les travaux de Brooks et *al.*) pourraient donc être envisagées.

Du point de vue expérimental, l'utilisation de sondes fluorescentes permettant un suivi dans l'espace et le temps présente à ce stade un réel intérêt afin de valider les coefficients de partage observés pour les pullulanes P212, P404 et P788, par une cartographie du pullulane

dans la matrice gel. D'autres types de sondes (radioactives, par exemple) pourraient également être envisagées.

Une autre perspective serait de travailler sur des gammes de fraction volumique accrues via des gels gonflés dans des solvants différents. Des essais préliminaires dans le MES utilisé lors de la synthèse des gels chimiques ont montré que des billes possédant initialement des fractions volumiques en polymère du même ordre mais gonflées dans des solvant différents : NaCl/CaCl₂ ou MES présentaient des coefficients de partage très différents (Figure 113).

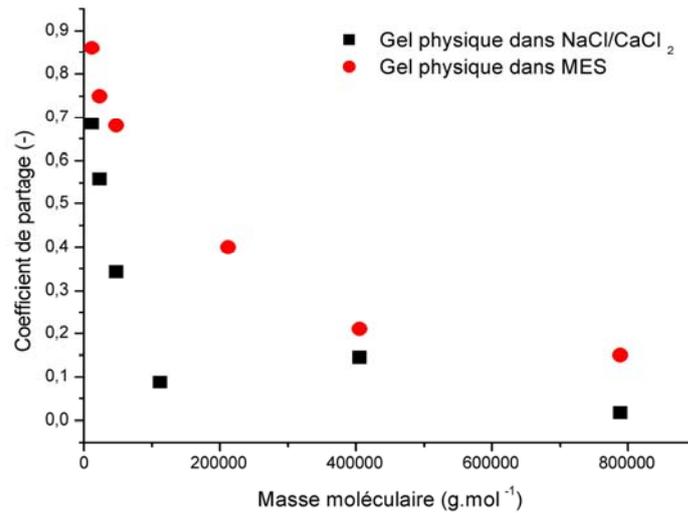


Figure 113 : Coefficients de partage de pullulanes dans des gels physiques de fractions volumiques équivalentes gonflés dans des solvants différents

Conclusion

Ce chapitre nous a permis d'étudier le partage du pullulane dans les gels d'alginate de calcium. L'intérêt de cette étude, comme nous l'avons précisé dans la description des objectifs de travail, était tout d'abord méthodologique étant donné que le coefficient de partition est nécessaire pour l'estimation du coefficient de diffusion à partir des cinétiques de diffusion. De la sorte, un seul paramètre ajustable, D (que l'on cherche à déterminer) sera requis pour la modélisation des cinétiques. Un soin tout particulier a été accordé à la précision des mesures par des répétitions d'essais et des conditions opératoires bien adaptées.

Cependant, l'étude de l'équilibre présente d'autres intérêts soulignés par Casassa [Casassa, 1967]: « ...a thermodynamic analysis has considerable interest on two grounds: an equilibrium phenomenon is inevitably easier to treat theoretically than one that is kinetically controlled; and equilibrium is a limiting condition for actual behavior, one that may even be approached in special circumstances ». A ce titre, ces mesures à l'équilibre ont été utilisées pour appréhender les mécanismes de transfert de matière du pullulane dans l'alginate de calcium. A cet effet, les modèles de la littérature ont été testés depuis des gammes de taille de soluté et fractions volumiques dans les gels classiques jusqu'aux domaines à notre connaissance non encore explorés des gels faibles et des macromolécules. Ceci nous a conduit à mettre en œuvre une étude de sensibilité de paramètres appliquée aux paramètres des modèles afin d'évaluer l'effet d'erreurs cumulées sur l'estimation théorique des coefficients de partage. La sensibilité de paramètre a confirmé que les écarts entre expérience et modèles n'était pas seulement le fruit d'imprécisions dans les paramètres des modèles mais relataient de comportements réellement imprévisibles par la plupart des approches. Nos données ont donc été à même d'établir des distinctions entre modèles malgré ces imprécisions.

Alors que la complexité des modèles reliant propriétés structurales et K_P s'est accrue dans la littérature, nos essais tendent à démontrer que les approches originelles et basées sur des mécanismes simples sont celles qui permettent la meilleure modélisation de nos résultats. De façon surprenante, les modèles de matrice poreuse sont ceux dont l'adéquation avec nos données expérimentales est la meilleure. Les rayons de pores ajustés à partir des différents modèles poreux sont représentés Figure 114 au cœur des données et expressions de la littérature reliant paramètre de maille ou diamètre de pore et fraction volumique en polymère dans le gel.

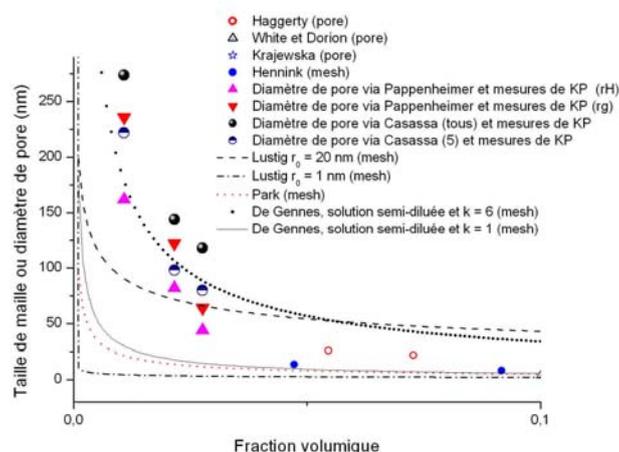


Figure 114 : Comparatif des diamètres de pores issus d'ajustement aux valeurs de taille de maille et de rayon de pore de la littérature.

On note que les valeurs obtenues sont conformes aux ordres de grandeurs attendus. Les données de rayons de pores (entre 5 et 200 nm) issues de mesures et proposées par Gombotz [Gombotz, 1999] confirment, de même, le réalisme de ces estimations. Ainsi, bien que la vision fibreuse du gel reste sans nul doute la plus adaptée pour décrire la réalité physique et moléculaire du gel, il se trouve que du point de vue phénoménologique une approche plus macroscopique et simplifiée, par description du gel en tant que milieu poreux, soit la plus efficace.

Il convient, néanmoins, de nuancer ces observations car la Figure 114 établit des relations entre des approches totalement différentes (approches hétérogènes de type pores ou réseaux, solution). Il est donc légitime de s'interroger sur la valeur de notre comparaison entre r_p issu d'ajustement et paramètre de maille ξ de l'approche solution semi-diluée de De Gennes et sur l'applicabilité de ces modèles au cas d'un gel d'alginate.

Concernant l'adéquation entre r_p et ξ , il semble que l'on puisse considérer que ces deux paramètres n'en représentent qu'un, étant donné que ξ correspond bien à la représentation la plus réaliste du gel tandis que r_p présente une commodité indéniable pour la formalisation mathématique des problèmes. Finalement, ces deux grandeurs représentent la même grandeur, à savoir, l'intervalle entre deux interfaces solution/gel offert à la diffusion ou au partage d'un soluté.

La caractérisation de l'alginate *a*, par ailleurs, montré que celui-ci possédait de courts segments polyG intervenant dans la formation de jonctions de type egg-box. Par conséquent, la structure de nos gels pourrait être considérée comme relativement similaire à celle d'une solution de polymère semi-diluée ou concentrée (Figure 115).

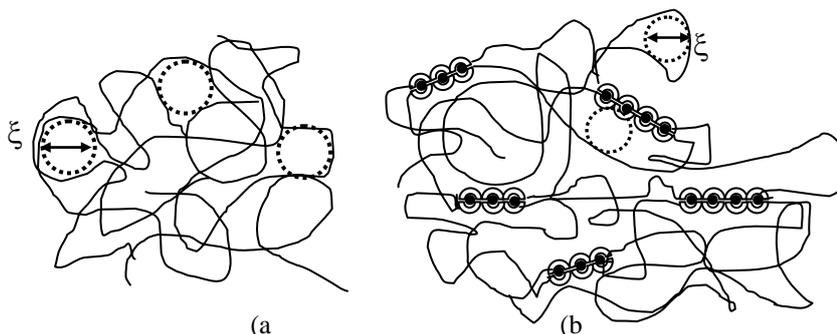


Figure 115 : Comparaison schématique d'une solution de polymère semi diluée ou concentrée (a) et d'un gel d'alginate constitué de courts segments polyG (b) dans lequel coexistent des enchevêtrements et des liaisons de type « egg-box ».

Ceci permet de justifier que des approches de type solution puissent se prêter à des représentations des hydrogels d'alginate de calcium. D'autres arguments expérimentaux permettent de suggérer que les pontages egg-box n'interviennent que très peu dans la modification de la structure du gel par rapport à une solution de même fraction volumique en polymère. Des observations expérimentales de cet ordre se retrouvent dans les travaux de Johansson [Johansson, 1991] où un comparatif entre une solution et un gel réticulé démontre le peu d'influence des jonctions sur le transport de solutés et donc, certainement sur la structure du gel. Ceci a, en outre, été vérifié dans notre cas où les gels chimiques et les gels physiques ont donné des résultats très similaires en partition.

Il est donc tout à fait concevable que des descriptions de type lois d'échelle de De Gennes, formulées pour des solutions, s'adaptent bien au cas des hydrogels. Ceci dit, ces lois d'échelles ne donnent que des relations de proportionnalité entre taille de maille et fraction volumique en polymère dans le gel. Le coefficient de ces lois a été choisi arbitrairement de façon à encadrer nos résultats (égal à 1 et 6, Figure 114). Malheureusement, l'absence de

résultats relatifs à ces paramètres ne permet pas d'avoir une approche prédictive de la taille des mailles de notre système.

Enfin, nous avons noté que pour l'ensemble des modèles testés, une assez bonne adéquation pouvait être trouvée avec les points expérimentaux à forte fraction volumique en polymère dans le gel. Nos résultats semblent démontrer un changement de « régime » se situant aux environs de 1% de cette fraction en polymère et, pour lequel les modèles classiquement utilisés en partage sont inefficaces.

Cette première approche à l'équilibre a donc fourni, outre les données de partage indispensables à la détermination du coefficient de diffusion D , des éléments utiles dans l'appréhension des phénomènes de transfert du pullulane dans les hydrogels. L'étude du régime transitoire pour le calcul des coefficients de diffusion fait l'objet du chapitre suivant et aura pour but de compléter ces divers éléments.

Table des Figures

Figure 1 : O est l'origine, C et C' les centres des fibres, l la distance entre l'origine et le centre des sphères, T est la distance tangentielle d'une fibre à l'origine, ψ est l'angle que fait la fibre avec la ligne joignant son centre à O	117
Figure 2 : Comparatif des modèles de Ogston et de Bosma et Wesselingh pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel.	118
Figure 3 : Comparaison des modèles de Ogston et White et Deen (en posant $r_f = 3,5$ nm (à gauche) et $r_f = 1$ nm (à droite) et $l = 1,6$ nm) et pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel.....	120
Figure 4 : Comparaison des modèles d'Ogston et de White et Deen (en posant $r_f = 3,5$ nm (à gauche) et $r_f = 1$ nm (à droite) et $l = 1,6$ nm) et pour différentes fractions volumiques en polymère dans le gel. Dans ce cas, le rayon du soluté est pris égal au rayon de giration dans les deux modèles.	121
Figure 5 : Exemple de gamme d'étalonnage réalisée lors d'un dosage à l'anthrone.	124
Figure 6 : Effet de la température sur le coefficient de partage, pour un gel à 0,0276 et le pullulane P112.....	126
Figure 7 : Effet de la concentration en soluté (P112) sur le coefficient de partage de trois gels physiques.....	127
Figure 8 : Pression osmotique d'une solution de pullulane ($M_w = 115000$ g.mol ⁻¹) en fonction de la concentration sans sel (\blacktriangle) et avec 0,18 mol.L ⁻¹ de NaCl (\bullet) [Wang, 2001].	127
Figure 9 : Coefficients de partage de la série de pullulanes pour trois gels physiques.....	128
Figure 10 : Comparaison des coefficients de partage de pullulanes dans des gels de natures différentes et issus d'un même lot de billes.	128
Figure 11 : Comparatif entre les résultats de la littérature et résultats expérimentaux de cette étude (gels d'alginate de calcium/ pullulane).....	129
Figure 12 : Deux situations de partage équivalentes pour notre méthode expérimentale.....	130
Figure 13 : Comparaison des coefficients de partage de cylindres et de billes présentant des aires spécifiques différentes.	130
Figure 14 : Formule de la 7-diéthylaminocoumarin-3-carbonyl azide	131
Figure 15 : Réaction en trois étapes de la fluorescéine-5-carbonyl-azide sur un alcool.....	131
Figure 16 : Modélisation des points expérimentaux (ajustement sur r_f supposé constant pour les trois fractions volumiques dans le gel et en utilisant les 5 plus petits pullulanes (à gauche) et toute la série (à droite))......	134
Figure 17 : Modélisation des points expérimentaux via la relation de Ogston en posant $r_f = 3,6$ Å, c'est-à-dire sans paramètre ajustable.....	134
Figure 18 : Comparaison des rayons hydrodynamiques donnés par Kato et des rayons hydrodynamiques calculés via le modèle d'Ogston.....	135
Figure 19 : Conformation supposée (via le coefficient d'asphéricité) du soluté en fonction de sa masse moléculaire et de la fraction volumique du gel.	136
Figure 20 : Modélisation via la relation de Ogston avec r_f ajusté pour chaque fraction volumique en polymère (gel 0,0108 : $r_f = 2,1$ nm ; gel 0,0216 : $r_f = 1,8$ nm et gel 0,0276 : $r_f = 1,8$ nm).....	137
Figure 21 : Sensibilité relative de K_p par rapport à r_s/r_f pour une erreur relative de 20% sur r_f et pour différentes fractions volumiques.....	138
Figure 22 : Illustration de l'hypothèse d'un rayon de fibre variable en fonction de la fraction volumique de polymère dans le gel.....	139
Figure 23 : Effet d'une erreur de fraction volumique de 10 % sur le coefficient de partage en fonction du rapport des tailles de solutés et de fibres et pour différentes fractions volumiques.	140

Figure 24 : Effet d'une variation de plus (points) ou moins (tirets) 20 % de la fraction volumique sur les modélisations de K_p par la relation d'Ogston ; modélisation avec ajustement sur les 5 premiers pullulanes.....	141
Figure 25 : Erreur relative sur K_p consécutives de +20 % d'erreur dans l'estimation de r_f et -20% pour Φ_p	142
Figure 26 : Erreur théorique sur K_p modélisé d'après le modèle d'Ogston et pour une erreur relative sur r_f de +20% et de -20 % sur Φ_p ($r_f = 1,85$ nm).....	142
Figure 27 : Modélisation avec la relation de White et Deen, paramètre d'ajustement $r_f = 2,33$ nm, ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47300$ g.mol ⁻¹ (à gauche) et $r_f = 3,96$ nm si ajustement sur tous les pullulanes (à droite).	143
Figure 28 : Illustration de l'hypothèse d'un réarrangement du soluté en vue d'une conformation pour laquelle le rayon équivalent est inférieur à r_g	144
Figure 29 : Représentation de la macromolécule à différents degrés de pénétration dans le pore : (A) dans la solution, (B) 28 % dans le pore, (C) 42 %, (D) 89 % et (E) dans le pore. [Hermsen, 2002].....	145
Figure 30 : Erreur relative sur $\Delta K_p/K_p$ pour une erreur relative de 10% sur n et pour trois rayons de fibres.	146
Figure 31 : Modélisation avec le modèle de Pappenheimer avec pour paramètre d'ajustement le rayon de pore : (à gauche) ajustement sur tous les points, (à droite) ajustement sur 5 points.	147
Figure 32 : Modélisation avec pour paramètre d'ajustement le rayon de pore et un soluté décrit par le rayon de giration (ajustement sur tous les points).....	148
Figure 33 : Comparaison des rayons de pores de la littérature et modélisés pour l'alginate de calcium à partir de K_p et d'un modèle de pore.....	149
Figure 34 : Comparaison des rayons de pores de la littérature et modélisés pour l'alginate de calcium à partir de K_p et d'un modèle de pore (zoom).	149
Figure 35 : Modélisation par la relation de Casassa, en utilisant les 35 premières racines de J_0 : (à gauche) sur la série entière de pullulane, (à droite) sur les 5 plus petits pullulanes. .	150
Figure 36 : Représentation schématique du système expérimental de Liu et al. [Liu, 1999 ^[b]].	152
Figure 37 : Tracé de $\ln(K_p)/\Phi_p$ en fonction de M_w :(à gauche) sur toute la série de pullulane et (à droite) zoom sur les pullulanes de M_w inférieure ou égale à 47300.....	152
Figure 38 : Coefficients de partage de pullulanes dans des gels physiques de fractions volumiques équivalentes gonflés dans des solvants différents	153
Figure 39 : Comparatif des diamètres de pores issus d'ajustement aux valeurs de taille de maille et de rayon de pore de la littérature.	154
Figure 40 : Comparaison schématique d'une solution de polymère semi diluée ou concentrée (a) et d'un gel d'alginate constitué de courts segments polyG (b) dans lequel coexistent des enchevêtrements et des liaisons de type « egg-box ».	155

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Vue schématique des différentes descriptions possibles du couple soluté/matrice.	116
Tableau 2 : Estimation des temps d'équilibrage pour différents coefficients de diffusion.	123
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des essais réalisés sur les gels physiques.	124
Tableau 4 : Essais réalisés à différentes températures	125
Tableau 5 : Essais réalisés à différentes concentrations.....	125
Tableau 6 : Récapitulatif des essais réalisés sur des gels de nature différente dans MES.	125
Tableau 7 : Propriétés de quelques hydrogels utilisés dans la littérature [d'après White et Deen, 2000].	133
Tableau 8 : Résidus dans le cas de modélisations par la relation de Ogston.	134
Tableau 9 : Résultats de modélisation avec ajustement sur r_f pour chaque fraction volumique (ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47\ 300\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$).	138
Tableau 10 : Résultats de modélisation avec ajustement sur r_f ajusté pour chaque fraction volumique (ajustement sur tous les pullulanes).	139
Tableau 11 : Résidus essais/modèles pour des fractions volumiques différentes et un ajustement sur les 5 premiers pullulanes avec r_f constant pour les 3 gels.....	141
Tableau 12 : Résidus dans le cas de modélisations par la relation de White et Deen.....	143
Tableau 13 : Ecart relatifs théorie/expérience dans le cas d'une modélisation avec ajustement sur les pullulanes de $M_w \leq 47300\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	146
Tableau 14 : Ecart relatifs théorie/expérience dans le cas d'une modélisation avec ajustement sur toute la série de pullulanes.	146
Tableau 15 : Récapitulatif des valeurs du rayon de pores ajustées pour les trois gels physiques par le modèle de Pappenheimer ainsi que les résidus (fit sur tous les points).	147
Tableau 16 : Récapitulatif des valeurs du rayon de pores ajustées pour les trois gels physiques et un soluté décrit par le rayon de giration.	148
Tableau 17 : Valeurs des résidus pour la modélisation de Casassa.	150
Tableau 18 : Valeurs des rayons de pores pour la modélisation de Casassa.....	150
Tableau 19 : Bilan des modélisations des coefficients de partage.	151

Chapitre V

Diffusion de solutés macromoléculaires dans l'alginate de calcium

Introduction

L'équilibre de partage du pullulane dans les gels d'alginate de calcium a fait l'objet du chapitre IV de ce manuscrit. Dans ce cadre, des modèles reliant propriétés à l'équilibre (K_P) et paramètres structuraux du système ont été testés de façon à initier la compréhension des mécanismes de transport mis en jeu. Cette détermination du paramètre K_P se justifie également par un souci de méthodologie car la détermination de D dépend de la connaissance de K_P . Certes, les deux paramètres peuvent être (et sont souvent) déterminés par un seul essai. Mais, la détermination indépendante de ces deux paramètres permet de limiter les erreurs sur D .

Le chapitre III de ce manuscrit ayant conduit à la définition de recommandations quant à l'exploitation des données brutes d'une part et, d'autre part, relatives au système expérimental, ces recommandations seront appliquées à notre système (partie A) pour la détermination des coefficients de diffusion présentés dans la partie B.

Afin de modéliser les paramètres de diffusion en fonction de la structure des systèmes, un état de l'art des modèles de la littérature est réalisé (Partie C) et certains seront appliqués aux résultats expérimentaux (partie D). Cette étude conduira, finalement, à émettre des hypothèses explicatives quant à la plus ou moins bonne adéquation entre modèles et résultats. Nous formulerons les bases d'un modèle empirique à deux régimes, transition entre une diffusion sous forme de pelote statistique pour les petits solutés et une diffusion par reptation pour les grandes masses moléculaires.

Finalement, ce chapitre V s'inscrit parfaitement dans la problématique décrite par Muhr et Blanshard [Muhr, 1982] qui soulignent la grande difficulté de reproductibilité des résultats de diffusion, souvent attribuée (et peut-être à tort) à des variabilités dans la structure des gels mais encore mal comprise. La partie de ce chapitre consacrée à la méthodologie d'accès à D permet d'apporter un certain nombre d'éléments à ce problème.

En outre, ces auteurs soulignent que la diffusion de macromolécules n'est pas bien comprise et requiert plus de données expérimentales, objectif également visé par ce chapitre.

A/ Méthode de détermination des coefficients de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium

I. Essais d'incorporation du soluté dans des particules sphériques d'alginate dispersées en système fermé

I.1 Protocole expérimental

I.1.a Dosage du pullulane via l'indice de réfraction

Un second dosage du pullulane a été mis en œuvre dans ce travail, utilisant une méthode indirecte via la mesure de l'indice de réfraction des solutions de pullulane. La Figure 116 présente un exemple d'étalonnage réalisé par la méthode des ajouts dosés. Le premier graphe correspond à l'enregistrement du signal du détecteur d'indice de réfraction (DRI) avec 5 ajouts de 100 μL et 2 ajouts de 1 mL d'une solution de pullulane à 9 g.L^{-1} dans 20 mL de solution saline (voir Figure 116, gauche). Connaissant la concentration de la solution d'étalonnage ainsi que le volume de la solution correspondant à la référence, il est possible d'associer une concentration au signal donné par le réfractomètre, en volt. Le résultat de cette opération fournit une droite d'étalonnage telle que celle de la Figure 116.

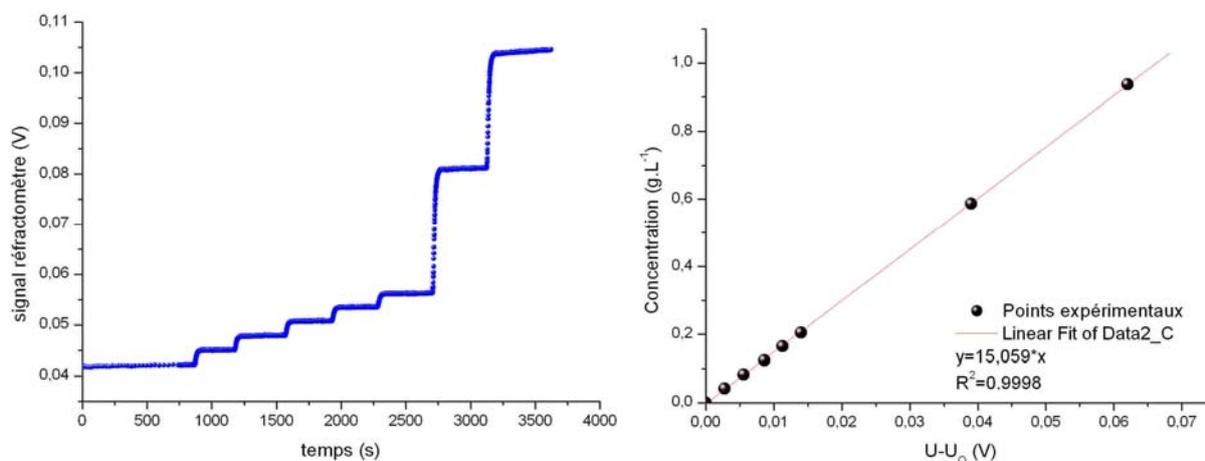


Figure 116 : Exemple de courbes d'étalonnage pour dosage du pullulane par réfractométrie : (à gauche) données brutes ; (à droite) courbe de calibration.

L'avantage de cette méthode est l'absence de traitement de l'échantillon et le caractère non destructif du dosage qui permet de s'affranchir des prélèvements lorsque le détecteur d'indice de réfraction (DRI) est positionné dans une boucle d'analyse. Cependant, les précautions expérimentales sont nombreuses allant du débit de pompe aux caractéristiques thermiques du montage comme en témoigne le protocole décrit en annexe (Annexe V.1).

I.1.b Dispositif expérimental

Le montage avec boucle d'analyse (voir Figure 117) est composé d'un réacteur à double enveloppe maintenu à 25°C grâce à un bain thermostaté (Julabo). Une pompe (Merck) assure un débit constant dans le circuit et la mesure de la concentration en pullulane dans le surnageant est réalisée grâce à un détecteur d'indice de réfraction (Beckman). Une acquisition (TestPoint®) permet la mesure de la température (sonde plongeant dans le réacteur) et de la concentration en fonction du temps. L'agitation est assurée par un agitateur magnétique et le montage a été réalisé avec un grand souci d'étanchéité. Il est important de souligner que l'utilisation d'un détecteur d'indice de réfraction dans ce type de montage requiert une série de rinçages soigneux (décrits dans le protocole). Par ailleurs, un équilibrage du système est effectué pendant 48 heures avant l'injection du pullulane et l'enregistrement de la cinétique de diffusion. Pendant la période d'équilibrage, un étalonnage est possible grâce à un circuit parallèle, par la méthode des ajouts dosés.

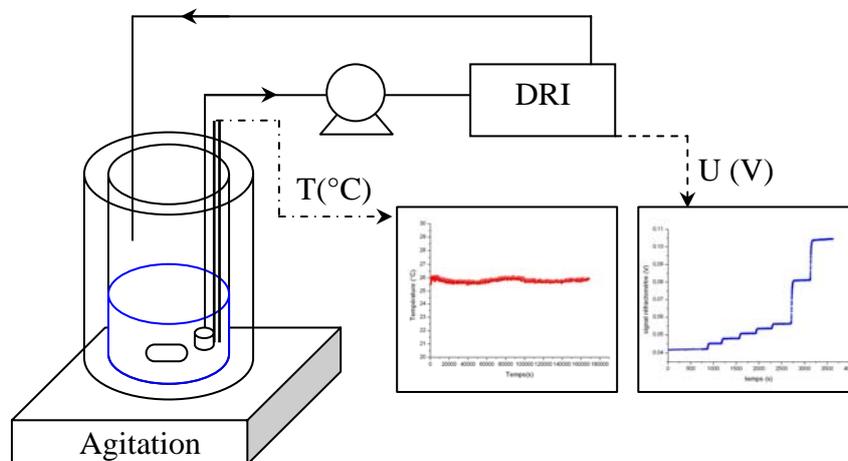


Figure 117 : Schéma simplifié du montage en système fermé à recirculation.

Le montage expérimental est constitué :

- d'un réacteur constitué de deux cylindres concentriques enserrés par deux plaques de téflon. La séparation du fluide caloporteur et du réacteur est assurée par des joints en téflon. Le cylindre interne, en verre, évite tout problème d'adsorption des solutés.
- de capillaires 1/4" en PEEK (polyether ether ketone) inerte vis à vis des solvants et solutés ;
- d'une table d'agitation ;
- un bain thermostaté (Julabo) permet de maintenir la température à 25°C ;
- 3 vannes 3 voies ;
- un détecteur d'indice de réfraction (DRI) de marque Beckman ;
- une sonde de température ;
- un système d'acquisition sous TestPoint ;
- une pompe (Merck).

Le protocole complet et le schéma du montage sont détaillés en annexe IV.1.

Les phases d'équilibrage du système peuvent paraître extrêmement longues dans ce protocole. Cependant, elles représentent un point crucial pour la mesure de coefficients de diffusion dans les gels. L'atteinte de l'équilibre de gonflement par le gel est assurée par une période de

gélification de 48h, accrue par rapport aux protocoles rencontrés dans la littérature et préconisant 24h de gélification [Rastello de Boissesson, 2004 ; Favre, 2001]. De même, il a été vérifié que le taux de gonflement des gels d'alginate de calcium était dépendant de la température. Par conséquent, une phase d'équilibre thermique rigoureuse est nécessaire pour que les perturbations résultantes ne modifient pas la diffusion dans le gel.

I.2 Validation de la méthode

Afin de valider cette nouvelle méthode plusieurs essais de vérification ont été mis en œuvre : répétitivité intrinsèque des essais, comparaison entre la méthode avec recirculation et un dosage avec prélèvements et dosage du pullulane à l'antrone, comparaison des coefficients de partage obtenus dans l'étude de partition et à l'issue d'un essai avec boucle d'analyse.

II.2.a Répétitivité de la méthode

La répétitivité de la méthode a été testée à plusieurs reprises, en doublant un certain nombre d'essais réalisés dans des conditions identiques. Un exemple est donné Figure 118.

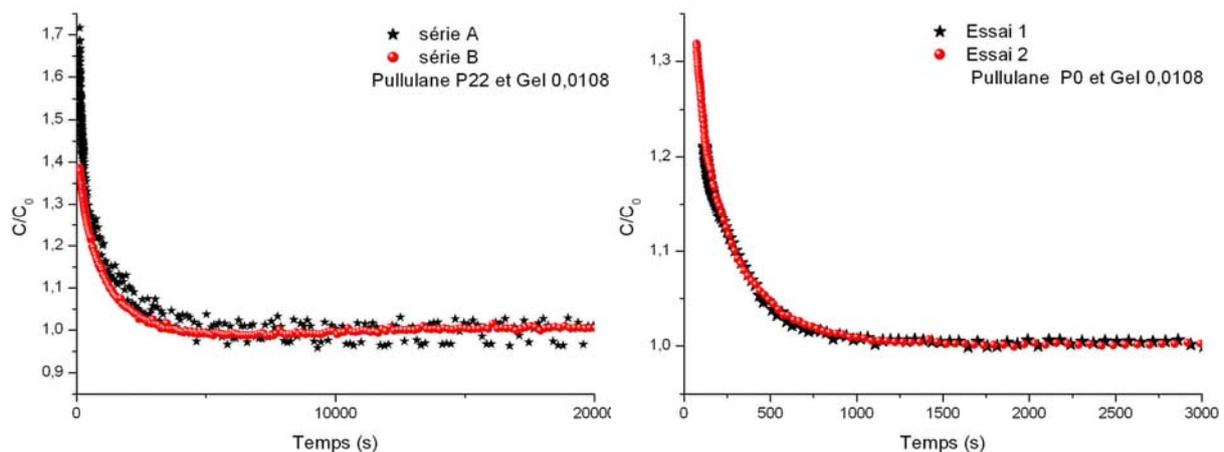


Figure 118 : Exemples de courbes d'incorporation (diminution de la concentration dans la solution) pour le montage avec boucle d'analyse.

Afin de s'assurer du bon fonctionnement du dispositif, l'étalonnage est réitéré lors de chaque nouvel essai, permettant ainsi une vérification du signal du réfractomètre.

Ces vérifications ont montré une très bonne reproductibilité des essais si le protocole détaillé en annexe est scrupuleusement respecté. En effet, la sensibilité de la méthode aux perturbations extérieures (température, rinçage du système) est extrêmement importante.

II.2.b Comparaison des coefficients de partage de la méthode avec boucle d'analyse et de l'étude de partition

Dans un second temps, les valeurs des concentrations à l'équilibre ont été vérifiées en comparant les coefficients de partage obtenus par dosage à l'antrone lors de mise en équilibre dans un récipient clos et par mesure de l'indice de réfraction à l'issue d'un essai dans le système fermé à recirculation.

La Figure 119 propose un comparatif des coefficients de partage présentés dans le chapitre destiné à la partition aux valeurs de K_P obtenues par la méthode utilisant la boucle d'analyse.

Pour la plupart des essais, une bonne adéquation des méthodes est observée.

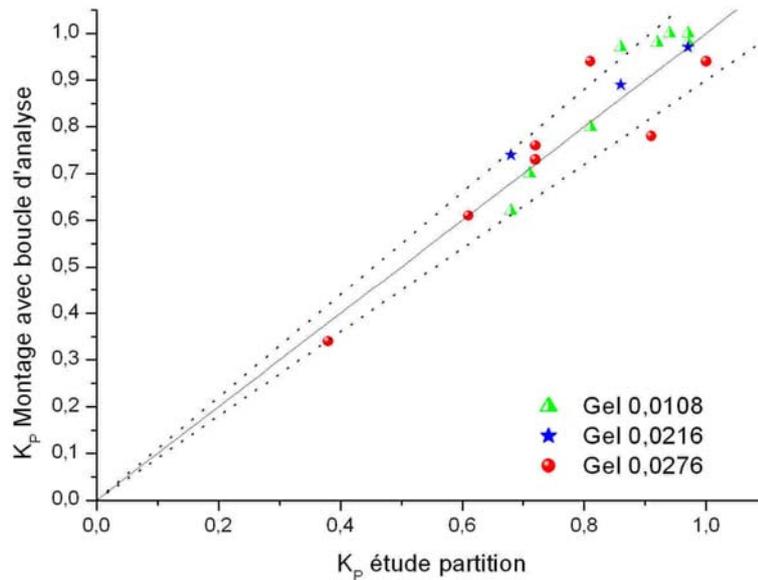


Figure 119 : Comparaison des coefficients de partage obtenus par la méthode avec boucle d'analyse à ceux de l'étude de la partition du pullulane dans l'alginate calcium. La ligne continue correspond à la première bissectrice et les lignes en pointillés correspondent à un écart de 10 % par rapport à celle-ci.

L'estimation des coefficients de partage par la méthode de chargement de billes dispersées dans un volume limité requiert de fixer le coefficient de partage avant l'ajustement du modèle aux points expérimentaux par une minimisation du moindre carré des écarts permettant la détermination de D . Or, la Figure 119 démontre des écarts, même s'ils sont limités, entre coefficient de partage déterminé par la méthode à l'antrone et par le montage avec boucle d'analyse. Deux possibilités sont donc parfois envisageables pour la valeur du coefficient de partage. Ce choix sera discuté dans la partie de ce chapitre consacrée aux résultats en système fermé à recirculation.

II.2.c Comparaison des méthodes avec et sans prélèvement

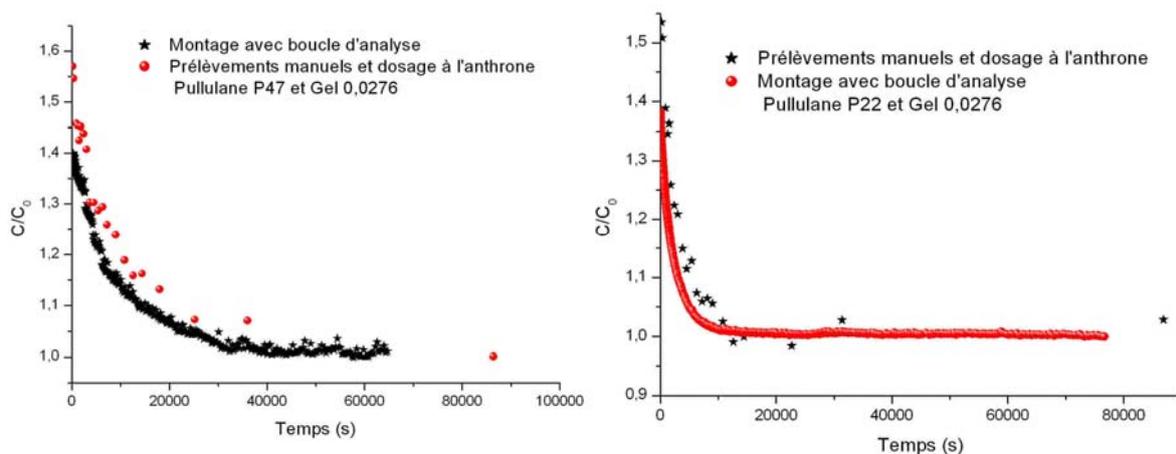


Figure 120 : Comparaison de la méthode avec prélèvements manuels et dosage à l'antrone et de la méthode avec boucle d'analyse.

Les courbes de chargement sont similaires (Figure 120) et on pourra considérer que la méthode avec boucle d'analyse fournit des résultats comparables au dosage à l'antrone. Des

écarts persistent entre les deux méthodes. Cependant, la méthode à l'antrone est particulièrement sujette à des erreurs expérimentales cumulatives étant donné le nombre important de manipulations requises avant l'accès à la concentration en solution et l'effet perturbateur des prélèvements. A ce titre, la nouvelle méthode apparaît particulièrement intéressante vu qu'elle requiert assez peu d'intervention humaine. En outre, l'acquisition informatique permet d'avoir un grand nombre de points expérimentaux, chose impossible dans le cas de la méthode avec prélèvements à cause de l'erreur consécutive trop importante. Enfin, la méthode avec boucle d'analyse évite les ouvertures de réacteur et donc les risques d'évaporation. Les courbes expérimentales montrent une plus grande dispersion des points dans le cas de la méthode avec prélèvements traduisant toutes ces erreurs expérimentales. Ceci dit, les deux méthodes donnent des courbes de diffusion d'allure similaires et une adéquation satisfaisante.

I.3 Programme des essais

Dans cette partie dédiée à l'étude des coefficients de diffusion du pullulane dans les hydrogels d'alginate de calcium, l'objectif est, comme dans l'étude destinée au partage, de tester de larges domaines de rayon de soluté et de fraction volumique en polymère dans le gel.

4 fractions volumiques de gel allant de 0,0108 à 0,03 ont été étudiées. Concernant les pullulanes, l'ensemble des pullulanes de la série a été testé mais tous les essais n'ont pas pu donner des cinétiques exploitables pour l'évaluation de D , du fait de coefficients de partage trop faibles ou de cinétiques trop lentes.

Le Tableau 31 présente l'ensemble des essais réalisés et ayant permis d'estimer un coefficient de diffusion (notés ✓) ainsi que ceux réalisés mais n'ayant pas abouti à une estimation de D (notés *). Ces derniers n'ont pas abouti à une valeur de D car ils se situaient à la limite de détection de notre méthode. Le signal du détecteur d'indice de réfraction est, en effet, sujet à une dérive importante du signal et pour les coefficients de diffusion faibles, la dérive est supérieure à la décroissance de la concentration, ce qui rend impossible l'enregistrement d'une cinétique exploitable. Pour ces mêmes essais, le coefficient de partage relativement faible traduit également la faible décroissance de concentration attendue et qui va s'échelonner sur de longues périodes de temps.

	Gel 0,0108	Gel 0,0216	Gel 0,0276	Gel 0,0300
P0	✓	✓	✓	✓
P5	✓		✓	✓
P11	✓	✓	✓	✓
P22	✓		✓	✓
P47	✓	✓	✓	✓
P112	✓	✓	✓	*
P212	✓	*	*	
P404	*			
P788	*			

Tableau 31 : Bilan des essais de diffusion en système fermé.

II. Essais en colonne chromatographique

II.1 Principe expérimental

II.1.a Dimensionnement d'une colonne

L'hydrogel utilisé dans cette étude est conditionné sous forme de billes de diamètre millimétrique ($2a = 2$ mm), identiques à celles utilisées dans les études de partition et en batch. Le choix d'une colonne adaptée à cette taille de bille a fait l'objet de travaux préliminaires.

En considérant le diamètre moyen des billes d'alginate, notre choix s'est porté vers une colonne de diamètre supérieur à $20a$ - critère permettant de limiter les phénomènes de dispersion radiale - soit un diamètre standard de 2,6 cm. Ce diamètre important de colonne lié au procédé de mise en forme des billes (qui ne permet pas la mise en forme de billes plus petites) oblige à travailler avec des colonnes de grande taille.

II.1.b Calcul des temps de transferts du système

On considère une colonne de diamètre d_c 2,6 cm, de section S et remplie de billes d'hydrogel de diamètre 2 mm. La porosité totale du système est proche de l'unité (porosité externe de 0,4 liée au remplissage et porosité interne proche de 1 dans le gel). La colonne est alimentée avec un débit de 100 mL.h^{-1} .

On en déduit la vitesse du liquide dans la colonne : $u_L = \frac{Q}{S\varepsilon} = 1,4 \cdot 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$

Le nombre de Reynolds avec $\rho = 1000 \text{ kg.m}^{-3}$ (masse volumique de l'eau) et $\mu = 10^{-3} \text{ Pa.s}$ (viscosité de l'eau à 20°C) est égal à : $\text{Re} = \frac{\rho u_L 2a}{\mu} = 0,28$.

Le nombre de Schmidt en prenant $D_0 = 3,5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ vaut : $\text{Sc} = \frac{\mu}{\rho D_0} \approx 3000$.

Avec la corrélation de Wilson le nombre de Sherwood vaut 27, ce qui conduit à un temps de transfert externe de 71 s.

Le temps de transfert interne pour un coefficient de diffusion de $2 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ est estimé à 320s et atteint 670000 s pour un coefficient de diffusion de $1 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Ces deux coefficients de diffusion ont été choisis d'après les données estimées des coefficients de diffusion attendus pour les deux masses moléculaires extrêmes de notre kit de pullulane.

Par conséquent, le temps de transfert externe peut être considéré comme faible devant le temps de transfert interne, dans le cas de nos solutés d'intérêt (Figure 121). Cette représentation montre cependant que dans le cas des solutés de coefficient de diffusion élevés, les deux temps de transferts sont du même ordre de grandeur. Une vérification expérimentale de l'absence de limitation au transfert externe sera donc entreprise par des essais à débit variable. La Figure 121 a été obtenue en utilisant les valeurs des coefficients de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium mesurées dans les essais en système fermé. Pour le calcul du temps de transfert externe, les coefficients de diffusion du pullulane à dilution infinie ont été estimés par la relation fournie par Kato *et al.* [Kato, 1984].

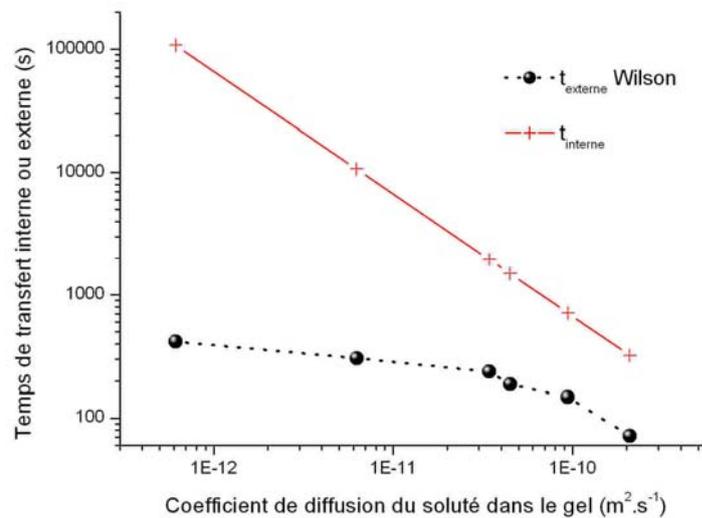


Figure 121 : Comparaison des temps de transfert interne et externe en fonction du coefficient de diffusion du soluté. Le temps de transfert externe a été estimé à partir du calcul du nombre de Sherwood via la relation de Wakao et Funazkri.

II.1.c Préparation de la colonne, schéma du montage

Un même lot de billes est, dans un premier temps, mis en forme de façon à obtenir une quantité suffisante et homogène de billes pour le remplissage d'une colonne. La mise en forme des billes est réalisée dans une grande quantité de solution calcique qui sera, par la suite, utilisée comme éluant de la colonne. Des précautions de stockage sont à prendre afin d'éviter la croissance d'algues dans le récipient contenant l'éluant stocké à l'abri de la lumière et le tube plongeant utilisé pour l'alimentation de la colonne est muni d'un fritté de façon à éviter les risques de colmatage.

Le volume de colonne se déduit simplement des paramètres géométriques de la colonne : son diamètre et sa longueur :

$$V_{col.} = \pi r^2 L$$

La taille des billes a été également mesurée à l'aide d'un microscope optique équipé d'une règle. Le diamètre des billes est estimé à 2 mm.

La connaissance de la masse de billes introduite dans la colonne et du diamètre de celles-ci donne une première approximation de la porosité externe de la colonne (en approximant la masse volumique du gel à celle de l'eau).

$$V_{porosité\ externe} = V_{col.} - \frac{m_{billes}}{\rho_{gel}}$$

La colonne ainsi remplie est laissée en contact avec la solution calcique dans laquelle ont été mises en forme les billes afin de maintenir l'équilibre ionique.



Figure 122 : Exemple de colonne remplie de billes d'alginate de calcium.

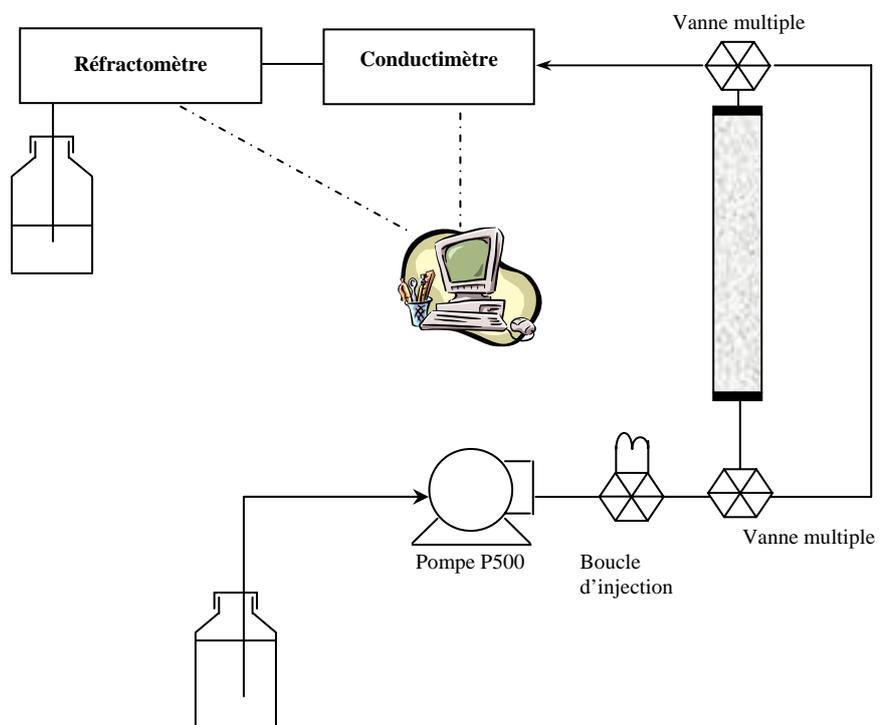


Figure 123 : Schéma du montage expérimental pour les essais en colonne



Figure 124 : Photo du montage expérimental pour les essais en colonne.

Un équilibrage du lit de billes est réalisé pendant plusieurs jours de façon à obtenir un remplissage homogène de la colonne, en faisant circuler l'éluant calcique.

II.1.d Détermination des paramètres opératoires

Détermination des volumes des capillaires

Afin de mesurer le volume des capillaires entre la vanne d'injection et l'entrée de la colonne et entre la sortie de la colonne et le détecteur, des injections d'éthanol sont réalisées dans le by-pass de la colonne. Les traçages obtenus sont présentés Figure 125.

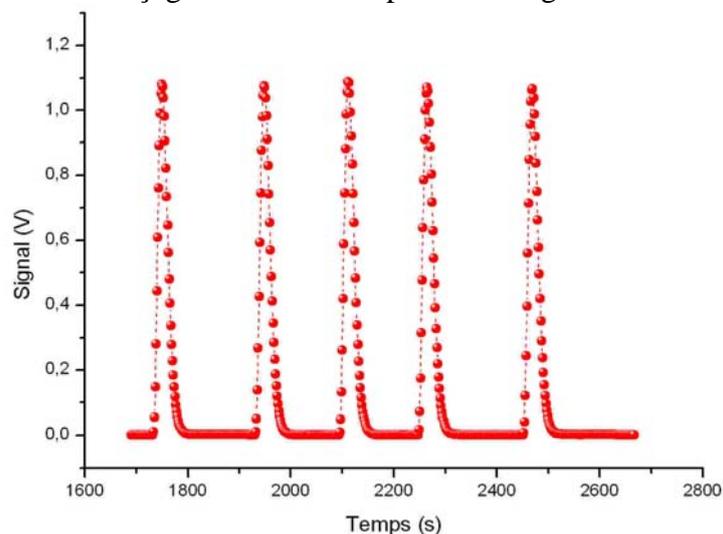


Figure 125 : Courbes brutes de détermination des volumes des capillaires.

Connaissant le temps d'injection et grâce à la détermination du moment d'ordre 1, on en déduit un volume de capillaires de 1,24 mL.

Détermination du volume de la boucle d'injection

Le volume de la boucle d'injection a été déterminé grâce à des pesées par différence de masse entre la boucle remplie et la boucle vide. Elle a été estimée à 213 μL soit pour un débit de 100

mL.h^{-1} , une durée d'injection de 7,5 s. De fait, le signal d'entrée sera assimilé à un créneau de 7,5s.

Porosité du lit de billes

La porosité externe de la colonne est estimée connaissant le volume de celle-ci et le volume de gel introduit. Dans notre cas, pour une colonne de diamètre 2,6 cm et de hauteur 50 cm, remplie de 168 cm^3 de billes, la porosité est estimée à 0,37, ce qui est en parfait accord avec un empilement de billes sphériques.

L'estimation de la porosité des colonnes peut parfois être réalisée grâce à un traceur de la porosité externe par l'intermédiaire d'un très gros soluté ne pénétrant pas dans la porosité interne. Malheureusement, aucun soluté acceptable n'a été trouvé dans ce cadre. En effet, les latex ne sont pas utilisables en milieu salin (risques de floculation) et les solutés solubles en milieu aqueux, autres que les pullulanes dont nous disposons, ne présentent pas une isomolécularité suffisante.

Répétabilité de la méthode, injections successives d'un même traceur

Des essais de répétabilité ont été conduits en effectuant des injections successives d'une solution de dextrane T2000, présentant des propriétés de détection par le détecteur d'indice de réfraction similaires à celles du pullulane mais en étant beaucoup moins cher. Il est donc idéal pour des essais de mise en place d'une nouvelle méthode.

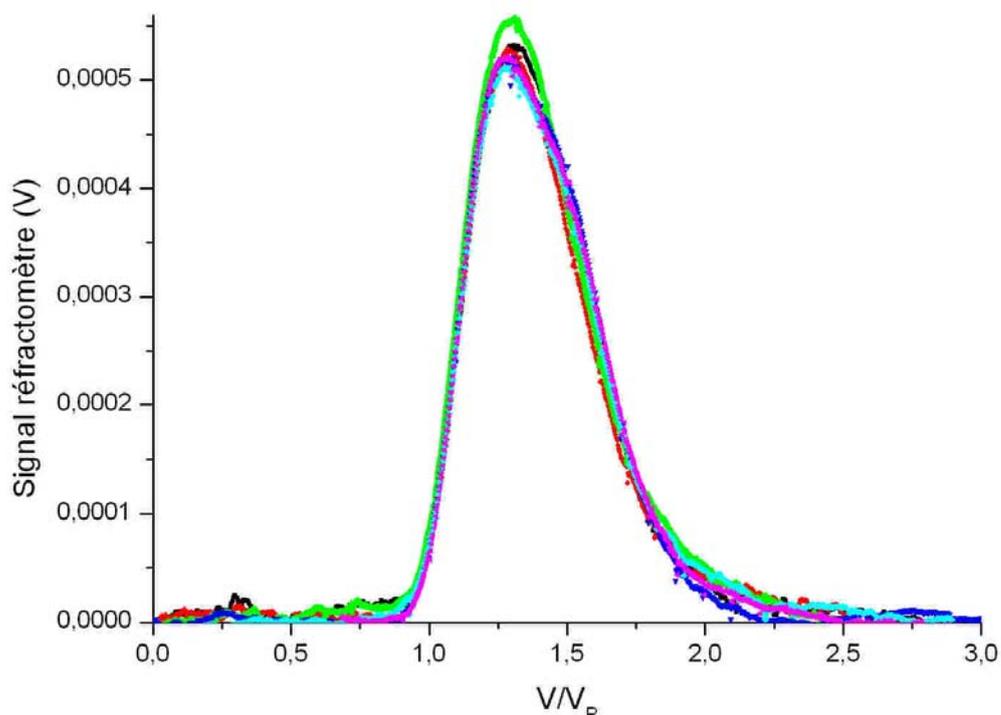


Figure 126 : Superposition des pics d'éluions de 6 injections différentes de la même solution de dextrane T2000 à un débit de 100 mL.h^{-1} .

		Essais							
	1	2	3	4	5	6	Moyenne	Ecart Type	
μ_0	76,6	82,8	78	76,16	81,6	76,8	78,66	2,8	
μ_1	4492	4756	4317	4840	4953	4832	4698,3	242,5	
μ_2	$1,87 \cdot 10^7$	$2,40 \cdot 10^7$	$1,61 \cdot 10^7$	$2,43 \cdot 10^7$	$2,52 \cdot 10^7$	$2,40 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^7$	$3,69 \cdot 10^6$	

Tableau 32 : Paramètres caractéristiques des DTS représentés Figure 126.

La Figure 126 montre une bonne répétabilité des essais. Cependant, le Tableau 32 illustre que des écarts importants sont observés après calcul de différents moments de la distribution des temps de séjour.

II.1.e Analyse des expériences à débit variable

Deux types de traceurs ont été envisagés dans ces expériences à débit variable : un traceur salin, le chlorure de sodium et l'éthanol. Le traceur salin a fait l'objet de quelques essais préliminaires. Des précautions sont à prendre pour une utilisation correcte de ce type de traceur. En effet, l'alginate est un polyélectrolyte et ses propriétés structurales, notamment son taux de gonflement, sont très sensibles aux variations de conductivité. Cependant, la force ionique suffisante de l'éluant nous assure que l'ensemble des charges du polyélectrolyte sont écrantées et, de ce fait, les perturbations dans la colonne sont infimes lors du passage d'un pic salin ($\text{NaCl } 1 \text{ mol/L}^{-1}$). Dans le domaine de concentration considéré, l'indice de réfraction est proportionnel à la concentration en soluté, ce qui signifie que le détecteur est linéaire.

La mesure de l'indice de réfraction permet donc, d'obtenir le pic d'éluion et de calculer les moments d'ordre 1 et 2. Cette série d'essais nous a finalement permis de vérifier le modèle de double porosité avec transfert limitant et d'estimer, en première approximation le nombre J de mélangeurs dans la cascade du modèle MCE.

En effet, lorsque le transfert interne est limitant, le temps de transfert t_M est indépendant du débit. Par conséquent, l'expression du moment d'ordre 2 déjà donnée précédemment est linéaire :

$$\sigma^2 = \frac{\mu_1^2}{J} + \frac{2K_{im}}{(1+K_{im})} t_M \mu_1$$

Pour savoir si cette relation est vérifiée, le tracé de $\frac{\sigma^2}{\mu_1^2}$ en fonction de $\frac{1}{\mu_1}$ a été effectué pour différents essais avec injection de traceur.

L'erreur sur σ^2 étant importante, on préférera tracer la relation équivalente :

$$\frac{\mu_2}{\mu_1^2} - 1 = \frac{1}{J} + \frac{2K_{im}}{(1+K_{im})} \frac{t_M}{\mu_1}$$

Le coût du pullulane ne nous a pas permis de réaliser ces répétitions mais sa réalisation avec la solution saline est suffisante pour vérifier que le transfert interne est limitant. En effet, le coefficient de diffusion de ce soluté dans le gel est bien supérieur à celui des pullulanes. Par conséquent, si l'hypothèse de limitation par le transfert interne est vérifiée pour ce soluté, elle

le sera d'autant plus facilement pour les macromolécules possédant un coefficient de diffusion inférieur.

La Figure 127 permet de vérifier que les points peuvent être considérés comme alignés, caractérisant un transport interne limitant. Par ailleurs, l'ordonnée à l'origine de la fonction de régression permet d'estimer l'ordre de grandeur du nombre de mélangeurs parfaitement agités.

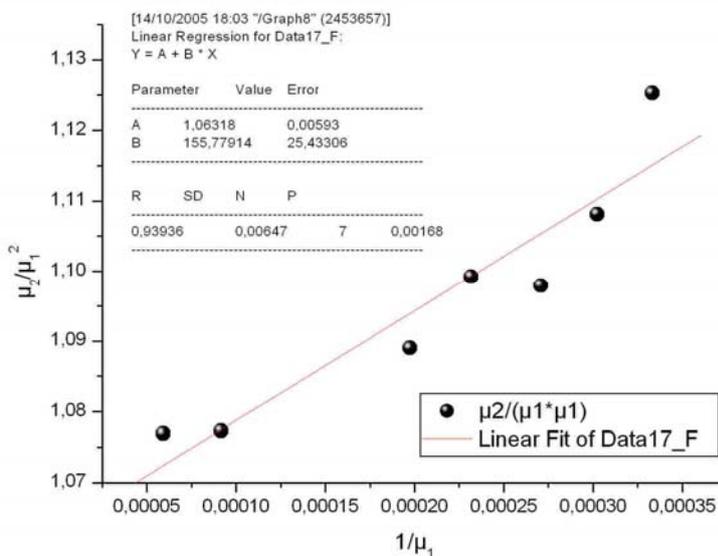


Figure 127 : Analyse des courbes de percée du chlorure de sodium à débit variable dans une colonne de 25 cm environ remplie de billes d'alginate de calcium de fraction volumique 0,0276.

La vérification du caractère limitant du transfert interne ayant été réalisée sur plusieurs essais, nous supposons cette hypothèse vérifiée. La vérification et l'estimation grossière de J est, en effet, relativement longue dans le cas de nos essais. Et, par ailleurs, la période d'utilisation d'une colonne remplie de billes d'alginate est limitée sitôt que les risques d'évolutions structurelles veulent être éliminés. Une utilisation d'une semaine environ peut ainsi être assurée et elle ne laisse donc pas le temps nécessaire à un traçage hydrodynamique fin à cause de la durée d'équilibration initiale et du temps imparti aux injections de pullulane.

Par conséquent, le nombre de mélangeurs de la cascade du modèle MCE est estimé à environ 40 pour une colonne de 50 centimètres (soit un nombre de Péclet de l'ordre de 78), et ce, grâce à nos essais préliminaires. Ceci nous permet donc une utilisation du modèle MCE.

II.2 Injections de pullulanes dans une colonne remplie de particules sphériques d'alginate de calcium

Des solutions de pullulane, de concentration 9 g.L^{-1} ont été préparées en dissolvant le polysaccharide dans l'éluant de la colonne. Cette concentration élevée en pullulane est requise à cause de l'étalement du signal en sortie de colonne et du niveau de sensibilité du détecteur d'indice de réfraction.

La série de pullulanes a été injectée dans cette colonne préalablement caractérisée. Les pics d'éluion obtenus sont présentés Figure 129. Ces pics correspondent aux données brutes normées corrigées de la dérive liée à l'utilisation d'un détecteur d'indice de réfraction comme système d'analyse.

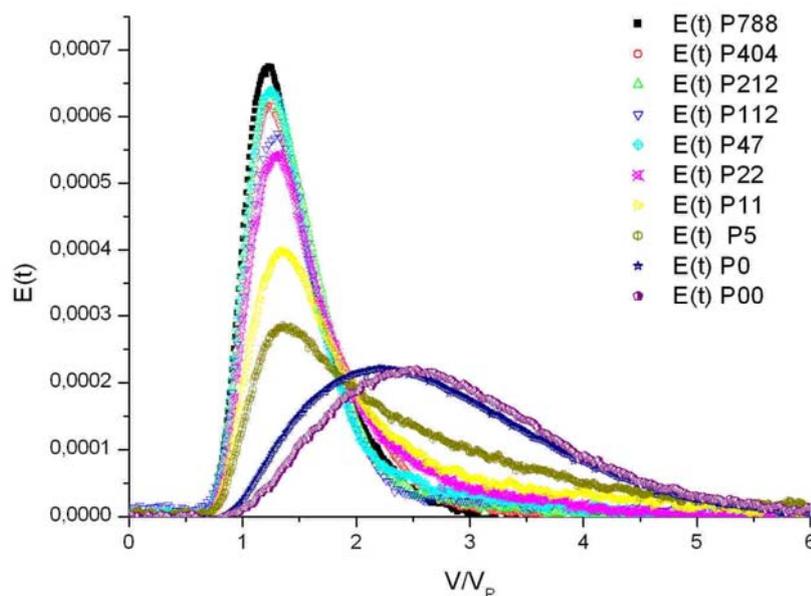


Figure 128 : Courbes de percée normées réalisées dans un gel à 0.0276 avec un volume de colonne de 119 cm³.

Ces premiers essais (Figure 128) montrent des incohérences dans l'ordre de sortie des pullulanes de plus grande masse moléculaire. En outre, l'estimation du nombre de mélangeurs de la cascade donnant une valeur de J de l'ordre de 15, il a été décidé de reconduire ces essais avec une colonne de taille double (hauteur 50 cm). Les courbes de percée ainsi obtenues sont présentées Figure 129.

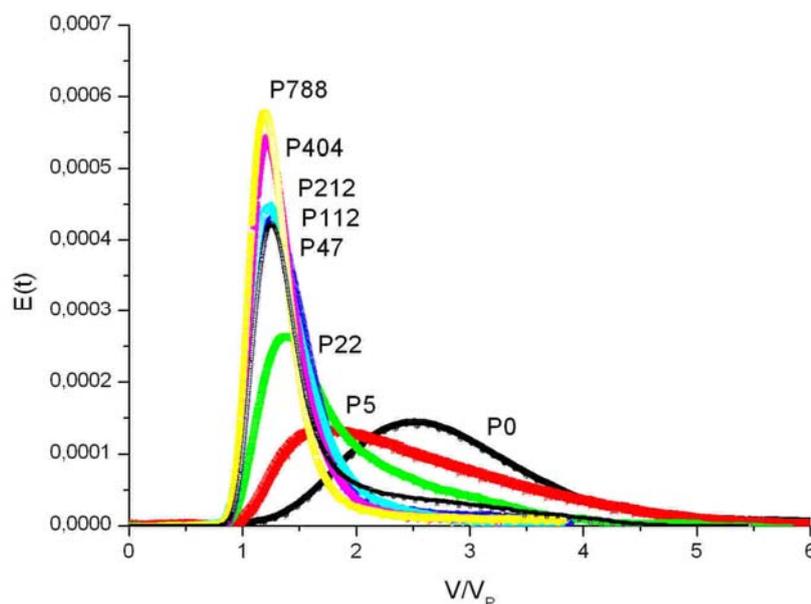


Figure 129 : Courbes de percée normées réalisées dans un gel à 0.0276 avec un volume de colonne de 265 cm³.

Il apparaît une bonne cohérence de ces données brutes étant donné que les pics s'échelonnent de façon cohérente en fonction de la masse moléculaire du soluté. Plus la masse moléculaire est faible, plus on observe un retard à l'éluion caractéristique de coefficients de partage de plus en plus grands entre la solution et le gel. De même, la traînée des courbes est inversement proportionnelle à la masse moléculaire.

Ces courbes brutes laissent apparaître un premier problème. En effet, pour les plus gros pullulanes, le coefficient de partage extrêmement faible devrait conduire à des pics élués aux environs de rapports de V/V_p de l'ordre de 1 car seule la porosité externe (le volume poreux) est accessible au plus gros soluté. Cet élément conduit donc à penser que l'estimation de la porosité externe à une valeur de 0,37 est légèrement sous estimée.

II.3. Résultats et Discussion des essais préliminaires

II.3.a Estimation des coefficients de partage

Les coefficients de partage de la série de pullulane entre l'hydrogel et la solution peuvent être déterminés à partir des pics d'éluion grâce au calcul du moment d'ordre 1 de la courbe normée.

La relation permettant ce calcul relie le coefficient de partage à la porosité externe et au temps de résidence dans la porosité externe :

$$\mu_1 = t_m \left(1 + K_p \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \beta \right)$$

Dans notre cas, nous supposons $\varepsilon = 0,37$ et $\beta \approx 1$, ce qui donne accès, connaissant le volume de la colonne et le débit à t_m .

Pullulane	K_p
P0	1,1
P5	0,85
P22	0,55
P47	0,4
P112	0,3
P212	0,25
P404	0,25
P788	0,1

Tableau 33 : Coefficients de partage déterminés par des essais en colonne chromatographique dans le cas d'un gel de fraction volumique 0,0276.

Les coefficients de partage ont été déterminés (Chapitre IV) par une méthode indépendante utilisant un dosage à l'anthrone qui a constitué la méthode de référence de ce travail.

La Figure 130 montre que les coefficients de partage obtenus par des essais menés en colonne donnent les mêmes tendances. Cependant, la dispersion des points autour de la première bissectrice souligne certains écarts entre les deux méthodes. Ces écarts sont notamment liés aux incertitudes dans la prise en compte de la traînée et inhérentes aux essais en colonne. En effet, la dérive du détecteur nécessite des corrections sources d'erreurs. En outre, le calcul des moments requiert le passage à des pics normés et à leur intégration, autant de manipulations génératrices d'incertitudes. Enfin, ce calcul requiert la connaissance de la porosité extérieure du lit dont la détermination est imparfaite.

Toutefois, on peut estimer la méthode chromatographique valable en première approximation pour accéder aux coefficients de partage d'un soluté dans un hydrogel.

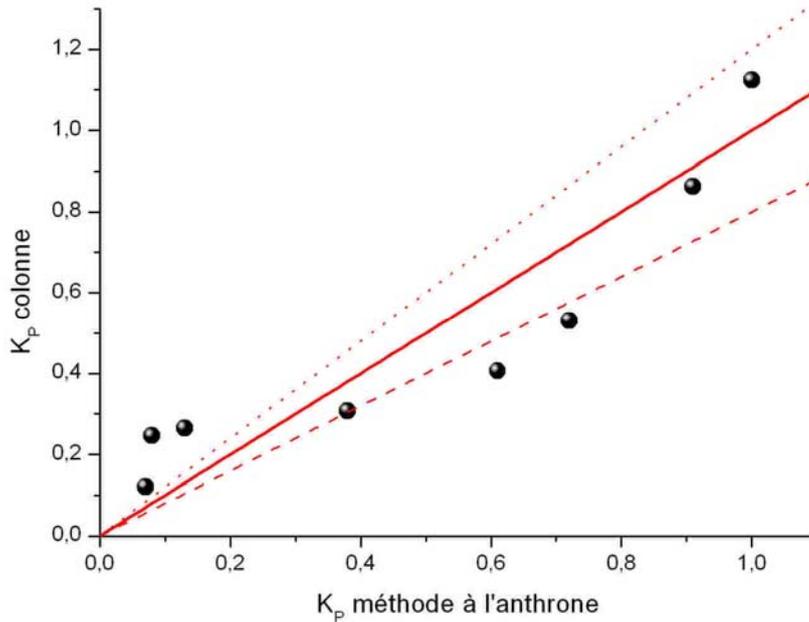


Figure 130 : Comparaison des coefficients de partage obtenus par la méthode en colonne à ceux issus du dosage à l'anthrone (les droites en pointillés de part et d'autre de la première bissectrice correspondent à 20% d'erreur).

II.3.b Estimation des coefficients de diffusion

De façon à estimer les coefficients de diffusion, un ajustement a été effectué grâce à un code de calcul existant, le code **Chromato**, développé au Laboratoire des Sciences du Génie Chimique [Sardin et al., 1991]. Ce code permet de simuler des courbes de DTS connaissant les paramètres (4 paramètres : le nombre de mélangeurs J de la cascade du modèle MCE, K' correspondant, dans notre cas au produit du coefficient de partage K_P et de K_{im} , le rapport des fractions d'eau mobile et immobile, le temps de séjour moyen dans la porosité t_m et le temps de transfert moyen t_M) grâce à la méthode de transformation rapide de Fourier. Il permet également l'optimisation des paramètres de DTS par la méthode de Rosenbrock à partir des courbes $E(t)$ expérimentales. Il est ensuite possible, en première approximation, de relier t_M au coefficient de diffusion D_e du soluté dans le gel, grâce à la définition du temps de transfert :

$$t_M = \frac{\alpha \cdot a^2}{60 \cdot D_e}$$

De même, on peut remonter à K_P par la relation utilisant β la porosité externe :

$$K' = K_P K_{im} = K_P \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} \beta$$

Ce code de calcul a déjà fait l'objet de multiples applications dans de nombreux travaux [Appert-Collin, 1999 ; Ouvrard, 2001]. Ces travaux ayant démontré sa capacité à modéliser les phénomènes de transport en milieu poreux, le logiciel Chromato permettra de tester la potentialité de l'utilisation de ce type d'approche au cas de la diffusion de macromolécules dans les hydrogels.

Les coefficients de diffusion des pullulanes de masse moléculaire inférieure ou égale à $112000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ont été déterminés expérimentalement par la méthode en système fermé avec boucle d'analyse. Les coefficients de diffusion ainsi déterminés et les coefficients de partage obtenus par dosage à l'antrone ont été utilisés de façon à prévoir grâce à un code de calcul existant, l'allure des pics d'élution attendus (Figure 131).

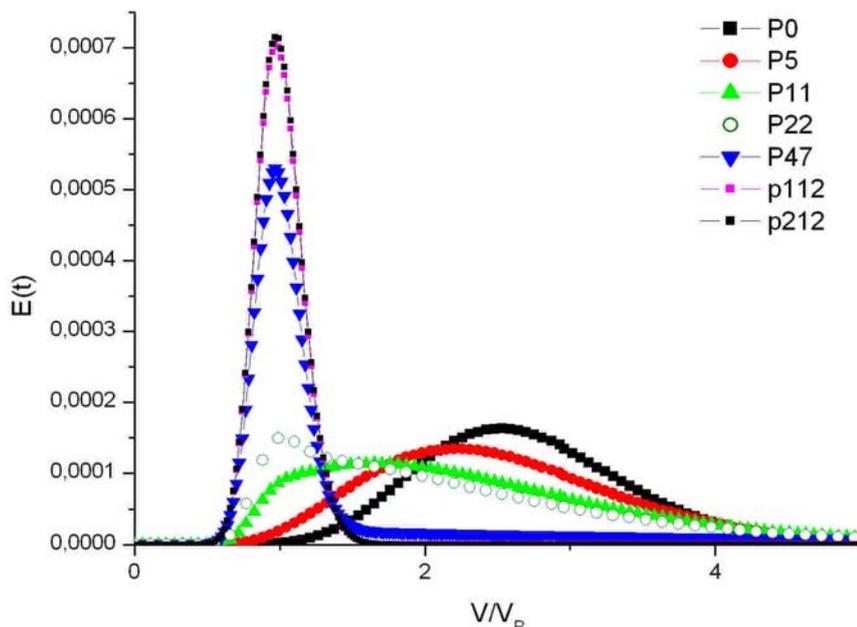


Figure 131 : Pics d'élution théoriques obtenus par un modèle MCE avec $J = 40$.

	J	K'	t_M (s)	t_m (s)
P0	40	1,7	333	3550
P5	40	1,55	709	3550
P11	40	1,38	1491	3550
P22	40	1,22	1960	3550
P47	40	1,04	11111	3550
P112	40	0,65	111111	3550
P212	40	0,12	200000	3550

Tableau 34 : Paramètres utilisés dans les modélisations présentées Figure 131.

Ces simulations permettent de souligner le peu de différence existant entre les courbes de percée des solutés de grande masse moléculaire. Par conséquent, afin de mesurer quantitativement des coefficients de diffusion aussi faibles que ceux de ces gros solutés, des méthodes analytiques extrêmement sensibles sont requises. Dans notre cas, le signal fourni par le détecteur d'indice de réfraction est perturbé par une dérive importante du signal qui accroît l'incertitude sur la traînée.

Par ailleurs, nos calculs préliminaires, à partir de corrélations empiriques, ont montré que la limitation due au transfert externe n'est pas toujours négligeable, notamment pour les solutés de faible masse moléculaire. Le logiciel Chromato permet de tenir compte du transfert externe afin d'améliorer la modélisation du transfert dans la colonne. Dans ce cas, un paramètre d'entrée supplémentaire est requis à travers le temps de transfert externe. Celui-ci a été

estimé, dans notre cas, par l'intermédiaire de la relation de Wilson. L'effet de cette prise en compte est illustré par la Figure 132.

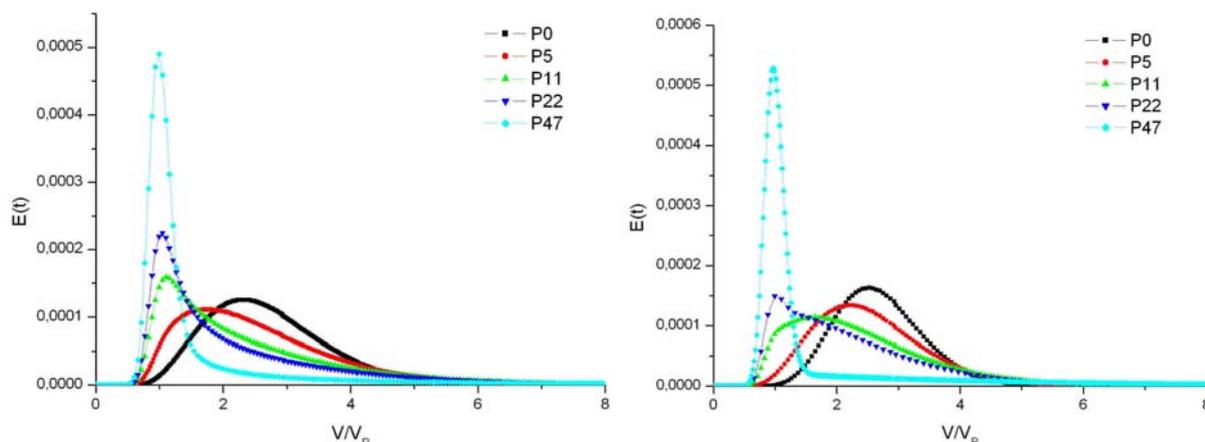


Figure 132 : Comparatif de simulation avec (à gauche) ou sans (à droite) prise en compte du transfert externe.

Des ajustements libres sur les courbes expérimentales des plus gros solutés (sans imposer la porosité) fournissent des valeurs de porosité de l'ordre de 47%. Cette estimation de porosité par le logiciel Chromato permet d'obtenir des maxima pour les courbes expérimentales de pullulanes de masses moléculaires élevées situés aux environs de $V/V_p = 1$. L'écart avec les 37% déterminés par pesée n'est pas expliqué.

Les simulations ont donc été répétées en utilisant une porosité de 47%. La Figure 133 propose un comparatif des courbes expérimentales et de courbes simulées, en tenant compte du transfert externe et avec une loi de Fick pour modéliser la diffusion dans les billes.

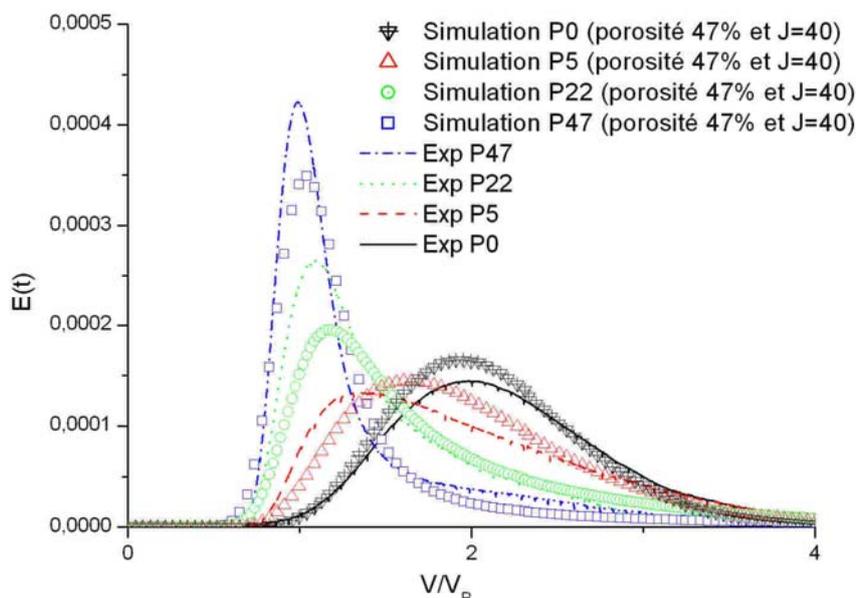


Figure 133 : Courbes simulées avec une porosité de 47% en tenant compte du transfert externe estimé par la relation de Wilson et $J=40$.

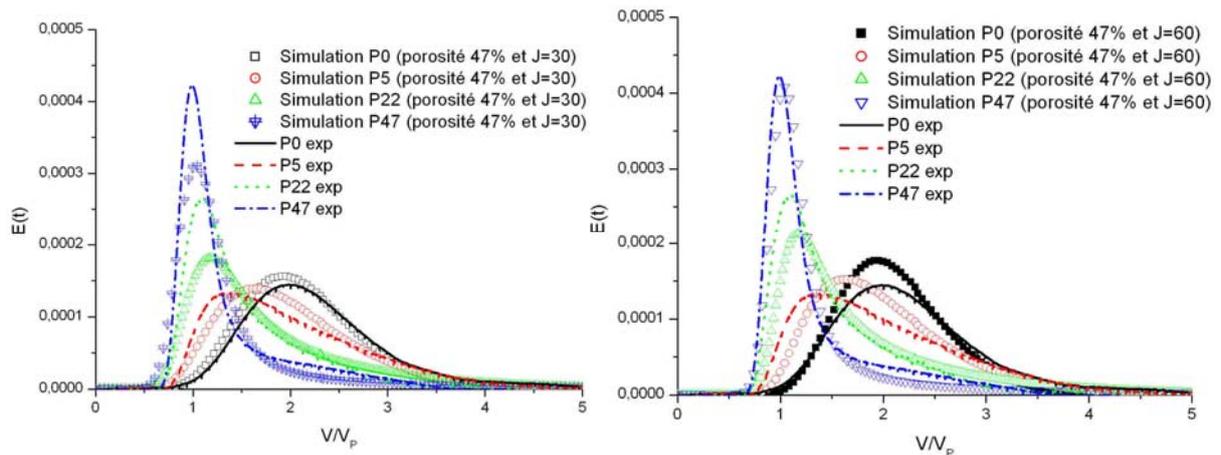


Figure 134 : : Courbes simulées avec une porosité de 47% en tenant compte du transfert externe estimé par la relation de Wilson et $J=30$ (à gauche) et $J=60$ (à droite)

De nouvelles courbes de percée ont été simulées, à partir de cette porosité de 47%, en prenant pour coefficient de partage et de diffusion, les données obtenues par la méthode à l'antrone et en système fermé avec boucle d'analyse, respectivement (Figure 133 et Figure 134) : les simulations obtenues s'accordent assez bien avec les courbes de percée expérimentales. Des optimisations ont donc été effectuées sur les valeurs de D , à partir des courbes de percée expérimentales. Néanmoins, celles-ci n'ont pas fourni un jeu de valeurs cohérentes pour D (voir Tableau 35).

Pullulane	D ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
P0	$1 \cdot 10^{-10}$
P5	$6 \cdot 10^{-11}$
P22	$4 \cdot 10^{-11}$
P47	$2 \cdot 10^{-11}$
P212	$7 \cdot 10^{-11}$
P788	$1 \cdot 10^{-11}$

Tableau 35: Exemples de coefficients de diffusions obtenus par ajustement ($J=50$ et $t_m = 4500$ s).

Cette étude de faisabilité de la méthode de mesure des coefficients de diffusion en colonne, à défaut de nous avoir fourni une quantification des valeurs de D , nous permet de poser les jalons de perspectives de travail par la mise en lumière des limitations de la méthode.

II.3.c Limitations liées à la méthode

Une première difficulté de ces essais est liée au fait que nous n'avons pas trouvé de soluté capable de tracer la porosité externe des colonnes de billes d'alginate de calcium. Un tel traceur aurait permis de déterminer la porosité externe avec une meilleure précision.

Une autre incertitude réside dans l'estimation de J , le nombre de mélangeurs de la cascade du modèle MCE. En effet, étant donné la durée d'utilisation d'une colonne de billes, il est impossible d'effectuer, à la fois, un traçage fin de celle-ci et l'injection de la série de pullulanes sans craindre une évolution structurale de l'hydrogel. Cette méthode est réputée rapide mais ceci n'est vrai que pour le cas de petites colonnes aux faibles temps de séjour.

Dans notre cas, vu la taille des billes, nous sommes contraints à de très grands volumes de colonne et donc des essais de longue durée. Une méthode de mise en œuvre de billes plus petites mais toujours aussi régulières permettrait à ce titre d'améliorer cet aspect des essais.

Le fait d'utiliser des billes de taille inférieure permettrait, en outre, de diminuer les problèmes de dérive du signal, grâce à des temps d'élution réduits.

Cependant, le principal problème soulevé par ces essais est lié aux méthodes analytiques actuellement mises en œuvre : leur précision est insuffisante pour espérer une détection précise de la traînée et donc une estimation fiable des valeurs des coefficients de diffusion des solutés de taille importante.

Dans cette optique, nos essais de modification des pullulanes par greffage de sondes fluorescentes représentent une première piste. Cependant, dans cette démarche, il faudra s'assurer que la modification chimique est suffisamment faible pour ne pas induire de modification d'affinité entre soluté et matrice. De même, les étapes de purification devront être conduites avec le plus grand soin. Enfin, le gain observé quant à l'augmentation de la sensibilité de la méthode n'est pas, pour l'heure, suffisant pour espérer améliorer la détection de la traînée.

Des essais mettant en œuvre des radioéléments pourraient accroître les possibilités de détection mais requièrent des environnements de travail adaptés.

En conclusion, si cette méthode mérite d'être testée de façon plus approfondie, sa mise en œuvre dans le cas de la diffusion de solutés macromoléculaires dans les gels reste délicate. L'intérêt porté à cette méthode était lié à la difficulté de mesurer les coefficients de diffusion de solutés de grande taille par des méthodes classiques en système fermé, pour des raisons de limite de détection et de dérive liés aux temps d'expérimentation. Finalement, ces difficultés se sont également retrouvées dans le cadre des essais en colonne. Il apparaît donc qu'une des perspectives de ce travail sera de type analytique, avec la mise en œuvre de méthodes plus sophistiquées et aptes à des mesures de concentrations bien plus faibles que celles permises par les détecteurs d'indice de réfraction limités à des concentrations d'environ $0,01 \text{ g.L}^{-1}$, notamment à cause de dérives importantes. En outre, une analyse de sensibilité de paramètre semblable à celle mise en œuvre dans les essais en système fermés devra être envisagée.

B/ Résultats expérimentaux

Les résultats de diffusion utilisés par la suite sont tous issus des essais en système fermé.

I. Cinétiques de diffusion du pullulane dans l'alginate de calcium

La Figure 135 présente quelques exemples de cinétiques obtenues pour le système alginate de calcium/pullulane. Il apparaît que l'augmentation de la taille du soluté se traduit par des cinétiques de chargement notablement plus lentes. Ces courbes de la concentration normée en fonction du temps sont utilisées afin de déterminer le coefficient de diffusion des pullulanes dans les différents gels d'alginate de calcium. D'autres exemples, relatifs aux différentes fractions volumiques en alginate sont présentés en annexe V.2.

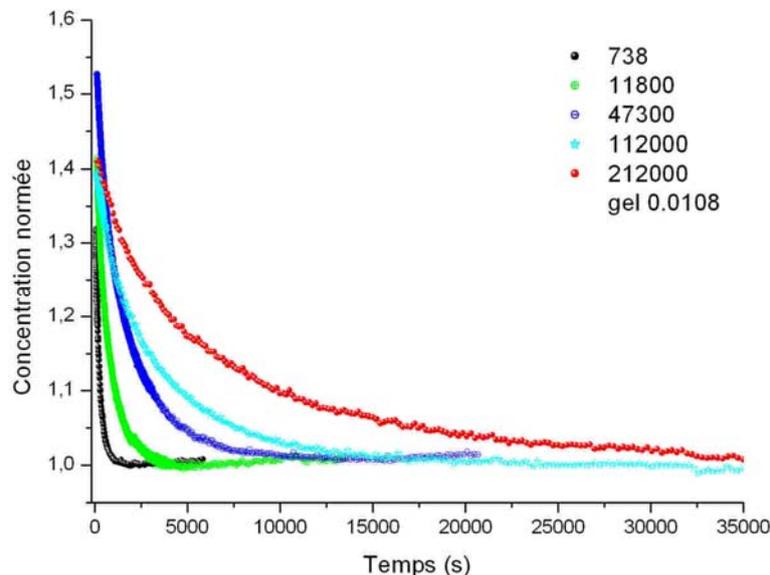


Figure 135 : Exemples de cinétiques de diffusion de pullulanes de masse moléculaire variable (de 738 à 212000 g.mol⁻¹) dans un gel d'alginate de calcium à 1,08 %.

Différentes fractions volumiques en polymère dans le gel ont également été testées. L'effet de la fraction volumique en polymère est négligeable dans le cas de solutés de petite taille. La Figure 136 montre que les cinétiques de diffusion des quatre gels testés se superposent presque parfaitement. On peut donc s'attendre, au vu de ces courbes brutes, à des coefficients de diffusion du même ordre de grandeur et très proches du coefficient de diffusion à dilution infinie dans l'eau D_0 . Dans ce domaine, le rapport r_s/ξ doit donc être extrêmement faible. L'utilité des gels pour approcher les coefficients de diffusion en solution sans risquer d'effets liés à de la convection évoquée par Spalding [Spalding, 1973] est parfaitement illustrée dans ce cas où la diffusion n'est quasiment pas perturbée par la présence du gel.

Ces courbes seront utilisées pour fournir une estimation de l'erreur d'estimation de D dans le paragraphe suivant.

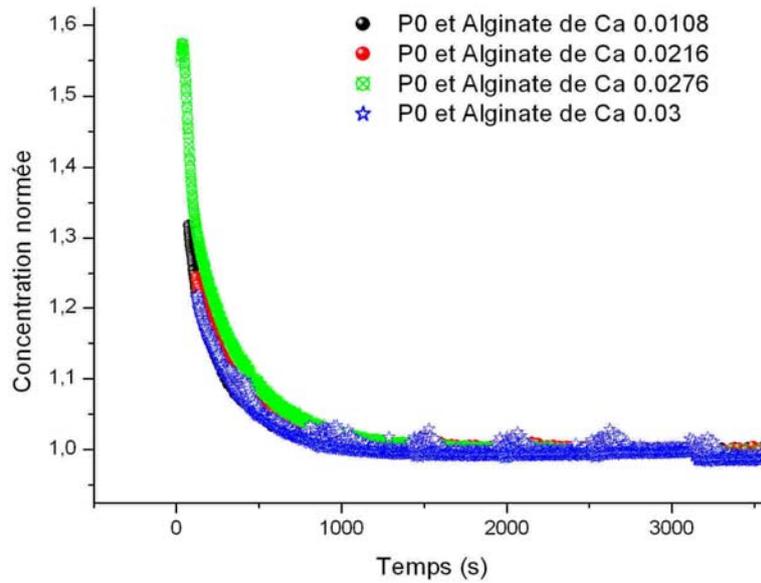


Figure 136 : Effet de la fraction volumique en polymère dans le cas de la diffusion du plus petit pullulane de masse moléculaire $M_w=738 \text{ g.mol}^{-1}$.

Par contre, l'effet de la fraction volumique n'est pas négligeable pour l'ensemble des solutés étudiés. La Figure 137 présente un comparatif des cinétiques de chargement du pullulane P47 dans quatre gels de fraction volumique comprise entre 1 et 3%. Des différences notables apparaissent avec des temps de chargement accrus lorsque la fraction volumique augmente.

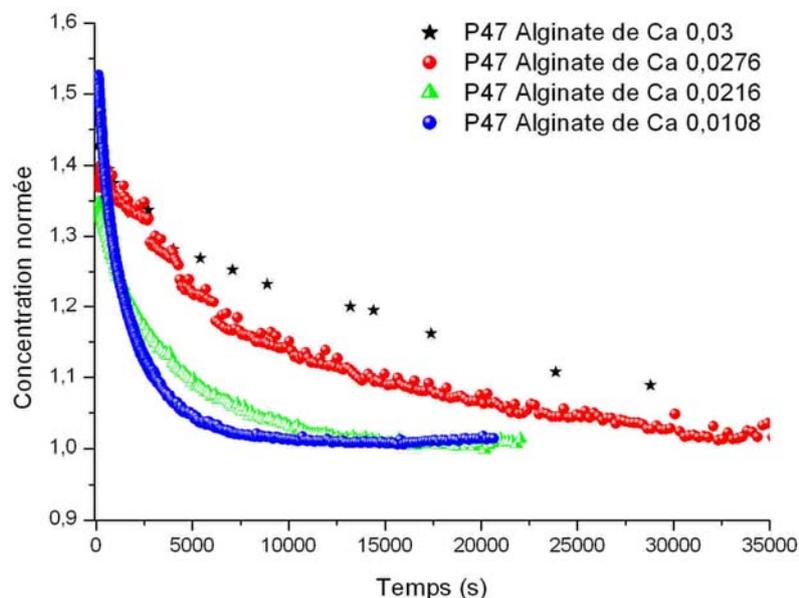


Figure 137 : Effet de la fraction volumique en polymère dans le gel dans le cas d'un pullulane de masse moléculaire $M_w = 47300 \text{ g.mol}^{-1}$.

II. Coefficients de diffusion du pullulane dans les gels d'alginate de calcium

II.1 Modélisation des cinétiques pour l'estimation de D

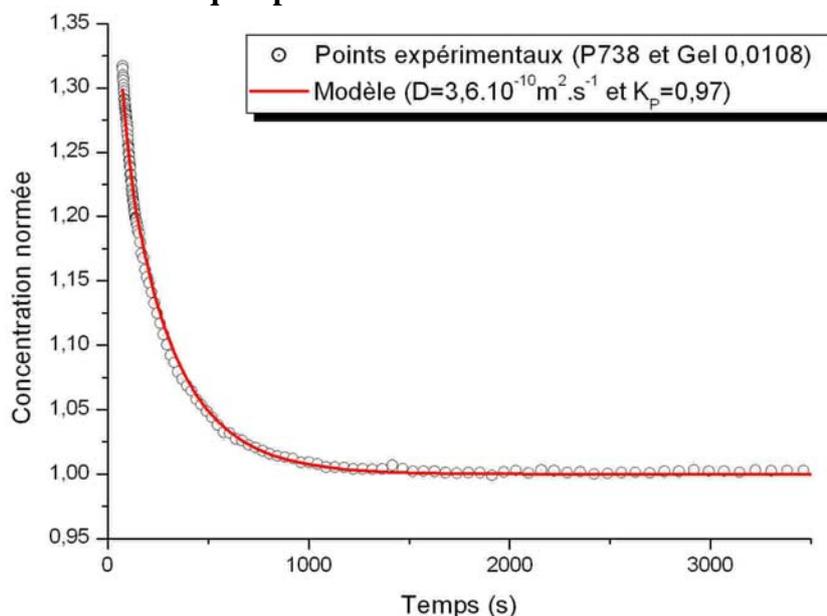


Figure 138 : Exemple de modélisation de la diffusion du pullulane P0 dans le gel à 1,08 %.

Pour l'ensemble des courbes de diffusion, des modélisations satisfaisantes, telles que celle présentée Figure 138, ont été obtenues en utilisant les points expérimentaux présents entre $t_{\text{recirculation}}$ et t_{infini} et en se restreignant à la zone de l'optimum défini au chapitre III. L'optimum a été déterminé pour chacune des courbes de chargement étant donné que α était un paramètre caractéristique de chacune de ces cinétiques de diffusion. L'ensemble des modélisations est présenté en annexe (Annexe V.3).

II.2 Récapitulatif des valeurs de D mesurées

Les tableaux 6, 7, 8 et 9 présentent les résultats de coefficients de diffusion obtenus sur notre système expérimental. Les coefficients de diffusion ont été estimés selon deux méthodes suivant la valeur de K_P utilisée dans les calculs.

Gel 0,0108	D (d'après K_P batch) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D (d'après K_P partition) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
P0	$4,3 \cdot 10^{-10}$	$4,4 \cdot 10^{-10}$
	$3,6 \cdot 10^{-10}$	$3,6 \cdot 10^{-10}$
P5	$7,5 \cdot 10^{-11}$	$7,2 \cdot 10^{-11}$
P11	$8,3 \cdot 10^{-11}$	$8,7 \cdot 10^{-11}$
P22	$6,2 \cdot 10^{-11}$	$5,3 \cdot 10^{-11}$
	$6,8 \cdot 10^{-11}$	$6,8 \cdot 10^{-11}$
P47	$3,1 \cdot 10^{-11}$	$3,1 \cdot 10^{-11}$
P112	$1,9 \cdot 10^{-11}$	$2 \cdot 10^{-11}$
P212	$8,45 \cdot 10^{-12}$	$8,2 \cdot 10^{-12}$

Tableau 36 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 1,08%.

Sous la rubrique D (d'après K_P batch), on entend que le coefficient de diffusion a été calculé en fixant la valeur de K_P à celle obtenue d'après la concentration finale dans la méthode avec boucle d'analyse. Le second cas utilise, au contraire, les valeurs du coefficient de partage estimé dans l'étude de partition, de manière indépendante.

Gel 0,0216	D (d'après K_P batch) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D (d'après K_P partition) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
P0	$2,9 \cdot 10^{-10}$	$2,9 \cdot 10^{-10}$
P11	$5,15 \cdot 10^{-11}$	$5,0 \cdot 10^{-11}$
P47	$1,90 \cdot 10^{-11}$	$1,90 \cdot 10^{-11}$
P112	$2,2 \cdot 10^{-12}$	$2,2 \cdot 10^{-12}$

Tableau 37 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 2,16%.

Gel 0,0276	D (d'après K_P batch) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D (d'après K_P partition) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
P0	$2,15 \cdot 10^{-10}$	$2,0 \cdot 10^{-10}$
P5	$9,4 \cdot 10^{-11}$	$9,4 \cdot 10^{-11}$
P11	$4,15 \cdot 10^{-11}$	$4,8 \cdot 10^{-11}$
P22	$3,45 \cdot 10^{-11}$	$3,4 \cdot 10^{-11}$
P47	$6,7 \cdot 10^{-12}$	$5,8 \cdot 10^{-12}$
P112	$6,0 \cdot 10^{-13}$	$6,3 \cdot 10^{-13}$

Tableau 38 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 2,76%.

Gel 0,03	D (d'après K_P batch) ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
P0	$3,75 \cdot 10^{-10}$
P5	$8,9 \cdot 10^{-11}$
P11	$3,7 \cdot 10^{-11}$
P22	$2,11 \cdot 10^{-11}$
P47	$3,2 \cdot 10^{-12}$

Tableau 39 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 3%.

Les coefficients de diffusion présentés Tableau 39 n'ont pas été estimés à partir de K_P anthrone car l'étude de partition indépendante n'a pas été réalisée pour ce dernier gel.

L'ensemble des résultats est représenté à la Figure 139. La remarque faite sur les cinétiques de chargement peut être réitérée, ici. En effet, les valeurs du coefficient de diffusion pour les plus petits solutés sont du même ordre de grandeur et il est impossible, à cause de l'incertitude expérimentale de les différencier. Par contre, pour les plus gros solutés, la classification entre les différentes fractions volumiques de gel s'opère et on vérifie bien que plus le rapport r_s/ξ est important, plus la diffusion est ralentie.

Les coefficients de diffusion du plus petit soluté nous permettent une estimation de l'incertitude expérimentale sur D . L'écart type a été estimé à 20% de la valeur moyenne (écart relatif des coefficients de diffusion de P0 dans les différentes matrices). Les barres d'erreur présentées à la Figure 139 ont, par conséquent, été fixées à ± 25 %.

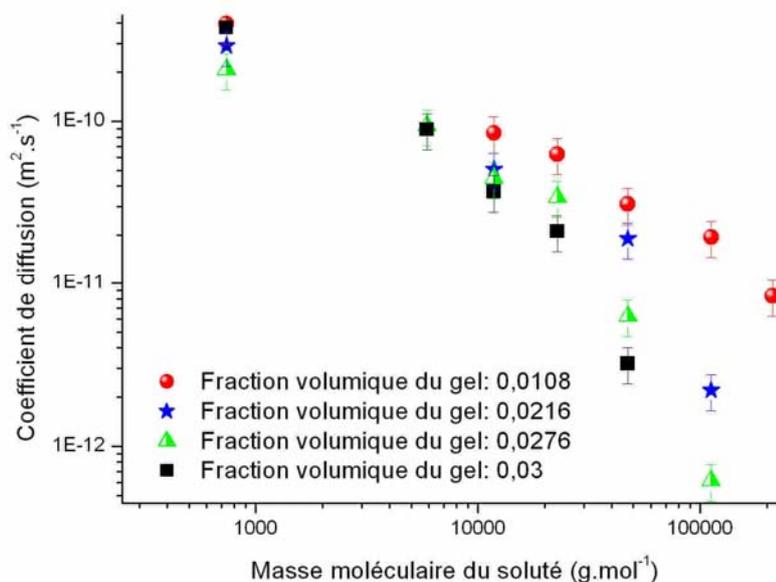


Figure 139 : Coefficients de diffusion de la série de pullulanes dans des gels d'alginate de calcium de fraction volumique variable.

D (m ² .s ⁻¹)	0,0108	0,0216	0,0276	0,03
P0	3,975.10 ⁻¹⁰	2,9.10 ⁻¹⁰	2,075.10 ⁻¹⁰	3,75.10 ⁻¹⁰
P5			9,4.10 ⁻¹¹	8,9.10 ⁻¹¹
P11	8,50.10 ⁻¹¹	5,075.10 ⁻¹¹	4,475.10 ⁻¹¹	3,7.10 ⁻¹¹
P22	6,28.10 ⁻¹¹		3,425.10 ⁻¹¹	2,11.10 ⁻¹¹
P47	3,10.10 ⁻¹¹	1,9.10 ⁻¹¹	6,25.10 ⁻¹²	3,2.10 ⁻¹²
P112	1,95.10 ⁻¹¹	2,2.10 ⁻¹²	6,15.10 ⁻¹³	
P212	8,33.10 ⁻¹²			

Tableau 40 : Valeurs de D expérimentales utilisées pour les calculs.

Les tableaux 6 à 9 ont également montré que des estimations différentes de K_p conduisent à des valeurs de D différentes. Cette observation était attendue connaissant l'expression de M/M_∞ dans laquelle interviennent, à la fois D et K_p . Cependant, l'erreur sur le coefficient de diffusion résultant d'incertitudes sur K_p ne peut être estimée directement, par une méthode similaire à celles utilisées dans le chapitre III pour le calcul de l'optimum. C'est pourquoi, nous avons choisi, par l'intermédiaire des tableaux 2 à 5, de quantifier expérimentalement l'effet sur D résultant de l'incertitude sur K_p . On peut conclure que cet effet est non négligeable vu que l'on observe des variations de l'ordre de 10 % sur D .

C/ Modélisation de la diffusion de solutés dans les hydrogels : Etat de l'art

La diffusion des solutés dans les hydrogels trouve des applications dans des domaines tels que le secteur pharmaceutique, les techniques séparatives ou l'agroalimentaire. Il est alors utile, pour une meilleure conception de ces produits, d'avoir à disposition des modèles permettant, à partir de la structure du soluté et du gel, de prévoir la diffusion du soluté dans la matrice. Plusieurs approches ont été développées dans la littérature pour décrire le retard à la diffusion dans les hydrogels. Néanmoins, chacune de ces approches présente des limitations.

Comme pour les modèles de partage, il est nécessaire de conceptualiser la structure du système expérimental afin d'énoncer des modèles reliant propriétés structurales et coefficient de diffusion. Les hydrogels sont généralement décrits sous la forme d'un réseau et tout paramètre susceptible de réduire la taille des espaces entre les chaînes aura un effet sur la diffusion des solutés. C'est pourquoi la décroissance des coefficients de diffusion est généralement corrélée avec un accroissement de la taille des solutés, de la fraction volumique en polymère ou du degré de réticulation du gel (voir Figure 139, pour l'effet de Φ_p et r_s).

Lorsque la possibilité de liaison du soluté à la matrice est éliminée, trois voies d'approche peuvent être développées pour modéliser l'entrave à la diffusion provoquée par le polymère :

- obstruction physique au passage du soluté,
- augmentation de la friction entre soluté et matrice,
- réduction du volume libre du solvant.

Les revues bibliographiques de Amsden [Amsden, 1998] et de Masaro [Masaro, 1999] donnent un très bon aperçu de ces différentes théories.

I. Modèles de type obstruction

Dans cette théorie, les fibres constituant la matrice gel sont considérées comme impénétrables. De fait, pendant son processus de diffusion au sein d'un gel, le soluté voit la longueur de son trajet diffusionnel accru par la présence de ces obstacles. La matrice joue donc le rôle d'un tamis dans lequel les solutés peuvent diffuser à la seule condition que leur taille leur permette le passage dans les mailles. Les chaînes de la matrice sont supposées, dans cette théorie, immobiles et réparties aléatoirement au sein d'une phase continue perméable (la solution dans laquelle le gel est gonflé). Dans cette approche, la plus grande importance est accordée à la description structurale du système.

Le concept d'obstruction a été introduit par Fricke en 1924 [Masaro, 1999] avec un modèle connu sous le nom de modèle de Maxwell ou de Maxwell-Fricke :

$$\frac{D(1-\Phi_p)}{D_0} = \frac{1-\Phi_p'}{1+\Phi_p'/\chi} \quad (\text{V.1})$$

Φ_p' est la fraction volumique du polymère plus le solvant non-diffusant et lié à celui-ci, χ un facteur dépendant de la forme du soluté et Φ_p la fraction volumique de polymère.

En 1955, Mackie et Meares réexploitent les concepts proposés par Fricke pour la diffusion d'électrolytes dans des résines. Ils proposent la relation :

$$\frac{D}{D_0} = \left[\frac{1 - \Phi_P}{1 + \Phi_P} \right]^2 \quad (\text{V.2})$$

On peut noter que, dans ce modèle, les propriétés du soluté n'interviennent pas. Il sera donc adapté seulement aux solutés de très petite taille. A ce titre, ces auteurs attribuèrent les écarts à la théorie observés pour les solutés de taille supérieure à des interactions entre polymère du réseau et macromolécules qui diffusent.

Ogston *et al.* [Ogston, 1973] ont développé une approche phénoménologique dans laquelle la diffusion d'un soluté se produit par une succession aléatoire de pas qui a lieu seulement en l'absence de contact avec les chaînes du réseau. La taille d'un pas est prise égale à un diamètre moyen des espaces existant entre les fibres du gel. A partir de cette analyse, l'expression du ratio du coefficient de diffusion dans le gel à celui à dilution infinie (D/D_0) est donnée en fonction du rayon des fibres (r_f), du rayon du soluté (r_s) égal au rayon hydrodynamique et de la fraction volumique en polymère Φ_P . Le soluté est considéré comme rigide et sphérique et le gel comme une distribution aléatoire de fibres rectilignes.

$$\frac{D_{gel}}{D_0} = \exp \left[- \frac{r_s + r_f}{r_f} \sqrt{\Phi_P} \right] \quad (\text{V.3})$$

Cependant, même si les concepts de cette approche sont intéressants, les résultats qu'elle fournit restent qualitatifs et limités à de faibles concentrations en polymère dans le gel et des solutés de petite taille [Masaro, 1999].

Johansson *et al.* ont développé un modèle, connu sous le nom de modèle de sphère dure (hard sphere theory) dans lequel le gel est vu comme une association de cellules cylindriques. Chaque cellule est constituée d'une barre de polymère centrée dans un cylindre de solvant de rayon donné. La diffusivité moyenne du soluté dans cette cellule peut être calculée en résolvant la première loi de Fick et la diffusivité globale du soluté est obtenue en sommant sur l'ensemble des cellules de rayon donné.

Ce modèle est basé sur trois hypothèses principales : (i) l'obstruction est due à l'augmentation du trajet diffusionnel du soluté et les interactions hydrodynamiques sont négligeables, (ii) cette obstruction est due à un réseau statique et non à des interactions entre soluté et matrice et (iii) le réseau est supposé constitué de cellules cylindriques et la contribution de chacune des cellules est déterminée par la distribution des espaces dans le réseau.

La distribution des rayons des cellules est obtenue par l'approche de Ogston [Ogston, 1958] donnant l'expression d'une distribution d'espaces sphériques dans un réseau aléatoire de fibres rectilignes, les fibres étant ici remplacées par des cellules cylindriques.

Cette approche conduit à une expression de D/D_0 de la forme :

$$\frac{D_e}{D_0} = \exp(-\gamma) + \gamma^2 \exp(\gamma) E_1(2\gamma) \quad (\text{V.4})$$

Avec

$$\gamma = \Phi_P \left(\frac{r_s + r_f}{r_f} \right)^2 \quad (\text{V.5})$$

et E_1 est l'intégrale exponentielle :

$$E_1 = \int_{\infty}^x \frac{e^{-u}}{u} du \quad (\text{V.6})$$

Ces auteurs ont montré que, finalement, γ était le paramètre clé gouvernant la diffusion de sphères dures dans le réseau. En outre, une régression commune pour l'ensemble des données issues de simulations de la dynamique brownienne de ces sphères a conduit à proposer l'expression suivante [Johansson et Löfroth, 1993] :

$$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09}) \quad (\text{V.7})$$

La Figure 140 se propose de faire le bilan de ces modèles basés sur la théorie de l'obstruction.

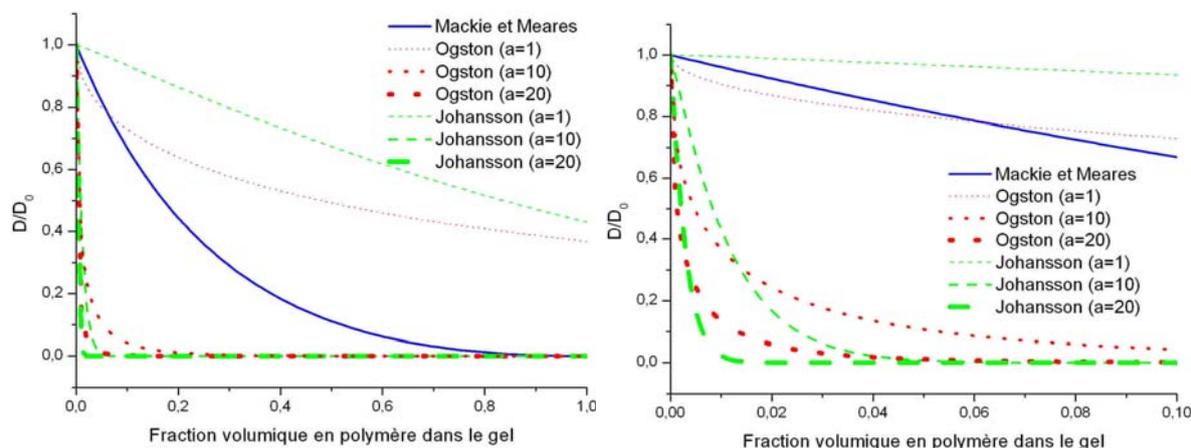


Figure 140 : Comparatif des différents modèles issus de la théorie de l'obstruction (avec $a = \frac{r_s + r_f}{r_f}$) ; le graphique de droite est un grossissement de la zone de fraction volumique correspondant à notre étude.

Le Tableau 41 propose, enfin, un bilan des modèles présentés avec leurs domaines d'applications et également leurs limitations.

Auteurs	Applications	Limitations
Maxwell-Fricke	Solvants et solutés de petite taille Solutions de polymère très diluées	Solutés de grande taille Solutions de polymères semi-diluées ou concentrées
Mackie et Meares Ogston	Solvants et solutés de petite taille Solutions semi-diluées de polymère	Solutés de grande taille Solutions concentrées
Johansson et Löfroth		Solutés de $r_H > 20 \text{ \AA}$ Solutions concentrées

Tableau 41 : Résumé des modèles de diffusion basés sur la théorie de l'obstruction avec leurs applications et limitations (d'après Masaro et Zhu) [Masaro, 1999].

II. Modèles de type hydrodynamique

Dans les descriptions hydrodynamiques du soluté, celui-ci est considéré comme une sphère dure de taille très supérieure à celle du solvant dans lequel il diffuse. Sa description est basée sur l'équation de Stokes-Einstein pour la diffusivité des solutés. La diffusivité à dilution infinie est exprimée en fonction de la constante de Boltzmann (k_B), de la température (T) et du coefficient de traînée (f) :

$$D_0 = \frac{k_B T}{f} \quad (\text{V.8})$$

Au sein du gel, les chaînes sont considérées comme des points de résistance hydrodynamique, statiques par rapport au mouvement du soluté à cause des pontages formant le gel. La chaîne de polymère exerce sa résistance vis à vis du soluté en retardant le fluide à proximité de celle-ci. Les modèles hydrodynamiques ont donc pour objectif la définition de f tandis que les propriétés structurelles de la matrice prennent une importance moindre. Ces interactions incluent les frottements entre soluté et polymère (les plus importantes), entre soluté et solvant et entre solvant et polymère. Ces considérations permettent de décrire la diffusion en régime plus concentré, quand les chaînes de polymère commencent à se superposer, ce qui était difficile avec les modèles d'obstruction.

Cukier [Cukier, 1984] a développé un modèle reliant la concentration en polymère et D/D_0 le coefficient de diffusion de sphères browniennes de rayon r_s rapporté au coefficient de diffusion à dilution infinie. Dans ces travaux, la solution semi-diluée est considérée comme homogène étant donné l'enchevêtrement des chaînes polymères et contrairement au régime dilué dans lequel il n'y a pas d'interaction entre chaînes. Une solution diluée est donc considérée comme un milieu hétérogène constitué de zones polymère/solvant et de domaines de solvant pur. La solution polymère est supposée immobile par rapport au solvant diffusant et représentée par des sphères immergées dans un liquide incompressible. L'espèce diffusante subit donc un tamisage par cette matrice et l'expression de son coefficient de diffusion est donnée en fonction de r_s et de k , une constante dépendant de la densité de polymère dans le gel et du coefficient de friction :

$$\frac{D}{D_0} = \exp[-k.r_s] \quad (\text{V.9})$$

Cukier a comparé l'effet de tamisage de solutions constituées de polymères cylindriques (rod solution) ou de solution de chaînes déployées (coil solution) mais assez peu de variations ont été observées [Masaro, 1999].

Dans les solutions semi-diluées de polymère ou de gels fortement gonflés et dans le cas de solutés de petite taille, une dépendance de la constante k avec la concentration, de la forme $k \sim c^v$ et $v=0,5$. Ce modèle, par sa vision homogène du système ne fait donc pas intervenir les paramètres géométriques du gel (de type rayon de pore ou de fibre). On retrouve des valeurs de v comprises entre 0,5 et 1 dans la littérature.

Le modèle développé par Altenberger et *al.* représente la matrice polymère par des points immobiles répartis aléatoirement dans la solution. Le solvant est supposé incompressible. Le soluté va interagir avec les points représentant le réseau et les interactions hydrodynamiques sont représentées par les frictions avec les points stationnaires. La mobilité de l'espèce

diffusante est dépendante de la concentration des obstacles, c'est-à-dire de la concentration en polymère dans la matrice. A faible concentration, le coefficient de diffusion est donné par :

$$\frac{D}{D_0} = 1 - \alpha_1 \sqrt{\Phi_P} - \alpha_2 \Phi_P \quad (\text{V.10})$$

Avec

$$\alpha_1 \propto r_s \sqrt{r_f} \quad (\text{V.11})$$

α_2 est une constante liée aux interactions polymère/soluté.

Une grande ressemblance apparaît entre ce modèle et celui développé par Cukier. Kosar et Phillips [Kosar, 1995] ont, à ce titre, démontré qu'elles étaient mathématiquement équivalentes. Et, bien que Altenberger et *al.* prédisent un plus large domaine de validité que le modèle de Cukier, plusieurs études ont montré des limitations et applications équivalentes pour ces deux approches [Masaro, 1999].

En utilisant l'équation de Brinkman en milieu poreux, Phillips et *al.* ont obtenu une expression en fonction de la perméabilité k du milieu :

$$\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1} \quad (\text{V.12})$$

La perméabilité hydraulique peut être estimée à partir de la relation donnée par Jackson et James :

$$k = 0,31 \cdot r_f^2 \Phi_P^{-1,17} \quad (\text{V.13})$$

Ces modèles développés pour des solutions de polymère se prêtent bien à la description des gels étant donné que les chaînes de polymère y sont considérées comme stationnaires.

Le modèle de Phillies se propose de décrire la diffusion d'une molécule dans un gel ou une solution de polymère de concentration variable. Les chaînes de polymère sont considérées, ici, comme mobiles et peuvent être décrites comme des sphères jointes pouvant subir des rotations. Il propose une relation en fonction de c , concentration de polymère dans la solution ou le gel (g.L^{-1}), α est un paramètre relatif à la taille du soluté et v est caractéristique du système polymère/solvant/soluté étudié.

$$\frac{D}{D_0} = \exp(-\alpha \cdot c^v) \quad (\text{V.14})$$

Phillies a suggéré que α est proportionnel à $M^{0,9 \pm 0,1}$ pour un diffusant macromoléculaire alors qu'il dépend du rayon hydrodynamique pour les solutés de plus petite taille. Le paramètre v s'étend entre 1 (pour les diffusants de petite taille) et 0,5 (pour les hauts poids moléculaires) et entre ces deux bornes il serait proportionnel à $M^{-1/4}$. Phillies a considéré trois régimes de concentration : la solution diluée où chaque chaîne se déplace indépendamment, le régime semi-dilué où les chaînes commencent à se superposer et enfin le domaine concentré pour lequel la diffusion est dominée par des phénomènes de friction. Ces régimes peuvent être considérés comme proches de ceux évoqués par Cukier par contre, la principale différence réside dans le fait que les chaînes de polymère sont considérées, ici, comme mobiles.

Cette relation, qualifiée d'« universelle » par Phillies étant donné qu'elle peut être employée dans des situations de transport très différentes, est très flexible par nature et ainsi certains auteurs considèrent qu'elle doit être regardée comme une relation empirique [Walderhaug, Wheeler et Lodge]. Bien que cette relation soit largement utilisée pour décrire la diffusion de

solutés sphériques dans les solutions de polymère, il n'y a pas d'agrément définitif concernant la signification physique des paramètres α et v [Petit, 1996].

On peut enfin noter que la dépendance vis à vis de la taille du soluté est très différente entre cette approche de Phillies et les précédents modèles. Le rapport de la taille du soluté à la longueur hydrodynamique caractéristique k^{-1} est le rapport prépondérant dans les autres modèles tandis que dans l'équation universelle proposée par Phillies, il n'y a qu'une très faible dépendance à la taille du soluté.

Renkin a développé une approche très différente du système dans lequel le soluté est représenté par des sphères dures et la matrice sous forme de pores. La vision du système est donc simplifiée et les auteurs en assument pleinement les approximations géométriques [Renkin, 1954] à des fins de simplification des expressions mathématiques. Ils précisent, à ce titre, que le réseau des membranes qu'ils utilisent (cellulose) est en réalité constitué de fibres enchevêtrées en se basant sur des données expérimentales. Mais, dans le même temps, ils précisent que si des représentations géométriques différentes du système sont possibles, elles ne présentent pas d'avantages flagrants. Ils proposent une relation en fonction de x , rapport du rayon hydrodynamique du soluté au rayon de pore du gel :

$$\frac{D}{D_0} = (1-x)^2 (1 - 2,1x + 2,1x^3 - 0,95x^5) \quad (\text{V.15})$$

Cette relation traduit l'effet cumulé de diminution du coefficient de diffusion dû à des limitations stériques d'entrée dans le pore et à la résistance d'origine frictionnelle entre le soluté et la paroi du pore.

La relation proposée par Renkin [Renkin, 1954, Pappenheimer, 1951] résulte de la combinaison de deux expressions de la littérature traduisant chacun de ces effets.

Le premier facteur est similaire à l'expression du coefficient de partage proposé par ces auteurs et est obtenu par des considérations purement géométriques. Il correspond au rapport de l'aire effective A de l'ouverture offerte au passage du soluté à la section totale A_0 du pore :

$$\frac{A}{A_0} = \left(1 - \frac{r_s}{r_p}\right)^2 \quad (\text{V.16})$$

La deuxième partie de l'expression est issue des travaux théoriques de Faxén appliqués à la diffusion dans les membranes par Lane. La chute de l'aire apparente de diffusion est exprimée en fonction du rapport des rayons de soluté et de pore :

$$\frac{A}{A_0} = 1 - 2,104 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right) + 2,09 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right)^3 - 0,95 \cdot \left(\frac{r_s}{r_p}\right)^5 \quad (\text{V.17})$$

On peut noter que ces auteurs raisonnent en terme d'aires et non de rapport de coefficients de diffusion. Cette écriture est tout à fait transposable à celle utilisée jusqu' alors et basée sur un rapport des coefficients de diffusion du soluté dans le gel à celui du soluté dans une solution de dilution infinie. En effet, dans ces deux cas, on établit un comparatif entre les flux de matière dans le cas où le transfert s'effectue en milieu confiné (le gel) à celui du transfert en solution diluée. Le facteur de retard de la diffusion peut ainsi être vu comme une diminution du coefficient de diffusion (D/D_0), une réduction de l'aire disponible au soluté pour diffuser (A/A_0) ou un accroissement du trajet diffusionnel ($\Delta x/\Delta x_0$).

Des approches indirectement reliées à des modèles de type hydrodynamique peuvent également être citées. Ils traduisent, le plus souvent, des approches hybrides.

Johnson et *al.* ont mis en pratique l'idée émise par Brady et *al.* [Brady, 1994] selon laquelle la diffusion des solutés est influencée à la fois par le phénomène d'obstruction et par les interactions hydrodynamiques. En combinant l'expression obtenue par Johansson et al [Johansson, 1993] et celle établie par Phillips et al. [Phillips, 1989], une relation mixte est obtenue :

$$\frac{D}{D_0} = \frac{\exp(-0,84.\alpha^{1,09})}{\left(1 + \left(\frac{r_s^2}{k}\right) + \frac{1}{3} \frac{r_s^2}{k}\right)} \quad (\text{V.18})$$

III. Théorie du volume libre

Pour la théorie du volume libre, la diffusion d'un soluté se produit lorsque le soluté peut trouver une succession de vides (c'est-à-dire de volumes libres) dans le solvant, de taille suffisamment grande pour accepter le soluté. La formation de ces volumes libres est liée à l'agitation moléculaire du solvant.

Le premier modèle de diffusion basé sur la théorie du volume libre a été proposé par Fujita et *al.* [Fujita, 1961]. Cohen et Turnbull [Cohen, 1959] ont défini la probabilité de rencontrer un volume libre de taille donnée dans un solvant. Sur la base de ces développements, Yasuda et *al.* [Yasuda, 1968], proposent un modèle de transport dans des membranes gonflées de solvant en supposant (i) que le soluté diffuse seulement dans le solvant, (ii) que le polymère et le solvant sont aléatoirement mélangés, (iii) que le soluté ne peut diffuser dans le gel que s'il trouve une succession de volumes libres suffisamment larges pour lui et (iv) que le volume libre disponible est essentiellement celui du solvant dans le gel.

Finalement, Yasuda et *al.* proposent une expression de D/D_0 fonction de B_s , mesure de la taille de l'espèce diffusante, f_w volume libre auquel contribue le solvant et Φ_p la fraction volumique en polymère :

$$\frac{D}{D_0} = \exp\left[\frac{B_s}{f_w} \left(1 - \frac{1}{1 - \Phi_p}\right)\right] \quad (\text{V.19})$$

Cette relation a été utilisée par Petit et *al.* [Petit, 1996] dans le cas de la diffusion de poly(éthylène glycol) dans des solutions de poly(vinyl alcool). Il a été observé une détérioration de la qualité de l'ajustement au fur et à mesure de l'augmentation de la taille des solutés. Les écarts ont été attribués à la non prise en compte par le modèle de la flexibilité des chaînes de polymère.

Vrentas et Duda ont largement contribué au développement de la théorie du volume libre. Ils ont étendu la théorie à un large domaine de températures et de concentrations et ont pris en compte les contributions au volume libre dues au solvant et au polymère. Dans ce contexte, le modèle proposé par Yasuda constitue un cas particulier de l'approche développée par Vrentas et Duda. Cependant, l'utilisation de ce type de modèle nécessite la connaissance des paramètres de volume libre du système.

Peppas et Reinhart [Peppas, 1983] ont proposé un modèle basé sur la théorie du volume libre et particulièrement adapté aux réseaux réticulés de polymères. Parmi les réseaux de ce type, on peut distinguer trois structures différentes : les hydrogels macroporeux caractérisés par des pores de taille supérieure à $0,1 \mu\text{m}$ et où le transport de solutés est lié à la convection ; les hydrogels microporeux avec des tailles de pores comprises entre 20 et 500 \AA et où les mécanismes de transport sont dus à de la convection et de la diffusion et, enfin, les hydrogels non poreux dans lesquels l'espace entre chaînes de polymères est limité et dans lesquels la diffusion assure, seule, le transfert de matière. Dans leur adaptation du modèle, ils envisagent la possibilité d'exclusion totale du soluté grâce à la définition d'un terme pré-exponentiel. Le coefficient de diffusion est donné en fonction de M_c la masse moléculaire entre deux points de réticulation, M_c^* la masse moléculaire critique entre deux points de réticulation (en dessous de laquelle la diffusion ne peut plus avoir lieu), M_n la masse moléculaire moyenne en nombre du polymère avant réticulation, r_s , le rayon du soluté, Q le taux de gonflement et k_1 et k_2 , deux constantes d'ajustement :

$$\frac{D}{D_0} = k_1 \frac{M_c - M_c^*}{M_n - M_c^*} \exp\left(-\frac{k_2 \cdot r_s^2}{Q - 1}\right) \quad (\text{V.20})$$

De façon à exprimer cette relation en fonction de l'espace libre entre les chaînes de polymère (taille des mailles ξ) Lustig et Peppas [Lustig, 1988] font intervenir les lois d'échelle de De Gennes [De Gennes, 1979, b] reliant ξ et le taux de gonflement Q via $k_1 \xi = Q^{3/4}$.

$$\frac{D}{D_0} = \left(1 - \frac{r_s}{\xi}\right)^2 \exp\left(-\frac{k_2 \cdot r_s^2 \Phi_p}{1 - \Phi_p}\right) \quad (\text{V.21})$$

Le Tableau 42 propose un bilan des modèles de type volume libre avec leurs domaines d'application et leurs limitations.

Auteurs	Applications	Limitations
Fujita Yasuda et al.	Solvants et solutés de petite taille Solutions de polymère semi-diluées	Solutés de grande taille Solutions de polymères concentrées
Vrentas et Duda	Différents solutés et solvants Solutions de polymère concentrées et semi-diluées	Détermination de nombreux paramètres Solutions diluées de polymère
Peppas et Reinhart	Différents solutés et solvants Gels et hydrogels réticulés chimiquement	Espèces diffusantes de taille équivalente ou supérieure à celle des mailles du réseau Diffusion dans des polymères non réticulés

Tableau 42 : Résumé des modèles de diffusion basés sur la théorie de du volume libre avec leurs applications et limitations (d'après Masaro et Zhu) [Masaro, 1999].

IV. Lois d'échelle

Des approches de type loi d'échelle ont également été développées au Collège de France [Cannell, 1980] et appliquées au cas de membranes microporeuses. La matrice y est considérée comme poreuse avec des pores homogènes cylindriques et le soluté flexible est décrit par le rayon de Flory (c'est-à-dire comme le carré de la distance des extrémités bout-à-bout). L'expression finalement formulée est fonction du paramètre x (rapport du rayon de Flory au rayon de pore) et d'un paramètre ajustable A . Les auteurs suggèrent de remplacer le produit kr_F par $4.r_H$.

$$\frac{D}{D_0} = A(k.x)^{-2/3} \cdot \exp(-k.x)^{5/3} \quad (\text{V.22})$$

Cette relation est obtenue grâce au produit de deux expressions. La première fournit, en régime dilué et pour des rayons de solutés inférieurs ou égaux au rayon de pore, la concentration de chaînes pénétrant dans les pores en fonction de x :

$$C_p = \beta C_0 \exp\left(-\left(k \frac{r_F}{r_p}\right)\right)^{5/3} \quad (\text{V.23})$$

La seconde fournit le rapport des coefficients de diffusion du soluté dans le pore (D_p) et dans la solution (D_0) :

$$\frac{D_p}{D_0} = \beta \left(k \frac{r_F}{r_p}\right)^{-2/3} \quad (\text{V.24})$$

Finalement, le ratio du coefficient de diffusion du soluté dans le gel à celui dans la solution est obtenu comme le produit de ces deux facteurs :

$$\frac{D}{D_0} = \frac{D_p}{D_0} \cdot \frac{C_p}{C_0} \quad (\text{V.25})$$

Cependant, l'expression obtenue est une loi d'échelle, ce qui signifie qu'il est impossible de prédire les coefficients numériques exacts. Néanmoins, ces auteurs sont parvenus à ajuster leurs données expérimentales grâce à cette approche.

V. Lois empiriques

Davis [Davis, 1974] a proposé une relation empirique reliant D/D_0 à la masse moléculaire du soluté M_w et au pourcentage massique de polymère dans le gel P . Cette relation empirique a été obtenue à partir d'essais de diffusion de diverses hormones marquées dans des gels de polyacrylamide et de polyvinylpyrrolidone.

$$\frac{D}{D_0} = \exp\left(-\left(0,05 + 10^{-6} \cdot M_w\right)P\right) \quad (\text{V.26})$$

Type de Modèle	Auteur	Expression	Matrice	Soluté
Obstruction	Mackie et Meares	$\frac{D}{D_0} = \left[\frac{1 - \Phi_P}{1 + \Phi_P} \right]^2$	Φ_P	Très petits solutés
Obstruction	Ogston	$\frac{D_{gel}}{D_0} = \exp \left[- \frac{r_s + r_f}{r_f} \sqrt{\Phi_P} \right]$	Hétérogène fibreuse (r_f, Φ_P) Distribution d'espaces sphériques dans une suspension aléatoire de fibres (géométrique)	Soluté rigide sphérique r_H
Obstruction	Johansson	$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09})$	Idem que Ogston mais fibres assimilées à des cellules cylindriques contenant polymère et solvant (r_f, Φ_P)	Soluté sphérique $r_H^{(*)}$
Obstruction et lois d'échelles	Amsden	$\frac{D}{D_0} = \exp \left[- \pi \left(\frac{r_s + r_f}{k_s \Phi_P^{-0,5} + 2r_f} \right)^2 \right]$	Hétérogène (r_f, Φ_P) volume des ouvertures entre les chaînes décrit par loi d'échelle	Soluté sphérique r_H
Hydrodynamique et lois d'échelles	Cukier	$\frac{D}{D_0} = \exp[-k.r_s]$	Φ_P Réseau fixe 'hydrodynamic screening'	Sphère brownienne largement plus grosse que le solvant
Hydrodynamique	Altemberger	$\frac{D}{D_0} = 1 - \alpha_1 \sqrt{\Phi_P} - \alpha_2 \Phi_P$	r_f, Φ_P	
Hydrodynamique	Phillies	$\frac{D}{D_0} = \exp(-\alpha.c^v)$	Homogène	
Hydrodynamique	Phillips	$\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1}$	Hétérogène fibreuse perméabilité	

Hydrodynamique	Renkin	$\frac{D}{D_0} = (1-x)^2 (1 - 2,1x + 2,1x^3 - 0,95x^5)$	Hétérogène poreuse r_P	Sphère rigide r_H
Volume libre	Yasuda	$\frac{D}{D_0} = \exp\left[\frac{B_s}{f_w} \left(1 - \frac{1}{1 - \Phi_P}\right)\right]$	Homogène	
Volume libre	Lustig et Peppas	$\frac{D}{D_0} = \left(1 - \frac{r_s}{\xi}\right)^2 \exp\left(-\frac{k_2 \cdot r_s^2 \Phi_P}{1 - \Phi_P}\right)$	Hétérogène (probabilité de présence d'un vide)	
Empirique	Davis	$\frac{D}{D_0} = \exp\left(-\left(0,05 + 10^{-6} \cdot M_w\right)P\right)$	P	M_w
Lois d'échelle	Cannell et Rondelez	$\frac{D}{D_0} = Ax^{-2/3} \exp(-x^{5/3})$	Hétérogène poreuse r_P	Pelote sphérique $r_F^{(**)}$

Tableau 43 : Bilan des modèles de la littérature pour D/D_0 .

(*) Johansson *et al.* mentionnent dans leurs travaux [Johansson, 1991(b)] l'utilisation du rayon de giration car celui-ci donne des résultats plus satisfaisants dans le cadre de leur étude. Ils indiquent que dans leur publication antérieure du même numéro de *Macromolecules*, le rayon hydrodynamique avait été utilisé [Johansson, 1991 (a)]. Cette remarque illustre, une fois de plus le manque de clarté associé à la notion de rayon de soluté. Une hypothèse est toutefois émise par ces auteurs qui suggèrent que dans les cas où le soluté est extrêmement dilué, il doit être assimilé au rayon de giration.

(**) Cannell et Rondelez [Cannell, 1980] soulignent que lorsqu'il est question de polymères trois rayons de solutés peuvent être utilisés pour caractériser une pelote en solution : le rayon hydrodynamique r_H , le rayon de giration r_g et le rayon de Flory, r_F (racine du carré de la distance des extrémités de la chaîne). Ces auteurs stipulent que le rayon hydrodynamique devrait être utilisé pour modéliser l'accroissement de la traînée (modèles hydrodynamiques) tandis que r_g et r_F sont plus adaptés lorsqu'il est question d'effets d'exclusion. Malgré ces recommandations, ces auteurs indiquent que de telles distinctions ne sont certainement pas garanties par les données de la littérature.

D/ Modélisation de la diffusion des pullulanes dans l'alginate de calcium

I. Modèles de coefficient de diffusion de solutés en phase aqueuse

L'ensemble des modèles rencontrés dans la littérature et présentés dans la partie précédente utilise le rapport du coefficient de diffusion du soluté dans le gel à celui du soluté à dilution infinie dans le solvant (eau). Les coefficients de diffusion des pullulanes dans l'alginate de calcium ont été mesurés expérimentalement. Par contre, les valeurs de D_0 requises pour la modélisation de nos résultats doivent être estimées à partir de modèles ou de corrélations.

I.1 Equation de Stokes-Einstein

La relation formulée par Stokes Einstein pour le coefficient de diffusion d'un soluté à dilution infinie repose sur l'hypothèse d'un soluté de taille largement supérieure au solvant et assimilable à une sphère dure et lisse. La solution est diluée et le solvant newtonien.

$$D_0 = \frac{k_B \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \mu_0 \cdot r_H} \quad (\text{V.27})$$

k_B la constante de Boltzmann, T la température, μ_0 la viscosité du solvant, r_H le rayon hydrodynamique.

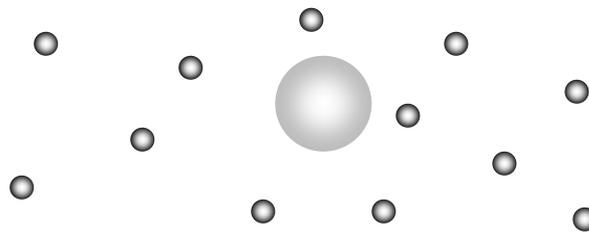


Figure 141 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche Stokes-Einstein.

I.2 Approche De Gennes : « flexible coil »

Pour des chaînes flexibles en solution dans un bon solvant, le coefficient de diffusion est une fonction décroissante de la masse moléculaire de la forme [De Gennes, 1979]:

$$D_0 \approx M^{-0.55} \quad (\text{V.28})$$

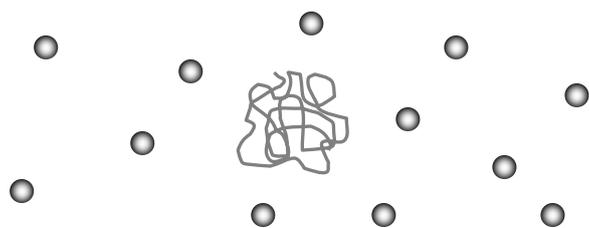


Figure 142 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche de De Gennes.

I.3 Equation empirique de Chang et Wilke [Wilke, 1955 ; Chang, 1955]

La relation empirique proposée par Wilke et Chang sur la base d'un grand nombre de données obtenues pour divers couples solvant/soluté n'est valable que dans le cas de très petits solutés de taille voisine de celle du solvant (Figure 143).

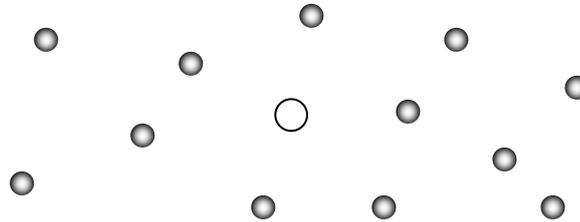


Figure 143 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche de Wilke et Chang.

$$D_0 = 7,4 \cdot 10^{-8} \frac{\sqrt{\phi M_{\text{solvant}} T}}{\mu' V_A^{0,6}} \quad (\text{V.29})$$

V_A volume molaire du soluté $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, ϕ facteur d'association du solvant (2,6 pour l'eau), M_B masse molaire du solvant, μ' viscosité de la solution en cP et D_0 coefficient de diffusion (en $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

I.4 Données extrapolées

Certains auteurs, sur la base de mesures de diffusion de la lumière proposent des corrélations entre coefficient de diffusion (en $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) à dilution infinie et masse moléculaire du soluté ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$) considéré. Kato et *al.* [Kato, 1984] donnent pour le pullulane, à 25°C, dans l'eau, la relation suivante :

$$D_0 = 1,07 \cdot 10^{-8} M_w^{-0,52} \quad (\text{V.30})$$

C'est cette dernière relation qui sera utilisée dans nos calculs. Elle se rapproche, en effet, de la représentation la plus réaliste du soluté (voir approche de De Gennes) et a été formulée sur la base de données expérimentales sur le pullulane.

	$D_0 (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$
P0	$3,45 \cdot 10^{-10}$
P5	$1,17 \cdot 10^{-10}$
P11	$8,17 \cdot 10^{-11}$
P22	$5,80 \cdot 10^{-11}$
P47	$3,97 \cdot 10^{-11}$
P112	$2,53 \cdot 10^{-11}$
P212	$1,82 \cdot 10^{-11}$

Tableau 44 : Valeurs de D_0 issues de la relation V.26.

Ces valeurs permettent de calculer le rapport du coefficient de diffusion du soluté dans le gel au coefficient de diffusion du soluté à dilution infinie (Figure 144 et Tableau 45).

D/D_0	0,0108	0,0216	0,0276	0,03
P0	1,15	0,84	0,60	1,09
P5			0,80	0,76
P11	1,04	0,62	0,55	0,45
P22	1,08		0,59	0,36
P47	0,78	0,48	0,16	0,08
P112	0,77	0,09	0,02	
P212	0,46			

Tableau 45 : Valeurs de D/D_0 utilisées dans les modélisations.

Les valeurs du rapport D/D_0 supérieures à l'unité traduisent des erreurs liées à la mesure expérimentale de D et à la corrélation employée pour D_0 .

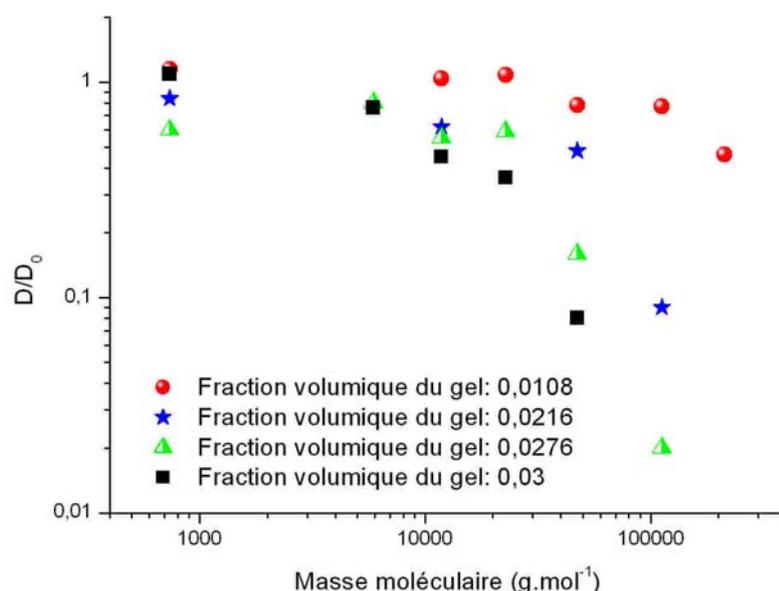


Figure 144 : Représentation de D/D_0 en fonction de la masse moléculaire du soluté.

II. Problématique de la modélisation

La revue bibliographique présentée précédemment témoigne de la variété et du grand nombre de modèles issus des trois approches de l'obstruction, de l'hydrodynamique et du volume libre. Dans un premier temps, il est possible de proposer une description plus phénoménologique de nos résultats en suggérant une première interprétation basée sur la visualisation de deux régimes successifs.

II.1 Observation des données brutes : vers une approche à deux régimes ?

La Figure 145 correspond à nos résultats expérimentaux. Il apparaît que pour les solutés de petite taille, la décroissance de D/D_0 est quasi linéaire. Puis, à partir d'une taille de soluté limite, la décroissance s'accélère. Il est notable que cette rupture intervient d'autant plus rapidement que la fraction volumique en polymère dans le gel est élevée. Le modèle « idéal » devra donc traduire cette transition de régime apparente. La Figure 146 propose une représentation schématique des tendances attendues pour ce modèle.

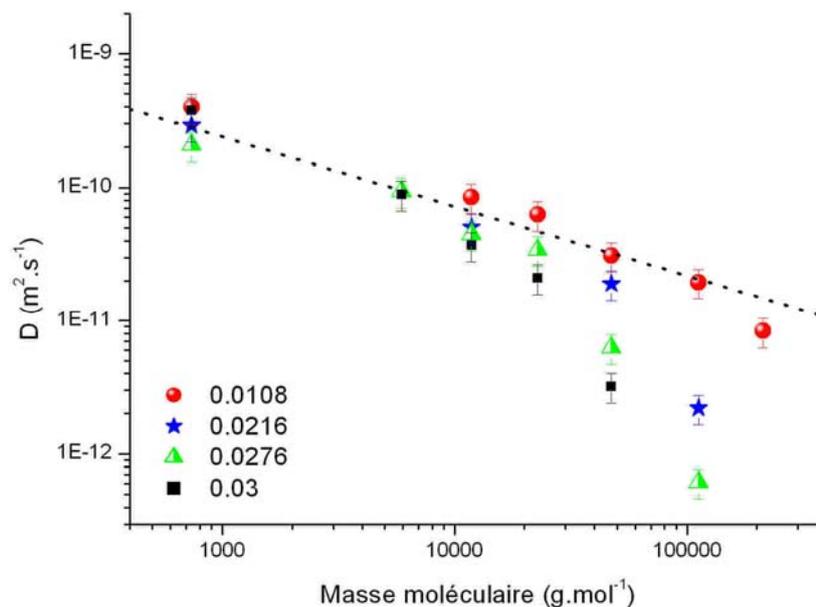


Figure 145 : Coefficients de diffusion expérimentaux et fonction $D_0=f(M_w)$.

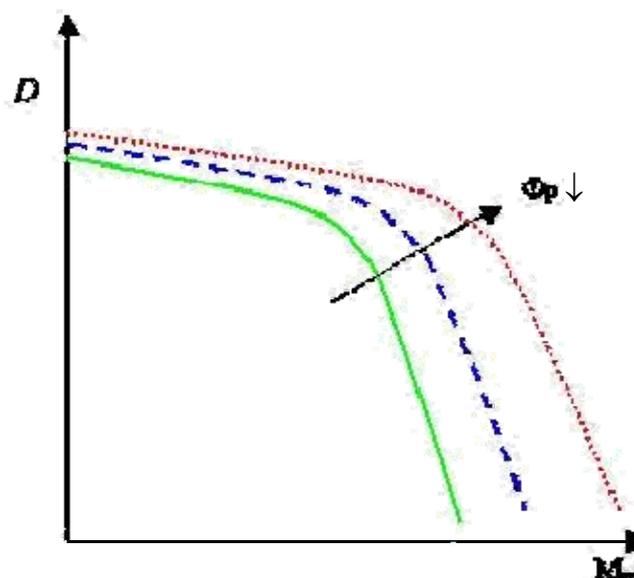


Figure 146 : Représentation schématique des tendances de la modélisation recherchée.

Brown et Johnsen [Brown, 1981] ont étudié la diffusion de solutés dans des gels de polyacrylamide et ont montré que le coefficient de diffusion peut être relié à la masse moléculaire du soluté par une relation du type $D=K.M^\alpha$ où α est un nombre positif qui dans le cas de la reptation vaut 2.

Ce résultat pourrait être utilisé dans notre cas, pour les macromolécules de masse moléculaire élevée tandis que pour les faibles masses moléculaires, étant donné que D/D_0 est voisin de 1, il est possible de suggérer de modéliser les points par $D=A.M^\alpha$.

Les observations expérimentales peuvent conduire à proposer l'existence de deux régimes. Cette approche pourrait donc s'exprimer par deux relations limites correspondant aux masses moléculaires extrêmes:

$$\begin{cases} M_w \ll M_w^* : D = A.M_w^{-\alpha} \\ M_w \gg M_w^* : D = B.M_w^{-2} \end{cases} \quad (\text{V.31})$$

La première expression n'est fonction que du soluté étant donné qu'on la suppose égale à $D_0=f(M_w)$. Comme c'est le cas dans le début de ce travail, nous utiliserons la relation proposée par Kato et *al.* pour les cas où $M_w < M_w^*$:

$$D_0 = 1,07.10^{-8}.M_w^{-0,52} \quad (\text{V.32})$$

La seconde expression proposée est liée à la reptation du soluté dans le gel. La transition entre ces deux régimes est caractérisée par M_w^* , la taille de soluté critique exprimée en masse moléculaire en g.mol^{-1} .

Il est évident que cette masse molaire critique est liée à la taille des mailles caractéristique du gel considéré. Il doit donc exister une valeur du rapport de la taille de maille à la taille du soluté pour lequel le soluté doit passer d'une conformation pelote statistique à une conformation déployée caractéristique de la reptation.

De Gennes propose une relation entre fraction volumique en polymère et taille de maille du gel :

$$\xi \propto \Phi^{-3/4} \quad (\text{V.33})$$

En ce qui concerne le soluté, son rayon hydrodynamique peut être relié à la masse moléculaire moyenne en masse par la relation [Kato, 1984] :

$$r_H = A.M_w^{0,58} \quad (\text{V.34})$$

Ce rapport peut donc s'exprimer à partir de la relation suivante :

$$\frac{r_s}{\xi} = \frac{A.M_w^{0,58}}{B.\Phi^{-3/4}} \propto M_w^{0,58}.\Phi^{3/4} \quad (\text{V.35})$$

On définit alors Cr_2 , valeur critique pour un couple gel/soluté, comme :

$$Cr_2 = M_w^{0,58}.\Phi^{3/4} \quad (\text{V.36})$$

Il doit donc être possible de déterminer la valeur de M_w^* si la valeur Cr_2^* est connue. Ce critère sera donc testé de façon à vérifier si sa constance est vérifiée lors d'une transition de régime : nos résultats expérimentaux seront utilisés à cet effet.

La Figure 145 permet de visualiser la modification de comportement diffusionnel caractérisant le changement de régime et le passage supposé à la reptation. La transition est supposée caractérisée par une rupture dans la tendance de D en fonction de M_w .

Dans le Tableau 46, nous distinguerons deux régimes (notés I et II) correspondant à la diffusion de solutés sous forme de pelote statistique et par un mécanisme de reptation. Pour chacun des couples (r_s, ξ) , le critère défini précédemment (Cr_2) est calculé afin d'établir un parallèle entre valeur de ce critère et mode de diffusion.

M_w (g.mol ⁻¹)	Fraction volumique (-)							
	0,0108		0,0216		0,0276		0,03	
	Cr ₂	Régime	Cr ₂	Régime	Cr ₂	Régime	Cr ₂	Régime
738	1,5	I	2,6	I	3,1	I	3,3	I
5900	5,2	I	8,7	I	10,4	I	11,1	I
11800	7,7	I	13	I	15,6	I	16,6	I
22800	11,3	I	19	I	22,8	I	24,3	I
47300	17,2	I	29	I	34,8	II	37,1	II
112000	28,4	I	47,8	II	57,4	II	61,1	II
212000	41,1	II	69,2		83,2		88,5	

Tableau 46 : Association entre valeur du critère et mode de diffusion supposé pour le soluté.

D'après cette étude préliminaire, il apparaît que la transition de régime se produit pour Cr_2 voisin de 35. Il est ainsi possible, à partir de Cr_2^* de déterminer un M_w^* pour chacun des gels. Les résultats de ce calcul sont présentés Tableau 47.

Φ_P (-)	0,0108	0,0216	0,0276	0,03
M_w^* (g.mol ⁻¹)	160400	65450	47700	42800

Tableau 47 : Valeur de M_c pour Cr_2^* .

Finalement, le résultat de la modélisation appliquée à nos données expérimentales est présenté Figure 147.

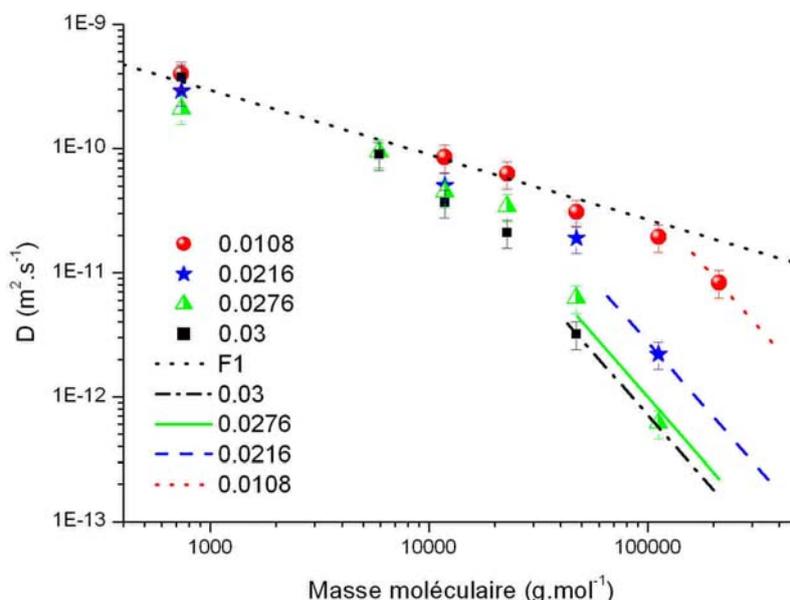


Figure 147 : Modélisation par une approche à deux régimes.

Cette approche apparaît satisfaisante pour les masses moléculaires extrêmes. Seule la transition entre ces deux régimes supposés est mal décrite. Il semblerait, en outre, que ce régime intermédiaire soit d'autant plus étendu que la fraction volumique en polymère dans le gel est élevée. Il est possible d'imaginer au cours de cette transition le déploiement progressif de la pelote statistique du soluté passant d'une conformation sphérique à celle d'un reptile se faufilant entre les points fixes de la matrice.

Cette approche reste toutefois phénoménologique. En outre, elle ne décrit pas les données relatives aux solutés de masse moléculaire intermédiaire et des données supplémentaires sont requises pour tester sa validité. Il convient, par conséquent, d'évaluer les modèles existant dans la littérature. Etant donné le grand nombre de modèles présentés dans la revue bibliographique, nous avons décidé dans un premier temps, de tester ceux ne nécessitant aucun ajustement afin d'estimer leur caractère prédictif.

II.2 Modèles explicites sans paramètre ajustable

Parmi les modèles répertoriés dans la revue bibliographique, certains présentent l'avantage incontestable de ne nécessiter aucun ajustement. Nous les avons donc testés, dans un tout premier temps, afin de vérifier, si à l'extérieur de leur domaine d'application initial, ils fournissent une bonne prédiction des données.

II.2.a Relation de Davis

Davis [Davis, 1974] a proposé une relation empirique reliant D/D_0 à la masse moléculaire du soluté M_w et au pourcentage massique de polymère dans le gel P .

La Figure 148 présente les résultats de l'application de cette relation à nos données et les résidus sont indiqués au Tableau 48

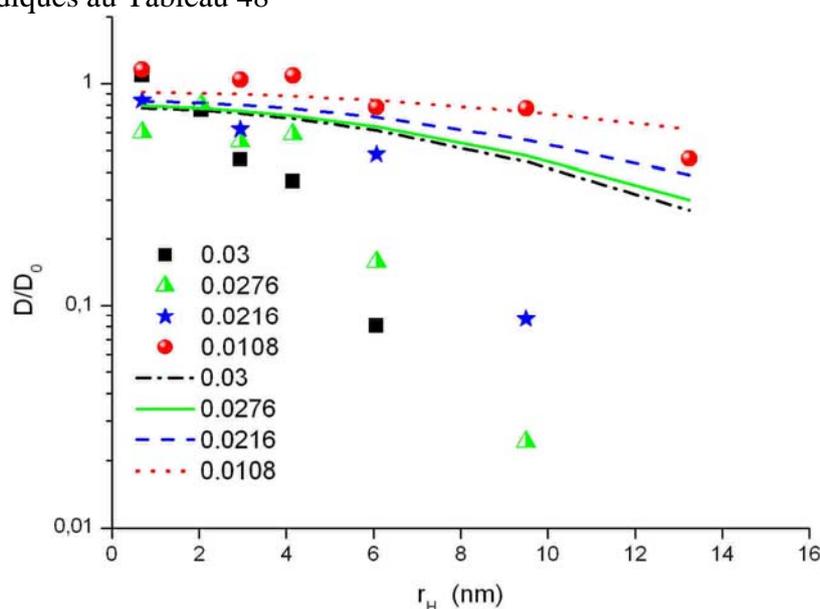


Figure 148 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Davis.

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Davis	$\frac{D}{D_0} = \exp\left(-\left(0,05 + 10^{-6} \cdot M_w\right)P\right)$	0,23	0,87	1,63	1,29	P et M_w	0 aucun

Tableau 48 : Bilan des modélisations par la relation de Davis.

Cette relation présente le point fort de ne nécessiter l'utilisation d'aucun paramètre ajustable. Ceci dit, l'écart entre ce modèle empirique et les résultats expérimentaux est marqué et probablement dû au fait que le système à partir duquel il a été développé est très différent de celui étudié dans ce travail.

Ce type de démarche semble donc se limiter à un système donné et mal s'adapter à notre système expérimental bien que les auteurs suggèrent qu'elle puisse être appliquée à des masses moléculaires de 148 à 150 000 g.mol⁻¹. Très certainement, il doit être possible de proposer une expression similaire pour notre système mais une telle démarche perd de son intérêt si un objectif de prédiction de données est visé.

II.2.b Modèle de Mackie et Meares

Le modèle le plus simple issu de la théorie de l'obstruction est celui proposé par Mackie et Meares. Aucun paramètre d'ajustement n'est nécessaire étant donné que le rapport D/D_0 n'est fonction que de la fraction volumique du gel.

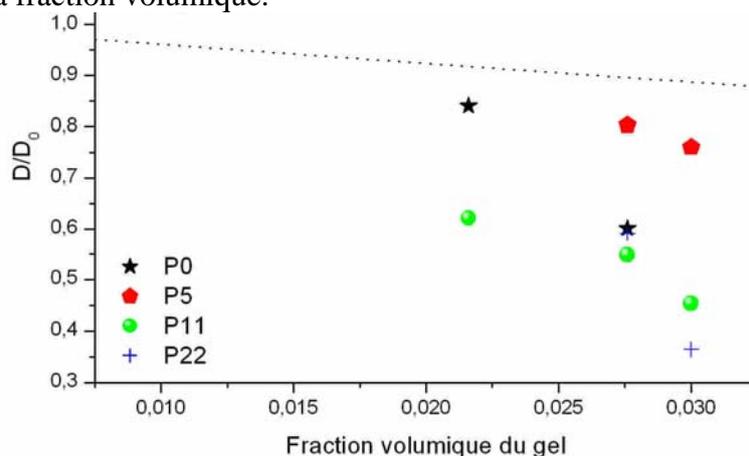


Figure 149 : Modélisation via la relation de Mackie et Meares (.....).

Cette approche indépendante de la taille du soluté ne fournit pas de résultats satisfaisants comme cela pouvait être attendu étant donné la grande plage de masses moléculaires testée dans nos essais. Ce modèle n'utilise, en effet, aucun paramètre relatif au soluté. Il se limite ainsi aux solutés de très petite taille et se trouve incapable de prédire correctement des résultats similaires aux nôtres. La Figure 149 ne présente que le cas des premiers solutés de la série étant donné que les résultats sont de moins en moins bons au fur et à mesure que la masse moléculaire du soluté s'accroît.

II.2.c Modèle de type obstruction

Un certain nombre de modèles requièrent la connaissance de r_f , le rayon des fibres de la matrice de polymère. Amsden [Amsden, 1998] propose une valeur expérimentale de ce rayon de l'ordre de 3,6 Å. Ce même auteur propose en 2001 [Amsden, 2001] une valeur de 8 Å. Nous avons donc testé les modèles de Ogston et Johansson ne nécessitant aucun paramètre ajustable sitôt que r_f est connu. Les résultats sont présentés Tableau 49, Figure 150 et Figure 151.

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Ogston	$\frac{D_{gel}}{D_0} = \exp\left[-\frac{r_s + r_f}{r_f} \sqrt{\Phi_P}\right]$	678	49	24	10	$r_f = 3,6 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun
Johansson	$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09})$	5.10^{13}	$1,3.10^{13}$	5.10^{16}	2.10^6	$r_f = 3,6 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun

Tableau 49 : Bilan des modèles de type obstruction sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 1998.

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Ogston	$\frac{D_{gel}}{D_0} = \exp\left[-\frac{r_s + r_f}{r_f} \sqrt{\Phi_P}\right]$	9,7	0,7	1,4	0,8	$r_f = 8 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun
Johansson	$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09})$	96	3,3	1,4	0,2	$r_f = 8 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun

Tableau 50 : Bilan des modèles de type obstruction sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 2001.

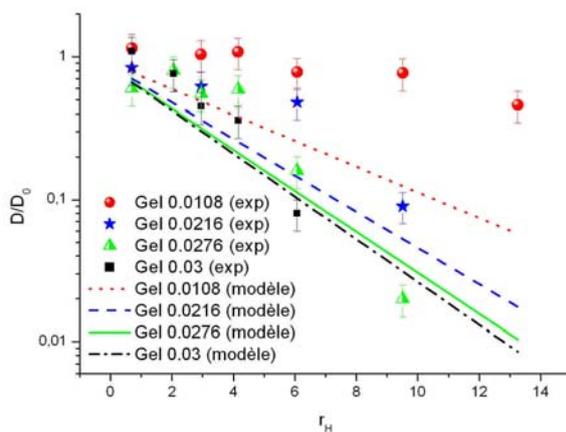


Figure 150 : Modélisation par la relation de Ogston $r_f = 3,6 \text{ \AA}$.

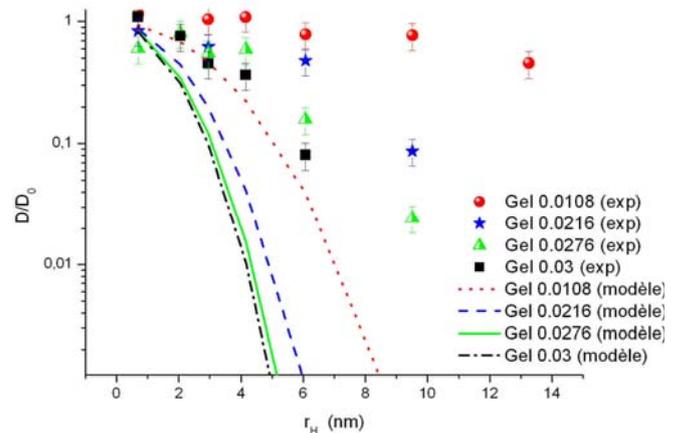


Figure 151 : Modélisation par la relation de Johansson ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$).

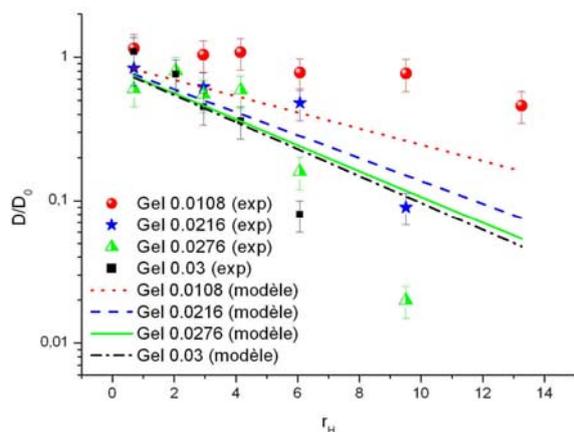


Figure 152 : Modélisation par la relation de Ogston $r_f = 8 \text{ \AA}$.

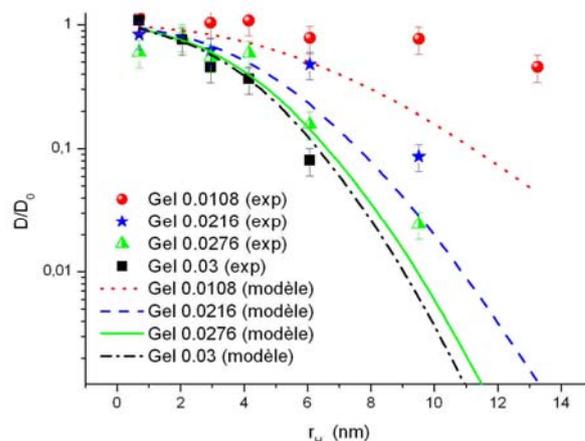


Figure 153 : Modélisation par la relation de Johansson $r_f = 8 \text{ \AA}$.

Ces modélisations ne permettent pas de décrire convenablement nos résultats expérimentaux, notamment lorsque la fraction volumique en polymère s'accroît. Deux raisons sont à envisager, soit un modèle inadapté, soit une valeur de r_f erronée. Dans tous les cas, D/D_0 est sous estimé par les modèles, notamment pour les gros solutés et les gels les plus faibles. On retrouve donc, une tendance déjà soulignée dans l'étude de partition pour laquelle les modèles sous estimaient également K_P pour les divers gels.

II.2.d Modèle de type hydrodynamique

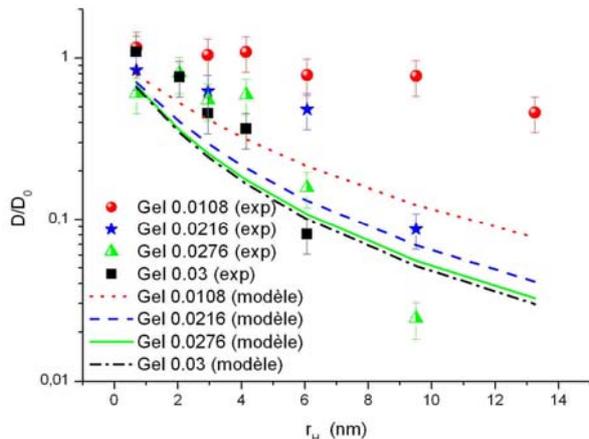


Figure 154 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$).

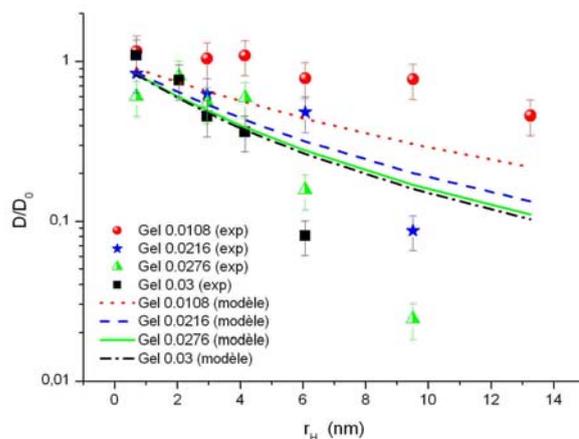


Figure 155 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 8 \text{ \AA}$).

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Phillips	$\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1}$	67	8	9	4	$r_f = 3,6 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun

Tableau 51 : Bilan des modèles de type hydrodynamique sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 1998.

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Phillips	$\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1}$	5,5	0,6	1,4	0,7	$r_f = 8 \text{ \AA}$ Φ_P, r_H	0 aucun

Tableau 52 : Bilan des modèles de type hydrodynamique sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 2001.

Comme précédemment, le caractère prédictif de ce type de modèle est mis en défaut (Tableau 51, Tableau 52, Figure 154 et Figure 155). Ces modélisations préliminaires démontrent la difficulté d'adaptation de ces approches prédictives à tout type de système. Des modèles avec paramètres ajustables ont donc été envisagés dans un second temps.

II.3 Modélisations avec ajustements

II.3.a Théorie de l'obstruction

Des modèles de type obstruction avec 1 à 2 paramètres ajustables ont été testés (Tableau 53).

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Ogston	$\frac{D_{gel}}{D_0} = \exp \left[- \frac{r_s + r_f}{r_f} \sqrt{\Phi_P} \right]$	0,61	0,68	1,48	1,10	Φ_P, r_H	1 $r_f = 2,1 \text{ nm}$
Johansson	$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09})$	0,50	0,58	1,46	1,08	Φ_P, r_H	1 $r_f = 1,3 \text{ nm}$
	$\frac{D}{D_0} = \exp(-0,84.\gamma^{1,09})$	0,10	0,29	0,37	0,53	Φ_P, r_H	2 $r_f = 0,9 \text{ nm}$ et pour $\Phi_P = 0,0108$ $r_f = 1,7 \text{ nm}$
Amsden	$\frac{D}{D_0} = \exp \left[- \pi \left(\frac{r_s + r_f}{k_s \Phi_P^{-0,5} + 2r_f} \right)^2 \right]$	1,1	1,6	0,7	0,3	$\Phi_P, r_H,$ $r_f = 8 \text{ \AA}$	1 $k_s = 2,3$

Tableau 53 : Bilan des modèles de type obstruction avec paramètres ajustables.

Les tracés correspondants sont présentés Figure 156, Figure 157 et Figure 159.

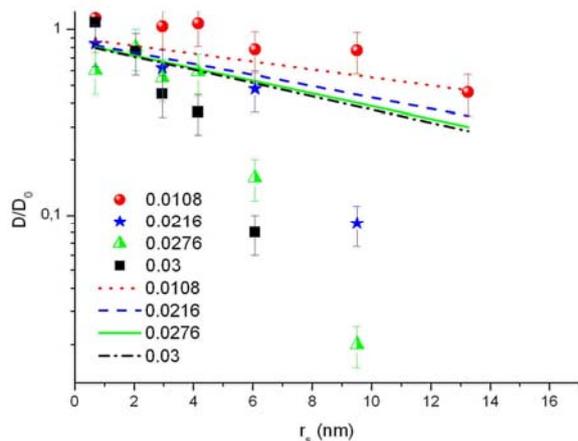


Figure 156 : Modélisation avec la relation d'Ogston ($r_f = 2,1$ nm).

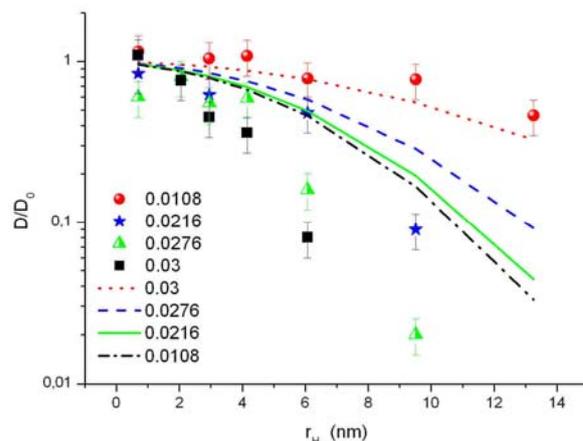


Figure 157 : Modélisation via la relation de Johansson ($r_f = 1,3$ nm).

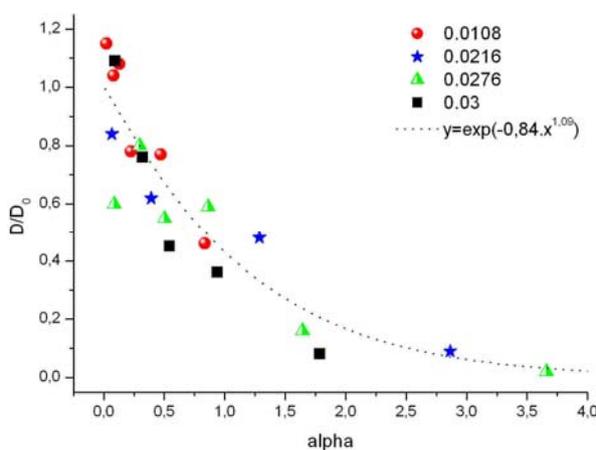
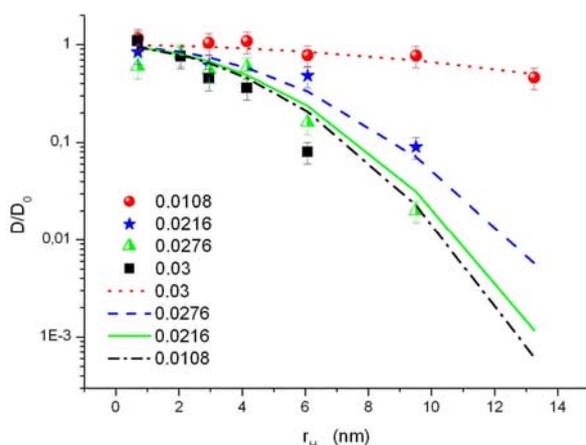


Figure 158 : Modélisation via la relation de Johansson ($r_f = 0,9$ nm pour les trois fractions volumiques les plus élevées et $r_f = 1,7$ nm pour $\Phi_P = 0,0108$) présentées en fonction de r_H ou de γ .

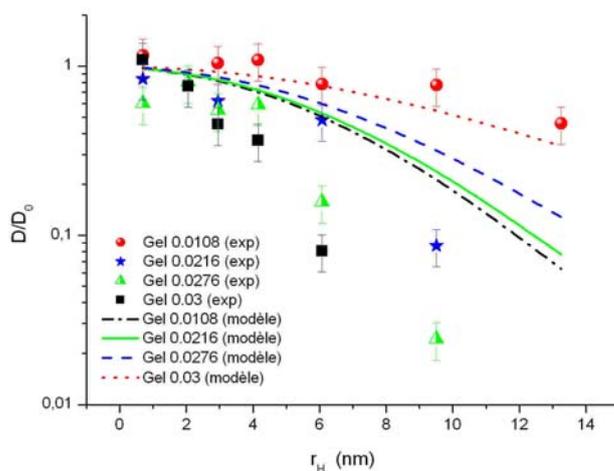


Figure 159 : Modélisation via la relation de Amsden, en imposant $r_f = 8$ Å et en ajustant k_s .

II.3.b Théorie hydrodynamique

Des modèles de type hydrodynamique avec 1 à 4 paramètres ajustables ont été testés (Tableau 54). Les tracés correspondants sont présentés de la Figure 160 à la Figure 165.

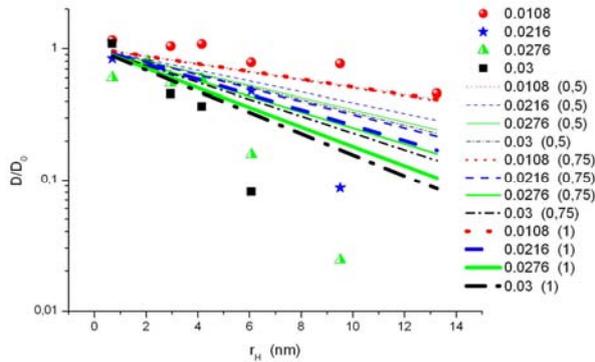


Figure 160 : Modélisation par la relation de Cukier, la valeur de l'exposant ν est notée entre parenthèses en légende.

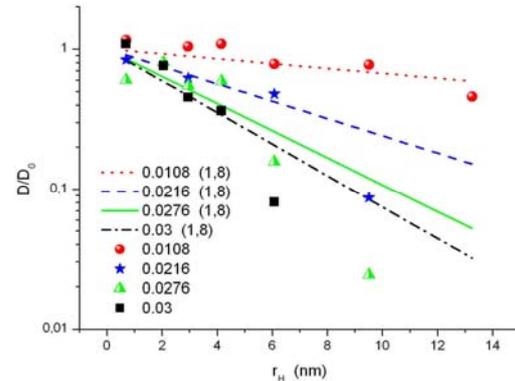


Figure 161 : Modélisation par approche hydrodynamique avec $\nu=1,8$ et $k=162$.

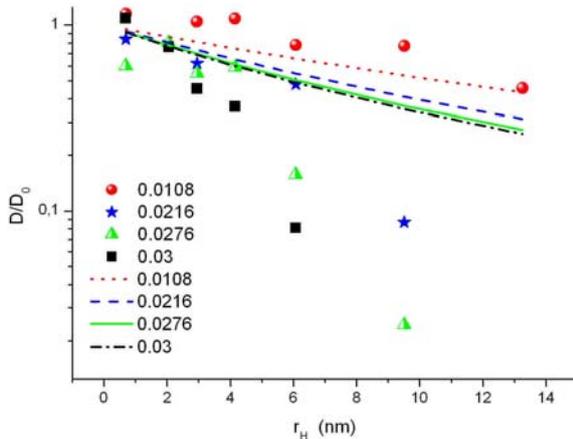


Figure 162 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 1,7$ nm).

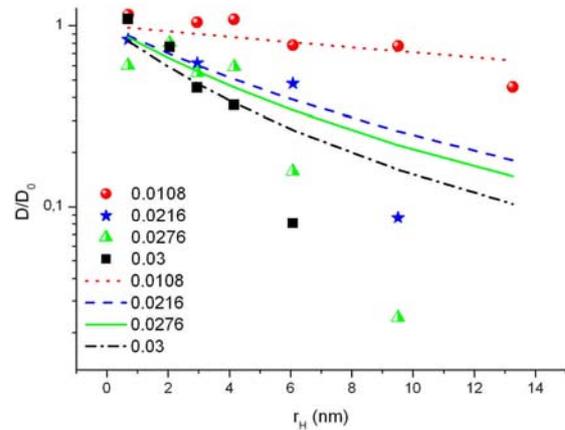


Figure 163 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f différent pour chaque fraction volumique ($r_f = 0,8$ nm pour $\Phi_p = 0,03$; $r_f = 1,02$ pour $\Phi_p = 0,0276$; $r_f = 0,99$ nm pour $\Phi_p = 0,0216$; $r_f = 3,5$ nm pour $\Phi_p = 0,0108$).

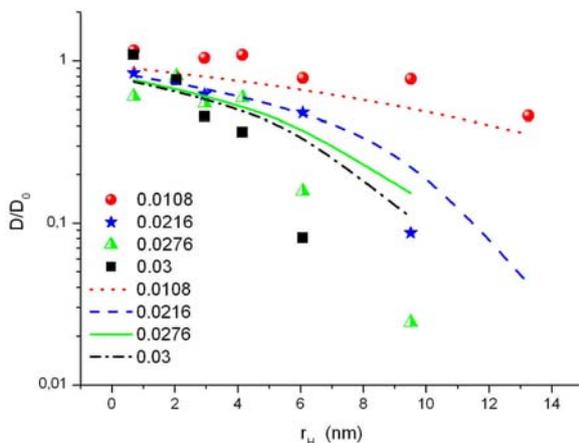


Figure 164 : Modélisation par la relation de Altemberger et al. : paramètres d'ajustement $\alpha_1/r_H = 6,9$ et $\alpha_2 = 0,4$.

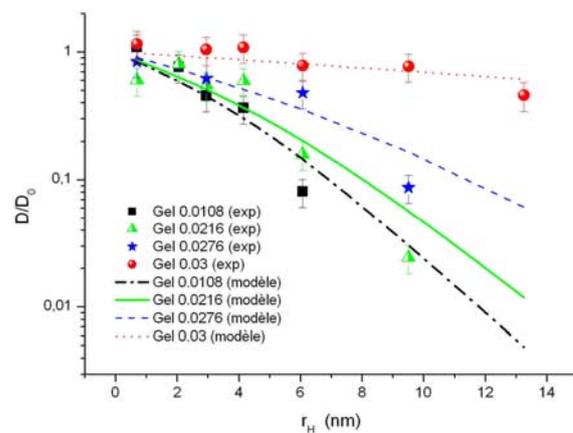


Figure 165: Modélisation par la relation de Renkin, avec ajustement sur r_p pour chaque fraction volumique.

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres	
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03	Imposés	Ajustés
Cukier Laurent	$\frac{D}{D_0} = \exp(-kr_s \cdot \Phi_P^\nu)$ $\nu=0,5$	3,56				Φ_P, r_H	1 $k=0,65$
		0,51	0,66	1,43	0,95		
de Gennes	$\frac{D}{D_0} = \exp(-k.r_H \cdot \Phi_P^\nu)$ $\nu=0,75$	3,1				Φ_P, r_H	1 $k=2,1$
		0,57	0,55	1,22	0,76		
Brown et Stilbs	$\frac{D}{D_0} = \exp(-k.r_H \cdot \Phi_P^\nu)$ $\nu=1$	2,6				Φ_P, r_H	1 $k=6,3$
		0,52	0,48	1,06	0,58		
Phillips	$\frac{D}{D_0} = \exp(-k.r_H \cdot \Phi_P^\nu)$ $\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1}$ $k = 0,31.r_f^2 \Phi_P^{-1,17}$	2,43				Φ_P, r_H	2 $k=162$ $\nu=1,8$
		0,21	0,47	1,20	0,56		
		3,75				Φ_P, r_H	1 $r_f = 1,7 \text{ nm}$
		0,56	0,67	1,51	1,01		

Phillips	$\frac{D}{D_0} = \left[1 + \left(\frac{r_s^2}{k} \right)^{1/2} + \frac{r_s^2}{3k} \right]^{-1}$ $k = 0,31 \cdot r_f^2 \Phi_P^{-1,17}$	2,7				Φ_P, r_H	4 r_f
		0,21	0,50	1,31	0,68		0,8 1,02 0,99 3,5
Altemberger	$\frac{D}{D_0} = 1 - \alpha_1 \sqrt{\Phi_P} - \alpha_2 \Phi_P$ $\alpha_1 \propto r_s \sqrt{r_f}$	3,35				Φ_P, r_H	2 $\alpha_1/r_H = 6,9$ $\alpha_2 = 0,4.$
		0,74	0,47	1,18	0,96		
Renkin	$\frac{D}{D_0} = (1-x)^2 (1 - 2,1x + 2,1x^3 - 0,95x^5)$	1,89				r_H	4 r_P (nm)
		0,19	0,36	0,92	0,42		119 28 20 17

Tableau 54 : Bilan des modèles de type hydrodynamique avec paramètres ajustables.

II.3.c Volume libre

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Lustig et Peppas	$\frac{D}{D_0} = \left(1 - \frac{r_s}{k_1 \Phi_P^{-0,75}}\right) \exp\left(-\frac{k_2 \cdot r_s^2 \cdot \Phi_P}{1 - \Phi_P}\right)$	0,68	0,45	0,31	0,59	Φ_P, r_H	2 $k_1 = 0,68$ $k_2 = -0,67$
							2,0

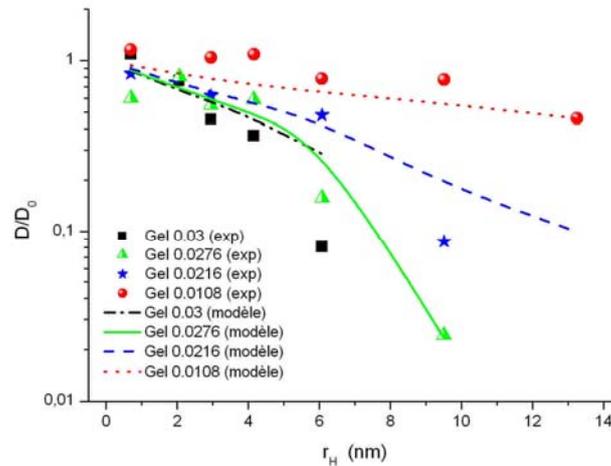


Figure 166 : Modélisation par la relation de Lustig et Peppas ($k_1 = 0,68$ et $k_2 = -0,67$).

II.3.d Lois d'échelles

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Cannell et Rondelez	$\frac{D}{D_0} = Ax^{-2/3} \exp(-x^{5/3})$	0,34	1,08	0,79	0,85	Φ_P, r_H	5 $A = 0,48$ r_p 84 34 24,5 21
							3,07

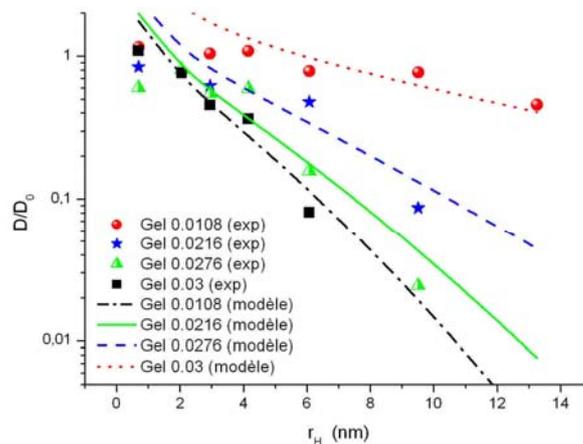


Figure 167 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Cannell et Rondelez.

II.3.e Couplage des interactions hydrodynamiques et de l'obstruction

Modèle	Expression	Résidu Total				Paramètres imposés	Paramètres ajustables
		0,0108	0,0216	0,0276	0,03		
Johnson	$\frac{D}{D_0} = \frac{\exp(-0,84.\alpha^{1,09})}{\left(1 + \left(\frac{r_s^2}{k}\right) + \frac{1}{3} \frac{r_s^2}{k}\right)}$	0,55	0,61	1,45	0,98	Φ_P, r_H	$\mathbf{1}$ $r_f = 2,45 \text{ nm}$

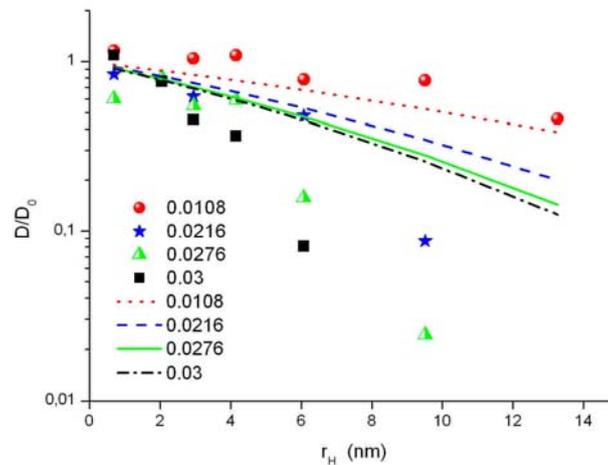


Figure 168 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Johnson.

III. Bilan des modélisations et discussion

III.1 Bilan général

Le Tableau 55 propose un bilan des modélisations effectuées précédemment en associant nombre de paramètre ajustable, valeur des résidus de modélisation et des paramètres ajustés. Les modélisations présentées dans les pages précédentes ont démontré que malgré le nombre important d'approches répertoriées dans la littérature, l'adéquation entre théorie et expérience n'est pas évidente.

Dans cette discussion tous les modèles présentés ne seront pas abordés mais, seulement une sélection permettant d'énoncer des commentaires sur leur capacité à modéliser nos résultats expérimentaux.

Type de Modèle	Auteur	Nombre de Paramètres ajustables	Résidu	Paramètres ajustés
Obstruction	Mackie et Meares	0	**	
Empirique	Davis	0	4,01	
Obstruction	Ogston	0 ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$)	761	
		0 ($r_f = 8 \text{ \AA}$)	12,8	
		1	3,87	$r_f = 2,1 \text{ nm}$
Obstruction	Johansson	0 ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$)	10^{16}	
		0 ($r_f = 8 \text{ \AA}$)	101	
		1	3,62	$r_f = 1,3 \text{ nm}$
		2	1,29	$r_f = 0,9 \text{ nm}$ $r_f = 1,7 \text{ nm} (\Phi_P 0,0108)$
Obstruction et lois d'échelles	Amsden	1 ($r_f = 8 \text{ \AA}$)	3,8	$k=2,3$

Hydrodynamique et lois d'échelles	Cukier	1 ($\nu = 0,5$)	3,56	$k = 0,65$
		1 ($\nu = 0,75$)	3,1	$k = 2,1$
		1 ($\nu = 1$)	2,6	$k = 6,3$
		2	2,4	$k = 162$ $\nu = 1,8$
Hydrodynamique	Altemberger	2	3,35	$\alpha_1/r_H = 6,9$ $\alpha_2 = 0,4.$
Hydrodynamique	Phillips	0 ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$)	89	
		0 ($r_f = 8 \text{ \AA}$)	8,1	
		1	3,75	$r_f = 1,7 \text{ nm}$
		4	2,7	$r_f(\Phi_P) \text{ nm } 0,8//1,2//0,99//3,5$
Hydrodynamique	Renkin	4	1,89	$r_P(\Phi_P) \text{ nm } 119//28//20//17$
Volume libre	Lustig et Peppas	2	2,0	$k_1 = 0,68 \text{ } k_2 = -0,67$
Lois d'échelle	Cannell et Rondelez	5	3,07	$A = 0,48$ $r_P(\Phi_P) \text{ nm } 84//34//24,5//21$
Mixte Hydrodynamique et Obstruction	Johnson	1	3,58	$r_f = 2,45 \text{ nm}$

Tableau 55 : Bilan des modélisations des coefficients de diffusion expérimentaux.

III.2 Bilan des modèles sans paramètre ajustable

Notre démarche de modélisation a été conduite avec un souci de simplicité du fait du grand nombre de modèles à disposition. Nous avons sélectionné, dans un premier temps, ceux ne nécessitant aucun paramètre ajustable. Parmi ces modèles, on doit distinguer entre les modèles empiriques tels que celui de Davis et les modèles issus des approches de type obstruction et hydrodynamique.

Le modèle empirique de Davis, issu de résultats sur un système très éloigné du couple alginate de calcium/ pullulane ne permet pas une bonne représentation des données expérimentales.

Un certain nombre de modèles de type obstruction ou hydrodynamique requièrent uniquement des paramètres représentatifs de la structure du réseau et du soluté, à savoir, le rayon des fibres du gel, sa fraction volumique et le rayon du soluté. Le rayon du soluté a été déterminé, pour le pullulane dans la partie caractérisation, grâce au rayon hydrodynamique et au rayon de giration. La difficulté principale correspondant à ce paramètre est le choix entre les différentes grandeurs le caractérisant. La fraction volumique a également été déterminée expérimentalement. Seul le rayon des fibres de l'alginate n'a pu être déterminé par nos soins. Cependant, certains auteurs proposent des valeurs pour ce paramètre. Amsden propose des rayons compris entre 3,6 et 8 Å. Ces valeurs ont donc été utilisées de façon à modéliser nos données sans paramètre ajustable.

Les modélisations ainsi menées fournissent des résultats peu satisfaisants. Ceci peut être dû à une mauvaise estimation du rayon de fibre qui, d'après ces calculs devrait, dans notre cas, être d'avantage de l'ordre de 8 Å que de 3,6 Å étant donné que de meilleurs résultats sont obtenus pour les fibres plus larges.

Cette première partie de modélisation s'achève donc sur un constat d'échec concernant la prédiction des coefficients de diffusion dans les gels par les approches de la littérature et, ce malgré leur nombre. D'autres modèles, utilisant des paramètres ajustables ont, par conséquent, été testés dans un second temps.

III.3 Bilan des modèles avec paramètre ajustable

III.3.a Modèles de type obstruction

Des remarques similaires à celles du cas de la partition du pullulane dans les gels d'alginate de calcium peuvent être formulées. En effet, la modélisation vérifie globalement la tendance expérimentale pour les plus petits solutés. Néanmoins, lorsque la masse moléculaire du soluté s'accroît, une très grande dispersion (plusieurs ordres de grandeur) est observée entre expérience et théorie.

La relation de Ogston ne permet pas de rendre compte convenablement des données expérimentales notamment s'agissant des variations de fractions volumiques en polymère dans le gel.

Comme pour le modèle d'Ogston, les ajustements via le modèle des cellules cylindriques de Johansson sont obtenus avec pour paramètre le rayon des fibres supposé identique pour l'ensemble des fractions volumiques. L'adéquation des points expérimentaux au modèle est nettement améliorée par rapport au modèle d'Ogston. Comme le souligne la littérature, cette

approche fournit une meilleure modélisation de la diffusion des solutés de plus grande masse moléculaire. L'amélioration proposée par Johansson résulte de l'utilisation de l'approche d'Ogston de « distribution d'espaces dans une suspension aléatoire de fibres » en y ajoutant une nuance. Les auteurs utilisent des résultats du modèle de cellule cylindrique. Dans ce modèle, la fibre simple est remplacée par une cellule cylindrique infinie contenant le solvant et le polymère, le polymère étant représenté par un barreau au centre du cylindre.

Pour obtenir de bien meilleurs résultats (voir Figure 158 et Tableau 53), le rayon de fibre du gel le plus faible est ajusté indépendamment des trois autres. De la sorte, une modélisation satisfaisante de nos résultats expérimentaux est obtenue. Cependant, l'interprétation physique de cette manipulation est difficile (déjà évoquée en partition). On peut supposer que ces deux groupes de gel appartiennent à des régimes de concentration différents d'où la nécessité de les modéliser indépendamment. Une autre hypothèse réside dans la non prise en compte de la rigidité des réseaux d'hydrogel : il est probable que la fraction volumique variant, la flexibilité de la matrice soit modifiée.

En outre, malgré une relativement bonne représentation de données expérimentale et, comme le précisent Masaro et *al.*, l'interprétation physique du paramètre γ n'est pas aisée. Ceci limite le caractère prédictif du modèle mais assure toutefois une prédiction qualitative du phénomène. Ceci est d'autant plus vrai que les rayons de fibres ajustés sont du même ordre de grandeur que les valeurs supérieures proposées par Amsden (8Å).

Amsden, propose également un modèle développé initialement pour des hydrogels, donc, des systèmes similaires au nôtre. Cependant, l'ajustement de ce modèle à nos données expérimentales ne donne qu'une vision qualitative du coefficient de diffusion en fonction des paramètres structuraux du système. L'ajustement a été réalisé avec un rayon de fibre de 8Å et par ajustement de la constante de loi d'échelle qui permet d'exprimer la taille des mailles du réseau par une loi puissance dans le modèle. S'agissant d'une constante de proportionnalité entre taille de maille et fraction volumique en soluté dans le gel, k est donc supposé constant pour un type de gel donné. Le rayon de fibre a également été laissé ajustable dans d'autres modélisations, sans fournir de meilleurs résultats.

III.3.b Modèles de type hydrodynamique

Modèle de Cukier

Ce modèle propose une vision homogène du gel dans laquelle intervient un paramètre ajustable, noté k . Ce paramètre ajustable est associé à une puissance appliquée à la fraction volumique v qui varie dans la littérature entre 0,5 et 1 suivant les auteurs.

La Figure 160 montre le résultat de modélisations réalisées avec $v = 0,5$, $v = 0,75$ et $v = 1$, exposants proposés par divers auteurs (Cukier, Brown, de Gennes...). Le résultat de l'ajustement fournit des valeurs $k = 0,6$, $k = 2$ et $k = 6,2$ respectivement. On peut noter que l'accroissement de l'exposant v permet d'améliorer la prise en compte de la diffusion des solutés de masse moléculaire élevée. Si les paramètres v et k sont ajustés simultanément, on obtient dans le cas de des données expérimentales $v = 1,8$ et $k = 162$. Le résultat de cette modélisation est présenté Figure 161 et donne une erreur résiduelle encore inférieure.

Toutefois, la forme générale des expressions modélisées n'est pas satisfaisante. Elle ne fait pas apparaître la décroissance brutale des coefficients de diffusion pour les rayons de solutés accrus, soulignée dans l'approche empirique proposée en préambule des modélisations.

Modèle de Phillips

Dans cette approche basée sur les interactions hydrodynamiques et considérant une matrice hétérogène pour décrire le gel dans lequel diffusent un soluté rigide, le seul paramètre ajustable est le rayon des fibres, r_f . Comme précédemment, ce rayon de fibre, supposé ne dépendre que de la nature du gel, est ajusté à une même valeur pour les quatre fractions volumiques en polymère dans le gel. L'ajustement donne un rayon de fibre de 1,7 nm proche de la valeur de 8 Å proposée par Amsden.

Pour améliorer l'adéquation entre expérience et modèle, un ajustement a été réalisé avec r_f défini pour chacune des fractions volumiques dans le gel. Le résultat présenté est amélioré. Cependant, la modélisation surestime, comme les autres modèles, la valeur de D/D_0 pour les solutés de taille importante.

Modèle de Altemberger et al.

Cette modélisation semble intéressante car elle fait apparaître une rupture de pente pour les rayons hydrodynamiques de solutés élevés. Cependant, l'approche prédictive est difficile étant donné que les paramètres d'ajustement ne sont pas reliés à des données structurales du système.

Modèle Mixte Obstruction/Hydrodynamique de Johnson

Le résultat de la modélisation est légèrement meilleur que ceux obtenus pour les modèles d'obstruction et des interactions hydrodynamiques pris séparément. Cependant, la prédiction des coefficients de diffusion des solutés de plus grande masse moléculaire n'est pas satisfaite. L'idée séduisante de combiner différents mécanismes pour modéliser les résultats expérimentaux ne fournit finalement pas de meilleurs résultats.

Modèle de Renkin

La représentation des données expérimentales par cette relation est tout à fait satisfaisante. Il s'agit de la relation conduisant aux plus faibles résidus entre expérience et théorie.

De façon à tester la plausibilité des valeurs de r_p obtenues, celles-ci sont représentées en fonction de la fraction volumique sur le graphe déjà présenté chapitre I et répertorient l'ensemble des modèles permettant de relier masse volumique en polymère dans un gel et taille caractéristique du maillage ou de la porosité de ce gel (voir Figure 169).

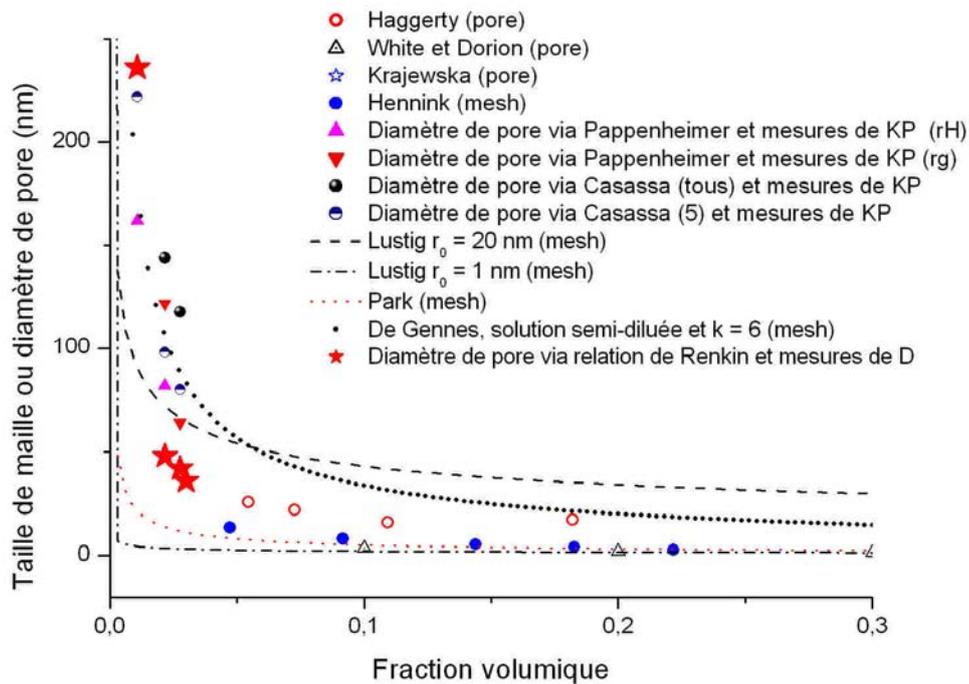


Figure 169 : Comparaison des valeurs de r_p modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Renkin aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel.

Grâce au comparatif proposé Figure 169, les valeurs de taille de pore obtenues par la relation de Renkin peuvent être considérées comme bien représentatives du gel aux fractions volumiques considérées. Elles se situent dans la gamme des rayons de pores rencontrés dans la littérature sans toutefois se conformer précisément aux modèles de réseaux de la littérature. Il faut, cependant, souligner que les expressions de de Gennes et Lustig se réfèrent à des représentations fibreuses du système et non poreuse. Ceci peut certainement expliquer les écarts observés.

Finalement, ce modèle permet une meilleure adéquation entre théorie et expérience tout en présentant l'avantage de n'utiliser que des paramètres structuraux dans sa mise en forme. Cependant, on peut souligner, comme cela avait été fait dans le chapitre consacré à la partition que les bons résultats sont également dus au fait que l'ajustement utilise quatre paramètres au lieu d'un nombre inférieur pour d'autres modèles. En outre, la mesure expérimentale de la taille des pores est extrêmement difficile à mettre en œuvre et il n'est donc pas possible de confronter ces résultats modélisés aux rayons de pore expérimentaux de notre système.

On peut également s'interroger sur la validité de la représentation du soluté, ici supposé sphérique et rigide. Un modèle associant cette représentation poreuse du gel mais utilisant, pour le soluté les lois d'échelles développées à l'équilibre [Daoud et de Gennes, 1977] et en dynamique [Brochard et De Gennes, 1977 ; Daoudi et Brochard, 1978]. Cependant, les lois d'échelle utilisées ne prédisant que les lois de puissance, des constantes d'ajustement supplémentaires seront requises.

III.3.c Modèles de type loi d'échelle

La relation suggérée par Cannell et Rondelez fournit des tendances intéressantes pour la modélisation des données expérimentales même si la valeur des résidus de modélisation n'en témoigne pas directement du fait d'une mauvaise modélisation des faibles tailles de solutés.

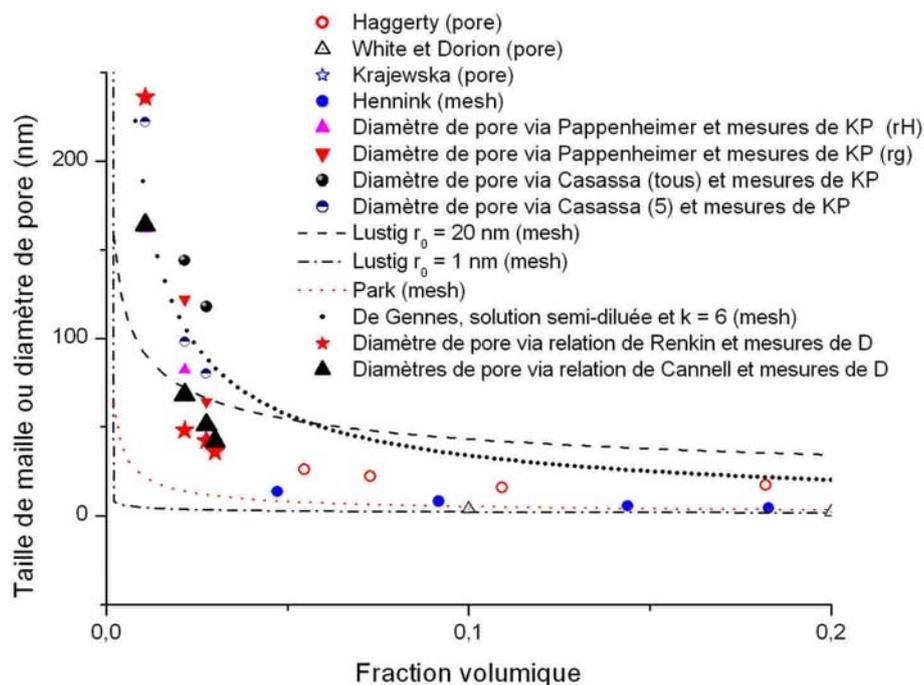


Figure 170 : Comparaison des valeurs de r_p modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Cannell et Rondelez aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel.

Les rayons de pores ajustés sont cependant trop éloignés des différentes corrélations pour permettre de les estimer *a priori* et diminuer le nombre de paramètres ajustables. Même si les rayons ajustés se situent dans l'ordre de grandeur attendu, une telle approche reste éloignée de l'approche prédictive attendue. En outre, la modélisation du rapport D/D_0 pour de petits solutés fournit des valeurs supérieures à l'unité, expérimentalement injustifiables.

III.3.d Volume libre

La relation de Lustig et Peppas permet une bonne modélisation de nos données expérimentales. Le seul problème imposé par cette relation réside dans le fait que les deux paramètres ajustables ne traduisent pas de réalité physique.

Le tracé de l'expression proposée par ces auteurs sur un domaine élargi par rapport à nos données expérimentales laisse apparaître un volume à partir duquel le soluté est exclu par sa taille supérieure aux volumes libres présents dans le gel. L'augmentation des coefficients de diffusions simulés au-delà d'une certaine valeur de rayon de soluté est donc, seulement liée à la forme mathématique du modèle et non à une réalité physique pour le système.

Une remarque intéressante peut être faite concernant ce rayon de soluté limite. Il apparaît en parfait accord avec nos données expérimentales vu qu'il correspond pour chaque fraction volumique au cas où le coefficient de diffusion n'a pu être déterminé expérimentalement car notre méthode ne possédait pas une sensibilité suffisante. Cette observation confirme la bonne adéquation de ce modèle à nos données expérimentales.

La première constante d'ajustement, k_1 intervient dans l'expression de Lustig et Peppas pour le calcul de la taille de maille caractéristique. On peut donc déduire de cet ajustement des valeurs de taille de maille ξ comprises entre 10 et 21 nm. Au vu de l'expression de Lustig et Peppas, il s'agit d'une demi-maille que nous avons comparée aux données de la littérature.

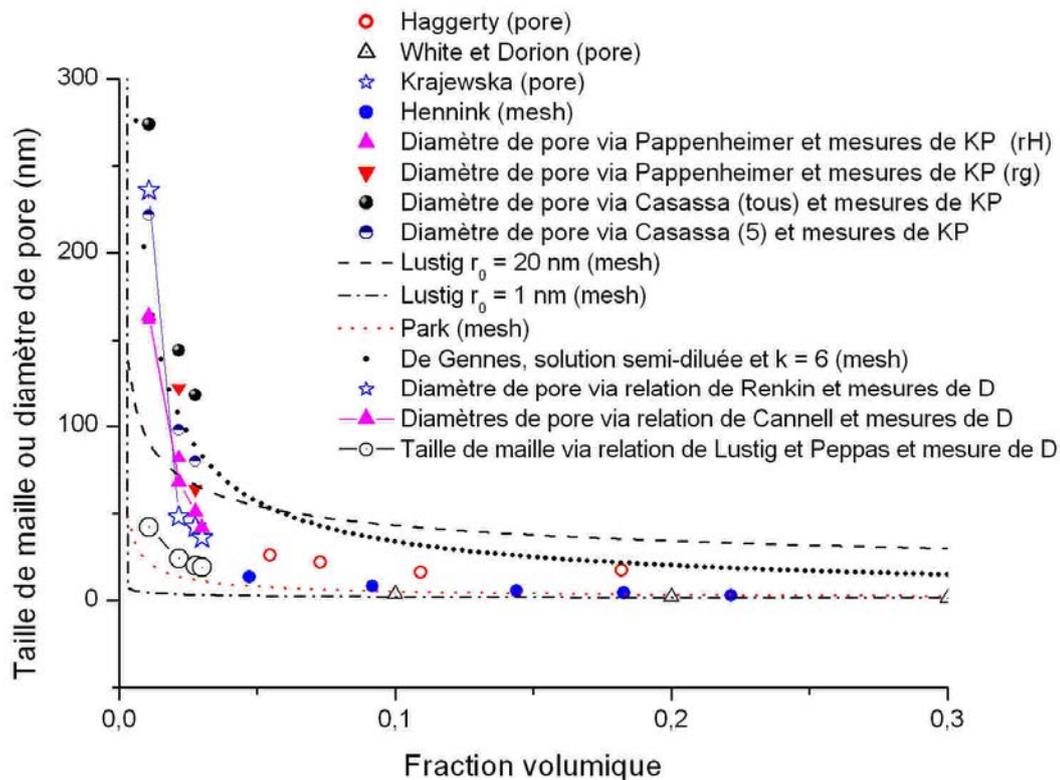


Figure 171 : Comparaison des valeurs de ξ modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Lustig et Peppas aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel.

La Figure 171 montre un respect des tendances entre la taille de maille issue d'ajustement et les divers modèles de la littérature. Cependant, la dispersion des données recensées ne permet pas de confirmer la validité de cette approche.

Le deuxième paramètre ajustable ne peut quant à lui être testé. Il n'en demeure pas moins que cette approche fournit une assez bonne modélisation du système.

Le bilan des modélisations montre une efficacité semblable des approches basées sur la théorie de l'obstruction et des interactions hydrodynamiques avec une très légère amélioration des résultats lors de la prise en compte simultanée, par un modèle mixte de ces deux approches. Seul, le modèle hydrodynamique de Renkin, somme toute, relativement simple, permet de minimiser l'erreur résiduelle. Dans celui-ci le gel est décrit via une approche poreuse et le soluté comme une sphère dure. Cette conclusion est à rapprocher des résultats de modélisation de la partition où un modèle similaire permettait une bonne modélisation du système étudié. Le bémol formulé dans cette partie reste, ici aussi, valable : il convient de noter que cette modélisation est obtenue après un ajustement sur quatre paramètres correspondant aux rayons de pores des quatre gels utilisés.

L'approche loi d'échelle de Cannell et Rondelez permet également d'améliorer les résultats de l'obstruction et des interactions hydrodynamiques vraisemblablement par sa meilleure vision de la conformation des macromolécules. Elle a pour point commun avec la théorie de Renkin la modélisation du gel sous forme d'un milieu poreux. Ce parallèle entre ces deux approches est d'ailleurs souligné dans l'article de Cannell et Rondelez où ces auteurs estiment

que leur approche fournit des résultats similaires à ceux prévus par la relation de Renkin, en l'améliorant dans le cas des solutions concentrées où les lois d'échelle sont mieux adaptées.

La théorie du volume libre, avec une approche très différente, fournit d'assez bons résultats mais présente l'inconvénient d'utiliser deux paramètres d'ajustement auxquels il est difficile d'associer un sens physique.

Enfin, même si un modèle mixte a été testé avec peu de succès, il convient de souligner que, du fait de la grande variété de situations correspondant à nos essais, il est peut-être difficile de les traiter de façon unifiée avec une seule et même approche... Cette vision du problème apparaissait dans l'approche empirique que nous avons formulée en début de cette partie. En effet, dans notre proposition de modélisation empirique, une approche à deux régimes correspondant à deux modes de diffusion des solutés en fonction du rapport de la taille de soluté à la taille de maille était formulée.

Conclusion

Dans le cadre de ce chapitre, les recommandations expérimentales et relatives au traitement des données ont été appliquées à notre système et ont permis la détermination des coefficients de diffusion moléculaires d'une série de pullulanes dans des gels d'alginate de calcium possédant quatre fractions volumiques différentes en polymère. La série complète des pullulanes n'a pu être étudiée dans son ensemble à cause de limitations liées à la sensibilité de notre méthode expérimentale et de temps de manipulations incompatibles avec la dérive du réfractomètre. Ceci nous a incités à l'étude de faisabilité d'une nouvelle méthode en colonne chromatographique dont les résultats préliminaires fournissent des pistes pour des travaux complémentaires sans toutefois permettre, pour l'heure, une estimation de D . Finalement, un nombre suffisant d'essais en système fermé a permis de balayer largement le rapport des tailles de solutés à la longueur caractéristique du maillage du réseau.

Les coefficients de diffusion ainsi obtenus ont permis de formuler une première approche originale semi-empirique traduisant les tendances observées expérimentalement. En utilisant les concepts de la reptation, nous proposons une modélisation des données de diffusion basée sur la mise en place de deux régimes diffusionnels. La transition entre ces deux régimes a été matérialisée par un critère exprimé par le rapport des tailles de la maille du réseau et du soluté. Des points expérimentaux intermédiaires complémentaires seraient utiles dans l'optique d'une la validation de cette approche.

Les coefficients de diffusion obtenus ont permis, par ailleurs, de tester les modèles de la littérature reliant propriétés diffusionnelles et caractéristiques structurales des systèmes. Dans un premier temps, les modèles le permettant ont été utilisés de façon prédictive. Les résultats se sont avérés, dans le meilleur de cas, qualitatifs pour les grandes masses moléculaires. Des modèles impliquant des paramètres ajustables ont, par conséquent, été envisagés. Ceux mettant en jeu un grand nombre de paramètres se sont montrés plus efficaces mais il est difficile de conclure entre meilleure représentativité du modèle et plus grand degré de liberté de celui-ci.

Néanmoins, un faible nombre a fourni des résultats en bonne adéquation avec nos résultats expérimentaux. La relation proposée par Lustig et Peppas [Lustig et Peppas, 1988] traduit bien les tendances sur lesquelles notre approche semi-empirique insistait. Elle utilise, cependant, deux constantes d'ajustement dont il est difficile de vérifier la validité étant donné que seule l'une possède une réalité physique. Celle-ci permet le calcul d'une taille de maille à partir de la fraction volumique en polymère dans le gel. A ce titre, il a été possible de remplacer les données de taille de maille ainsi obtenues au sein des valeurs de la littérature. Il s'est avéré que, même si la grande dispersion des données recensées incite à la plus grande prudence, les valeurs issues de cet ajustement s'inscrivent dans les ordres de grandeur attendus.

La meilleure adéquation est obtenue pour l'approche de Renkin [Renkin, 1954], qui considère le gel comme poreux et le soluté rigide et sphérique, en utilisant une approche hydrodynamique. Leur approche combine ces éléments sous la forme d'une expression fonction exclusivement du rapport du rayon du soluté au rayon de pore du gel. Les rayons de pores issus de cet ajustement sont conformes à ceux rencontrés dans la littérature, mais légèrement supérieurs. Ce résultat peut paraître quelque peu surprenant étant donné la description poreuse du gel et la vision simpliste des macromolécules bien éloignée des

développements accomplis en chimie et physique des polymères ces vingt dernières années. En effet, il est désormais entendu que des chaînes de macromolécules de cette taille se comportent plutôt comme des pelotes statistiques que comme des sphères impénétrables... Toutefois, il semblerait qu'une vision simplifiée de notre système suffise à une bonne description de la diffusion et du partage. En effet, ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus en partition où un modèle du même type a permis la meilleure description du partage du pullulane dans les hydrogels d'alginate de calcium.

Un autre modèle s'est distingué, justement issu des travaux d'une équipe du Collège de France, en Physique de la matière condensée [Cannell, 1980]. Malgré leurs travaux très ancrés dans les nouveaux développements liés aux conformations des chaînes polymères en milieu confiné, Cannell et Rondelez [Cannell, 1980] soulignent que la description de leurs données expérimentales est particulièrement bien réalisée par la relation de Renkin. Ces auteurs suggèrent une autre relation entre D/D_0 , rayon de pore, rayon du soluté et constante d'ajustement basée sur des concepts de lois d'échelle. Cette relation permet également une bonne représentation de nos données expérimentales mais présente l'inconvénient d'utiliser un paramètre ajustable supplémentaire. Par contre, son utilisation, dans le cas de mesures effectuées à des concentrations supérieures devrait, selon ses auteurs, fournir des résultats de meilleure qualité que la relation de Renkin. Travailler à des concentrations supérieures en soluté reste donc une perspective de travail de façon à tester ces deux approches dans des conditions apparemment plus favorables à l'approche loi d'échelle. Toutefois, dans le cas de concentrations supérieures, des problèmes d'idéalité des solutions pourront éventuellement survenir.

Dans le cas de ces deux approches poreuses du gel, les rayons de pores issus des ajustements ont également été comparés avec un succès relatif à ceux recensés dans la littérature. Effectivement, le manque de précision des approches existantes ne permet pas de les déterminer a priori, condition nécessaire à la validation complète de l'une ou l'autre de ces méthodes.

Finalement, il est intéressant d'établir un parallèle entre ces conclusions issues des essais de diffusion à celle obtenues en partition. En effet, dans ces deux cas traités indépendamment, des modèles de type matrice poreuse se sont avérés les plus efficaces.

Table des Figures

Figure 1 : Exemple de courbes d'étalonnage pour dosage du pullulane par réfractométrie : (à gauche) données brutes ; (à droite) courbe de calibration.....	161
Figure 2 : Schéma simplifié du montage en système fermé à recirculation.....	162
Figure 3 : Exemples de courbes d'incorporation (diminution de la concentration dans la solution) pour le montage avec boucle d'analyse.	163
Figure 4 : Comparaison des coefficients de partage obtenus par la méthode avec boucle d'analyse à ceux de l'étude de la partition du pullulane dans l'alginate calcium. La ligne continue correspond à la première bissectrice et les lignes en pointillés correspondent à un écart de 10 % par rapport à celle-ci.....	164
Figure 5 : Comparaison de la méthode avec prélèvements manuels et dosage à l'antrone et de la méthode avec boucle d'analyse.	164
Figure 6 : Comparaison des temps de transfert interne et externe en fonction du coefficient de diffusion du soluté. Le temps de transfert externe a été estimé à partir du calcul du nombre de Sherwood via la relation de Wakao et Funazkri.	167
Figure 7 : Exemple de colonne remplie de billes d'alginate de calcium.....	168
Figure 8 : Schéma du montage expérimental pour les essais en colonne	168
Figure 9 : Photo du montage expérimental pour les essais en colonne.....	169
Figure 10 : Courbes brutes de détermination des volumes des capillaires.....	169
Figure 11 : Superposition des pics d'élutions de 6 injections différentes de la même solution de dextrane T2000 à un débit de 100 mL.h ⁻¹	170
Figure 12 : Analyse des courbes de percée du chlorure de sodium à débit variable dans une colonne de 25 cm environ remplie de billes d'alginate de calcium de fraction volumique 0,0276.....	172
Figure 13 : Courbes de percée normées réalisées dans un gel à 0.0276 avec un volume de colonne de 119 cm ³	173
Figure 14 : Courbes de percée normées réalisées dans un gel à 0.0276 avec un volume de colonne de 265 cm ³	173
Figure 15 : Comparaison des coefficients de partage obtenus par la méthode en colonne à ceux issus du dosage à l'antrone (les droite en pointillés de part et d'autre de la première bissectrice correspondent à 20% d'erreur).....	175
Figure 16 : Pics d'élution théoriques obtenus par un modèle MCE avec J = 40.	176
Figure 17 : Comparatif de simulation avec (à gauche) ou sans (à droite) prise en compte du transfert externe.....	177
Figure 18 : Courbes simulées avec une porosité de 47% en tenant compte du transfert externe estimé par la relation de Wilson et J=40.	177
Figure 19 : : Courbes simulées avec une porosité de 47% en tenant compte du transfert externe estimé par la relation de Wilson et J=30 (à gauche) et J=60 (à droite)	178
Figure 20 : Exemples de cinétiques de diffusion de pullulanes de masse moléculaire variable (de 738 à 212000 g.mol ⁻¹) dans un gel d'alginate de calcium à 1,08 %.	180
Figure 21 : Effet de la fraction volumique en polymère dans le cas de la diffusion du plus petit pullulane de masse moléculaire M _w =738 g.mol ⁻¹	181
Figure 22 : Effet de la fraction volumique en polymère dans le gel dans le cas d'un pullulane de masse moléculaire M _w = 47300 g.mol ⁻¹	181
Figure 23 : Exemple de modélisation de la diffusion du pullulane P0 dans le gel à 1,08 %. 182	
Figure 24 : Coefficients de diffusion de la série de pullulanes dans des gels d'alginate de calcium de fraction volumique variable.....	184

Figure 25 : Comparatif des différents modèles issus de la théorie de l'obstruction (avec $a = \frac{r_s + r_f}{r_f}$) ; le graphe de droite est un grossissement de la zone de fraction volumique correspondant à notre étude.....	187
Figure 26 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche Stokes-Einstein.....	196
Figure 27 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche de De Gennes.....	196
Figure 28 : Représentation schématique du soluté en solution dans l'approche de Wilke et Chang.....	197
Figure 29 : Représentation de D/D_0 en fonction de la masse moléculaire du soluté.....	198
Figure 30 : Coefficients de diffusion expérimentaux et fonction $D_0=f(M_w)$	199
Figure 31 : Représentation schématique des tendances de la modélisation recherchée.....	199
Figure 32 : Modélisation par une approche à deux régimes.....	201
Figure 33 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Davis.....	202
Figure 34 : Modélisation via la relation de Mackie et Meares (.....).....	203
Figure 35 : Modélisation par la relation de Ogston $r_f = 3,6 \text{ \AA}$	204
Figure 36 : Modélisation par la relation de Johansson ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$).....	204
Figure 37 : Modélisation par la relation de Ogston $r_f = 8 \text{ \AA}$	205
Figure 38 : Modélisation par la relation de Johansson $r_f = 8 \text{ \AA}$	205
Figure 39 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 3,6 \text{ \AA}$).....	205
Figure 40 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 8 \text{ \AA}$).....	205
Figure 41 : Modélisation avec la relation d'Ogston ($r_f = 2,1 \text{ nm}$).....	207
Figure 42 : Modélisation via la relation de Johansson ($r_f = 1,3 \text{ nm}$).....	207
Figure 43 : Modélisation via la relation de Johansson ($r_f = 0,9 \text{ nm}$ pour les trois fractions volumiques les plus élevées et $r_f = 1,7 \text{ nm}$ pour $\Phi_P = 0,0108$) présentées en fonction de r_H ou de γ	207
Figure 44 : Modélisation via la relation de Amsden, en imposant $r_f = 8 \text{ \AA}$ et en ajustant k_s	207
Figure 45 : Modélisation par la relation de Cukier, la valeur de l'exposant ν est notée entre parenthèses en légende.....	208
Figure 46 : Modélisation par approche hydrodynamique avec $\nu = 1,8$ et $k = 162$	208
Figure 47 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f identique pour toutes les fractions volumiques ($r_f = 1,7 \text{ nm}$).....	208
Figure 48 : Modélisation par la relation de Phillips, ajustement avec r_f différent pour chaque fraction volumique ($r_f = 0,8 \text{ nm}$ pour $\Phi_P = 0,03$; $r_f = 1,02 \text{ nm}$ pour $\Phi_P = 0,0276$; $r_f = 0,99 \text{ nm}$ pour $\Phi_P = 0,0216$; $r_f = 3,5 \text{ nm}$ pour $\Phi_P = 0,0108$).....	208
Figure 49 : Modélisation par la relation de Altemberger et al. : paramètres d'ajustement $\alpha_1/r_H = 6,9$ et $\alpha_2 = 0,4$	208
Figure 50 : Modélisation par la relation de Renkin, avec ajustement sur r_P pour chaque fraction volumique.....	208
Figure 51 : Modélisation par la relation de Lustig et Peppas ($k_1 = 0,68$ et $k_2 = -0,67$).....	211
Figure 52 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Cannell et Rondelez.....	211
Figure 53 : Modélisation des données expérimentales par la relation de Johnson.....	212
Figure 54 : Comparaison des valeurs de r_P modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Renkin aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel.....	218

- Figure 55 : Comparaison des valeurs de r_p modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Cannell et Rondelez aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel..... 219
- Figure 57 : Comparaison des valeurs de ξ modélisées à partir des valeurs expérimentales de D/D_0 et de la relation de Lustig et Peppas aux données et modèles de la littérature reliant taille caractéristique du réseau et fraction volumique dans le gel..... 220

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Bilan des essais de diffusion en système fermé.	165
Tableau 2 : Paramètres caractéristiques des DTS représentés Figure 11.	171
Tableau 3 : Coefficients de partage déterminés par des essais en colonne chromatographique dans le cas d'un gel de fraction volumique 0,0276.	174
Tableau 4 : Paramètres utilisés dans les modélisations présentées Figure 16.	176
Tableau 5 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 1,08%.	182
Tableau 6 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 2,16%.	183
Tableau 7 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 2,76%.	183
Tableau 8 : Coefficients de diffusion de pullulanes dans un hydrogel d'alginate de calcium à 3%.	183
Tableau 9 : Valeurs de D expérimentales utilisées pour les calculs.	184
Tableau 10 : Résumé des modèles de diffusion basés sur la théorie de l'obstruction avec leurs applications et limitations (d'après Masaro et Zhu) [Masaro, 1999].	187
Tableau 11 : Résumé des modèles de diffusion basés sur la théorie de du volume libre avec leurs applications et limitations (d'après Masaro et Zhu) [Masaro, 1999].	192
Tableau 12 : Bilan des modèles de la littérature pour D/D_0	195
Tableau 13 : Valeurs de D_0 issues de la relation V.26.	197
Tableau 14 : Valeurs de D/D_0 utilisées dans les modélisations.	198
Tableau 15 : Association entre valeur du critère et mode de diffusion supposé pour le soluté.	201
Tableau 16 : Valeur de M_c pour Cr_2^*	201
Tableau 17 : Bilan des modélisations par la relation de Davis.	202
Tableau 18 : Bilan des modèles de type obstruction sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 1998.	204
Tableau 19 : Bilan des modèles de type obstruction sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 2001.	204
Tableau 20 : Bilan des modèles de type hydrodynamique sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 1998.	205
Tableau 21 : Bilan des modèles de type hydrodynamique sans paramètre ajustable en imposant r_f à la valeur expérimentale suggérée par Amsden en 2001.	206
Tableau 22 : Bilan des modèles de type obstruction avec paramètres ajustables.	206
Tableau 23 : Bilan des modèles de type hydrodynamique avec paramètres ajustables.	210
Tableau 24 : Bilan des modélisations des coefficients de diffusion expérimentaux.	214

Conclusion Perspectives

Ce travail de thèse a permis une étude détaillée des phénomènes de transfert diffusionnels de solutés macromoléculaires dans les gels. Afin de mener à bien cette étude, nous avons choisi un système modèle constitué d'un hydrogel d'alginate de calcium et d'une série de pullulanes de masse moléculaire comprise entre 738 et 788 000 g.mol⁻¹. Ce type d'hydrogel a permis de moduler la fraction volumique en polymère du gel sur de larges gammes avec une mise en forme aisée de particules sphériques. Les solutés appartenant à une famille d'homologues polysaccharidiques assurent des interactions nulles avec la matrice. Ils sont isomoléculaires et offrent d'importantes variations du rayon de soluté. Ainsi, une modularité du système a été possible par l'intermédiaire du rayon du soluté et de la fraction volumique en polymère dans le gel.

Caractérisation du système

La première difficulté attendue d'après la littérature et confirmée par cette étude réside dans la caractérisation du système et, plus particulièrement, du gel. Les différentes méthodes à notre disposition ne nous ont, en effet, permis qu'une caractérisation partielle des gels d'alginate de calcium. Des analyses chimiques ont été mises en œuvre de façon à caractériser l'enchaînement des motifs guluroniques et mannuroniques de l'alginate de sodium utilisé (par dichroïsme circulaire, par hydrolyse enzymatique et RMN). Les gels d'alginate de calcium ont été étudiés par rhéologie, par microscopie électronique à balayage et par mesure de leur gonflement. Des observations en microscopie optique ont permis de caractériser la taille des particules et de vérifier leur sphéricité. Cependant, l'ensemble des modèles reliant propriétés de transfert et structure requièrent l'utilisation, pour modéliser le gel, de la fraction volumique et d'un rayon de fibre ou d'un rayon de pore. Le rayon de fibres et de pores n'ont malheureusement pas pu être mesurés. Ils ont le plus souvent été ajustés. Il convient également de souligner que la fraction volumique en polymère dans le gel, présentée comme parfaitement connue dans la plupart des travaux, est estimée à partir de mesures du taux de gonflement, d'une estimation de la masse volumique du gel et du volume molaire de l'alginate sec. Par conséquent, il est, lui aussi, très certainement entaché d'erreurs dans bien des cas.

Concernant le soluté, le degré de difficulté de caractérisation a été moindre. La principale difficulté vient du fait que la distinction entre les différents rayons (hydrodynamique, de Flory, de giration) utilisables pour le caractériser n'est pas toujours très claire.

Afin d'accéder aux coefficients de diffusion de la série des pullulanes dans les gels d'alginate de calcium, des méthodologies expérimentales ont été définies par l'intermédiaire de deux types de montages : en système fermé avec dispersion de particules de gels et en colonne de laboratoire.

Système fermé : méthode par incorporation du soluté dans l'hydrogel

L'étude méthodologique théorique ayant démontré les perturbations générées par des prélèvements dans le but d'accéder à la cinétique de diffusion du soluté, une nouvelle

méthode utilisant une boucle d'analyse de volume réduit a été mise en œuvre. L'étude de l'effet de la boucle d'analyse, généralement négligé à cause de son faible volume, a été entreprise par une modélisation du système expérimental. Il a pu être démontré, que pour certaines conditions, cette boucle d'analyse induit une perturbation du signal enregistré loin d'être négligeable. Afin de généraliser ces résultats et de fournir des recommandations de travail pour l'utilisation de ce type de montage, un critère caractéristique a été défini, comme le rapport du temps de diffusion du soluté dans la bille au temps de recirculation du soluté dans la boucle d'analyse. Cette étude a finalement fourni une corrélation entre ce critère et l'erreur commise sur l'estimation des coefficients de diffusion. Il a donc été possible de définir des conditions expérimentales pour lesquelles l'erreur attendue est suffisamment faible.

Du point de vue de l'analyse des cinétiques de diffusion, une analyse de sensibilité de paramètres appliquée à la solution de Crank dans le cas d'un volume fini de solution a permis de déterminer un optimum de sensibilité à l'estimation des coefficients de diffusion. Il a, en outre, été démontré analytiquement que cet optimum est indépendant du coefficient de diffusion mais fonction des conditions opératoires (volume de solution, de gel et coefficient de partage du soluté entre la solution et le gel). Cette étude a été conduite dans le cas de la libération d'un soluté, tout comme dans le cas de son incorporation dans le gel, fournissant des conclusions similaires avec, bien entendu, des optima décalés.

Au niveau pratique, la méthode a été éprouvée avec succès par des essais de répétabilité, des comparaisons avec une méthode avec prélèvements utilisant d'autres techniques analytiques. Les recommandations et conclusions de l'analyse méthodologique ont, par conséquent été appliquées à la mesure des coefficients de diffusion des pullulanes dans des hydrogels d'alginate de calcium de fraction volumique en polymère variable.

Montage en colonne chromatographique

Ce nouveau type de montage a été notamment entrepris dans le but de développer une méthodologie d'accès aux coefficients de diffusion de macromolécules dans les gels plus rapide et mieux adaptée aux solutés de masse moléculaire importante. Les concepts de distribution de temps de séjour et de chromatographie monoconstituant ont été appliqués à notre système, avec certaines difficultés illustrées par des résultats plus ou moins concluants. Les coefficients de partage estimés par cette méthode correspondent assez bien à ceux obtenus en système fermé. De même, un traçage hydrodynamique par injection de solutions salines a permis de vérifier que le temps de transfert interne était l'étape limitante, validant ainsi la faisabilité de la méthode. Cependant, l'incertitude sur la traînée des pics d'élution n'a pas permis la mesure quantitative des coefficients de diffusion. Seule une approche qualitative, par classement des différents solutés reliant leur volume d'élution et leur masse moléculaire a été possible.

Exploitation des données diffusionnelles et structurales

Ces méthodologies appliquées au système alginate de calcium/pullulane ont permis de mesurer les coefficients de partage et de diffusion avec une bonne précision. Le faible nombre de données relatives à des solutés de taille supérieure à la dizaine de nanomètre rend la détermination même de ces données intéressantes. Il en va de même pour l'étude du cas de gels plus faibles.

L'étude de la partition a permis de déterminer des coefficients de partition supérieurs aux prévisions des modèles, dans le cas des solutés de masse moléculaire élevée et ce, notamment pour les gels les plus faibles. L'hypothèse de conformations particulières du soluté a été envisagée et une analyse de sensibilité de paramètres nous a conduit à évaluer l'effet des incertitudes sur les différents paramètres du modèle sur la qualité de prédiction. Il a enfin été possible d'établir une hiérarchie des modèles. Les modèles utilisant une vision poreuse de la matrice se sont avérés les plus efficaces bien que cette approche paraisse assez éloignée de la réalité moléculaire du gel.

Afin de décrire les tendances expérimentales issues des données de diffusion, une approche semi-empirique a été mise en œuvre, dans un premier temps. Le modèle proposé est basé sur l'établissement de deux régimes de diffusion différents : pour les très petits solutés, la diffusion n'est pratiquement pas perturbée par le réseau et pour ceux possédant des tailles conséquentes, la diffusion est supposée se réaliser par reptation. La transition de régime s'opère pour une valeur critique de la masse moléculaire du soluté fonction du couple soluté/hydrogel. Les divers modèles de la littérature ont été ensuite testés avec un nombre croissant de paramètres ajustables. Comme dans le cas de la partition, les approches de type matrice poreuse se sont avérées les plus efficaces. Cependant, malgré la revue bibliographique concernant les relations existant entre rayon de pore et fraction volumique dans le gel, les valeurs de rayons de pore restent difficiles à décrire *a priori*.

Perspectives

Enfin, ce travail a démontré qu'une méthodologie adaptée permet de déterminer les coefficients de diffusion et de partage de solutés dans les gels. Cependant, l'analyse de nos résultats fournit une série de perspectives de travail.

La principale butée de ce travail est liée à la caractérisation des gels. Une indication précise des volumes offerts à la diffusion au sein du gel apparaît, en effet, indispensable au développement de modèles prédictifs adaptés. Dans ce contexte, il est possible d'envisager l'utilisation de gels chimiques plus facilement caractérisés, à partir notamment de la connaissance du taux de réticulation.

Un nouveau champ d'investigation pourrait être la poursuite de cette étude avec des solutés rigides sphériques parfaitement assimilables à des sphères dures. De même, l'utilisation de solutés marqués par fluorescence ou d'autres types de sondes permettrait de compléter ce travail par un suivi dans l'espace de la diffusion dans le gel ou de façon à accroître notre champ d'investigation et à appliquer notre méthodologie aux systèmes mettant en œuvre des coefficients de diffusion très faibles dont les valeurs ne peuvent être mesurées avec précision à l'heure actuelle.

Cette dernière perspective est liée au développement de nouvelles méthodes analytiques. Cet axe analytique également dans les perspectives de travail lié à l'utilisation de montages de type colonne de laboratoire afin d'accroître la sensibilité d'enregistrement de la traînée notamment.

Par ailleurs, les problèmes inhérents à la mésestimation de la traînée, sont également liés au temps de manipulation, sources de dérives du signal. A ce titre, de nouveaux procédés de mise en forme de particules sphériques plus petites d'alginate permettraient d'améliorer cet aspect. Le traçage de l'hydrodynamique des colonnes remplies de billes d'alginate restant imparfait,

un traceur de la porosité externe du lit de particules serait un progrès supplémentaire. Enfin, une analyse de sensibilité de paramètres semblable à celle conduite pour le système fermé pourrait peut-être aboutir à la définition d'un optimum de sensibilité pour la détermination du coefficient de diffusion.

Concernant la modélisation des résultats expérimentaux, notre approche semi-empirique devra être testée sur d'autres systèmes afin d'un confirmer la validité. En outre, des collaborations avec des physiciens sont à envisager de façon de sorte à apporter des éléments d'amélioration aux modèles existants.

Enfin, l'utilisation de notre méthodologie à des systèmes réels ou à des fins de mise en œuvre de systèmes à libération contrôlée ouvre un large champ d'investigations.

Nomenclature

<u>Lettres latines</u>	<u>Signification</u>	<u>Unité</u>
<i>a</i>	Rayon de la bille	m
<i>A</i>	Surface d'échange	m ²
<i>C</i>	Concentration	g.L ⁻¹ ou mol.m ⁻³
<i>C*</i>	Concentration critique	g.L ⁻¹ ou mol.m ⁻³
<i>C_{gel}</i>	Concentration en soluté dans le gel	g.L ⁻¹
<i>C_{sol}</i>	Concentration en soluté dans la solution	g.L ⁻¹
<i>D</i>	Coefficient de diffusion du soluté dans le gel	m ² .s ⁻¹
<i>D₀</i>	Coefficient de diffusion du soluté à dilution infinie	m ² .s ⁻¹
<i>D*</i>	Coefficient de diffusion d'un traceur	m ² .s ⁻¹
<i>D_e</i>	Coefficient de diffusion effectif	m ² .s ⁻¹
<i>D_{in}</i>	Coefficient de diffusion entré comme paramètre dans la modélisation	m ² .s ⁻¹
<i>D_{out}</i>	Coefficient de diffusion estimé à partir des points de la cinétique modélisée	m ² .s ⁻¹
<i>e</i>	Epaisseur	m
<i>F_x</i>	Coefficient de traînée de Faxen	
<i>F</i>	Flux de matière	g.L ⁻¹ .s ⁻¹
<i>F</i>	Densité de flux de matière	mol.m ⁻² .s ⁻¹
ΔG	Energie libre	J
G'	Module élastique	Pa
G''	Module visqueux	Pa
<i>h</i>	Facteur de tortuosité	
ΔH	Enthalpie	J
J	Nombre de mélangeurs	
<i>N_A</i>	Densité de flux de matière	mol.m ⁻² .s ⁻¹
<i>f</i>	Coefficient de traînée	
<i>K_P</i>	Coefficient de partage	-
<i>l</i>	Longueur de persistance	m
<i>L</i>	Longueur de la colonne	
<i>L</i>	Longueur du chemin optique	m
<i>l_m</i>	Longueur du monomère	m
<i>m_{billes}</i>	Masse de billes	g
<i>M</i>	Quantité de matière à t	mol (ou g)
<i>M_c</i>	Masse moléculaire critique	
<i>M_∞</i>	Quantité de matière à l'équilibre	mol (ou g)
<i>M_m</i>	Masse moléculaire de l'unité monomère	g.mol ⁻¹
<i>M_n</i>	Masse moléculaire moyenne en nombre du polymère avant réticulation	g.mol ⁻¹
<i>M_w</i>	Masse moléculaire moyenne en masse	g.mol ⁻¹
<i>M/M_∞</i>	Rapport de la quantité de matière libérée/incorporée en solution à l'instant t par rapport à l'équilibre	-
<i>n</i>	Nombre de segments de la chaîne polymère	
<i>N_A</i>	Flux molaire du constituant A	

N_e	Intervalle moyen entre deux points de liaison	
N_1	Nombre de moles de soluté	
N_2	Nombre de moles de solvant	
P	Perméabilité	$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Q	Débit de recirculation dans la boucle d'analyse	$\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$
Q_{ts}	Quantité totale de soluté	mg
r_f	Rayon de fibre	m
r_F	Rayon de Flory	m
r_g	Rayon de giration	m
r_H	Rayon hydrodynamique	m
r_P	Rayon de pore	m
r_s	Rayon du soluté	m
r_w	Rayon d'une molécule d'eau	m
ΔS	Entropie	$\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$
t	Temps	s
t_e	Temps de transfert externe	s
t_i	Temps de transfert interne	s
t_m	Temps de séjour moyen dans la porosité externe	s
t_M	Temps caractéristique de transfert global	
$t_{recirculation}$	Temps de séjour dans la boucle d'analyse	s
t_∞	Temps correspondant à l'équilibre de diffusion	s
T	Température	K
u	Vitesse	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$
V	Volume des capillaires de la boucle d'analyse	mL
V_{col}	Volume de colonne	M^3
V_{gel}	Volume de gel	m^3 ou L
V_m	Volume molaire	$\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$
V_{sol}	Volume de solution	m^3 ou L
V_1	Volume molaire du solvant	$\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$
V_o/V_g	Rapport des volumes de gel avant et après gonflement	
x	Coordonnée d'espace	
x_A	Fraction molaire	-
z	Nombre de coordination	

Lettres grecques

β	Porosité interne	
χ	Paramètre d'interaction de Flory	-
χ_x^2	Résidu de modélisation	
δ	Epaisseur de la couche limite	m
ε_λ	Coefficient d'extinction molaire	
ε	Porosité externe	
Φ_P	Fraction volumique	-
Φ_P'		
$\phi_1 \phi_2$	Fraction volumique en solvant et en polymère	-
μ_0	Viscosité du solvant	Pa.s
μ_1	Moment d'ordre 1 de la distribution	s
μ_2	Moment d'ordre 2 de la distribution	s^2

θ_{im}	Fraction de liquide immobile	
θ_{im}	Fraction de liquide mobile	
ρ	Masse volumique	g.L^{-1}
σ_x	Variance de x	
τ	Paramètre caractéristique rapport du temps de diffusion du soluté dans la bille au temps de recirculation dans la boucle d'analyse	-
v	Volume spécifique du polymère	$\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$
$v_{2,r}$	Fraction volumique en polymère avant gonflement	
$v_{2,s}$	Fraction volumique en polymère après gonflement	
ξ	Taille de maille	m
ψ_λ	Ellipticité à la longueur d'onde λ	

Acronymes

DTS	Distribution des Temps de Séjour
DRI	Détecteur d'Indice de Réfraction
RPA	Réacteur Parfaitement Agité
Pi [i=0, 10]	Pullulane n°i (classification par masse moléculaire croissante)
MC	Mélangeur en cascade
MCE	Mélangeur en cascade avec échange

Constantes

k_B	Constante de Boltzman	$1,3807.10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$
R	Constante des gaz parfaits	$8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$
N_A	Nombre d'Avogadro	$6,022.10^{23}$

Rapports adimensionnels

Pe	Nombre de Peclet
Re	Nombre de Reynolds
Sc	Nombre de Schmidt
Sh	Nombre de Sherwood

Références bibliographiques

A

- [Adolphi, 1997] U. Adolphi, W.M. Kulicke, Coil dimensions and conformations of macromolecules in aqueous media from flow field fractional/multiangle laser light scattering illustrated by studies on pullulans, *Polymer*, 38 (1997) 1513-1519
- [Amsden, 1998] B. Amsden, Solute diffusion in hydrogels. An examination of the retardation effect, *Polymer Gels and Networks*, 6 (1998) 13-43
- [Amsden, 1999] B. Amsden, An obstruction-scaling model for diffusion in homogeneous hydrogels, *Macromolecules*, 32 (1999) 874-879
- [Amsden, 2001] B. Amsden, Diffusion in polyelectrolyte hydrogels: Application of an obstruction scaling model to solute diffusion in calcium alginate, *Macromolecules*, 34 (2001) 1430-1435
- [Amsden, 2002] B. Amsden, Modeling solute diffusion in aqueous polymer solutions, *Polymer*, 43 (2002) 1623-1630
- [Appert-Collin, 1999] J.C. Appert-Collin, Contribution à l'analyse des risques liés au transport d'Hydrocarbures Aromatiques Polycyclique dans les milieux poreux naturels : du système modèle à l'échantillon de sol pollué, Doctorat de l'INPL, 1999

B

- [Benhabib, 2005] K. Benhabib, Transport dans les sols de cokerie de HAP issus de particules de goudron de houille, Doctorat de l'INPL, 2005
- [Bird, 2002] R. B. Bird, W. E. Stewart, E. N. Lightfoot, *Transport phenomena*, Second Edition, Wiley and Sons, 2002
- [Bosma, 2000] J.C. Bosma, J.A. Wesselingh, Partitioning and diffusion of large molecules in fibrous structures, *Journal of Chromatography B*, 743 (2000) 169-180
- [Boudhrioua, 2003] N. Boudhrioua, C. Bonazzi, J.D. Daudin, Estimation of moisture diffusivity in gelatin-starch gels using time-dependant concentration-distance curves at constant temperature, *Food, chemistry*, 82 (2003) 139-149
- [Bouffar, 1989] Christine Bouffar-Roupe, Structure et propriétés gélifiantes des alginates, Thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier, Grenoble I (1989)
- [Brochard, 1977] F. Brochard, P. G. De Gennes, Dynamic scaling for polymers in theta solvents, *Macromolecules*, 10 (1977) 1157-1161
- [Brooks, 2000] D. E. Brooks, C. A. Haynes, D. Hritcu, B. M. Steels, W. Müller, Size exclusion chromatography does not require pores, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (2000) 7064-7067
- [Brown, 1975] W. Brown, K. Chitumbo, Solute diffusion in hydrated polymer network. Part 1. Cellulose gels, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 171 (1975) 12-21
- [Brown, 1981] W. Brown, R.M. Johnsen, Diffusion in polyacrylamide gels, *Polymer*, 22 (1981), 185-189

[Bruneton, 1993] J. Bruneton, Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition, Lavoisier Tec-doc, Paris 1993

C

[Canal, 1989] T. Canal, N.A. Peppas, Correlation between mesh size and equilibrium degree of swelling of polymeric networks, *Journal of Biomedical Materials Research* **23**, 1183-1193 (1989)

[Cannell, 1980] D. S. Cannell, F. Rondelez, Diffusion of polystyrenes through microporous membranes, *Macromolecules*, **13** (1980) 1599-1602

[Casassa, 1967] E.F. Casassa, Equilibrium distribution of flexible polymer chains between a macroscopic solution phase and small voids, *Polymer letters*, **5** (1967) 773-778

[Casassa, 1969] E.F. Casassa, Y. Tagami, An equilibrium theory for exclusion chromatography of branched and linear polymer chains, *Macromolecules*, **2** (1969), 14-26

[Castel, 2002] C. Castel, E. Favre, M. Léonard, Diffusion of macromolecules in hydrogels. Experiments, methodology and modeling, Communication, AIChE Annual meeting, Indianapolis, 2002

[Chang, 1955] P. Chang, C.R. Wilke, Some measurements of diffusion in liquids, *Journal of Physical Chemistry*, **59** (1955), 592-596

[Chaussi, 2001] B. Chausi, F. Couture, M. Roques, Modelling of multicomponent mass transport in deformable media, application to dewatering impregnation soaking process, *Drying Technology*, **15** (2001) 423-432.

[Cheng, 2002] Y. Cheng, R. K. Prud'homme, Diffusion of mesoscopic probes in aqueous polymer solutions measured by fluorescence recovery after photobleaching, *Macromolecules*, **35** (2002) 8111-8121

[Chung *et al.*, 2002] T. W. Chung, J. Yang, T. A., K. Y. Cho, J. W. Nah, S. I. Kim and C. S. Cho, Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment, *Biomaterials*, **23** (2002) 2827-2834

[Ci, 1999] S. X. Ci, T. H. Huynh, L. W. Louie, A. Yang, B. J. Beals, N. Ron, W.-G. Tsang, P. Soon-Shiong and N. P. Desai, Molecular mass distribution of sodium alginate by high-performance size-exclusion chromatography, *Journal of Chromatography A*, **864** (1999) 199-210

[Cifra, 2005] P. Cifra, T. Bleha, Simulation of sieving characteristics of macromolecules in porous membranes at high concentration, *Macromolecules*, (2005)

[Cohen, 1959] M.H. Cohen, D. Turnbull, Molecular transport in liquids and glasses, *Journal of Chemical Physics*, **31** (1959), 1164

[Crank, 1975] J. Crank, *The mathematics of diffusion*, Second Edition, Oxford science publications, Clarendon Press, 1975

[Cukier, 1984] R.I. Cukier, Diffusion of Brownian spheres in semidilute polymer solutions, *Macromolecules*, **17** (1984) 252-255

[Cussler, 1984] E. L. Cussler, *Diffusion, Mass transfer in fluid systems*, Cambridge University Press, 1984

D

- [Danckwerts, 1953] P. V. Danckwerts, Continuous flow systems Distribution of residence times, *Chemical Engineering Science*, 2 (1953) 1-13
- [Daoud, 1977] M. Daoud, P.G. De Gennes, Statistics of macromolecular solutions trapped in small pores, *Le Journal de Physique*, 38 (1977) 85-93
- [Daoudi, 1978] S. Daoudi, F. Brochard, Flows of flexible polymer solutions in pores, *Macromolecules*, 4 (1978) 751-758
- [Davis, 1974] B.K. Davis, Diffusion in polymer gel implants, *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 71 (1974), 3120-3123
- [De Gennes, 1979] P.G. De Gennes, Brownian motions of flexible polymer chains, *Nature*, 282 (1979) 367-370
- [De Gennes, 1979^[b]] P.-G. De Gennes, *Scaling concepts in polymer physics*, Cornell University Press, 1979
- [Dinh, 1992] S. M. Dinh, B. Berner, Y.-M. Sun, P. I. Lee, Sorption and transport of ethanol and water in poly(ethylene-co-vinyl acetate) membranes, *Journal of Membrane Science*, 69 (2002) 223-234
- [Draget, 1997] K. I. Draget, G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød, Alginate based new materials, *International Journal of Biological Macromolecules*, 21 (1997) 47-55
- [Draget, 2000] K.I. Draget, G.O. Phillips, P.A. Williams, *Handbook of hydrocolloids*, CRC Press, 2000
- [Drury, 2003] J. L. Drury and D. J. Mooney, Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications, *Biomaterials*, 24 (2003) 4337-4351
- [Dubin, 1993] P. L. Dubin, S. L. Edwards, M. S. Mehta, Quantitation of non-ideal behavior in protein size-exclusion chromatography, *Journal of chromatography*, 635 (1993) 51-60

E

- [Ertesvåg, 1998] H. Ertesvåg, S. Valla, Biosynthesis and applications of alginates, *Polymer degradation and stability*, 59 (1998) 85-91
- [Even, 2001] P. Even, F. Chaubet, C. Frochot, D. Letourneur, M.-L. Viriot, M.-C. Carre, Dérivés du dextrane fluorescents, *Chem. Bull. « Politechnica » Univ. (Timișoara)*, 46 (2001)103-106

F

- [Favre, 2001] E. Favre, M. Léonard, A. Laurent, E. Dellacherie, Diffusion of polyethyleneglycols in calcium alginate hydrogels, *Colloids and Surfaces*, 194 (2001) 197-206
- [Favre, 2002] E. Favre, Phénomènes de transport et transferts dans les milieux multiconstituants, Polycopié de cours de 3^{ème} année (2002), ENSIC

- [Faridi, 1994] Faridi N., Hadj-Romdhane I., Danner R. P., Duda J. L., 1994, Diffusion and sorption in ethylene-propylene copolymers: comparison of experimental methods, *Ing. Eng. Chem. Res.*, 33, 1483-2491
- [Fischer, 1955] F.G. Fischer, H. Dorfel, Die Polyuronsauren der Braunalgalgen, *Z. Physiol. Chem.*, 302 (1955) 186-203
- [Flory, 1943] P.J. Flory, R. Rehner, Statistical mechanics of crosslinked polymer networks. II. Swelling, *Journal of Chemical Physics* 11, (1943) 521-526
- [Flory, 1953] P. J. Flory, Principles of polymer chemistry, Cornell University Press, Ithaca, New York, 1953
- [Foss, 2004] A.C. Foss, T. Goto, M. Morishita and N.A. Peppas, Development of Acrylic-Based Copolymers for Oral Insulin Delivery, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57 (2004) 163-169
- [Fujita, 1961] H. Fujita, *Advances in Polymer Science*, 3 (1961)

G

- [Giddings, 1968] J.C. Giddings, E. Kucera, C.P. Russell, M.N. Myers, Statistical theory for the equilibrium distribution of rigid molecules in inert porous network. Exclusion chromatography, *J. Phys. Chem.*, 72 (1968) 4397-4408
- [Giddings, 1991] J.C. Giddings *Unified Separation Science*, Wiley Interscience Publication, p32, Année
- [Gombotz, 1998] W.R. Gombotz, S.F. Wee, Protein release from alginate matrices, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31 (1998) 267-285
- [Grant, 1973] T. Grant, R. Morris, D.A. Rees, P.J. Smith, D. Thom, Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model, *FEBS LETTERS*, 32 (1973) 195-198
- [Grasdalen., 1979] H. Grasdalen, B. Larsen, O. Smidsrød, *Carbohydrate Research*, 68, (1979), 23-31

H

- [Haggerty, 1988] L. Haggerty, J. H. Sugarman, R. K. Prud'homme, Diffusion of polymers through polyacrylamide gels, *Polymer*, 29 (1988), 1058-1063
- [Hannoun, 1986] B. J.M. Hannoun, G. Stephanopoulos, Diffusion coefficient of glucose and ethanol in cell-free and cell-occupied calcium alginate membranes, *Biotechnology and Bioengineering*, 28 (1986) 829-835
- [Harland, 1993] R.S. Harland, N.A. Peppas, On the accurate experimental determination of drug diffusion coefficients in polymer, *S.T.P. Pharma Science* 3, 5 (1993) 357-361
- [Hennink, 1996] W.E.Hennink, H. Talsma, J.C.H. Borchert, S.C. De Smedt, J. Demeester, Controlled release of proteins from dextran hydrogels, *Journal of Controlled Release*, 39 (1996), 47-55
- [Hermsen, 2002] G.F. Hermsen, B.A. de Greeter, N.F.A. van der Vegt, M. Wessling, Monte Carlo simulation of partially confined flexible polymers, *Macromolecules*, 35 (2002), 5267-5272

- [Hussain, 1991] S. Hussain, M. S. Mehta, J. I. Kaplan, P. L. Dubin, Experimental evaluation of conflicting models for size exclusion chromatography, *Analytical Chemistry*, 63 (1991) 1132-1138

I

- [Itamunoala, 1987] G.F. Itamunoala, Limitations of methods of determining effective diffusion coefficients in cell immobilization matrices, *Biotechnology and Bioengineering*, 31 (1988), 714-717

J

- [Johansson, 1991^[a]] L. Johansson, U. Skantze, J.-E. Löfroth, *Macromolecules*, 24 (1991)
- [Johansson, 1991^[b]] L. Johansson, C. Elvingson, J.-E. Löfroth, Diffusion and interaction in gels and solutions. 3. Theoretical results on the obstruction effect, *Macromolecules*, 24 (1991) 6024-6029
- [Johansson., 1993] L. Johansson, J.-E. Löfroth, Diffusion and interaction in gels solutions. 4. Hard spheres Brownian dynamics simulations, *Journal of Chemical Physics*, 9 (1998), 7471-7479
- [Johnson, 1996] E. M. Johnson, D. A. Berk, Rakesh K. Jain and William M. Deen, Hindered diffusion in agarose gels: test of effective medium model, *Biophysical Journal*, 70 (1996) 1017-1026
- [Jonhston, 1999] S. T. Jonhston, W. M. Deen, Hindered convection of proteins in agarose gels, *Journal of Membrane Science*, 153 (1999) 271-279

K

- [Kato, 1984] T. Kato, T. Katsuki, A. Takahashi, Static and dynamic solution properties of pullulan in a dilute solution, *Macromolecules*, 17 (1984) 1726-1730
- [Kosar, 1995] T.F. Kosar, R.J. Phillips, Measurements of protein diffusion in dextran solutions by holographic interferometry, *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 41 (1995), 701-711
- [Kosto, 2004] K. B. Kosto, S. Panuganti, W.M. Deen, Equilibrium partitioning of Ficoll in composite gels, *Journal of Colloid and Interface Science* 277 (2004) 404-409
- [Krajewska, 1996] B. Krajewska, A. Olech, Pore structure of gel chitosan membranes. I. Solute diffusion measurements, *Polymer Gels and Networks*, 4 (1996) 33-43

L

- [Lazaridou, 2003] A. Lazaridou, C. G. Biliaderis, V. Kontogiorgos, Molecular weight effects on solution rheology of pullulan and mechanical properties of its films, *Carbohydrate Polymers*, 52 (2003) 151-166
- [Lazzara, 2000] M.J. Lazzara, D. Blankschtein, W.M. Deen, Effects of multisolute steric interactions on membrane partition coefficients, *Journal of Colloid and Interface Science*, 226 (2000), 112-122
- [Lazzara, 2004] M.J. Lazzara, W.M. Deen, Effects of concentration on the partitioning of macromolecules mixtures in agarose gels, *Journal of Colloid and Interface Science*, 272 (2004), 288-297

- [Leseq, 1994] J. Leseq, Techniques de l'Ingénieur, Traité Analyse et Caractérisation, P 1 465, 1994
- [Lewus, 1999] R. K. Lewus, G. Carta, Protein diffusion in charged polyacrylamide gels Visualisation and analysis, Journal of Chromatography A, 865 (1999) 155-168
- [Leyendekkers, 1977] J.V.Leyendekkers, R. J. Hunter, Refractive index of aqueous electrolyte solutions. Extrapolations to others temperatures, pressures, and wavelengths and to multicomponent systems, Journal of Chemical and Engineering Data, 22 (1977) 427-431
- [Liu, 1999^[a]] L. Liu, P. Li, S.A. Asher, Entropic trapping of macromolecules by mesoscopic periodic voids in a polymer hydrogel, Nature, 397 (1999) 141-144
- [Liu, 1999^[b]] L. Liu, P. Li, S.A. Asher, Crystalline Colloidal Array of Water Voids in Hydrogels: Direct Evidence for Entropic Trapping of Flexible Polymers, Journal of American Chemical Society, 121 (1999) 4040 – 4046
- [Lustig, 1988] S.R. Lustig, N.A. Peppas, Solute diffusion in swollen membranes. IX. Scalling laws for solute diffusion in gels, Journal of Applied Polymer Science, 36 (1988), 735-747

M

- [Martinsen, 1987] A. Martinsen, G. Skjak-Braek, O. Smidsrod, Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads, Biotechnology and Bioengineering, 33 (1987) 79-89
- [Martinsen, 1992] Martinsen A, Storro I, Skjak-Braek G (1992) Alginate as immobilization material : III. Diffusional properties. Biotechnology and Bioengineering 39 (1992) 186-194
- [Masaro, 1999] L. Masaro, X.X. Zhu, Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids, Progress in Polymer Science, 24 (1999), 731-775
- [Morris., 1980]. E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, Characterization of alginate composition and block structure by circular dichroism, Carbohydrate Research, 81 (1980) 305-314
- [Moussaoui, 1992] M. Moussaoui, M. Benlyas, P. Wahl, Diffusion of proteins in Sepharose C1-B gels, Journal of Chromatography, 591 (1992) 115-120
- [Moussaoui, 1990] M. Moussaoui, Etude de la diffusion des macromolécules fluorescentes dans les gels de chromatographie d'exclusion, doctorat de l'université d'Orléans, spécialité biophysique moléculaire
- [Muhr, 1982] A.H. Muhr, J.M.V. Blanshard, Diffusion in gels, Polymer, 23 (1982) 1012-1026
- [Muroga., 1987] Muroda, Yamada, Noda, Nagasawa, Local conformation of polysaccharides in solution investigated by small-angle x-ray scattering, Macromolecules, 20 (1987) 3003-3006
- [Muhr, 1982] A.H. Muhr, J.M.V. Blanshard, Diffusion in gels, Polymer, 23 (1982) 1012-1026

N

- [Neiser, 1999] S. Neiser, K.I. Draget, O. Smidsrød, Interactions in bovine serum albumin-calcium alginate gel systems, Food Hydrocolloids 13 (1999) 445-458.

- [Nilsson, 1992] S. Nilsson, A thermodynamic analysis of calcium alginate gel formation in the presence of inert electrolyte, *Biopolymers*, 32 (1992)1311-1315

O

- [Ogston, 1958] A.G. Ogston, 1958, The spaces in a uniform random suspension of fibres, *Transactions Faraday Society*, 54 (1958) 1754-1757
- [Ogston, 1973] A.G. Ogston, B.N. Preston, J.D. Wells, On the transport of compact particles through solution of chain polymers, *Proceedings of the Royal Society of London, Series A*, 333 (1958) 297-316
- [Osada, 2001] Y. Osada, K. Kajiwara, T. Fushimi, *Handbook of gels 1. The Fundamentals*, Academic Press, 2001
- [Ouvrard, 2001] S. Ouvrard, Couplage matériau/procédé d'adsorption pour l'élimination sélective d'arsenic présent en traces dans les eaux, Doctorat de l'INPL, 2001

P

- [Pappenheimer, 1951] J.R. Pappenheimer, E.M Renkin, L.M. Borrero, Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes, A contribution to the pore theory of capillary permeability, *American Journal of Physiology*, 67 (1951), 13-46
- [Park., 1990] H. Park, C. S. Jonhson, D. A. Gabriel, Probe diffusion in polyacrylamide gels as observed by means of holographic relaxation methods: search for a universal equation, *Macromolecules*, 23 (1990), 1548-1553
- [Patrick, 1934] W.A. Patrick, B.W. Allan, The diffusion of electrolytes in silica gel, *Journal of Physical Chemistry*, 38 (1934) 771-778
- [Peppas, 1976] N.A. Peppas et E.W. Merrill, Poly(vinyl alcohol) hydrogels : reinforcement of radiation-crosslinked networks by cristallization, *Journal of Polymer Science, Part A Polymer Chemistry*, 14 (1976) 441-457
- [Peppas, 1983] N.A. Peppas, C.T. Reinhart, Solute diffusion in swollen membranes. Part I. A new theory, *Journal of Membrane Science*, 15 (1983), 275-287
- [Peppas, 1986] N.A. Peppas , *Hydrogels in Medicine and Pharmacy, volume 1 Fundamentals* (1986) 29-33, CRC Press.
- [Peppas, 1993] N.A. Peppas, A.K. Khare, Preparation, structure and diffusionnal behavior of hydrogels in controlled release, *Advanced drug Delivery Reviews*, 11 (1993) 1-35
- [Perry, 1998] Robert H. Perry, Don W. Green, *Perry's chemical engineers' handbook*, Seventh Edition, Mac Graw Hill International Editions, 16-20/16-21, 1998
- [Petersen, 1991] J.N. Petersen, B.H. Davison, C.D. Scott, Minimizing the errors associated with the determination of effective diffusion coefficients when using spherical cell immobilization matrices, *Biotechnology and Bioengineering*, 37 (1991), 386-388
- [Petit, 1996] J.M. Petit, X.X. Zhu, P.M. Macdonald, Solute probe diffusion in aqueous solution of poly(vinylalcohol) as studied by pulsed-gradient spin-echo NMR spectroscopy, *Macromolecules*, 29 (1996) 70-76
- [Papon, 2001] P. Papon, *La matière dans tous ses états*, Fayard, Le temps des Sciences, p155, 2001
- [Poitevin, 1998] E.Poitevin, P. Wahl, Study of translational diffusion of macromolecules in beads o gel chromaography by the FRAP method, *Biophysical Chemistry*, 31 (1998) 247-258

R

- [Rastello, 2002] M. Rastello de Boissesson, Microparticules d'alginate associatifs: élaboration, caractérisation et encapsulation de molécules actives, Thèse INPL, 2002.
- [Rastello, 2004] M. Rastello De Boissesson, M. Léonard, P. Hubert, P. Marchal, A. Stequert, C. Castel, E. Favre, E. Dellacherie, Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability, *Journal of Colloid and Interface Science*, 273 (2004) 131-139
- [Reinhart, 1984] C. T. Reinhart, N. A. Peppas, Solute diffusion in swollen membranes. Part II. Influence of crosslinking on diffusive properties, *Journal of Membrane Science*, 18 (1984) 227-239
- [Renkin, 1954] E.M. Renkin, Filtration, diffusion and molecular sieving through porous cellulose membranes, *The Journal of General Physiology*, 38 (1954) 225-243
- [Renneberg, 1988] R. Renneberg, K. Sonomoto, S. Katoh, A. Tanaka, Oxygen diffusivity of synthetic gels derived from prepolymers, *Applied Microbiology Biotechnology*, 28 (1988) 1-7
- [Ruiz-Beviá, 1989] F. Ruiz-Beviá, J. Fernández-Sempere, J. Colom-Valiente, Diffusivity measurement in calcium alginate gel by holographic interferometry, *AIChE Journal*, 35 (1989) 1895-1898

S

- [Sardin, 1991] M. Sardin, D. Schweich, F. Leij, M.T. Van Genuchten, Modeling the nonequilibrium transport of linearly interacting solute in porous media: a review, *Water Resource Research*, 27 (1991) 2287-2307
- [Saude, 2002] N. Saude, H. Chèze-Lange, D. Beunard, P. Dhulster, D. Guillochon, A.-M. Cazé, M. Morcellet, G.-A. Junter, Alginate production by *Azotobacter vinelandii* in a membrane bioreactor, *Process Biochemistry*, 38 (2002) 273-278
- [Schatz, 2003] C. Schatz, C. Pichot, T. Delair, C. Viton, A. Domard, Static Light Scattering Studies on Chitosan Solutions: From Macromolecular Chains to Colloidal Dispersions, *Langmuir*, 19 (2003) 9896-9903
- [Science et Vie] La matière étrange, Hors série n°228
- [Selim, 2000] K. Selim, M. Tsimidou, C. G. Biliaderis, Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices, *Food Chemistry*, 71 (2000) 199-206
- [Shapiro et Cohen, 1997] L. Shapiro and S. Cohen, Novel alginate sponges for cell culture and transplantation, *Biomaterials*, 18 (1997) 583-590
- [Spalding, 1973] G. E. Spalding, A sensitive method for measuring diffusion coefficients in agarose gels of electrolytes solutions, *The Journal of Physical Chemistry*, 73 (1969) 3380-3383
- [Stefansson, 1999] M. Stefansson, Assessment of Alginic Acid Molecular Weight and Chemical Composition through Capillary Electrophoresis, *Analytical Chemistry*, 71 (1999) 2373-2378
- [Stilbs, 1987] P. Stilbs, 1987, Fourier transform pulsed-gradient spin-echo studies of molecular diffusion, *Progress in NMR Spectroscopy*, 19 (1987) 1-45

T

- [Tevisse, 1993] E. Tevisse, Méthodologie d'étude et modélisation du transport de solutes en milieux poreux naturels. Application à la migration du chrome dans la nappe alluviale du Drac (Isère), Doctorat de l'INPL, 1993
- [Thu, 1997] B. Thu, G. Skjåk-Braek, F. Micali, F. Vittur and R. Rizzo, The spatial distribution of calcium in alginate gel beads analysed by synchrotron-radiation induced X-ray emission (SRIXE), *Carbohydrate Research*, 297 (1997) 101-105

V

- [van Beinum, 1999] W. van Beinum, J.C.L. Meeussen, A.C. Edwards, W.H. van Riemsdijk, Transport of ions in physically heterogeneous systems, convection and diffusion in a column filled with alginate gel beads by a two region model,
- [Villermaux, 1993] J. Villermaux, Génie de la réaction chimique, conception et fonctionnement des réacteurs, 2^{ème} Edition, Lavoisier Tec et Doc, 1993

W

- [Wakao, 1978] N. Wakao and T. Funazkri, Effect of fluid dispersion coefficients on particle-to-fluid mass transfer coefficients in packed beds Correlation of Sherwood numbers, *Chemical Engineering Science*, 33 (1978) 1375-1384
- [Walkenström, 2003] P. Walkerström, S. Kidman, A.-M. Hermansson, P. B. Rasmussen, L. Hoegh, Microstructure and rheological behaviour of alginate/pectin mixed gels, *Food Hydrocolloids*, 17 (2003) 593-603
- [Wang, 2001] S. Wang, J. A. P. P. van Dijk, T. Odijk, J. A. M. Smit, Depletion-induced demixing in aqueous protein-polysaccharide solutions, *Biomacromolecules*, 2 (2001) 1080-1088
- [Westrin, 1991] B.A. Westrin, G. Zacchi, Measurement of diffusion coefficients in gel beads: random and systematic errors, *Chemical Engineering Science*, 46 (1991) 1911-1916
- [Westrin, 1994] B.A. Westrin, A. Axelsson, G. Zacchi, Diffusion measurements in gels, *Journal of Controlled Release*, 30 (1994) 189-199
- [White, 1961] M. L. White, G. H. Dorion, Diffusion in a crosslinked acrylamide polymer gel, *Journal of Polymer Science*, 55 (1961), 731-740
- [White, 2000] J. A. White, W. M. Deen, Equilibrium partitioning of flexible macromolecules in fibrous membranes and gels, *Macromolecules*, 33 (2000), 8504-8511
- [Wilke, 1955] C.R. Wilke, P. Chang, Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions, *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 1 (1955) 264-270
- [Williams, 1998] J. C. Williams, Jr., L. A. Mark, S. Eichholtz, Partition and permeation of dextran in polyacrylamide gel, *Biophysical Journal*, 75 (1998) 493-502
- [Wilson, 1966] E. J. Wilson, C. J. Geankoplis, Liquid Mass Transfer at Very Low Reynolds Numbers in Packed Beds, *Ind. Chem. Fundam.*, 5 (1966) 9-14

Y

[Yasuda, 1968]

H. Yasuda, C.E. Lamaze, L.D. Ikenberry, Permeability of solutes through hydrated polymer membranes. Part I. Diffusion of sodium chloride, *Die Makromolekulare Chemie*, 118 (1968), 19-35

ANNEXES

Annexe II.1: Méthodes analytiques : Généralités sur la diffusion de la lumière multiangle.....	246
Annexe II.2: Méthodes analytiques : Généralités sur le dichroïsme circulaire.....	248
Annexe IV.1 : Calcul de l'erreur relative sur le coefficient de partage.....	249
Annexe IV.2 : Calcul de la différentielle de K_p (relation de White et Deen, 2000) par rapport à n.	251
Annexe IV.3 : Données fournisseur concernant l'utilisation des pullulanes.	252
Annexe V.1 : Protocole expérimental détaillé pour la méthode de chargement de billes dispersées dans un batch.....	253
Annexe V.2 : Exemples de cinétiques de diffusion expérimentales pour quatre types de gels d'alginate de calcium.	257
Annexe V.3 : Exemples de modélisations de cinétiques de diffusion expérimentales....	259

Annexe II.1: Méthodes analytiques : Généralités sur la diffusion de la lumière multiangle

L'application et la formalisation de la théorie de la diffusion de la lumière découlent, en grande partie, des travaux de Zimm et Debye qui se sont largement développés avec l'utilisation des sources laser.

L'expression de l'intensité de la lumière diffusée à un angle donné par une solution de polymère est donnée par l'équation :

$$\frac{KC}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} + 2A_2C + \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \frac{r_g}{M_w} \sin^2 \frac{\theta}{2} \quad (1)$$

avec :

$$K = \frac{4\pi n^2}{\lambda N_A} \frac{dn}{dC} \quad (2)$$

où C est la concentration en polymère en solution,

A_2 est le deuxième coefficient du viriel,

λ est la longueur d'onde incidente,

r_g est le rayon de giration,

θ est l'angle de mesure par rapport au rayon incident,

N_A est le nombre d'Avogadro,

n est l'indice de réfraction de l'éluant,

dn/dC est la variation de l'indice de réfraction avec la concentration en polymère.

Le rapport de Rayleigh ΔR_θ est déterminé par un photodiffusiomètre par mesure du rapport entre l'intensité de la lumière diffusée dans le volume V , notée I_θ et mesurée à la distance r et l'intensité de la lumière incidente I_0 :

$$\Delta R_\theta = \frac{I_\theta}{I_0} \frac{r^2}{V} \quad (3)$$

En extrapolant à angle nul et concentration nulle l'équation 1, selon la méthode graphique de Zimm, il est possible de déterminer le rapport $1/M_w$ et le rayon de giration r_g dans le cas d'un

échantillon monomoléculaire. Le tracé de $\frac{KC}{R_\theta}$ en fonction de $\sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)$ permet d'obtenir un

diagramme de Zimm. Par extrapolation à $\theta = 0$ de ce diagramme, il est possible de déterminer

M_w en prenant l'ordonnée à l'origine de la droite $\frac{KC}{\Delta R_\theta} = f(C)$. En extrapolant à concentration

nulle, la pente de la droite $\frac{KC}{\Delta R_\theta} = f\left(\sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)\right)$ permet de calculer le rayon de giration r_g .

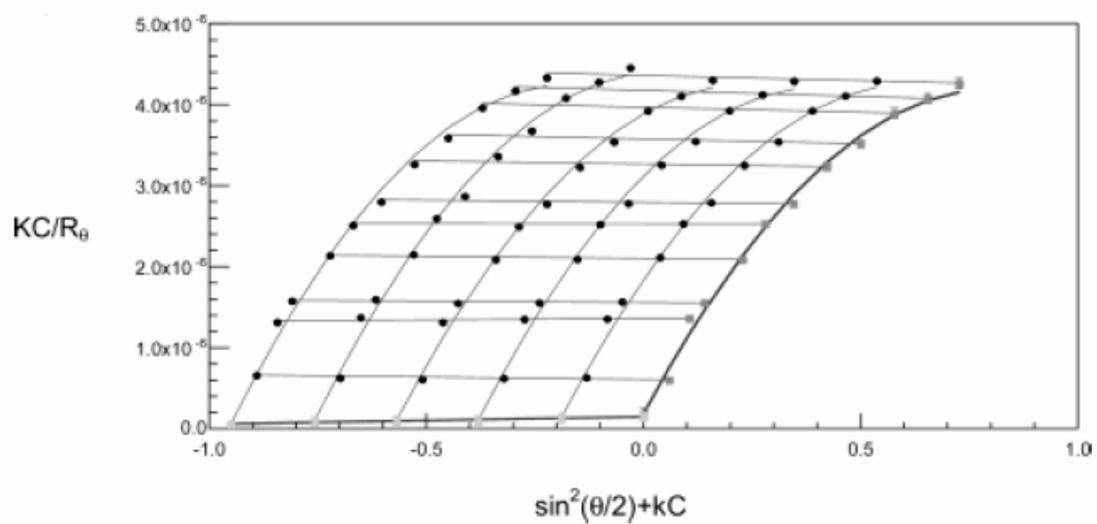


Figure 172 : Exemple de diagramme de Zimm pour un chitosane de degré d'acétylation 1% dans NaCl ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à pH 6,15 [Schatz *et al.*, 2003].

Annexe II.2: Méthodes analytiques : Généralités sur le dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire est une méthode d'analyse spectrophotométrique qui combine le phénomène de polarimétrie et celui de l'adsorption de la lumière par la matière permettant la visualisation de la dissymétrie d'une molécule en solution.

Une onde lumineuse monochromatique à polarisation rectiligne est la résultante d'une onde lumineuse à polarisation circulaire droite et d'une onde lumineuse à polarisation circulaire gauche. Lorsqu'un milieu est optiquement actif, son indice de réfraction est différent suivant qu'il est traversé par des lumières polarisées droite et gauche (n_D et n_G). En d'autres termes, dans un tel milieu optiquement actif, le rayon circulairement polarisé à droite se déplace à une vitesse différente de celui polarisé à gauche, étant donné que l'indice de réfraction traduit la vitesse de la lumière dans un milieu. Ce phénomène, appelé biréfringence circulaire est utilisé en dichroïsme circulaire où la solution contenant la molécule à étudier est éclairée par une lumière polarisée.

Le dichroïsme circulaire utilise également une caractéristique des molécules dissymétriques, optiquement actives : leur absorption différente des deux composantes droite et gauche du faisceau lumineux. En spectrophotométrie UV classique, les substances sont caractérisées en fonction des longueurs d'onde et, pour une longueur d'onde donnée, il est possible de calculer un coefficient d'absorption moléculaire. Pour le dichroïsme circulaire, le principe est le même. Mais, ce sont deux coefficients qui peuvent être calculés pour chaque longueur d'onde (E_g pour la lumière polarisée gauche et E_d pour la lumière polarisée droite). Ces deux valeurs sont très proches et c'est la différence $\Delta E = E_g - E_d$ qui est une grandeur caractéristique.

La résultante de ces deux phénomènes de biréfringence circulaire et d'absorption différente conduit à un faisceau émergeant non plus polarisé circulairement mais elliptiquement pour lequel l'ellipticité peut être définie par l'équation :

$$\Psi_\lambda \approx 3,3 \cdot 10^3 \times (\varepsilon_{\lambda D} - \varepsilon_{\lambda G}) \times C \times L \quad (4)$$

Où :

Ψ_λ est l'ellipticité à la longueur d'onde λ ;

$\varepsilon_{\lambda D}$ et $\varepsilon_{\lambda G}$ sont les coefficients d'extinction moléculaire pour les lumières polarisées droite et gauche à la longueur d'onde λ ;

C est la concentration ;

L est la longueur du chemin optique.

Le dichroïsme circulaire peut être utilisé pour caractériser la structure chimique de l'alginate. En effet, les trois types de blocs présents ont des spectres dichroïques différents : le spectre du poly L-guluronate est entièrement négatif, celui du poly D-mannuronate est positif et celui des zones alternées est intermédiaire mais non équivalent à celui d'un mélange équimolaire des deux types de blocs précédents. Ainsi, en analysant systématiquement les spectres dichroïques de poly D-mannuronate (poly M), de poly L-guluronate (poly G) et de polymère alterné (poly M-G), Morris et *al.* ont proposé une méthode permettant d'interpréter les spectres des alginates en terme de composition M/G, méthode que nous utiliserons pour caractériser notre alginate.

Annexe IV.1 : Calcul de l'erreur relative sur le coefficient de partage

Par définition, le coefficient de partage peut s'exprimer en fonction du volume des phases gel et solution (V_{sol} et V_{gel}), de la concentration en solution à l'équilibre et de la masse initiale du soluté ($C_0 \cdot V_{sol}$) :

$$K_P = \frac{C_0 \cdot V_{sol} - C_{sol, \acute{e}qu.} \cdot V_{sol}}{C_{sol, \acute{e}qu.} \cdot V_{gel}} \quad (1)$$

L'estimation de ce paramètre est entachée d'une erreur expérimentale liée aux incertitudes sur la mesure des différentes variables permettant son calcul. Il y a donc cumul des erreurs au cours de l'essai et l'erreur résultante peut être calculée par la théorie de propagation des erreurs.

Dans cette théorie, la variance d'une grandeur A dépendant des variables x_i s'exprime en fonction des variances respectives des grandeurs x_i selon l'équation :

$$\sigma_A^2 = \sum_i \left(\frac{\partial A}{\partial x_i} \right)^2 \sigma_i^2 + 2 \sum_i \sum_j \frac{\partial A}{\partial x_i} \frac{\partial A}{\partial x_j} \sigma_{ij} \quad (2)$$

avec σ_i^2 , la variance de x_i ;

σ_{ij} , la covariance des variables x_i et x_j ;

$\frac{\partial A}{\partial x_i}$, la dérivée partielle de A par rapport à x_i .

Si on considère que la grandeur A est obtenue par une suite de mesures indépendantes, les covariances, traduisant le degré de corrélation entre ces mesures, sont nulles et l'équation se réduit au premier terme.

Dans le cas du coefficient de partage, les dérivées partielles par rapport à $C_{solution, \acute{e}qu.}$, à $V_{solution}$, à V_{gel} et à m_i sont calculées :

$$\frac{\partial K_P}{\partial C_{sol, \acute{e}qu.}} = - \frac{C_0 \cdot V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}^2} \quad (3)$$

$$\frac{\partial K_P}{\partial V_{gel}} = - \frac{1}{V_{gel}^2} \left(\frac{C_0 \cdot V_{sol}}{C_{sol, \acute{e}qu.}} - V_{sol} \right) \quad (4)$$

$$\frac{\partial K_P}{\partial V_{sol}} = - \frac{C_0 - C_{sol, \acute{e}qu.}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \quad (5)$$

$$\frac{\partial K_P}{\partial C_0} = \frac{V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \quad (6)$$

$$\sigma_{K_P} = \sqrt{\left(\frac{C_0 \cdot V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{C_{sol, \acute{e}qu.}}^2 + \left(\frac{V_{sol}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{C_0}^2 + \left(\frac{C_0 - C_{sol, \acute{e}qu.}}{V_{gel} \cdot C_{sol, \acute{e}qu.}} \right)^2 \sigma_{V_{sol}}^2 + \left(\frac{V_{sol} \cdot (C_0 - C_{sol, \acute{e}qu.})}{C_{sol, \acute{e}qu.} \cdot V_{gel}^2} \right)^2 \sigma_{V_{gel}}^2} \quad (7)$$

Une application numérique après estimation des variances relatives aux différents paramètres permet de choisir les conditions expérimentales optimales pour minimiser les erreurs expérimentales.

$\sigma_{C_{sol, \acute{e}qu.}} = \sigma_{C_0} = 0,02 \text{ g.L}^{-1}$	$V_{gel} = V_{solution} = 3,75 \text{ mL}$	$V_{gel} = 1 \text{ mL et } V_{solution} = 3,75 \text{ mL}$		
$\sigma_{V_{gel}} = \sigma_{V_{sol}} = 0,01 \text{ mL}$	$m_i = 3,75 \text{ mg}$	$m_i = 3,75 \text{ mg}$		
K_P	σ_{K_P}	$\sigma_{K_P} / K_P \text{ (%)}$	σ_{K_P}	$\sigma_{K_P} / K_P \text{ (%)}$
1,00	0,09	8,95	0,15	15,40
0,82	0,08	9,23	0,14	17,57
0,54	0,06	10,49	0,13	24,37
0,32	0,04	13,78	0,12	37,05
0,14	0,03	25,24	0,11	82,62

Figure 173 : Calcul de la variance de K_P pour des proportions différentes de phase gel et solution.

Ces calculs illustrent bien que l'erreur est minimale pour des conditions avec un volume maximal de gel. Nous utiliserons donc 3,75 mL de solution pour 3 mL de billes.

Annexe IV.2 : Calcul de la différentielle de K_P (relation de White et Deen, 2000) par rapport à n

La différentielle à calculer est :

$$\frac{\partial K_P}{\partial n} = \left[\frac{\partial}{\partial n} \left(- (1 + \pi^a \lambda^b) \Phi_P \right) \right] \cdot \left(\exp \left(- (1 + \pi^a \lambda^b) \Phi_P \right) \right).$$

Notons A , le premier facteur de cette différentielle :

$$\frac{\partial K_P}{\partial n} = \left[\frac{\partial}{\partial n} A \right] \cdot \left(\exp \left(- (1 + \pi^a \lambda^b) \Phi_P \right) \right)$$

$$\frac{\partial A}{\partial n} = -\Phi_P \left[\lambda^b \frac{\partial}{\partial n} \left(\exp(a \ln(\pi)) \right) + \pi^a \frac{\partial}{\partial n} \left(\exp(b \ln(\pi)) \right) \right];$$

et,

$$\frac{\partial A}{\partial n} = -\Phi_P \left[\lambda^b \pi^a \ln(\pi) \frac{\partial a}{\partial n} + \pi^a \lambda^b \left(\ln(\lambda) \frac{\partial b}{\partial n} + \frac{b}{\lambda} \frac{\partial \lambda}{\partial n} \right) \right].$$

Calculons les différents éléments de cette différentielle :

$$\frac{\partial a}{\partial n} = \frac{\partial}{\partial n} \left(1 - \frac{1}{4} \exp \left(- \frac{n-2}{4} \right) \right) = \frac{1}{4} \exp \left(- \frac{n-2}{4} \right);$$

$$\frac{\partial b}{\partial n} = \frac{\partial}{\partial n} \left(\frac{3}{2} - \frac{1}{2} \exp \left(- \frac{\sqrt{n-2}}{8} \right) \right) = \frac{1}{32\sqrt{n-2}} \exp \left(- \frac{\sqrt{n-2}}{8} \right);$$

et

$$\frac{\partial \lambda}{\partial n} = \frac{\partial}{\partial n} \left(\frac{l}{r_f} \sqrt{\frac{n^2-1}{6n}} \right) = \frac{l}{r_f} \frac{n^2+1}{6n^2}.$$

En combinant ces relations, on déduit l'expression de la différentielle de K_P par rapport à n .

Annexe IV.3 : Données fournisseur concernant l'utilisation des pullulanes

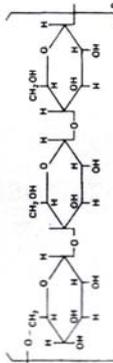
PL Polysaccharide Standards

Batch No.	SAC-10/5	
	Mw	Mw/Mn
20908-3	785,000	1.23
20907-2	404,000	1.13
20906-2	212,000	1.13
20905-2	112,000	1.12
20904-2	47,300	1.06
20903-2	22,800	1.07
20902-2	11,800	1.10
20901-2	5,900	1.09
20910-1	738	1.00
20909-1	180	1.00

Introduction

Polysaccharide standards are widely used for calibration in Gel Permeation Chromatography (GPC) employing either water based eluents or polar organic solvents. They are soluble in pure water and in aqueous based salt/buffer solutions as well as in polar organic solvents such as dimethylsulphoxide (DMSO) and dimethylacetamide (DMAC). For GPC calibration purposes the molecular weight of the polymer should be well characterised and the polydispersity of the standard should be narrow. PL's polysaccharide standards fulfill these basic requirements for use in GPC narrow standard calibration procedures.

The polymers, produced by the microorganism Aureobasidium Pullulans, consist of maltotriose units which form a linear, macromolecular polysaccharide as indicated in the structure below:



Usage

For GPC calibration 0.05% to 0.10% w/v solutions of the polysaccharide standards should be prepared in the GPC eluent. After adding the measured volume of solvent to the weight sample of polymer, allow the polymer to swell before gently stirring or shaking the solution to disperse the polymer. Dissolution may take several hours, longer dissolution time is required for higher molecular weight standards. The solutions may be left for 12 to 24 hours at room temperature to ensure complete dissolution. For longer term storage of polysaccharide solutions, particularly in aqueous based solvents, they can be refrigerated and stored for up to one week. When a solution has been refrigerated it should be allowed to equilibrate at ambient temperature before re-using.

These polymers have been characterised by ultracentrifugal sedimentation equilibrium (Mw) and aqueous GPC (Mw/Mn).

The PL Polysaccharide Standards Kit, SAC-10, consists of 200mg each of polysaccharides of varying molecular weight plus two oligomers (glucose and starchose) giving a 10 standard calibration kit for GPC. The molecular weights of the standards supplied in the kit are summarised in the following table:

Polymer Laboratories Inc
Amherst Fields Research Park
160 Old Farm Road
Amherst, MA 01002
USA
Tel 413/253 9554
Fax 413/253 2476
Email SalesUS@polymerlabs.com

Polymer Laboratories Ltd
Essex Road
Church Stretton
Leopardslade 516 6AX
UK
Tel +44 (0)1694 723561
Fax +44 (0)1694 722171
Email Sales@polymerlabs.com
www.polymerlabs.com

PL Polysaccharide Standard Kit SAC-10 Part No. 2090-0100

MATERIAL SAFETY DATA SHEET.

Page 1 of 1

IN EMERGENCY CONTACT: Polymer Laboratories Ltd. UK. 01694 723581 USA. 413 253 9554

PRODUCT: POLYSACCHARIDE CAS NUMBER.

PHYSICAL DATA.

Appearance - white powder.
Specific gravity - dependent upon molecular weight.
Soluble in water.

TOXICITY.

Limited data available, no published TLV, OEL. The toxicological effects of this material have not been fully evaluated.

HEALTH AND FIRST AID.

Because of the limited toxicological data, this material should be treated as potentially harmful. May be harmful by inhalation, ingestion or skin absorption, may cause irritation to skin and eyes. In case of contact remove all contaminated clothing, immediately wash the skin with soap and copious amounts of water. In the case of eye contact immediately flush with copious amounts of sterile water or a proprietary eye wash solution. If inhaled remove to fresh air.

Seek first aid attention and obtain medical advice.

STABILITY AND REACTIVITY.

Stable - will not polymerise
Avoid contact with strong acids or oxidising agents.

FIRE AND EXPLOSION HAZARD DATA.

This material is combustible producing black acrid smoke and toxic fumes of carbon dioxide and carbon monoxide. Water, foam, dry powder, carbon dioxide or vapourising gas extinguishers may be used.
Wear self-contained breathing apparatus and full protective clothing.

STORAGE AND SAFE HANDLING.

This material is supplied in the form of a calibration kit (10x0.2g), specialised storage is not necessary. Wear protective clothing, suitable gloves and safety glasses or goggles. The use of a mechanical exhaust (fume cupboard) is recommended.
Avoid contact with skin, eyes and clothing. Do not breathe any dust. Clean and wash thoroughly after use.

SPILLAGE AND DISPOSAL.

In the event of a spillage:
Wear protective clothing, suitable gloves and safety glasses or goggles. Use a respirator suitable for dust and chemical spillages.
Clean the area, avoid raising any dust, collect all spillage material and transfer to a suitable safe container prior to waste disposal. Ventilate and thoroughly wash the spill site.
Waste disposal:
The material should be dissolved or mixed with a suitable combustible solvent and burnt in a chemical incinerator equipped with an afterburner and chemical scrubber.

DISPOSAL METHOD MUST OBSERVE ALL LOCAL, STATE AND FEDERAL LAWS.

The above information is intended as a guide and should not be taken as all inclusive. Polymer Laboratories shall not be held liable for any damage resulting from handling or contact with this material.

MSDS - POLYSACCHARIDE 1995. This information is reviewed and up-dated as appropriate.

Annexe V.1 : Protocole expérimental détaillé pour la méthode de chargement de billes dispersées dans un batch

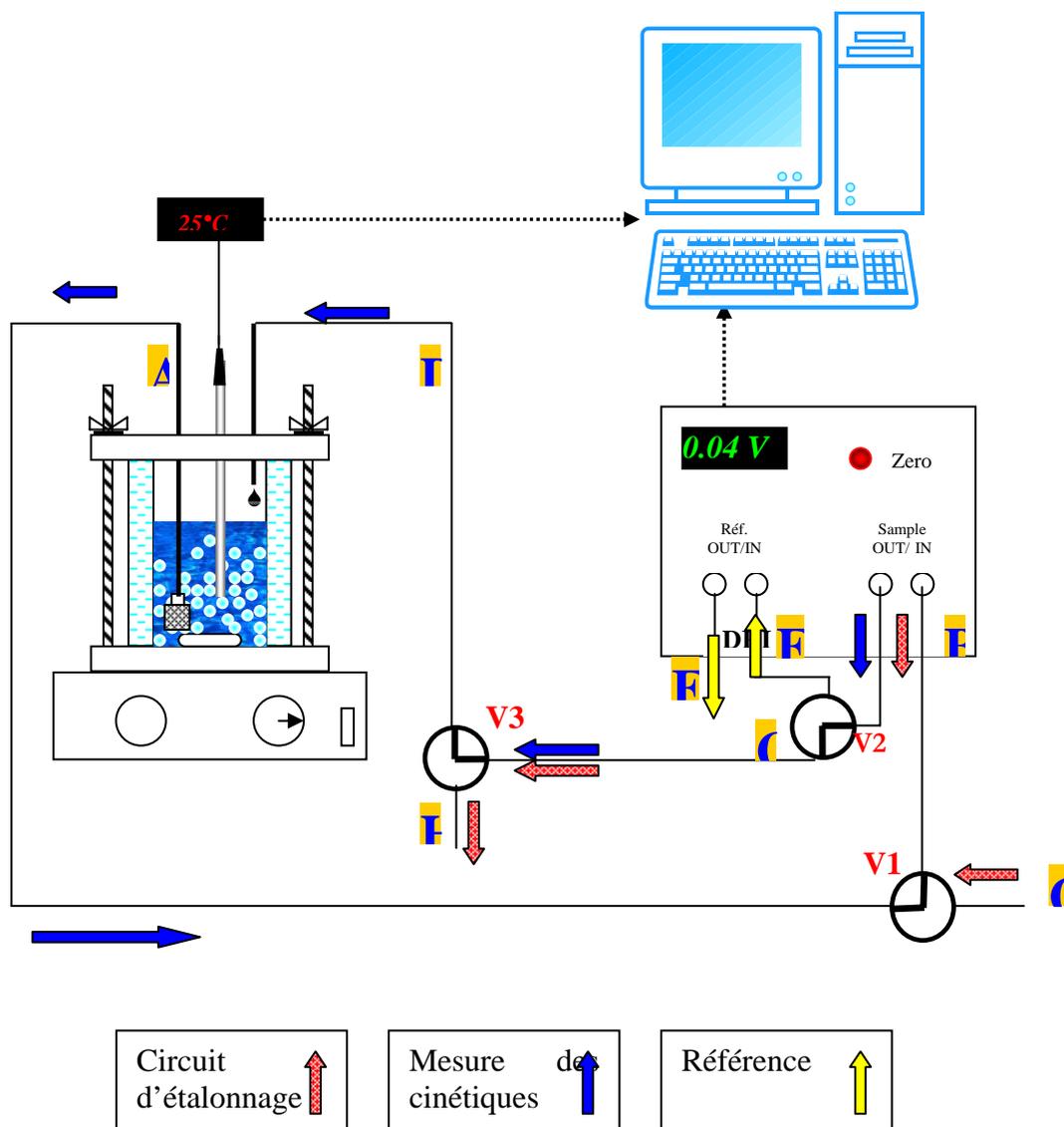


Figure 174 : Schéma du montage expérimental.

Etape 1 : Chargement du réacteur et équilibrage thermique

Dans une première étape, le système est équilibré thermiquement : 90 g de la solution calcique utilisée pour la mise en forme des billes sont mis en contact avec 20 g de billes d'alginate de calcium. Le circuit hydraulique permettant le suivi de l'indice de réfraction en fonction du temps est installé de façon à maintenir le système hermétique tout au long de l'essai. Un système de vannes permettra de disposer du montage sans avoir à réaliser de

connexions ultérieures susceptibles de générer de l'évaporation. Le réacteur est agité par agitation magnétique suffisante afin de se trouver dans le cas d'un réacteur parfaitement agité et d'éviter une limitation au transfert externe. Un fritté évite le bouchage de la boucle par des éléments solides ou les billes de gels au niveau du point de prélèvement.

Le réacteur est calorifugé grâce à une double enveloppe régulée à 25°C par un bain (Julabo) et une sonde de température permet un suivi thermique des essais, suivi d'importance dans les phénomènes activés tels que la diffusion.

L'équilibre thermique réalisé sans circulation dans le circuit hydraulique est atteint en deux heures environ, temps au bout duquel le rinçage du circuit est réalisé.

Etape 2 : Rinçage des différentes parties du circuit

Le rinçage se déroule en deux parties. Dans un premier temps, le circuit de mesure des cinétiques est rincé. Pour ce faire, les vannes sont commutées de façon à faire circuler le fluide via le circuit bleu (ABCD) du schéma de montage. Au point de retour dans le réacteur (D) le circuit est ouvert de façon à récupérer le liquide de rinçage qui sera pesé afin de connaître la quantité précise restant dans le réacteur. On rince pendant 5 minutes à un débit de 2 mL.min⁻¹ (soit 10 g)

Le rinçage du circuit de référence est réalisé de façon similaire via le circuit jaune (ABEF). La pesée du liquide de rinçage (environ 10 g) s'effectue de même en F. On obtient ainsi le zéro du DRI.

L'emportage permet, par ailleurs, de vérifier le débit de la pompe.

Etape 3 : Prélèvement de la solution calcique équilibrée

Une partie de la solution calcique (40 mL) est prélevée via le circuit bleu (ABCD). 6 mL seront utilisés pour la préparation d'une solution de pullulane en vue de l'injection ultérieure et de l'étalonnage du détecteur d'indice de réfraction. Les 34 mL restants seront utilisés pour le rinçage du circuit d'étalonnage (rouge, GBCH) et pour l'étalonnage.

Etape 4 : Equilibrage 24h, dissolution du pullulane

54 mg du pullulane étudié sont mis en solution dans 6 mL de la solution calcique prélevée. Ceci nous assure que la force ionique de la solution constituant le blanc du réfractomètre est la même que celle de la solution de pullulane. De fait, le signal obtenu sera entièrement dû à la présence du pullulane.

Par ailleurs, l'enregistrement du signal, pendant les 24 heures d'équilibrage, donne accès à la dérive.

Etape 5 : Etalonnage du DRI

L'étalonnage est réalisé sur un circuit (rouge, GBCH) ne faisant pas intervenir le réacteur contenant les billes de gel.

20 g de la solution calcique prélevée dans l'étape 3 sont mis de côté pour l'étalonnage tandis que la solution restante est utilisée pour le rinçage du circuit GBCH.

Les 20 g de solution calcique sont placés sous agitation magnétique, le point G correspondant au prélèvement et le point H au retour dans notre réacteur annexe destiné à l'étalonnage. On travaillera donc en circuit fermé.

La ligne de base (et la dérive éventuelle) est enregistrée pendant quelques minutes, avant de procéder à l'ajout de 2,5 mL de la solution de pullulane correspondant à 5 injections de 100 μ L et 2 injections de 1 mL. Le résultat de ces ajouts dosés est illustré par la figure 21.

Etape 6 : Rinçage post-étalonnage

Notre système ne possédant qu'une seule cellule de mesure, il est nécessaire d'effectuer un rinçage de façon à éliminer toute trace de pullulane dans les capillaires. Il convient donc de rincer la partie du montage commune aux circuits d'étalonnage et de mesure, soit le segment situé entre les vannes V1 et V3. Pour ce faire, un rinçage avec 10 g de la solution contenue dans le réacteur destiné à la mesure de la cinétique est effectué via le circuit ABCH. La solution de rinçage prélevée en H est pesée.

A ce stade, il reste donc, dans le réacteur 20 g de billes et 20 g de solution calcique.

Etape 7 : Enregistrement de la ligne de base

Le circuit utilisé finalement pour la mesure des cinétiques de diffusion est mis en place (circuit bleu, ABCD, avec retour dans le réacteur). La dérive est enregistrée pendant une heure.

Etape 8 : Injection

2,5 mL de solution de pullulane sont prélevés via une seringue. La pompe est arrêtée de façon à procéder à l'injection (car celle-ci n'est pas instantanée, tout comme le mélange initial dans le réacteur). Immédiatement à la fin de l'injection, la pompe est remise en route et le signal en tension est enregistré au cours du temps.

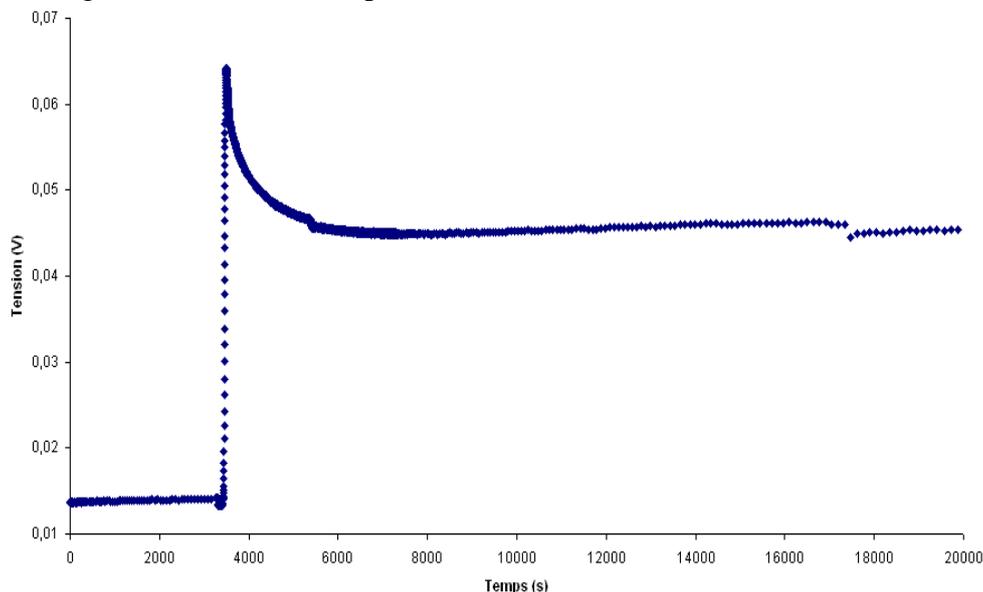


Figure 175 : Exemple d'enregistrement obtenu par la méthode batch continue.

La figure 4 permet d'illustrer l'ensemble des corrections à réaliser sur les courbes brutes avant de procéder au traitement en vue de l'estimation des paramètres de diffusion. Tout d'abord, la correction de dérive est possible grâce à l'enregistrement des instants initiaux (dans cet exemple, de 0 à 3000 s). Par ailleurs, des sauts de tension ont été fréquemment observés, dus à des perturbations extérieures. Deux de ces artefacts sont visibles sur la figure 23, et ont été également corrigés par une translation des points à partir de l'accident. Le troisième artefact,

peu de temps avant l'injection correspond, quant à lui, à l'arrêt de la pompe. Bien qu'il ne soit pas gênant dans l'exploitation des résultats, il souligne l'importance d'avoir un débit parfaitement constant au cours de l'essai. En effet, une variation de celui-ci se traduit par une variation du signal du réfractomètre.

Enfin, l'enregistrement ne débutant pas au temps d'injection, une correction des temps devra, en outre, être réalisée en tenant également compte du temps retard induit par le volume de capillaires entre le point de prélèvement et le DRI.

Etape 9 : Pesée de fin de manipulation

Afin de s'assurer qu'un gonflement des billes n'a pas modifié la diffusion, une pesée de vérification des billes de gel est réalisée en fin d'essai. Les essais préliminaires ayant démontré une importante variabilité du taux de gonflement des gels avec la température, ceux-ci seront pesés à température ambiante et non plus directement à la sortie du réfrigérateur, ce qui génèrerait des variations entre la masse en début et fin d'essai (entre 4°C et 25°C).

Annexe V.2 : Exemples de cinétiques de diffusion expérimentales pour quatre types de gels d'alginate de calcium.

Les graphes suivants présentent les courbes expérimentales de M/M_∞ en fonction du temps. Elles sont regroupées en fonction de la fraction volumique en polymère dans le gel.

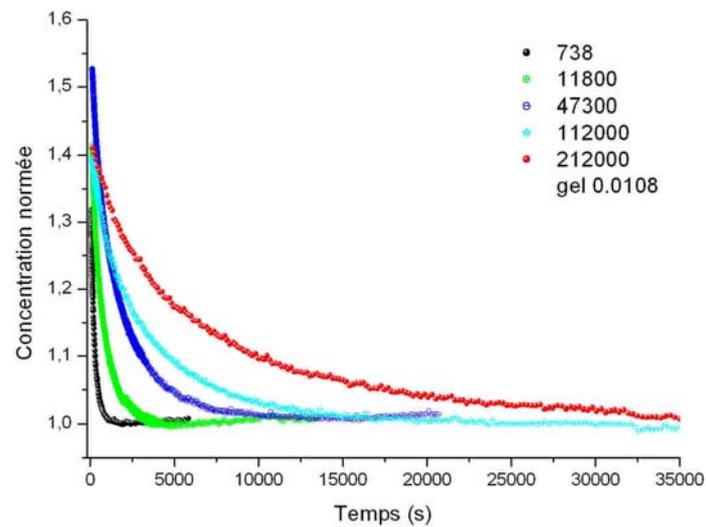


Figure 176 : Cinétiques de diffusion du pullulane dans un gel de fraction volumique 0,0108.

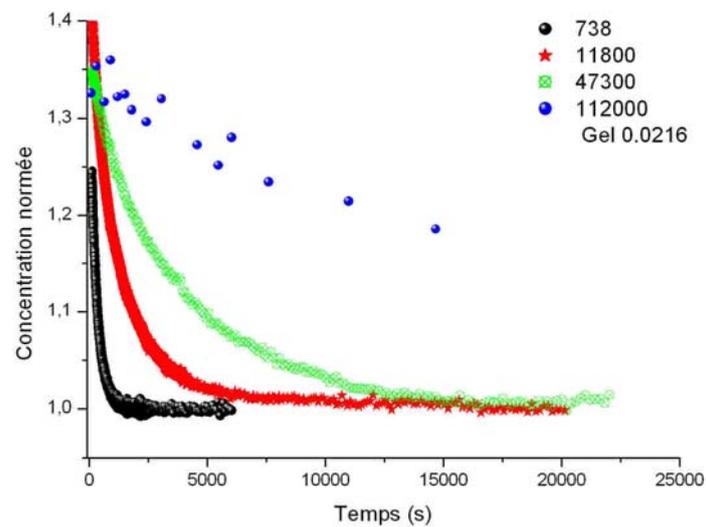


Figure 177 : Cinétiques de diffusion du pullulane dans un gel de fraction volumique 0,0216.

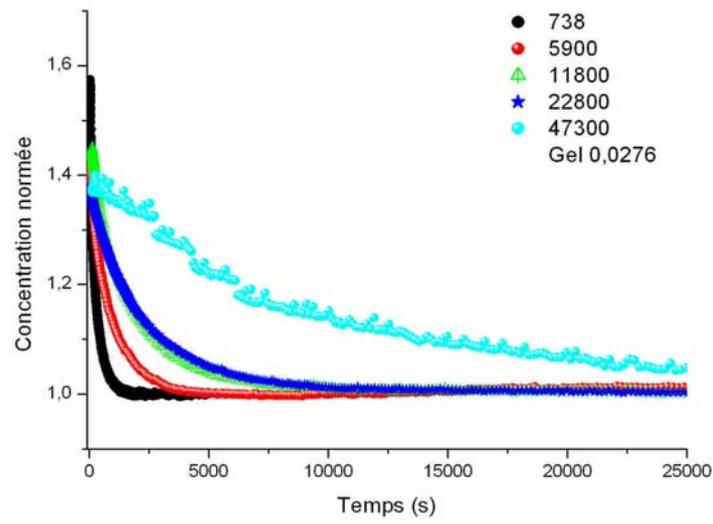


Figure 178 : Cinétiques de diffusion du pullulane dans un gel de fraction volumique 0,0276.

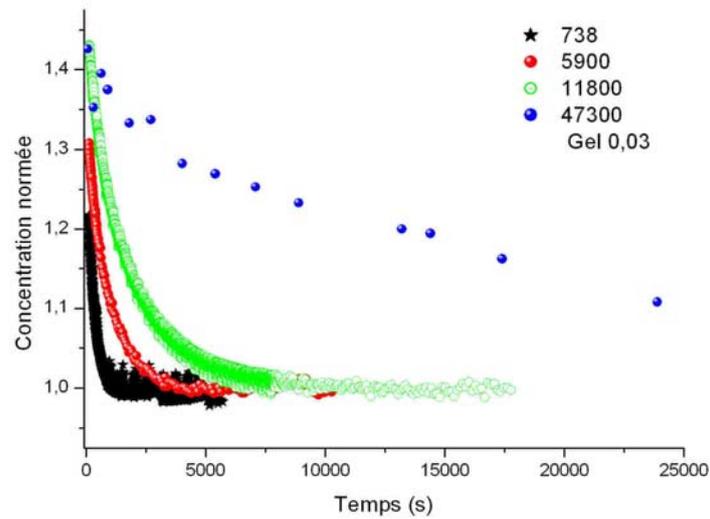


Figure 179 : Cinétiques de diffusion du pullulane dans un gel de fraction volumique 0,03.

Annexe V.3 : Exemples de modélisations de cinétiques de diffusion expérimentales.

Les graphes suivants présentent les modélisations des cinétiques de diffusion ayant conduit à l'obtention des valeurs de coefficients de diffusion présentés dans ce chapitre.

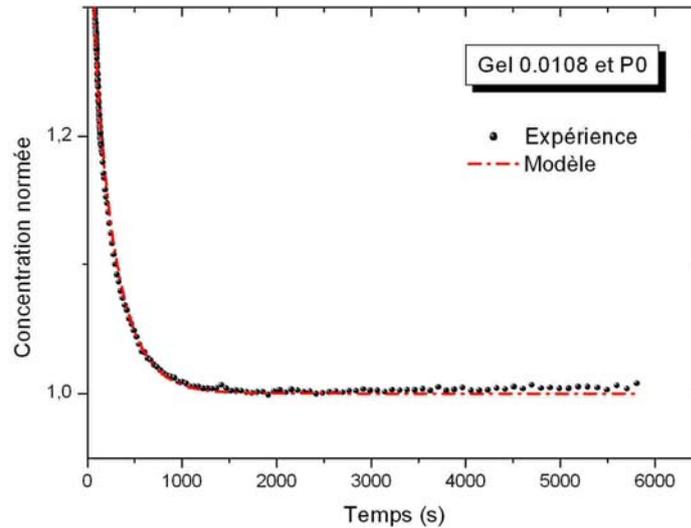


Figure 180 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P0 dans le gel de Φ_p 0,0108.

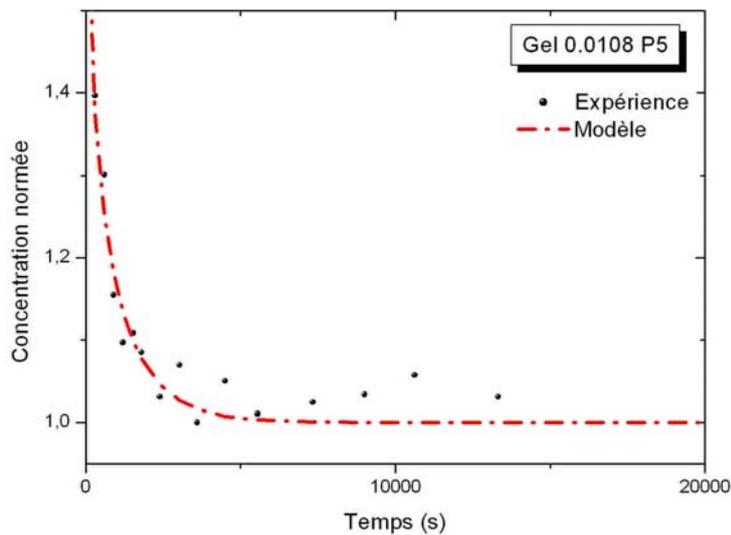


Figure 181 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P5 dans le gel de Φ_p 0,0108.

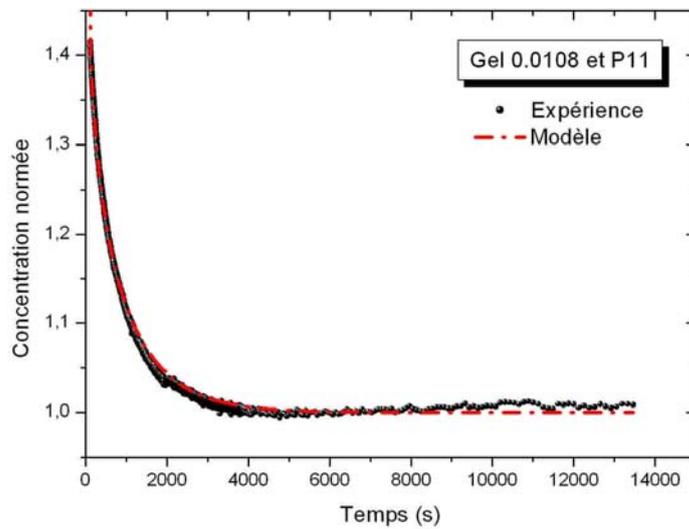


Figure 182 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P11 dans le gel de Φ_P 0,0108.

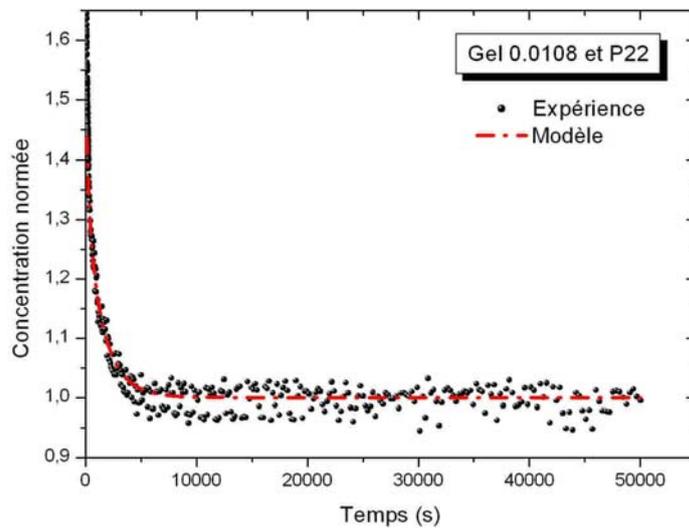


Figure 183 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P22 dans le gel de Φ_P 0,0108.

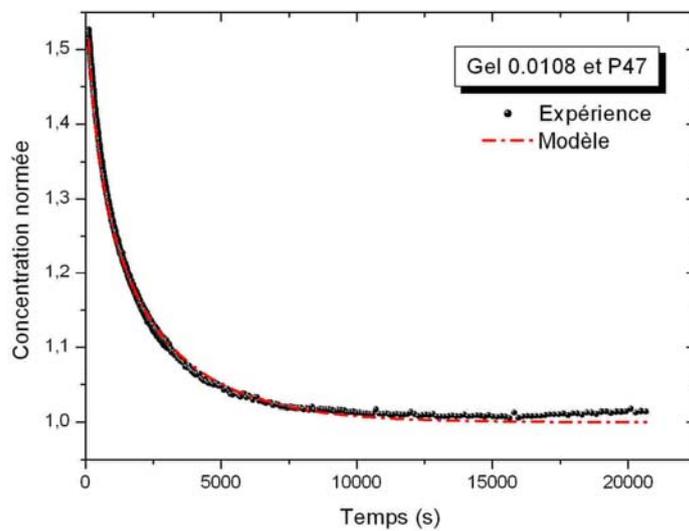


Figure 184 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P47 dans le gel de Φ_P 0,0108.

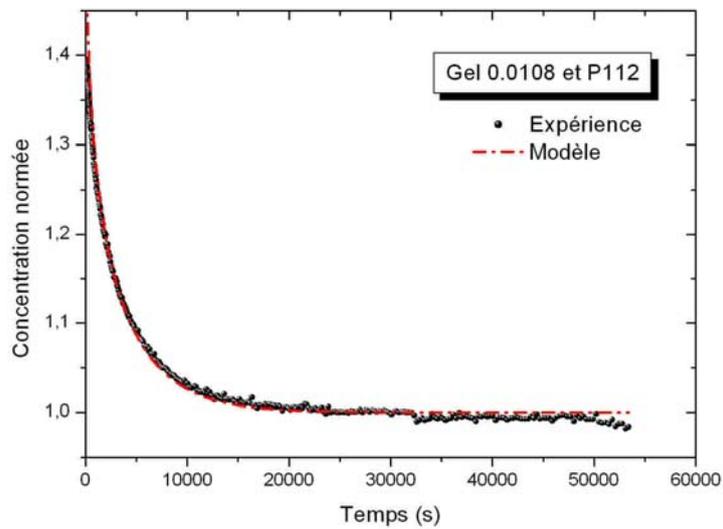


Figure 185 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P112 dans le gel de Φ_P 0,0108.

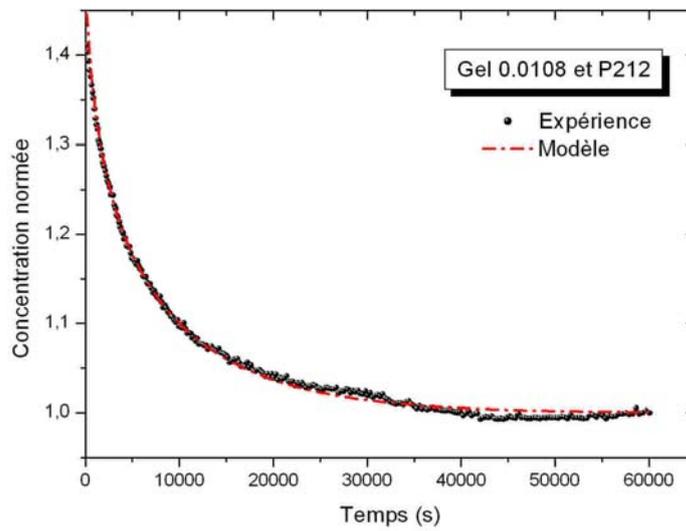


Figure 186 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P212 dans le gel de Φ_P 0,0108.

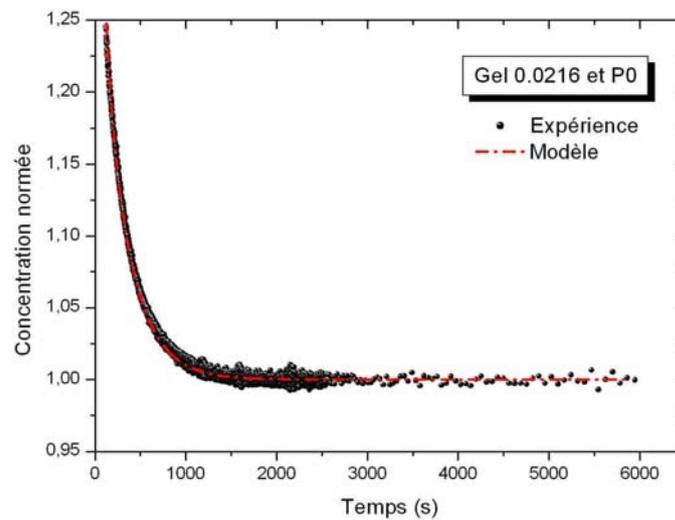


Figure 187 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P0 dans le gel de Φ_P 0,0216.

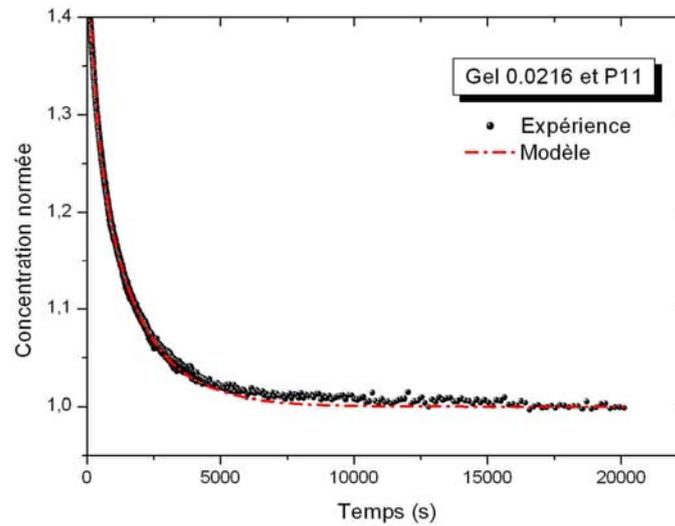


Figure 188 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P11 dans le gel de Φ_P 0,0216.

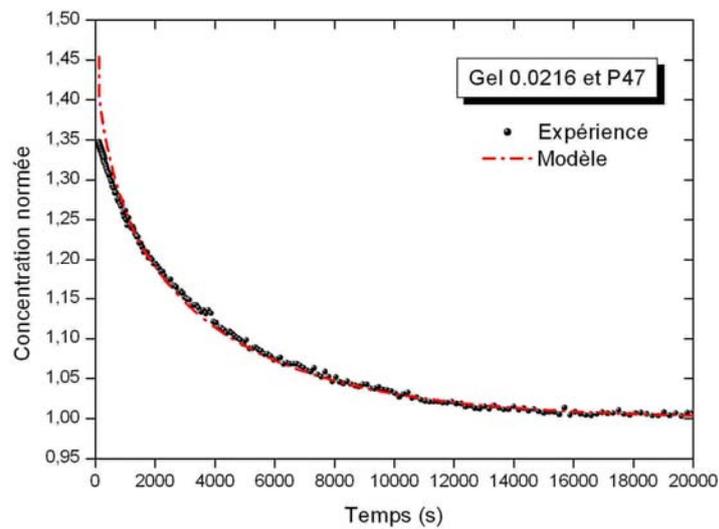


Figure 189 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P47 dans le gel de Φ_P 0,0216.

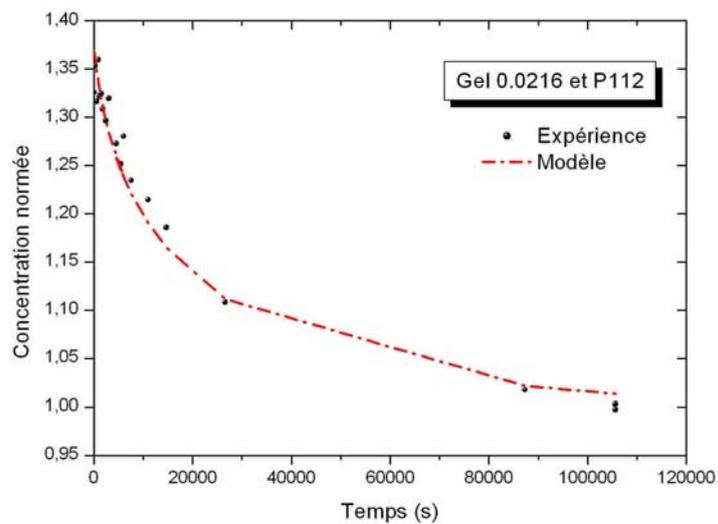


Figure 190 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P112 dans le gel de Φ_P 0,0216.

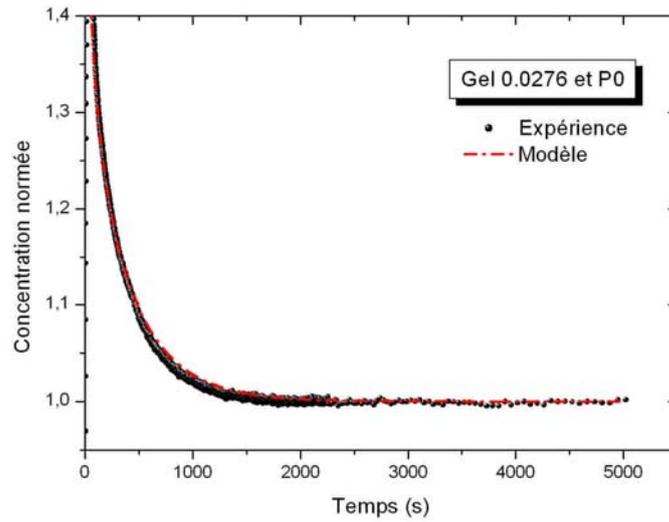


Figure 191 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P0 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

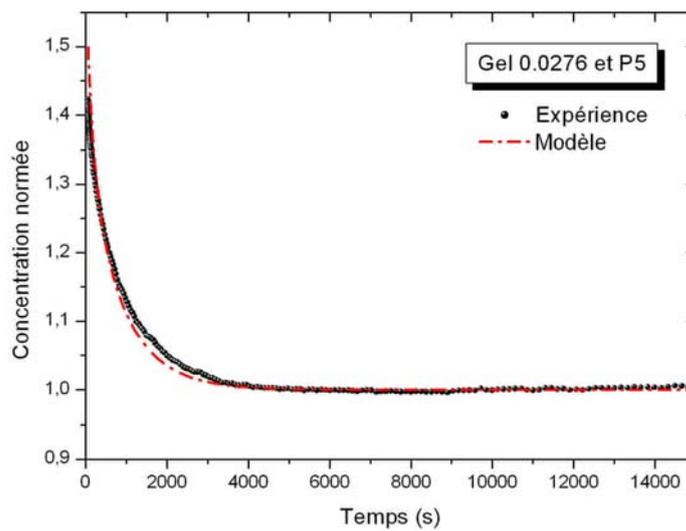


Figure 192 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P5 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

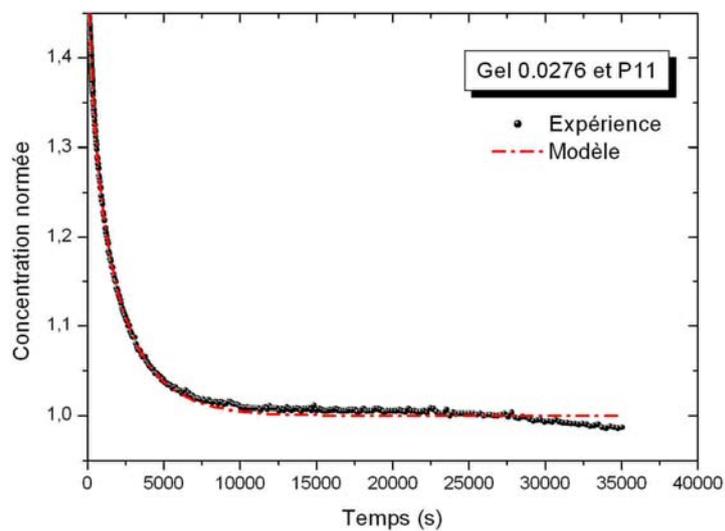


Figure 193 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P11 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

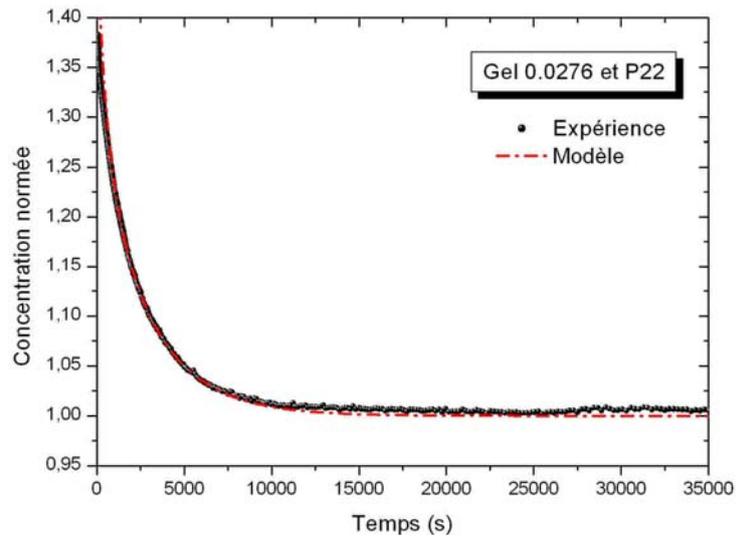


Figure 194 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P22 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

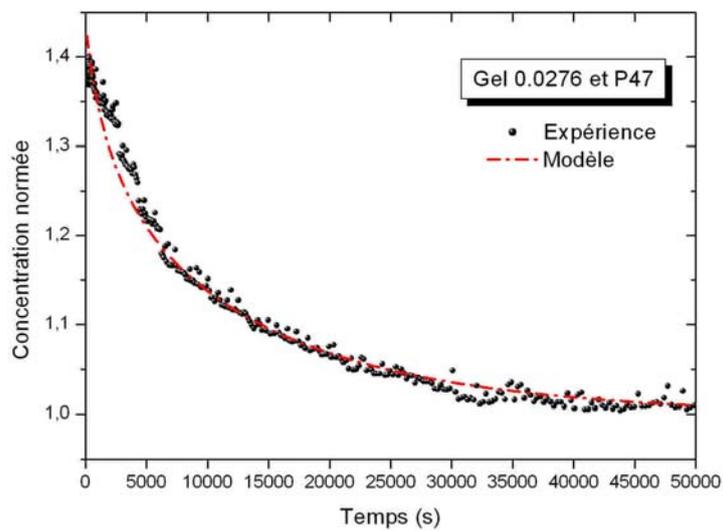


Figure 195 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P47 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

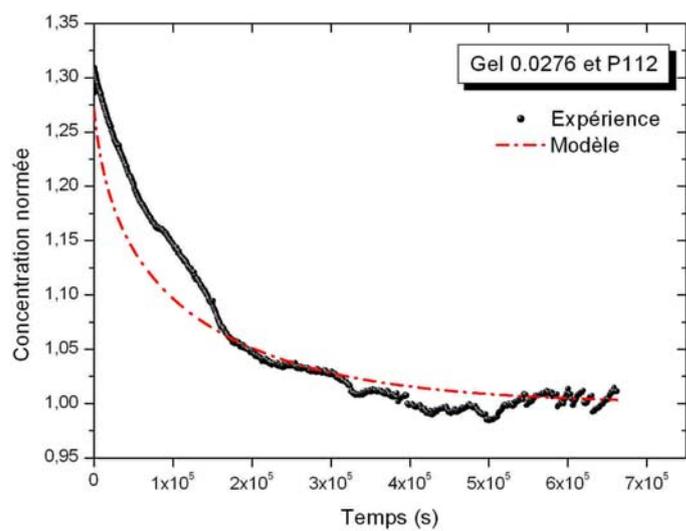


Figure 196 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P112 dans le gel de $\Phi_p 0,0276$.

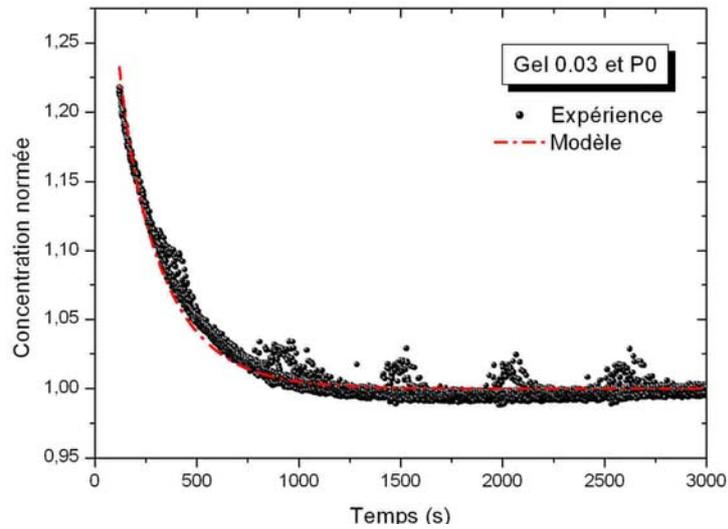


Figure 197 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P0 dans le gel de Φ_p 0,03.

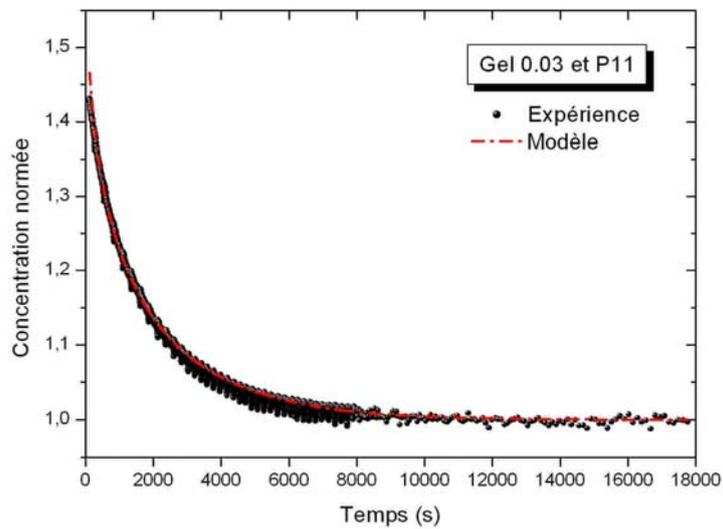


Figure 198 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P11 dans le gel de Φ_p 0,03.

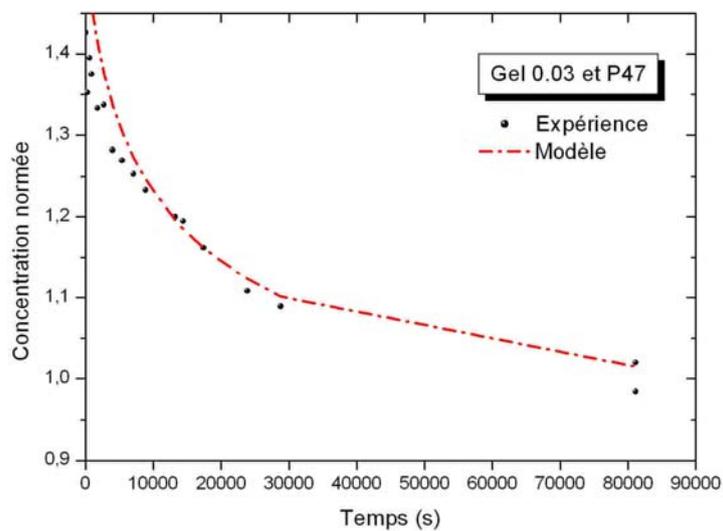


Figure 199 : Modélisation de la cinétique de diffusion du pullulane P47 dans le gel de Φ_p 0,03.