



**HAL**  
open science

# Assemblages thermostimulables de nanocristaux de cellulose décorés de chaînes de polymère

Firas Azzam

► **To cite this version:**

Firas Azzam. Assemblages thermostimulables de nanocristaux de cellulose décorés de chaînes de polymère. Sciences agricoles. Université de Grenoble, 2012. Français. NNT : 2012GRENV052 . tel-00819836

**HAL Id: tel-00819836**

**<https://theses.hal.science/tel-00819836v1>**

Submitted on 2 May 2013

**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.

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Sciences des polymères**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

**Firas AZZAM**

Thèse co-dirigée par **Jean-Luc PUTAUX** et **Bruno JEAN**

préparée au sein du **Centre de Recherches sur les  
Macromolécules Végétales (CERMAV), UPR 5301 CNRS**  
dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

# Assemblages thermostimulables de nanocristaux de cellulose décorés de chaînes de polymère

Thèse soutenue publiquement le **05 décembre 2012**, devant le jury composé de :

**Madame Elodie BOURGEAT-LAMI**

Directrice de Recherche, UMR 5265 ESCPE/CNRS/UCBL, Lyon (Rapporteur)

**Monsieur Christophe CHASSENIEUX**

Professeur, UMR 6283 Université du Maine-CNRS, Le Mans (Rapporteur)

**Monsieur Mohamed Naceur BELGACEM**

Professeur, Institut National Polytechnique de Grenoble, Pagora (Examinateur)

**Monsieur Bernard CATHALA**

Directeur de Recherche, Unité BIA, INRA, Nantes (Examinateur)

**Monsieur Jean-Luc PUTAUX**

Directeur de Recherche, UPR 5301 CERMAV, Grenoble (Directeur de thèse)

**Monsieur Bruno JEAN**

Chargé de Recherche, UPR 5301 CERMAV, Grenoble (co-directeur de thèse)





*A mes parents et à toute ma famille*



*Dès le début de la rédaction de ma thèse, je rêvais toujours de l'instant où je serais en train d'écrire mes remerciements, pour rendre hommage à tous ceux ou celles, de près ou de loin, d'une manière ou d'une autre, qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Mais en fait je n'avais pas réalisé que quelques jours après l'écriture de ces remerciements je serai en train de quitter le labo et dire au revoir ou adieu à des gens avec qui j'ai passé trois ans et quelques de ma vie.*

*Cette thèse a été effectuée au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales CERMAV, dirigé par Redouane Borsali que je tiens à remercier pour m'y avoir accueilli. J'ai pu bénéficier d'une bourse du ministère de recherche français et d'un soutien financier du cluster MACODEV auxquels je témoigne toute ma gratitude.*

*J'adresse ensuite ma gratitude au Professeur Mohamed Naceur Belgacem pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse, à la Directrice de recherche Elodie Bourgeat-Lami et au Professeur Christophe Chassenieux pour avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs. Je voudrais également remercier le directeur de recherche Bernard Cathala pour sa participation au jury en tant qu'examineur. J'adresse mes remerciements également aux directeurs de recherches Pierre Terech (Spram Grenoble) et Vance Bergeron (ENS Lyon) pour avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse.*

*Je voudrais remercier mes deux directeurs de thèse Jean-Luc Putaux et Bruno Jean. Je remercie Jean-Luc pour le temps conséquent qu'il m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa rigueur, sa sympathie ainsi que pour tous ses nombreux conseils pendant la rédaction. J'ai pu également bénéficier de sa connaissance inépuisable de la microscopie électronique qui constituera un bagage essentiel pour ma future carrière.*

*Je ne sais pas vraiment comment exprimer ma gratitude profonde, mes remerciements chaleureux et mon admiration sincère à Bruno Jean. Je suis conscient de la chance que j'ai eue en ayant la possibilité de travailler à ses côtés. Etant toujours présent, disponible, à l'écoute, patient, et ayant des qualités scientifiques et humaines exceptionnelles, il m'a accompagné pendant ces trois années, en me faisant confiance, pour arriver à la bonne réussite de ce travail. Comme je lui avais dit après ma soutenance, j'aimerais bien si je deviens chercheur, un jour, faire la recherche à sa manière. Bruno, merci encore.*

*Je voudrais également remercier de tout mon cœur Laurent Heux. Sa participation à mon travail était d'une importance cruciale dans différents aspects. Ses compétences et sa passion pour la science m'ont toujours impressionné. Merci également pour toutes ces discussions, scientifiques ou pas, autour d'une clope ou d'un diner de thym et d'huile d'olive.*

*J'adresse toute ma gratitude aux membres de l'équipe « Structure et propriétés des glycomatériaux » pour cette bonne ambiance qui régnait au rez-de-chaussée. Merci à Sonia, Karim, Yoshi et Monsieur Chanzy pour leurs conseils et leur soutien. Merci à Marie-France, Amandine, Christine et Pierre pour leurs aides techniques et humaines. Je tiens à remercier également Magali Galliot, l'étudiante de M1 que j'ai encadrée et Bruno Frka-Petesic mon «prof» de diffusion de neutrons.*

*Merci également à l'ensemble du personnel du CERMAV, permanents et étudiants. Je tiens à remercier Sébastien Fort pour les discussions et les manips que j'ai pu faire avec lui. Merci aussi à Isabelle Jeacomine et Eric Bayma pour leur aide en RMN du liquide et ATG.*

*J'exprime également ma gratitude à Fabrice Cousin, notre collaborateur et contact locale du Laboratoire Léon Brillouin de Saclay. Merci également à François Muller (LLB Saclay), Isabelle Grillo (ILL Grenoble) et Frédéric Pignon (LRP Grenoble).*

*Là c'est le tour de tous mes amis du CERMAV, avec qui j'ai passé des moments agréables durant ces trois ans. Merci à Matthieu, Bruno FP, Antoine D, Géraldine, Agathe, Antoine B, Emilie H, Pan, Axel, Marion BE, Aline, Emilie G, Nathalie, Alexandre, Rémy, Laurine, Jimmy, Jing, Camélia, Roberto, Landry, Julie, Hélène, Anica, Anna, Clélia, Tamiris, Alessandra, André, Soraia, Samia, Déborah, Marion P. J'espère que j'ai oublié personne. Les gars, les mots manquent aux émotions comme l'a dit Hugo. Et oui les mots m'échappent pour décrire comment toutes ces heures passées ensemble étaient géniales. On dit que c'est pas important le but mais ce qui importe c'est le chemin suivi pour y arriver. J'ajouterais que ce qui est encore important est la compagnie au cours de ce chemin. Je pars avec un pincement au cœur mais avec de beaux souvenirs dans la tête. J'espère de retrouver chacun de vous plus tard...*

*Je remercie également tous mes amis hors du CERMAV, les communautés libanaise et italienne, pour tout leur soutien, leur amitié et les moments inoubliables passés ensemble.*

*Finalement un grand merci à mes parents et à toute ma famille au Liban pour m'avoir toujours soutenu, aidé et encouragé. Sans leur aide et leur encouragement, je ne serai jamais là. Je leur dédie ce travail en étant certain qu'il ne sera pas suffisant pour leur remercier.*





# **Sommaire**



<b>Introduction générale.....</b>	<b>3</b>
-----------------------------------	----------

## Chapitre I

<b>I. Etude bibliographique.....</b>	<b>11</b>
<b>I.1 La cellulose.....</b>	<b>11</b>
I.1.1 Origine.....	11
I.1.2 Structure chimique.....	12
I.1.3 Structure cristalline.....	13
I.1.4 Morphologie.....	15
<b>I.2 Nanocristaux de cellulose.....</b>	<b>17</b>
I.2.1 Préparation des nanocristaux de cellulose.....	18
I.2.2 Morphologie et dimensions des nanocristaux de cellulose.....	19
I.2.3 Biréfringence sous écoulement d'une suspension diluée de NCC.....	22
I.2.4 Auto-organisation des nanocristaux de cellulose.....	23
I.2.4.1 Auto-organisation des NCC dans l'eau.....	24
<b>I.2.4.1.a.</b> Influence de l'ajout d'un électrolyte.....	25
<b>I.2.4.1.b.</b> Influence de la nature du contre-ion.....	26
I.2.4.2 Auto-organisation des NCC dans les solvants organiques.....	27
I.2.4.3 Origine de la chiralité dans les phases cholestériques.....	28
<b>I.3 Modifications de surface des nanocristaux de cellulose.....</b>	<b>29</b>
I.3.1 Modifications non covalentes.....	29
I.3.2 Modifications par greffage de nouvelles fonctions ou de petites molécules.....	30
I.3.2.1 Estérification.....	30
I.3.2.2 Ethérification.....	31
I.3.2.3 Marquage des NCC par des groupements fluorescents.....	32
I.3.2.4 Oxydation dite « TEMPO ».....	33
I.3.2.5 Oxydation à l'ion métaperiodate.....	35
I.3.3 Greffage de chaînes de polymère.....	35
I.3.3.1 <i>Grafting onto</i> .....	36
I.3.3.2 <i>Grafting from</i> .....	38

## Chapitre II

<b>II. Matériel, méthodes et techniques de caractérisation.....</b>	<b>43</b>
<b>II.1 Matériel et méthodes.....</b>	<b>43</b>
II.1.1 Préparation des nanocristaux de cellulose sulfatés.....	43
II.1.1.1 Source de cellulose.....	43
II.1.1.2 Equipements.....	43
<b>II.1.1.2.a.</b> Centrifugeuse.....	43
<b>II.1.1.2.b.</b> Sonde à ultrasons.....	44
<b>II.1.1.2.c.</b> Appareil de filtration.....	44
II.1.1.3 Hydrolyse.....	44
II.1.1.4 Purification.....	45
<b>II.1.1.4.a.</b> Centrifugation.....	45
<b>II.1.1.4.b.</b> Individualisation des nanocristaux par sonication.....	45
<b>II.1.1.4.c.</b> Filtration.....	45
II.1.2 Deutération des nanocristaux de cellulose.....	45
II.1.3 Modifications chimiques des nanocristaux de cellulose sulfatés.....	46
II.1.3.1 Oxydation TEMPO.....	46
II.1.3.2 Couplage peptidique.....	47
<b>II.1.3.2.a.</b> Polyétheramines Jeffamines®.....	47
<b>II.1.3.2.b.</b> Couplage peptidique dans l'eau.....	48
<b>II.1.3.2.c.</b> Couplage peptidique dans le DMF.....	48
II.1.3.3 Oxydation au métaperiodate.....	48

II.1.3.4	Amination réductrice.....	49
II.1.4	Diagrammes de phase.....	49
<b>II.2</b>	<b>Techniques de caractérisation.....</b>	<b>50</b>
II.2.1	Dosage des groupements sulfates par conductimétrie.....	50
II.2.2	Mesure du degré d'oxydation par conductimétrie.....	51
II.2.3	Mesure du <i>DO</i> par pH-métrie.....	53
II.2.4	Spectroscopie Infrarouge.....	54
II.2.5	Spectroscopie RMN <sup>13</sup> C du solide.....	54
II.2.6	Analyse thermogravimétrique.....	55
II.2.7	Spectrophotométrie d'absorption UV-visible.....	55
II.2.8	Tensiométrie de surface.....	56
II.2.9	Microscopie optique en lumière polarisée.....	56
II.2.10	Microscopie électronique en transmission.....	57
II.2.10.1	Principe.....	57
II.2.10.2	Appareillage et modes d'imagerie.....	58
II.2.10.3	Préparation des échantillons.....	58
<b>II.2.10.3.a.</b>	Prétraitement des grilles carbonées.....	59
<b>II.2.10.3.b.</b>	La coloration négative.....	59
<b>II.2.10.3.c.</b>	La cryomicroscopie électronique en transmission.....	59
II.2.11	Zétamétrie.....	60
II.2.12	Diffusion des neutrons aux petits angles.....	62
II.2.12.1	Le neutron et l'interaction neutron-matière.....	62
II.2.12.2	Les mesures.....	64
II.2.12.3	Le traitement des données.....	65
II.2.12.4	Contraste neutronique.....	66
II.2.13	Diffusion dynamique de la lumière.....	67

## Chapitre III

<b>III.</b>	<b>Modification chimique des nanocristaux de cellulose.....</b>	<b>71</b>
<b>III.1</b>	<b>Oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique.....</b>	<b>72</b>
III.1.1	Réactions mises en jeu.....	72
III.1.2	Les spectroscopies IR et RMN prouvent la covalence de la liaison NCC-polymère.....	73
III.1.2.1	FTIR.....	73
<b>III.1.2.1.a.</b>	NCC non modifiés.....	73
<b>III.1.2.1.b.</b>	NCC après oxydation TEMPO.....	74
<b>III.1.2.1.c.</b>	NCC après oxydation suivie d'une amidation.....	75
III.1.2.2	RMN du solide.....	78
<b>III.1.2.2.a.</b>	NCC seuls.....	78
<b>III.1.2.2.b.</b>	NCC modifiés.....	79
III.1.3	Quantification et optimisation du couplage peptidique.....	80
III.1.3.1	Effet des nombres d'équivalent de réactifs.....	82
III.1.3.2	Effet du solvant.....	82
III.1.3.3	Effet du polymère.....	85
III.1.3.4	Effet des microondes.....	85
III.1.3.5	Comparaison des quantifications par conductimétrie et par RMN.....	86
<b>III.2</b>	<b>Oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice.....</b>	<b>87</b>
III.2.1	Réactions mises en jeu.....	87
III.2.2	Preuves et quantification de l'oxydation.....	88
III.2.2.1	L'oxydation est démontrée par IR et RMN.....	88
III.2.2.2	Quantification du degré d'oxydation.....	90
III.2.3	Caractérisation après amination réductrice.....	91

III.2.4 Pourquoi aucun signal du polymère n'est apparu ? .....	93
<b>III.3 Conclusion .....</b>	<b>94</b>

## Chapitre IV

<b>IV. Caractérisation physicochimique et nouvelles propriétés des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés .....</b>	<b>99</b>
<b>IV.1 NCC-g-P obtenus par couplage peptidique .....</b>	<b>99</b>
IV.1.1 Variations à l'échelle nanométrique .....	99
IV.1.1.1 Conservation de la morphologie .....	99
IV.1.1.2 Variation du diamètre hydrodynamique .....	102
IV.1.2 Propriétés de surface .....	104
IV.1.3 Stabilité colloïdale .....	105
IV.1.3.1 Variation du potentiel zêta après modification .....	105
IV.1.3.2 Stabilité en présence de sel .....	108
IV.1.3.3 Redispersion des NCC après lyophilisation .....	109
IV.1.3.4 Agrégation thermoréversible .....	113
<b>IV.1.3.4.a. Cas des NCC-g-M2005 .....</b>	<b>114</b>
<b>IV.1.3.4.b. Effet du sel .....</b>	<b>118</b>
<b>IV.1.3.4.c. NCC-g-M600 .....</b>	<b>122</b>
IV.1.4 Stabilité thermique .....	123
<b>IV.2 NCC modifiés par oxydation métaperiodate et amination réductrice .....</b>	<b>125</b>
IV.2.1 Analyse du surnageant .....	125
IV.2.2 Variations à l'échelle nanométrique .....	127
IV.2.2.1 Variation de la morphologie .....	127
IV.2.2.2 Variation du diamètre hydrodynamique .....	128
IV.2.3 Stabilité thermique .....	130
<b>IV.3 Conclusion .....</b>	<b>131</b>

## Chapitre V

<b>V. Etude structurale des systèmes de NCC modifiés par diffusion des neutrons aux petits angles .....</b>	<b>135</b>
<b>V.1 Régime dilué .....</b>	<b>137</b>
V.1.1 Géométrie et dimensions des NCC nus .....	137
V.1.2 Solutions diluées de polyétheramines .....	140
V.1.3 Etude par DNPA des NCC-g-P .....	141
V.1.3.1 Contraste 100% D <sub>2</sub> O : observation des objets décorés dans leur ensemble .....	141
<b>V.1.3.1.a. Comparaison des courbes de DNPA des NCC nus et NCC-g-P .....</b>	<b>141</b>
<b>V.1.3.1.b. Estimation de la taille des sections et de l'épaisseur de la couronne de polymère par la loi de Guinier .....</b>	<b>143</b>
<b>V.1.3.1.c. Ajustement des courbes de DNPA des NCC-g-P .....</b>	<b>145</b>
<b>V.1.3.1.d. Observation par DNPA de l'effet de la température sur les NCC-g-P .....</b>	<b>149</b>
V.1.3.2 Contraste H <sub>2</sub> O/D <sub>2</sub> O 47/53 (v/v) : observation de la couronne de polymère .....	151
<b>V.2 Régime concentré .....</b>	<b>153</b>
V.2.1 Influence de la méthode de préparation .....	153
V.2.2 Effet de la concentration sur l'agrégation .....	155
<b>V.3 NCC oxydés métaperiodate .....</b>	<b>157</b>

<b>V.4 Conclusion.....</b>	<b>159</b>
----------------------------	------------

## **Chapitre VI**

<b>VI. Auto-organisation des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés .....</b>	<b>163</b>
<b>VI.1 Séparation de phase et texture.....</b>	<b>163</b>
<b>VI.2 Diagrammes de phase.....</b>	<b>169</b>
VI.2.1 Effet de la modification .....	169
VI.2.2 Effet de la force ionique .....	172
<b>VI.3 Pas de la phase cholestérique .....</b>	<b>175</b>
VI.3.1 Effet de la modification .....	175
VI.3.2 Effet de la force ionique .....	177
VI.3.3 Iridescence de l'échantillon NCC-g-M2070 .....	178
VI.3.4 Test préliminaire de la variation du pas avec la température .....	179
<b>VI.4 Conclusion .....</b>	<b>181</b>

<b>Conclusions et perspectives.....</b>	<b>187</b>
---	------------

<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>193</b>
--	------------

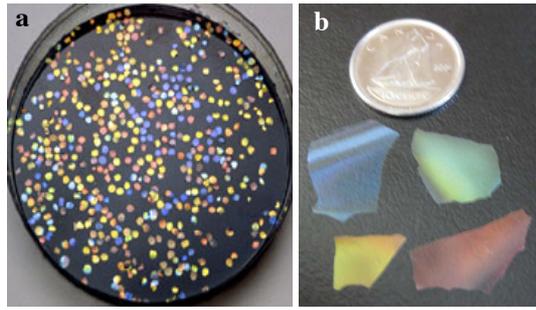
# **Introduction Générale**



## **Introduction générale**

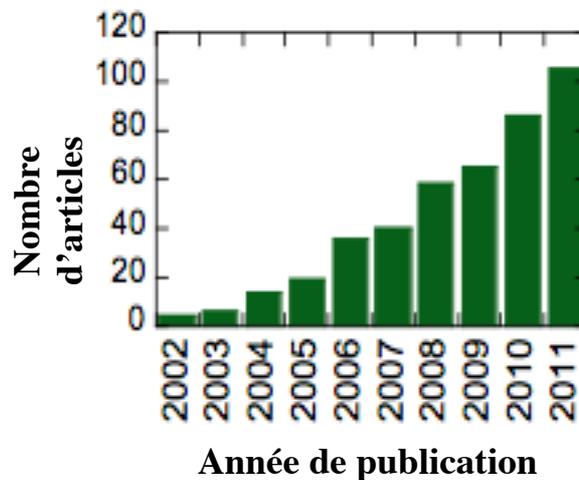
Suite aux préoccupations environnementales actuelles, les scientifiques et les industriels cherchent à développer de nouvelles stratégies pour répondre aux exigences du développement durable. Dans le domaine des matériaux, ces efforts se traduisent par la volonté de proposer à court terme de nouveaux matériaux biosourcés capables de remplacer les matériaux toxiques ou non-biodégradables issus de la pétrochimie, tout en offrant des propriétés au moins équivalentes. Dans ce cadre, les biopolymères, et en particulier les polysaccharides, se présentent comme une source d'innovation à fort potentiel. En effet, en plus de l'intérêt traditionnel des fibres et polymères naturels dans les industries alimentaires, textiles ou papetières, les nanoparticules de polysaccharides sont devenues des briques de base particulièrement attractives pour la conception de nanomatériaux à haute performance et à forte valeur ajoutée.

Dans ce contexte, les nanocristaux de cellulose (NCC), obtenus par hydrolyse acide des microfibrilles de cellulose native sous forme de suspensions colloïdales aqueuses, sont des nanoparticules biosourcées particulièrement séduisantes. Les NCC sont des bâtonnets monocristallins de section nanométrique, ayant des facteurs de forme élevés, comparables à ceux des nanotubes de carbone ou des plaquettes d'argile, et des surfaces spécifiques importantes ( $150\text{-}300\text{ m}^2/\text{g}$ ).<sup>1,2</sup> Les NCC présentent des propriétés mécaniques remarquables avec un module élastique comparable à celui du Kevlar (150 GPa) accompagnées d'une faible densité.<sup>3</sup> Ces particules possèdent également des propriétés d'auto-organisation en phases chirales nématiques qui génèrent des propriétés optiques (films iridescents, Figure Aa) ou permettent la production de structure mésoporeuse nanotexturées (Figure Ab).<sup>4-6</sup> L'ensemble de ces propriétés, associé au caractère abondant et renouvelable de la cellulose, font des NCC des briques de base idéales pour la conception d'architectures et de matériaux hiérarchiques ajustés à diverses fonctions.



**Figure A** a) Films iridescents (confettis) fabriqués à partir de nanocristaux de cellulose (Celluforce), b) films de silice rendue mésoporeuse par incorporation des nanocristaux de cellulose suivie d'une carbonisation de la cellulose à 500°C.<sup>6</sup>

Parallèlement à l'augmentation exponentielle de l'intérêt académique pour ces nanoparticules (figure B), des projets industriels à grande échelle sont en cours de développement dans le but de commercialiser les NCC. L'usine de Celluforce, inaugurée au Canada en janvier 2012 et capable de produire une tonne de NCC par jour, démontre que ces nano-objets ne sont plus uniquement des curiosités de laboratoire mais peuvent être produits à une échelle suffisante pour des essais semi-commerciaux.



**Figure B** Evolution du nombre d'articles contenant "cellulose nanocrystals" ou "nanocrystalline cellulose" publiés chaque année (source SciFinder).

Différents champs d'applications des NCC ont déjà été définis: additifs pour l'alimentaire et les cosmétiques, emballages "intelligents", membranes à porosité contrôlée, nanocomposites biocompatibles etc. Cependant, malgré leurs propriétés exceptionnelles et leur fort potentiel, les NCC souffrent de différentes limitations qui réduisent le développement de produits à base de ces nanoparticules. En effet, les NCC forment des

suspensions colloïdales stables dans l'eau grâce aux répulsions électrostatiques dues aux groupements ester sulfates introduits à leur surface durant l'hydrolyse à l'acide sulfurique. Ceci rend leur dispersion non seulement limitée à l'eau mais également très sensible à la force ionique. Ce mode de stabilisation favorise, dans les suspensions à haute concentration en nanoparticules, une structure de gel désordonné. Par ailleurs, il a été démontré que les groupements sulfates sont nuisibles à la stabilité thermique des NCC.<sup>7</sup> Au vu de ces verrous, il apparaît clair que le facteur clé pour améliorer les propriétés des NCC est un contrôle précis de leurs propriétés de surface.

Dans ce travail, nous nous sommes donc proposés de modifier la physico-chimie de surface des NCC. L'approche envisagée consiste en une modification chimique par greffage de chaînes de polymère thermosensible sur la surface des NCC. Derrière cette modification, l'enjeu est double. D'une part, le passage d'une stabilisation par répulsion électrostatique à une répulsion stérique, grâce aux chaînes greffées, rendrait les NCC insensibles à la force ionique et permettrait également leur dispersion dans des solvants organiques, élargissant ainsi leur champ d'application comme charges de renfort dans des matrices de polymères synthétiques. Cet aspect de compatibilisation avec les matrices hydrophobes a été le principal but de la modification des NCC dans la littérature. D'autre part, notre choix de greffage de polymère thermostimulable sur les NCC vise d'autres aspects applicatifs. En effet, le caractère thermosensible des chaînes greffées représenterait un levier de contrôle des interactions entre nano-objets qui pourrait générer de nouvelles propriétés. Cette stratégie a déjà été appliquée pour modifier les propriétés de nanoparticules d'or<sup>8</sup> ou de nanotubes de carbone.<sup>9</sup> Ce type de modification permettrait un contrôle des propriétés structurales et rhéologiques, par exemple, qui est crucial pour des applications dans le domaine biomédical ou cosmétique. Plus loin des aspects applicatifs, la réalisation d'un tel système permettrait éventuellement de contribuer à répondre à certaines questions fondamentales, comme par exemple l'origine des propriétés d'auto-organisation des NCC.

Pour greffer ces polymères sur la surface des NCC, nous avons choisi une stratégie comprenant deux étapes : une oxydation de la surface des NCC dite "TEMPO" suivie d'un couplage peptidique des chaînes thermosensibles. La première étape, une réaction bien étudiée au sein de l'équipe "Structures et Propriétés des Glycomatériaux" au CERMAV, réalisée dans l'eau, permet l'introduction des groupements acides carboxyliques sur la surface des NCC sans toucher à leur structure cristalline. La deuxième étape permet le greffage covalent du polymère thermosensible à terminaison amine sur la surface des NCC, via une

amidation. Cette chimie se fait dans des conditions vertes et douces en utilisant l'eau comme solvant, contrairement aux méthodes de modification usuelles des NCC faisant appel souvent à des solvants organiques. Elle présente également une facilité de post-caractérisation, élément essentiel pour avoir un système contrôlé.

Les polymères thermosensibles utilisés sont de la famille des polyétheramines Jeffamines® qui sont des copolymères statistiques d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène, ayant différentes masses et différentes compositions ce qui donne une variété de *lower critical solution temperature* ou LCST. Cette dernière correspond à la température au-dessous de laquelle les chaînes sont solubles. Pour  $T > LCST$ , les chaînes passent dans des conditions de mauvais solvant et s'effondrent sous l'effet des forces attractives hydrophobes intrachaînes et interchaînes. Le greffage de ces chaînes à la surface des NCC permettrait la variation des interactions entre les objets (répulsives ou attractives) via la température. Une autre stratégie de greffage a été également abordée durant cette thèse. Il s'agit d'une oxydation, en utilisant cette fois-ci l'ion métaperiodate, qui génère des groupements aldéhydes. Cette réaction a été employée dans le but de contrôler l'oxydation via la durée de la réaction. Une amination réductrice qui vient derrière permettrait le greffage des polymères sur la surface des NCC.

Les systèmes réalisés ont été caractérisés à différentes échelles : nanométrique, colloïdale et macroscopique. Nous avons profité, d'une part, d'un environnement favorable au CERMAV par la présence de compétences en techniques de caractérisation complémentaires (microscopies optique et électronique, RMN du solide et diffusion de rayonnements) et, d'autre part, d'un accès à deux grands instruments français (les réacteurs neutroniques du Laboratoire Léon Brillouin à Saclay et de l'Institut Laue-Langevin à Grenoble).

Les objectifs de la thèse peuvent donc se résumer par les points suivants :

- Greffage efficace et contrôlé des polymères thermosensibles sur la surface des NCC.
- Caractérisation approfondie à l'échelle moléculaire et colloïdale des NCC modifiés.
- Identification des nouvelles propriétés des systèmes de NCC modifiés, induites par les chaînes de polymère greffées.
- Etude de l'auto-organisation des nouveaux systèmes.

Le présent manuscrit est composé de six chapitres. Dans un premier chapitre, nous présenterons une étude bibliographique rappelant les connaissances actuelles sur la cellulose et les nanocristaux qui en sont issus, leurs caractéristiques, leurs propriétés ainsi que les méthodes utilisées pour modifier leur surface. Les protocoles expérimentaux et les techniques de caractérisation employés seront détaillés dans le deuxième chapitre. Le troisième chapitre sera consacré à la description des réactions chimiques utilisées pour modifier la surface des NCC par greffage de chaînes de polymère. Une étude de la physicochimie et des nouvelles propriétés à différentes échelles des systèmes de nanocristaux greffés de chaînes de Jeffamines sera présentée dans le quatrième chapitre. Le cinquième chapitre développera une étude structurale des systèmes de NCC modifiés en utilisant la technique de diffusion des neutrons aux petits angles. Enfin, un sixième chapitre abordera l'auto-organisation des nouveaux systèmes comparée à celle de systèmes de NCC non-modifiés.



# **Chapitre I**

## **Etude bibliographique**



# I. Etude bibliographique

Dans cette étude bibliographique, nous rappellerons les connaissances actuelles nécessaires à la compréhension de ce travail sur la cellulose et les nanocristaux qui en sont extraits. Cette étude ne se veut pas exhaustive et étant donnée l'augmentation quasi exponentielle du nombre d'articles traitant des NCC ces dernières années, le lecteur intéressé pourra se référer à un certain nombre de revues récentes.<sup>3,10,11</sup> Dans une première partie, nous présenterons les caractéristiques de la cellulose en décrivant son origine et ses structures cristallines. Une deuxième partie sera consacrée aux nanocristaux de cellulose (NCC) : leur préparation, leurs dimensions et leur auto-organisation en phases chirales nématiques. Une dernière partie traitera des modifications de la surface des NCC, qu'elles soient de nature covalente ou non, qu'il s'agisse d'un greffage d'une petite fonction ou molécule ou d'une chaîne de polymère.

## I.1 La cellulose

### I.1.1 Origine

La disponibilité et l'abondance de la cellulose en ont fait un matériau de choix pour l'activité de l'homme depuis toujours. Ce biopolymère organique biodégradable, renouvelable et le plus abondant avec une production mondiale annuelle entre  $10^{11}$  et  $10^{12}$  tonnes,<sup>12</sup> est le composant structural primaire des parois des cellules végétales. La teneur en cellulose diffère d'un végétal à un autre. On trouve la plus haute teneur dans le coton (90-99% du poids sec) et dans les fibres de lin (80%). Dans le bois, le matériau lignocellulosique le plus répandu, la teneur en cellulose se situe entre 35 et 40 %.<sup>13</sup> On trouve également la cellulose dans des champignons (*Saprolegnia*), des bactéries (*Rhizobium*), certaines algues (*Valonia*),<sup>14</sup> ainsi que dans l'enveloppe externe d'animaux marins comme les tuniciers.

Contrairement aux polymères synthétiques, la cellulose résulte d'un processus enzymatique. Dans les organismes qui produisent la cellulose, les enzymes de synthèse, ou "cellulose synthases", sont regroupées en complexes terminaux, véritables filières enzymatiques qui coordonnent de façon rigoureuse l'extrusion et la cristallisation quasi-

simultanée d'un nombre bien déterminé de molécules de cellulose, donnant ainsi naissance à des microfibrilles cristallines calibrées.<sup>15-17</sup> Cette biogenèse donne à la cellulose une perfection de structure et de morphologie qu'on ne retrouve pas chez les polymères synthétiques.

## I.1.2 Structure chimique

En 1838, un chimiste français, Anselm Payen, a réussi à isoler la cellulose à partir de différentes plantes.<sup>18</sup> Il a fallu ensuite attendre un peu plus de cinquante ans pour déterminer sa formule chimique basique ( $C_6H_{10}O_5$ ) révélée par Weillstatter.<sup>19</sup> Les premières étapes de la caractérisation structurale de la cellulose datent de 1920 avec la détermination de la structure polymérique de la cellulose par Staudinger.<sup>20</sup> Les travaux de Irvine et Hirst<sup>21</sup> puis ceux de Freudenberg et Braun<sup>22</sup> ont ensuite montré que les carbones C2, C3 et C6 de la cellulose portent des groupements hydroxyles. Les travaux d'Howorth *et al.*,<sup>23</sup> qui ont découvert que le cellobiose constitue la composante basique de la cellulose, ont permis de comprendre qu'il s'agit d'un homopolymère constitué d'unités d'anhydroglucopyranose reliées par des liaisons glycosidiques  $\beta(1-4)$  (figure I.1). Chu et Jeffrey<sup>24</sup> ont ensuite montré que les cycles D-glucopyranose avaient une conformation chaise  ${}^4C_1$ . L'unité de répétition, la cellobiose, est constituée de deux motifs de glucose orientés à  $180^\circ$  l'un par rapport à l'autre autour de la liaison glycosidique C1-O-C4 (figure I.1). Les deux extrémités des chaînes de cellulose ne sont pas équivalentes chimiquement. Une extrémité est constituée d'un D-glucopyranose dont le carbone anomère est engagé dans une liaison glycosidique et qui possède une fonction alcool secondaire libre sur le C4. L'autre extrémité est une unité D-glucopyranose dont le carbone anomère est libre : on a donc une fonction cyclique qui est en équilibre avec une forme aldéhydique minoritaire (figure I.1). Cette extrémité, dite "réductrice" a la capacité de réduire des ions  $Cu^{2+}$  dans une solution de Fehling en ion  $Cu^+$ . Cela confère à la cellulose une polarité chimique.

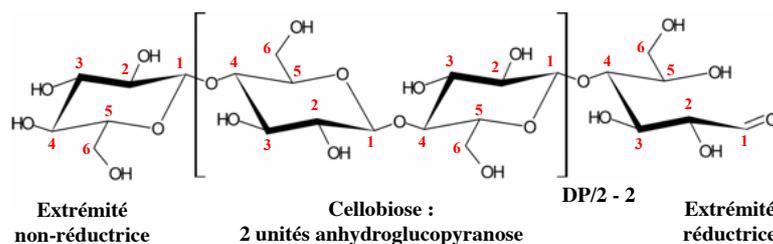
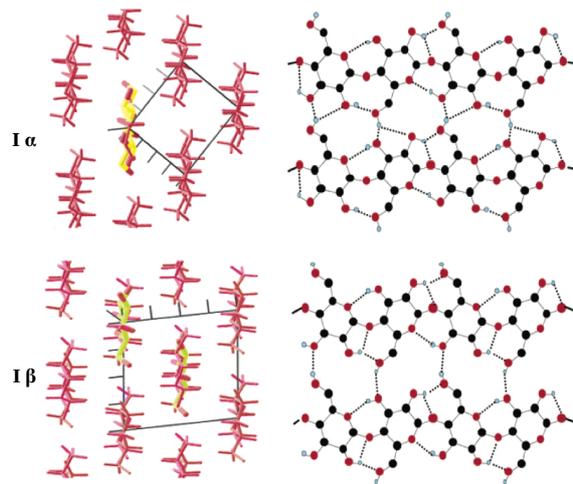


Figure I.1. Structure chimique de la cellulose.

Le nombre d'unités D-glucopyranose dans une chaîne de cellulose, appelé degré de polymérisation (DP), est exprimé en valeur moyenne puisqu'on trouve une large distribution de longueur de chaîne au sein d'un même échantillon. Cette valeur moyenne varie selon la source. Des DP de 10000 g/mol sont mesurés pour le bouleau par exemple, 20000 pour le coton et 27000 pour *Valonia*, ce qui correspond à des longueurs de l'ordre du micromètre.<sup>25</sup> Chaque unité anhydroglucose porte trois groupements hydroxyyles libres : une fonction alcool primaire sur le carbone 6 et deux fonctions alcool secondaire sur les carbones 2 et 3. Ces liaisons ainsi que les liaisons glycosidiques sont en position équatoriale alors que les liaisons avec les atomes d'hydrogène sont en position axiale.

### I.1.3 Structure cristalline

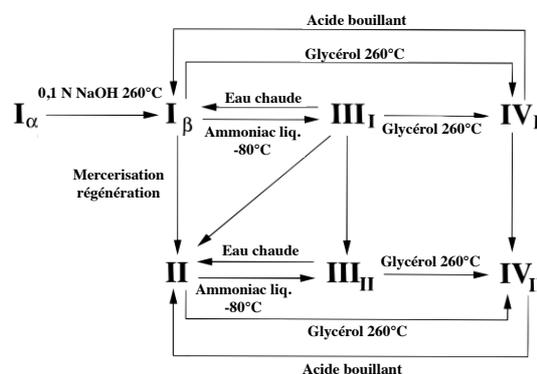
Les trois groupements hydroxyyles présents dans la structure chimique de la cellulose permettent la formation de liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires, donnant naissance à une structure très organisée qui a été le sujet d'intenses recherches depuis plusieurs décennies.<sup>26,27</sup> Gardner et Blackwell<sup>28</sup> avaient décrit la structure de la cellulose native selon une maille monoclinique contenant deux chaînes. Ce n'est qu'avec le développement d'une nouvelle technique, la RMN <sup>13</sup>C à l'état solide, que l'on a identifié deux allomorphes pour la cellulose native, dite de type I: l'allomorphe I $\alpha$  possède une maille triclinique et une chaîne par maille tandis que l'allomorphe I $\beta$  a une maille monoclinique et deux chaînes par maille (figure I.2).<sup>29,30</sup> Cette description a été confirmée par des expériences de diffraction électronique sur la cellulose de paroi cellulaire d'algues<sup>31</sup> et des simulations numériques.<sup>32</sup> La proportion des allomorphes I $\alpha$  et I $\beta$  diffère suivant les espèces. On retrouve principalement la phase I $\alpha$  dans la cellulose produite par des organismes dits primitifs comme les algues ou les bactéries, alors que la cellulose I $\beta$  se trouve principalement dans la cellulose produite par les plantes supérieures (bois, coton) et dans l'enveloppe d'un animal marin, le tunicier.<sup>33</sup> L'allomorphe I $\alpha$  peut être converti en phase I $\beta$ , thermodynamiquement plus stable, par traitement hydrothermal à 260 °C<sup>34,35</sup> ou par recuit dans des solvants organiques de polarités différentes.<sup>36</sup>



**Figure I.2.** Représentations schématiques des mailles élémentaires des allomorphes  $I\alpha$  et  $I\beta$  de la cellulose I et du réseau des liaisons hydrogène intra- et interchaînes. Les atomes de carbone sont colorés en noir, ceux d'oxygène en rouge. Les atomes d'hydrogène de l'alcool primaire de carbone C6 sont colorés en bleu. Les atomes d'hydrogène restants ont été omis. (D'après Nishiyama *et al.* 2003).<sup>37</sup>

Récemment, Nishiyama *et al.*<sup>37,38</sup> ont confirmé et affiné les structures cristallographiques des phases  $I\alpha$  et  $I\beta$  en déterminant les différents systèmes de liaisons hydrogène. Les expériences ont été menées en utilisant conjointement la diffraction des rayons X et des neutrons sur des fibres orientées, hydrogénées et deutérées. Ces expériences ont permis de déterminer les paramètres des mailles, les positions des atomes ainsi que la géométrie des liaisons hydrogène intra- et interchaînes des deux phases (figure I.2).

En plus des formes  $I\alpha$  ou  $I\beta$  de la cellulose I native fibrillaire, on dénombre cinq autres allomorphes ( $II$ ,  $III_I$ ,  $III_{II}$ ,  $IV_I$ ,  $IV_{II}$ ) avec différentes possibilités de conversion par traitements chimiques ou thermiques (figure I.3).<sup>39,41</sup>

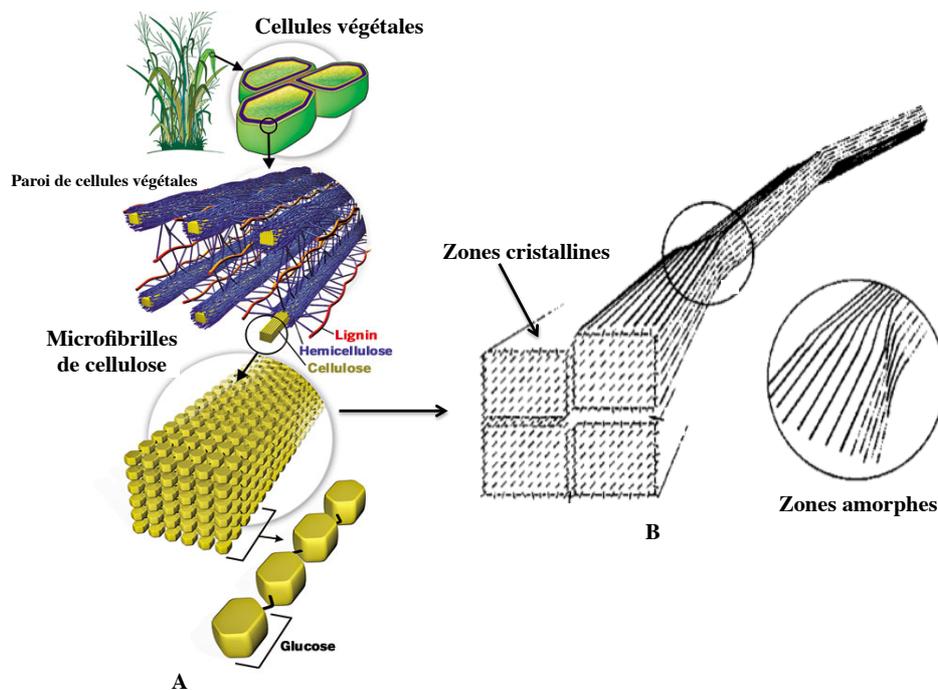


**Figure I.3.** Relations entre les différents allomorphes de la cellulose (D'après Kroon-Batenburg *et al.* 1996).<sup>42</sup>

Ces transitions sont rendues possibles car la cellulose I est métastable du fait de l'arrangement parallèle de ses chaînes, au contraire de l'arrangement antiparallèle de la cellulose II. Dans la suite nous ne nous intéresserons qu'à la cellulose de type I.

### I.1.4 Morphologie

Durant la biogenèse, les chaînes de cellulose s'associent parallèlement via des liaisons hydrogène pour former des structures cristallines ordonnées appelées microfibrilles. Il a été montré également qu'un réseau de liaisons de van der Waals est établi entre les feuillets de chaînes.<sup>43</sup> Ainsi, dans un matériau cellulosique, plusieurs microfibrilles sont associées pour former des fibres (figure I.4A).



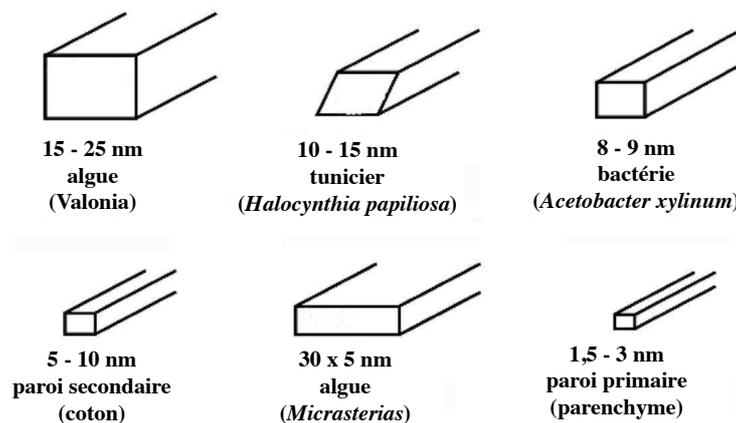
**Figure I.4.** Représentation schématique de la hiérarchie de structure dans une fibre cellulosique constituant une paroi de cellule végétale (Genome management information system/ORNL) (A) et de l'alternance des zones cristallines et amorphes le long d'une microfibrille (B) (D'après Rowland et al. 1972).<sup>44</sup>

Si la biogenèse n'est pas perturbée, des régions cristallines et un nombre limité de régions désorganisées alternent tout au long de la microfibrille.<sup>15</sup> Plusieurs modèles ont été proposés pour décrire l'arrangement des chaînes à l'intérieur de la microfibrille<sup>45</sup> qui

s'accordent sur le fait qu'elles sont formées de chaînes de cellulose étirées et de régions désorganisées distribuées le long de leur grand axe suite à des dislocations de certaines chaînes (figure I.4B). L'existence des zones désordonnées a été démontrée par des expériences de RMN du solide  $^{13}\text{C}$  CP/MAS,<sup>46</sup> de diffraction des rayons X aux grands angles et aux petits angles,<sup>47</sup> ainsi que par des tests de traction sur des fibres de ramie.<sup>48</sup>

Le modèle microfibrillaire de la cellulose considère un cœur très cristallin entouré de chaînes de surface moins organisées et dont la cohésion avec les chaînes internes est moindre. La proportion de chaînes de surface, dont le signal en RMN du solide est différent de celui du cœur cristallin, dépend directement des dimensions de la microfibrille.<sup>49,50</sup> Par conséquent, la fraction de cellulose non cristalline, correspondant aux chaînes de surface et aux zones désorganisées, est d'autant plus élevée que la microfibrille est fine.

Les microfibrilles présentent des formes, des dimensions et des cristallinités variables suivant l'origine de la cellulose comme l'ont montré des observations par microscopie électronique en transmission.<sup>51</sup> La longueur, de l'ordre du micron, est toujours nettement plus importante que la largeur. Cette dernière peut varier de 2-3 nm dans la paroi primaire des plantes à 60 nm chez certaines algues. Par observation de coupes de parois préparées par ultramicrotomie, il a été montré que la section des microfibrilles de cellulose de *Valonia*, par exemple, était généralement rectangulaire, alors que dans le cas de la tunicine, la section était plutôt en forme de parallélogramme (figure I.5).



**Figure I.5.** Morphologie des microfibrilles selon l'origine de la cellulose et ordre de grandeur des largeurs.

Les microfibrilles de cellulose sont l'élément de base des parois cellulaires végétales formant une structure composite naturelle. Ces parois sont constituées d'un enchevêtrement

de microfibrilles incluses dans une matrice amorphe d'hémicellulose, de pectines, de lignine et de protéines. Les parois primaires et secondaires diffèrent par l'arrangement des microfibrilles au sein même de la paroi. Dans les parois primaires, les microfibrilles semblent ne pas avoir d'ordre particulier. Ces parois présentent une structure en couche de microfibrilles entrecroisées sans qu'il y ait de directions privilégiées. Par contre, dans les parois secondaires, les microfibrilles sont parallèles, donnant un arrangement plus dense. Selon l'orientation des microfibrilles, on distingue des strates concentriques dans lesquelles elles sont alignées entre elles avec un angle spécifique par rapport à l'axe de la cellule.<sup>52</sup>

## I.2 Nanocristaux de cellulose

L'hydrolyse acide des microfibrilles de cellulose permet de dégrader préférentiellement les zones désorganisées (figure I.4B) par diffusion préférentielle des ions hydronium. La coupure hydrolytique des liaisons  $\beta$ -glycosidiques conduit ainsi à l'individualisation des parties cristallines sous forme de nanocristaux plus courts que les microfibrilles de départ.

Les cristallites de cellulose ont été isolés pour la première fois par Nickersson et Harble au milieu des années quarante en traitant du coton avec de l'acide sulfurique bouillant à 2,5 N pendant 30 min.<sup>53</sup> Ces travaux ont inspiré Rånby, quelques années plus tard, qui a trouvé que les cristallites isolés par hydrolyse de pâte de bois sont chargés négativement et forment une suspension stable à des pH compris entre 3 et 10,5.<sup>54-56</sup> La microscopie électronique en transmission a révélé la forme en aiguille de ces cristallites tandis que la diffraction des électrons a montré qu'ils ont la même structure cristalline que les fibres d'origine.<sup>57</sup> Le développement du traitement à l'acide chlorhydrique associé à la sonication a par ailleurs permis à Battista la commercialisation de cellulose dite "microcristalline".<sup>58,59</sup> Marchessault *et al.*<sup>60</sup> ont démontré que les suspensions de cristallites, qui forment des phases cristal liquide nématique, sont stabilisées grâce aux charges négatives portés par les esters de sulfate à la surface des particules et résultant de la réaction de l'acide sulfurique avec les groupements hydroxyles. C'est après la découverte de leur organisation en phase cristal liquide chirale nématique<sup>61</sup> et la démonstration de leur capacité de renfort dans les nanocomposites<sup>62</sup> que la recherche académique sur les nanocristaux de cellulose s'est fortement accrue.

## I.2.1 Préparation des nanocristaux de cellulose

Le principal procédé utilisé pour obtenir les nanocristaux de cellulose (NCC) est l'hydrolyse à l'acide sulfurique. Il est basé sur le protocole décrit par Revol *et al.*<sup>61</sup> Des conditions de réaction contrôlées (temps, température, concentration en acide et rapport acide/cellulose) sont nécessaires pour préparer de suspensions stables de nanocristaux. Les conditions doivent être suffisamment fortes pour éviter une hydrolyse partielle des fibres, mais sans causer une dégradation complète en D-glucose. Une fois les bâtonnets nanométriques obtenus, la réaction d'hydrolyse est arrêtée par refroidissement et dilution dans l'eau. L'acide est éliminé par des centrifugations/redispersions successives suivis d'une dialyse. Pour finir, un traitement de sonication est appliqué pour obtenir des objets individuels dans une suspension colloïdale stable.

Le rendement d'extraction varie généralement entre 20 et 45 % en masse de NCC obtenus par rapport à la masse de matériau cellulosique initiale, sauf dans le cas des linters de coton pour lesquels le rendement peut atteindre 80%. Plusieurs études ont été menées dans le but d'optimiser le rendement de l'hydrolyse.<sup>63-65</sup> La plupart s'accordent sur le fait que le facteur crucial qui détermine le rendement est la concentration en acide dont la valeur optimale est environ 64%. D'après Fan *et al.*,<sup>64</sup> la température et le temps de réaction semblent avoir moins d'influence.

Comme décrit précédemment, l'hydrolyse à l'acide sulfurique introduit des groupements sulfates chargés négativement à la surface des nanocristaux, induisant ainsi une stabilité colloïdale par répulsion électrostatique. La densité de charge, variant entre 0,15 et 0,6 e/nm<sup>2</sup>, augmente avec la concentration en acide, la durée d'hydrolyse, le rapport acide/cellulose et la température.<sup>65-67</sup> Cette densité peut être calculée par titration conductimétrique,<sup>68,69</sup> analyse élémentaire<sup>67</sup> ou par titration potentiométrique.<sup>7</sup> Ces méthodes permettent de calculer un taux de sulfate exprimé en mol/g de cellulose. Une connaissance de la taille des nanocristaux est nécessaire pour avoir une densité de charge exprimée en e/nm<sup>2</sup>.

L'acide chlorhydrique a été également utilisé dans la préparation des NCC. Les suspensions obtenues ne sont généralement pas stables et flocculent à cause de l'absence de charges de surface. On peut obtenir une suspension stable à partir de l'hydrolyse par HCl en réalisant une post-sulfatation mais le taux de groupements sulfates reste plus faible que celui

obtenu lors d'une hydrolyse directe par  $H_2SO_4$ .<sup>70,71</sup> D'autres acides ont été marginalement utilisés, comme l'acide hydrobromique<sup>72</sup> et l'acide phosphorique.<sup>73</sup>

## I.2.2 Morphologie et dimensions des nanocristaux de cellulose

Les dimensions géométriques des nanocristaux de cellulose (longueur  $L$ , largeur  $l$  et épaisseur  $e$ ) varient très fortement en fonction de la source de cellulose initiale et des conditions d'hydrolyse. Ces caractéristiques morphologiques sont généralement étudiées par microscopie (électronique en transmission, cryomicroscopie électronique, électronique à balayage, AFM) et par diffusion de rayonnements (neutrons et rayons X aux petits angles, rayons X aux grands angles, diffusion dynamique de lumière).

Des dimensions géométriques typiques pour des NCC issus de différentes sources de cellulose sont présentées dans le tableau I.1. Les données de ce tableau montrent que les dimensions des NCC varient sur une très large gamme. En conséquence, le facteur de forme des nanocristaux, défini comme le rapport longueur sur diamètre de la section, peut prendre des valeurs très variées comprises entre 10 et 100. Le facteur de forme est un paramètre clé régissant à la fois les propriétés d'organisation des NCC en phase cristal-liquide et le seuil de percolation qui gouverne les propriétés mécaniques de nanocomposites incorporant des NCC.<sup>74,75</sup> En fonction des propriétés recherchées, il est donc possible de choisir la source de cellulose et les conditions d'hydrolyse pour produire des NCC au facteur de forme le plus adapté.

La longueur finale des NCC dépend en partie de l'origine de la cellulose. Les NCC de tunicier, par exemple, sont plus longs que les NCC de bois. Ceci provient de l'important degré de cristallinité de la cellulose de tunicier comparée à celle du bois, qui réduit la fraction de cellulose amorphe dégradée par l'acide. Parallèlement, pour une même source, différentes études ont montré que les conditions d'hydrolyse influencent fortement la longueur des nanocristaux obtenus. Beck-Candanedo *et al.*<sup>66</sup> ont montré que les NCC issus de l'hydrolyse de pâte de bois sont plus courts quand le rapport acide/cellulose ou la durée d'hydrolyse sont augmentés. De manière similaire, dans le cas de NCC produits à partir de papier filtre Whatman, Dong *et al.*<sup>67</sup> ont montré que la longueur des nanocristaux décroît progressivement de 390 à 177 nm quand la durée d'hydrolyse augmente de 10 à 240 min. L'effet de la température d'hydrolyse sur la taille des NCC issus de linters de coton a été étudié par

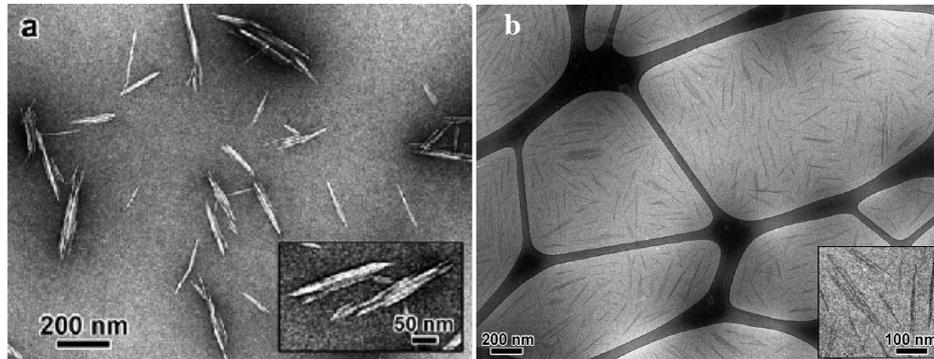
Elazzouzi-Hafraoui *et al.*<sup>69</sup> Pour des températures de 45, 54, 60 et 72°C, les auteurs ont obtenu respectivement des longueurs de 141, 131, 128 et 105 nm.

**Tableau I.1.** Dimensions des NCC de sources diverses. MET : microscopie électronique en transmission; MEB : microscopie électronique à balayage; AFM: microscopie à force atomique; DLS : diffusion dynamique de la lumière; SANS : diffusion des neutrons aux petits angles; MCC : cellulose microcristalline. (D’après Habibi *et al.* 2010).<sup>3</sup>

source	longueur (nm)	largeur (nm)	technique	référence
bactéries	100-1000	10-50	MET	Araki <i>et al.</i> <sup>76</sup>
	100-1000	30-50	MET	Roman <i>et al.</i> , <sup>7</sup> Grunnert <i>et al.</i> <sup>77</sup>
coton	100-150	5-10	MET	Araki <i>et al.</i> <sup>78</sup>
	70-170	~7	MET	Dong <i>et al.</i> <sup>68</sup>
	200-300	8	MET	Heux <i>et al.</i> <sup>79</sup>
	255	15	DLS	De Souza Lima <i>et al.</i> <sup>80</sup>
	150-210	5-11	AFM	Miller <i>et al.</i> <sup>81</sup>
Linters de coton	100-200	10-20	MEB	Roohani <i>et al.</i> <sup>82</sup>
	25-320	6-70	MET	Elazzouzi <i>et al.</i> <sup>69</sup>
	300-500	15-30	AFM	Li <i>et al.</i> <sup>83</sup>
MCC	35-265	3-48	MET	Elazzouzi <i>et al.</i> <sup>69</sup>
	250-270	23	MET	Pranger <i>et al.</i> <sup>84</sup>
	~500	10	AFM	Capadona <i>et al.</i> <sup>85</sup>
ramie	150-250	6-8	MET	Habibi <i>et al.</i> <sup>86</sup>
	50-150	5-10	MET	Junior de Menezes <i>et al.</i> <sup>87</sup>
sisal	100-500	3-5	MET	Garcia de Rodriguez <i>et al.</i> <sup>88</sup>
	150-280	3,5-6,5	MET	Siquiera <i>et al.</i> <sup>89</sup>
tunicine	-	18,2	SANS	Terech <i>et al.</i> <sup>90</sup>
	1160	16	DLS	De Souza Lima <i>et al.</i> <sup>91</sup>
	500-1000	10	MET	Angles <i>et al.</i> <sup>1</sup>
	1000-3000	15-30	MET	Kimur <i>et al.</i> <sup>92</sup>
	100-1000	15	MET	Heux <i>et al.</i> <sup>79</sup>
	1073	28	MET	Elazzouzi <i>et al.</i> <sup>69</sup>
Valonia	>1000	10-20	MET	Revol <i>et al.</i> <sup>93</sup>
Bois tendre	100-200	3-4	MET	Araki <i>et al.</i> <sup>70,94</sup>
	100-150	4-5	AFM	Beck <i>et al.</i> <sup>66</sup>
Bois dur	140-150	4-5	AFM	Beck <i>et al.</i> <sup>66</sup>

Les dimensions de la section des NCC (largeur  $l$  et épaisseur  $e$ ), quant à elles, semblent ne pas être fonction des conditions expérimentales d'hydrolyse. Par exemple, il n'a pas été noté de variation de largeur ou d'épaisseur avec la température.<sup>66,69</sup> En revanche, l'influence de l'origine de la cellulose est évidente. Les dimensions de la section des cristallites élémentaires formant les microfibrilles sont définies *in vivo* par les complexes terminaux.<sup>95</sup> Par conséquent les dimensions de la section des microfibrilles et des NCC qui résultent de leur hydrolyse acide dépendent essentiellement de l'origine biologique de la

cellulose (figure I.5). Toutefois, les conditions d'hydrolyse ne permettent pas toujours d'isoler les cristallites élémentaires. Les NCC peuvent donc être constitués de 2 à 3 cristallites élémentaires associés latéralement, comme dans le cas des NCC issus de coton ou de bambou.<sup>69,96</sup>

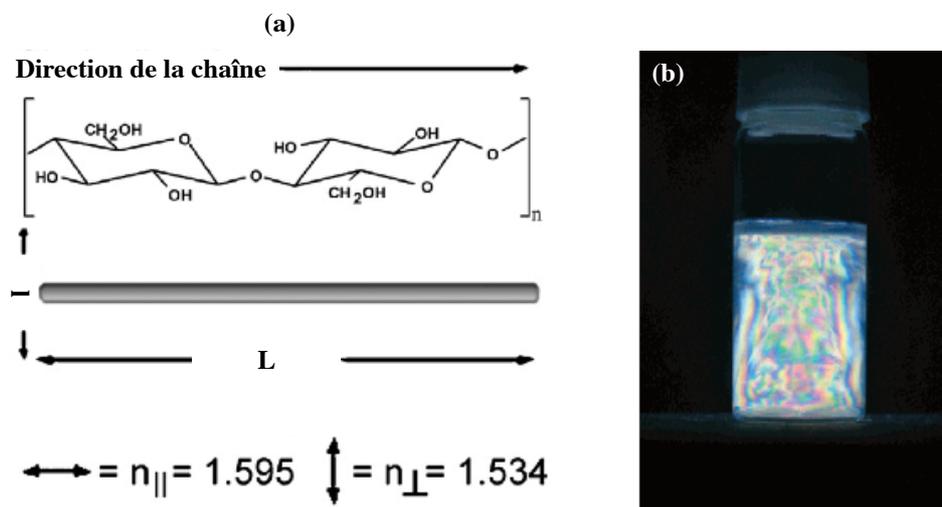


**Figure I.6.** a) NCC sulfatés de coton déposés sur un film de carbone observés par MET après coloration négative. b) Suspension de NCC sulfatés de coton observée par cryo-MET. Les NCC sont figés dans un mince film de glace vitreuse (D'après Elazzouzi-Hafraoui et al. 2008).<sup>69</sup>

Dans ce travail, nous avons utilisé une seule source de cellulose, les linters de coton, et un seul ensemble de paramètres pour l'hydrolyse (cf. chapitre II). La morphologie des NCC obtenus dans ces conditions a été l'objet d'une étude exhaustive réalisée par Elazzouzi-Hafraoui et al.<sup>69</sup> au CERMAV. Dans cette étude, des mesures de diffraction des rayons X montrent que la largeur et l'épaisseur des cristallites est d'environ 6 nm. Par microscopie électronique en transmission (MET), les NCC apparaissent formés d'un ou plusieurs cristallites élémentaires accolés latéralement (figure I.6a). Ces cristallites ne sont séparées ni au cours de l'hydrolyse ni après un traitement aux ultrasons. Les auteurs ont ensuite eu recours à la cryo-MET, observant ainsi les objets dispersés dans un film mince de glace vitreuse. Les images de cryo-MET confirment cette association (figure I.6b). Cette dernière observée à sec n'est donc pas un artefact de séchage et/ou de coloration. Les données obtenues par des techniques complémentaires d'imagerie et de diffraction/diffusion des rayons X ont donc montré que les NCC issus de linters de coton hydrolysés dans des conditions que nous utiliserons sont des particules plates constituées de l'association latérale de 2 à 3 cristallites élémentaires et de dimensions moyennes  $128 \times 26 \times 6 \text{ nm}^3$ . La polydispersité en longueur et en largeur des ces NCC est élevée et suit une loi log-normal.<sup>69</sup>

### I.2.3 Biréfringence sous écoulement d'une suspension diluée de NCC

Les suspensions de NCC présentent une biréfringence optique sous cisaillement. Observée entre deux polariseurs croisés, la suspension au repos apparaît sombre. En revanche, lorsqu'on agite la suspension, des domaines transitoires s'illuminent (figure I.7b). Les NCC étant des objets individuels allongés et d'indice optique intrinsèquement anisotrope (figure I.7a), ils sont individuellement source de biréfringence. Ils sont entourés d'une solution aqueuse d'indice optique 1,33, très différent de leur indice optique moyen (1,56). En traversant la suspension, la lumière est donc affectée par la distribution et l'orientation et leur disposition des NCC.



**Figure I.7.** a) schéma des NCC avec leurs indices de réfraction parallèle et perpendiculaire (d'après Klemm et al. 1998).<sup>13</sup> b) photo d'une suspension de NCC à 0,63% observée sous cisaillement entre polariseurs croisés (d'après Araki et al. 2001).<sup>76</sup>

Dans une suspension diluée de NCC au repos, les NCC sont en permanence en mouvement sous l'effet de l'agitation thermique. L'indice optique moyen à l'équilibre est identique dans toutes les directions à l'échelle de la longueur d'onde de la lumière (400 - 750 nm). A l'échelle de l'échantillon, le milieu est isotrope et, s'il est observé entre polariseurs croisés, il apparaît sombre. Lorsque l'on agite la suspension, les flux hydrodynamiques tendent à orienter localement les bâtonnets parallèlement entre eux, et parallèlement à la direction du cisaillement, ce qui entraîne une orientation moyenne non-isotrope à l'échelle de quelques millimètres. Ces domaines d'orientation moyenne selon une direction donnée sont

transitoires et disparaissent lorsque l'on cesse l'agitation en raison de la viscosité du fluide et de la désorientation brownienne des NCC. Quand on agite la suspension entre polariseurs croisés, les domaines illuminés sont alors ceux dont l'orientation moyenne ne coïncide pas avec les axes propres de polarisation des polariseurs croisés.

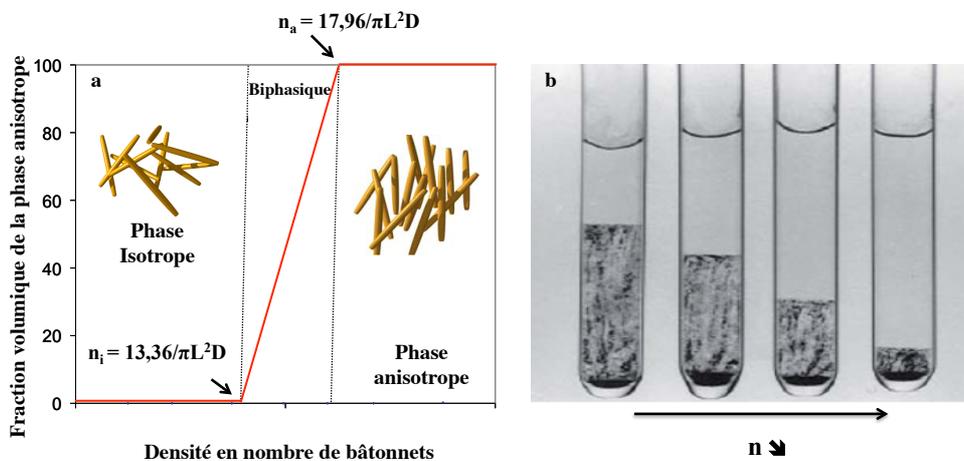
Ce test est pertinent pour évaluer la bonne dispersion des nanoparticules car ces domaines illuminés n'apparaissent pas lorsque les NCC sont agrégés.<sup>78,97</sup> En effet, les agrégats constituent à l'échelle de la longueur d'onde des objets d'indice moyen plutôt indépendant de la direction et ces objets ne s'orientent plus parallèlement entre eux sous l'effet d'un cisaillement. Il n'en résulte aucun effet anisotrope macroscopique sous agitation et la suspension reste uniformément sombre entre polariseurs croisés.

## **I.2.4 Auto-organisation des nanocristaux de cellulose**

L'un des phénomènes les plus spectaculaires dans les suspensions colloïdales concentrées d'objets anisotropes est leur organisation spontanée en structures ordonnées. A partir d'une concentration critique, les bâtonnets pointent dans une direction commune, ce qui est la caractéristique des cristaux liquides nématiques lyotropes. Cette découverte remonte à environ un siècle avec le système de pentoxyde de vanadium observé par Zocher. Plus tard, ce phénomène a été observé pour de nombreux systèmes comme des nanoparticules d'oxydes métalliques,<sup>98-100</sup> des nanocristaux de poly(tetrafluoroéthylène),<sup>101</sup> le virus de la mosaïque du tabac,<sup>102</sup> le virus fd,<sup>103,104</sup> des fragments d'ADN,<sup>105</sup> des fibres de collagène,<sup>106</sup> ou encore des nanocristaux de chitine.<sup>107</sup> Ce phénomène a été également observé pour des suspensions de nanocristaux de cellulose.<sup>60,61</sup>

L'origine de cette organisation est entropique. Les particules sont réparties de façon aléatoire dans la phase isotrope. Il n'y a ni ordre de position ni ordre d'orientation privilégié. Dans la phase nématique, les particules ont des positions aléatoires mais possèdent un ordre orientationnel. Le système perd donc de l'entropie en raison de l'augmentation de l'ordre mais gagne de l'entropie de translation à partir d'une certaine concentration en particule lorsqu'il s'organise en raison de la plus grande liberté de mouvement de translation des particules lorsqu'elles sont ordonnées. Ce phénomène a été démontré analytiquement par Onsager en 1949 pour des interactions de cœur dur.<sup>75</sup>

La transition est alors du premier ordre et les concentrations critiques sont calculées, dans la limite  $d/L \ll 1$ , par les relations :  $n_i = 13,36/\pi L^2 D$  et  $n_a = 17,96/\pi L^2 D$ , avec  $L$  la longueur du bâtonnet,  $D$  son diamètre,  $n_i$  la densité en nombre de bâtonnets à partir de laquelle la première goutte de phase anisotrope apparaît et  $n_a$  celle où la suspension devient totalement anisotrope (figure I.8 a). La théorie d'Onsager a depuis été étendue par simulation numérique pour tenir compte du facteur de forme fini<sup>108</sup> et de l'effet de la polydispersité.<sup>109</sup> Dans leur théorie, dite "SLO", Stroobants, Lekkerkerker et Ojdik ont tenu compte de la répulsion électrostatique qui induit un diamètre effectif supérieur au diamètre géométrique et ont calculé les concentrations de la suspension dans chacune des deux phases.<sup>110</sup>

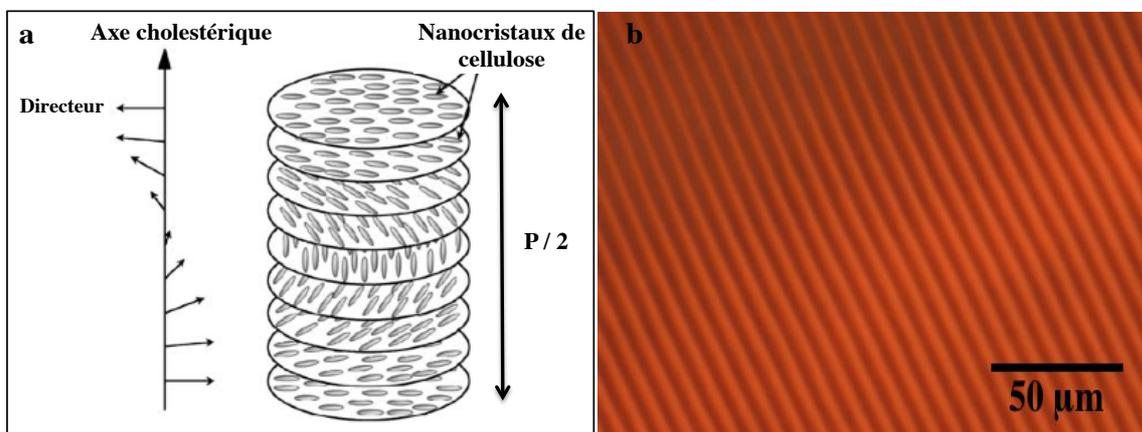


**Figure I.8.** a) Diagramme de phase d'une suspension colloïdale d'objets anisométriques et concentrations critiques calculées par Onsager (1949)<sup>75</sup>; b) visualisation de la variation de la fraction volumique de la phase anisotrope en fonction de la concentration en nanocristaux de cellulose (d'après Dong et al. 1996).<sup>68</sup>

### I.2.4.1 Auto-organisation des NCC dans l'eau

En 1959, Marchessault *et al.* ont mis en évidence le caractère biréfringent permanent des suspensions de nanocristaux de cellulose, révélant ainsi la formation d'une phase anisotrope au repos.<sup>60</sup> Une trentaine d'années plus tard, Revol *et al.* ont montré qu'au delà d'une certaine concentration critique, une suspension de NCC se sépare spontanément en une phase supérieure isotrope et une phase inférieure anisotrope biréfringente (figure I.8b).<sup>61</sup> Par rapport à des particules d'origine minérale comme les oxydes de fer ou d'aluminium, les NCC s'organisent sous la forme de cristaux liquides nématiques dont le directeur tourne d'un angle constant par rapport à un axe nommé axe cholestérique (figure I.9a). Cette structure, appelée chirale nématique ou cholestérique, possède des propriétés de biréfringence particulières. Lors

de l'observation entre polariseurs croisés, le changement régulier d'orientation au sein du cristal liquide résulte en une alternance de franges d'illumination et d'extinction lorsque l'échantillon est observé perpendiculairement à l'axe du cholestérique. La figure ressemble ainsi à une empreinte digitale (ou *fingerprint*) (figure I.9b). Cette structure hélicoïdale est caractérisée par le pas  $P$ , qui correspond à la distance mesurée après une rotation de  $360^\circ$  des objets. Par conséquent, la distance entre deux bandes identiques (illuminées ou sombres) correspond à un demi-pas ( $P/2$ ) (figure I.9). Le pas peut varier généralement de quelques dixièmes à quelques dizaines de microns. Les phases cholestériques de NCC ont fait l'objet de différentes études menées en particulier au Canada par l'équipe de Derek Gray ainsi qu'au CERMAV. L'influence de différents paramètres sur les propriétés de ces phases (concentrations critiques et pas de l'hélice) a été mise en évidence.

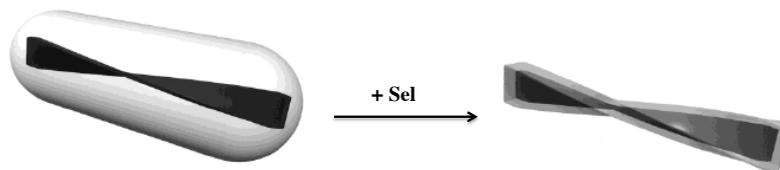


**Figure I.9.** Schéma d'organisation cholestérique d'après Revol et al. 1992<sup>61</sup> (a) et micrographie optique entre polariseurs croisés de la texture en "fingerprints" (b).

#### I.2.4.1.a. Influence de l'ajout d'un électrolyte

Pour des suspensions de bâtons assimilables à des polyélectrolytes, comme c'est le cas des NCC chargés en surface par l'hydrolyse acide, les concentrations critiques prédites par Onsager qui tiennent compte de la géométrie des bâtonnets sont supérieures aux concentrations critiques expérimentales. Cette différence est due à la force de répulsion électrostatique entre les nanoparticules induite par les groupements sulfates chargés négativement à la surface des nanocristaux, ce qui provoque une augmentation du volume exclu et donc une diminution des concentrations critiques. L'addition en excès d'un électrolyte monovalent dans des suspensions de NCC écrante les interactions électrostatiques, ce qui entraîne une diminution du volume exclu et donc une augmentation des concentrations critiques qui suit l'augmentation de la concentration en sel ajouté.<sup>68</sup> Néanmoins, à partir d'une

certaine concentration en sel, un phénomène de floculation apparaît. Typiquement, une suspension obtenue par hydrolyse à l'acide sulfurique précipite en présence d'électrolyte à partir d'une concentration d'environ 20 mM.<sup>94</sup> Le pas de la phase anisotrope cholestérique dépend également de la concentration en sel ajouté. En effet, la double couche électrique, formée par les groupements sulfates à la surface des NCC, limite les interactions chirales entre les nano-objets. L'addition d'électrolytes induit une diminution de l'épaisseur de cette couche (figure I.10) et par conséquent les interactions chirales augmentent ce qui se traduit par des pas plus petits.



**Figure I.10.** Représentation schématique de nanocristaux de cellulose bactérienne. Avant l'ajout de sel, les charges de surface forment une double couche électrique et donne lieu à un bâtonnet d'apparence non chirale. Après ajout du sel, l'épaisseur de la double couche diminue et la particule effective a l'apparence d'un bâtonnet hélicoïdal (d'après Araki et al. 2001).<sup>76</sup>

Cette double couche électrique pourrait empêcher la formation de la phase cholestérique. Araki *et al.*<sup>76</sup> ont observé qu'une suspension de NCC de cellulose bactérienne forme une phase nématique biréfringente sans aucune présence de *fingerprints*. Après ajout de 0,1 mM de NaCl, la phase nématique devient cholestérique. Hirai *et al.*<sup>111</sup> ont étudié la séparation de phase des suspensions de NCC similaires. Pour des suspensions à une concentration fixe, ils ont observé une diminution du pas cholestérique en augmentant la concentration de sel ajouté de 0 à 0,75 mM, résultat conforme avec ce qui a été observé auparavant. Au-delà de cette valeur, entre 1 et 2 mM, de façon étonnante, le pas augmente pour une raison qui n'est pas clairement définie.

#### **I.2.4.1.b. Influence de la nature du contre-ion**

Les interactions entre particules et la séparation de phase sont aussi fortement affectées par le contre-ion associé aux charges négatives des NCC. D'une façon plus générale, la présence et la nature du contre-ion gouvernent la majorité des propriétés des polyélectrolytes comme la pression osmotique,<sup>112</sup> l'hydratation<sup>113</sup> et les propriétés d'échanges d'ions.<sup>114</sup> Dong et Gray<sup>115</sup> ont étudié les propriétés des phases cholestériques de NCC pour

différents types de contre-ions, organiques ou inorganiques. La plus faible concentration critique est obtenue en présence de  $H^+$  et, pour chaque série, la concentration critique augmente avec la taille du contre-ion.

Dans le même temps, ils ont étudié la variation du volume hydrodynamique des NCC en fonction du contre-ion associé par spectroscopie de corrélation de photons. Les résultats montrent que pour les contre-ions de nature organique comme le triméthyl ammonium, contrairement aux contre-ions inorganiques, l'augmentation de la taille du contre-ion entraîne une augmentation du volume hydrodynamique, donc une augmentation du volume exclu, ce qui devrait conduire à une diminution de la concentration critique. Les auteurs expliquent cette contradiction par l'existence d'un équilibre entre des forces de répulsion, qui induisent une augmentation du volume exclu entre les NCC, et des forces d'attraction hydrophobes entre les chaînes alkyles des contre-ions qui augmentent avec l'augmentation de l'hydrophobicité du contre-ion et induisent une réduction du volume exclu.

#### **I.2.4.2 Auto-organisation des NCC dans les solvants organiques**

La première description de l'auto-organisation des nanocristaux de cellulose dans des solvants apolaires a été proposée par Heux *et al.*<sup>79</sup> Grâce à l'adsorption d'un tensioactif, Beycostat NA (BNA), à la surface des NCC, qui les rend hydrophobes, il est possible de disperser les NCC dans des solvants organiques. L'auto-organisation de ces nanocristaux organophiles est caractérisée par des concentrations critiques élevées par rapport à celles mesurées dans l'eau et par des pas cholestériques largement inférieurs (2-6  $\mu m$ ) à ceux trouvés dans l'eau.<sup>116</sup> Ceci vient du fait que les répulsions électrostatiques sont remplacées par des répulsions stériques, ce qui entraîne une diminution du volume exclu qui tend à augmenter les concentrations critiques et entraîne également une augmentation des interactions chirales caractérisée par des pas inférieurs. Comme les répulsions électrostatiques ne sont plus présentes et que les particules sont assimilées à des objets à interactions de cœur dur, les auteurs ont montré que l'auto-organisation obéit à la théorie d'Onsager, dans le sens où les concentrations critiques dépendent uniquement du facteur de forme. Cependant, le système ne suit pas les prédictions analytiques des concentrations critiques pour des bâtonnets à faible facteur de forme<sup>108</sup> et les auteurs suggèrent des interactions interparticulaires qui modifient profondément le diagramme de phase.

Zhou *et al.*<sup>117</sup> ont préparé des suspensions de NCC dispersés dans le toluène par adsorption d'un copolymère tribloc formé de xyloglucane, de polyéthylène glycol et de polystyrène. La seule information obtenue sur l'auto-organisation de ce système est la valeur du pas cholestérique qui est de 17  $\mu\text{m}$ , valeur comparable à celles obtenues dans l'eau.

### I.2.4.3 Origine de la chiralité dans les phases cholestériques

L'origine de l'organisation hélicoïdale spontanée au sein des phases cholestériques formées par les nanocristaux de cellulose, ou par les cristaux-liquides colloïdaux en général, reste un mystère non déchiffré. Dans le cas des NCC, à cause de l'absence de chiralité structurale dans la molécule de base, Revol *et al.* ont proposé deux mécanismes possibles pour expliquer cette chiralité. Le premier est basé sur une distribution hélicoïdale des charges à la surface.<sup>61</sup> Le deuxième fait appel à une torsion géométrique dans les bâtonnets eux-mêmes,<sup>118</sup> hypothèse confirmée par la même équipe par des mesures de diffusion de neutrons aux petits angles.<sup>119</sup> Les travaux de Heux *et al.*<sup>79</sup> ont éliminé l'hypothèse de la distribution chirale des charges aux dépens de celle de la géométrie torsadée des NCC puisque des phases cholestériques se forment pour des suspensions de NCC stabilisés stériquement et dispersés dans des solvants organiques. Cependant, la même équipe a trouvé que les pas cholestériques correspondants sont significativement inférieurs à ceux des NCC sulfatés et dispersés dans l'eau. Les auteurs affirment que si les interactions chirales sont d'origine géométrique, ces dernières, et donc le pas, doivent dépendre de la distance entre les nanoparticules. Or, ils ont trouvé que pour une même distance interparticulaire, le pas mesuré dans le cyclohexane est beaucoup plus petit que celui mesuré dans l'eau, même à haute concentration en sel. Ceci les a amenés à dire que les interactions chirales pourraient dépendre plutôt de la constante diélectrique du solvant que des contraintes géométriques.<sup>116</sup> En regardant d'autres bâtonnets colloïdaux ressemblant aux NCC, l'origine géométrique ne semble pas être le seul paramètre induisant la formation spontanée des phases cholestériques. Le virus de la mosaïque du tabac ne forme pas une phase cholestérique mais plutôt nématique malgré sa structure hélicoïdale.<sup>120</sup> Grelet et Fraden<sup>104</sup> avaient réussi à greffer des chaînes de PEG sur la surface de virus fd. La concentration en sel  $C^*$  pour laquelle toutes les charges de surface sont écrantées est de 15 mM, concentration pour laquelle le système devient purement stabilisé stériquement. Ils ont trouvé que pour des concentrations croissantes, au-delà de  $C^*$ , le pas cholestérique augmente. Les auteurs ont conclu que l'origine des interactions chirales pourrait être des forces très

faibles et subtiles. Toutes ces différentes constatations montrent la difficulté d'élucider l'origine de la chiralité.

## **I.3 Modifications de surface des nanocristaux de cellulose**

Comme nous l'avons vu précédemment, les propriétés de surface des NCC gouvernent un grand nombre de propriétés de ces nanoparticules comme leur stabilité colloïdale ou la formation de phases cholestériques. Différentes études ont donc été menées pour modifier de façon contrôlée la surface des NCC et introduire de nouvelles fonctionnalités chimiques (groupement réactif, charge électrique positive ou négative autre que le sulfate, etc.) ou physiques (modulation des forces d'interaction, marquage fluorescent, etc.) ou bien pour améliorer la dispersion des NCC dans des solvants apolaires ou des matrices de polymères hydrophobes pour élaborer des matériaux nanocomposites. Le défi d'une modification donnée consiste à limiter la réaction à la surface des NCC sans dégrader leur cœur cristallin.

Nous allons diviser les différents types de modifications en trois catégories : les modifications non covalentes, les modifications par greffage de nouvelles fonctions ou de petites molécules et le greffage de chaînes de polymère.

### **I.3.1 Modifications non covalentes**

Les modifications de surface non covalentes des nanocristaux de cellulose ont été réalisées par adsorption de tensioactifs. Cette approche a été introduite par Heux *et al.*<sup>79</sup> au CERMAV avec un tensioactif commercial, le BNA (CECCA), constitué d'une tête hydrophile formée par un mono- ou un diester de l'acide phosphorique et une queue hydrophobe formée par une chaîne alkyle avec un noyau aromatique. Les nanocristaux revêtus de BNA sont facilement dispersés dans des solvants apolaires, notamment le toluène et le cyclohexane. L'étude du système par diffusion des neutrons aux petits angles a montré que le tensioactif forme une couche d'environ 1,5 nm d'épaisseur.<sup>121</sup> L'introduction de ces NCC modifiés dans une matrice de polypropylène isotactique montre une bonne compatibilité et une amélioration des propriétés mécaniques a été obtenue. Comme mentionné précédemment, les NCC

recouverts de BNA conservent leurs propriétés d'organisation en phase cholestérique mais l'origine stérique des interactions augmente les concentrations critiques et diminue le pas.<sup>116</sup>

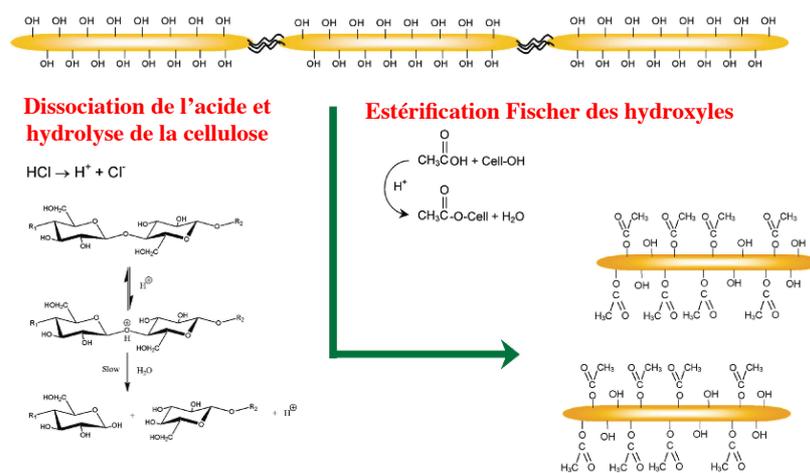
Différents groupes ont utilisé cette stratégie. Un tensioactif anionique a été utilisé par Bondeson *et al.*<sup>122</sup> pour améliorer la dispersion des NCC dans l'acide polylactique. Kim *et al.*<sup>123</sup> et Rojas *et al.*<sup>124</sup> ont dispersés des NCC dans un composite à base de polystyrène à l'aide de tensioactifs non ioniques. Zhou *et al.*<sup>117</sup> ont synthétisé un copolymère tribloc formé de xyloglucane, de polyéthylène glycol et de polystyrène. Le bloc de xyloglucane, ayant une affinité pour la cellulose, s'adsorbe sur la surface des NCC qui seront ensuite facilement dispersés dans des solvants apolaires. Filpponen *et al.*<sup>125</sup> ont récemment proposé une méthode générale de modification de surface de différents matériaux cellulosiques basée sur l'adsorption de chaînes de carboxyméthyl cellulose (CMC) déjà modifiés par un groupement azoture ou alcyne. Ce dernier peut être le site d'une modification par chimie "click". Sato *et al.*<sup>126</sup> ont testé une méthode consistant à greffer sur des chaînes de polyacrylamide des oligonucléotides ayant la capacité de se fixer à la cellulose. L'étude a été menée par microbalance à quartz et a révélé une bonne affinité de ces polymères modifiés avec la cellulose native. Salajkova *et al.*<sup>127</sup> ont adsorbé des sels d'ammonium quaternaires ce qui leur a permis de disperser les NCC dans du toluène. En revanche, aucune phase chirale nématique n'a été détectée.

## **I.3.2 Modifications par greffage de nouvelles fonctions ou de petites molécules**

### **I.3.2.1 Estérification**

Plusieurs méthodes qui font appel à une réaction d'estérification fondée sur les groupements hydroxyles de la cellulose ont été utilisées pour modifier la surface des NCC. Le problème de cette réaction vient de la difficulté de l'appliquer dans l'eau. Sassi et Chanzy<sup>128</sup> ont utilisé l'anhydride acétique dans de l'acide acétique pour fonctionnaliser des nanocristaux de cellulose issus de tunicine. En utilisant la MET et la diffraction des rayons X, ils ont observé que la réaction se fait dans un premier temps en surface de façon homogène. Une fois les chaînes de surface suffisamment modifiées, elles deviennent solubles dans le milieu et se détachent partiellement du cristal. Yuan *et al.*<sup>129</sup> ont conçu une méthode simple pour rendre les NCC hydrophobes en les mélangeant avec un anhydride alcényl-succinique puis en

lyophilisant. Le produit obtenu a été chauffé à 105°C puis dispersé facilement dans des solvants apolaires comme le toluène. L'estérification a été également appliquée par Cetin *et al.*<sup>130</sup> dans le DMF pour greffer des groupements d'acétate de vinyle. Les auteurs ont observé qu'en augmentant le temps de la réaction, les NCC ne conservent pas leur morphologie initiale. Une estérification en phase gaz sur des substrats de NCC a été étudiée par Berlioz *et al.*<sup>131</sup> dans le but de greffer des chaînes aliphatiques d'acide gras. Les résultats ont montré que la réaction progresse de la surface jusqu'au cœur. Pour une surface complètement fonctionnalisée, les densités de greffage étaient suffisantes pour qu'une cristallisation des chaînes de l'acide gras ait lieu.



**Figure I.11.** Schéma réactionnel illustrant l'hydrolyse et l'estérification simultanées (d'après Braun *et al.* 2008).<sup>132</sup>

Afin d'éviter la multiplication des étapes, Braun et Dorgan<sup>132</sup> ont combiné la préparation et la fonctionnalisation des NCC en une seule étape (figure I.11) par une estérification de Fischer en utilisant un mélange d'acide acétique et d'acide chlorhydrique. Cette méthode a amélioré la dispersion de ces nanoparticules dans l'acétate d'éthyle et le toluène. Notons également que l'estérification a été utilisée pour greffer des amorceurs, à partir desquels une polymérisation est menée dans le cadre d'un greffage de polymère sur les NCC par "grafting from". Cette partie sera traitée dans le paragraphe I.3.3.2.

### I.3.2.2 Ethérification

L'éthérification, comme l'estérification, a été utilisée pour fonctionnaliser les NCC. Il s'agit également de la même contrainte que pour l'estérification qui se traduit par un faible rendement de la réaction dans l'eau. Goussé *et al.*<sup>133</sup> ont greffé des

alkyldiméthylechlorosilanes sur la surface de NCC de tunicine via une étherification dans le toluène. Ils ont montré que pour des degrés de substitution (*DS*) compris entre 0,6 et 1, les NCC modifiés se dispersent bien dans des solvants apolaires comme le THF tout en gardant intactes leur morphologie et leur propriété de biréfringence. Pour des *DS* supérieurs à 1, la silylation atteint le cœur cristallin et la morphologie des nanocristaux est affectée. De la même manière, Grunert *et al.*<sup>77</sup> ont modifié les NCC de cellulose bactérienne avec du triméthylsilane dans le formamide. Malgré la bonne dispersion dans une matrice d'acétate butyrate de cellulose, ces nanocomposites ont de moins bonnes propriétés mécaniques comparées à celles obtenues à partir de NCC non modifiés. Hasani *et al.*<sup>134</sup> ont introduit des charges positives sur la surface des NCC en faisant réagir le chlorure d'époxypropyltriméthylammonium avec les groupements hydroxyles de la cellulose en conditions alcalines. Malgré un faible *DS* proche de 0,02, une suspension stable a été obtenue avec des propriétés de gel thixotrope. La suspension est biréfringente sous écoulement entre polariseurs croisés mais aucune séparation de phase chirale nématique n'a été détectée, probablement à cause d'une viscosité élevée. Zaman *et al.*<sup>135</sup> ont augmenté le *DS* de cette réaction en appliquant un procédé demi-sec avec un mélange d'eau et de DMSO. Les degrés de substitution obtenus varient avec la composition du solvant avec une valeur maximale d'environ 0,3 mol/mol. Les suspensions obtenues ne présentent pas de comportement de gel thixotrope mais les auteurs n'ont pas donné d'informations sur leur aptitude à l'auto-organisation.

### **I.3.2.3 Marquage des NCC par des groupements fluorescents**

Les techniques de fluorescence ont été largement utilisées dans les études de fixation cellulaires ou de biodistribution des nanoparticules dans les systèmes de libération de médicaments. Dong et Roman<sup>136</sup> ont décrit une méthode pour fixer la fluoresceine-5'-isothiocyanate (FITC), une molécule fluorescente, sur les NCC pour des applications de bioimagerie. Leur méthode consiste, dans une première étape, à décorer la surface des nanoparticules par des groupements époxy via une réaction avec l'épichlorhydrine. Ensuite, le groupement époxy est ouvert avec l'hydroxyde d'ammonium pour introduire un groupement amine primaire. Enfin, le groupement amine réagit avec le groupement isothiocyanate de la FITC pour former une thio-urée. Nielsen *et al.*<sup>137</sup> ont simplifié les étapes en faisant réagir les molécules fluorescentes ayant un groupement isothiocyanate directement sur les NCC dans

0,1 M NaOH, ce qui conduit à la formation d'une liaison thiocarbamate. Ces auteurs ont également établi une méthode pour pouvoir accrocher des colorants ayant des groupements ester succinimide par chimie "click" entre les thiols et les alcènes.

### I.3.2.4 Oxydation dite « TEMPO »

Cette réaction fut introduite par de Nooy *et al.*<sup>138</sup> pour oxyder certains polysaccharides solubles dans l'eau. Ses avantages se résument par sa facilité et son efficacité dans l'eau sans avoir besoin de passer dans un solvant organique. De Nooy a montré que l'oxydation est sélective pour les groupements hydroxyles primaires. Araki *et al.*<sup>78</sup> ont appliqué cette oxydation à des NCC préparés par hydrolyse à l'HCl de fibres de cellulose. Dans l'équipe "Structure et Propriétés des Glycomatériaux" au CERMAV, cette réaction a été étudiée en détail, en particulier sur les NCC.<sup>139,140</sup>

La figure I.11 montre le mécanisme de cette oxydation. L'oxydant principal est l'ion hypochlorite (ClO<sup>-</sup>) qui forme en présence du NaBr un oxydant secondaire, l'ion hypobromite (BrO<sup>-</sup>). Ce dernier, interagissant avec le radical TEMPO (1), va générer un radical TEMPO (2) qui sera responsable de l'oxydation des alcools primaires (du carbone C6) en aldéhyde, dans un premier temps, puis en acide carboxylique, dans un second temps. Le maintien du pH à 10 tout au long de la réaction permet de régénérer le radical TEMPO (1) qui est donc utilisé en quantité catalytique.

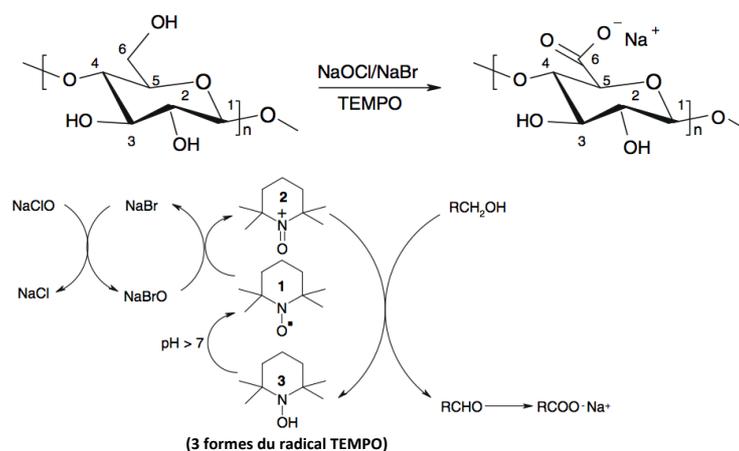
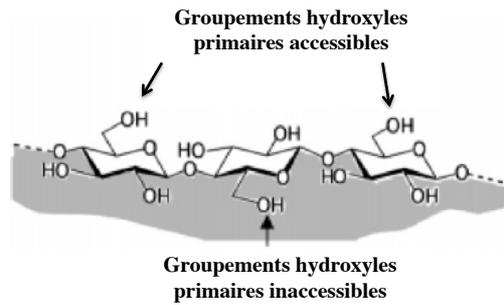


Figure I.12. Mécanisme de l'oxydation TEMPO (d'après Lasseuguette *et al.*, 2008).<sup>141</sup>

Montanari *et al.*<sup>139</sup> ont démontré que cette oxydation est limitée à la surface des NCC. Par conséquent, le degré d'oxydation maximum ( $DO_{max}$ ) est relié à l'origine biologique de la cellulose qui détermine le nombre de chaînes de cellulose de surface par rapport au nombre de chaînes total. Dans le cas des NCC issus du coton, le rapport entre les deux varie entre 0,22 et 0,38 (en supposant une épaisseur de 6 nm et une largeur variant entre 6 et 30 nm).



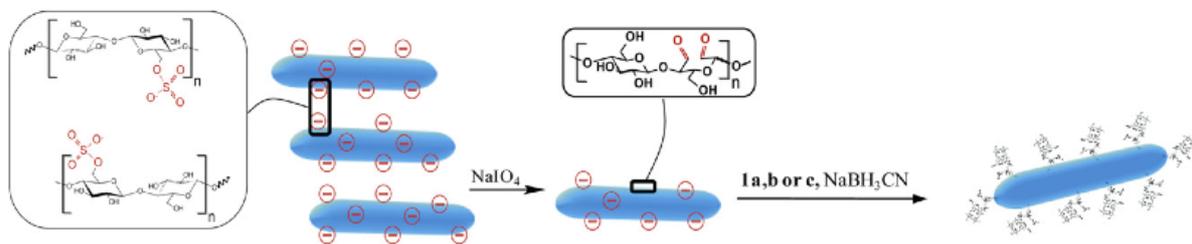
**Figure I.13.** Schéma de la chaîne de cellulose à la surface du cristal (d'après Montanari *et al.*, 2005).<sup>139</sup>

Comme la chaîne de cellulose est une hélice  $2_1$ , la moitié des hydroxyles primaires de surface est accessible, l'autre moitié étant dirigée vers l'intérieur du cristal (figure I.13). Par conséquent, le  $DO_{max}$  sera situé entre 0,11 et 0,19. Pour les NCC issus de tunicine, pour lesquels le pourcentage de chaînes de surface par rapport au nombre total de chaînes est de 20%, le  $DO_{max}$  est de l'ordre de 0,1. Habibi *et al.*<sup>140</sup> ont montré que cette oxydation, appliquée à des NCC issus de tunicine, n'affectait pas la morphologie des nanoparticules. Le degré d'oxydation peut être contrôlé par le nombre d'équivalents de NaOCl utilisé par rapport au nombre de moles d'unités de glucose. Les suspensions obtenues sont stables dans l'eau tout en conservant des propriétés de biréfringence.

L'oxydation TEMPO génère des groupements acide carboxylique à la surface des NCC, permettant ainsi d'introduire des charges négatives alternatives aux sulfates qui ne sont pas stables à pH élevé et offrant également des sites potentiels de modifications chimiques ultérieures.

### I.3.2.5 Oxydation à l'ion métaperiodate

L'oxydation à l'ion métaperiodate est une réaction spécifique qui permet de convertir les groupements alcools secondaires en groupements aldéhydes sans réactions secondaires significatives. Cette réaction a été largement utilisée pour l'analyse structurale des polysaccharides.<sup>142,143</sup> Appliquée à la cellulose, cette réaction permet l'ouverture du cycle pyranose entre les carbones C2 et C3 pour introduire deux groupements aldéhydes. Il existe peu d'exemples dans la littérature dans lesquels cette oxydation a été appliquée à des nanocristaux de cellulose. Kim *et al.*<sup>144</sup> ont oxydé des microfibrilles de cellulose issues d'une algue marine, *Cladophora*. Leurs résultats ont montré que l'oxydation est associée à une diminution de la cristallinité des objets. La présence des aldéhydes a été mise en évidence par une réaction avec du thiosemicarbazide suivie du greffage de nanoparticules d'or sur les groupements thiol nouvellement générés. Les observations par MET montrent que ces nanoparticules d'or ne sont pas réparties de façon homogène à la surface des microfibrilles. Les auteurs en concluent que l'oxydation a eu lieu de façon hétérogène, formant des domaines isolés tout au long des bâtonnets. Récemment, Yang *et al.*<sup>145</sup> ont oxydé des NCC de bois dans le but de fabriquer des films pouvant être réticulés. Drogat *et al.*<sup>146</sup> et Dash *et al.*<sup>147</sup> ont généré des groupements aldéhydes sur les NCC pour greffer respectivement de la porphyrine (figure I.14) et des alkyles amines, par amination réductrice. Dans la première étude, un *DO* de 0,16 mol/mol d'anhydroglucose a été mesuré par dosage du métaperiodate restant. Cependant, dans la deuxième étude de Dash *et al.*<sup>147</sup>, de faibles *DO* (0,01-0,03) ont été obtenus. Les auteurs affirment qu'en utilisant un large excès d'amines (20 équivalents), l'amination réductrice est totale.



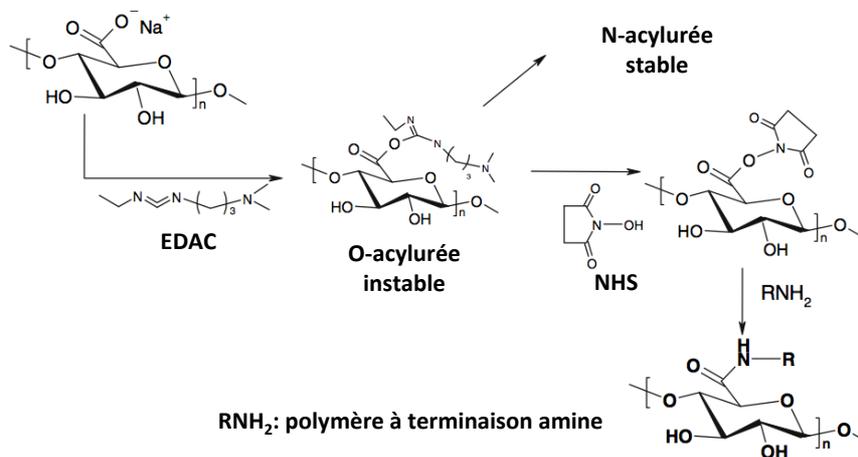
**Figure I.14.** Schéma réactionnel du greffage de la porphyrine sur les NCC par oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice (d'après Drogat *et al.*, 2012).<sup>146</sup>

### I.3.3 Greffage de chaînes de polymère

Le greffage de chaînes de polymère sur la surface des nanocristaux de cellulose se fait essentiellement en suivant deux stratégies. La première, appelée "*grafting onto*", consiste à greffer de façon covalente un polymère déjà synthétisé par l'une de ses deux extrémités via une réaction dépendant des groupements fonctionnels impliqués. La deuxième, connue sous le nom de "*grafting from*", fait appel, dans un premier temps, au greffage d'un amorceur suivi d'une polymérisation *in situ* depuis la surface des particules. D'une façon générale, la stratégie du *grafting onto* ne permet pas, pour des raisons d'encombrement stérique, d'atteindre les fortes densités de greffage permises par le *grafting from*. En revanche, ce dernier nécessite souvent de disperser les NCC dans des solvants apolaires, ce qui représente une contrainte technique et environnementale. De plus, la caractérisation des chaînes greffées est souvent difficile.

### 1.3.3.1 *Grafting onto*

Cette approche a été utilisée par plusieurs équipes pour greffer des chaînes de polymère sur des NCC. Les premiers travaux ont été réalisés par Araki *et al.*<sup>78</sup> Après avoir oxydé la surface des NCC de coton par la méthode TEMPO (cf. § 1.3.2.4), ces auteurs ont greffé des chaînes de poly(éthylène glycol) de masse 1000 g/mol portant une terminaison amine, via une amidation (couplage peptidique).

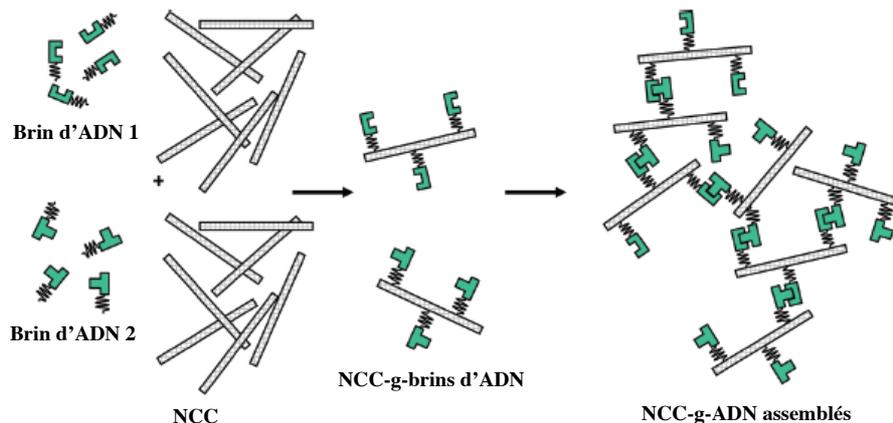


**Figure 1.15.** Réaction de couplage peptidique en présence d'EDAC et de NHS à partir des groupements acide carboxylique générés par oxydation TEMPO de la cellulose (d'après Lasseguette *et al.*, 2008).<sup>141</sup>

Cette amidation a été réalisée en utilisant deux agents de couplage : le 1-éthyl-3,3-diméthylaminopropyl)carbodi-imide (EDAC) et le N-hydroxysuccinimide (NHS). L'activation de la fonction acide carboxylique se fait lors une première étape grâce à l'EDAC

qui va donner un composé d'o-acylurée instable (figure I.15). Le NHS intervient dans un deuxième temps pour empêcher l'O-acylurée de subir un réarrangement donnant un N-acylurée stable et permettre la réaction avec le polymère à terminaison amine. Ces trois étapes ont lieu simultanément. Les densités de greffage obtenues par Araki *et al.*<sup>78</sup> pour le greffage de PEG1000 sont de l'ordre de 0,04 mol/mol. Comme le montre l'observation d'une texture en *fingerprints* et même si les auteurs ne présentent pas d'étude approfondie des propriétés, les NCC décorés de PEG peuvent s'auto-organiser en phase cholestérique. Ces nanocristaux forment également des suspensions stables dans le chloroforme. Par ailleurs, une bonne dispersion de microfibrilles de cellulose, dans le toluène, a été obtenue par Lasseguette<sup>141</sup> après avoir greffé sur la surface des alkylamines par couplage peptidique.

Mangalam *et al.*<sup>148</sup> ont utilisé la même stratégie pour greffer sur la surface des NCC des oligonucléotides d'ADN. En mélangeant deux lots de NCC portant des simples brins d'ADN complémentaires, des complexes hydrides NCC-ADN à l'échelle nanométrique ont pu être formés (figure I.16).



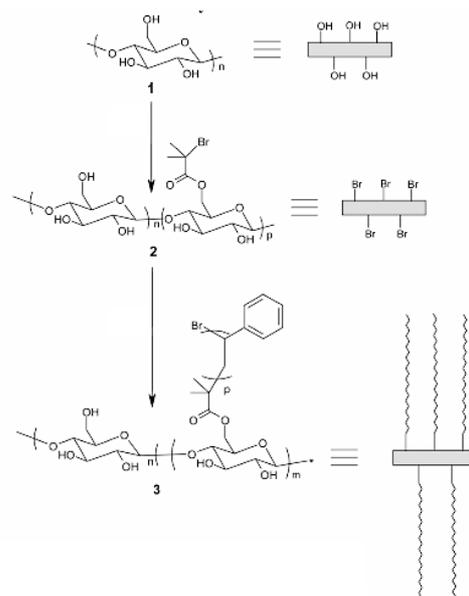
**Figure I.16.** Schéma de l'assemblage des NCC greffés de brins d'ADN complémentaires d'après Mangalam *et al.*, 2009).<sup>148</sup>

Toujours avec la même stratégie (oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique), Harrison *et al.*<sup>149</sup> ont greffé des chaînes de polystyrène et de poly(tert-butyl acrylate) synthétisés par ATRP, de masse environ 10000 g/mol et portant une terminaison amine. La largeur des NCC modifiés a subi une augmentation significative comme le montrent les images de MET et d'AFM. Ljunberg *et al.*<sup>150</sup> ont greffé du polypropylène maléique (PP-g-MA) sur des NCC de tunicine. Les nanocristaux modifiés ont montré une bonne compatibilité avec une matrice de polypropylène atactique. Habibi *et al.*<sup>151</sup> et Cao *et al.*<sup>152</sup> ont greffé des

chaînes de poly(caprolactone) sur des NCC utilisant un couplage avec l'isocyanate dans du toluène. Les auteurs ont montré que les chaînes greffés à la surface, étant sous forme semi-cristalline, induisaient un phénomène de co-cristallisation avec les chaînes libres de la matrice, formant ainsi une continuité de phase entre la matrice et les charges et menant à une très nette amélioration des propriétés mécaniques. Avec le même couplage, Siquiera *et al.*<sup>89</sup> ont greffé de longues chaînes d'isocyanate avec des *DS* atteignant 0,07 mol/mol d'anhydroglucose, en utilisant un nouveau procédé d'échange de solvant. Enfin, Kloser et Gray<sup>153</sup> ont décrit le greffage de chaînes de poly (oxyde d'éthylène) de masse molaire d'environ 2000 g/mol et ayant une terminaison avec un groupement époxy. Pour ce type de liaison, la preuve de la covalence du greffage ne peut pas être facilement établie par RMN ou spectroscopie infrarouge. Par contre, les échantillons greffés de polymère conservent une stabilité colloïdale après désulfatation, ce qui n'était pas le cas des nanocristaux non modifiés.

### I.3.3.2 Grafting from

L'utilisation de l'approche "grafting from" sur les NCC ne date que de quelques années. Habibi *et al.*<sup>86</sup> ont utilisé une polymérisation par ouverture de cycle (ROP) catalysée par l'octoate d'étain ( $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ ) comme catalyseur pour greffer des chaînes de poly(caprolactone) sur les NCC. Ni les densités de greffage, ni les longueurs des chaînes greffées n'ont été déterminées. Chen *et al.*<sup>154</sup> et Li *et al.*<sup>83</sup> ont conduit des études similaires en utilisant une irradiation par des microondes pour augmenter le rendement du greffage.



**Figure I.17.** Schéma réactionnel de la polymérisation du polystyrène par ATRP à partir de la surface des NCC (d'après Morandi *et al.*, 2009).<sup>155</sup>

Les premiers greffages de différents polymères par polymérisation radicalaire à transfert d'atome (ATRP) ont été rapportés par Yi *et al.*<sup>156,157</sup> mais la réussite du greffage n'a pas été clairement démontrée. Morandi *et al.*<sup>155</sup> ont fait croître des chaînes de poly(styrène) (PS) sur la surface des NCC par ATRP dans le DMF en utilisant le bromure de 2-bromoisobutyryl (Br-iBBr) comme amorceur (figure I.17). Plusieurs longueurs de chaînes ont été préparées avec des masses molaires  $M_n$  variant de 3000 à 18000 g/mol. Ces auteurs ont greffé par la même méthode des chaînes de PS photoclivables.<sup>158</sup> Zoppe *et al.*<sup>159</sup> ont utilisé une polymérisation radicalaire vivante à transfert d'électron singulier (SET-LRP) pour greffer des chaînes d'un polymère thermostimulable, le poly(n-isopropylacrylamide) (PNIPAM), dont la LCST est de 32°C. En variant la concentration en amorceur, différents pourcentages massiques de polymère greffé ont été calculés par spectrométrie de photoélectrons induits par rayons X (XPS) et par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Une différence entre les valeurs qui variaient entre 60 et 90% a été trouvée selon la technique utilisée. Les concentrations variées en monomères ont permis d'obtenir différentes longueurs de chaînes greffées ayant une masse molaire  $M_n$  entre 5000 et 40000 g/mol. Grâce à la présence du polymère thermosensible, la viscosité des suspensions de NCC greffés augmente significativement quand la température dépasse 32°C. Ces NCC greffés de PNIPAM ont été ensuite utilisés pour stabiliser des émulsions d'heptane dans l'eau.<sup>160</sup> Une rupture des émulsions a été observée quand la température atteignait des valeurs supérieures à 35 °C. Majoinen *et al.*<sup>161</sup> ont utilisé la même technique que Zoppe *et al.* tout en augmentant la densité de greffage initiale de l'amorceur, le bromure de 2-bromoisobutyryl (Br-iBBr), par une double étape de greffage en phase gaz suivie d'une autre en phase liquide dans le DMF. Le polymère greffé ensuite est le poly(tert-butyl acrylate). Malgré les densités élevées du greffage de l'amorceur (4,6 groupes/nm<sup>2</sup>), la densité de greffage des chaînes de polymère est d'environ 0,27 chaînes/nm<sup>2</sup>, les masses molaires moyennes en nombre variant entre 6000 et 36000 g/mol.



# **Chapitre II**

## **Matériel, méthodes et techniques de caractérisation**



## II. Matériel, méthodes et techniques de caractérisation

Ce chapitre sera composé de deux parties. Dans la première, nous décrirons la méthode de préparation des nanocristaux sulfatés ainsi que les méthodes de modification que nous avons mises en œuvre. Dans la seconde partie, nous présenterons les techniques utilisées pour caractériser nos systèmes de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique.

### II.1 Matériel et méthodes

#### II.1.1 Préparation des nanocristaux de cellulose sulfatés

##### II.1.1.1 Source de cellulose

Nous avons uniquement utilisé des fibres de coton courtes qui ne peuvent être filées appelées linters. Ceux-ci ont été fournis par Buckeye. Le coton, en raison de sa teneur en cellulose exceptionnellement élevée de 98 %, <sup>162</sup> n'a pas subi de purification supplémentaire.

##### II.1.1.2 Equipements

Les nanocristaux de cellulose ont été préparés selon un protocole semblable à celui proposé par Revol *et al.*<sup>61</sup> Il consiste en une première étape d'hydrolyse à l'acide sulfurique suivie de plusieurs étapes de purification. La réaction induit le greffage de groupements  $\text{OSO}_3^-$  à la surface des nanocristaux. Les forces de répulsion électrostatique qui s'exercent entre ces groupements permettent la dispersion des nanocristaux dans l'eau. Avant de présenter le protocole de préparation de suspensions aqueuses de NCC, nous donnerons un bref descriptif des appareils nécessaires à cette préparation.

##### II.1.1.2.a. Centrifugeuse

Au cours de la préparation des NCC, les suspensions sont centrifugées à l'aide d'une centrifugeuse 6K15 de Sigma. Le rotor utilisé possède une accélération maximum de 20336 g. La centrifugation est réalisée à 4°C.

#### II.1.1.2.b. Sonde à ultrasons

Pour obtenir des suspensions de NCC dispersées et homogènes, un sonicateur Sonicator Ultrasonic Liquid Processor XL2020 de Misonix a été utilisé, à une puissance de 550 W et une fréquence de 20 Hz. La sonde utilisée a un diamètre de 13 mm.

#### II.1.1.2.c. Appareil de filtration

On utilise un système de filtration sous pression Sartorius (SM162 49). Au cours de la filtration, nous avons utilisé des membranes en nitrate de cellulose de porosité 8 puis 1  $\mu\text{m}$ .

### II.1.1.3 Hydrolyse

840 mL d'une solution d'acide sulfurique à 65 % en masse sont préparés par addition lente de 420 mL d'acide sulfurique concentré dans 420 mL d'eau distillée dans un bain de glace. L'acide ainsi préparé est ensuite transféré dans un ballon tricol et placé dans un bain thermostaté d'eau ou d'huile à une température de 60°C (figure II.1 a). Après stabilisation de la température de la solution, on procède à l'hydrolyse en ajoutant dans le ballon 60 g de linters de coton secs. Le contenu du ballon est soumis à une agitation mécanique à 260 tr/min assurant une bonne homogénéisation et un cisaillement. La suspension change de couleur au cours de l'hydrolyse et passe du blanc à une teinte ivoire au bout d'environ 5 min pour évoluer vers une couleur beige en fin d'hydrolyse. La viscosité décroît également rapidement avec le temps. La réaction est arrêtée au bout de 30 min par ajout de 450 g de glace dans le ballon.



**Figure II.1.** a) Montage expérimental utilisé pour la préparation de NCC par hydrolyse acide de linters de coton. b) Aspect de la suspension après 20 min d'hydrolyse.

## **II.1.1.4 Purification**

### **II.1.1.4.a. Centrifugation**

Après 30 min d'hydrolyse, la suspension est centrifugée pendant 15 min à 11200 tr/min (soit 20336 g), afin d'éliminer la plus grande quantité d'acide. Le culot est ensuite redispersé dans de l'eau distillée puis centrifugé à nouveau à 11200 tr/min pendant 15 min. Cette étape est répétée trois fois. Les nanocristaux constituant le culot final sont dispersés dans de l'eau distillée. La suspension est alors placée dans une membrane de dialyse avec un seuil de coupure de 14000 KDa (Carl Roth GmbH), préalablement lavée à l'eau déionisée. La dialyse est effectuée dans l'eau déionisée jusqu'à ce que la conductivité du bain de dialyse soit stable et égale à celle de l'eau déionisée. Cette opération dure environ une semaine en remplaçant le bain d'eau distillée deux fois par jour.

### **II.1.1.4.b. Individualisation des nanocristaux par sonication**

Après la dialyse, la suspension est soniquée par part de 200 mL à 2,5 % (m/m) environ. La durée de traitement est de 4 min pour chaque part. On observe après cette opération une augmentation de la transparence de la suspension suite à la destruction des agrégats et l'individualisation des NCC.

### **II.1.1.4.c. Filtration**

Afin d'éliminer les plus petits agrégats qui persistent après la sonication, la suspension est filtrée sous pression à l'aide d'un système Sartorius sur des membranes en nitrate de cellulose, de diamètre de pores de 8 puis 1  $\mu\text{m}$ . Avant stockage en chambre froide à 4°C, quelques mL de chloroforme par litre de suspension sont ajoutés pour éviter tout développement bactérien.

## **II.1.2 Deutération des nanocristaux de cellulose**

Afin de profiter de la technique de variation du contraste dans les expériences de diffusion des neutrons aux petits angles (cf. chapitre V), nous nous sommes attachés à obtenir des nanocristaux de cellulose partiellement deutérés. Pour cela, nous nous sommes basés sur la méthode de deutération intracristalline de la cellulose native développée au CERMAV par Yoshiharu Nishiyama.<sup>163</sup> Le principe consiste à échanger les protons des hydroxyles de la cellulose par des atomes de deutérium au cours d'un traitement thermique en conditions

alcalines. Après retour à la température ambiante, les groupements OD à l'intérieur du cristal ne sont plus accessibles et seuls les OD de surface pourront à nouveau être convertis en OH.

La deutération partielle est effectuée sur les linters de coton avant leur hydrolyse à l'acide sulfurique. Typiquement, 10 g de linters de coton sont dispersés dans une solution de soude 0,1 M dans D<sub>2</sub>O puis introduits dans un autoclave. L'autoclave est plongé dans un bain d'huile à 210 °C pendant 1 h. Après refroidissement, les linters sont redispersés dans l'eau déionisée puis filtrés sur Büchner. Cette opération est répétée 5 fois. Les linters deutérés humides sont ensuite hydrolysés selon la méthode précédemment décrite en tenant compte de la quantité d'eau qu'ils contiennent dans la préparation de la solution d'acide sulfurique. La réussite de la réaction peut être contrôlée par spectroscopie infrarouge en suivant l'apparition des bandes caractéristiques des OD dans la région située entre 2300 et 2500 cm<sup>-1</sup>, soit 1000 cm<sup>-1</sup> plus bas que les bandes OH.

## **II.1.3 Modifications chimiques des nanocristaux de cellulose sulfatés**

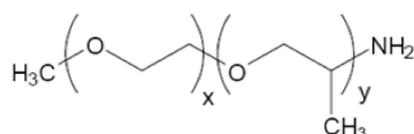
### **II.1.3.1 Oxydation TEMPO**

Le but de cette réaction est d'oxyder les groupements hydroxyles primaires de surface des nanocristaux de cellulose en groupements acide carboxylique. Une partie de la suspension de NCC sulfatés (5 g de cellulose soit 0,0308 mol) est dispersée dans 500 mL d'eau distillée et agitée. Du bromure de sodium (0,5 eq/mol d'anhydroglucose soit 1,588 g) est ensuite introduit ainsi que le catalyseur TEMPO (0,028 eq/mol soit 135 mg). Après agitation, la solution d'hypochlorite de sodium (1 eq/mol) est ajoutée goutte à goutte. Le pH est maintenu entre 10 et 10,5 par ajout de NaOH 0,5 M. Lorsque le pH se stabilise (après environ 2 h), la réaction est arrêtée en ajoutant environ 15 mL de méthanol. La suspension devient alors laiteuse. Une fois la réaction arrêtée, la suspension est centrifugée pendant 30 min à 11200 tr/min. Le surnageant limpide est récupéré et les culots sont repris avec de l'eau distillée. Cette opération est encore répétée 3 fois tout en ajoutant du NaCl de façon à avoir une concentration 0,5 M dans le but de faciliter la séparation complète entre le culot des nanocristaux et le surnageant. Après la dernière centrifugation, les culots sont redispersés dans de l'eau et placés sous dialyse dans l'eau déionisée.

### II.1.3.2 Couplage peptidique

#### II.1.3.2.a. Polyétheramines Jeffamines®

Comme nous l'avons présenté dans l'introduction, notre choix s'est porté sur le greffage de chaînes de polymères thermosensibles de la famille des polyétheramines Jeffamines®. Ces polymères nous ont été gracieusement fournis par la société Huntsman. Notre étude a porté sur des polymères de la série M qui sont des copolymères statistiques d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène qui possèdent une fonction amine en bout de chaîne. La structure chimique des Jeffamines est présentée sur la figure II.2.



**Figure II.2.** Structure chimique des polyétheramines Jeffamine®.

Nous avons utilisé différents polymères de cette série qui se distinguent par différentes valeurs des nombres de groupements oxyde d'éthylène (x) et oxyde de propylène (y), ce qui conduit à différentes masses molaires des chaînes mais également à différentes LCST. Les différents polymères utilisés ainsi que leurs propriétés sont présentées dans le tableau II.1. Il est intéressant de constater que pour une masse moléculaire sensiblement équivalente, les Jeffamines M2005 et M2070 possèdent des LCST très différentes. A température ambiante, le polymère M2005 est hydrophobe (conditions de mauvais solvant dans l'eau) alors que le polymère M2070 est hydrophile (conditions de bon solvant).

**Tableau II.1** Propriétés des différentes polyétheramines Jeffamines® utilisées.

Jeffamine®	Mw (g/mol)	OE/OP (x/y)	T° de trouble (°C)	Etat physique	Insoluble dans :
<b>M600</b>	600	1/9	45-65	liquide	-
<b>M1000</b>	1000	19/3	~ 80	solide	cyclohexane
<b>M2005</b>	2005	6/29	14-18	liquide	DMSO
<b>M2070</b>	2070	31/10	~75	liquide	cyclohexane

Les températures critiques des Jeffamines M2005 et M600 ont été déterminées par des mesures d'absorbance UV-visible et qui seront discutées dans le chapitre IV (figure IV.9).

#### **II.1.3.2.b.**     Couplage peptidique dans l'eau

Dans un ballon bicol, nous introduisons 100 mL d'une suspension de NCC oxydés TEMPO dans l'eau. Nous ajoutons X équivalents de polymère par mole d'acide carboxylique. Nous ajustons le pH entre 7,5 et 8 puis nous ajoutons Y équivalents d'EDAC et Z équivalents de NHS par mole d'acide carboxylique après dissolution des réactifs dans 2 mL d'eau. Les valeurs X, Y et Z que nous avons fait varier sont regroupées dans le tableau III.1 et discutées dans le chapitre correspondant. Le pH est maintenu entre 7,5 et 8 par ajout de HCl 0,5 M pendant 24 h. Une fois la réaction arrêtée, le pH de la suspension est abaissé entre 1 et 2 par ajout de HCl 0,5 M. La suspension est ensuite centrifugée à 11200 tr/min pendant 15 min. Le culot est repris dans de l'eau désionisée. Cette opération est répétée deux fois. Après la dernière centrifugation, le culot est redispersé dans de l'eau et la suspension est mise en dialyse dans l'eau distillée.

#### **II.1.3.2.c.**     Couplage peptidique dans le DMF

Pour tester l'effet du solvant sur le rendement du couplage peptidique, nous avons dispersé les NCC oxydés TEMPO dans le DMF par une méthode d'échange de solvant avec l'acétone puis avec le DMF. 100 mL d'acétone ont été ajoutés à une suspension de NCC oxydés TEMPO (50 mL, 1% (m/m)). Le mélange a été agité pendant 30 min puis centrifugé à 11200 tr/min à 4°C. Après élimination du surnageant, le culot a été redispersé dans 50 mL d'acétone et agité pendant 30 min. Cette opération est répétée 3 fois puis le culot est dispersé dans 50 mL de DMF anhydre, agité pendant 1 h puis soniqué pendant 4 min. Nous obtenons finalement une suspension stable. Pour la réaction de couplage dans le DMF, nous avons utilisé le même protocole que celui dans l'eau décrit dans le paragraphe précédent à deux différences près : pas d'ajustement de pH et mise en dialyse directement dans l'eau sans centrifugation.

### **II.1.3.3     Oxydation au métaperiodate**

Cette réaction consiste à remplacer les fonctions hydroxyles secondaires présentes sur les atomes de carbone 2 et 3 de la cellulose par des fonctions aldéhydes avec rupture de la liaison C2-C3. Elle est effectuée par l'action du métaperiodate de sodium, ajouté dans la suspension de NCC à l'abri de la lumière et à température ambiante. Pour préparer nos suspensions oxydées, nous prenons une certaine masse de suspension initiale contenant 100

mg de cellulose et nous y ajoutons une quantité de  $\text{NaIO}_4$  correspondant à 1,3 équivalent/mole d'anhydroglucose. La masse de  $\text{NaIO}_4$  est pesée dans un bécher, puis nous additionnons la masse de suspension désirée. Le bécher est ensuite bouché avec du parafilm et recouvert d'aluminium (le periodate de sodium est photosensible: décomposition en  $\text{NaIO}_3$  et  $\text{O}_2$ ). Le tout est placé sous agitation durant le temps d'oxydation désiré. Enfin, la solution est transvasée dans 8 tubes adaptés à l'ultracentrifugeuse. Une centrifugation à 40000 tr/min (118000 g) à 4 °C pendant 30 min est alors effectuée. Cette étape permet d'éliminer l'excès de periodate dans le surnageant, ce qui arrête complètement la réaction d'oxydation. Tous les culots sont ensuite redispersés dans l'eau déionisée et dialysés.

### II.1.3.4 Amination réductrice

L'amination réductrice consiste en la formation d'une liaison amine stable entre les NCC et les Jeffamines par réaction des fonctions aldéhydes issues de l'oxydation au métaperiodate avec la fonction amine primaire à l'extrémité des polymères. Nous ajoutons une quantité de polymère égale à 4 équivalents/mole d'aldéhyde, la masse de suspension nécessaire pour avoir 0,4 g de cellulose, 4 équivalents de  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (réducteur) et, pour finir, un volume de tampon phosphate à pH 6,3 égal au volume de la suspension de NCC. Cette réaction est mise sous agitation durant 72 h. Les solutions sont ensuite placées dans 8 tubes à ultracentrifugation et nous effectuons un cycle de centrifugation à 40000 tr/min pendant 30 min à 4 °C. Les culots sont récupérés dans de l'eau distillée et mis sous agitation. Dès lors que nous obtenons une solution homogène, nous la plaçons en dialyse.

### II.1.4 Diagrammes de phase

Afin d'établir un diagramme de phase, nous préparons une suspension mère de concentration élevée pour chaque système (NCC sulfatés, oxydés TEMPO ou greffés de polymère) par ultracentrifugation de la suspension correspondante. A partir de cette suspension mère, des suspensions diluées sont obtenues à différentes concentrations par ajout d'eau déionisée. Quand il s'agit de suspensions avec différentes concentrations en sel, un volume adéquat d'une solution concentrée de  $\text{NaCl}$  est ajouté à la suspension pour avoir la concentration en sel voulue et la concentration totale est recalculée ensuite. Chaque suspension est introduite par capillarité dans des capillaires en verre de dimensions  $0,2 \times 2 \times 50 \text{ mm}^3$  (Microslides, VitroCom Inc.). Les capillaires sont scellés à l'aide d'un micro-chalumeau, puis laissés à la verticale au repos à température ambiante pendant un temps qui dépend de la

cinétique de séparation. Les proportions de la phase anisotrope et de la phase isotrope sont mesurées pour toutes les concentrations. La fraction volumique correspondante est calculée et on peut alors établir le diagramme de phase. L'extrapolation de la fraction volumique de la phase anisotrope à 0 donne la concentration critique à laquelle la phase anisotrope apparaît.<sup>68</sup>

## II.2 Techniques de caractérisation

### II.2.1 Dosage des groupements sulfates par conductimétrie

Après l'obtention des nanocristaux de cellulose par hydrolyse à l'acide sulfurique des linters de coton, les groupements sulfates se trouvant à la surface de ces nanoparticules peuvent être dosés par conductimétrie. Ce dernier consiste en une titration des ions  $H_3O^+$ , les contre-ions des groupements sulfates en suivant la variation de la conductivité pour déterminer le point d'équivalence via un changement du signe de la pente. Une suspension de NCC contenant environ 100 mg de cellulose introduite dans un bêcher est titrée par une solution de NaOH 0,01M en utilisant un conductimètre de type CDM 210 et une électrode CDM 614T. A l'équivalence nous avons :

$$V_{\text{éq}} \times C_{\text{NaOH}} = n_{\text{cellulose}} \times d_s \text{ (équation II.1)}$$

avec  $V_{\text{éq}}$  le volume de NaOH ajouté,  $n_{\text{cellulose}}$  le nombre de moles de résidus de glucose et  $d_s$  le degré de substitution représentant le nombre de groupements sulfates par unité de glucose. Or, nous savons que :

$$n_{\text{cellulose}} = \frac{m_{\text{cellulose}}}{M_{\text{moy}}} \text{ (équation II.2)}$$

où  $m_{\text{cellulose}}$  est la masse sèche de NCC introduite et  $M_{\text{moy}}$  la masse molaire moyenne d'un résidu de glucose substitué. Cette dernière est donnée par la relation suivante :

$$M_{\text{moy}} = 162 \times (1 - d_s) + 242d_s \text{ (équation II.3)}$$

où 162 g/mol et 242 g/mol sont respectivement les masses molaires d'une unité de glucose seule et d'une unité sulfatée. Les équations II.1 et II.2 nous permettent d'écrire :

$$d_s = \frac{V_{\text{éq}} \times C_{\text{NaOH}} \times M_{\text{moy}}}{m_{\text{cellulose}}} \quad (\text{équation II.4})$$

Nous obtenons donc un système de deux équations (II.3 et II.4) à deux inconnues ( $d_s$  et  $M_{\text{moy}}$ ).  $M_{\text{moy}}$  est calculée d'après la relation suivante :

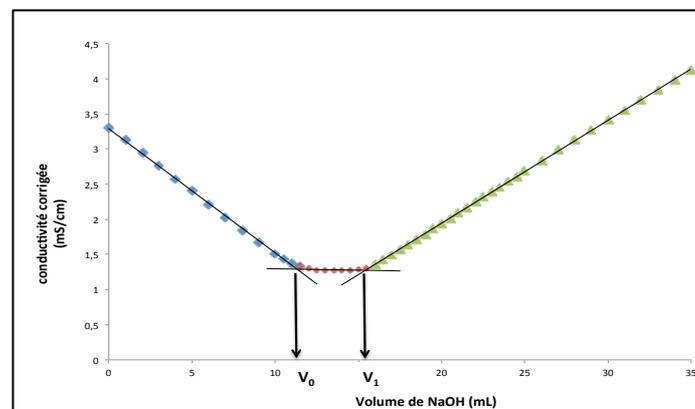
$$M_{\text{moy}} = \frac{162}{1 - 80 \times \frac{V_{\text{éq}} \times C_{\text{NaOH}}}{m_{\text{cellulose}}}} \quad (\text{équation II.5})$$

Nous calculons ensuite  $d_s$  par l'équation II.4 qui peut être converti en taux de soufre,  $\tau_s$ , en utilisant la relation suivante :

$$\tau_s = \frac{32 \times d_s}{M_{\text{moy}}} \quad (\text{équation II.6})$$

## II.2.2 Mesure du degré d'oxydation par conductimétrie

Après oxydation TEMPO, des groupements acides carboxyliques sont générés à la surface des NCC. Le nombre moyen d'hydroxyles primaires oxydés par unité anhydroglucose de l'échantillon est appelé degré d'oxydation ( $DO$ ) (Figure II.4). Ce dernier peut être déterminé par un dosage conductimétrique. Environ 100 mg de nanocristaux oxydés TEMPO, initialement sous forme ionisée ( $\text{COO}^- \text{Na}^+$ ), sont neutralisés par ajout de 15 mL de solution d'acide chlorhydrique 0,01M et dosés par une solution de soude 0,01M tout en suivant la variation de la conductivité.



**Figure II.3.** Courbe de titration conductimétrique typique d'une suspension de NCC oxydés TEMPO

La courbe de titrage obtenue (figure II.3) présente trois parties et deux points d'équivalence qui correspondent à deux volumes  $V_0$  et  $V_1$ . Comme l'échantillon est dispersé dans un excès de HCl, la première partie où nous voyons la conductivité diminuer représente la neutralisation des ions  $H^+$  et leur remplacement par un ion moins conducteur,  $Na^+$ . Nous observons ensuite un plateau qui correspond à la neutralisation des groupements acides carboxyliques COOH se trouvant à la surface des NCC. En effet, la neutralisation de ces derniers ne cause aucune variation de la conductivité car ils sont fixés sur les NCC, ce qui réduit radicalement leur mobilité. La troisième partie représente l'excès d'ions  $Na^+$  et  $HO^-$  qui fait augmenter la conductivité. La quantité qui nous intéresse est le volume  $(V_1 - V_0)$  qui correspond au volume de soude nécessaire pour neutraliser les acides carboxyliques. Le degré d'oxydation  $DO$  est déterminé à partir de la formule suivante :

$$DO = \frac{162 \times (V_1 - V_0) [NaOH]}{m - 36 \times (V_1 - V_0) [NaOH]} \quad (\text{équation II.7})$$

- m : masse en grammes de l'échantillon dosé.
- 162 : masse molaire (g/mol) d'une unité d'anhydroglucose dans une chaîne cellulosique.
- 36 : masse molaire (g/mol) d'une unité d'anhydroglucose oxydée sous forme de sel de sodium (198 g/mol) moins la masse d'une unité d'anhydroglucose dans une chaîne cellulosique.
- [NaOH] : concentration de la solution de soude

Après le couplage peptidique, une partie des groupements acides aura réagi pour former des amides (figure II.4). Pour déterminer le degré de substitution, nous avons procédé de la même façon et avons dosé les groupements acides restants, ce qui donne un degré d'oxydation résiduel  $DO_1$ . Nous déduisons ensuite le degré de substitution  $DS$  par la formule :  $DS = DO - DO_1$  en prenant pour  $DO_1$  la formule suivante qui tient compte de la masse du polymère greffé :

$$DO_1 = \frac{[162 + (M - 4) \times DO] (V_1 - V_0) [NaOH]}{m - [(M - 40)(V_1 - V_0) [NaOH]]} \quad (\text{équation II.8})$$

- m : masse en grammes de l'échantillon dosé.
- M : masse molaire du polymère greffé.

Nous introduisons le rapport  $DS/DO$  qui représente le rendement de la réaction d'amidation.

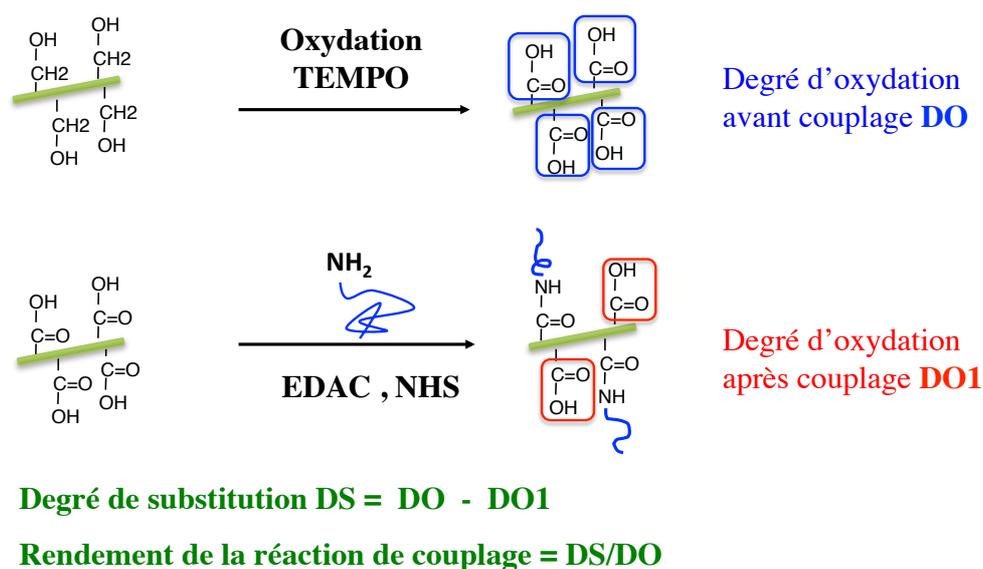


Figure II.4. Schéma des réactions d'oxydation TEMPO et de couplage peptidique.

### II.2.3 Mesure du $DO$ par pH-métrie

Après une oxydation au métaperiodate, nous effectuons un titrage pH-métrique pour déterminer le degré d'oxydation ( $DO$ ) correspondant au nombre de moles d'aldéhydes par mole d'unités anhydroglucoses. Pour cela, nous mettons les NCC oxydés en présence d'hydroxylamine hydrochlorique ( $\text{NH}_2\text{O.HCl}$ ). Il y a ainsi une libération de proton  $\text{H}^+$  après formation d'une base de Schiff selon le schéma réactionnel de la figure II.5.

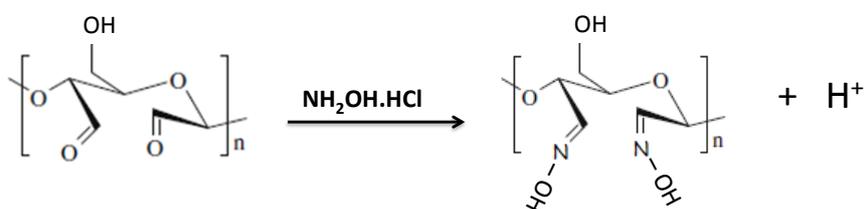


Figure II.5. Réaction utilisée pour le dosage du degré d'oxydation des NCC oxydés au métaperiodate.

Nous mesurons le pH de la solution de  $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$  seule, puis à la fin de la réaction. Nous avons ainsi une baisse de pH (vers un pH acide donc). Nous ajoutons ensuite un volume de NaOH à 0,01 M pour retrouver le pH initial. Ainsi, en connaissant le volume de NaOH, la concentration, et en utilisant l'équation II.9, nous pouvons calculer le  $DO$ .

$$DO = \left[ (V_{(NaOH)échantillon} - V_{(NaOH)blanc}) \times C_{NaOH} \times M_{anhydroglucose} \right] / m_{échantillonsec} \quad (\text{équation II.9})$$

## II.2.4 Spectroscopie Infrarouge

L'analyse par spectroscopie infrarouge donne des informations sur les liaisons chimiques présentes dans nos échantillons après chaque étape de modification. Le spectromètre utilisé est le Spectrum RX1 de Perkin Elmer. Les mesures sont réalisées en transmission entre 400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$  sur des pastilles composées d'1 mg de matière sèche à étudier et de 100 mg de KBr. Les bandes caractéristiques de la cellulose et des NCC modifiés chimiquement après les différentes réactions sont décrites dans le chapitre III.

## II.2.5 Spectroscopie RMN $^{13}\text{C}$ du solide

Nous avons profité dans cette étude des informations quantitatives qui peuvent être obtenues par RMN du solide au niveau moléculaire et ultrastructural après les différentes étapes de modification. Cette technique a déjà été employée pour révéler la topochimie de réactions d'oxydation TEMPO ou de greffage d'acides gras en phase gaz sur des NCC.<sup>131,139</sup>

Les spectres haute-résolution  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Avance 400MHz travaillant à 100,6 MHz à température ambiante, en utilisant les techniques de rotation à l'angle magique (MAS) et de polarisation croisée (CP). Le champ radio-fréquence du proton est réglé pour donner un pulse à 90° pendant 2,5  $\mu\text{s}$ . 2000 passages au minimum ont été enregistrés pour chaque spectre. Les déplacements chimiques ont été mesurés en accord avec le signal du carbonyle de la glycine fixé à 176,03 ppm. Les échantillons ont été placés dans un rotor en zirconium. La fréquence de rotation est de 12 kHz. Les spectres ont été enregistrés avec un temps d'acquisition (AQ) de 40 ms et un délai entre chaque impulsion de 2 s. Cette technique, même si elle nécessite des quantités relativement élevées de produit (80 mg), est réputée pour permettre une analyse quantitative des données. Pour ce faire, nous avons d'abord normalisé les spectres mesurés par rapport au signal du carbone C1 (100 – 105 ppm). Ensuite, l'intégration des différents signaux a été faite après déconvolution<sup>49</sup> et les différentes aires ont été multipliées par un facteur correctif. En effet, les intensités des différents pics composant le spectre varient en fonction du temps de contact, un paramètre dans une expérience de polarisation croisée (CP) qui correspond au temps de contact entre les protons et les différents carbones. Une expérience de montée en polarisation, qui consiste à mesurer les intensités des pics des différents carbones en fonction du temps de

contact, a été déjà réalisée par Laurent Heux. Les résultats montrent que le temps de contact optimal  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  varie selon le carbone considéré. Nos mesures de RMN ayant été faites pour un temps de contact de 2 ms, les données de l'expérience de montée en polarisation sont utilisées pour obtenir la valeur du facteur correctif pour chaque carbone.

Après oxydation TEMPO, le *DO* peut être calculé en intégrant le pic des carbonyles vers 174 ppm par rapport au pic du carbone C1. Après le couplage peptidique, le *DS* a été calculé en additionnant les aires relatives (par rapport à C1) des pics de l'amide (170 ppm) et de l'imine (155 ppm). Le rendement du couplage peptidique *DS/DO* a été calculé avec le rapport suivant :

$$DS/DO = \frac{\text{Aires des pics (amide+imine)}}{\text{Aires des pics (acide carboxylique+amide+imine)}} \quad (\text{équation II.10})$$

## II.2.6 Analyse thermogravimétrique

Nous avons utilisé l'appareil Setaram 92-12 pour réaliser l'analyse thermogravimétrique des échantillons après les différentes étapes de préparation et de modification. Pour réaliser une expérience, un échantillon de suspension lyophilisée de masse comprise entre 5 et 10 mg est introduit dans l'appareil pour mesurer la variation de la perte de masse en fonction de la température. L'évolution de la masse a été enregistrée dans la gamme 25-450 °C. Pour comparer les échantillons, nous avons normalisé par la masse exacte de chaque échantillon.

## II.2.7 Spectrophotométrie d'absorption UV-visible

La spectrophotométrie d'absorption est l'étude de l'absorption d'un rayonnement électromagnétique par un milieu constitué d'entités chimiques dans un solvant. Nous l'avons utilisée pour caractériser la turbidité des échantillons greffés de polymère thermosensible en fonction de la température.

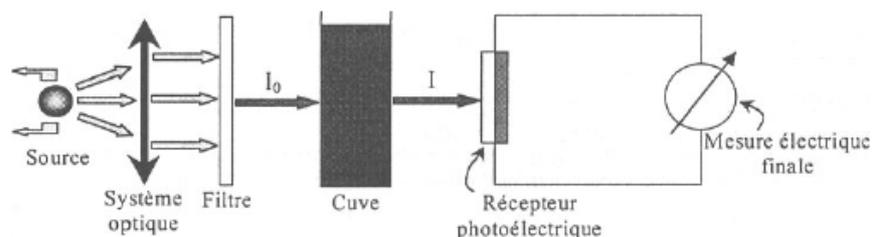


Figure II.6. Représentation schématique d'un spectrophotomètre d'absorption UV-visible.

Les mesures ont été réalisées sur un spectrophotomètre CARY50 sur des suspensions de concentration massique de 1% à  $\lambda=935$  nm. Une source de lumière est rendue monochromatique à travers un système dispersant (prisme) ou diffractant (réseau). Le faisceau est ensuite dédoublé. Un des faisceaux traverse l'échantillon tandis que l'autre sert de référence. Un photomultiplicateur enregistre le spectre de transmission puis l'information est traitée de façon à donner l'absorption (figure II.6).

Cette technique a également été employée pour mesurer la valeur de la température critique pour des solutions des différentes Jeffamines étudiées à différentes concentrations.

## II.2.8 Tension de surface

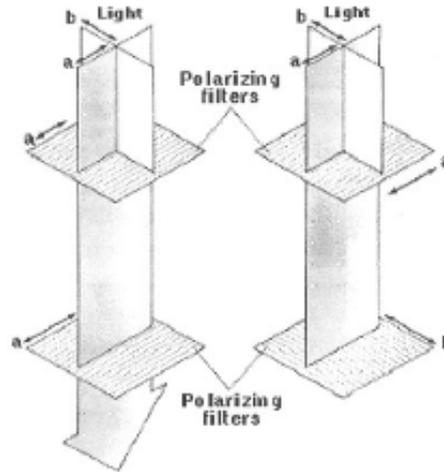
L'appareil Tracker de IT Concept a été utilisé pour mesurer la tension de surface de nos suspensions. L'expérience consiste à créer une bulle d'air dans la suspension, et à l'aide d'une caméra et d'un logiciel spécifique, à mesurer les rayons de courbure de la bulle pour obtenir la tension de surface grâce à l'équation de Young-Laplace :

$$\Delta p = \gamma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (\text{équation II.11})$$

$\Delta p$  étant la différence de pression entre les deux interfaces,  $\gamma$  la tension de surface et  $R_1$  et  $R_2$  les deux principaux rayons de courbure de la bulle d'air.

## II.2.9 Microscopie optique en lumière polarisée

Certains milieux ne transmettent que les composantes des trains d'ondes incidents dont le vecteur  $E$  vibre parallèlement à une direction déterminée, direction qui sera la direction de polarisation du rayon émergent. De tels milieux sont dits polariseurs. Lorsque l'on place un second polariseur, appelé analyseur, à la suite du premier, si l'amplitude du champ électrique de la lumière polarisée à la sortie du polariseur est  $E_0$ , l'amplitude à la sortie de l'analyseur sera  $E_0 \cos \theta$  (avec  $\theta$  l'angle entre les directions de polarisation du polariseur et de l'analyseur). L'intensité  $I$  à la sortie de l'analyseur, proportionnelle au carré de l'amplitude, est  $I = I_0 \cos^2 \theta$  où  $I_0$  est l'intensité à la sortie du polariseur. L'intensité est maximum si les directions de polarisation du polariseur et de l'analyseur sont parallèles. Elle est nulle (aucune lumière ne sort de l'analyseur) si  $\theta = 90^\circ$ , c'est-à-dire si les polariseurs sont croisés (figure II.7).



**Figure II.7.** *Polariseurs en positions parallèles et croisés.*

Les observations par microscopie optique à lumière polarisée ont été effectuées sur des suspensions introduites dans des capillaires plats en verre (Microslides VitroCom Inc), de dimensions intérieures  $0,2 \times 2 \times 50 \text{ mm}^3$ , qui sont ensuite scellés à la flamme. Nous avons utilisé un microscope Zeiss Axiopot 2 équipé d'un polariseur et d'un analyseur croisés. Il possède trois objectifs de grossissement  $2,5\times$ ,  $10\times$ , et  $40\times$ . Les images sont acquises sous forme numérique au moyen d'une caméra CCD ColorView12 de SIS, pilotée par le logiciel AnalySIS. L'observation des suspensions avec la MOLP nous a permis de suivre l'évolution et la texture de la phase anisotrope, et de mesurer sa fraction volumique par rapport au volume total de la suspension. Les observations à fort grossissement ( $40\times$ ) nous ont également permis de déterminer les pas cholestériques.

## II.2.10 Microscopie électronique en transmission

### II.2.10.1 Principe

La microscopie électronique en transmission (MET) permet d'observer des échantillons à une échelle nanométrique. Un faisceau d'électrons fortement accélérés (typiquement 80-200 keV) traverse un spécimen très mince (quelques centaines de nm d'épaisseur au maximum). Un système de lentilles électromagnétiques permet de contrôler la trajectoire des électrons et de former sur un écran fluorescent une image très agrandie du volume projeté de l'échantillon. Cette image peut être enregistrée sur une plaque photo ou numérisée au moyen d'une caméra CDD. L'interaction des électrons avec la matière conduit à

différents phénomènes d'absorption, de diffusion ou de diffraction qui sont à l'origine de contrastes dans les images :

- *le contraste de diffusion* : les objets épais ou composés d'atomes lourds diffusent plus fortement les électrons que les spécimens minces ou légers. L'insertion d'un diaphragme d'objectif ne laissant passer que les électrons transmis par l'échantillon et éliminant une certaine proportion d'électrons diffusés génère des contrastes dans l'image entre les objets épais/lourds, qui apparaîtront sombres, et ceux minces/légers, qui apparaîtront clairs.
- *le contraste de diffraction* : certains électrons incidents sont déviés par les plans atomiques des échantillons cristallins selon des angles définis par la loi de Bragg. Si le diaphragme d'objectif ne sélectionne que les électrons transmis par le spécimen, les objets cristallins en position de Bragg apparaissent en sombre.
- *le contraste de phase* : des interférences sont générées aux interfaces entre des zones du spécimen de différents indices de réfraction des ondes électroniques. L'intensité, le contraste (sombre ou clair) et la distribution des franges de Fresnel ainsi formées dépendent de la focalisation de la lentille objectif, contrôlée par l'opérateur.

Les polysaccharides étant composés d'atomes légers, ils n'engendrent qu'un faible contraste de diffusion. Le contraste de phase joue donc un rôle très important. Les échantillons cristallins, tels que les nanocristaux de cellulose, sont essentiellement visibles grâce au contraste de diffraction. Cependant, durant l'observation et l'enregistrement des images, du fait de leur grande sensibilité, leur cristallinité diminue rapidement sous irradiation.

### **II.2.10.2 Appareillage et modes d'imagerie**

L'observation par MET a été effectuée à l'aide d'un microscope Philips CM200 'Cryo', fonctionnant à une tension de 80 kV (Figure II-8b). Les échantillons ont été observés sous faible illumination (ou "low dose") afin de limiter les dégâts d'irradiation. Les images ont été enregistrées sur des plaques photo Kodak SO163.

### **II.2.10.3 Préparation des échantillons**

Nos échantillons se présentent sous la forme de suspensions plus ou moins diluées de NCC. Pour les observer par MET, on laisse une gouttelette de suspension diluée sécher sur un

mince film de carbone amorphe transparent aux électrons. Deux problèmes se présentent alors. D'une part, les NCC étant de faible volume et constitués d'atomes légers (C, H, O), ils n'engendrent qu'un contraste très faible vis-à-vis du support de carbone. D'autre part, ils sont particulièrement sensibles à l'irradiation électronique et se dégradent rapidement dès lors qu'on les observe à fort grossissement. Pour limiter ces problèmes, une technique de préparation spécifique a été utilisée pour renforcer le contraste : la coloration négative. Une autre technique, la cryomicroscopie (cryo-MET), s'appuyant sur la congélation ultra-rapide des échantillons, a été utilisée pour observer des suspensions diluées tout en s'affranchissant des effets de séchage.

#### **II.2.10.3.a. Prétraitement des grilles carbonées**

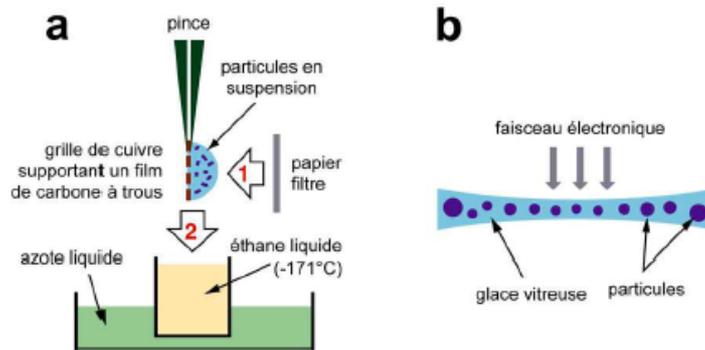
Les grilles de cuivre utilisées en MET sont recouvertes d'un mince film-support de carbone amorphe. Ce carbone est généralement hydrophobe, ce qui empêche une bonne distribution des objets sur sa surface. Un traitement préalable est possible. L'effluage, aussi appelé "*glow discharge*", consiste à placer les grilles carbonées dans une enceinte en présence d'une très faible pression d'air. Une haute tension est appliquée entre deux électrodes. L'air est ionisé et les ions "décapent" la surface du film, laissant des charges résiduelles. L'effluage dure environ 30 s. La suspension à étudier peut être ensuite déposée sur la surface décapée.

#### **II.2.10.3.b. La coloration négative**

On utilise une solution aqueuse à 2 % d'un sel d'atomes lourds (acétate d'uranyle). Une goutte de suspension est tout d'abord déposée sur une grille de MET préalablement rendue hydrophile par effluage. Après 1 min, l'excès de liquide est absorbé lentement avec du papier filtre. Avant séchage, on dépose une goutte de colorant. Après 1 min, on absorbe l'excès de colorant et on laisse l'échantillon sécher. Un mince dépôt de colorant s'est formé sur le carbone et vient souligner les contours des objets. Ceux-ci apparaissent donc en clair sur un fond plus foncé et la coloration est dite "négative".

#### **II.2.10.3.c. La cryomicroscopie électronique en transmission**

La cryo-MET a été développée afin d'observer des objets dont la morphologie ou la structure dépendent de l'hydratation ou de l'environnement liquide.<sup>164,165</sup> Cette technique permet alors d'observer ces objets dispersés dans un mince film de glace vitreuse. Le principe de la congélation rapide pour la cryo-MET est schématisé sur la figure II-8.<sup>166</sup>

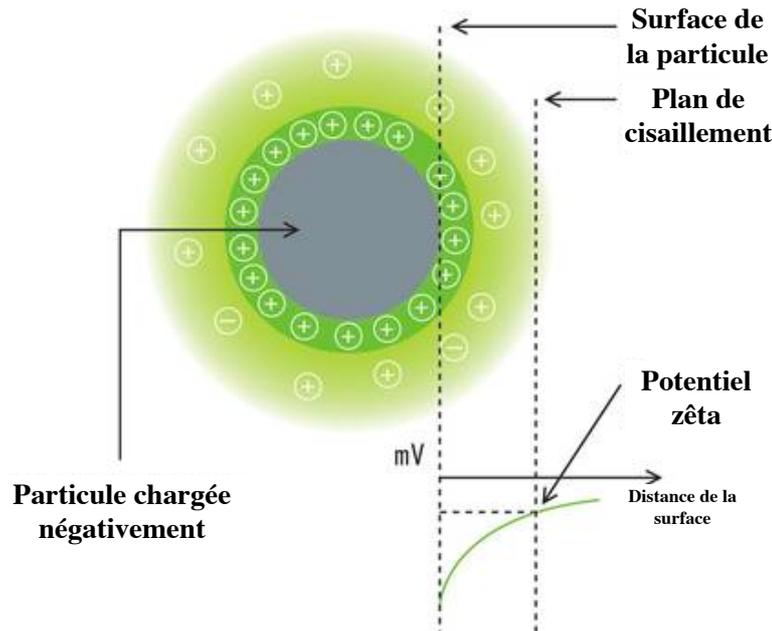


**Figure II.8.** Principe de la congélation rapide pour la cryomicroscopie (d'après Durrieu et al., 2004).<sup>166</sup>

Une goutte de suspension est déposée sur une membrane de carbone à trous (films "lacey" NetMesh, Pelco). La grille est montée sur la guillotine d'un appareil de congélation ultra-rapide Leica EMCPC. L'excès de liquide est absorbé à l'aide d'un papier filtre (Figure II-8a, étape 1) et la grille est immédiatement plongée dans l'éthane liquide refroidi à  $-171^{\circ}\text{C}$  par de l'azote liquide (Figure II-8a, étape 2). L'échantillon est alors monté sur un porte-objet Gatan 626 refroidi par de l'azote liquide. Le tout est transféré à froid dans le microscope et observé en conditions de faible illumination, à  $-180^{\circ}\text{C}$ .

## II.2.11 Zétamétrie

Une particule chargée en solution s'entoure d'un nuage ionique, de telle façon qu'il existe une double couche électrique autour de chaque particule. La première couche est appelée couche de Stern. Elle correspond à la région la plus proche de la surface et comporte des ions fortement liés à cette dernière. La seconde, externe, est plus diffuse et présente une distribution ionique déterminée par les forces électriques mais aussi par les mouvements thermiques aléatoires. Le plan externe de glissement (plan de cisaillement) de la particule est situé à la surface extérieure de cette seconde couche. Lorsque la particule se déplace dans le milieu, on considère que la structure de ces couches reste stable. C'est au niveau du plan de glissement (plan de cisaillement) que le potentiel zêta est mesuré (figure II.9).



**Figure II.9.** Représentation schématique des couches électriques entourant une particule chargée et définition du potentiel zêta.

Lorsque la solution est soumise à un champ électrique, il en résulte un phénomène de microélectrophorèse. Les particules chargées vont se déplacer vers l'électrode de signe opposé. A l'équilibre, l'intensité des forces de frottement est égale à l'intensité de la force d'attraction électrostatique. Les particules vont donc se déplacer à vitesse constante. Cette vitesse dépend du champ électrique appliqué, de la constante diélectrique du milieu et du potentiel zêta qui est le potentiel mesuré au niveau du plan de cisaillement. La détermination de la vitesse de migration permet d'accéder au potentiel zêta de la particule et à la mobilité électrophorétique dans le milieu étudié. Cette dernière est définie par :

$$\mu = V / E \quad (\text{équation II.12})$$

Avec  $V$  la vitesse en  $\mu\text{m/s}$ ,  $E$  le champ électrique en  $\text{V/cm}$  et  $\mu$  la mobilité électrophorétique en  $\mu\text{m.s}^{-1}.\text{V}^{-1}$ . La conversion des mobilités en potentiel zeta s'effectue à l'aide de la loi de Henry :

$$\mu = \varepsilon \zeta [1 + f(\kappa a)] / 6\pi\eta \quad (\text{équation II.13})$$

Avec  $\varepsilon$  la constante diélectrique,  $\zeta$  le potentiel zeta,  $\eta$  la viscosité,  $a$  le rayon de la particule, la  $\kappa$  l'inverse de la longueur de Debye-Huckel et  $f(\kappa a)$  la fonction de Henry.

Nous avons utilisé les mesures de potentiel zêta pour caractériser les charges de surface des NCC en fonction des étapes de modification. Les mesures ont été réalisées dans l'eau avec des suspensions diluées à 0,1% (m/m). La valeur moyenne a été obtenue après une série de 5 mesures. Ces dernières ont été réalisées sur l'appareil Zetasizer Nano Series de MALVERN.

## II.2.12 Diffusion des neutrons aux petits angles

Dans cette partie, nous décrirons le principe de la diffusion de neutrons aux petits angles (DNPA), le déroulement d'une expérience, le traitement des données ainsi que ses particularités.

### II.2.12.1 Le neutron et l'interaction neutron-matière

Le neutron, à la fois une particule et une onde (dualité onde-corpuscule), est défini par sa longueur d'onde :

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (\text{équation II.14})$$

où  $h$  est la constante de Planck,  $m = 1,675 \cdot 10^{-24}$  g est la masse du neutron et  $v$  sa vitesse. Le neutron est également défini par son énergie cinétique :

$$E = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{\bar{h}^2}{2m\lambda^2} \quad (\text{équation II.15})$$

où  $\bar{h} = h/2\pi$  est la constante réduite de Planck.

Dans un réacteur, différentes sources produisent des neutrons de différentes énergies. Les neutrons couramment utilisés dans le domaine de la matière molle sont des neutrons dits "froids" et leurs longueurs d'onde sont typiquement comprises entre 3 et 20 Å. Un faisceau de neutrons monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  est considéré comme une onde plane dont la fonction de propagation peut s'écrire sous la forme suivante :

$$\psi = e^{i(kz - 2\pi \cdot v \cdot t)} \quad (\text{équation II.16})$$

où  $v$  est la fréquence de l'onde. Lorsque cette onde interagit avec un atome de l'échantillon, elle est diffusée dans toutes les directions. Cette onde diffusée est sphérique et de même

longueur d'onde que l'onde incidente (en supposant une diffusion élastique). Sa fonction d'onde est définie par :

$$\psi' = -\frac{b}{r} e^{i(k'z - 2\pi \cdot v \cdot t)} \quad (\text{équation II.17})$$

La probabilité que le neutron soit diffusé est proportionnelle à la section efficace de diffusion  $\sigma$  qui caractérise la portée des interactions entre le neutron et l'atome. La section efficace de diffusion est définie par :

$$\sigma = 4\pi b^2 \quad (\text{équation II.18})$$

avec  $b$  la longueur de diffusion de l'atome (en cm) qui dépend de l'isotope. Le nombre de neutrons diffusé  $I(Q)$  par l'échantillon ayant reçu un flux incident  $\phi(\lambda)$  sur une surface  $S$  située à une distance  $d$  (soit un angle solide  $\Delta\Omega = S/d^2$ ) est défini par :

$$I(Q) = \phi(\lambda) \frac{d\sigma}{d\Omega} \Delta\Omega \quad (\text{équation II.19})$$

où  $\frac{d\sigma}{d\Omega}$  est la section efficace de diffusion différentielle de diffusion. En la divisant par le volume de l'échantillon sondé  $V$ , elle devient homogène à l'inverse d'une longueur (en  $\text{cm}^{-1}$ ). Ainsi, pour des objets dans un solvant, l'intensité diffusée s'exprime de la façon suivante :

$$I(Q) = \frac{1}{V} \phi(\lambda) \frac{d\sigma}{d\Omega} \phi \Delta\rho^2 P(Q) S(Q) = \Delta\rho^2 \phi V_{\text{diffuseur}} P(Q) S(Q) \quad (\text{équation II.20})$$

où  $\phi$  est la fraction volumique en objets diffusants,  $\Delta\rho^2$  est le terme de contraste entre les objets et le solvant,  $V_{\text{diffuseur}}$  est le volume du diffuseur élémentaire,  $P(Q)$  est le facteur de forme de l'objet et  $S(Q)$  le facteur de structure.  $P(Q)$  rend compte de la forme et de la taille des objets diffusants et il existe différentes expressions du facteur de forme selon l'objet considéré (sphère dure, cylindre, chaîne gaussienne, etc.). Le facteur de structure  $S(Q)$  permet de caractériser l'état de dispersion des objets dans le milieu où ils se trouvent et de connaître l'état d'agrégation ou de répulsion ainsi que l'intensité des interactions. En régime dilué, il est fixé comme égal à 1, ce qui permet de mesurer directement le facteur de forme.

L'ensemble du formalisme et du principe de la diffusion des neutrons aux petits angles est développé en détail dans différents ouvrages auxquels le lecteur pourra se référer.<sup>167-169</sup>

### II.2.12.2 Les mesures

En pratique, un faisceau de neutrons monochromatique de longueur d'onde  $\lambda$  et collimaté est envoyé sur un échantillon. Les neutrons diffusés dans toutes les directions sont mesurés par un détecteur en fonction de leur angle de diffusion  $\theta$ . On mesure ainsi la variation de l'intensité diffusée en fonction de  $\theta$ . La figure II.10 présente un schéma de principe d'un appareil de diffusion aux petits angles. Un spectromètre est constitué d'un guide de neutrons qui achemine les neutrons jusqu'à l'appareil, d'un sélecteur qui fixe la longueur d'onde choisie par l'expérimentateur, d'un système de collimation et d'un détecteur. Les détecteurs sont soit un croisement de fils horizontaux et verticaux (détecteurs XY), soit des anneaux (détecteur centré). Ces détecteurs sont dans une atmosphère de BF<sub>3</sub>, gaz qui permet de capter les neutrons et de réémettre des rayons gamma, ce qui va créer une différence de potentiel entre les fils et donc être détecté.

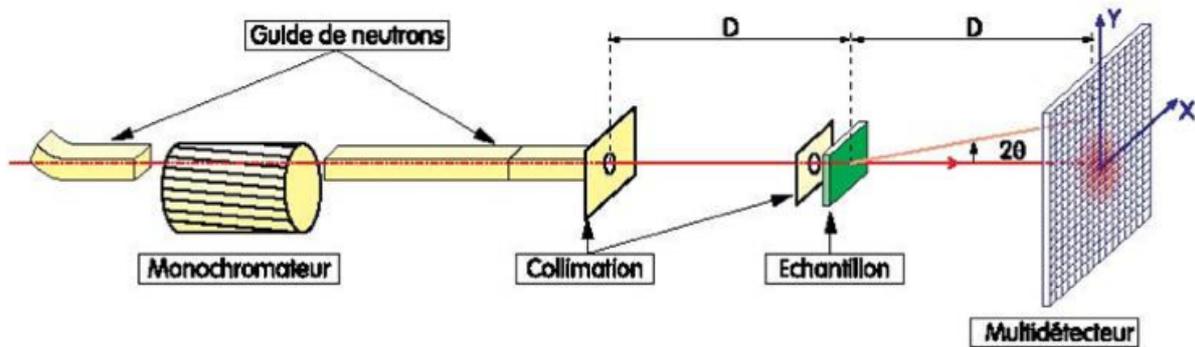


Figure II.10. Schéma d'un spectromètre de diffusion des neutrons aux petits angles.

L'intensité diffusée dans une direction donnée est définie par le vecteur de diffusion  $Q$  :

$$\vec{Q} = \vec{k}_d - \vec{k}_i \quad (\text{équation II.21})$$

où  $\vec{k}_d$  et  $\vec{k}_i$  sont respectivement les vecteurs d'onde des faisceaux incident et diffusé. Le paramètre important est le module du vecteur de diffusion défini par :

$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta) \quad (\text{équation II.22})$$

Ce facteur de diffusion va permettre de regrouper sur une même courbe les données obtenues pour un couple  $(\lambda, \theta)$ . Pour faire varier les valeurs de  $Q$ , il est possible de changer la distance échantillon-détecteur et/ou la longueur d'onde. Les longueurs d'onde accessibles sont comprises entre 4 et 25 Å et les distances sont comprises entre 1 et 40 m (sur la ligne

D11 à l'ILL, à Grenoble). Ainsi, la gamme de  $Q$  est de  $1.10^{-3} \text{ \AA}^{-1} < Q < 0,5 \text{ \AA}^{-1}$ . Pour couvrir une gamme de  $Q$  la plus large possible, il est nécessaire d'utiliser plusieurs configurations, c'est à dire de varier le couple longueur d'onde/distance au détecteur.

Pour notre étude, nous avons utilisé les spectromètres PAXY et PAXE du Laboratoire Léon Brillouin, à Saclay, avec 3 configurations différentes ( $5 \text{ \AA} - 1 \text{ m}$ ,  $5 \text{ \AA} - 5 \text{ m}$  et  $13 \text{ \AA} - 5 \text{ m}$ ) et le spectromètre D22 de l'Institut Laue-Langevin, à Grenoble, avec 2 configurations ( $5,86 \text{ \AA} - 2 \text{ m}$  et  $5,86 \text{ \AA} - 14 \text{ m}$ ). Ces configurations nous ont permis d'avoir accès à une gamme de  $Q$  allant de  $4.10^{-3}$  à  $0,4 \text{ \AA}^{-1}$ , ce qui correspond à des distances dans l'espace réelle entre 1,5 et 150 nm, bien adaptées à notre système.

### II.2.12.3 Le traitement des données

Une fois la mesure effectuée, certaines contributions parasites doivent être soustraites à l'intensité brute afin d'obtenir la mesure finale. Il faut soustraire la contribution de la cellule utilisée (en quartz) qui contient la suspension. De plus, l'intensité brute doit être normalisée par l'épaisseur  $e$  de l'échantillon et la transmission  $T$  qui correspond à l'atténuation du faisceau direct qui traverse l'échantillon. L'efficacité du détecteur doit ensuite être corrigée en mesurant le spectre de diffusion d'un échantillon incohérent de référence composé d'1 mm d'eau légère.

Cette mesure permet également de calculer le facteur de renormalisation qui permet d'accéder à des valeurs absolues en intensité (en  $\text{cm}^{-1}$ ). Plus précisément, pour mesurer le facteur de renormalisation, on utilise un échantillon qui diffuse fortement (le graphite) en présence ou non d'un atténuateur, puis le faisceau direct. Le facteur de renormalisation s'exprime ensuite par la relation suivante :

$$F_{\text{renormalisation}} = \frac{\frac{I_{\text{eau}}}{e.T} - \frac{I_{\text{CV}}}{e.T}}{\frac{S}{d^2} I_0 A \epsilon} \quad (\text{équation II.23})$$

Ainsi l'intensité absolue est obtenue par :

$$I_{\text{absolue}} = F_{\text{renormalisation}} \left( \frac{\frac{I_{\text{éch}}}{e.T} - \frac{I_{\text{CV}}}{e.T}}{\frac{I_{\text{eau}}}{e.T} - \frac{I_{\text{CV}}}{e.T}} \right) \quad (\text{équation II.24})$$

Enfin, il est possible de soustraire le bruit de fond électronique du détecteur en mesurant le spectre d'un fort absorbant de neutrons, comme le cadmium.

Lorsque ces traitements sont effectués, il reste à soustraire la partie incohérente du signal qui correspond au signal du solvant pour les échantillons liquides.

#### II.2.12.4 Contraste neutronique

Afin de mesurer le signal d'un objet, il est nécessaire que celui-ci ait un contraste avec le milieu dans lequel il se trouve. Le contraste se définit par une différence de densité de longueur de diffusion. Cette densité se calcule à partir de la densité de l'objet, de sa masse molaire et de la somme des longueurs de diffusion cohérentes des atomes le composant :

$$\rho = \frac{\sum_i b_i d N}{M} \quad (\text{équation II.25})$$

avec  $b_i$  les différentes longueurs de diffusion cohérentes,  $d$  la densité de l'objet,  $M$  sa masse molaire et  $N$  le nombre d'Avogadro. Le contraste, qui intervient au carré dans l'expression de l'intensité diffusée (équation II.20), s'écrit :

$$\Delta\rho^2 = (\rho_1 - \rho_2)^2 \quad (\text{équation II.26})$$

où  $\rho_1$  est la densité de longueur de diffusion de l'objet et  $\rho_2$  celle du solvant.

La particularité de la DNPA réside dans la possibilité de modifier le contraste entre les différents constituants d'un système. Dans un système constitué de plusieurs éléments, il est souvent nécessaire d'éteindre la contribution d'un élément, par l'utilisation d'un mélange de solvant H et D, dont la densité de longueur de diffusion moyenne s'écrit sous forme :

$$\rho_{\text{moy}} = x_D \rho_D + (1 - x_D) \rho_H \quad (\text{équation II.27})$$

où  $x_D$  est la fraction volumique en solvant deutéré,  $\rho_D$  la densité de longueur de diffusion du solvant deutéré et  $\rho_H$  celle du solvant hydrogéné.  $\rho_{\text{moy}}$  doit avoir la même valeur que la densité de longueur de diffusion de l'élément en question.

Notre système, formé de nanocristaux de cellulose greffés de polymère dans un solvant est un bon exemple pour appliquer cette technique : En dispersant des NCC deutérés (Cf II.1.3) dans un mélange formé de H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O :47/53 (v/v), le signal du cœur formé de NCC

sera éteint et le signal obtenu provient uniquement de la couronne de polymère. Cette méthode sera discutée dans le chapitre V.

### II.2.13 Diffusion dynamique de la lumière

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est fondée sur l'observation de la diffusion des nanoparticules (mouvement Brownien) qui est directement reliée à leur taille. La lumière diffusée en fonction du temps permet de définir une fonction d'autocorrélation qui mène à la comparaison du signal mesuré à lui-même, mais avec un petit décalage temporel. Le temps caractéristique de décroissance de cette fonction est relié au coefficient de diffusion des nanoparticules par la relation :

$$\frac{1}{\tau} = DQ^2 \quad (\text{équation II.28})$$

où  $\tau$  est le temps de relaxation,  $D$  est le coefficient de diffusion et  $Q$  le vecteur d'onde. L'équation de Stokes-Einstein, qui est vraie pour des objets ayant une symétrie sphérique, permet alors d'obtenir le diamètre hydrodynamique :

$$D_H = \frac{K_B T}{3\pi\eta_s D} \quad (\text{équation II.29})$$

où  $K_B$  est la constante de Boltzmann et  $\eta_s$  la viscosité.

Comme les NCC sont des bâtonnets et non pas des sphères, les diamètres hydrodynamiques mesurés n'ont pas été utilisés comme valeurs géométriques réelles. Ces mesures nous ont servi pour suivre l'évolution du coefficient de diffusion (et donc la taille) des nanoparticules après chaque étape de greffage ainsi qu'avec le changement de la température.

Les mesures ont été réalisées dans l'eau ou dans des solvants organiques (DMF, toluène) et les diamètres hydrodynamiques ont été calculés sur des suspensions diluées à 0,1% (m/m) avoir ajusté les viscosités. Les mesures ont été réalisées sur l'appareil Zetasizer Nano Series de MALVERN.



# **Chapitre III**

## **Modification chimique des nanocristaux de cellulose**



### **III. Modification chimique des nanocristaux de cellulose**

Nous avons vu dans le 1<sup>er</sup> chapitre les différentes stratégies utilisées pour modifier la surface des nanocristaux de cellulose, en allant de l'introduction de petites molécules ou de certaines nouvelles fonctions jusqu'au greffage de chaînes de polymère. Cette dernière a été la stratégie de choix durant cette thèse.

Rappelons que le greffage de chaînes de polymère sur la surface des NCC, en introduisant une stabilisation stérique de ces nanoparticules en suspension, permettrait d'élargir leurs domaines d'application en se débarrassant de certains de leurs points faibles :

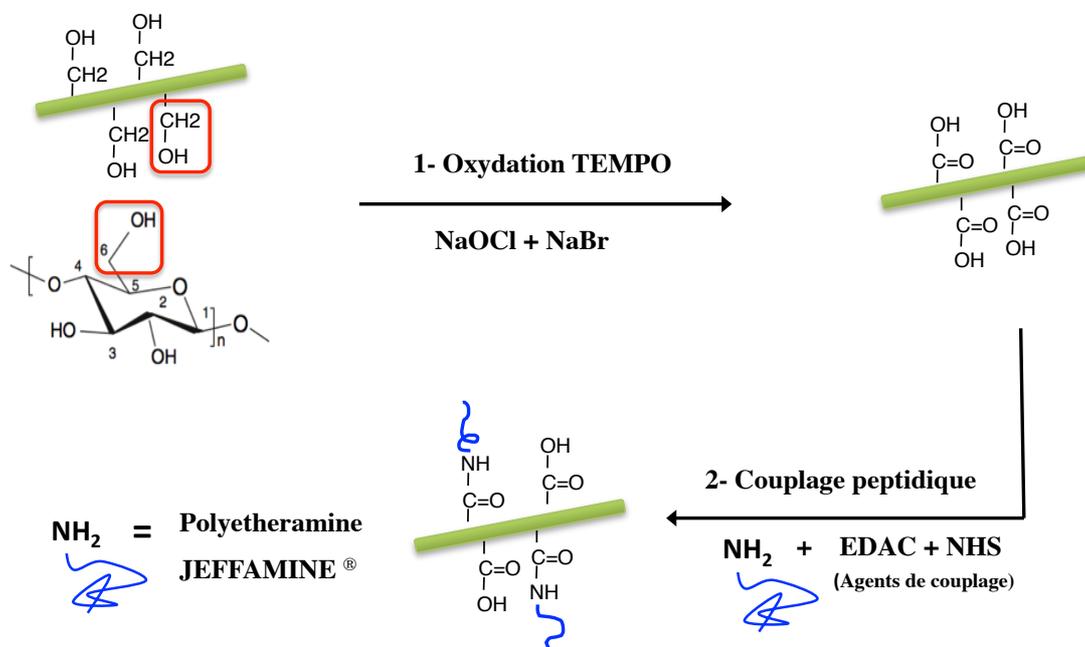
- Les suspensions de NCC stabilisées par répulsion stérique seraient insensibles à la force ionique, contrairement à celles stabilisées par répulsion électrostatique qui flocculent en ajoutant du sel,
- Les NCC stabilisés par répulsion stérique ne seraient pas limités à une dispersion dans l'eau, ce qui est le cas des NCC stabilisés par répulsion électrostatique, mais pourraient être dispersés dans des solvants organiques,
- La faible stabilité thermique des NCC non modifiés qui est due aux groupements sulfates de surface serait améliorée dans le cas des NCC greffés de polymère,
- les interactions entre nanoparticules seraient médiées par la taille et la conformation des chaînes de polymère, ce qui ajouterait un levier de contrôle.

Dans ce contexte, nous avons choisi d'attacher les chaînes de polymère sur la surface des NCC via des liaisons covalentes. Dans ce chapitre nous décrirons les réactions chimiques que nous avons réalisées et qui se divisent en deux grandes méthodes : (i) le greffage par oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique, (ii) le greffage par oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice. Nous montrerons également les modifications induites à l'échelle moléculaire après chaque étape réactionnelle puis nous présenterons la quantification et l'optimisation du greffage.

## III.1 Oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique

### III.1.1 Réactions mises en jeu

La première méthode de greffage de polymère sur la surface des NCC que nous avons utilisée consiste à oxyder sélectivement en acides carboxyliques les hydroxyles primaires de la surface de la cellulose par l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à l'aide du radical TEMPO, l'acronyme de (2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl. Cette oxydation permet d'enchaîner une réaction de couplage peptidique impliquant les acides nouvellement générés et les fonctions amines terminales du polymère à greffer. Ces réactions ont été décrites dans la partie bibliographique du manuscrit (I.3.2.4 et I.3.3.1). Le greffage de Jeffamine à la surface des NCC a été réalisé selon le schéma de la figure III.1 et les conditions opératoires décrites dans le paragraphe II.1.2.2. Les différents paramètres que nous avons fait varier sont les quantités de réactifs ainsi que le type de solvant.



**Figure III.1.** Différentes étapes réactionnelles du greffage de Jeffamines à la surface des NCC par oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique.

## III.1.2 Les spectroscopies IR et RMN prouvent la covalence de la liaison NCC-polymère

Les deux étapes de modification décrites plus haut (oxydation TEMPO et couplage peptidique) ont été suivies par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et résonance magnétique nucléaire (RMN) du solide de façon à caractériser les échantillons à l'échelle moléculaire.

### III.1.2.1 FTIR

La technique de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier nous permet d'observer les groupements fonctionnels caractéristiques de la cellulose et ceux caractérisant l'oxydation et l'amidation. De plus, c'est une méthode rapide et peu gourmande en quantité d'échantillon (1 mg).

#### III.1.2.1.a. NCC non modifiés

Maréchal et Chanzy ont attribué de façon détaillée les bandes dans un spectre de FTIR de la cellulose.<sup>170</sup> La figure III.2 présente un spectre IR typique d'un échantillon de nanocristaux de cellulose de coton dans une pastille de KBr.

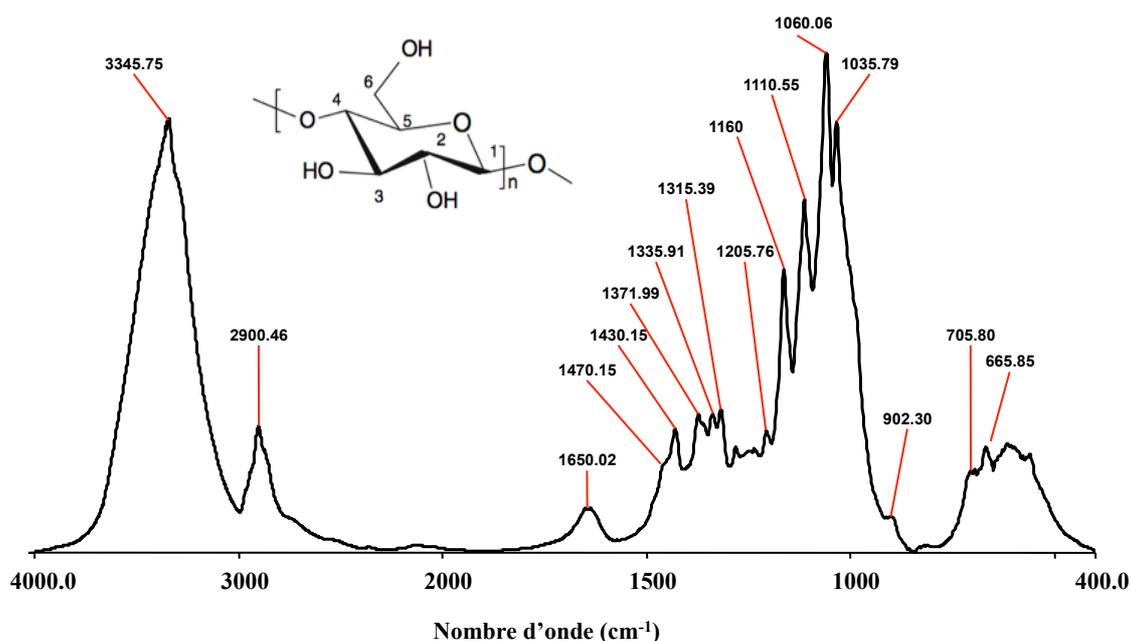


Figure III.2. Spectre FTIR de NCC sulfatés – Transmission sur pastille KBr.

La répartition des bandes caractéristiques est la suivante :

- Les alcools

\* Entre 3000 et 3600  $\text{cm}^{-1}$ , on trouve les bandes de vibrations élongationnelles des liaisons O – H des fonctions alcools primaires et secondaires.

\* A 1315, 1335, 1430 et 1470  $\text{cm}^{-1}$  se trouvent les vibrations de déformation dans le plan des fonctions O – H des alcools.

\* A 1110, 1060 et 1035  $\text{cm}^{-1}$  se trouvent les vibrations de la liaison C–O des carbones 2, 3 et 6.

\* Les bandes se trouvant à 665 et 705  $\text{cm}^{-1}$  sont attribuées aux vibrations de déformation hors du plan des fonctions O–H des alcools.

- Les groupements aliphatiques

La bande de vibration se trouvant vers 2900  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations élongationnelles de la liaison C – H.

- La liaison glycosidique

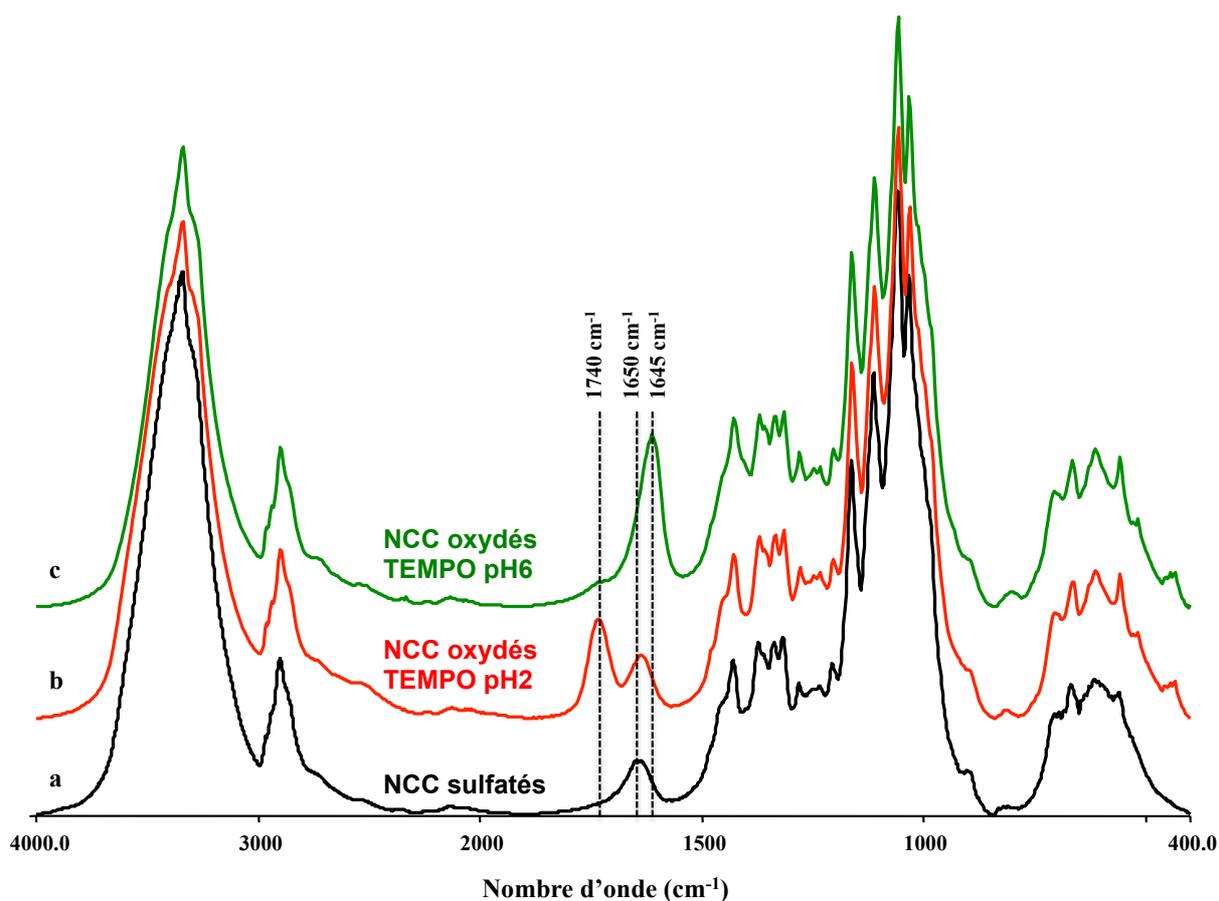
La vibration d'élongation antisymétrique de la liaison glycosidique C–O–C apparaît à 1160  $\text{cm}^{-1}$ . Cette bande sera utilisée ultérieurement pour normaliser les spectres puisqu'elle est sensée ne pas subir de changement durant les étapes de modification.

- L'eau

L'eau adsorbée sur la cellulose apparaît vers 1650  $\text{cm}^{-1}$  et aussi entre 400 et 700  $\text{cm}^{-1}$ .

**III.1.2.1.b. NCC après oxydation TEMPO**

La figure III.3 permet de comparer des spectres IR des NCC sulfatés non modifiés (spectre a) et de ceux oxydés par TEMPO et ajustés à pH 2 ou 7 avant l'analyse (spectres b et c, respectivement).

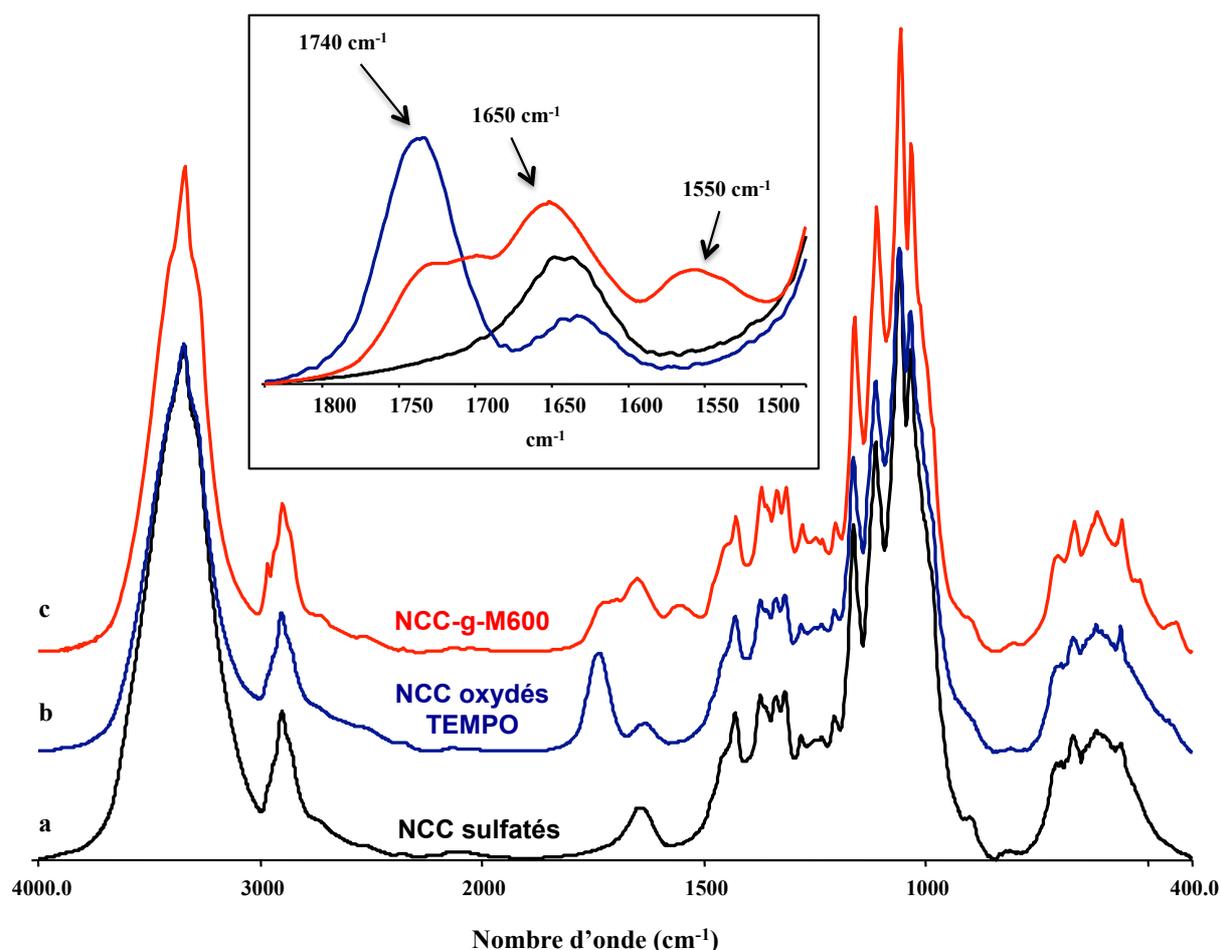


**Figure III.3.** Spectres FTIR de NCC sulfatés (a), oxydés TEMPO, à pH 2 (b), oxydés TEMPO, à pH 6 (c) – Transmission sur pastilles KBr.

A pH 2, le spectre des NCC oxydés (b) montre l'apparition d'une bande supplémentaire vers  $1740\text{ cm}^{-1}$  par rapport à celui des NCC non modifiés (a). Cette bande est attribuée au groupement carbonyle (C = O) de la fonction acide carboxylique, montrant ainsi la réussite de l'oxydation. A pH 6, le spectre des NCC oxydés montre un déplacement de la bande du carbonyle (qui est sous forme  $\text{COO}^-$ ) vers  $1645\text{ cm}^{-1}$ , se superposant avec la bande de l'eau ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ). De ce fait, dans les spectres IR des NCC après oxydation ou amidation qui suivront, toutes les analyses seront faites à partir de suspensions à pH 2 pour permettre l'observation sans ambiguïté de la variation du pic du carbonyle.

#### **III.1.2.1.c.** NCC après oxydation suivie d'une amidation

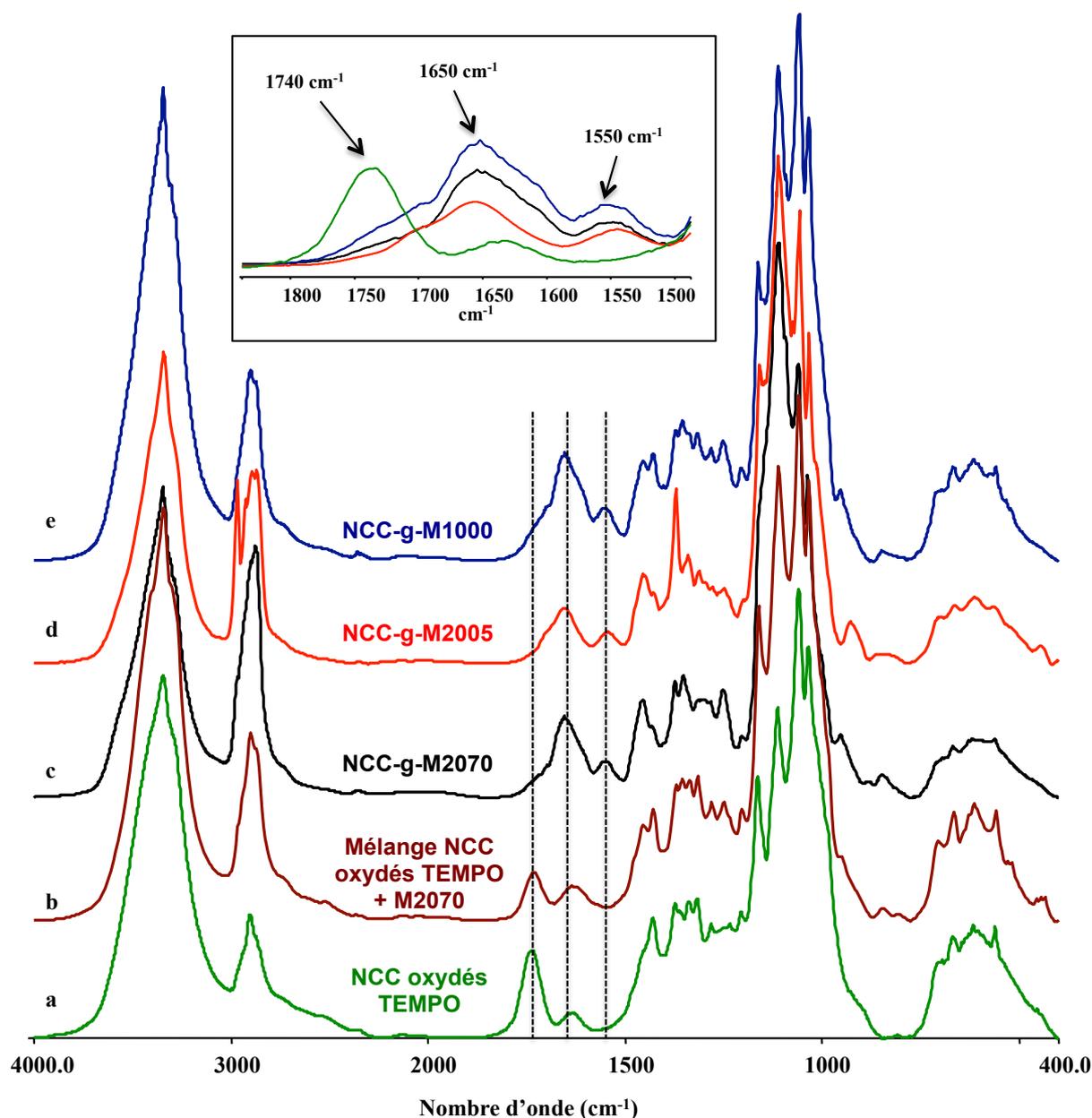
Une fois oxydée, les NCC peuvent réagir par couplage peptidique avec un polymère ayant une terminaison amine pour former une liaison amide covalente.



**Figure III.4.** Spectres FTIR de NCC sulfatés (a), oxydés TEMPO (b), greffés Jeffamine M600 (c) – Transmission sur pastilles KBr.

La figure III.4 montre l'évolution des spectres FTIR après oxydation puis réaction de couplage peptidique avec la Jeffamine M600. Après amidation (spectre c), la bande du carbonyle de l'acide carboxylique ( $1740\text{ cm}^{-1}$ ) diminue de manière significative, suite à la consommation d'une partie de ces acides dans la réaction avec l'amine. Nous observons également l'apparition de deux nouvelles bandes : la première à  $1650\text{ cm}^{-1}$  attribuée à la liaison C=O de la fonction amide (nommée bande amide I), et la deuxième à  $1550\text{ cm}^{-1}$  attribuée à la vibration élongationnelle de la liaison N-H (appelée amide II). La présence et l'intensité de ces deux bandes révèlent donc sans ambiguïté l'existence d'une liaison covalente amide entre le polymère et les NCC. L'amidation est accompagnée d'une augmentation de la bande vers  $2900\text{ cm}^{-1}$  qui est due aux liaisons C-H du polymère nouvellement greffé.

Des résultats similaires ont été observés pour les différents polymères utilisés (Jeffamines) qui sont de différentes masses et compositions (figures III.5c-e).



**Figure III.5.** Spectres FTIR de NCC oxydés TEMPO (a), mélange NCC oxydés TEMPO + Jeffamine M2070 (b), NCC greffés Jeffamine M2070 (c) NCC greffés Jeffamine M2005 (d) NCC greffés Jeffamine M1000 (e) – Transmission sur pastilles KBr.

Pour vérifier qu'il ne s'agit pas d'une simple adsorption ou interaction électrostatique, nous avons mélangé des NCC oxydés TEMPO et du polymère sans ajouter d'agents de couplage (EDAC et NHS). Le spectre IR correspondant (figure III.5 b) montre une faible diminution du signal de l'acide carboxylique ( $1740\text{ cm}^{-1}$ ) accompagnée d'une légère augmentation du signal à  $1650\text{ cm}^{-1}$ . Ceci est expliqué par l'effet du pH (figure III.3). Ce même spectre ne montre aucun pic vers  $1550\text{ cm}^{-1}$ . Cela permet de conclure avec certitude que le greffage du polymère est bien covalent.

### III.1.2.2 RMN du solide

Nous avons également eu recours à la RMN du solide qui est une technique d'analyse puissante des NCC et de leur modification chimique et ultrastructurale.<sup>49</sup>

#### III.1.2.2.a. NCC seuls

La figure III.6 présente un spectre RMN solide du carbone <sup>13</sup>C avec polarisation croisée et rotation à l'angle magique (CP/MAS) d'un échantillon de NCC non modifiés.

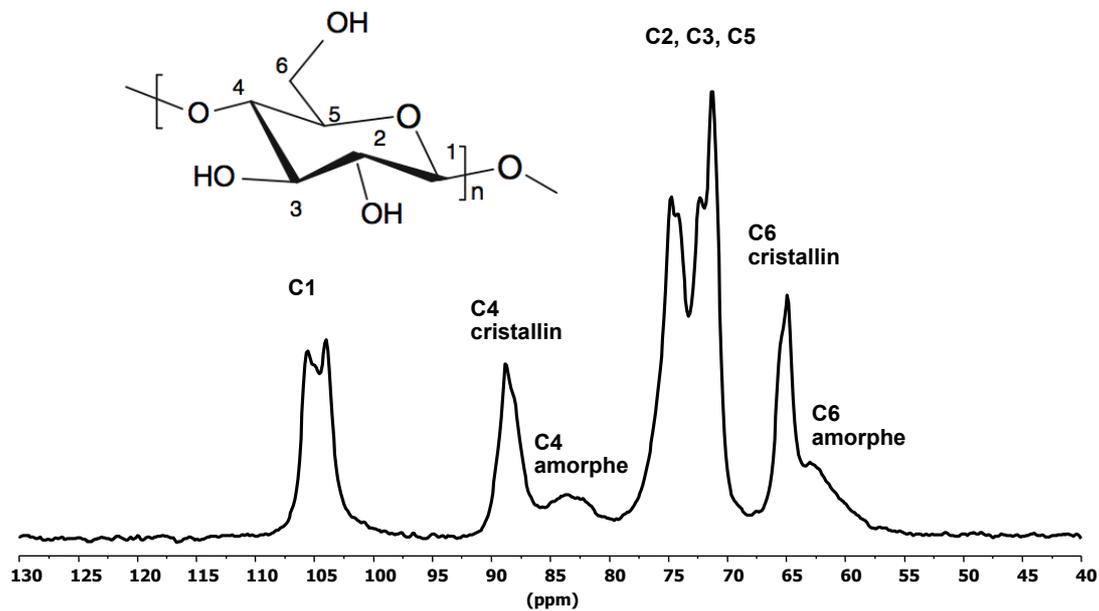
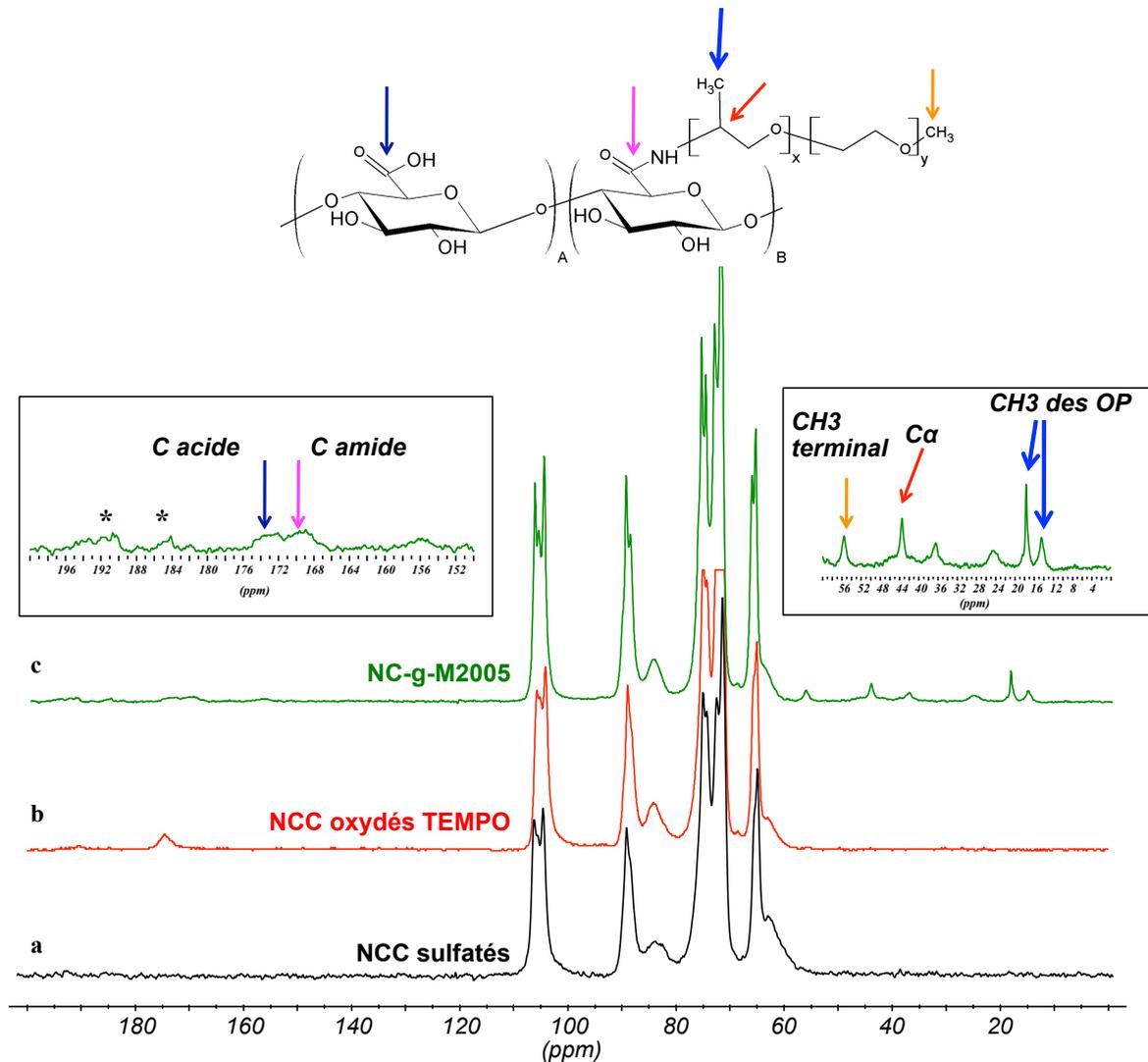


Figure III.6. Spectre RMN du solide de NCC sulfatés

Les signaux observés dans ce spectre sont typiques de la cellulose I.<sup>29,30,139</sup> La région entre 60 et 70 ppm est attribuée au carbone C6. Le signal est divisé en deux contributions : la première à 65 ppm qui provient des chaînes ordonnées du cœur cristallin et la deuxième à 62 ppm qui provient des chaînes de surface moins ordonnées. La région entre 70 et 80 ppm est attribuée aux carbones C2, C3 et C5. Comme le signal du C6, le signal du carbone C4 est divisé en une première contribution du C4 cristallin à 88 ppm et une deuxième à 83 ppm attribuée au C4 des chaînes de surface. Le signal du carbone C1 apparaît autour de 105 ppm.

## III.1.2.2.b. NCC modifiés

Après avoir identifié les signaux correspondant aux nanocristaux non modifiés, nous nous sommes intéressés aux effets des différentes étapes de modification sur les spectres RMN solide. Après oxydation, nous remarquons l'apparition d'un nouveau signal à 174 ppm attribué aux carbones des groupements acide carboxylique nouvellement générés (figure III.7.b). Cette apparition est accompagnée de la diminution du signal des carbones C6 amorphes vers 62 ppm. La contribution du C6 cristallin, quant à elle, ne bouge pas. Ceci montre que l'oxydation a eu lieu à la surface et avec les hydroxyles primaires uniquement.<sup>139</sup>



**Figure III.7.** Spectres RMN du solide de NCC sulfatés (a), oxydés TEMPO (b) et greffés Jeffamine M2005 (c).

Le spectre c de la figure III.7 a été enregistré sur un échantillon oxydé TEMPO ayant réagi avec la Jeffamine M2005. Après amidation, un nouveau signal apparaît à 170 ppm aux dépens du signal des groupements acide carboxylique situé à 174 ppm. Ce signal est attribué

au carbone C6 dans sa forme amide. Par conséquent, ce spectre prouve qu'il existe une liaison covalente amide entre les NCC et les chaînes de polymère. Nous notons aussi la présence d'un autre signal vers 155 ppm. L'explication la plus probable de ce signal vient de la formation de fonctions imines entre un aldéhyde et une amine. En effet, Saito *et al.*<sup>171</sup> ont démontré qu'après oxydation TEMPO, une petite quantité d'aldéhyde qui a échappé à l'oxydation complète en acide pourrait rester à la surface et qu'il peut réagir ensuite avec une amine primaire pour former l'imine correspondante.

Les signaux des carbones du polymère apparaissent entre 15 et 60 ppm. Le signal à 43 ppm correspond au carbone C $\alpha$ , le premier carbone après la liaison amide. Celui à 55 ppm correspond au carbone du méthyle terminal et ceux à 15 et 17 ppm correspondent aux méthyles des monomères d'oxyde de propylène (OP). Nous remarquons 2 signaux supplémentaires à 25 et 36 ppm. Ceux-ci proviennent de l'agent de couplage EDAC utilisé en large excès durant l'amidation et encore présent malgré la purification.

Des résultats qualitatifs similaires ont été obtenus pour le greffage des Jeffamines M1000 et M2070, montrant la réussite du couplage covalent avec ces polymères.

### III.1.3 Quantification et optimisation du couplage peptidique

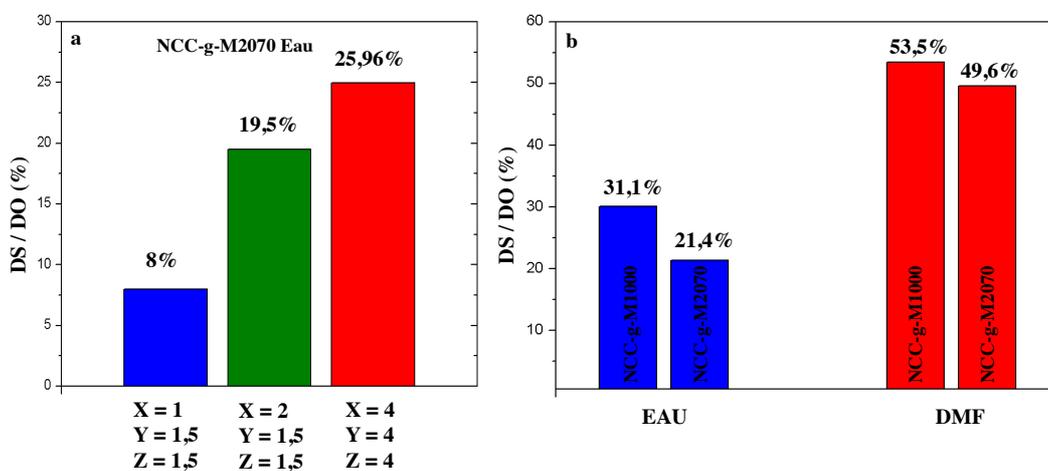
Une fois prouvé le caractère covalent de la liaison NCC-polymère, nous nous sommes attachés à quantifier les densités de greffage et à optimiser le couplage en variant différents paramètres comme le solvant, le nombre d'équivalent en polymère et en agents de couplage ainsi que le type de polymère. Des résultats de couplage peptidique sous différentes conditions mesurés par dosage conductimétrique ont été résumés dans le tableau III.1 et sont discutés dans ce qui suit.

**Tableau III.1** Tableau comparatif des valeurs de DS et DS/DO de différentes suspensions de NCC-g-Jeffamine sous différentes conditions de solvant, polymère greffé et nombre d'équivalents de réactifs (Cf. II.1.2.2.b). Ces valeurs ont été calculées par dosage conductimétrique.

Suspension initiale	DO	solvant	Polymère greffé	Nombre d'équivalents	DS	DS/DO
<b>S1 tunicien</b>	<b>0,111</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
	-	Eau	Jeff M1000	X = 2	0,0248	22,34%
	-	Eau	Jeff M2070	Y = 4 Z = 4	0,0133	12,09%
<b>S2 coton</b>	<b>0,175</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
		Eau	Jeff M2070	X = 1 Y=1,5 Z=1,5	0,015	8%
<b>S3 coton</b>	<b>0,195</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
	-	Eau	Jeff M2070	X = 2 Y=1,5 Z=1,5	0,038	19,5%
<b>S4 coton</b>	<b>0,123</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
	-	Eau	Jeff M600	X=4	0,0267	21,7%
	-	Eau	Jeff M2070	Y = 4	0,0307	24,96%
	-	Eau	Jeff M2005	Z = 4	0,053	43,09%
<b>S5 coton</b>	<b>0,143</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-		
	-	Eau	Jeff M600	X = 4	0,0291	20,3%
	-	Eau	Jeff M2070	Y = 4	0,0413	28,8%
	-	Eau	Jeff M2005	Z = 4	0,0624	43,6%
<b>S6 coton</b>	<b>0,196</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
		Eau	Jeff M1000	X = 4 Y = 4 Z = 4	0,059	30,1%
		Eau	Jeff M2070		0,0419	21,4%
		DMF	Jeff M1000		0,1049	53,5%
		DMF	Jeff M2070		0,0973	49,6%
<b>S7 coton</b>	<b>0,176</b>	<b>Eau</b>	<b>Non greffé (oxydé)</b>	-	-	-
	-	DMF + MO	Jeff M1000	X = 4	0,0966	54,9%
	-	DMF + MO	Jeff M2070	Y = 4 Z = 4	0,0932	52,9%

### III.1.3.1 Effet des nombres d'équivalent de réactifs

La réaction d'amidation fait intervenir l'EDAC comme agent de couplage et le NHS comme agent empêchant la formation de N-acylurée stable qui pourrait réduire le rendement de la réaction. Il est donc clair que le degré de substitution  $DS$  dépend de  $X$ ,  $Y$  et  $Z$  qui sont respectivement les rapports molaires de polymère, de NHS et d'EDAC par rapport aux groupements acides carboxyliques générés par l'oxydation TEMPO. Puisqu'on a affaire à différentes suspensions avec différents  $DO$ , la variable la plus parlante est le rapport  $DS/DO$  qui traduit le rendement de la réaction d'amidation. Les résultats (tableau III.1 + figure III.8a) montrent que, pour un même polymère et un même solvant, nous atteignons un maximum de rendement pour des nombres d'équivalent  $X = Y = Z = 4$ . Un résultat comparable a été obtenu par Mangalam *et al.* pour le couplage peptidique d'oligomères d'ADN sur les NCC.<sup>148</sup> Même si notre étude porte sur un nombre limité de conditions et n'est pas fondée sur un plan d'expérience, il semble qu'un large excès de réactif soit nécessaire pour maximiser le  $DS$ . Dans le cas du nombre d'équivalent de chaînes de polymère, ce résultat est probablement lié à la faible réactivité du groupement terminal. Outre une importante consommation de réactifs, cette constatation montre la nécessité d'une purification soignée des échantillons.



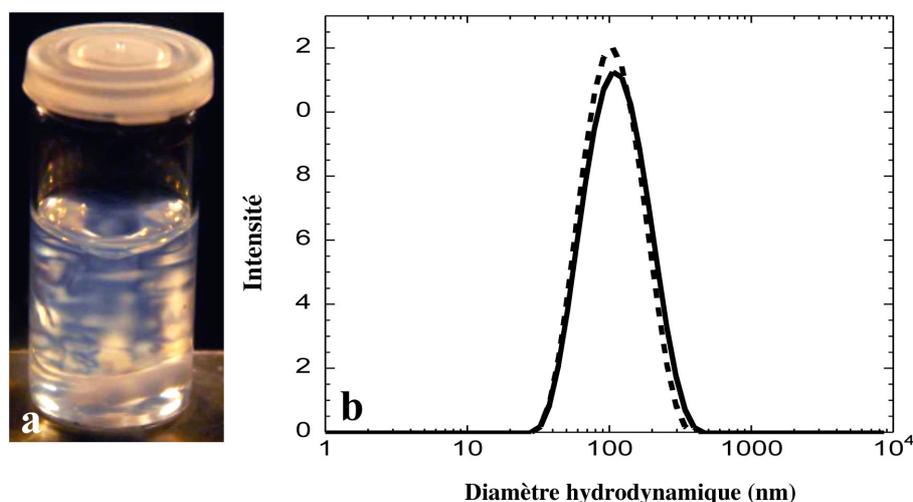
**Figure III.8.** Histogrammes comparatifs de la valeur de  $DS/DO$  de différentes suspensions de NCC greffés Jeffamine. Effet du nombre d'équivalents de réactifs (a) et effet du solvant (b).

### III.1.3.2 Effet du solvant

Nous avons également testé l'effet d'un changement de solvant. Notre choix s'est porté sur le diméthylformamide (DMF) pour plusieurs raisons. Premièrement, les polymères et les

agents de couplage utilisés sont solubles dans le DMF. Deuxièmement, c'est un solvant aprotique polaire ayant une constante diélectrique de 36,7 ce qui assurerait éventuellement une séparation des charges et donc une bonne dispersion des NCC chargés.

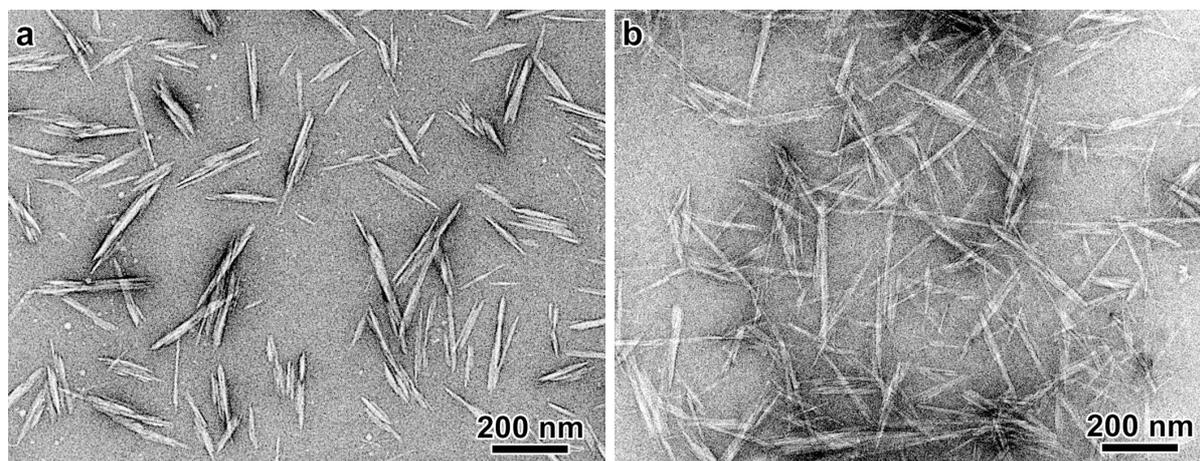
La réaction d'amidation dans le DMF a été réalisée à partir d'une suspension obtenue par échange de solvant. Les détails de cette étape ont été décrits dans le paragraphe II.1.2. Nous avons d'abord cherché à vérifier la qualité et la stabilité de la dispersion dans le DMF. Une observation à l'œil nu des suspensions de NCC de coton dans le DMF obtenues par ce procédé ne montre aucune sédimentation même après plusieurs semaines. Comme le montre la figure III.9 a, les suspensions dans le DMF sont biréfringentes sous écoulement ce qui est une preuve de la bonne dispersion des nanoparticules et de l'absence d'agrégats. Par ailleurs, les mesures du diamètre hydrodynamique par diffusion dynamique de la lumière DLS des suspensions de NCC dispersés dans l'eau et dans le DMF montrent une très grande similarité. Il s'agit d'une distribution de taille monomodale présentant un maximum à 130 nm (Figure III.9b). Ces résultats montrent donc que la dispersion dans le DMF est aussi bonne que dans l'eau.



**Figure III.9.** (a) Photo d'une suspension de NCC oxydés TEMPO dans le DMF de concentration 1% (m/m) entre polariseurs croisés où nous voyons clairement la biréfringence sous écoulement (b) Diamètres hydrodynamiques de suspensions de NCC oxydés TEMPO dispersés dans l'eau (ligne pleine) et dans le DMF (ligne pointillée) mesurés par DLS.

Finalement, des clichés de microscopie électronique en transmission avec coloration négative à l'acétate d'uranyle ont été réalisés à partir de suspensions de NCC dans l'eau (figure III.10 a) et dans le DMF (figure III.10 b). Les résultats montrent une bonne dispersion dans les deux cas. La dispersion des NCC sulfatés dans le DMF a fait l'objet de plusieurs

études. Van den Berg *et al.*<sup>172</sup> ont préparé des suspensions stables de NCC de tunicier dans des solvants aprotiques polaires comme le DMF en redispersant des suspensions aqueuses lyophilisées dans ce solvant à l'aide d'une sonication prolongée (24 heures). Hormis le fait que cette méthode nécessite beaucoup d'énergie et peut nuire à l'intégrité des NCC, elle ne pourrait pas être comparée directement à la notre puisqu'il s'agit de NCC issus de tunicier, différents de ceux dérivés du coton en terme de taille, de facteur de forme et de densité de charge de surface. Viet *et al.*<sup>97</sup> ont montré qu'une petite quantité d'eau (0,1%) est nécessaire pour redisperser une suspension de NCC de coton lyophilisée dans le DMF ou le DMSO. Dans notre cas, par la méthode d'échange de solvant, nous avons pu disperser les suspensions dans du DMF anhydre sans avoir besoin d'ajouter d'eau. Tang *et al.*<sup>173</sup> ont également développé un processus sol-gel d'échange de solvant efficace mais chronophage, rendant possible la dispersion des NCC de coton ou de tunicier dans le DMF.



**Figure III.10.** NCC de coton oxydés TEMPO observés par MET après coloration négative à l'acétate d'uranyle, initialement dispersés dans l'eau (a) ou dans le DMF (b).

Une fois la bonne dispersion des nanoparticules dans le DMF atteinte, nous avons comparé les valeurs de  $DS/DO$  obtenues après réaction dans le DMF et dans l'eau (tableau III.1 + figure III.8 b). Nous constatons que dans le DMF le rendement est significativement plus élevé que dans l'eau.

A titre d'exemple (tableau III.1 + figure III.8b), en prenant les mêmes conditions ( $DO$ , nombre d'équivalents et polymère), le rendement passe de 20 – 30% dans l'eau à 45 – 55% dans le DMF. Nous n'avons pas une justification claire de cette différence mais ceci pourrait être expliqué, de manière classique, comme dans le cas de la synthèse de certains peptides<sup>174</sup> où un mélange eau/DMF a été utilisé, par le fait que le DMF empêche la compétition entre le

solvant (l'eau) et l'amine (le polymère). Une autre explication possible vient du réarrangement que le premier intermédiaire (voir mécanisme du couplage peptidique paragraphe I.3.3.1) pourrait subir. En effet, cette réaction, qui théoriquement resterait secondaire et minoritaire avec l'emploi du co-agent de couplage NHS, est favorisée dans les solvants polaires et notamment dans l'eau, ce qui tendrait à baisser le rendement.

### III.1.3.3 Effet du polymère

Quatre polymères différents à terminaison amine appartenant à la famille des Jeffamines ont été étudiés : M600, M1000, M2005 et M2070. La composition et la masse moléculaire de chacun d'eux ont été décrites dans le paragraphe II.1.2. Les résultats du tableau III.1 montrent que dans l'eau, la Jeffamine M1000 est plus réactive que la Jeffamine M2070, menant à des *DS* et des rapports *DS/DO* plus importants, ce qui peut être attribué à la plus grande mobilité de la M1000 due à sa plus petite masse. Ce dernier facteur ne semble pas être le seul à gouverner la réactivité en remarquant que la réactivité de ces deux polymères est proche dans le DMF. Un autre paramètre à considérer est la composition. Le rapport OP/OE est moins important pour la Jeffamine M1000 (3/19) que pour la Jeffamine M2070 (10/31) ce qui rend cette dernière plus hydrophobe et par conséquent, plus réactive dans le DMF. L'effet de la composition se voit clairement en comparant les réactivités des Jeffamine M600 et M2070 dans l'eau. Une réactivité moins importante de la Jeffamine M600 a été observée malgré sa plus petite masse. Ce résultat peut être attribué au caractère plus hydrophobe de M600 induit par son rapport OP/OE (9/1) élevé. Quant à la Jeffamine M2005, malgré sa masse comparable à celle de M2070 et malgré son caractère plus hydrophobe (OP/OE = 29/6), sa réactivité dans l'eau a été systématiquement plus grande que celle de M2070.

### III.1.3.4 Effet des microondes

Nous nous sommes attachés à réaliser le couplage peptidique dans le DMF avec l'aide des microondes (description paragraphe II.1.2). Les résultats ne montrent aucune amélioration significative du rendement. En revanche, cette technique permet de réduire considérablement la durée de la réaction, de 48 h à quelques minutes, soit une amélioration d'un facteur 200.

### III.1.3.5 Comparaison des quantifications par conductimétrie et par RMN

La quantification des degrés de substitution a également été réalisée par déconvolution et analyse des spectres de RMN du solide. L'accès limité à cette technique ne nous a pas permis d'analyser systématiquement tous nos échantillons. La comparaison des valeurs de *DO* mesurées par les deux techniques sur des échantillons identiques montre que les valeurs calculées par RMN sont plus faibles. Une explication possible pourrait être la surestimation des *DO* par conductimétrie par dosage des groupements sulfates restant en plus des groupements carboxylates. Par contre, les résultats des deux techniques sont en accord sur le fait que les suspensions de NCC dont le couplage a été fait dans le DMF ont des valeurs de *DS/DO* plus hautes. Nous notons que le signal des imines est beaucoup plus marqué dans le cas du DMF que dans celui de l'eau. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la réaction entre les aldéhydes et les imines, produisant de l'eau, est plus favorable dans le DMF. Nous remarquons également que la valeur de *DO* est inférieure à la somme de *DS* et *DO<sub>i</sub>* (signal des acides carboxyliques restant après greffage). Cette différence correspond aux carbonyles des aldéhydes qui ont donné naissance aux imines contribuant au *DS*. Ces aldéhydes ne sont pas détectés dans l'échantillon oxydé à cause de leur transformation en hémiacétal après lyophilisation, étape nécessaire pour analyser les échantillons en RMN du solide.

**Tableau III.2** Analyse quantitative de différents échantillons de NCC oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine par RMN du solide

Echantillon	signal d'acide carboxylique (174 ppm)	signal de l'amide (170 ppm)	Signal de l'imine (155 ppm)	DS (Somme pics amide + imine)	Signal du C $\alpha$ (45 ppm)	DO	DS/DO
S6 oxydée	10,3%					0,103	-
S6 M1000 H2O	5,3%	6%	0,88%	6,88%	6,49%		56,5%
S6 M2070 H2O	6,9%	6,2%	0,87%	7,07%	7,72%		50,6%
S6 M1000 DMF	4,3%	6,4%	2,2%	8,6%	8,48%		66,66%
S6 M2005 DMF	3,6%	5,7%	1,85%	7,55%	5,68%		68,3%
S7 oxydée	11,5%	-	-	-	-	0,115	-
S7 M1000 DMF	3,6%	5%	2,72%	7,72%	8,03%		68,19%

La comparaison du signal du carbone C $\alpha$  (le premier carbone du polymère après la liaison amide) et de la somme des signaux de l'amide et de l'imine donne un résultat intéressant. En effet, l'égalité de ces deux contributions montre l'absence de polymère non greffé dans nos suspensions, adsorbé à la surface d'une manière non covalente par exemple.

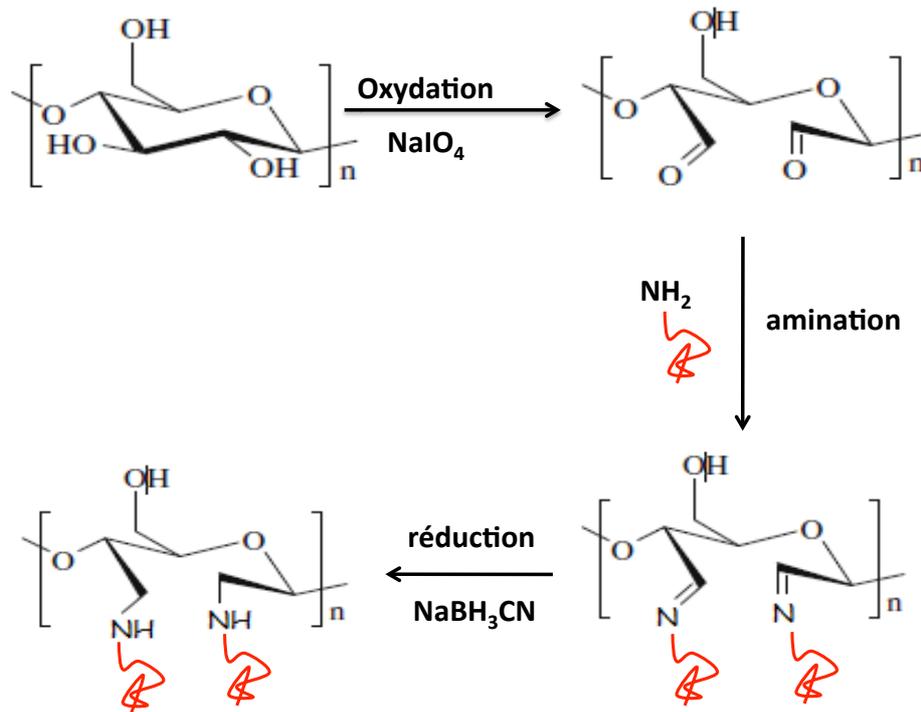
En prenant un *DS* moyen de 0,06 mol/mol d'anhydroglucose, et en considérant que les dimensions des NCC sont de 126, 26 et 6 nm pour la longueur, la largeur et l'épaisseur, nous pouvons estimer une densité de greffage d'environ 0,8 chaîne/nm<sup>2</sup>. Cette valeur, restant toujours dans la catégorie des faibles densités de greffage, est supérieure aux *DS* obtenus pour le greffage de polymères sur les NCC par *grafting onto*<sup>78,148,153</sup> et comparable aux *DS* obtenus par *grafting from*.<sup>159,161</sup> Cependant, l'avantage du *grafting from* reste la possibilité de greffer des chaînes longues.

## III.2 Oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons présenté la modification des NCC par oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique pour greffer des chaînes de polymères sur la surface. Les densités de greffage restent faibles, avec un *DS* de 0,06 en moyenne. Nous avons alors décidé d'explorer une autre méthode de modification, l'oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice, dans le but d'augmenter la densité. Cette augmentation pourrait venir du fait qu'après oxydation au métaperiodate, deux groupements aldéhydes seront générés par unité d'anhydroglucose, à la place d'un seul groupement acide carboxylique dans le cas de l'oxydation TEMPO. Cette méthode sera décrite dans ce qui suit.

### III.2.1 Réactions mises en jeu

L'ion périodate est connu pour son pouvoir oxydant. Ce dernier est spécifique pour convertir les groupements 1,2-dihydroxyl en deux groupements aldéhydes. Appliquée aux nanocristaux de cellulose, cette oxydation permet l'ouverture du cycle de pyranose entre les carbones C2 et C3, tout en générant deux groupements aldéhydes très réactifs.



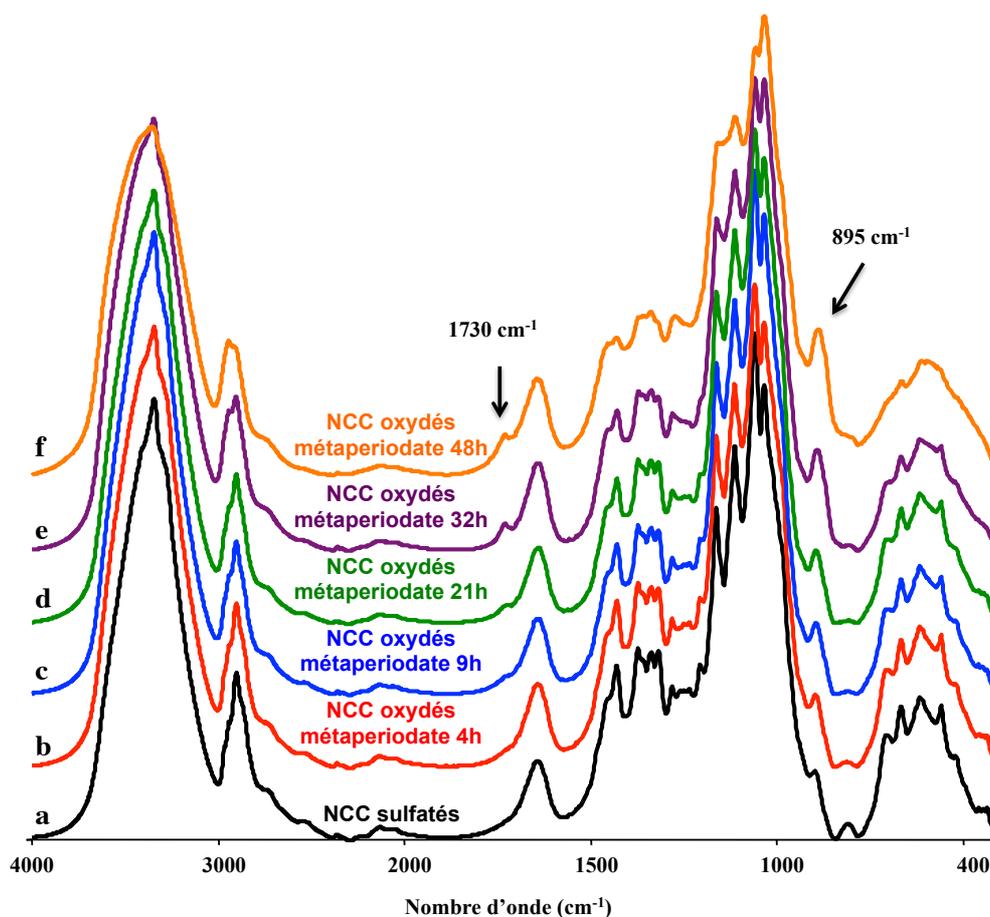
**Figure III.11.** Différentes étapes réactionnelles de la modification chimique des NCC par oxydation métaperiodate suivie d'une amination réductrice

Ces aldéhydes pourraient réagir avec notre polymère à terminaison amine pour former des liaisons imines. Ces dernières seront réduites en amine secondaire en utilisant le cyanoborohydrure de sodium. La figure III.11 résume les différentes étapes de cette méthode de modification. L'amination et la réduction ont été faites en une seule étape. Il est à noter qu'après séchage des NCC oxydés au métaperiodate, les groupements aldéhydes nouvellement générés peuvent former des liaisons hémiacétales non réversibles.

## III.2.2 Preuves et quantification de l'oxydation

### III.2.2.1 L'oxydation est démontrée par IR et RMN

Pour s'assurer qu'après la première étape l'oxydation en aldéhyde a bien eu lieu, nous avons utilisé les spectroscopies infrarouge et RMN.

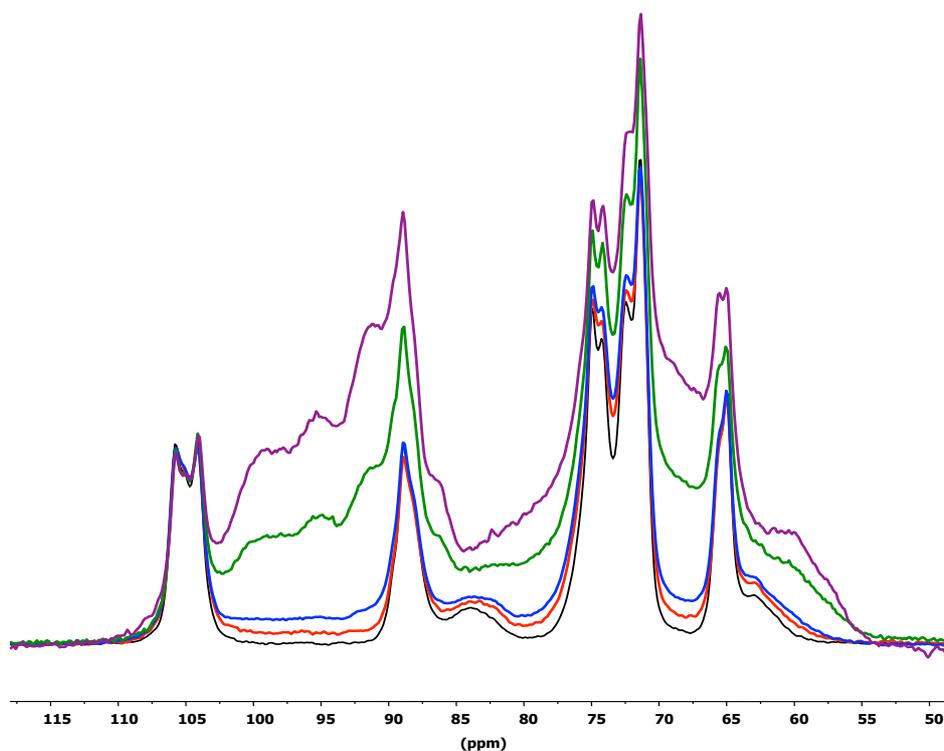


**Figure III.12.** Spectres FTIR de NCC sulfatés (a) et de NCC oxydés métaperiodate pendant 4 h (b), 9 h (c), 21 h (d), 32 h (e) et 48 h (f) – Transmission sur pastilles KBr.

La figure III.12 montre différents spectres infrarouge pour des échantillons de NCC oxydés par métaperiodate avec différents temps d'oxydation allant de 4 à 48 h. Nous pouvons remarquer l'apparition de deux nouveaux pics qui s'accroissent au fur et à mesure que la durée de réaction augmente. La première bande apparaît vers  $1730\text{ cm}^{-1}$ . Il est attribué aux carbonyles des groupements aldéhydes qui ont échappé à la transformation en hémiacétal par séchage.<sup>175</sup> L'autre pic, plus marqué, est celui vers  $895\text{ cm}^{-1}$  qui est attribué aux liaisons hémiacétales.<sup>176</sup> Ceci montre la présence des aldéhydes sur les NCC oxydés avant que la suspension ne soit séchée. Nous notons aussi la présence de cette bande, mais avec une faible intensité, dans l'échantillon des NCC non modifiés. Cela vient de la présence des aldéhydes sur l'extrémité réductrice des chaînes de cellulose.

Les mêmes échantillons ont été analysés par RMN du solide. Les résultats (figure III.13) montrent l'apparition des signaux des hémiacétals dans la région entre 90 et 102 ppm, entre les signaux des carbones C1 et C4. Pour les temps d'oxydation courts (9 et 21 h), cette

région ressemble à un plateau mais qui est plus haut en intensité que pour l'échantillon non modifié. En réalité, ce pseudo plateau est constitué de la convolution de trois signaux qui se superposent. Plus on augmente le temps d'oxydation (36 et 48 h), mieux on voit les trois signaux distincts à 92, 95 et 98 ppm.

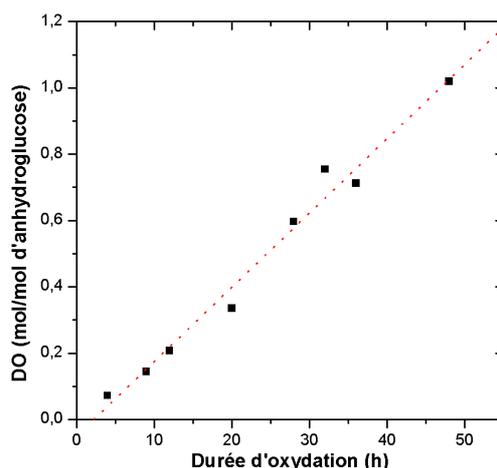


**Figure III.13.** Spectres RMN du solide de NCC sulfatés (noir) et de NCC oxydés au métaperiodate pendant 9 h (rouge), 21 h (bleu), 32 h (vert) et 48 h (violet).

D'autres contributions, qui sont liées aux hémiacétals et qui deviennent également plus claires pour les temps d'oxydation longs, apparaissent dans les zones 78-86 ppm et 66-70 ppm.<sup>177</sup>

### III.2.2.2 Quantification du degré d'oxydation

Pour mesurer la quantité de groupements aldéhydes introduits après une oxydation periodate, nous avons adopté la méthode de titrage utilisée par Zhao *et al.*<sup>178</sup> avec des dextrans polyaldéhydes et qui a été également utilisée par Larsson *et al.*<sup>179</sup> avec des papiers oxydés. Le dosage pH-métrique (décrits en détails dans le paragraphe II.2.1.2) permet de calculer le *DO*. Notons que comme il s'agit d'une oxydation des deux alcools secondaires, et que contrairement à l'oxydation TEMPO, la réaction n'est pas limitée à la surface des NCC, le *DO* maximal pourrait atteindre la valeur de 2.

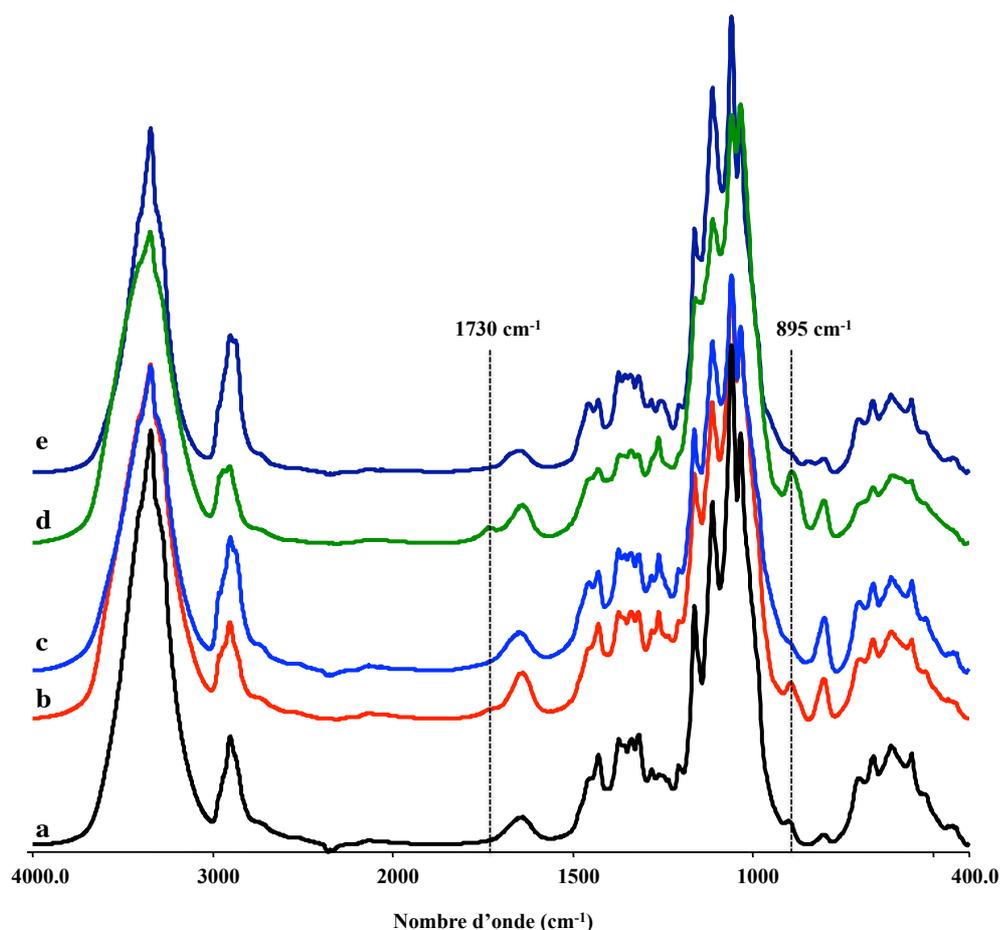


**Figure III.14.** Variation du degré d'oxydation des NCC oxydés métaperiodate mesuré par dosage pH-métrique en fonction de la durée d'oxydation.

Le *DO* a été mesuré pour une durée d'oxydation variable allant de 4 à 48 h. Les résultats présentés sur la figure III.14 montrent une croissance du degré d'oxydation avec le temps de la réaction. Ce résultat est important car il montre que nous sommes capables de contrôler facilement le *DO* sur une large gamme. Une certaine marge d'erreur est possible sur la valeur de la durée puisque l'arrêt de la réaction après un temps donné n'est pas immédiat. Il faut attendre une étape d'ultracentrifugation qui sépare le culot de NCC oxydés du surnageant contenant l'oxydant. Nous aurions pu arrêter la réaction en ajoutant un excès de polyéthylène glycol (PEG) qui décompose l'ion periodate mais comme nous devons greffer dans l'étape qui suit un polymère de même nature (la Jeffamine), nous avons préféré arrêter la réaction par ultracentrifugation.

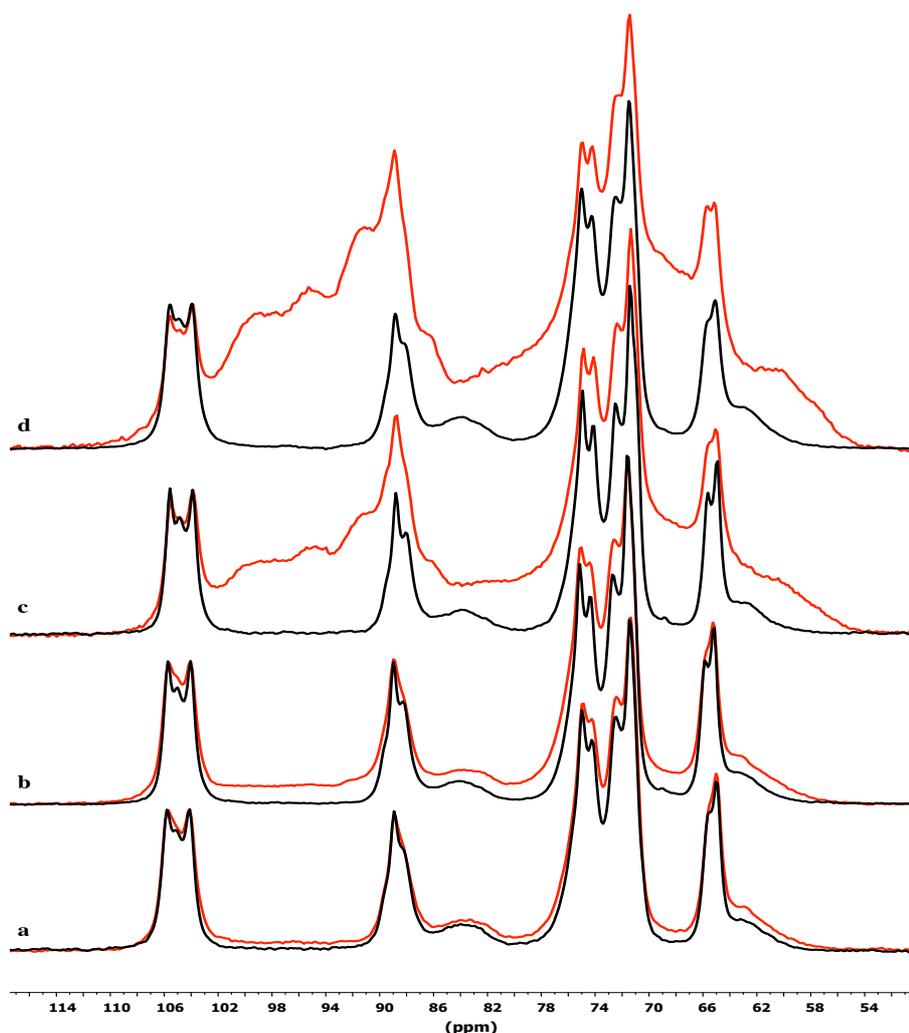
### III.2.3 Caractérisation après amination réductrice

Après avoir préparé plusieurs suspensions oxydées avec différents *DO*, nous avons réalisé la deuxième étape de modification qui consiste en une réaction d'amination réductrice qui doit permettre de greffer les polymères sur les NCC via une liaison amine secondaire. Pour suivre cette modification, nous avons utilisé dans un premier temps la spectroscopie infrarouge. Comme la bande de vibration de l'amine secondaire (C-N) sort entre 1000 et 1100  $\text{cm}^{-1}$ , une zone où se trouvent les vibrations de la liaison C-O des carbones 2, 3 et 6 de la cellulose, il était difficile de suivre l'évolution de cette bande. Nous avons donc décidé de suivre l'évolution des bandes de l'aldéhyde et des hémiacétals.



**Figure III.15.** Spectres FTIR de NCC sulfatés (a) oxydés métaperiodate 21 h (b), oxydés métaperiodate 21 h – AR M2070 (c), oxydés métaperiodate 32 h (d) et oxydés 32 h – AR M2070 (e) – Transmission sur pastilles KBr.

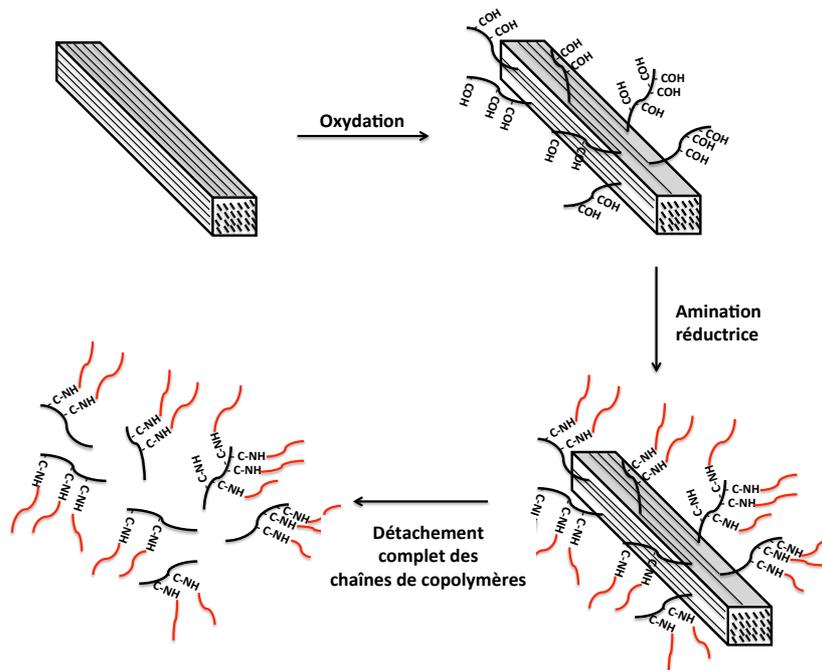
La figure III.15 montre les spectres IR d'échantillons oxydés métaperiodate puis ayant subi une amination réductrice en présence de la Jeffamine M2070 (notés AR-M2070). Nous remarquons une diminution de l'intensité des bandes à  $1730\text{ cm}^{-1}$  et  $895\text{ cm}^{-1}$  après l'amination réductrice. Ce résultat indique une consommation des aldéhydes. Les mêmes échantillons ont été analysés en RMN du solide (Figure III.16). Les spectres montrent clairement une disparition quasi-totale des signaux des hémiacétals confirmant ainsi les résultats de la spectroscopie infrarouge. Cette disparition des hémiacétals, se traduisant par la disparition des signaux entre 90 et 102 ppm, montre que les aldéhydes, qui étaient présents sur les NCC après l'oxydation, ont été consommés. Par conséquent, nous nous attendions à voir les signaux du polymère greffé. Cependant, étonnamment, aucun signal de polymère n'a été observé dans la zone 10-55 ppm où leurs signaux sont attendus.



**Figure III.16.** Spectres RMN du solide de NCC oxydés métaperiodate (rouge) et de son correspondant ayant subi une amination réductrice avec la Jeffamine M2070 (noir). Les différentes durées d'oxydation sont 9 h (a), 21 h (b), 32 h (c) et 48 h (d).

### III.2.4 Pourquoi aucun signal du polymère n'est apparu ?

Evidemment, le fait de ne pas avoir de signaux du polymère signifie que le polymère n'a pas été greffé sur les NCC pendant l'étape d'amination réductrice. Cependant, les deux techniques montrent bien une disparition des liaisons hémiacétales. Nous avons éliminé l'hypothèse que les aldéhydes se soient engagés dans une réaction secondaire qui a conduit leur consommation sans réaction avec le polymère puisque cette réaction a été utilisée avec succès avec d'autres substrats cellulosiques et qu'aucune réaction secondaire n'a été rapportée.<sup>146,147,180</sup> Une hypothèse, schématisée sur la figure III.17, a été émise pour expliquer ce résultat.



**Figure III.17.** Schéma décrivant notre hypothèse et montrant le détachement partiel des chaînes de cellulose après oxydation métaperiodate et le détachement complet de chaînes de copolymère cellulose-Jeffamine suite au greffage.

Nous imaginons qu'après l'oxydation métaperiodate et la formation des dialdéhydes, une partie des chaînes de surface se détache partiellement du cristal. Cette étape serait favorisée par la coupure de la liaison C2-C3. Après l'amination réductrice, le polymère réagit avec ces chaînes partiellement détachées de plus grande mobilité et entraîne leur détachement total. On assisterait donc à un phénomène de "pelage" des chaînes de surface et à la formation de copolymères en peigne constitués d'un squelette de cellulose et de chaînes pendantes de Jeffamine. Cette hypothèse explique pourquoi nous obtenons des NCC non modifiés avec des groupements aldéhydes qui ont disparus. Dans le chapitre suivant, d'autres analyses permettront de vérifier cette hypothèse.

### III.3 Conclusion

L'objet de ce chapitre était de décrire la chimie des deux stratégies utilisées dans la modification des NCC. Les NCC ont été oxydés dans un premier temps par oxydation "TEMPO", réaction générant des groupements acides carboxyliques à la surface sur les carbones C6 de la cellulose. La réussite de la réaction a été démontrée par spectroscopies

RMN du solide et infrarouge. Les degrés d'oxydation (*DO*), calculés par dosage conductimétrique et RMN du solide, étaient compris entre 0,1 et 0,2 mol/mol d'anhydroglucose. Une fois oxydés, les NCC ont réagi avec les Jeffamines par couplage peptidique, en utilisant l'EDAC et le NHS comme agents de couplage. La covalence de la liaison NCC-polymère a été démontrée par spectroscopies infrarouge et RMN du solide. Des degrés de substitution (*DS*) entre 0,03 et 0,08 ont été obtenus. Une étude d'optimisation de la réaction du couplage peptidique a montré que des *DS* plus élevés peuvent être atteints en employant 4 équivalents en polymère et en agents de couplage, et en utilisant le DMF comme solvant. L'effet du polymère, de sa masse et de sa composition, semble être plus compliqué à cerner.

Dans une seconde approche, nous avons oxydé les NCC par l'ion periodate, en générant des groupements dialdéhydes sur les carbones C2 et C3 de la cellulose. Le *DO* a été contrôlé par la durée de l'oxydation. Après une réaction d'amination réductrice entre les NCC oxydés au métaperiodate et la Jeffamine, visant à greffer les chaînes de polymère sur les NCC, nous avons mis en évidence une disparition des groupements aldéhydes, par spectroscopies infrarouge et RMN du solide, sans détecter de trace des polymères. Une hypothèse a été émise pour expliquer cette observation qui consiste en un détachement partiel des chaînes de cellulose suite à l'oxydation, suivie d'un détachement complet suite au greffage du polymère par amination réductrice. Cette hypothèse sera confrontée à d'autres résultats expérimentaux dans les chapitres suivants.



# **Chapitre IV**

## **Caractérisation physicochimique et nouvelles propriétés des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés**



## IV. Caractérisation physicochimique et nouvelles propriétés des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés

Nous avons décrit dans le chapitre précédent les deux méthodes de modification chimique que nous avons utilisées pour greffer des chaînes de polymère sur la surface des nanocristaux de cellulose. Dans ce chapitre, nous allons voir différentes caractérisations physico-chimiques à différentes échelles qui mettent en évidence les nouvelles propriétés acquises après la modification des NCC. Nous utiliserons la notation "NCC-g-P" pour désigner les nanocristaux de cellulose décorés de polymère par couplage peptidique où "P" pourra être remplacée par M600, M1000, M2005 ou M2070 pour désigner la Jeffamine correspondante. Nous emploierons également la notation "NCC oxydés métaperiodate-AR-P" pour désigner les nanocristaux qui ont été oxydés par métaperiodate et qui ont subi la réaction d'amination réductrice en présence de polymère (P). Les concentrations citées en pourcentage correspondent à des fractions massiques (m/m), sauf indication contraire.

### IV.1 NCC-g-P obtenus par couplage peptidique

Le couplage peptidique des chaînes de Jeffamine a été démontré principalement par spectroscopies infrarouge et RMN. Une densité de greffage moyenne de 0,06 a été obtenue. Malgré ces valeurs de *DS* relativement faibles, qui sont caractéristiques des méthodes de greffage de polymères par *grafting onto*,<sup>3</sup> les NCC-g-P manifestent de nouvelles propriétés intéressantes.

#### IV.1.1 Variations à l'échelle nanométrique

##### IV.1.1.1 Conservation de la morphologie

Dans un premier temps, nous avons cherché à identifier d'éventuelles modifications de la morphologie des nanoparticules après chaque étape réactionnelle (oxydation puis couplage peptidique). Pour cela, nous avons eu recours à la MET (cf. § II.2.9).

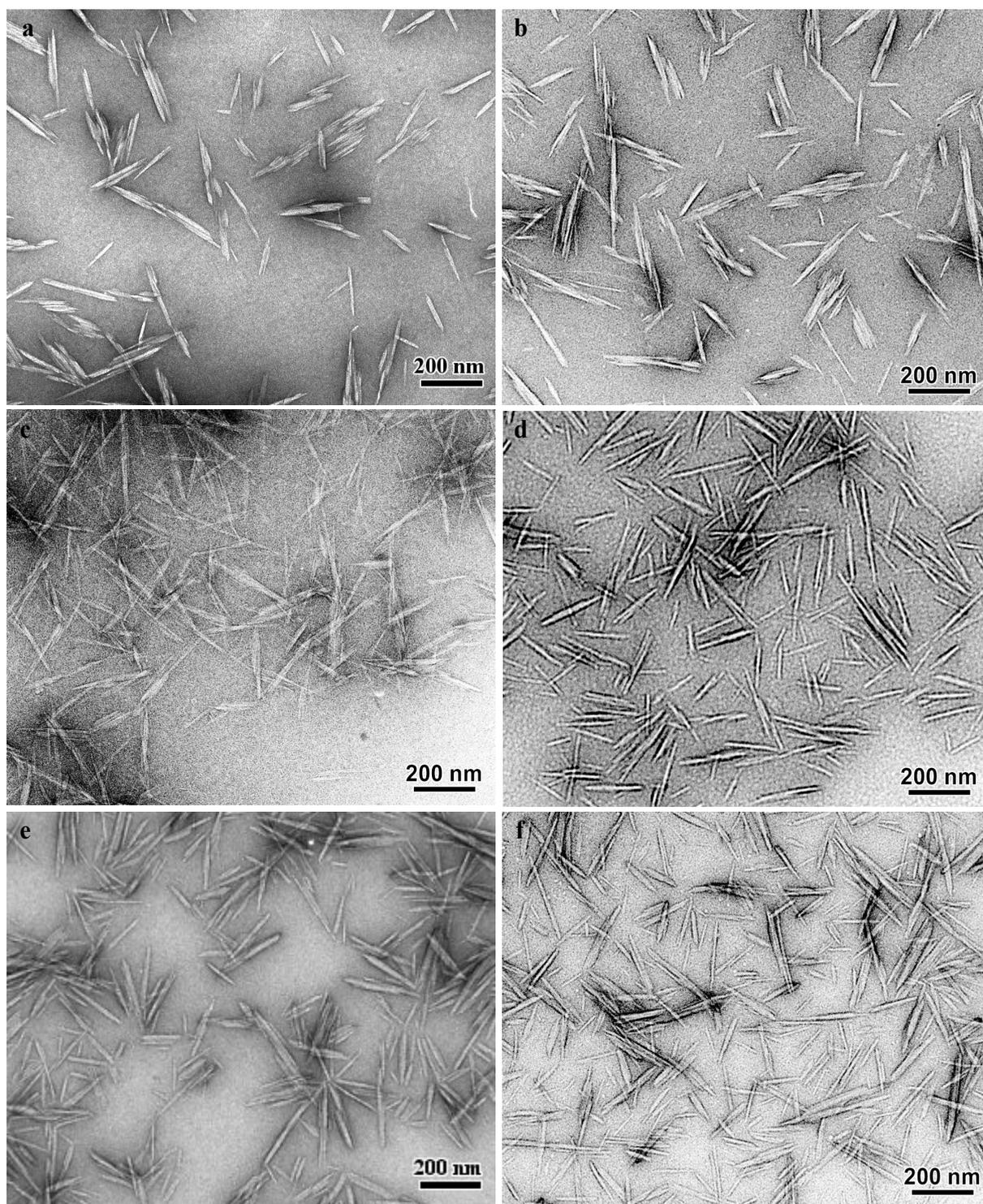
La figure IV.1 présente différentes images de MET de NCC non modifiés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine dans l'eau ou dans le DMF, déposés sur des films de carbone et colorés négativement.

La figure IV.1a présente les NCC extraits de linters de coton initiaux (sulfatés). Les objets apparaissent comme des bâtonnets courts et rigides de longueur de l'ordre de 100 à 200 nm et de largeur variant entre 5 et 30 nm, ce qui traduit une forte polydispersité. Nous observons également que les nanoparticules sont constituées de fagots regroupant un petit nombre de sous-unités. Ces observations sont en accord avec les résultats d'Elazzouzi-Hafraoui *et al.*<sup>69</sup> Comme discuté dans le paragraphe I.2.2, ces auteurs ont montré grâce à des expériences complémentaires de MET, cryo-MET et diffusion des rayons X aux petits et aux grands angles que les NCC issus de coton sont formés de l'association latérale de 2 à 3 cristallites élémentaires et que cette association n'est pas un artéfact dû au séchage ou à la coloration.

Les figures IV.1b et IV.1c montrent qu'aucun changement de la morphologie des NCC n'est observé après l'étape d'oxydation TEMPO. L'observation des NCC oxydés qui avaient été transférés dans le DMF (Fig. IV.1c) révèle des objets bien individualisés, preuve de la bonne dispersion obtenue après le changement de solvant.

Les NCC-g-M1000, après réaction dans le DMF, ainsi que les NCC-g-M2005 et NCC-g-M2070, après réaction dans l'eau, sont présentés respectivement sur les figures IV.1d, IV.1e et IV.1f. Dans les trois cas, nous remarquons d'une part que la morphologie des nanoparticules a été préservée. D'autre part, les images montrent des NCC-g-P parfaitement bien individualisés. Ce résultat prouve la parfaite dispersion des NCC-g-P assurée par des forces répulsives entre particules.

Nous notons qu'aucune couche de polymère n'a été détectée autour des NCC-g-P. L'explication la plus probable est que les chaînes en question sont de petites tailles ( $R_g$  entre 0,5 et 1,25 nm) et que leur densité de greffage est trop faible (régime champignon plutôt que brosse) pour générer un contraste pour des échantillons préparés par séchage.



**Figure IV.1.** NCC sulfatés (a), oxydés TEMPO et dispersés dans l'eau (b), oxydés TEMPO et dispersés dans le DMF (c), NCC-g-M1000 (d), NCC-g-M2005 (e), NCC-g-M2070 (f), déposés sur un film de carbone décapé par effluage et observés en MET après coloration négative à l'acétate d'uranyle. Le greffage de la Jeffamine M1000 a été réalisé dans le DMF et celui des Jeffamines M2005 et M2070 a été réalisé dans l'eau.

### **IV.1.1.2 Variation du diamètre hydrodynamique**

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est fondée sur l'observation de la diffusion (mouvement Brownien) des nanoparticules qui est directement reliée à leur taille. Nous nous sommes donc intéressés aux diamètres hydrodynamiques des objets mesurés par cette technique aux différentes étapes du processus réactionnel.

Comme nous avons affaire à des NCC qui sont en forme de bâtonnet, le diamètre hydrodynamique mesuré,  $D_H$ , sera le diamètre d'une sphère théorique qui aurait le même coefficient de diffusion que ces bâtonnets. Par conséquent,  $D_H$  ne représente pas la taille physique réelle des particules. Notons qu'après chaque mesure, l'appareil effectue deux analyses : une première appelée analyse des cumulants qui suppose l'existence d'une seule taille (z-average) et une deuxième appelée analyse de distribution qui prévoit l'existence d'une distribution multimodale. Dans les résultats présentés, une distribution monomodale a été obtenue dans tous les cas. Sauf indication contraire, nous allons faire référence à la valeur de la taille moyenne (z-average) des nanoparticules. Dans le cas des NCC-g-M2005, les mesures présentées ont été effectuées à 4 °C, une température inférieure à la LCST du polymère.

Les résultats obtenus pour deux lots de suspensions de NCC initiaux après les différentes étapes réactionnelles sont regroupés dans le tableau IV.1. Le diamètre hydrodynamique mesuré sur les suspensions sulfatées initiales a une valeur d'environ 100 nm, proche de la longueur des NCC. Toutefois, comme mentionné plus haut, il s'agit là d'une coïncidence.

La comparaison des diamètres hydrodynamiques avant (NCC sulfatés) et après oxydation TEMPO montre pour les deux lots une variation non significative du diamètre hydrodynamique après l'étape d'oxydation. Ce résultat est en accord avec l'absence de modification de la taille des nanoparticules attendue après introduction de fonctions acide carboxylique en surface des NCC.

Dans tous les cas, après l'étape de greffage, et quelles que soient les conditions de la réaction, nous notons une augmentation du  $D_H$ . Comme discuté ci-dessus, ceci ne veut pas dire que la longueur géométrique des NCC a augmenté, mais correspond plutôt à la diminution du coefficient de diffusion suite au greffage des chaînes de polymère. Les mesures de DLS montrent donc indirectement, par l'augmentation de la taille des objets, la réussite du greffage.

**Tableau IV.1** Diamètres hydrodynamiques et potentiels zêta de différentes suspensions. Les mesures ont été effectuées dans l'eau à pH 7 à une température inférieure à la LCST du polymère lorsqu'il était présent.

Suspension initiale	Solvant pour la réaction de couplage peptidique	Polymère	Diamètre hydrodynamique (nm)	Potentiel zêta (mV)
<b>S6 coton</b>	Eau	Non greffé (sulfaté)	<b>93,4 ± 7,8</b>	-
	Eau	Non greffé (oxydé TEMPO)	<b>95,9 ± 0,5</b>	-
	Eau	Jeff M1000	110,2 ± 1,2	-8,41 ± 1,4
	Eau	Jeff M2070	120 ± 1,2	-5,76 ± 0,3
	DMF	Jeff M1000	139,4 ± 2,4	-4,49 ± 0,5
	DMF	Jeff M2070	123,3 ± 7,6	-12,7 ± 2,1
<b>S5 coton</b>	Eau	Non greffé (sulfaté)	<b>103,7 ± 1</b>	<b>-33,4 ± 1,5</b>
	Eau	Non greffé (oxydé TEMPO)	<b>95,9 ± 0,5</b>	<b>-44,1 ± 2,8</b>
	Eau	Jeff M600	110,1 ± 0,2	
	Eau	Jeff M2005	142,6 ± 2,4	-4,3 ± 0,5
	Eau	Jeff M2070	131,1 ± 4,6	-5,1 ± 1,7
	DMF	Jeff M1000	163,3 ± 8,9	-8,7 ± 1,7
	DMF	Jeff M2005	181,4 ± 1,7	-1,6 ± 0,5

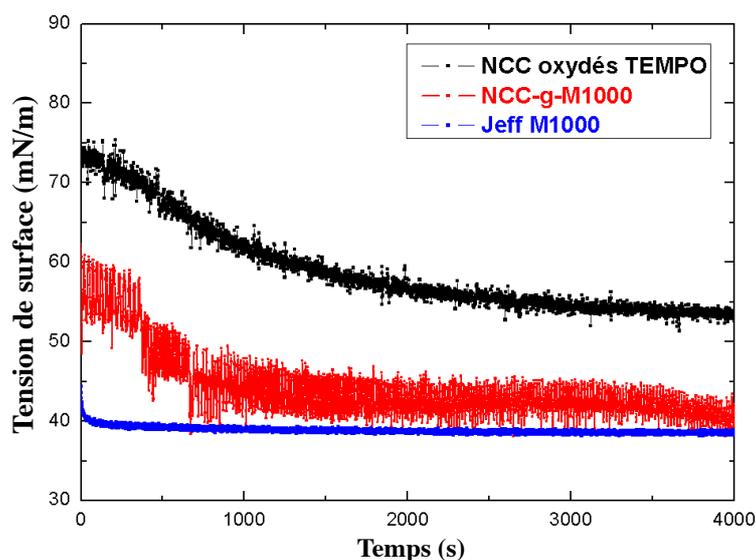
En examinant les valeurs en détails, nous remarquons que pour un polymère donné, le  $D_H$  mesuré est plus grand pour les échantillons dont le greffage a été fait dans le DMF par rapport à ceux greffés dans l'eau, ce qui est en accord avec les résultats de conductimétrie et de RMN (chapitre III) qui montrent une densité de greffage plus importante dans le DMF que dans l'eau.

En revanche,  $D_H$  ne semble pas être lié directement à la masse du polymère greffé. Ce résultat est la conséquence de deux effets antagonistes: d'une part, un polymère greffé de masse plus grande entraînerait une diminution plus importante du coefficient de diffusion des NCC et donc une augmentation plus importante du  $D_H$ . D'autre part une masse plus grande correspond à une densité de greffage plus petite (cas des NCC-g-M1000 et M2070 dans le paragraphe III.1.3.3) et par conséquent à  $D_H$  plus petit. Ceci se voit en comparant les  $D_H$  des NCC-g-M1000 et NCC-g-M2070.

## IV.1.2 Propriétés de surface

Les propriétés de surface des NCC-g-P ont été étudiées par des mesures de tension de surface ( $\gamma$ ) à l'interface eau-air, en créant une bulle d'air dans la suspension correspondante.

La figure IV.2 montre des mesures de  $\gamma$  en fonction du temps d'une suspension oxydée TEMPO, d'une suspension de NCC-g-M1000 et d'une solution de Jeffamine M1000 de concentrations massiques 1%.



**Figure IV.2.** Variation de la tension de surface en fonction du temps des suspensions NCC oxydés TEMPO (noir) et NCC-g-M1000 (rouge) et de la solution de Jeffamine M1000 (bleu). La concentration massique est de 1% pour tous les échantillons.

Ces résultats donnent une idée sur la cinétique d'adsorption à l'interface des différentes espèces ainsi que sur le caractère tensioactif des différentes nanoparticules. Dans le cas de la Jeffamine M1000, nous observons une diminution rapide de  $\gamma$  en moins de 50 s, montrant une adsorption rapide à l'interface eau-air de ces chaînes de polymère relativement courtes. La tension de surface à l'équilibre est de 38 mN/m, ce qui correspond à des espèces ayant un comportement tensioactif fort, comparable à celui d'un tensioactif comme le SDS, dû à la présence de groupements oxyde de propylène (OP) terminaux au sein des chaînes constituées principalement de groupements oxyde d'éthylène (OE).

Pour les NCC oxydés TEMPO, nous observons une diminution de  $\gamma$  avec le temps beaucoup moins rapide que dans le cas du polymère seul, due à la grande différence de

coefficient de diffusion des deux espèces. Les NCC oxydés TEMPO sont des objets chargés ayant une surface majoritairement hydrophile qui ne doivent pas présenter une grande affinité pour les interfaces hydrophile-hydrophobe. Cependant, nous notons une diminution de la tension de surface de 19 mN/m par rapport à l'eau pure pour la suspension de NCC oxydés TEMPO. L'adsorption non négligeable observée pourrait provenir de l'une des faces du cristal de cellulose. En effet, Mazeau *et al.*<sup>181</sup> affirment par une étude de dynamique moléculaire que la surface (100) du cristal de cellulose constituée de groupements C–H, est moins hydrophile que la surface (110), et aurait par conséquent tendance à s'adsorber aux interfaces hydrophile/hydrophobe. Cette propriété a récemment été utilisée par Kalashnikova *et al.*<sup>182,183</sup> pour stabiliser des émulsions d'huiles par des NCC.

Dans le cas des NCC-g-M1000, nous remarquons qu'une faible valeur de tension de surface à l'équilibre (41 mN/m) est atteinte en environ 2000 s. Ce résultat montre que le greffage de Jeffamine M1000 à la surface des NCC leur a conféré un caractère fortement tensioactif. La cinétique d'adsorption lente par rapport aux chaînes de polymères seules est une question de faible coefficient de diffusion des NCC-g-M1000.

Pour s'assurer que ce caractère de tensioactivité n'est pas dû à l'excès d'agent de couplage EDAC qui s'est avéré être présent en faible quantité (chapitre III), nous avons mesuré  $\gamma(t)$  d'une solution d'EDAC à 1% de concentration massique. La mesure montre que cette molécule n'a pas un caractère tensioactif marqué, sa tension de surface à l'équilibre, 65 mN/m, étant assez proche de celle de l'eau pure.

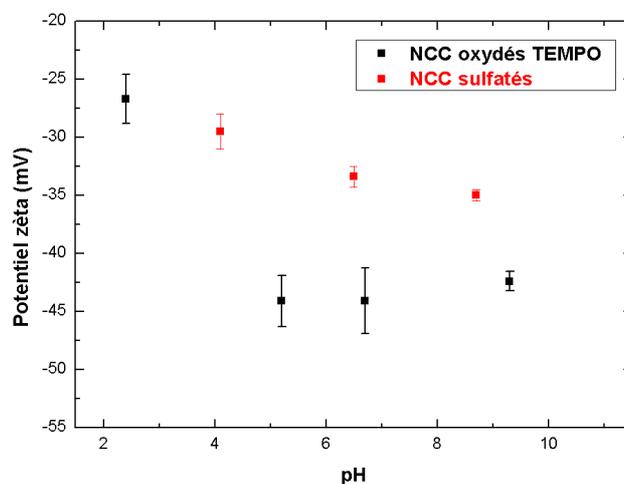
Ces résultats montrent que les NCC modifiés, grâce au polymère greffé, ont subi une modification de leurs propriétés de surface et ont acquis un caractère tensioactif. Ce dernier pourrait être utile pour des applications dans le domaine de stabilisation des émulsions ou des mousses.

## **IV.1.3 Stabilité colloïdale**

### **IV.1.3.1 Variation du potentiel zêta après modification**

Nous savons que les NCC obtenus après l'hydrolyse acide du coton sont décorés à leur surface par des groupements sulfates chargés négativement. La quantité de charge est de l'ordre de 0.04 mol/mol d'anhydroglucose en moyenne. Ces charges, générant des répulsions

électrostatiques entre les NCC, leur confèrent une stabilité colloïdale dans l'eau. Evidemment, la charge effective des ces nanoparticules colloïdales peut différer de leur charge réelle du fait des ions en solution, de signe opposé, qui sont plus ou moins fortement liés à la particule. Ainsi, distingue-t-on les contre-ions les plus proches des nanocristaux qui sont fortement retenus par attraction électrostatique formant une couche fixe appelée "couche de Stern", et les contre-ions plus faiblement liés et plus éloignés constituant une sorte de nuage autour des nanoparticules et formant une couche diffuse appelée "couche de Gouy". La charge effective tient donc compte d'une part de la couche fixe et d'autre part de la couche diffuse. Dans ce contexte, le potentiel zêta constitue une partie du potentiel total exercé par les nanoparticules et qui est dû à la charge effective de l'ensemble (nanoparticule + double couche).



**Figure IV.3.** Potentiel zêta en fonction du pH pour une suspension de NCC sulfatés (rouge) et oxydés TEMPO (noir).

Nous avons déterminé le potentiel zêta de nos différentes suspensions, vu le rôle important qu'il joue dans la stabilité de ces dernières.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet du pH sur le potentiel zêta des suspensions sulfatées et oxydées TEMPO (figure IV.3). Les mesures montrent une faible variation du potentiel avec le pH pour les NCC sulfatés. Ceci semble logique puisqu'il s'agit d'un acide fort qui est toujours dissocié en  $\text{SO}_3^-$  et  $\text{H}^+$  et par conséquent la charge totale ne varie pas avec le pH.

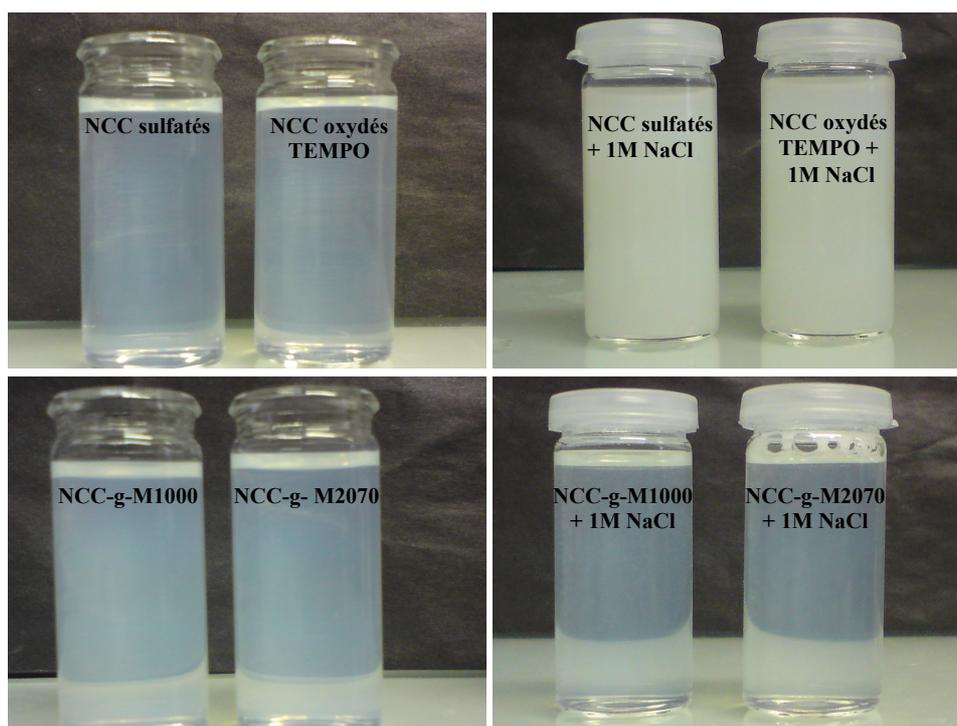
Ce n'est pas le cas des NCC oxydés TEMPO dont les charges proviennent essentiellement des groupements carboxylates générés par l'oxydation. S'agissant d'acide faible de pKa autour de 5,<sup>184</sup> la dissociation  $\text{COOH}/\text{COO}^-$  est gouvernée par le pH. Nous

remarquons que dès que le pH est abaissé vers des valeurs entre 2 et 3, le potentiel zêta augmente de façon significative (de -44 mV à pH 5,2 à -26 mV à pH 2,4), traduisant ainsi le passage d'un acide faible dissocié ( $\text{COO}^-$  et  $\text{H}^+$ ) à un acide faible peu dissocié ( $\text{COOH}$ ). Le fait que le potentiel zêta reste loin de zéro (-26 mV) pourrait être expliqué, d'une part, par le fait qu'à ce pH, une partie des  $\text{COOH}$  est encore dissociée et, d'autre part, par les groupements sulfates résiduels. Nous notons que le potentiel mesuré pour les NCC oxydés est plus élevé que celui des NCC sulfatés. Ceci est lié au fait que la quantité de charge introduite par oxydation TEMPO (0,1-0,2 mol/mol d'anhydroglucose) est plus importante que la quantité de sulfate introduite au cours de l'hydrolyse acide sulfurique (0,04 mol/mol). Okita *et al.*<sup>185</sup> ont mesuré de fortes valeurs de potentiels zêta (-75 mV) sur des microfibrilles de cellulose oxydées par TEMPO. Toutefois, la comparaison n'est pas directe puisqu'il s'agit de microfibrilles dont le *DO* peut être plus important que celui des NCC, et que les mesures n'ont pas été réalisées dans les mêmes conditions.

Dans un deuxième temps, nous avons tourné notre attention vers la comparaison des potentiels zêta avant et après greffage du polymère (Tableau IV.1, suspension S5). La comparaison a été faite pour des valeurs mesurées à un pH égal à 7. Nous constatons qu'après le greffage, le potentiel des suspensions de NCC diminue systématiquement et fortement, conduisant à la conclusion qu'une consommation des groupements acides carboxyliques s'est produite pour former les liaisons amides avec la Jeffamine. Ces valeurs donnent également des informations sur le type d'interactions entre NCC-g-P. En effet, il est connu que des suspensions de nanoparticules stabilisées par répulsion électrostatique sont stables pour des valeurs absolues de potentiel zêta supérieures à 20 mV. Le fait que nos suspensions de NCC greffés de différents polymères aient des potentiels bien inférieurs à 20 mV (en valeur absolue) et qu'elles soient en même temps parfaitement stables suggère que les NCC-g-P sont stabilisés par les répulsions stériques entre les chaînes de polymère greffées.

### IV.1.3.2 Stabilité en présence de sel

Pour mieux identifier le type d'interaction entre NCC-g-P, nous avons effectué des tests de stabilité en présence de sel. Nous savons que les NCC sulfatés initiaux, uniquement stabilisés par la présence d'un nombre relativement faible de groupements sulfates, perdent leur stabilité à partir de l'addition de 20 mM de sel monovalent. Pour dépasser largement cette limite, nous avons décidé de faire les tests avec 1 M NaCl. La figure IV.4 montre que dans ces conditions de forte salinité, les suspensions sulfatée et oxydée TEMPO, même si cette dernière est plus chargée, passent de suspensions stables limpides et transparentes en l'absence de sel ajouté à des suspensions blanches laiteuses instables après l'addition de sel. Ce comportement vient du fait que les répulsions électrostatiques, responsables de la stabilité des suspensions, ont été écrantées par la force ionique. Ceci cause la formation d'agrégats qui vont finir par sédimenter.

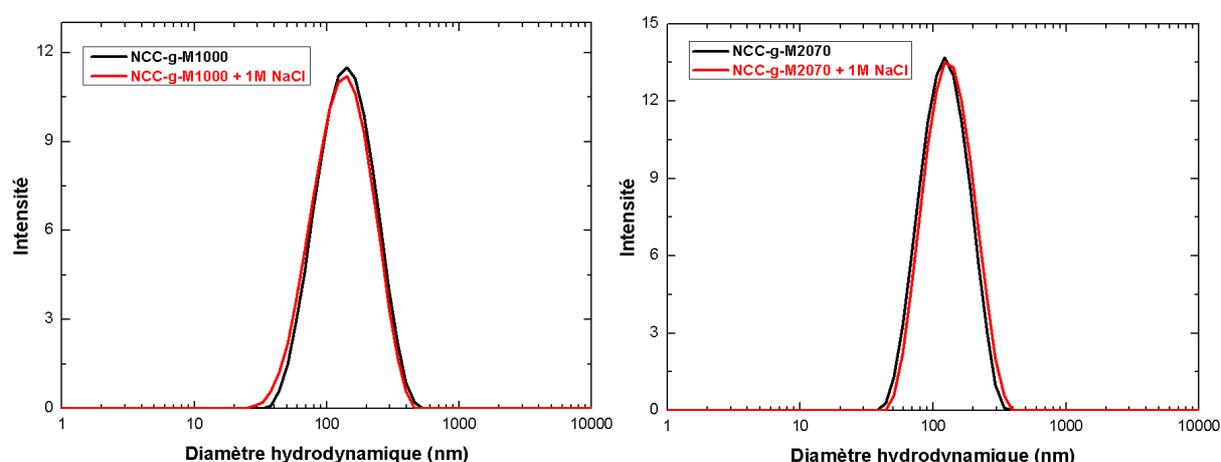


**Figure IV.4.** Photos de différentes suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO, greffés Jeffamine M1000 et M2070, à 1% de concentration en masse, avant (gauche) et après (droite) ajout de 1 M de NaCl.

En revanche, les suspensions NCC-g-M1000 et NCC-g-M2070 conservent leur stabilité et leur biréfringence sous écoulement en présence de 1 M NaCl. Ces observations

prouvent que ces suspensions sont stabilisées par la répulsion stérique qui existe entre les nanocristaux greffés, cette dernière étant insensible à la force ionique.

Pour nous assurer qu'aucune agrégation n'a eu lieu après l'ajout du sel, potentiellement de petits agrégats qui ne pourraient pas être observés à l'œil nu, nous avons décidé de faire des mesures du diamètre hydrodynamique, mesure indirecte de l'état de dispersion. Les résultats sont en accord avec les observations des suspensions à l'œil nu (figure IV.5).



**Figure IV.5.** Mesures du diamètre hydrodynamique pour les suspensions de NCC greffés Jeffamine M1000 et M2070, avant (noir) et après (rouge) ajout de 1 M de NaCl.

En effet, les NCC-g-M1000 et NCC-g-M2070 gardent le même diamètre hydrodynamique pour 0 et 1 M NaCl. Ces résultats, de notre point de vue, sont d'un grand intérêt puisqu'ils montrent qu'on pourrait s'affranchir d'un des points faibles des NCC qui est leur sensibilité à la force ionique. Un résultat similaire, fondé sur la conservation de la biréfringence sous écoulement pour une concentration de 2M en NaCl, a été rapporté par Araki *et al.*,<sup>78</sup> suite au greffage de chaînes de PEG à la surface des NCC.

### IV.1.3.3 Redispersion des NCC après lyophilisation

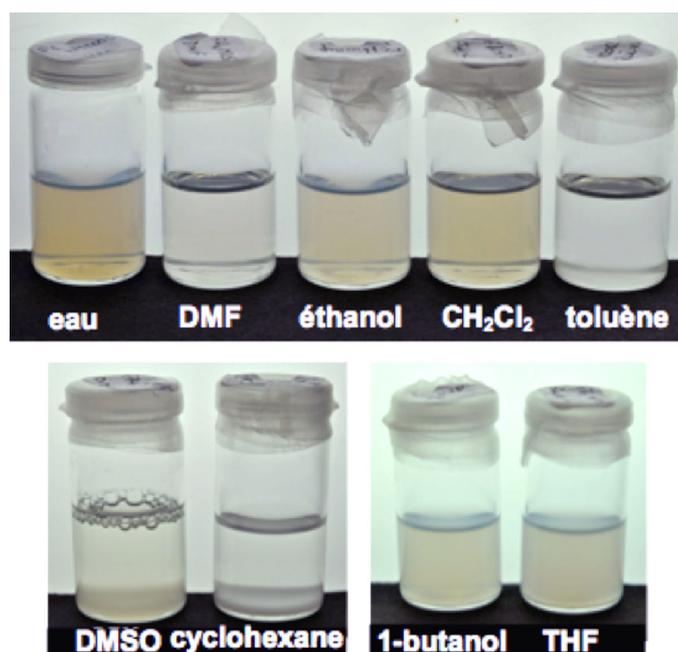
Les NCC sulfatés sont stables en milieu aqueux grâce aux répulsions électrostatiques. En revanche, leur dispersion dans les solvants organiques apolaires est impossible du fait de la formation de liaisons hydrogène entre les nanoparticules, causant leur agrégation. Comme

nous l'avons vu dans la partie bibliographie, La dispersion des NCC dans les solvants organiques apolaires demande une modification préalable, soit par adsorption de tensioactifs à la surface des NCC (travaux réalisés au CERMAV par Laurent Heux),<sup>79,186</sup> soit par greffage de petites molécules<sup>133</sup> ou de chaînes de polymère comme le polystyrène.<sup>155,187</sup>

La redispersion de NCC-g-M2005 lyophilisés dans différents solvants a été testée. Pour chaque essai, 40 mg de NCC-g-M2005 dans 4 mL de solvant, soit une concentration égale à 10 g/L, ont été soniqués 5 × 2 min dans un bain de glace avec des pauses intermédiaires de 4 min pour permettre le refroidissement de l'échantillon. Les résultats sont regroupés dans le tableau IV.2 et la figure IV.6. Des dispersions stables présentant de la biréfringence sous écoulement sont obtenues dans l'eau, le DMF, l'éthanol, le dichlorométhane et le toluène. Des dispersions incomplètes ont été observées dans le 1-butanol et le THF. Aucune dispersion n'a été mise en évidence dans le cas du DMSO et du cyclohexane. Nous pouvons remarquer que la redispersion ne dépend pas de façon continue de la permittivité relative du solvant. Elle dépend éventuellement de la solubilité du polymère dans le solvant ce qui explique que les NCC-g-M2005 ne se redispersent pas dans le DMSO (Jeffamine M2005 est insoluble dans le DMSO). La stabilité colloïdale serait également reliée à la constante de Hamaker A, qui est fonction de la différence des constantes diélectriques et des indices de réfraction.

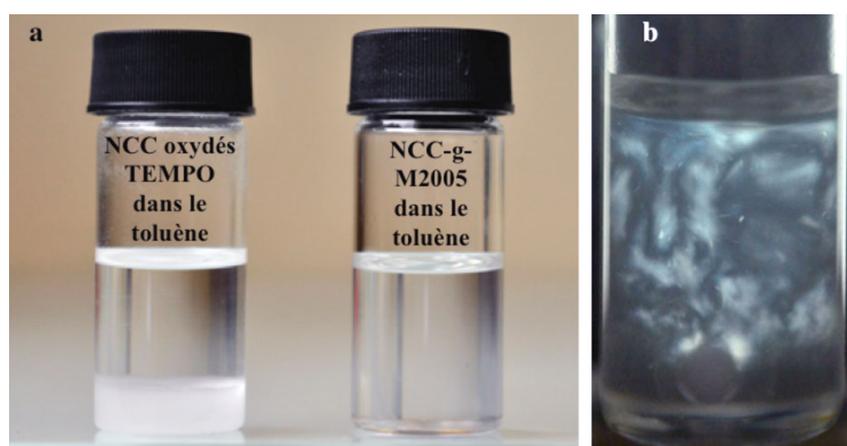
*Tableau IV.2 Dispersabilité des NCC-g-M2005 dans différents solvants.*

<b>Solvant</b>	<b>Permittivité relative</b>	<b>Dispersion</b>
<b>eau</b>	<b>78,54</b>	<b>bonne</b>
<b>diméthyl sulfoxyde</b>	<b>46,45</b>	<b>pas de dispersion</b>
<b>diméthylformamide</b>	<b>36,7</b>	<b>bonne</b>
<b>éthanol</b>	<b>24,55</b>	<b>bonne</b>
<b>1-butanol</b>	<b>17,5</b>	<b>incomplète</b>
<b>dichlorométhane</b>	<b>8,93</b>	<b>bonne</b>
<b>Tétrahydrofurane</b>	<b>7,58</b>	<b>incomplète</b>
<b>Toluène</b>	<b>2,37</b>	<b>bonne</b>
<b>Cyclohexane</b>	<b>2,02</b>	<b>pas de dispersion</b>



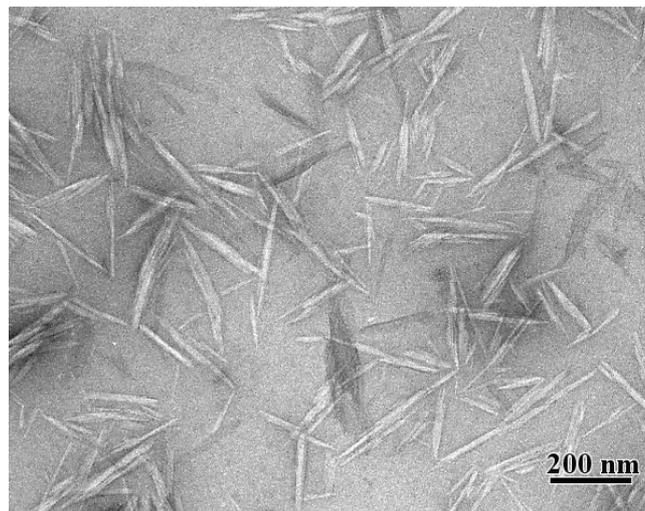
**Figure IV.6.** Dispersibilité des NCC-g-M2005 dans différents solvants. La concentration est de 10 g/L.

L'étude la plus complète a été menée avec le toluène. Contrairement aux NCC oxydés TEMPO qui forment une suspension instable après la redispersion dans le toluène, même après une forte sonication, et qui finissent par sédimenter (figure IV.7 a), les NCC-g-M2005 se redispersent parfaitement dans ce solvant. La suspension est toujours stable après plusieurs mois et aucune agrégation n'a été observée. Cette suspension montre aussi de la biréfringence sous écoulement, preuve de l'absence d'agrégats (figure IV.7 b).



**Figure IV.7.** Photos de redispersion dans le toluène d'une suspension de NCC oxydés TEMPO (a, gauche) et de NCC-g-M2005 (a, droite) à une concentration massique de 1%. Suspension de NCC-g-M2005 dans le toluène sous agitation observée entre polariseurs croisés (b).

Alors que les suspensions de NCC dans l'eau sont bleutées, l'absence de couleur dans le toluène s'explique par la faible différence entre l'indice de réfraction de la cellulose (1,55) et celui du toluène (1,5). Pour s'assurer qu'il s'agit vraiment d'une bonne dispersion, nous avons complété ces résultats par des observations par MET et des mesures de DLS.



**Figure IV.8.** NCC greffés Jeffamine M2005 déposés à partir d'une suspension dans le toluène sur un film de carbone décapé par effluage et observés par MET après coloration négative à l'acétate d'uranyle.

L'image de MET de la figure IV.8 montre des NCC individualisés sans agrégats, ce qui prouve la bonne dispersion des NCC modifiés dans le toluène. Nous n'avons pas remarqué de présence de gros agrégats en nous déplaçant sur la grille.

La mesure du diamètre hydrodynamique des nanocristaux (figure IV.9) confirme ces constatations. En effet, nous remarquons que dans le toluène, comme dans l'eau, les NCC-g-M2005 ont une distribution de taille monomodale avec un maximum à 160 nm. Dans l'eau, un pic de distribution plus large a été noté. Nous ne connaissons pas vraiment l'origine de cette différence. Tous ces résultats montrent que le greffage de la Jeffamine, même avec des *DS* qui sont relativement faibles, a réussi à modifier les propriétés de surface des NCC et à les disperser dans un solvant aprotique apolaire. Ce succès pourrait élargir le champ d'application des NCC notamment dans le domaine des nanocomposites où les NCC peuvent être utilisés comme charges de renfort et ont besoin d'être dispersés dans des solvants apolaires ou des matrices hydrophobes.

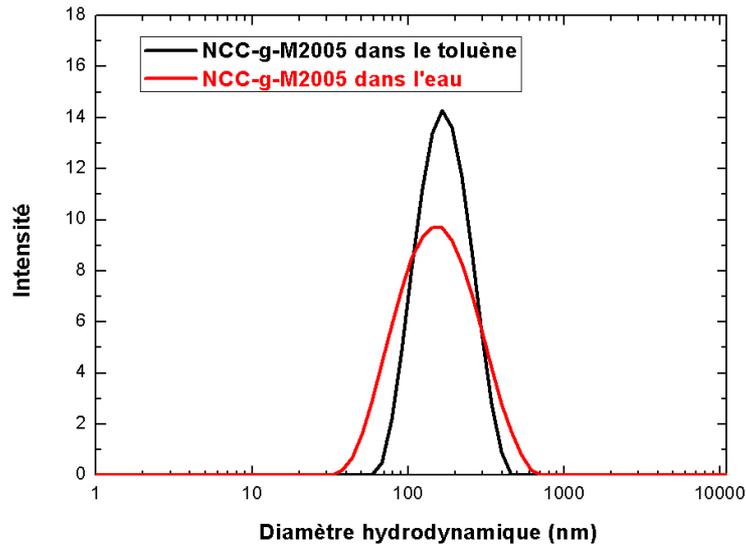


Figure IV.9. Diamètre hydrodynamique de suspensions de NCC-g-M2005 dispersés dans l'eau (rouge) et dans le toluène (noir), mesurés par DLS. La concentration est de 1%.

#### IV.1.3.4 Agrégation thermoréversible

Les quatre polymères que nous avons greffés, qui sont de la famille des polyetheramines Jeffamine, ont la propriété d'être thermosensibles et possèdent donc une LCST (*lower critical solution temperature*). Cette température critique dépend de la composition des chaînes, en d'autres termes du rapport oxyde de propylène / oxyde d'éthylène.

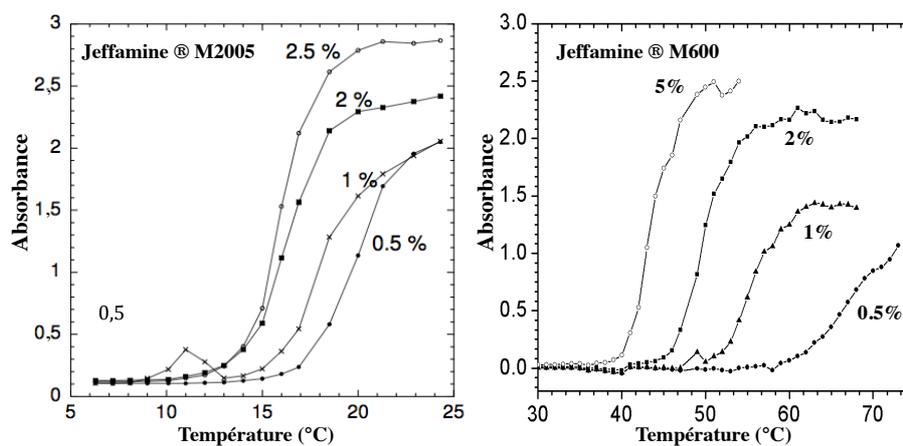


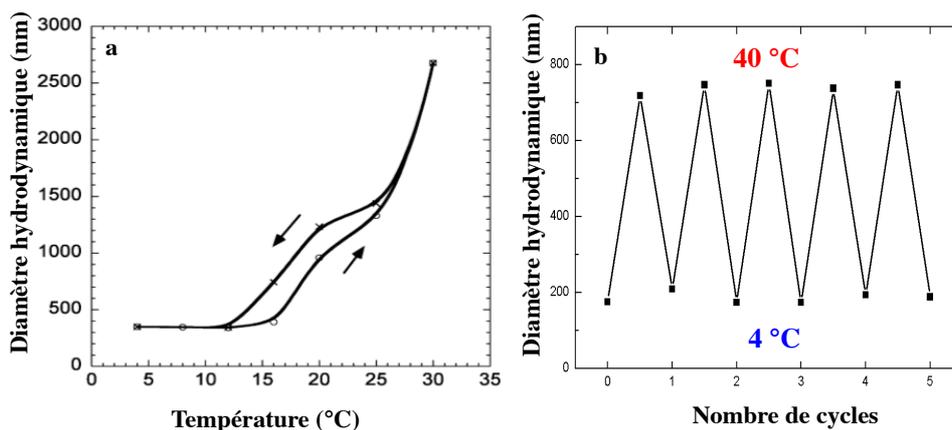
Figure IV.10. Absorbance UV/Visible à 600 nm pour des solutions de Jeffamines M2005 (gauche) et M600 (droite) en fonction de la température et de la concentration massique.

Les polymères M1000 et M2070 sont majoritairement composés d'oxyde d'éthylène, ce qui induit une LCST élevée autour de 75-80 °C. En revanche, les polymères M600 et M2005 contiennent une forte proportion d'oxyde de propylène. En utilisant les mesures d'absorbance UV/visible nous avons pu déterminer la variation de la température de transition de phase de ces deux polymères avec la concentration (figure IV.10). La température critique de Jeffamine M2005 varie entre 15 et 20° C, en fonction de la concentration de la solution. Cette dernière semble influencer également la température de transition de phase de Jeffamine M600 qui varie entre 40 et 65° C dans la gamme des concentrations mesurées. Mocanu *et al.*<sup>188</sup> affirment qu'à une concentration massique de 1% les températures critiques des Jeffamines M2005 et M600 sont de 25 et 59° C, respectivement. Ces valeurs sont relativement proches de celles que nous avons mesurées. Par contre, la valeur de 26° C donnée par Durand-Gasselin *et al.*<sup>189</sup> pour la température critique de la Jeffamine M600 semble bien plus basse. Ceci s'explique par le fait que cette valeur a été mesurée par ces auteurs pour une concentration massique de 25 % et qui représente la LCST.

Cette étude montre que les Jeffamines M2005 et M600 ont une température critique facilement accessible expérimentalement. Nous avons donc étudié les effets de la température sur les propriétés des suspensions diluées pour les suspensions de NCC-g-M2005 et de NCC-g-M600.

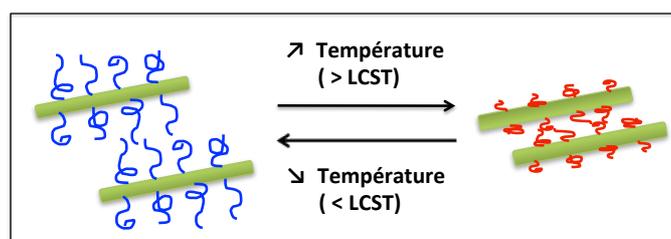
#### **IV.1.3.4.a. Cas des NCC-g-M2005**

Le test le plus facile à mettre en œuvre pour observer l'effet de la température sur les suspensions consiste à regarder leur aspect à l'œil nu en dessous et au-dessus de la LCST. Nous avons remarqué qu'une suspension de NCC-g-M2005 placée dans un bain de glace ( $T < LCST = 16\text{ °C}$ ) a un aspect clair et transparent ressemblant aux suspensions non modifiées. Une fois prise dans la main ( $T = 37\text{ °C} > LCST$ ), la suspension devient laiteuse. Replacée dans le bain de glace, la suspension reprend son aspect initial. Cette variation d'aspect de la suspension étant liée à la taille des particules, nous avons décidé de suivre la variation du diamètre hydrodynamique de suspensions diluées de NCC-g-M2005 à 0,5 et 1% en fonction de la température. Les résultats sont présentés sur la figure IV.11.



**Figure IV.11.** Variation du  $D_H$  de la suspension NCC-g-M2005 1% en fonction de la température (a), Variation du  $D_H$  de la suspension NCC-g- M2005 0,5% durant plusieurs cycles 4°C-40°C-4°C (b).

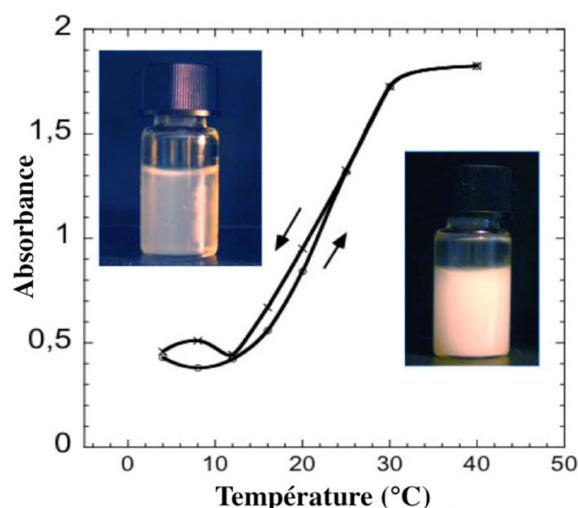
Nous remarquons sur la figure IV.11.a qu'en augmentant la température de 4 à 16° C,  $D_H$  reste bas et constant. Entre 16 et 30° C, nous observons une forte augmentation de la taille laissant penser à une formation d'agrégats. En diminuant la température,  $D_H$  diminue aussi et retrouve sa valeur initiale à partir de 12° C. Le phénomène est donc réversible même si un phénomène d'hystérèse de 4° C est observé. Le phénomène est complètement réversible et reproductible comme le montrent les variations du diamètre hydrodynamique mesurées au cours de plusieurs cycles de température 4 °C - 40 °C - 4 °C sur la figure IV.11.b. La différence des  $D_H$  initiaux entre les deux figures vient de la différence de concentration.



**Figure IV.12.** Schéma représentant le changement des interactions entre les NCC-g-M2005 en fonction de la température.

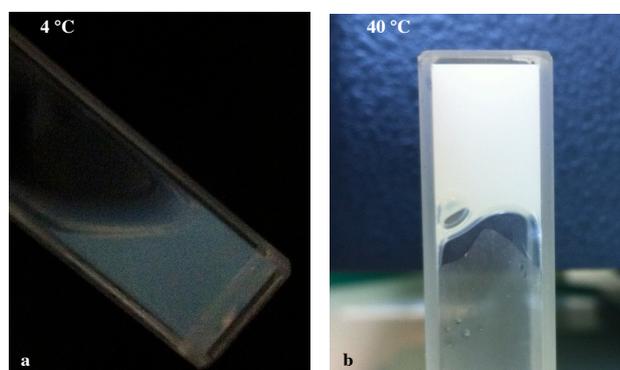
Ce résultat montre que, décorés de Jeffamine M2005, les NCC ont acquis un caractère thermosensible. En dessous de la LCST, les chaînes greffées sont dans des conditions de bon solvant ce qui rend maximale la répulsion stérique entre ces chaînes, aboutissant à une bonne dispersion des objets individuels. Au dessus de la LCST, l'eau devient un mauvais solvant pour le polymère ce qui se traduit par un phénomène d'effondrement des chaînes. Des interactions hydrophobes attractives se développent alors entre les chaînes effondrées menant à une agrégation des NCC-g-P. Ce phénomène est schématisé sur la figure IV.12.

Le processus est réversible mais la cinétique d'association-dissociation génère une certaine hystérèse. Ce phénomène est connu dans le cas des polymères thermosensibles seuls et est attribué à la formation de liaisons hydrogènes intrachânes qui retarde le regonflement des chaînes.<sup>190</sup>



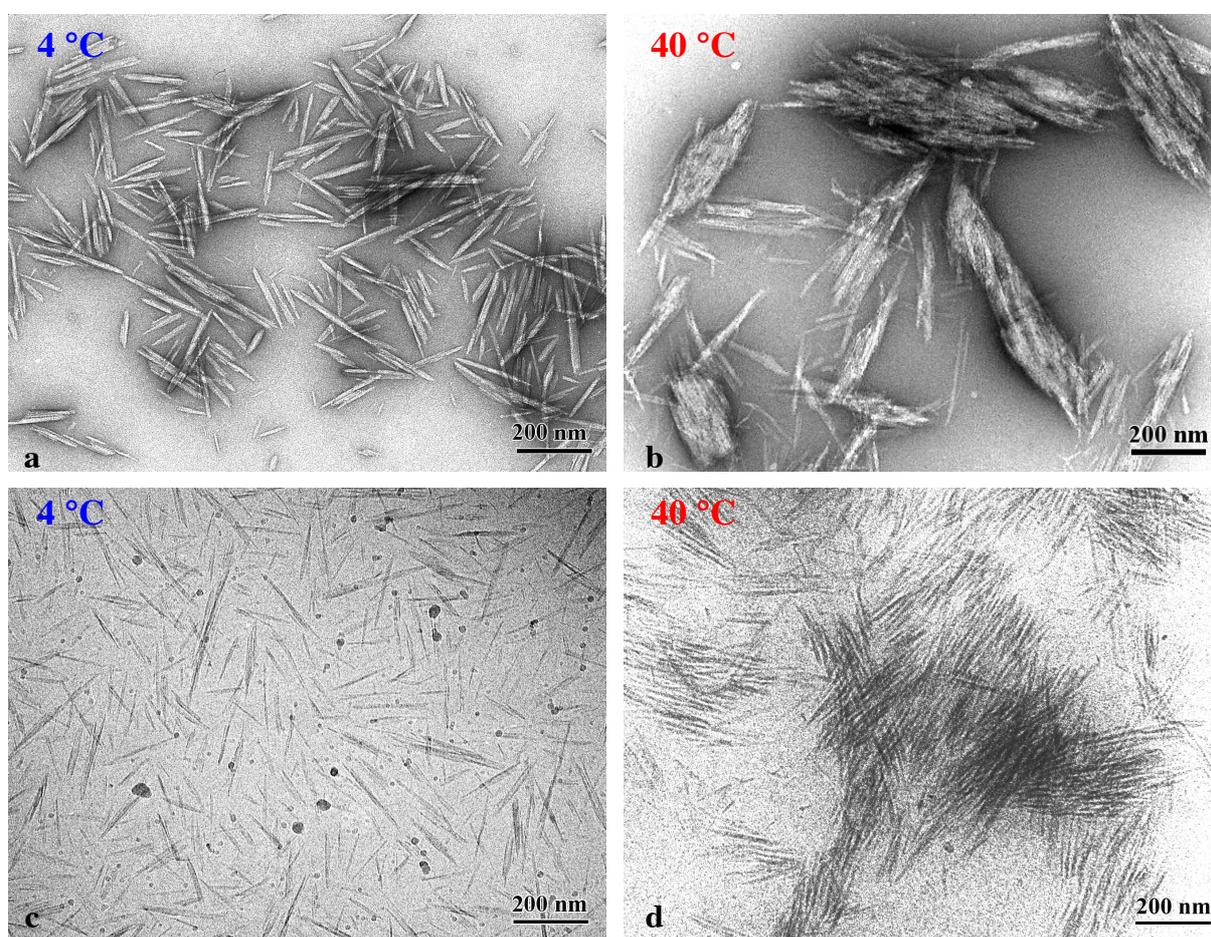
**Figure IV.13.** Absorbance UV/Visible à 935 nm pour une suspension NCC-g-M2005 à 1% en fonction de la température. Photos de la suspension à 4°C (gauche) et à 37°C (droite).

L'absorbance à 935 nm mesurée par spectroscopie UV/visible en fonction de la température (figure IV.13) montre une augmentation de la densité optique avec la température au dessus de la LCST, ce qui est en accord avec les mesures de taille par DLS. Une hystérèse de 4 °C est également observée. La suspension claire et stable à 4 °C devient blanche et turbide à 40 °C. Pour des suspensions ayant des concentrations massiques totales supérieures à 1,5%, nous observons une gélification à haute température comme le montre la figure IV.14b.



**Figure IV.14.** Photos d'une suspension NCC-g-M2005 à 1,6% (m/m) liquide à 4°C (a) et gélifiée après chauffage à 40 °C (b).

Le phénomène d'agrégation sous l'effet de la température a été observé par MET. En effet, deux volumes de 5 mL chacun d'une suspension de NCC-g-M2005 à 1% ont été placés à différentes températures. Le premier a été mis dans un bain d'eau glacée à 4 °C et le second dans un bain d'huile à 40°C, pendant 5 min. Les deux suspensions ont été diluées ensuite dans un volume d'eau ayant la même température que la suspension mère. Quelques  $\mu\text{L}$  des suspensions diluées ont été déposés sur des films de carbone et observés par MET (figures IV.15a,b). A 4 °C, température inférieure à la LCST, les nanoparticules sont bien dispersées et nous pouvons observer des NCC individualisés. A 40 °C, nous observons des agrégats qui semblent constitués de NCC accolés latéralement sous forme de fagots.



**Figure IV.15.** (a) et (b) : NCC-g-M2005 déposés sur un film de carbone décapé par effluage et observés en MET après coloration négative à l'acétate d'uranyle (c) et (d) : suspensions de NCC-g-M2005 observées par cryo-MET. Les NCC sont figés dans un mince film de glace vitreuse. La température indiquée est celle à laquelle se trouvait la suspension avant d'être déposée sur le film de carbone et séchée ou figée dans la glace vitreuse.

Ces observations ont été confirmées par cryo-MET afin d'éliminer les artefacts dus au séchage ou à la coloration négative (figure IV.15c,d). Les films minces ont été préparés à partir des suspensions à 4 et 40°C. Pour le spécimen à 4°C, la grille avait été préalablement refroidie et la préparation avant congélation s'est faite aussi rapidement que possible pour éviter une remontée de température trop importante. Pour le spécimen à 40°C, la grille avait été préchauffée et la préparation s'est faite rapidement pour éviter un refroidissement significatif. Après congélation rapide, les objets sont donc observés dans un mince film de glace vitreuse. Les NCC sont clairement individualisés dans la suspension à basse température tandis qu'après chauffage qu'à 40°C, nous observons des agrégats dont la taille semble finie (inférieure au micron) constitués de NCC associés latéralement. Ces observations confirment donc celles effectuées à sec.

#### IV.1.3.4.b. Effet du sel

La stabilisation d'agrégats de taille finie pourrait avoir une origine électrostatique générée par la présence de groupements carboxylates résiduels. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons testé l'effet de l'ajout d'une certaine quantité de sel sur le comportement thermosensible des NCC-g-M2005.

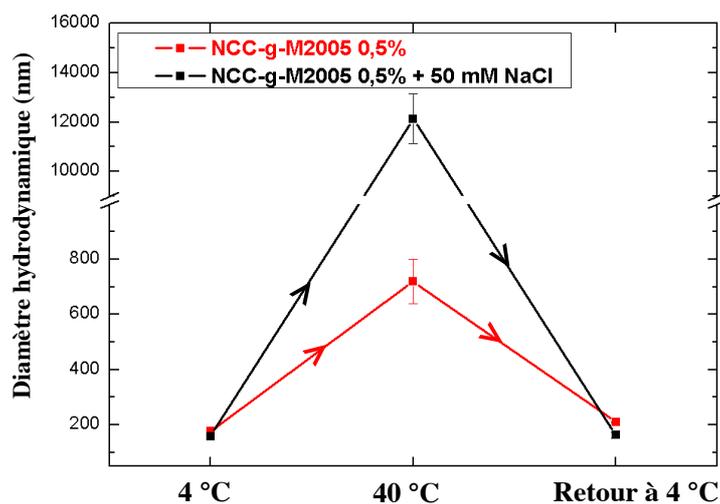


Figure IV.16. Variation du  $D_H$  au cours d'un cycle de température 4°C-40°C-4°C d'une suspension de NCC-g-M2005 à 0,5% avec (noir) et sans (rouge) ajout de sel.

La figure IV.16 montre une comparaison de la taille mesurée par DLS en fonction de la température pour deux suspensions de NCC-g-M2005 à 0,5%, la première sans ajout de sel

et la seconde avec addition de 50 mM de NaCl. Nous remarquons qu'à 4 °C, aucune différence significative entre les valeurs de  $D_H$  des deux suspensions n'a été notée, reproduisant ainsi les résultats discutés dans le paragraphe IV.1.2.2 et montrant que les NCC-g-P greffés sont stables en présence de sel. En chauffant à 40 °C, Le phénomène d'agrégation se produit dans les deux cas. De façon intéressante, nous remarquons que pour la suspension à laquelle nous avons ajouté du sel, la taille des agrégats formés après chauffage à 40 °C est beaucoup plus importante que celle de la même suspension à laquelle nous n'avons pas ajouté du sel (autour de 700 nm). Le nombre de nanoparticules par agrégat est donc considérablement plus élevé à 40 °C en présence de sel.

La valeur de 12  $\mu\text{m}$  reportée sur la figure IV.16 pour la suspension à 40 °C en présence de sel n'a pas de véritable sens physique et correspond à des conditions pour lesquelles les modèles et équations utilisées ne sont plus valables. En effet, au delà d'une taille de 3 à 4  $\mu\text{m}$ , le mouvement brownien ne sera plus le seul facteur causant la diffusion des objets et la gravité entrera en jeu. La diffusion dynamique de la lumière n'est donc plus adaptée à la mesure d'objets de si grande taille. Les conclusions de l'expérience ne sont donc valables que d'un point de vue qualitatif.

Pour cette raison, et pour vérifier si cette valeur a un sens qualitatif, nous nous sommes intéressés à la variation de la quantité de photons diffusés en fonction du temps, qui représente la mesure de base en DLS (figure IV.17). En effet, quand les nanoparticules sont petites, comme dans le cas des NCC-g-M2005 à 4°C où les objets sont individualisés, la distance entre objets change sans cesse à cause de leur mouvement et par conséquent l'intensité de lumière diffusée présente des interférences constructives et destructives. Plus les objets deviennent gros, plus ces interférences seront espacées sur l'échelle de temps puisque les gros objets diffusent plus lentement que les petits. En comparant l'intensité de la lumière diffusée en fonction du temps pour une suspension de NCC-g-M2005 à 40 °C dépourvue de sel à la même suspension à 40 °C à laquelle nous avons ajouté 50 mM de NaCl, nous pouvons remarquer clairement que les interférences sont plus espacées dans le cas de la suspension avec le sel, ce qui reflète une plus grande taille des agrégats.

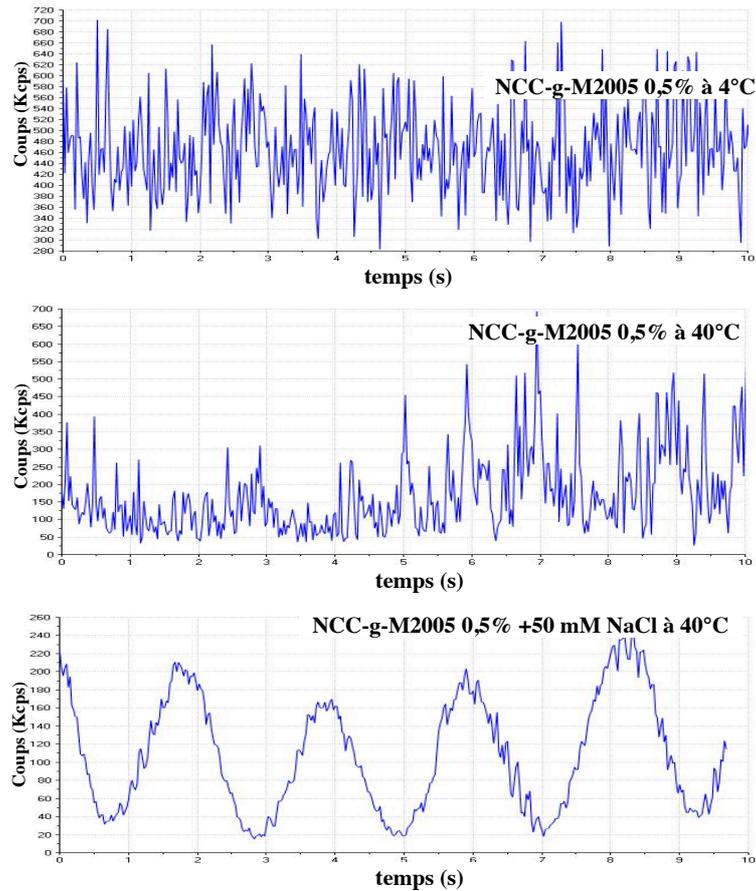


Figure IV.17. Variation de la quantité de photons diffusés au cours de 10 s pour différents échantillons.

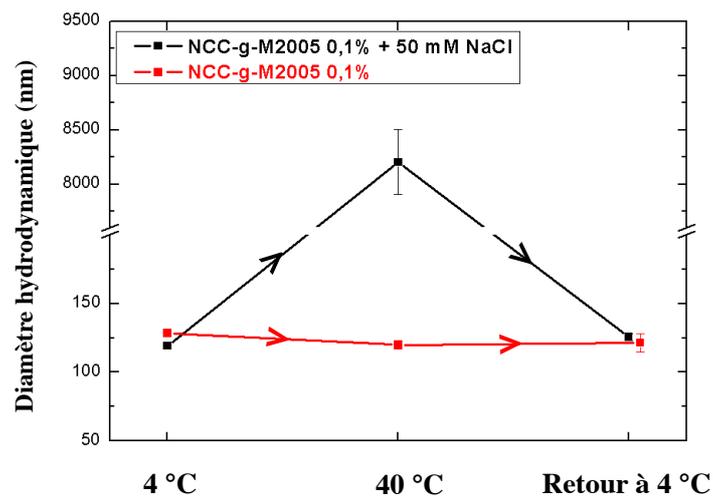


Figure IV.18. Variation du  $D_H$  au cours d'un cycle 4°C-40°C-4°C d'une suspension NCC-g-M2005 0,1% avec (noir) et sans (rouge) ajouter de sel.

Un autre test permet de confirmer cette hypothèse. Il s'agit du comportement thermosensible de la même suspension diluée à 0,1%. En effet, à cette faible concentration la suspension ne présente pas d'agrégation à 40 °C à l'échelle de temps de notre mesure (quelques dizaines de minutes). En effet, nous remarquons que le diamètre hydrodynamique est presque constant en fonction de la température (figure IV.18). Pour la même suspension, et toujours avec une concentration de 0,1% mais à laquelle nous avons ajouté 50 mM de NaCl, nous observons le phénomène d'agrégation à 40 °C par la mesure d'un diamètre hydrodynamique important de l'ordre de 8  $\mu\text{m}$ .

Ces résultats montrent que la répulsion électrostatique qui persiste entre les NCC greffés grâce aux groupements carboxylates résiduels est responsable de la limitation de la taille des agrégats formés après chauffage. Le fait d'écranter ces répulsions en ajoutant du sel a permis de former des agrégats de taille beaucoup plus importante.

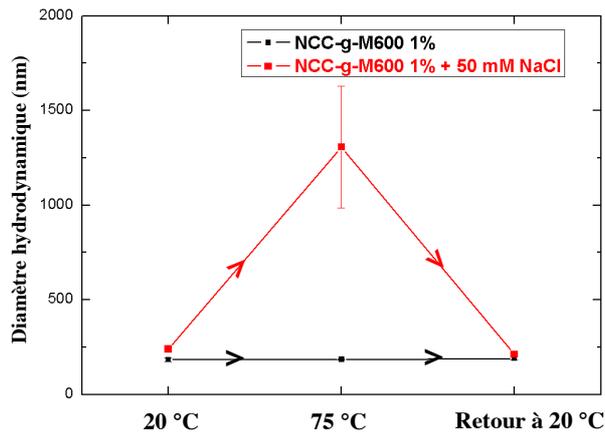
L'autre point important à discuter est l'effet de la concentration. Nous avons vu qu'une suspension de NCC-g-M2005 de concentration massique 0,5% présente un effet thermosensible alors que son équivalent dilué jusqu'à 0,1% ne le présente pas. Deux facteurs pourraient expliquer ce phénomène. D'un côté, nous avons vu que pour les solutions de polymère seul, plus la concentration diminue, plus la température critique augmente, montrant ainsi que nous aurions besoin de fournir plus d'énergie au système pour que la transition ait lieu. Nous pourrions nous attendre à un effet similaire pour les chaînes de Jeffamine M2005 greffées si la concentration de la suspension diminue puisque la concentration massique de la suspension traduit en quelque sorte la concentration en polymères greffés. L'autre facteur qui pourrait entrer en jeu serait la force ionique. En effet, plus la concentration de la suspension augmente, plus la force ionique augmente. Il s'agit de la force ionique intrinsèque induite par les contre-ions entourant les groupements carboxylates résiduels de la surface des NCC. Pour une suspension de concentration 0,1%, la force ionique est faible (de l'ordre de 0,2 mM en considérant une densité de charge de 0,2 charge/nm<sup>2</sup>).<sup>191</sup> Par contre, pour une suspension à 1%, la force ionique devient non négligeable et par conséquent, la portée des répulsions électrostatiques est moins importante pour une suspension concentrée par rapport à une suspension diluée, ce qui facilite l'agrégation.

Nous pourrions penser également à un effet du sel sur la température critique qui est bien connu pour les chaînes de polymère linéaires comme le PEO,<sup>192</sup> pour lequel l'interaction entre l'électrolyte et l'eau induit une déshydratation rapide des chaînes des polymère et par

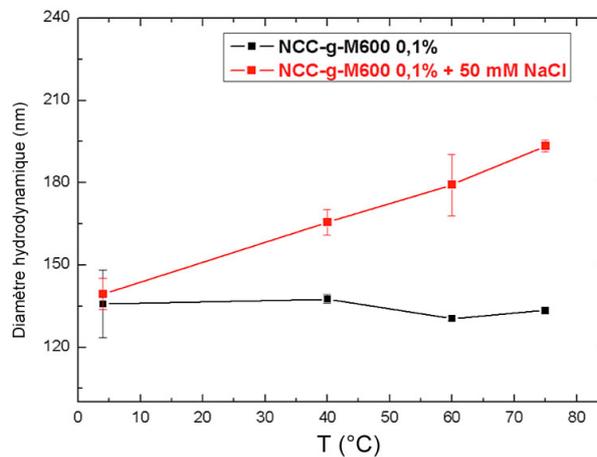
conséquent une diminution de la température critique. Cependant, les concentrations de sel ajoutées (50 mM) sont relativement faibles pour causer un tel effet. Un dernier facteur qui peut potentiellement jouer un rôle est le temps. En effet, des objets dilués mettent plus de temps à s'agréger que des particules concentrées et le nombre d'agrégats final est plus petit dans le premier cas, ce qui rend le phénomène plus difficilement observable.

#### **IV.1.3.4.c. NCC-g-M600**

Comme nous l'avons vu sur la figure IV.10, la Jeffamine M600 seule en solution possède une température critique variant entre 45 et 65°C, selon la concentration. Nous avons donc décidé de voir l'effet de la température sur les NCC greffés de ce polymère (NCC-g-M600). En prenant une suspension de concentration massique égale à 1% et en la chauffant jusqu'à 75°C, aucun changement de l'aspect de la suspension n'a été observé. Les mesures de diamètre hydrodynamique par DLS à 75 °C confirment l'observation visuelle en montrant des valeurs constantes de  $D_H$  (courbe noire de la figure IV.19). Cela laisse supposer qu'aucune agrégation n'a eu lieu. Comme il s'agit, comme dans le cas des Jeffamines, de NCC greffés par couplage peptidique sur des groupements carboxylates, il est possible également dans ce cas que les charges résiduelles exercent une répulsion électrostatique empêchant l'agrégation. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons refait le test de chauffage tout en ajoutant du sel (courbe rouge figure IV.19). Nous observons qu'après l'ajout de 50 mM de NaCl à la suspension de NCC-g-M600, suivi d'un chauffage jusqu'à 75°C, la suspension devient blanche et turbide indiquant ainsi qu'une agrégation s'est produite. Les mesures de DLS en fonction de la température montrent qu'en passant de 20 à 75°C,  $D_H$  augmente significativement et atteint une valeur de l'ordre de 1,2 µm. En retournant à 20°C, la taille reprend sa valeur initiale indiquant que le caractère de réversibilité est toujours préservé. Nous remarquons que le diamètre hydrodynamique mesuré après agrégation est plus faible que celui obtenu dans le cas des suspensions NCC-g-M2005. Cet effet moins prononcé pourrait être attribué soit à la différence de densités de greffage, plus faible dans le cas des NCC-g-M600, soit à la différence de masse molaire des polymères, plus grande dans le cas de M2005, ce qui induirait des interactions hydrophobes plus fortes et par conséquent une agrégation plus prononcée.



**Figure IV.19.** Variation du diamètre hydrodynamique au cours d'un cycle de température 20°C-75°C-20°C d'une suspension de NCC-g-M600 1% avec 50 mM NaCl (rouge) et sans sel ajouté (noir).



**Figure IV.20.** Variation du  $D_H$  En fonction de la température d'une suspension NCC-g-M600 0,1% avant (noir) et après (rouge) ajout de sel.

Des résultats similaires, mais avec des augmentations faibles, ont été observés pour une suspension de NCC-g-M600 diluée à une concentration de 0,1% en masse (figure IV.20). Sans ajouter de sel, aucun changement de  $D_H$  en fonction de la température n'a été observé alors qu'en ajoutant 50 mM de NaCl, le diamètre passe de 139 nm à 4°C, à 193 nm à 75°C.

#### IV.1.4 Stabilité thermique

Nous nous sommes intéressés à la stabilité thermique des NCC en effectuant des analyses thermogravimétriques après chaque étape de modification (figure IV.21). Le but était d'avoir des informations quantitatives sur le pourcentage massique de polymère greffé sur les NCC. Nous avons trouvé que la stabilité des nanoparticules vis-à-vis de la température croît

en allant des NCC sulfatés aux NCC oxydés TEMPO et aux NCC-g-P. Plus précisément, alors que les NCC sulfatés commencent à se dégrader vers 180 °C, après oxydation TEMPO, les nanoparticules acquièrent une stabilité plus importante et la perte de masse commence vers 250 °C. Les NCC greffés, quant à eux, se dégradent vers 280 °C. Ce gain de stabilité est probablement dû au taux de groupements sulfates décorant la surface des NCC. Roman *et al.*<sup>7</sup> ont rapporté une diminution de la stabilité thermique d'échantillons de NCC quand le taux de sulfate des ces derniers augmente. Ils ont attribué ce comportement à un phénomène de désulfatation, formant ainsi de l'acide sulfurique et par conséquent menant à la diminution de l'énergie d'activation de la dégradation de la cellulose. Dans notre cas, le taux de groupements sulfates initialement présents sur la surface des NCC sulfatés diminue progressivement au cours des modifications à cause des réactions se déroulant à pH basique.

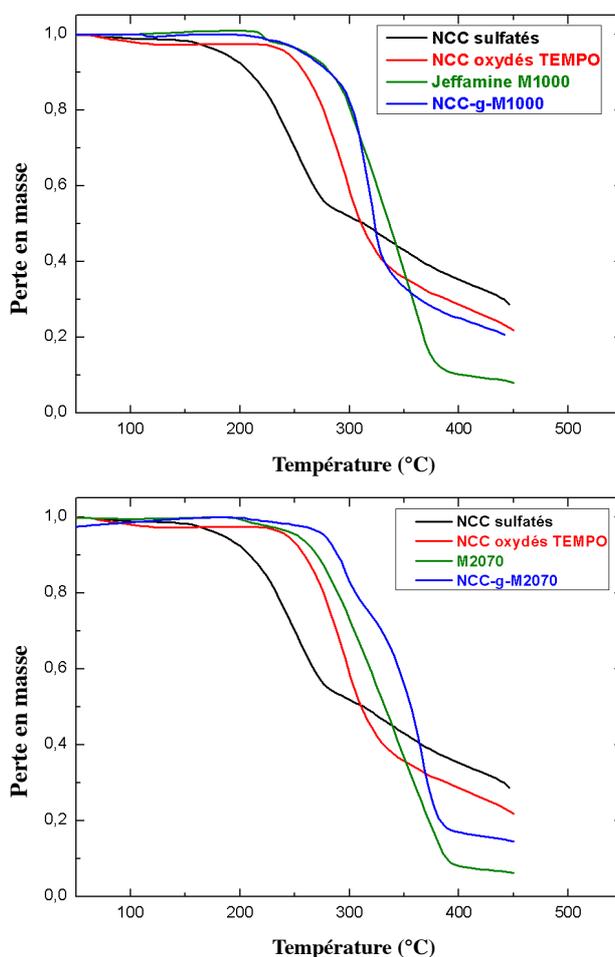


Figure IV.21. Variation de la perte de masse en fonction de la température de différents échantillons.

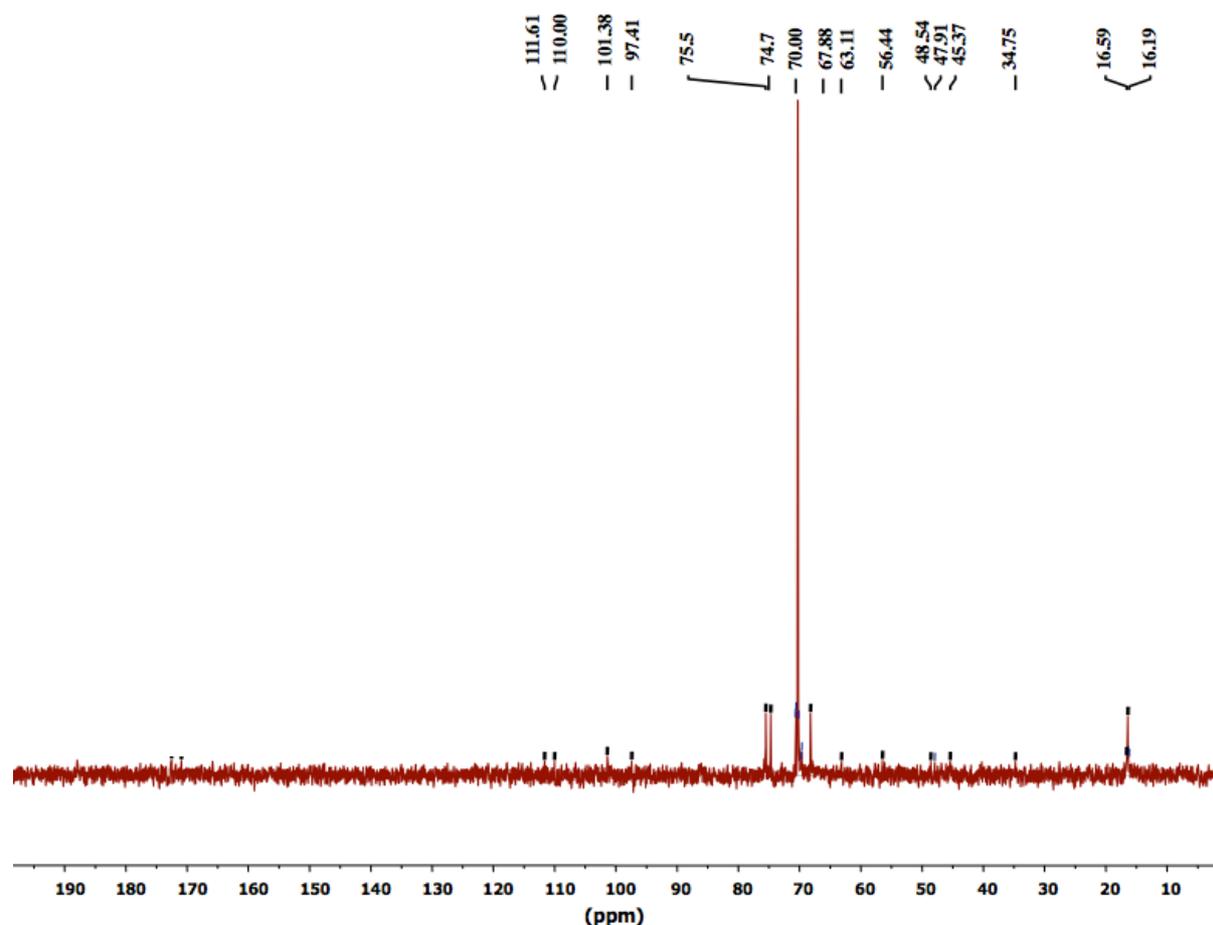
Vu la différence de taux de sulfate après chaque étape discutée ci-dessus, et vu les gammes de température de dégradation proches entre les polyetheramines et les NCC oxydés TEMPO, il était difficile d'interpréter d'une manière quantitative les courbes de dégradation des NCC greffés. Néanmoins, la démonstration du gain de stabilité thermique apporté par la modification chimique est d'une grande importance puisque l'usage de ces nanoparticules en tant que charges dans les matrices hydrophobes ne dépend pas seulement de leur capacité à s'y bien disperser, mais aussi de leur capacité à garder leur intégrité au cours des procédés de mises en forme, souvent accompagnés d'une augmentation de la température.

## **IV.2 NCC modifiés par oxydation métaperiodate et amination réductrice**

Dans le chapitre 3, nous avons vu qu'après oxydation métaperiodate et génération de groupements aldéhydes, nous avons enchaîné une réaction d'amination réductrice qui avait pour but d'accrocher les Jeffamines par réaction avec les aldéhydes pour former une liaison covalente amine secondaire. De façon inattendue, les analyses spectroscopiques ont montré une disparition des aldéhydes sans greffage de polymères. Nous avons alors émis une hypothèse qui fait appel à un détachement partiel des chaînes oxydées. Après réaction avec les polyétheramines, très solubles sous leur LCST, ces chaînes de copolymère cellulose-Jeffamine se détachent complètement des NCC. Cette partie présente les analyses complémentaires à différentes échelles menées pour caractériser plus précisément ce phénomène de pelage et de formation de copolymères en peigne.

### **IV.2.1 Analyse du surnageant**

Pour purifier nos suspensions après l'amination réductrice, nous avons utilisé l'ultracentrifugation suivie d'une dialyse. Nous avons remarqué qu'après l'étape de purification le rendement représentant la quantité de NCC récupérée par rapport à la quantité initiale était faible.

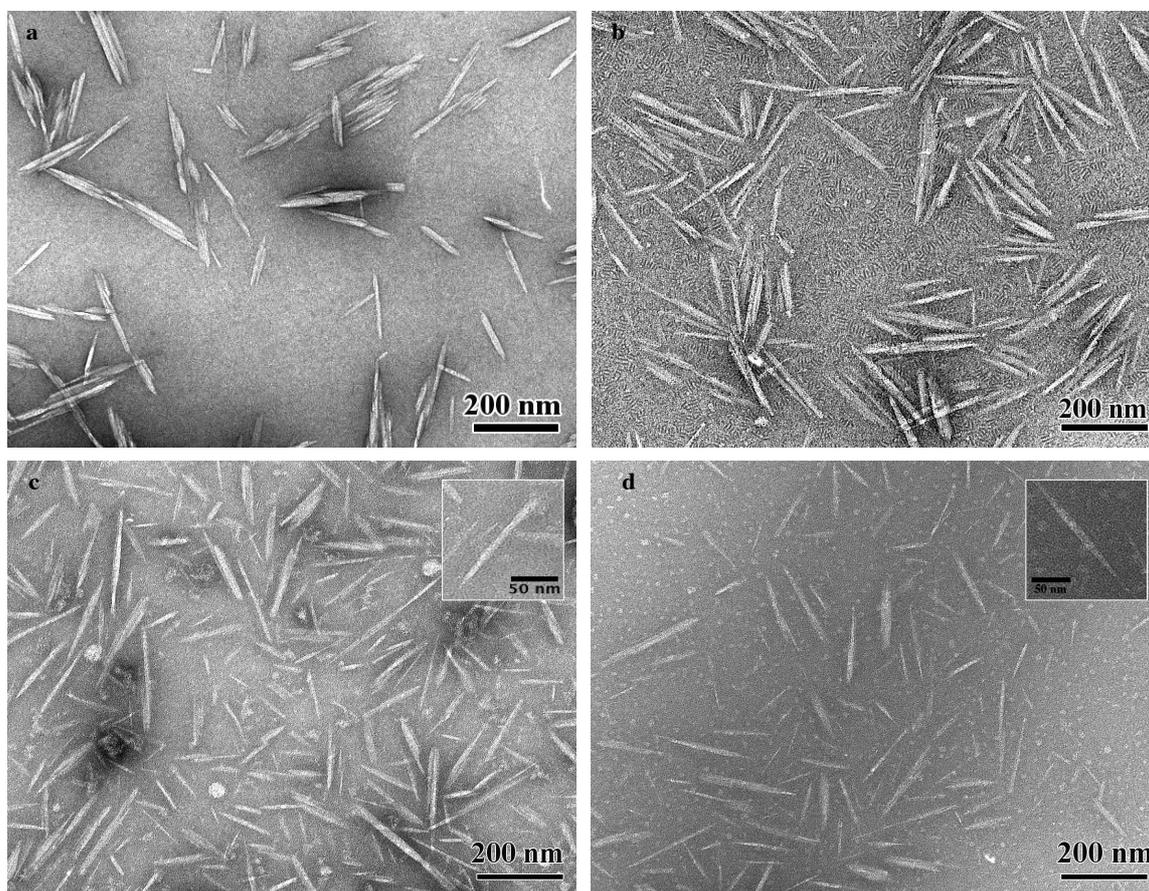


**Figure IV.22.** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du surnageant de purification d'une suspension NCC oxydés métaperiodate durant 21 h – Jeff M2070.

Ceci nous a poussés à analyser le surnageant obtenu après ultracentrifugation, sachant que si une partie des chaînes se détache, nous les trouverons dans le surnageant. Ce dernier a été dialysé pour enlever les chaînes de polymère libres en excès et les autres impuretés qui proviennent du réducteur et de la solution tampon. Une fois purifié, le surnageant a été analysé par spectroscopie RMN liquide  $^{13}\text{C}$ . Le spectre, représenté sur la figure IV.22 est celui d'un surnageant d'une suspension de NCC oxydés métaperiodate pendant 21 h et qui a ensuite réagi avec la Jeffamine M2070. Ce spectre montre les signaux de la cellulose entre 60 et 105 ppm. Nous observons également des signaux vers 16, 45 et 56 ppm qui sont ceux des carbones de la Jeffamine. Le fait de trouver des chaînes de Jeffamine avec des chaînes de cellulose dans le surnageant va dans le même sens que notre hypothèse. Cependant, la mauvaise qualité du spectre ne permet pas de prouver clairement la covalence entre les chaînes de cellulose et celle du polymère. Il sera nécessaire d'améliorer la qualité du spectre afin de prouver la covalence, et le cas échéant, d'identifier la structure de ces copolymères.

## IV.2.2 Variations à l'échelle nanométrique

### IV.2.2.1 Variation de la morphologie



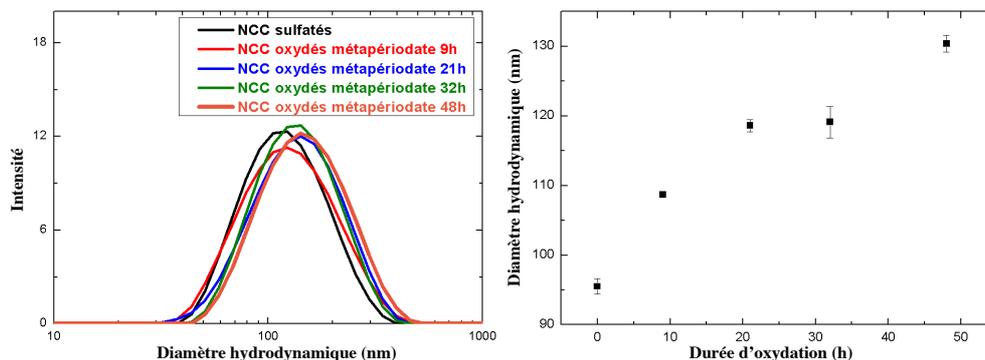
**Figure IV.23.** Nanocristaux de cellulose sulfatés (a), oxydés métaperiodate pendant 21 h (b), 32 h (c), 48 h (d), déposés sur un film de carbone décapé par effluage et observés en MET après coloration négative à l'acétate d'uranyle.

L'évolution de la morphologie des nanoparticules après chaque étape réactionnelle a également été suivie par microscopie électronique en transmission. L'effet de la durée d'oxydation est présenté sur la figure IV.23. Pour la suspension de NCC oxydés pendant 21 h (figure VI.23b), il est difficile de détecter un changement flagrant de la morphologie des nanoparticules. Par contre, en observant les suspensions de NCC oxydés pendant 32 h et 48 h (figure IV.23c et figure IV.23d, respectivement), nous remarquons une certaine différence, comparée aux NCC sulfatés ou aux NCC oxydés métaperiodate pour 21h. En effet, dans ces deux images, les NCC sont plutôt individualisés, formés majoritairement d'un seul cristallite, comme si la réaction d'oxydation avait entraîné la séparation des différents cristallites

composant les NCC. De plus, les nanoparticules apparaissent pointues aux extrémités. Cet effet pourrait être dû soit à un effet de torsade des NCC individualisés, soit à une diminution de l'épaisseur suite à la réaction d'oxydation au métaperiodate. Cette deuxième interprétation va dans le même sens que les analyses précédentes en faisant appel à un détachement partiel des chaînes oxydées et qui est effectivement plus marqué pour de hauts degrés d'oxydation. Néanmoins, il est difficile de conclure à partir des seules images de microscopie de ces objets nanométriques. En revanche, une clarification pourrait être apportée par l'observation d'images des NCC oxydés au métaperiodate et qui ont subi l'amination réductrice en présence de la Jeffamine.

#### IV.2.2.2 Variation du diamètre hydrodynamique

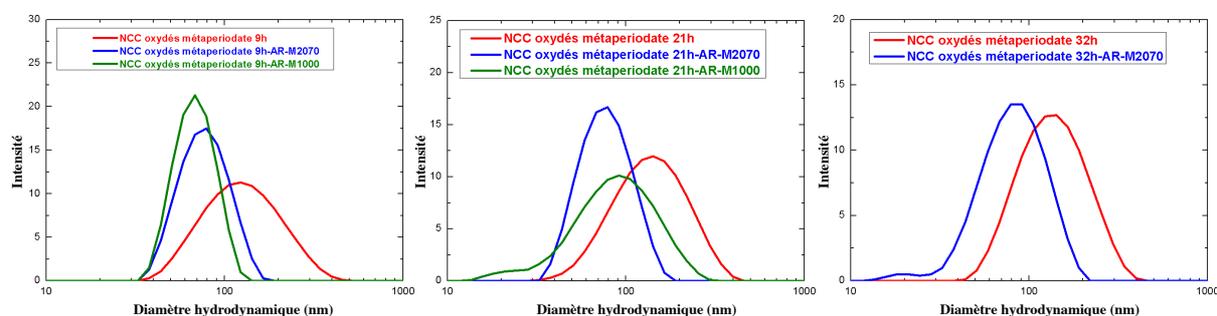
Nous avons mesuré par DLS le diamètre hydrodynamique des nanoparticules après chaque étape de modification.



**Figure IV.24.** Comparaison des diamètres hydrodynamiques des NCC sulfatés initiaux avec celui des NCC oxydés métaperiodate à différents temps d'oxydation.

En comparant les diamètres hydrodynamiques des NCC avant et après oxydation métaperiodate (figure IV.24a), nous avons remarqué une augmentation de la taille des particules après l'étape oxydation. De plus, la taille des objets augmente avec la durée de la réaction d'oxydation (figure IV.24b). En reprenant notre hypothèse d'un détachement partiel des chaînes de cellulose de surface au cours de l'oxydation, cette augmentation de taille semble être justifiée. En effet, le mouvement des nanocristaux ayant des chaînes partiellement détachées serait ralenti, même si ces nanocristaux conservent la même masse, et par conséquent leur coefficient de diffusion diminuerait. Ceci se traduirait par une augmentation de la taille. Le fait que  $D_H$  augmente avec le temps d'oxydation, et par conséquent avec le  $DO$ ,

pourrait s'expliquer par le nombre croissant ou la longueur plus importantes des chaînes détachées par nanoparticule quand la durée d'oxydation augmente.



**Figure IV.25.** Comparaison des diamètres hydrodynamiques des NCC oxydés métaperiodate et de leurs équivalents greffés de Jeffamine M1000 et M2070.

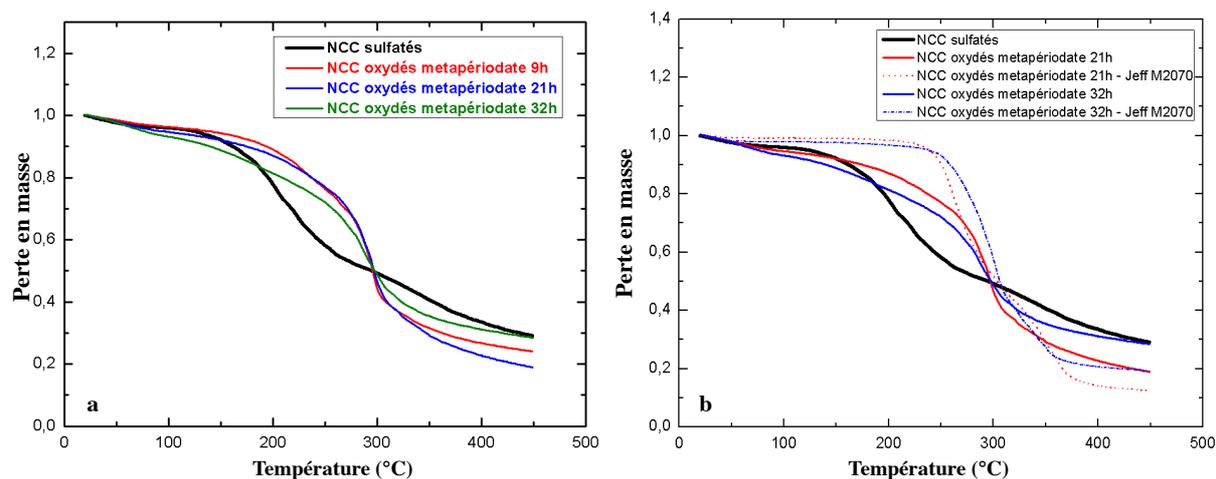
Après réaction en présence de polymère, nous observons des objets plus petits par rapport à la suspension oxydée correspondante et ce quelle que soit la durée de l'oxydation. Une diminution nette du diamètre hydrodynamique a donc lieu après l'étape d'amination réductrice en présence de polymère (figure IV.25 et tableau IV.3). Cette diminution de taille confirme l'hypothèse qu'après amination réductrice des chaînes de surface de cellulose se décrochent des NCC. Ainsi, il est probable que le polymère se lie de manière covalente sur des chaînes pendantes de cellulose, et que du fait du caractère hydrosoluble des polyétheramines, des chaînes de type copolymère polyétheramine-cellulose se détachent de la surface pour passer en solution.

**Tableau IV.3.** Diamètres hydrodynamiques des NCC oxydés métaperiodate et de leurs équivalents greffés de Jeffamine M1000 et M2070.

Suspension	D <sub>H</sub> (nm)
NCC oxydés métaperiodate 9h	108,7 ± 0,43
NCC oxydés métaperiodate 9h-AR-M1000	77,68 ± 4,58
NCC oxydés métaperiodate 9h-AR-M2070	81,41 ± 4,4
NCC oxydés métaperiodate 21h	118,6 ± 0,87
NCC oxydés métaperiodate 21h-AR-M1000	87,01 ± 0,58
NCC oxydés métaperiodate 21h-AR-M2070	79,2 ± 0,37
NCC oxydés métaperiodate 32h	119,1 ± 2,27
NCC oxydés métaperiodate 32h-AR-M2070	80,1 ± 1,02

### IV.2.3 Stabilité thermique

Des analyses thermogravimétriques ont été réalisées sur des échantillons oxydés métapériodate pendant différentes durées et sur leurs équivalents après avoir réagi avec la Jeffamine M2070.



**Figure IV.26.** (a) Effet de l'oxydation métapériodate et de la durée de la réaction sur la stabilité thermique des NCC. (b) Effet de la réaction d'amination réductrice en présence de Jeffamine M2070 sur la stabilité thermique des NCC oxydés métapériodate.

En comparant les échantillons oxydés avec l'échantillon de NCC sulfatés initiaux (figure IV.26a), nous pouvons remarquer plusieurs différences. Tout d'abord, l'échantillon de NCC non modifié présente une dégradation et une chute en masse rapide vers 180 °C. Comme discuté dans le paragraphe IV.1.4, les groupements sulfates de surface jouent un rôle clé dans cette dégradation à basse température. Pour les échantillons oxydés métapériodate, cette chute rapide en masse est décalée vers de plus hautes températures, autour de 250 °C. Ce comportement est dû à un nombre inférieur de sulfate sur la surface des NCC oxydés métapériodate qui se traduit par une plus grande stabilité thermique. Par contre, pour des températures inférieures à 250°C, nous observons une lente perte en masse qui devient de plus en plus notable pour de longs temps d'oxydation. Cette dégradation lente pourrait être attribuée aux chaînes pendantes qui se forment après l'oxydation. Ces dernières, toujours accrochées aux NCC, ne font pas partie du cristal et sont donc plutôt amorphes, se dégradent préférentiellement à plus basse température.

En regardant les courbes des échantillons ayant subi une amination réductrice après oxydation (figure IV.26.b), nous constatons que la chute rapide en masse est toujours localisée

vers 250 °C. Ces nanoparticules ont une faible taux de sulfate sur leur surface. La différence avec les échantillons oxydés est révélée par l'absence de la lente perte en masse avant 250 °C. Ceci montre par conséquent l'absence des chaînes pendantes. Ce résultat est une nouvelle fois cohérent avec notre hypothèse de pelage des NCC par formation de copolymères cellulose-Jeffamine.

### **IV.3 Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons procédé à une caractérisation physicochimique des NCC-g-P et révélé les nouvelles propriétés induites par le greffage de chaînes de Jeffamines.

Dans le cas des NCC modifiés par oxydation TEMPO suivie du greffage des Jeffamines par couplage peptidique, nous avons noté par MET que la morphologie des NCC n'a pas changé après modification. Par contre, une augmentation du diamètre hydrodynamique de NCC-g-P a été détectée par DLS, probablement due à la couronne de polymère qui augmente le coefficient de diffusion des nanoparticules. A l'échelle colloïdale, les suspensions de NCC-g-P ont gardé leur stabilité même si leur potentiel zêta a diminué de manière significative après le greffage. La stabilité à force ionique élevée dans l'eau et la redispersion de ces nanoparticules décorées dans des solvants apolaires sont attribuées aux répulsions stériques entre chaînes de polymère à la surface des nano-objets. Les résultats montrent une agrégation thermoréversible des NCC-g-M2005 identifiée à l'œil nu et par DLS, absorbance UV-visible et MET. L'ajout du sel révèle l'influence des répulsions électrostatiques résiduelles sur l'agrégation et sur la taille des agrégats formés.

Le changement des propriétés de surface des NCC-g-P a été révélé par l'acquisition d'un caractère tensioactif identifié par des mesures de tension de surface. Un gain en stabilité thermique des nouveaux systèmes a été montré par des analyses thermogravimétriques.

Dans le cas des NCC oxydés au métaperiodate, nous avons vérifié l'hypothèse émise dans le chapitre 3 décrivant un détachement partiel des chaînes de cellulose après oxydation et un détachement complet de copolymère cellulose-Jeffamine après amination réductrice. Une analyse par RMN liquide du surnageant de la suspension après la réaction d'amination réductrice montre la présence de chaînes de cellulose et de Jeffamine. Cependant la structure

du copolymère n'a pas été élucidée vu la qualité du spectre. Les images de MET montrent une tendance à la diminution de la largeur des NCC après des oxydations pour de longues durées (32 et 48 h). Les mesures de diamètre hydrodynamique ( $D_H$ ) par DLS révèlent une augmentation après oxydation. Il est probable que les chaînes partiellement détachées contribuent à cette augmentation. Une diminution de  $D_H$  a été notée après l'amination réductrice avec les polymères, ce qui conduit à une diminution du coefficient de diffusion des nanoparticules suite à un détachement complet des chaînes greffées. Les analyses thermogravimétriques ont révélé des stabilités thermiques différentes des NCC après oxydation ou amination réductrice.

# **Chapitre V**

**Etude structurale des systèmes de  
NCC modifiés par diffusion des  
neutrons aux petits angles**



## V. Etude structurale des systèmes de NCC modifiés par diffusion des neutrons aux petits angles

Nous avons présenté dans les chapitres III et IV la synthèse et les propriétés des NCC-g-P. Dans ce chapitre, nous allons développer l'analyse structurale des systèmes de NCC modifiés en utilisant la technique de diffusion des neutrons aux petits angles (DNPA). Cette dernière est bien adaptée à l'étude des systèmes de la matière molle en général, et particulièrement à celle de notre système de NCC-g-P, ceci pour plusieurs raisons. D'une part, les longueurs d'onde des neutrons incidents permettent de sonder des tailles caractéristiques allant de 1 à 100 nm, échelle adaptée pour décrire les formes et les organisations au sein du système. D'autre part, en plus du caractère non destructif de cette technique et de l'obtention d'une information moyennée représentative d'un échantillon macroscopique, l'interaction des neutrons avec les noyaux des atomes rend la mesure sensible aux isotopes. Ainsi, en utilisant la variation de contraste, nous pouvons masquer sélectivement un des constituants d'un système complexe pour obtenir un signal de diffusion plus facile à interpréter. Les détails de cette technique ont été décrits dans le paragraphe II.2.11. En particulier, nous avons profité de la deutération partielle du cœur des NCC par échange des protons des hydroxyles par du deutérium pour produire des NCC deutérés, notés NCC-d (cf. chapitre II). Le tableau V.1 rassemble les densités de longueur de diffusion de chacun des constituants de notre système.

*Tableau V.1. Densités de longueur de diffusion des différentes composantes des suspensions.*

Constituant	Densité de longueur de diffusion ( $\times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ )
H <sub>2</sub> O	- 0,56
D <sub>2</sub> O	6,37
NCC-H	2,2
NCC-d	3,17
Jeffamine M600	0,308
Jeffamine M2005	0,359
Jeffamine M2070	0,382

Pour les NCC-H et NCC-d, les valeurs des densités de longueur de diffusion sont issues d'une expérience d'extinction de contraste présentée sur la figure V.1. Cette expérience consiste à mesurer l'intensité totale diffusée par des suspensions de nanoparticules dispersées dans des solvants aqueux constitués de différents rapports H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O. Le tracé de la racine carrée de l'intensité normalisée par la concentration en fonction de la fraction volumique de D<sub>2</sub>O permet d'identifier la fraction volumique de D<sub>2</sub>O,  $\phi_{D_{2O},0}$ , qui annule l'intensité. La densité de longueur de diffusion des particules considérées est alors égale à celle du mélange H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O ( $1 - \phi_{D_{2O},0} / \phi_{D_{2O},0}$ ) que l'on peut calculer. Les densités de longueur de diffusion des polyetheramines ont été calculées à partir de la composition et de la densité de chaque polymère fournies par Huntsman.

Les valeurs regroupées dans le tableau V.1 montrent que nous sommes dans le cas favorable où les valeurs des densités de longueur de diffusion des NCC-d et des polymères sont à la fois suffisamment différentes l'une de l'autre et comprises entre les valeurs de l'eau légère et de l'eau lourde. Il sera alors possible de jouer sur les compositions isotopiques des mélanges pour éteindre le signal de l'un ou l'autre des constituants.

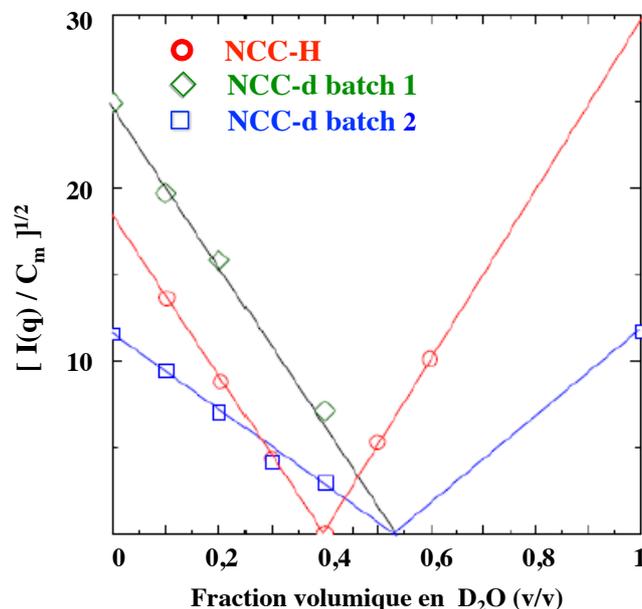


Figure V.1. Expérience de contraste moyen nul pour déterminer les densités de longueur de diffusion des NCC-d et NCC-H.

Après une étude de chacun des deux constituants de notre système (NCC nus et Jeffamines), nous avons donc caractérisé les échantillons selon différentes compositions

isotopiques des constituants et du solvant présentées sur la figure V.2. Dans la situation A, le contraste neutronique est tel que le signal est celui des NCC-g-P dans leur ensemble. Le contraste B est la situation où le signal du cœur cristallin est éteint et seule la couronne de polymère contribue au signal. En effet, nous avons utilisé pour cette situation un mélange H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O 47/53 (v/v) qui annule le contraste des NCC-d, laissant uniquement apparaître le signal des chaînes.

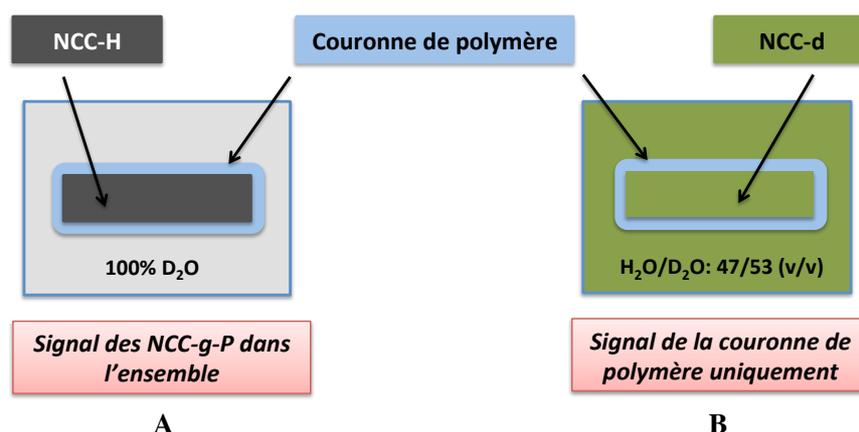


Figure V.2. Schéma des deux contrastes utilisés dans le cas des NCC-g-P.

L'étude structurale par DNPA présentée dans ce chapitre comprend une première partie où les propriétés structurales des NCC, des polymères et des NCC-g-P produits par couplage peptidique sont étudiées en régime dilué. Dans une deuxième partie, nous présentons les résultats obtenus pour des échantillons concentrés. Le cas des NCC oxydés au métaperiodate est présenté dans une troisième partie.

## V.1 Régime dilué

### V.1.1 Géométrie et dimensions des NCC nus

L'étude par DNPA des NCC sulfatés initiaux a été menée à partir de nanoparticules protonées lyophilisées et redispersées dans l'eau lourde à une concentration de 1%. Cette composition permet de maximiser le terme  $\Delta\rho^2$  et donc l'intensité diffusée (équation II.14) tout en évitant la diffusion incohérente générée par H<sub>2</sub>O. Comme démontré récemment par

Beck-Candanedo *et al.*,<sup>193</sup> la bonne redispersion des NCC sulfatés dans l'eau nécessite, préalablement à l'étape de lyophilisation, un échange du proton (forme acide H-NCC) par un contre-ion sodium (forme sel neutre Na-NCC) réalisé par neutralisation à la soude. La bonne dispersion de la suspension dans D<sub>2</sub>O a été vérifiée par DLS. En effet on obtient avec cette technique une distribution de taille des NCC dans D<sub>2</sub>O superposable à celle initialement mesurée dans H<sub>2</sub>O avant lyophilisation.

Les courbes de DNPA de deux suspensions de NCC de coton à 1% sont présentées sur la figure V.3 a. Etant donné la faible concentration des échantillons, l'intensité diffusée peut être considérée comme résultant uniquement du facteur de forme de NCC isolés. La courbe expérimentale présente une décroissance en  $Q^{-1}$  aux petites valeurs de  $Q$  sur la figure V.3.a qui peut être mieux visualisée par le plateau, toujours pour les faibles valeurs de  $Q$  en représentation  $Q.I = f(Q)$  sur la figure V.3b. Ce comportement est caractéristique de particules cylindriques à rapport d'aspect élevé. En effet, l'intensité diffusée par des objets cylindriques homogènes de longueur infinie peut s'écrire :

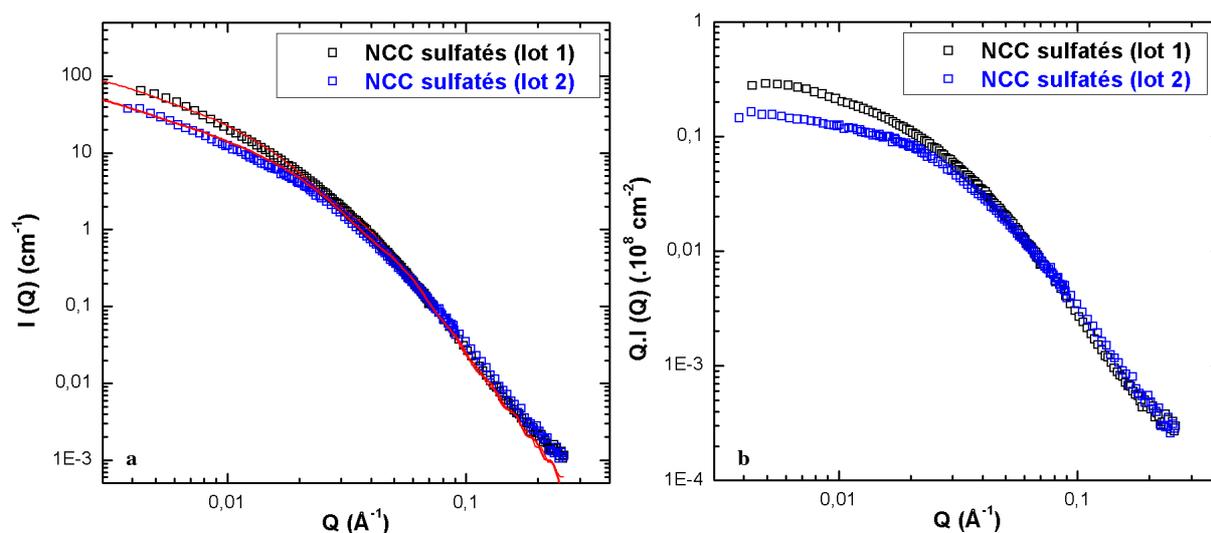
$$I(Q) \propto Q^{-1} (J_1(Qr) / Qr)^2 \quad (\text{équation V.1})$$

où  $J_1$  est la fonction de Bessel du premier ordre et  $r$  le rayon de l'objet. Par conséquent, pour de tels objets, une décroissance en  $Q^{-1}$  est observée aux petites valeurs de  $Q$ , qui apparaît comme un plateau en représentation  $Q.I = f(Q)$ .

Les études menées par Elazzouzi-Hafraoui *et al.*<sup>69</sup> ont révélé que les NCC de coton sont des objets parallélépipédiques plats formés de l'association latérale de 2 à 3 cristallites élémentaires. Pour déterminer les dimensions des NCC à partir des courbes de DNPA, nous avons donc ajusté les courbes par le facteur de forme d'un parallélépipède donné par l'expression:

$$P(Q) = \frac{2}{\pi} \int_0^{\pi/2} \int_0^{\pi/2} \left[ \frac{\sin A \sin B \sin C}{ABC} \right]^2 \sin \alpha \, d\alpha \, d\beta \quad (\text{équation V.2})$$

avec  $A = \frac{1}{2} Qe \sin \alpha \cos \beta$ ,  $B = \frac{1}{2} Ql \sin \alpha \sin \beta$  et  $C = \frac{1}{2} QL \cos \alpha$  où  $L$ ,  $l$  et  $e$  représentent respectivement la longueur, la largeur et l'épaisseur du parallélépipède.



**Figure V.3.** Courbes de DNPA de deux suspensions de NCC sulfatés à 1% issues de deux hydrolyses différentes. Représentation  $I=f(Q)$  (a) et représentation  $QI=f(Q)$  (b).

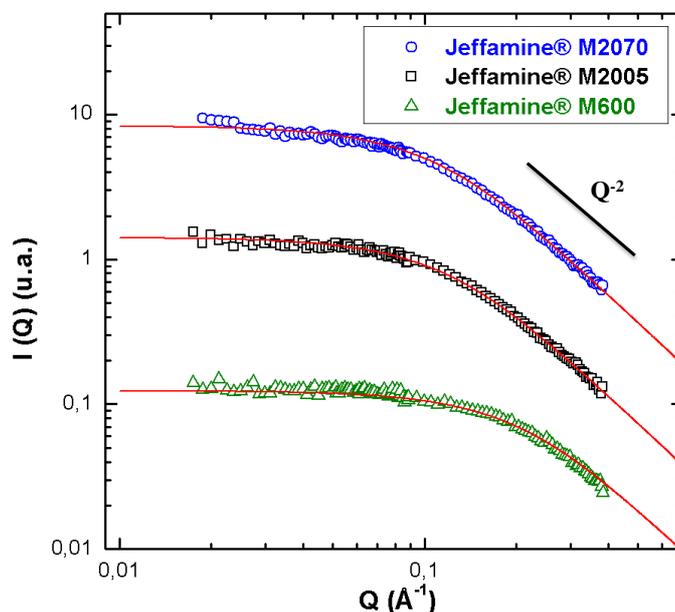
Ce facteur de forme a été utilisé par Terech *et al.*,<sup>90</sup> sans introduire la dimension de longueur, dans le but de calculer les dimensions de section transverse des NCC de tunicier. Comme le montre la figure V.3, un très bon accord est obtenu avec les points expérimentaux pour les deux lots de NCC mesurés, validant ainsi le modèle. Nous notons que l'ajustement dépend essentiellement des valeurs de  $l$  et  $e$  et qu'une distribution de taille gaussienne sur la valeur de  $e$  est nécessaire à l'ajustement des données. Les valeurs de  $L$ ,  $l$  et  $e$  correspondantes, regroupées dans le tableau V.2, sont en très bon accord avec les observations de microscopie électronique en transmission. La valeur de polydispersité utilisée est certainement surestimée puisque la résolution de la courbe expérimentale n'a pas été prise en compte dans le calcul pour des raisons pratiques. La différence entre les deux lots se situe uniquement sur la valeur moyenne de la largeur.

**Tableau V.2.** Paramètres issus du meilleur ajustement des données de DNPA de deux lots de NCC nus par le facteur de forme de parallélépipèdes.

	$L$ (nm)	$l$ (nm)	$e$ (nm)	$\sigma^a$
<b>NCC sulfatés lot 1</b>	126	26	5,5	0,4
<b>NCC sulfatés lot 2</b>	126	18	5	0,4

<sup>a</sup> largeur de la distribution de taille gaussienne sur  $e$

## V.1.2 Solutions diluées de polyétheramines



**Figure V.4.** Courbes de DNPA de solutions de Jeffamines M600, M2005 et M2070 dans  $D_2O$  à 2 % (m/m). Les courbes ont été arbitrairement décalées. Les lignes continues correspondent à l'ajustement par la fonction de Debye.

La figure V.4 présente les courbes de DNPA de solutions des Jeffamines M600, M2005 et M2070 dans  $D_2O$  à une concentration de 2 % (m/m). Les spectres sont typiques de chaînes de polymère dans un solvant thêta avec une pente en  $Q^{-2}$  à grandes valeurs de  $Q$ . L'ajustement des courbes expérimentales a été réalisé en utilisant le facteur de forme d'une chaîne de polymère gaussienne donné par la fonction de Debye :<sup>194</sup>

$$P(Q) = 2 \left( e^{-Q^2 R_g^2} - 1 + Q^2 R_g^2 \right) / Q^4 R_g^4 \quad (\text{équation V.3})$$

Cet ajustement nous a permis d'extraire le rayon de giration des chaînes,  $R_g$ .

**Tableau V.3.** Rayon de giration des différentes Jeffamines issus de l'ajustement par la fonction de Debye.

	M600	M2005	M2070
$R_g$ (nm)	0,7	1,22	1,36

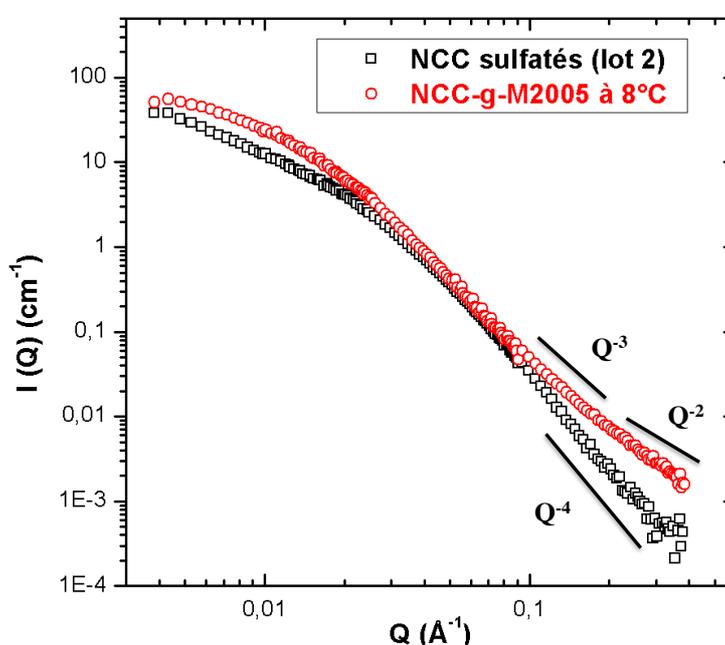
Comme attendu, les résultats regroupés dans le tableau V.3 montrent que  $R_g$  dépend de la masse molaire du polymère.

## V.1.3 Etude par DNPA des NCC-g-P

### V.1.3.1 Contraste 100% D<sub>2</sub>O : observation des objets décorés dans leur ensemble

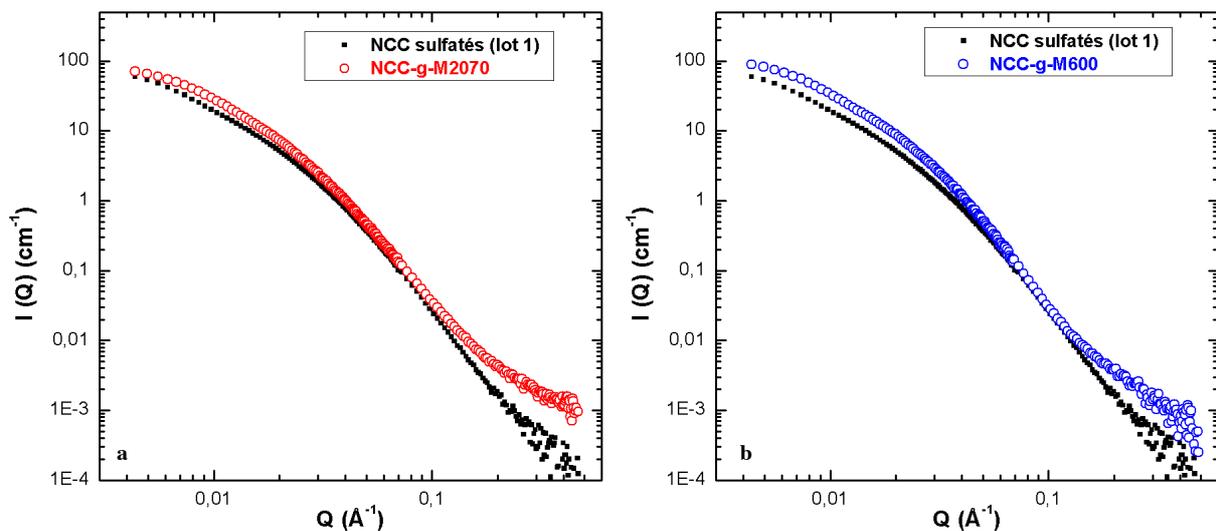
#### V.1.3.1.a. Comparaison des courbes de DNPA des NCC nus et NCC-g-P

Comme pour les NCC nus, nous avons lyophilisé puis redispersé des suspensions de NCC-g-P dans l'eau lourde pour atteindre une concentration de 1%. Comme nous l'avons montré au chapitre IV, les NCC-g-P se redispersent facilement dans l'eau après lyophilisation sans traitement particulier, contrairement aux NCC sulfatés. Sur la figure V.5 sont comparés les spectres de DNPA d'une suspension de NCC nus (sulfatés) et de NCC décorés de chaînes de Jeffamine M2005 à 8°C, température inférieure à la LCST du polymère pour laquelle les chaînes sont en condition de bon solvant. Notons que les deux suspensions sont issues du même lot.



**Figure V.5.** Courbes de DNPA de suspensions de NCC sulfatés (carrés noirs) et NCC-g-M2005 (ronds rouges) à 1% dans D<sub>2</sub>O. La mesure a été effectuée à 8°C, en-dessous de la LCST du polymère M2005.

A cette faible concentration, les intensités diffusées sont attribuées uniquement aux facteurs de forme des objets présents en suspension. Nous remarquons un excès de diffusion aux petites valeurs de  $Q$  pour l'échantillon greffé par rapport aux NCC nus. Ceci pourrait être attribué à la présence de la couronne de polymère qui a modifié les dimensions (largeur et épaisseur) des nanoparticules. Cet excès de diffusion n'est pas accompagné d'une pente forte mais tend vers un plateau comme dans le cas des NCC nus, ce qui permet de conclure qu'aucune agrégation n'a eu lieu au sein de la suspension de NCC-g-M2005 à cette température. Nous remarquons également une différence dans la gamme des grandes valeurs de  $Q$ . En effet, cette gamme caractérise l'interface des objets avec le solvant. Dans le cas des NCC nus, l'intensité décroît avec une pente en  $Q^{-4}$ , ce qui traduit une interface nette et lisse. Par contre, dans le cas des NCC-g-M2005, l'intensité décroît plutôt en  $Q^{-3}$ , traduisant ainsi une certaine rugosité due aux chaînes de polymère, suivi d'une décroissance en  $Q^{-2}$  caractéristique de chaînes gaussiennes. Cette observation est qualitativement en accord avec la décoration des NCC par la couche de polymère qui contribue à une certaine rugosité de la surface.



**Figure V.6.** Courbes de DNPA des suspensions de NCC sulfatés (carrés noirs), de NCC-g-M2070 (a) (ronds rouges) et de NCC-g-M600 (b) (ronds bleus) à 1% (m/m) dans  $D_2O$ .

Comme le montrent les figures V.6a et V.6b, des observations qualitatives similaires peuvent être faites dans le cas des suspensions de NCC-g-M600 et de NCC-g-M2070. La présence d'une couronne de polymère après greffage des Jeffamines M600, M2005 et M2070 sur les NCC est donc qualitativement confirmée par DNPA.

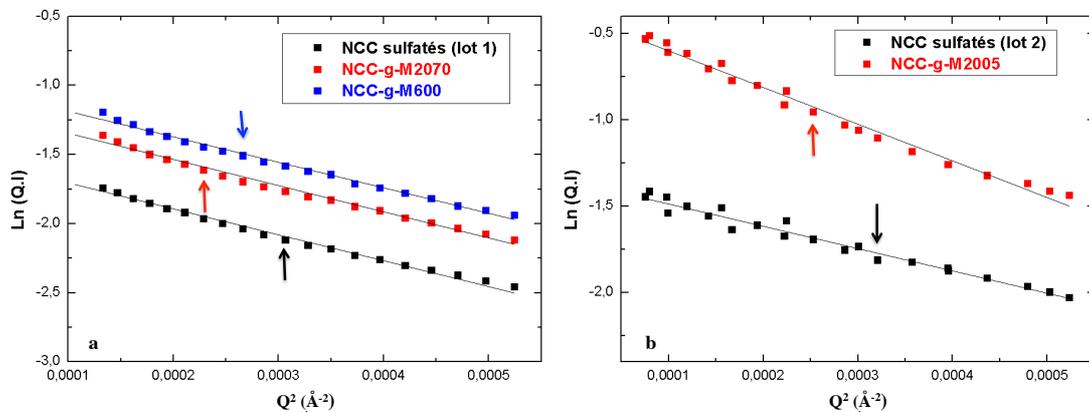
**V.1.3.1.b.** Estimation de la taille des sections et de l'épaisseur de la couronne de polymère par la loi de Guinier

A la lumière de ces observations, nous avons estimé l'épaisseur de la couche de polymère greffé. Pour cela, nous avons adopté la méthode utilisée par Bonini *et al.*<sup>195</sup> pour mesurer l'épaisseur de la couche de tensioactif adsorbée sur la surface des NCC de tunicier.

Dans un premier temps, les NCC ont été considérés comme des objets cylindriques monodisperses de densité homogène, sans interactions, et dont la longueur est très supérieure au diamètre. L'intensité diffusée par un tel système est régie par l'équation V.1 dont le développement limité dans le domaine  $Q.r_c < 1$  donne la loi de Guinier,<sup>196</sup> traduite par l'équation :

$$QI(Q) = (QI)_0 \exp(-Q^2 r_c^2 / 2) \quad (\text{équation V.4})$$

où  $r_c$  est le rayon de giration de section du cylindre. Ainsi, le tracé de  $\ln(QI)$  en fonction de  $Q^2$  pour  $Q.r_c < 1$  donne une droite dont la pente  $-r_c^2/2$  permet de calculer  $r_c$ .



**Figure V.7.** Représentation de  $\ln(Q.I) = f(Q^2)$  pour les suspensions de NCC sulfatés (lot 1), NCC-g-M2070 et NCC-g-M600 (a) et de NCC sulfatés (lot 2) et NCC-g-M2005 (b). Les flèches indiquent les valeurs de  $Q_{max}$  au-delà desquelles la condition de Guinier,  $Q.r_c < 1$ , cesse d'être vérifiée.

Ces tracés sont présentés sur la figure V.7. Nous nous sommes arrêtés aux limites définies par les flèches ( $Q.r_c < 1$ ) et la pente de la courbe a été calculée avec les points correspondant à  $Q < Q_{max}$ . Les résultats pour les NCC-g-P et les NCC initiaux correspondants sont résumés dans le tableau V.4.

**Tableau V.4.** Pente, rayon de giration et épaisseur de la couche de polymère issus de l'ajustement par le modèle de Guinier pour différentes suspensions diluées de NCC et NCC-g-P.

Suspension	Pente ( $\text{\AA}^2$ )	$r_c$ (nm)	Epaisseur $h$ de la couche de polymère (nm)
NCC sulfatés (batch 1)	- 2260,8	6,7	-
NCC-g-M600	- 2796,1	7,5	0,8
NCC-g-M2070	- 3290,6	8,1	1,4
NCC sulfatés (batch 2)	- 1470,1	5,4	-
NCC-g-M2005	- 2214,6	6,6	1,2

Les valeurs de  $r_c$  issus de l'ajustement par le modèle de Guinier pour les suspensions de NCC sulfatés sont respectivement de 6,7 et 5,4 nm pour les lots 1 et 2. Ce rayon peut également être calculé à partir des dimensions extraites de l'ajustement par le facteur de forme d'un parallélépipède (cf. V.1.1) en utilisant la relation :

$$lxe = \pi r_c^2 \quad (\text{équation V.5})$$

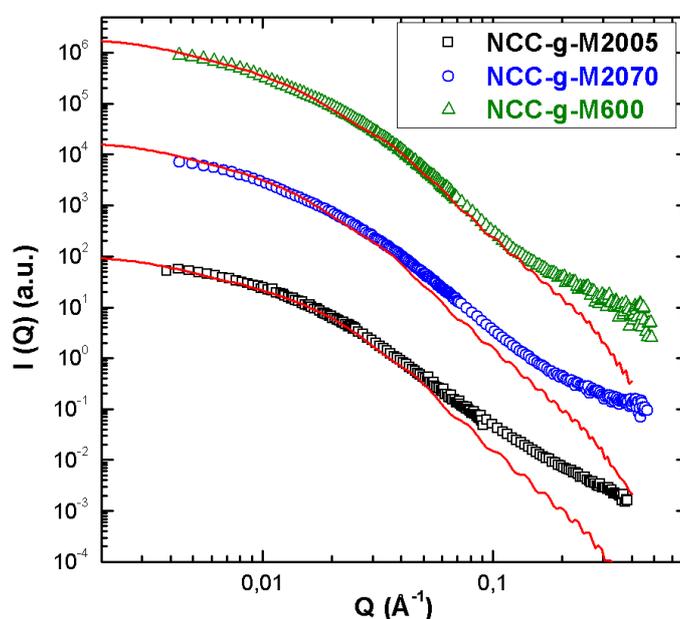
Le calcul donne respectivement des valeurs de 6.7 et 5.3 nm pour les lots 1 et 2, ce qui montre un très bon accord entre les deux méthodes.

Les données du Tableau V.4 révèlent pour les NCC-g-P une augmentation systématique des valeurs de  $r_c$  par rapport à celles des suspensions de NCC sulfatés correspondantes que nous attribuons à la présence d'une couronne de polymère autour des bâtonnets. L'épaisseur de la couche de polymère,  $h$ , présentée dans le tableau V.4 a donc été déduite de la différence entre les valeurs de  $r_c$ . Elle vaut respectivement 0,8, 1,4 et 1,2 nm pour les NCC-g-M600, NCC-g-M2070 et NCC-g-M2005. Ces valeurs sont assez proches des rayons de giration des polymères libres en solution déterminés au paragraphe V.1.2. Ce résultat suggère que les chaînes greffées à la surface des NCC adoptent une conformation de pelote statistique. Autrement dit, la densité de greffage est telle que nous sommes en régime "champignon" pour lequel les chaînes à la surface n'interagissent pas entre elles. Cette conformation ne semble pas étonnante étant donné les relativement faibles degrés de substitution mesurés, de l'ordre de 0,03 pour NCC-g-M600 et M2070 et de 0,055 pour

NCC-g-M2005, qui correspondent à des densités de greffage entre 0,4 et 0,8 chaînes/nm<sup>2</sup>. Durand-Gasselín *et al.*<sup>189</sup> avaient obtenu une épaisseur de couche de polymère variant entre 2 et 6 nm en greffant les Jeffamines M600 et M1000 sur des nanoparticules d'or d'un diamètre de 2 et 18 nm. Ces valeurs sont nettement plus élevées que la nôtre pour les NCC-g-M600. Ceci peut être tout simplement attribué à la densité de greffage plus élevée (de l'ordre de 4 chaînes/nm<sup>2</sup> obtenue pour le greffage de la Jeffamine M600 sur les nanoparticules d'or) et qui oblige les chaînes à adopter une conformation étirée dans un régime de brosse.

### V.1.3.1.c. Ajustement des courbes de DNPA des NCC-g-P

Après avoir estimé l'épaisseur des couches de polymère en appliquant la loi de Guinier, nous avons essayé d'ajuster les courbes de diffusion des NCC-g-P en utilisant le facteur de forme d'un parallélépipède orienté aléatoirement décrit dans l'équation V.3 en considérant la couronne de polymère comme une couche homogène de même densité de longueur de diffusion que les NCC. Autrement dit, ce modèle considère que les NCC-g-P sont des parallélépipèdes rectangles de dimensions  $L$ ,  $l+2h$  et  $e+2h$ , où  $L$ ,  $l$  et  $e$  sont respectivement les longueur, largeur et épaisseur des NCC nus initiaux déterminées en V.1.1 et  $h$  l'épaisseur de la couronne de polymère déterminée dans le paragraphe précédent (tableau V.4)



**Figure V.8.** Courbes de DNPA de suspensions de NCC-g-M600, NCC-g-M2070 et NCC-g-M2005 dans D<sub>2</sub>O à 1 % (m/m). Les courbes ont été arbitrairement décalées. Les lignes continues correspondent à l'ajustement par le facteur de forme d'un parallélépipède.

La figure V.8 montre qu'avec ce modèle, nous ne parvenons à ajuster que la première partie des courbes de NCC-g-M2005 et M2070, jusqu'à une valeur de  $Q$  environ égale à  $0,05 \text{ \AA}^{-1}$ . Dans le cas des NCC-g-M600, l'ajustement s'étend plus loin jusqu'à une valeur de  $Q$  d'environ  $0,1 \text{ \AA}^{-1}$ . Ce modèle n'est donc pas adapté à la description des NCC-g-P qui nécessite de considérer une densité de longueur de diffusion pour la couronne de polymère différente de celle du cœur de cellulose. Pour tenir compte de ce point, nous avons utilisé un nouveau modèle dont l'expression et le calcul ont été effectués par Bruno Frka-Petesic (post-doc dans l'équipe Structures et Propriétés des Glycomatériaux au CERMAV). Il s'agit toujours d'une géométrie de parallélépipède mais le modèle prévoit une diffusion hétérogène de la section des NCC-g-P en les assimilant à un système cœur de NCC-couronne de polymère pour lequel chaque partie a sa propre densité de longueur de diffusion.

Dans ce cas, l'amplitude de diffusion qui figurait dans l'équation V.3 s'écrit sous la forme :

$$A(Q, e, l, L) = \frac{\sin(\frac{1}{2} Q e \sin \alpha \sin \beta) \sin(\frac{1}{2} Q l \sin \alpha \sin \beta) \sin(\frac{1}{2} Q L \cos \alpha)}{\frac{1}{2} Q e \sin \alpha \sin \beta \quad \frac{1}{2} Q l \sin \alpha \sin \beta \quad \frac{1}{2} Q L \cos \alpha} \quad (\text{équation V.6})$$

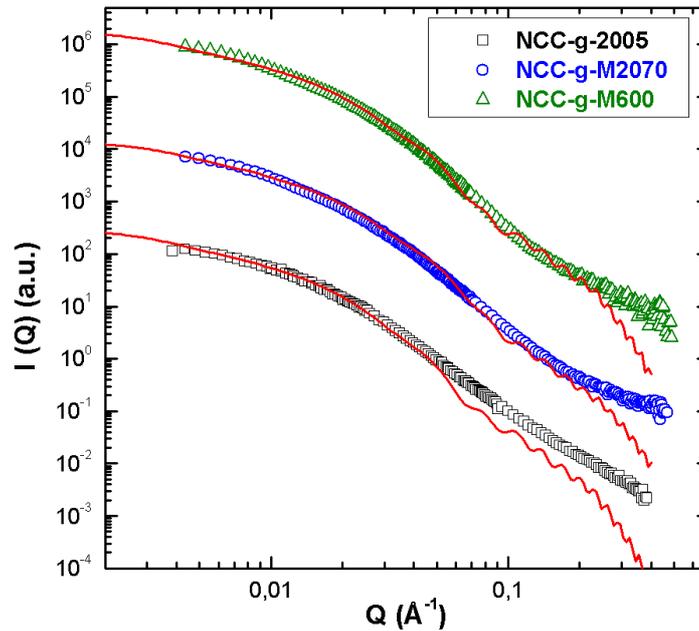
Comme le cœur constitué par les NCC a une densité de longueur de diffusion  $\rho_{NCC}$  différente de celle de la couronne  $\rho_{jeff}$  et de celle du solvant  $\rho_{solv}$ , l'amplitude de diffusion peut s'écrire sous la forme :

$$A_{NCC-g-jeff}(Q) = \frac{1}{V_{Total}} \{ (\rho_{jeff} - \rho_{solv}) [V_{Total} A_{Total}(Q) - V_{NCC} A_{NCC}(Q)] + (\rho_{NCC} - \rho_{sol}) V_{NCC} A_{NCC}(Q) \}$$

(équation V.7)

où  $V_{NCC}$  est le volume d'un nanocristal,  $V_{Total}$  le volume d'une nanoparticule greffée et  $A_{Total}$  est l'amplitude de diffusion pour laquelle  $e$ ,  $l$  et  $L$  sont remplacés respectivement par  $e+h$ ,  $l+h$  et  $L+h$  avec  $h$  l'épaisseur de la couche de polymère. En supposant une orientation aléatoire des bâtonnets cœur-couronne, le facteur de forme final s'écrit :

$$P_{NCC-g-jeff}(Q) = \frac{2}{\pi} \int_0^{\pi/2} \int_0^{\pi/2} [A_{NCC-g-jeff}(Q)]^2 \sin \alpha \, d\alpha \, d\beta \quad (\text{équation V.8})$$



**Figure V.9.** Courbes de DNPA de suspensions de NCC-g-M600, NCC-g-M2070 et NCC-g-M2005 dans  $D_2O$  à 1 % (m/m). Les courbes ont été arbitrairement décalées. Les lignes continues correspondent à l'ajustement par le facteur de forme d'un modèle cœur de NCC-couronne de polymère pour lequel chaque partie a sa propre densité de longueur de diffusion.

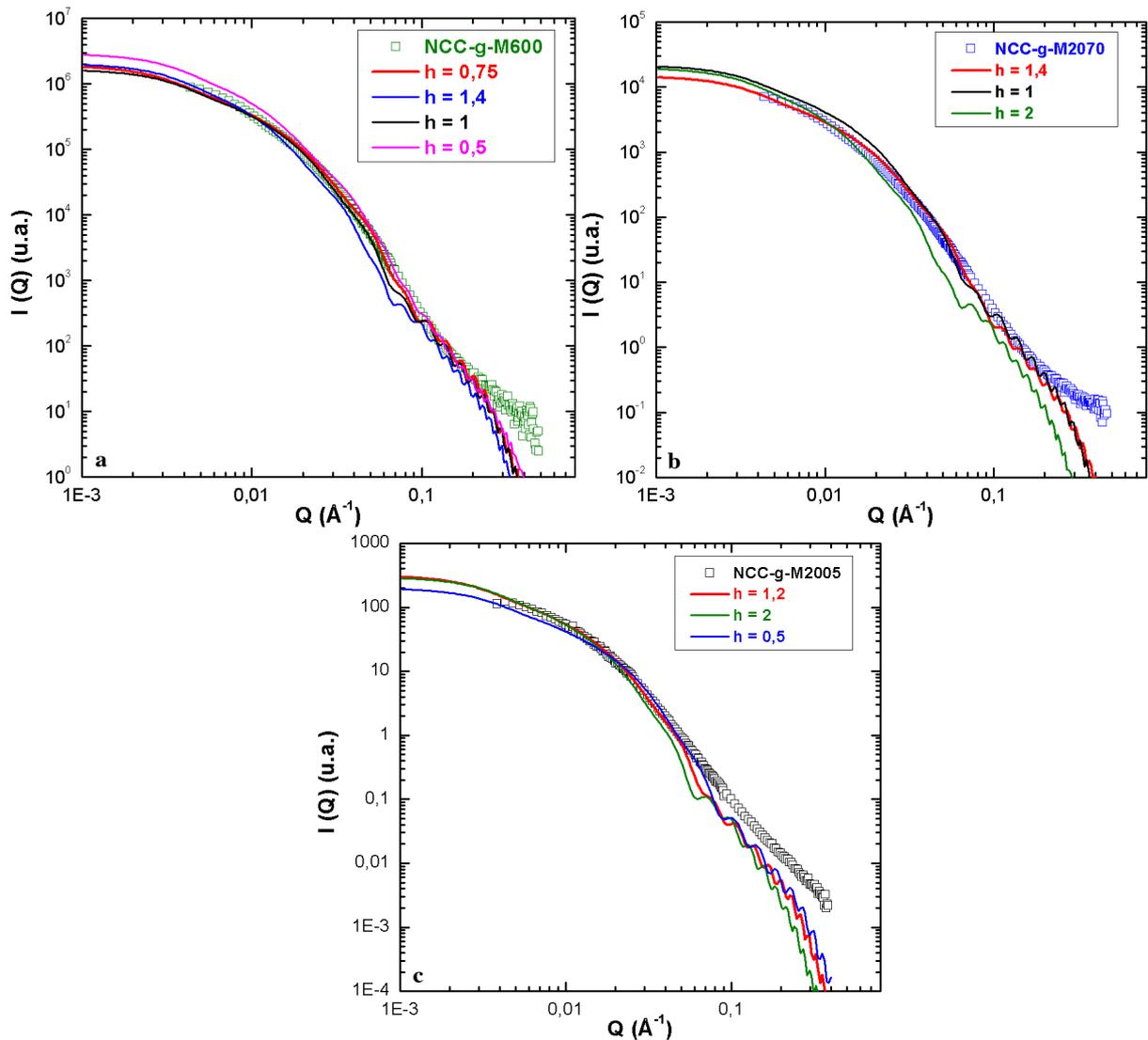
Dans un premier temps, nous avons appliqué ce modèle en utilisant les valeurs de  $L$ ,  $l$ ,  $e$  et  $h$  issues de la loi de Guinier obtenues précédemment (tableaux V.2 et V.4) pour les suspensions de NCC-g-M600, NCC-g-M2070 et NCC-g-M2005. Les résultats de ces simulations apparaissent sous la forme de lignes continues rouges sur la figure V.9.

L'accord entre simulation et expérience pour les suspensions NCC-g-M600 et NCC-g-M2070 est relativement bon avec un net désaccord à partir de  $0,25 \text{ \AA}^{-1}$ . Quant à l'ajustement de la courbe de la suspension de NCC-g-M2005, la discordance de l'ajustement avec les points expérimentaux commence vers  $0,06 \text{ \AA}^{-1}$  même si entre cette valeur de  $Q$  et  $0,25 \text{ \AA}^{-1}$  les courbes théorique et expérimentale décroissent avec une pente similaire.

Pour améliorer l'accord entre simulation et expérience, nous avons dans un second temps fait varier l'épaisseur  $h$  de la couronne de polymère, dans les équations en prenant différentes valeurs autour de la valeur de  $h$  issue de l'ajustement de Guinier,  $h_{\text{Guinier}}$ . Pour les trois suspensions et pour toutes les valeurs de  $h$  testées, le meilleur accord est obtenu pour  $h=h_{\text{Guinier}}$  (figure V.10). En effet, quand  $h>h_{\text{Guinier}}$  un désaccord entre simulation et expérience

apparaît pour les grandes valeurs de  $Q$  à partir de  $0,08 \text{ \AA}^{-1}$ . Pour les valeurs de  $h < h_{\text{Guinier}}$  le désaccord est plutôt vers les moyennes ou petites valeurs de  $Q$  (entre  $0,004$  et  $0,04 \text{ \AA}^{-1}$ ).

Ces résultats semblent donc valider les épaisseurs de la couche de polymère que nous avons déterminées.



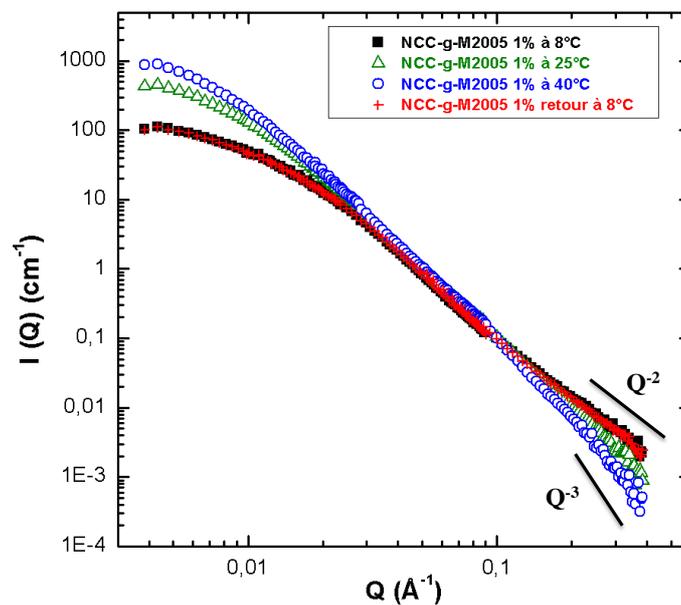
**Figure V.10.** Courbes de DNPA de suspensions de NCC-g-M600 (a), NCC-g-M2070 (b) et NCC-g-M2005 (c) dans  $D_2O$  à 1 % (m/m). Les lignes continues rouges correspondent à l'ajustement par le facteur de forme d'un modèle cœur de NCC-couronne de polymère dont l'épaisseur «  $h$  » (exprimée en nm) a été déduite par l'analyse de Guinier.

La différence observée entre les NCC-g-M600 et NCC-g-M2070, d'une part, et NCC-g-M2005 d'autre part, pourrait provenir de la différence entre les densités de greffage, de l'ordre de 0,03 dans le premier cas et 0,055 dans le second. Ce paramètre aura certainement un effet sur les courbes de DNPA mais l'accès limité aux instruments de

diffusion des neutrons ne nous a pas permis de mesurer un même type d'échantillon avec différents  $DS$ .

Dans tous les cas, l'accord entre les spectres calculé et expérimental est faible aux grandes valeurs de  $Q$ , dans une région où la conformation du polymère est sondée. Pour mieux rendre compte de la réalité des objets, un modèle plus sophistiqué qui ne considérerait pas la couche de polymère comme une couche homogène mais comme des chaînes ayant une conformation et une densité de greffage données devra être développé. Ce type de modèle existe pour les particules sphériques comme par exemple le modèle de micelles de copolymère sphériques développé par Pedersen et Gerstenberg <sup>197</sup> qui considère un cœur sphérique dense entouré de chaînes de polymères gaussiennes. Malheureusement, à notre connaissance, aucun modèle équivalent en géométrie parallélépipédique n'est disponible.

#### V.1.3.1.d. Observation par DNPA de l'effet de la température sur les NCC-g-P

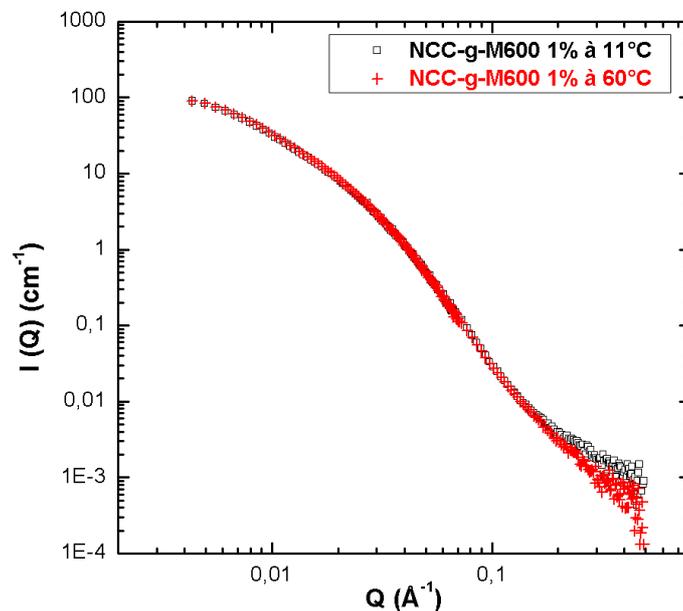


**Figure V.11.** Courbes de DNPA de la suspension de NCC-g-M2005 dans  $D_2O$  à 1 % (m/m) à différentes températures.

Nous nous sommes intéressés à l'effet de la température sur la courbe de DNPA de la suspension NCC-g-M2005 puisque la valeur de la LCST du polymère (autour de  $16^\circ C$ ) est facilement accessible expérimentalement et permet de sonder le régime pré- et post-LCST. La figure V.11 montre qu'en chauffant la suspension de 8 à  $25^\circ C$  puis à  $40^\circ C$  nous observons

une augmentation de l'intensité diffusée aux petites valeurs de  $Q$  avec la température, reflétant ainsi l'agrégation des NCC-g-P. Même si nous avons sondé une gamme de vecteur de diffusion limitée, le fait que cette augmentation de l'intensité garde une pente modérée avec une tendance à atteindre un plateau suggère fortement que les agrégats formés sont de taille finie. Ces observations sont en accord avec celles issues de la MET et de la DLS (cf. § IV.1.2.4). L'augmentation de l'intensité aux petits  $Q$  avec la température s'accompagne également d'une variation de la pente à grands  $Q$  montrant ainsi la variation de l'interface objet-solvant avec le changement de la température. En effet, à  $T < LCST$ , les chaînes de polymère se trouvent dans des conditions de solvant thêta avec une conformation en pelote caractérisée par une pente en  $Q^{-2}$ . En revanche, à  $T > LCST$ , le polymère s'effondre et adopte une conformation de globule définie par un exposant de Flory égal à  $1/3$  correspondant à la décroissance en  $Q^{-3}$  que nous observons.<sup>198,199</sup>

En retournant à  $8^\circ\text{C}$ , nous remarquons une diminution de l'intensité aux petites valeurs de  $Q$  et le spectre se superpose avec le spectre initial avant chauffage. Les mesures de DNPA confirment donc la parfaite réversibilité du système.



**Figure V.12.** Courbes de DNPA de la suspension de NCC-g-M600 dans  $D_2O$  à 1 % (m/m) à  $11^\circ\text{C}$  (carrés noirs) et à  $60^\circ\text{C}$  (croix rouges).

Nous avons également suivi l'évolution des spectres de diffusion de la suspension NCC-g-M600 en fonction de la température (figure V.12). Nous n'avons détecté aucune augmentation de l'intensité à petites valeurs de  $Q$  à  $60^\circ\text{C}$ , signe qu'aucune agrégation n'a eu

lieu. Le même résultat a été obtenu par DLS (figure IV.16). Aux grands  $Q$ , nous observons une petite variation avec la température probablement due à l'effondrement des chaînes greffées, sans que ce phénomène n'induisse des forces d'interaction attractives hydrophobes suffisamment importantes pour contrebalancer les répulsions électrostatiques résiduelles.

Idéalement, le suivi des spectres en fonction de la température en présence de sel aurait été nécessaire mais le temps d'accès limité aux instruments ne nous a pas permis d'effectuer ces mesures.

### V.1.3.2 Contraste $H_2O/D_2O$ 47/53 (v/v) : observation de la couronne de polymère

Comme évoqué plus haut, l'un des avantages de la technique de diffusion neutronique est la possibilité d'effectuer une variation de contraste conduisant à masquer le signal d'un constituant dans un mélange complexe. Dans notre cas, l'utilisation d'un mélange  $H_2O/D_2O$  à 47/53 en volume avec des NCC deutérés et greffés de Jeffamine M2005 permet de masquer le signal du cœur formé par les nanocristaux et d'enregistrer uniquement le signal de la couche de polymère. Les spectres de suspensions de NCC-g-M2005 à 4% enregistrés dans ces conditions de contraste à différentes températures sont présentés sur la figure V.13.

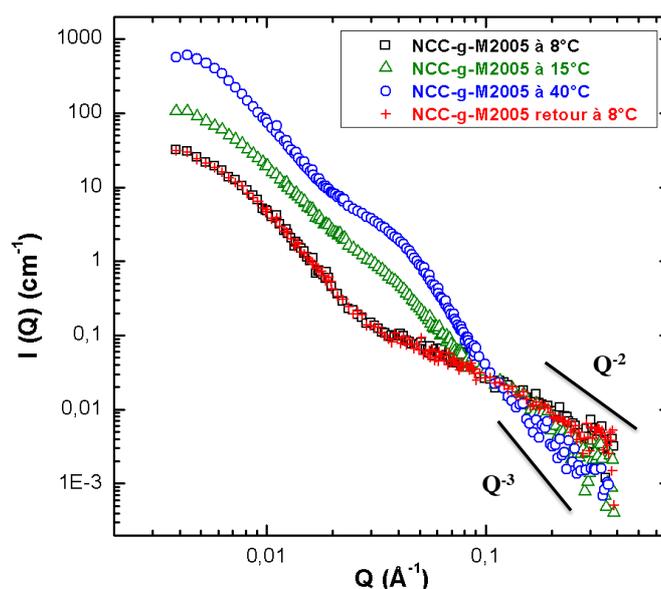


Figure V.13. Courbes de DNPA de la suspension de NCC-g-M2005 à 4% (m/m) dans un mélange  $H_2O/D_2O$  : 47/53 (signal de la couronne uniquement) à différentes températures.

Nous remarquons tout d'abord que l'allure de la courbe à 8 °C est différente de celle des courbes des NCC-g-M2005 avec le contraste 100% D<sub>2</sub>O. A grandes valeurs de  $Q$ , la pente en  $Q^{-2}$  indique bien que les chaînes de polymère greffées sont dans des conditions de solvant thêta et adoptent une conformation de pelote aléatoire.

Une oscillation apparaît à 8 °C aux valeurs moyennes de  $Q$ , entre 0,03 et 0,1 Å<sup>-1</sup>. Elle provient probablement du facteur de forme des objets sondés. En effet, dans ces conditions de contraste, les NCC-g-P ressemblent à des parallélépipèdes dont la paroi est formée d'une couche de polymère. Ce type d'objets, tout comme les cylindres creux de géométrie proche, possède un facteur de forme présentant des oscillations qui résultent des interférences entre les signaux de la paroi interne et de la paroi externe.<sup>200</sup> Toutefois, pour observer ces oscillations, la distribution de taille des particules doit rester modérée, ce qui n'est pas le cas des NCC de coton formant le cœur du cylindre. Une autre possibilité serait l'intervention du facteur de structure lié aux interactions entre les particules à cette relativement haute concentration (4%). La superposition de ces pics de structures avec le facteur de forme d'objets parallélépipédiques creux polydispersés peut également générer de pseudo oscillations.

En augmentant la température, l'allure des courbes varie fortement. A petites valeurs de  $Q$ , nous observons une augmentation de l'intensité ce qui suggère une agrégation des nanoparticules greffées. Ceci est accompagné par un changement de la pente à grands  $Q$ , de  $Q^{-2}$  à 8°C à  $Q^{-3}$ , signalant le passage des chaînes d'une conformation pelote statistique à une conformation de globule effondré. Robbes et al.<sup>201</sup> ont greffé des chaînes de polystyrène sur des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer dispersées dans du toluène. Après avoir masqué le signal du cœur, le signal de DNPA des chaînes greffées montre une décroissance en  $Q^{-2}$  à grandes valeurs de  $Q$ , interprétée comme un comportement gaussien des chaînes de PS. Aux valeurs moyennes de  $Q$ , nous remarquons l'apparition d'un épaulement dont l'origine est incertaine. En effet, le signal dans ces conditions est une combinaison complexe de plusieurs composantes. En plus de la contribution du facteur de forme des agrégats, nous pouvons ajouter celle du facteur de structure inter-agrégats ainsi que du facteur de structure intra-agrégats.

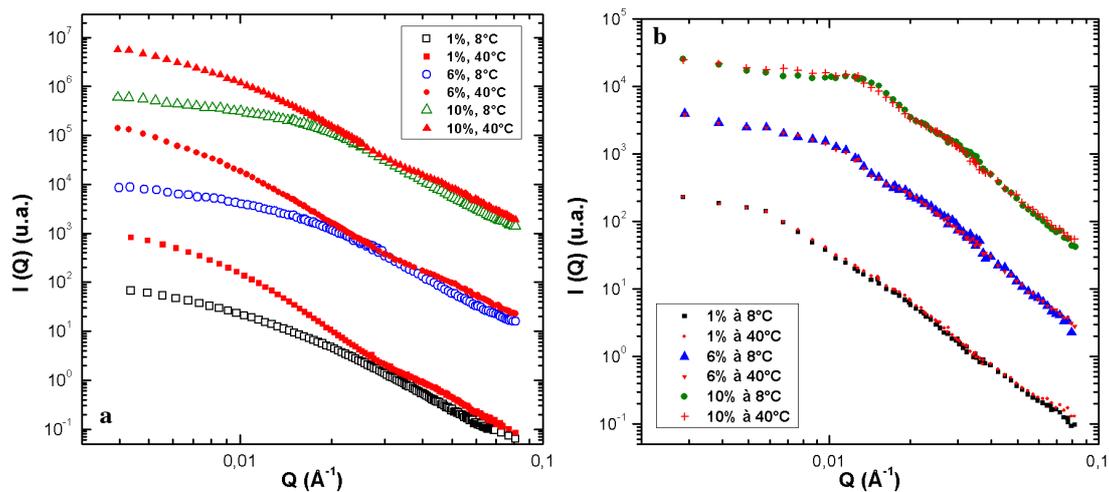
Comme dans le cas du contraste permettant l'observation des NCC greffés dans leur ensemble, les spectres mesurés à 8 °C avant et après chauffage sont superposables sur toute la

gamme de vecteurs de diffusion, ce qui confirme une nouvelle fois la réversibilité de l'agrégation induite par la température.

## V.2 Régime concentré

### V.2.1 Influence de la méthode de préparation

Nous avons effectué des mesures de DNPA pour la suspension NCC-g-M2005 en régime concentré à des concentrations massiques de 6 et 10 %. Le contraste utilisé (100% D<sub>2</sub>O) permettait l'observation des objets décorés dans leur ensemble. Nous nous sommes rendus compte que la méthode de préparation de l'échantillon influençait beaucoup l'allure de la courbe et sa variation vis-à-vis de la température.



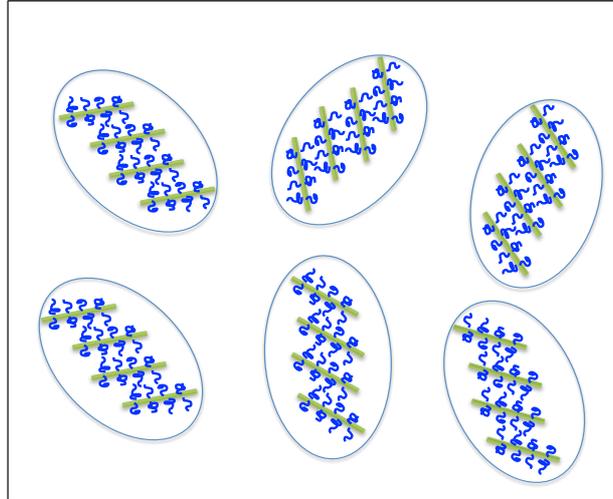
**Figure V.14.** Courbes de DNPA de suspension de NCC-g-M2005 dans D<sub>2</sub>O à 1, 6 et 10 % (m/m) à 8 et 40 °C. (a) Les suspensions ont été préparées par dispersion de la suspension lyophilisée dans D<sub>2</sub>O. (b) Les suspensions ont été préparées par plusieurs cycles d'ultracentrifugation/redispersion dans D<sub>2</sub>O. Les courbes ont été arbitrairement décalées.

Dans un premier temps nous avons préparé les différents échantillons (1, 6 et 10 %) en redispersant une suspension de NCC-g-M2005 lyophilisée dans l'eau lourde. Comparés à ceux de la suspension diluée (1% m/m), les spectres de diffusion obtenus à partir des suspensions concentrées (6 et 10 % m/m) à 8 °C montrent un épaulement qui est plus marqué pour la suspension à 10% (figure V.14a). Cet épaulement provient du facteur de structure existant entre les nanoparticules à ces concentrations élevées et traduit l'existence d'une

distance caractéristique entre les objets. Après chauffage, les courbes des échantillons concentrés présentent, comme pour l'échantillon dilué, une augmentation de l'intensité à petites valeurs de  $Q$ , indiquant une agrégation (figure V.14 a).

Dans un second temps, les échantillons ont été préparés en ultracentrifugeant la même suspension de NCC-g-M2005 afin d'obtenir un culot visqueux et un surnageant limpide. Le culot a été redispersé dans de l'eau lourde puis ultracentrifugé et redispersé plusieurs fois dans  $D_2O$  pour s'assurer d'un bon échange. Les spectres de diffusion correspondants, contrairement à ceux enregistrés pour la première méthode de préparation, présentent un pic de structure assez marqué (figure V.14b). Par ailleurs, de façon surprenante, aucune augmentation de l'intensité à petits  $Q$  avec la température n'est observée pour cette série d'échantillons. De plus, la position du pic de structure relatif à la suspension 6% ne varie pas avec la température et celle du pic relatif à la suspension de 10% se déplace légèrement dans le sens d'une augmentation de la distance caractéristique, contrairement à la diminution des distances que nous pourrions attendre après chauffage.

Ces observations nous ont conduits à proposer l'hypothèse suivante pour la série d'échantillons préparés par ultracentrifugation et redispersion. L'ultracentrifugation permet d'obtenir un culot très concentré dans lequel les NCC s'orientent probablement sous l'effet du confinement. Durant la redispersion, la dilution et l'agitation mécanique ne suffiraient pas à séparer complètement les nanoparticules. La suspension serait donc hétérogène et contiendrait une distribution de micro-domaines concentrés (figure V.15). Il faudrait néanmoins vérifier si ces micro-domaines sont stables au cours du temps ou si l'homogénéité de la suspension augmente en fonction du temps de redispersion. Un autre mécanisme possible pourrait avoir lieu après l'ultracentrifugation et avant la redispersion, période durant laquelle la température n'est pas complètement contrôlée. Une élévation éventuelle de la température durant cette étape pourrait entraîner une agrégation au sein du culot qui serait donc plus difficilement redispersable. Cet effet pourrait être accentué par le fait que la température critique du culot très concentré pourrait être plus basse que celle d'une solution diluée de Jeffamine. La variation de la température de transition avec la concentration a été mise en évidence dans le Chapitre IV (§ IV.1.3.4).

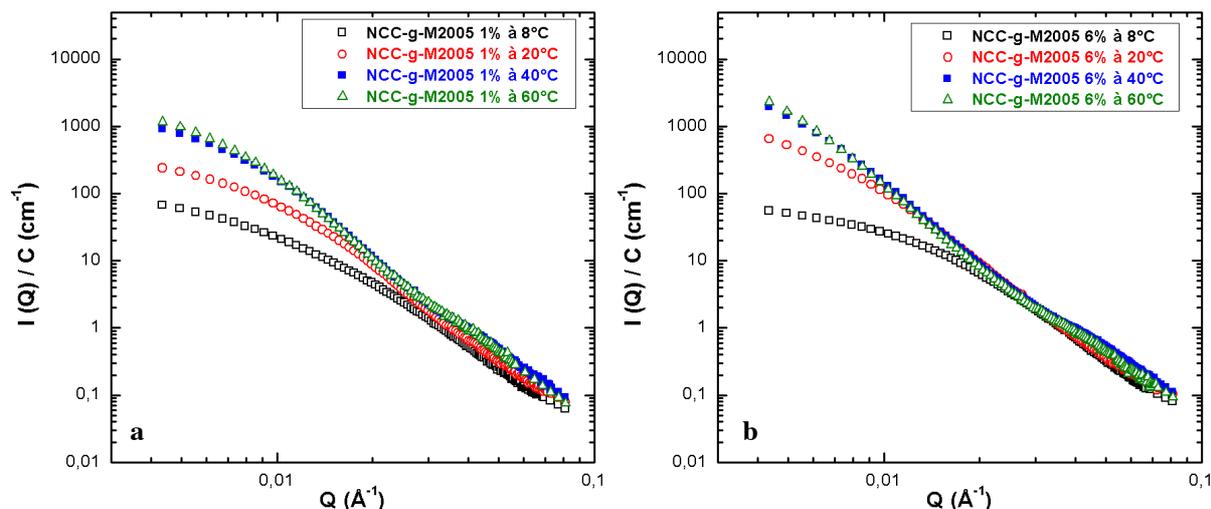


**Figure V.15.** Schéma des micro-domaines de NCC formés par la méthode de préparation d'ultracentrifugation/redispersion dans  $D_2O$ .

En nous basant sur l'hypothèse de l'existence de micro-domaines et quel que soit le mécanisme mis en jeu, nous pouvons supposer que dans ces micro-domaines où les NCC sont très proches les uns aux autres, la répulsion électrostatique résiduelle provenant des groupements carboxylates est supérieure aux forces hydrophobes attractives qui se développent entre chaînes de polymères aux températures supérieures à la LCST. Ceci expliquerait qu'aucune augmentation de l'intensité à petites valeurs de  $Q$  n'ait été observée au cours du chauffage. Par contre, cette hypothèse ne justifie pas le fait que le pic de structure relatif à la suspension à 10% se déplace légèrement à gauche, dans le sens d'une augmentation des distances caractéristiques, lorsque la température passe de 8 à 40 °C.

## V.2.2 Effet de la concentration sur l'agrégation

Dans le chapitre IV, nous avons observé la formation d'agrégats de taille finie après chauffage. Cette taille finie a été attribuée à la répulsion électrostatique résiduelle et nous avons pu vérifier cette hypothèse par des mesures de DLS en faisant varier la force ionique du milieu ou la concentration des suspensions. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons comparé l'augmentation de l'intensité à petits  $Q$  en fonction de la température pour deux suspensions de NCC-g-M2005, l'une diluée à 1% (m/m) l'autre à 6% (figure V.16).

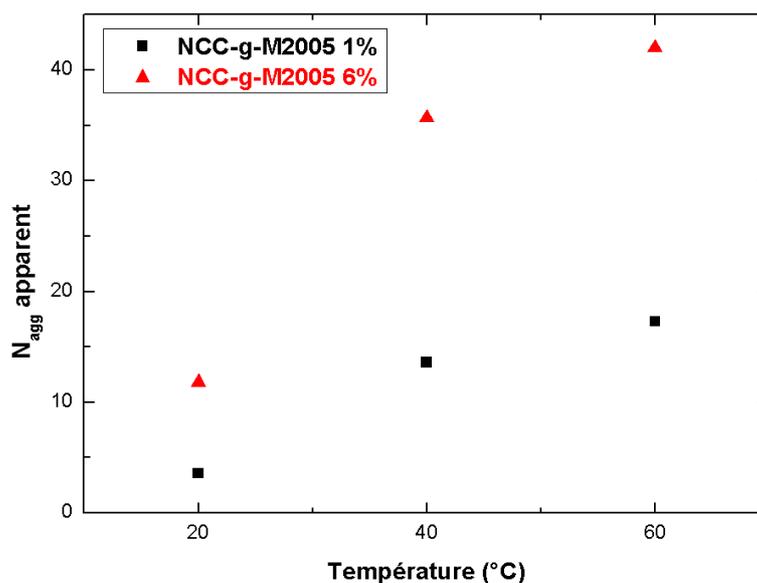


**Figure V.16.** Courbes de DNPA des suspensions de NCC-g-M2005 dans  $D_2O$  à 1% (m/m) (a) et 6% (m/m) (b) à différentes températures.

Dans le cas de la suspension à 6%, nous remarquons que, qualitativement, après chauffage, l'intensité à petits  $Q$  augmente plus rapidement que dans le cas de la suspension à 1% (figure V.16 b). Un facteur de structure pourrait être calculé, à partir duquel nous pourrions déduire le nombre moyen de particules par agrégat par la relation :

$$N_{agg} = S(Q \rightarrow 0) \quad (\text{équation V.8})$$

Un défaut accompagne le calcul d'un facteur de structure  $S(Q)$  en divisant les spectres à hautes températures par celui à basse température puisque le facteur de forme  $P(Q)$  d'un objet individuel (un nanocristal décoré) n'est pas le même aux deux températures : la chaîne de polymère est en conformation pelote dans le premier cas et globule dense dans le second. Nous avons donc calculer un nombre d'agrégation apparent en divisant les valeurs de l'intensité à  $Q_{min}$  à une température donnée (20, 40 ou 60°C) et à une concentration donnée (1 ou 6%) par la valeur de l'intensité à  $Q_{min}$  à 8°C de la suspension de même concentration.

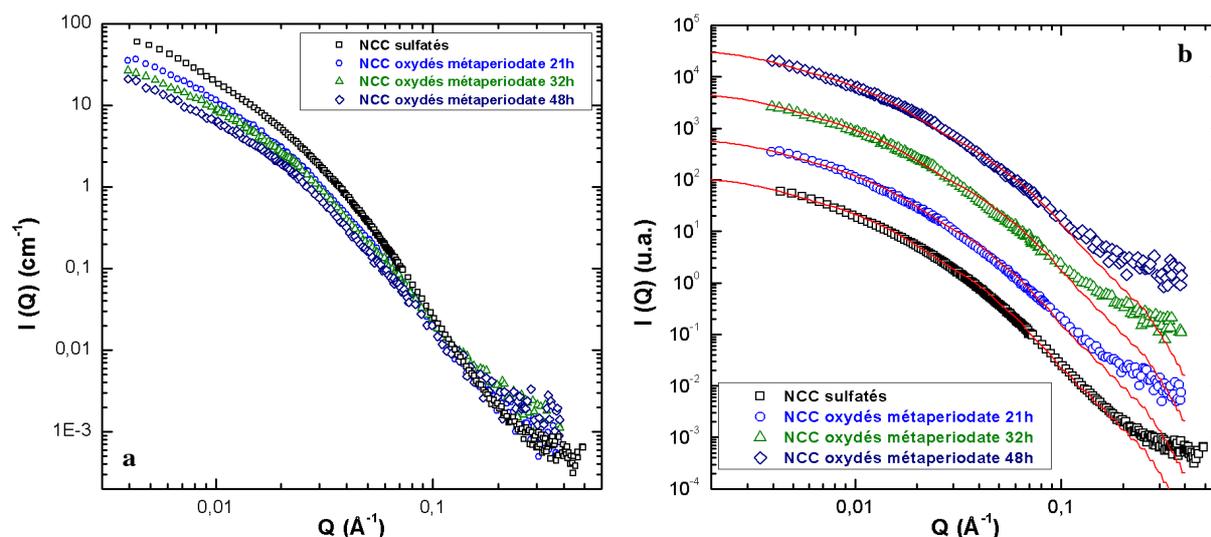


**Figure V.17.** Variation du nombre d'agrégation apparent en fonction de la température pour les deux suspensions de NCC-g-M2005 1 et 6% (m/m)

Les résultats sont résumés dans la figure V.17. Nous ne pouvons pas interpréter les valeurs des nombres d'agrégation comme étant des valeurs réelles pour les raisons discutées plus haut. Par contre, la comparaison de ces valeurs calculées à partir des deux suspensions de concentrations 1 et 6% montre clairement que le nombre d'agrégation apparent est plus élevé dans le cas de la suspension concentrée, ce qui rejoint les constatations précédentes (cf. § IV.1.2.4.b) sur le rôle de la concentration dans la détermination de la taille finie des agrégats formés.

### V.3 NCC oxydés métaperiodate

Comme nous l'avons déjà vu dans les chapitres précédents, l'oxydation métaperiodate des NCC provoque un détachement partiel des chaînes de surface du cristal. Comme la DNPA permet d'avoir accès aux dimensions des objets, nous avons effectué des mesures sur trois suspensions de NCC oxydés au métaperiodate pendant 21, 32 et 48 h et nous les avons comparés au spectre de NCC sulfatés initiaux (figure V.18 a). Les mesures ont été réalisées en régime dilué, à une concentration de 1% (m/m) pour les quatre suspensions, avec des NCC protonés dans D<sub>2</sub>O.



**Figure V.18.** a) Courbes de DNPA de suspensions de NCC sulfatés et de NCC oxydés métaperiodate pendant 21 h, 32 h et 48 h dans  $D_2O$  à 1 % (m/m). b) Les mêmes courbes arbitrairement décalées avec des lignes continues correspondant à l'ajustement par le facteur de forme d'un parallélépipède.

L'allure des courbes varie avec la durée d'oxydation à la fois dans les domaines des grands et des petits  $Q$ . Pour les spectres des NCC oxydés métaperiodate, nous notons une diminution de l'intensité à petits  $Q$  par comparaison avec le spectre des NCC sulfatés non modifiés. Cette diminution s'accroît quand la durée d'oxydation augmente. A grands  $Q$ , une légère augmentation de l'intensité est observée pour les spectres de NCC oxydés métaperiodate.

Les courbes ont été ajustées (figure V.18 b) par le facteur de forme d'un parallélépipède à orientation aléatoire représenté par l'équation V.3. Les dimensions obtenues à partir des meilleurs ajustements des spectres sont présentées dans le tableau V.5.

**Tableau V.5.** Paramètres issus du meilleur ajustement des données de DNPA par le facteur de forme de parallélépipède de suspensions de NCC oxydés métaperiodate à différentes durées d'oxydation et de la suspension de NCC sulfatés mère.

	$L$ (nm)	$l$ (nm)	$e$ (nm)	$\sigma^a$
<b>NCC sulfatés</b>	126	26	5,5	0,4
<b>NCC oxydés métaperiodate 21 h</b>	126	26	5	0,4
<b>NCC oxydés métaperiodate 32 h</b>	126	26	4,25	0,4
<b>NCC oxydés métaperiodate 48 h</b>	126	26	4	0,4

<sup>a</sup> largeur de la distribution de taille gaussienne sur  $e$

Globalement, l'ajustement des courbes expérimentales des NCC oxydés métaperiodate est relativement bon, preuve que ces derniers ont gardé la géométrie de parallélépipède. D'après ces ajustements, les NCC des différentes suspensions ont les mêmes valeurs moyennes de longueur et de largeur. Une diminution de l'épaisseur est notée après oxydation probablement due à un détachement partiel des chaînes oxydées. Cette diminution s'accroît avec l'augmentation de la durée d'oxydation, avec une épaisseur de 4 nm calculée à partir de la suspension oxydée métaperiodate pendant 48 h. En revanche, malgré l'ajout d'une polydispersité de 40% sur la valeur de l'épaisseur, nous trouvons un désaccord entre l'ajustement et les points expérimentaux à partir d'une valeur de  $Q$  de  $0,14 \text{ \AA}^{-1}$  pour les NCC oxydés 21 h, et à partir de  $0,12$  pour les NCC oxydés 32 et 48 h, contrairement à l'ajustement des NCC sulfatés où la discordance commence à partir de  $0,24 \text{ \AA}^{-1}$ . Le désaccord se manifeste par une diminution de la pente aux grandes valeurs de  $Q$ . Ceci pourrait être attribué aux chaînes partiellement détachées de la surface des NCC oxydés métaperiodate, rendant l'interface avec le solvant moins définie. Ces résultats vont dans le même sens que les résultats précédents observés par DLS ou par MET. Il reste toutefois nécessaire de mesurer la diffusion à partir des suspensions de NCC oxydés métaperiodate, ayant subi une amination réductrice conduisant au détachement totale des chaînes, pour voir l'influence de cette étape sur les spectres de DNPA. Encore une fois, le temps d'accès limité aux grands instruments ne nous a pas permis d'effectuer ces mesures.

## **V.4 Conclusion**

Dans ce chapitre, nous avons étudié les systèmes de NCC-g-P par la technique de diffusion des neutrons aux petits angles. Dans un premier temps, nous avons étudié chaque composant du système séparément en régime dilué. A partir des courbes de diffusion des NCC sulfatés, nous avons déterminé les dimensions de ces objets en ajustant les données expérimentales par le facteur de forme d'un parallélépipède. Les NCC ont une longueur  $L$ , une largeur  $l$  et une épaisseur  $e$  respectivement de 126, 26 et 5,5 nm. La valeur de la largeur montre que les NCC issus du coton sont formés de plusieurs sous-unités élémentaires accolées, ce qui est en accord avec les observations par MET. Cette valeur varie en fonction du lot. Les différentes Jeffamines ont été également mesurées et des rayons de giration variant entre 0,7 et 1,4 nm ont été calculés en utilisant la fonction de Debye.

En étudiant les suspensions de NCC-g-P en régime dilué avec un contraste où le signal provient des objets décorés dans leur ensemble, les spectres révèlent la présence d'une couche de polymère. Cette dernière a été estimée en comparant les rayons de giration de section transverse des NCC sulfatés et des NCC-g-P correspondants, calculés avec un ajustement de Guinier et par un ajustement des courbes expérimentales par un modèle NCC-couronne de polymère. Les deux méthodes d'estimation présentent un très bon accord. Pour les NCC-g-M2005, l'effet de la température se traduit par une augmentation de l'intensité à petits  $Q$ , preuve d'une formation d'agrégats, accompagnée d'une variation de la décroissance de  $Q^{-2}$  en  $Q^{-3}$  aux grands  $Q$ , causée par le passage des chaînes de Jeffamine M2005 d'une conformation en pelote statistique à une conformation globulaire. Ce changement de conformation a été confirmé avec un contraste où le cœur est masqué et le signal provient uniquement de la couronne. Dans le cas des NCC-g-M600, aucune agrégation n'a été détectée à 60°C. Un changement de la décroissance à grands  $Q$  dû à l'effondrement des chaînes de M600, montre bien le rôle des répulsions électrostatiques résiduelles dans l'agrégation.

Les suspensions de NCC-g-M2005 ont été étudiées en régime concentré. Les résultats montrent que la méthode de préparation influence le comportement de la suspension et donc les courbes de DNPA obtenues. Les suspensions préparées par des cycles d'ultracentrifugation/redispersions ne montrent aucune augmentation de l'intensité à petites valeurs de  $Q$  pour une température de 40°C. Les suspensions préparées par cette méthode sont probablement constituées de micro-domaines concentrés en NCC, au sein desquels la répulsion électrostatique entre les NCC empêche l'agrégation. D'autre part, avec la méthode habituelle de redispersion d'une suspension lyophilisée, nous avons remarqué que le nombre apparent d'agrégats est plus élevé dans le cas d'une suspension à 6% (m/m) par rapport à celle à 1% (m/m).

Des suspensions de NCC oxydés au métaperiodate, à différentes durées de réaction, ont été également étudiées. Les ajustements des courbes obtenues par un facteur de forme de parallélépipède montrent la diminution de l'épaisseur en fonction de la durée d'oxydation. Cependant, le désaccord entre les valeurs expérimentales et simulées aux grands  $Q$  s'accroît pour les échantillons les plus oxydés, ce qui pourrait être attribué aux chaînes partiellement détachées de la surface des NCC oxydés métaperiodate.

# **Chapitre VI**

## **Auto-organisation des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés**

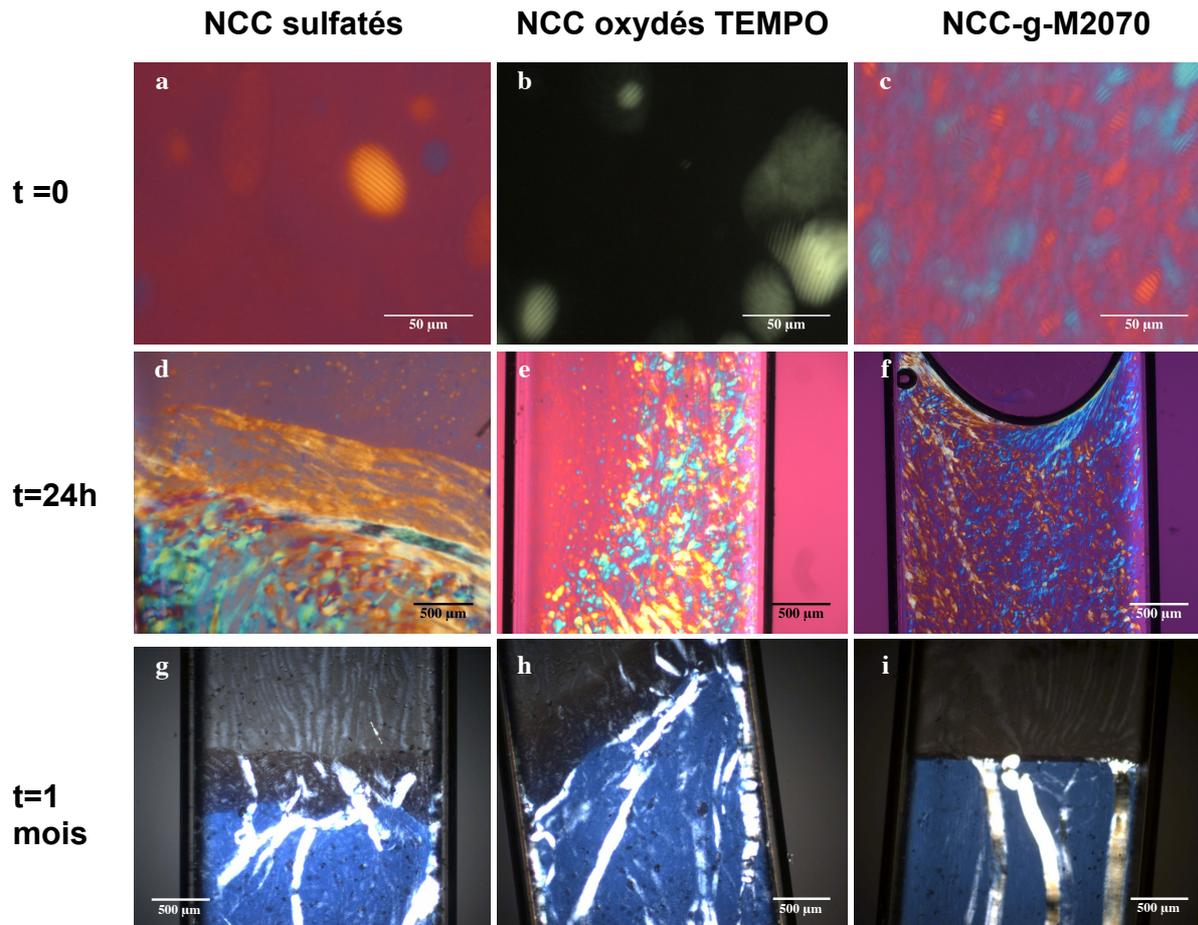


## VI. Auto-organisation des systèmes de nanocristaux de cellulose modifiés

Comme nous l'avons montré dans le premier chapitre (§ I.1.2.3), l'auto-organisation des NCC sulfatés en phase cholestérique a été largement décrite dans la littérature. En revanche, à notre connaissance, les propriétés d'organisation de suspensions de NCC oxydés TEMPO n'a pas été abordée et très peu de résultats sont disponibles sur la formation de phases cholestériques pour des suspensions de NCC-g-P. Dans ce chapitre, nous proposons donc de décrire dans une étude comparative le processus de séparation de phase pour des suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070. Nous précisons que les trois suspensions sont issues du même lot de synthèse des nanocristaux. Les NCC oxydés TEMPO ont un  $DO$  de 0,12 mol/mol et les NCC-g-M2070 ont été synthétisés par couplage peptidique dans l'eau avec un  $DS$  de 0,06. La description abordera trois axes principaux : la texture, les diagrammes de phase et leurs concentrations critiques et les pas de l'ordre cholestérique.

### VI.1 Séparation de phase et texture

Pour étudier la séparation de phase des suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070, des suspensions de concentration croissante ont été préparées et introduites dans des capillaires en verre (cf. § II.1.4). La microscopie optique à lumière polarisée (MOLP) a été utilisée pour visualiser la séparation et, le cas échéant, suivre son évolution en termes de texture observée et de mécanismes de séparation. Théoriquement, il existe deux mécanismes de séparation. Le premier est un processus de nucléation et croissance intervenant dans le cas des systèmes instables développant des fluctuations hétérogènes de concentration ou de densité et dans lesquels des germes sphériques appelés "tactoïdes" se forment, coalescent et sédimentent. Le second mécanisme est le processus de décomposition spinodale intervenant dans les systèmes instables développant des fluctuations homogènes de concentration ou de densité. Ce mécanisme entraîne l'apparition d'une structure complexe et interpénétrée.

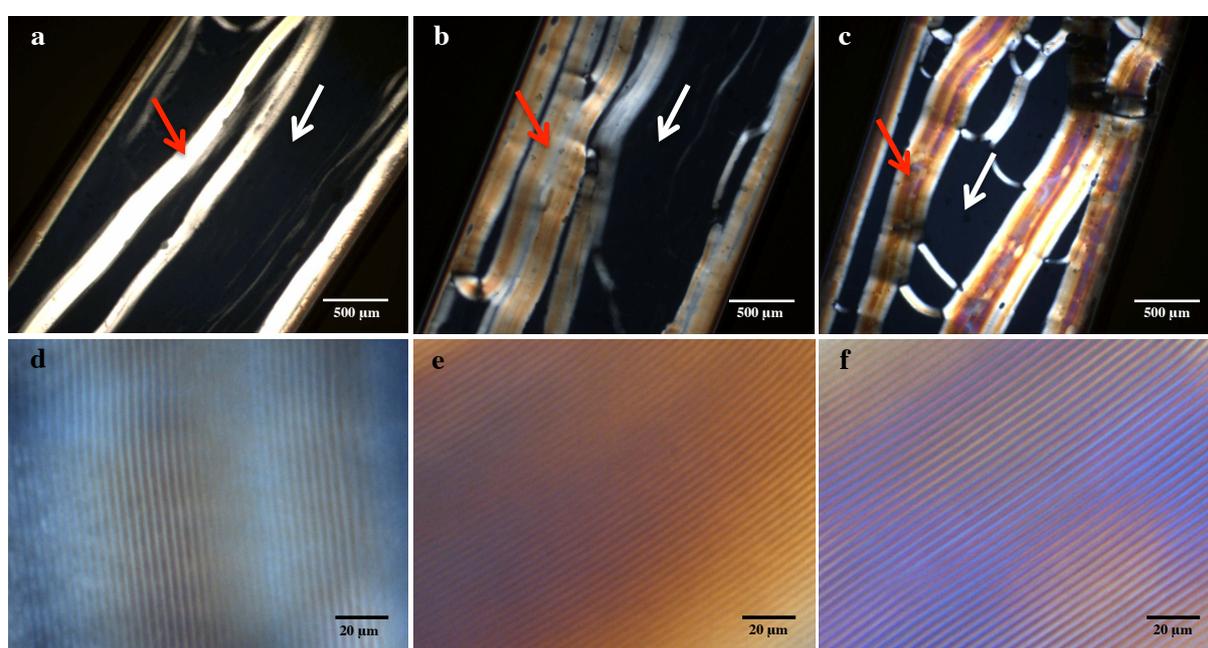


**Figure VI.1.** Observation par MOLP de l'évolution des suspensions de : NCC sulfatés 7% (m/m) (à  $t=0$  (a), 24 h (d) et 1 mois (g)), NCC oxydés TEMPO 8% (m/m) (à  $t=0$  (b), 24 h (e) et 1 mois (h)), NCC-g-M2070 8% (m/m) (à  $t=0$  (c), 24 h (f) et 1 mois (i)).

Nous avons remarqué que la suspension de NCC sulfatés présente une séparation de phase à partir d'une certaine concentration critique, résultat déjà observé par d'autres auteurs.<sup>66-68,202</sup> Les suspensions de NCC oxydés TEMPO et de NCC-g-M2070 présentent également une séparation de phase. Ni la densité de charge plus élevée dans le cas des NCC oxydés TEMPO (0,12 mol/mol), ni le greffage de chaînes de polymère sur la surface n'ont empêché les suspensions NCC modifiés de présenter une séparation de phase. Les concentrations critiques caractéristiques de chaque suspension seront discutées dans la partie VI.2.

L'évolution des trois suspensions a été suivie par MOLP au cours du temps. La séparation suit le même mécanisme pour les trois suspensions. Il s'agit d'une séparation par nucléation et croissance décrite auparavant. Dès la première heure après la préparation du capillaire, nous observons la formation de tactoïdes de petites tailles partout dans la

suspension. Pour bien les observer, un fort grossissement du microscope ( $\times 40$ ) a été utilisé (figures VI.1a-c). Au bout d'un certain temps (24 h), ces tactoïdes coalescent pour former des tactoïdes de plus grande taille qui finissent par sédimenter vers le bas du capillaire, comme le montrent les figures VI.1d-f. La séparation devient de plus en plus nette avec le temps et l'équilibre est atteint au bout de 4 à 8 semaines, selon la concentration. Plus cette dernière est élevée, plus la suspension est visqueuse et la séparation lente. A l'équilibre, nous observons macroscopiquement deux phases distinctes : une phase isotrope dans le haut du capillaire qui apparaît sombre, et une phase anisotrope dans le bas du capillaire qui apparaît biréfringente (figures VI.1g-i).

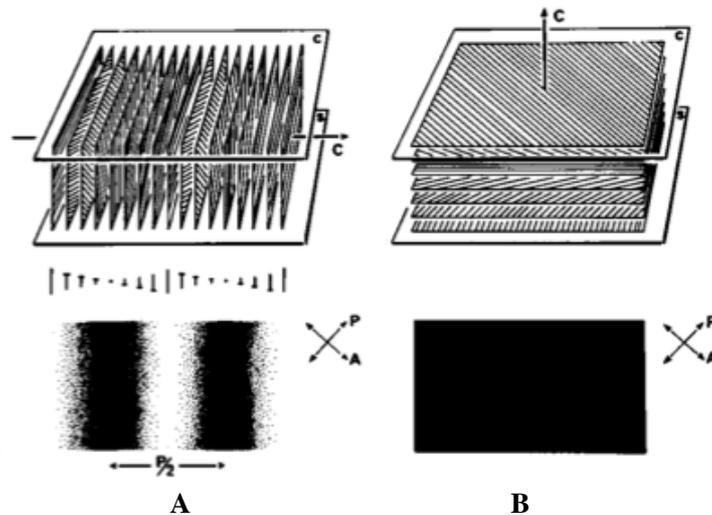


**Figure VI.2.** Observation par MOLP à  $t = 2$  mois de la phase anisotrope des suspensions : (a) NCC sulfatés, (b) NCC oxydés TEMPO et (c) NCC-g-M2070. Les photos d, e et f sont des agrandissements des zones indiquées par les flèches rouges où la texture est en *fingerprints*. Les flèches blanches indiquent les zones où la texture est planaire. La concentration est de 10% (m/m) pour les trois suspensions.

Au sein des phases anisotropes (les phases inférieures biréfringentes) des trois suspensions, deux zones d'aspects différents coexistent (figures VI.2a-c) : une zone noire et non colorée (désignée par les flèches blanches) et une zone claire et colorée (désignée par les flèches rouges). L'agrandissement des zones claires et colorées (figures VI.2d-f) montre une texture en "*fingerprints*" caractéristique d'une structure chirale nématique (cholestérique) (cf. § I.2.3.1). Nous concluons donc que, comme dans le cas des NCC sulfatés, les suspensions de

NCC oxydés TEMPO et de NCC-g-M2070 présentent une séparation de phase dont la phase anisotrope adopte une structure chirale nématique ou cholestérique.

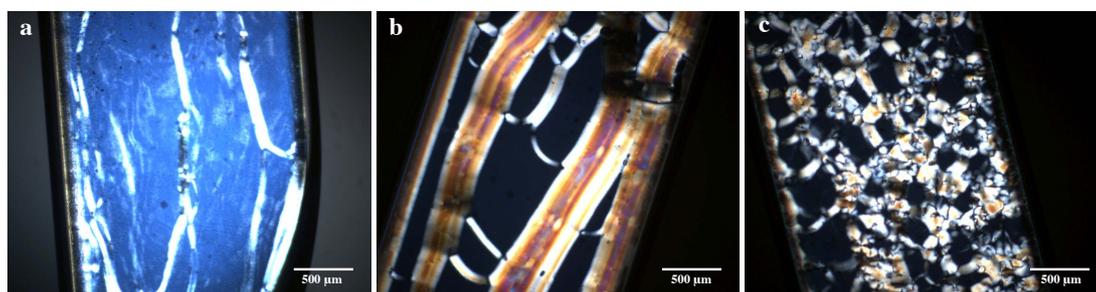
La présence dans les phases anisotropes de deux zones d'aspects différents a déjà été observée pour des NCC sulfatés issus de coton ou de tunicier.<sup>203</sup> Ce phénomène a initialement été décrit par Leforestier *et al.*<sup>204</sup> pour les systèmes de fragments d'ADN. Les auteurs ont trouvé que dans les deux zones (noire et colorée), la structure est chirale nématique et que la différence entre les deux textures est une question de direction de l'axe du cholestérique. En effet, l'interaction entre les particules et les surfaces (ici les surfaces planes des capillaires) induit des orientations préférentielles du directeur par rapport aux surfaces. Dans le cas d'un ancrage homéotrope, l'axe du cholestérique est parallèle au plan d'observation et par conséquent l'organisation cholestérique est visualisée comme une alternance régulière de bandes brillantes et sombres (figure VI.3A). En revanche, dans la texture planaire, l'axe du cholestérique est perpendiculaire au plan d'observation. Dans ce cas, les particules sont parallèles au plan d'observation et pointent dans toutes les directions, ce qui ne génère pas de contraste particulier comme dans le cas précédent (figure VI.3 B).



**Figure VI.3.** Différentes directions de l'axe cholestérique dans une structure chirale nématique par rapport au plan d'observation. (A) L'axe cholestérique est parallèle au plan d'observation donnant une texture en fingerprint quand l'observation est réalisée entre polariseurs croisés. (B) L'axe cholestérique est perpendiculaire au plan d'observation donnant une texture planaire sombre. (D'après Leforestier *et al.*, 1993)<sup>204</sup>

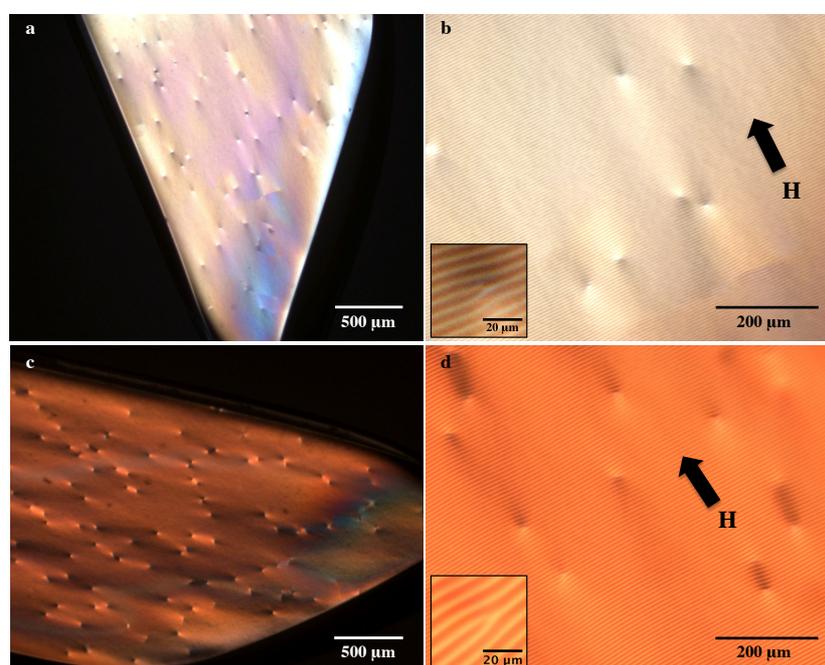
Nos observations révèlent, pour les trois systèmes, que le pourcentage de la texture en *fingerprints*, au sein de la phase anisotrope, augmente avec la concentration (figure VI.4).

Autrement dit, plus la viscosité de la suspension augmente, moins les NCC s'alignent parallèlement avec les parois du capillaire.



**Figure VI.4.** Observation par MOLP de la phase anisotrope de la suspension de NCC-g-M2070 à  $t = 2$  mois, à différentes concentrations : a) 8% (m/m), b) 10% (m/m), c) 12 % (m/m).

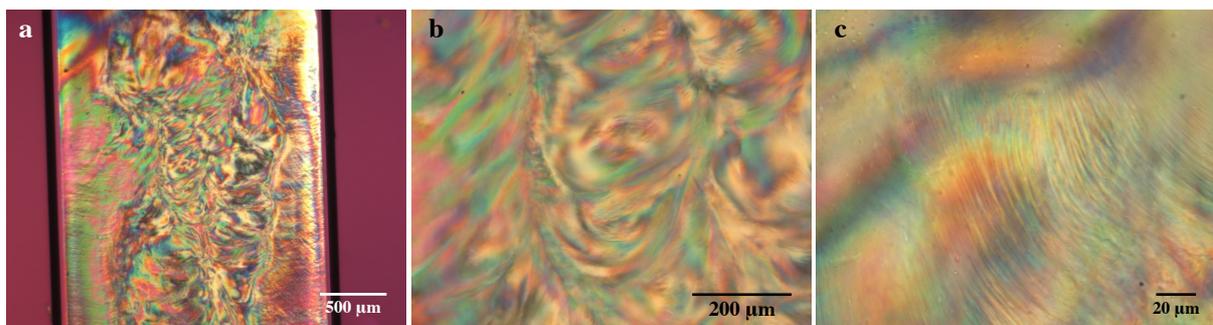
Elazzouzi<sup>203</sup> a expliqué que la polarité des NCC induit un alignement parallèle avec les parois étant elles-mêmes polaires, ce qui explique la présence de la texture planaire. En se basant sur cette explication, nous pouvons extrapoler à l'effet de la concentration en considérant que la viscosité limite la liberté d'alignement des NCC avec les parois, ce qui favorise la formation de texture en *fingerprints*.



**Figure VI.5.** Observation par MOLP après orientation sous un champ magnétique ( $H$ ) de 7 T de la suspension de NCC sulfatés à 6,1% (m/m) (a) et de son agrandissement (b) et de la suspension de NCC-g-M2070 à 8,7% (m/m) (c) et de son agrandissement (d).

Une texture totalement en *fingerprints* est rarement observée mais peut être induite par orientation sous champ magnétique.<sup>205,206</sup> En introduisant les capillaires contenant différentes

suspensions dans la sonde d'un spectromètre de RMN avec un champ magnétique de 7 T dont la direction est parallèle au grand axe du capillaire, nous remarquons que la phase anisotrope des suspensions, ayant initialement une texture partiellement en *fingerprints* et partiellement en texture planaire, adopte une texture uniforme en empreintes digitales (figure VI.5). La phase isotrope, quant à elle, ne change pas et reste toujours sombre et non biréfringente. Ayant une anisotropie diamagnétique négative, les NCC s'orientent perpendiculairement au champ magnétique H. Le fait d'imposer un champ magnétique à une phase cholestérique revient donc à aligner le directeur de cette phase avec le champ. Donc, si l'on applique un champ parallèle au plan d'observation, la phase anisotrope s'oriente de façon à produire une texture uniformément en *fingerprints*. Sur l'image de la figure VI.5, nous remarquons des points d'extinction. Ce sont les défauts de la structure cholestérique qui n'est pas parfaite à longue distance. Il s'agit le plus souvent de disclinaisons et de dislocations.<sup>204</sup>



**Figure VI.6.** Observation par MOLP d'une suspension de NCC-g-M2070 à 20% (m/m) à différentes échelles.

Un troisième type de texture a été rencontré pour les suspensions à haute concentration, supérieure à la concentration critique finale,  $C_a$ . La figure VI.6 montre un exemple de cette texture pour une suspension de NCC-g-M2070 à 20% (m/m) à différentes échelles. Une structure similaire a été observée pour des suspensions de NCC sulfatés et NCC oxydés TEMPO à haute concentration. La suspension était biréfringente sans aucune présence de *fingerprints*. La viscosité importante semble jouer un rôle clé dans l'obtention de cette structure. Il s'agit d'une situation hors d'équilibre pour laquelle la structure est cinétiquement piégée dans un état de gel. Elazzouzi-Hafraoui *et al.* ont observé cette texture pour des suspensions de NCC de coton à des concentrations élevées dans l'eau et également dans le cas de suspensions concentrées de bâtonnets plus longs, préparés par une hydrolyse acide à 45°C, dans l'eau et dans le cyclohexane.<sup>116,203</sup> Les auteurs suggèrent que dans le cas de NCC fortement chargés ou de facteur de forme élevé, les interactions entre particules sont trop

importantes pour être surmontées par le mouvement brownien. Ce type de structure figée sous forme de gel non-organisé a également été observé pour des nano-bâtonnets de Boehmite<sup>98</sup> ainsi que pour des suspensions de NCC préparés par hydrolyse avec HCl et postsulfatés,<sup>71</sup> sans que dans ce dernier cas, l'origine du phénomène ne soit clairement élucidée.

## VI.2 Diagrammes de phase

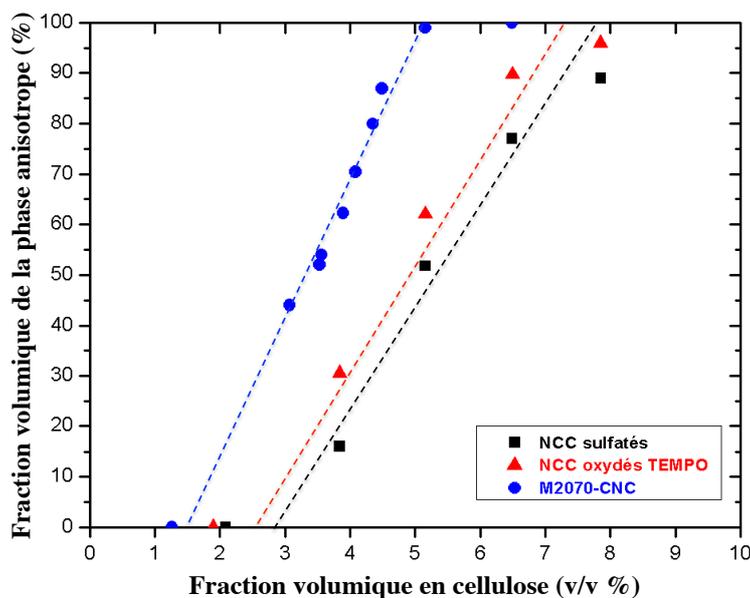
Des suspensions de NCC sulfatés, NCC oxydés TEMPO et NCC-g-M2070 à différentes concentrations ont été préparées et introduites dans des capillaires en verre. Après avoir étudié qualitativement dans le paragraphe précédent (V.1) la séparation de phase au cours du temps, son mécanisme et les différentes textures obtenues, nous nous intéressons dans cette partie à une étude quantitative de la séparation en établissant les diagrammes de phase de chaque suspension. Deux mois environ après l'introduction d'une suspension donnée dans un capillaire, la séparation en deux phases distinctes, isotrope et anisotrope, est complète. L'observation par microscopie optique à lumière polarisée permet alors la mesure de la hauteur de la phase anisotrope par rapport à la hauteur totale de la suspension. La fraction volumique de phase anisotrope peut ainsi être calculée. C'est cette fraction qui sera suivie en fonction de la concentration pour établir les diagrammes de phase.

### VI.2.1 Effet de la modification

Dans un premier temps, nous comparerons les diagrammes de phase des suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070 pour élucider l'influence de chaque étape de modification sur l'auto-organisation. Pour ces trois types de nanoparticules, nous présenterons les résultats en fonction de la fraction volumique en cellulose (en bâtonnets) et non de la fraction volumique (ou de la concentration) totale, ceci pour plusieurs raisons. Dans le cas des NCC sulfatés ou oxydés TEMPO, ces deux quantités sont égales mais pour les suspensions de NCC-g-M2070, le calcul de la fraction volumique occupée par les chaînes de polymère, qui intervient dans la fraction volumique totale, est difficile à déterminer avec précision. En revanche, la fraction volumique en NCC dans les suspensions de NCC-g-P est facilement calculable à partir de la concentration massique totale et de  $DS$ . De plus, utiliser la fraction volumique en bâtonnets revient à comparer les systèmes à nombre

d'objets constant, ce qui permet de mettre en évidence les différentes interactions entre les objets qui se sont avérées être les moteurs de la séparation de phase.

Les diagrammes de phase des trois suspensions sont donc présentés dans la figure VI.7 en fonction de la fraction volumique en cellulose. Pour les trois suspensions, nous remarquons que les diagrammes de phase suivent qualitativement la théorie d'Onsager<sup>75</sup> (discutée dans le 1<sup>er</sup> chapitre). Nous observons donc trois domaines distincts : le premier correspond aux fractions volumiques inférieures à la fraction volumique critique initiale,  $\phi_i$ , pour lesquelles la suspension est totalement isotrope. Le troisième domaine correspond aux fractions volumiques supérieures à la fraction volumique critique finale,  $\phi_a$ , pour lesquelles la suspension est totalement anisotrope. Entre les deux, nous trouvons un domaine de coexistence des deux phases, isotrope et anisotrope cholestérique, où la fraction volumique de la phase anisotrope augmente avec la fraction volumique en cellulose.



**Figure VI.7.** Diagramme de phase pour les suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés Jeffamine M2070.

Les fractions volumiques critiques  $\phi_i$  et  $\phi_a$  extrapolées à partir des points expérimentaux pour chaque système sont regroupées dans le tableau VI.1.

Pour la suspension de NCC sulfatés, les fractions volumiques critiques initiale et finale sont de 2,75 et 7,5% (v/v) respectivement. Comparons ces valeurs à celles issues de la théorie d'Onsager.<sup>75</sup> D'après cette théorie, le début et la fin de la séparation de phase pour une suspension de bâtonnets de forme cylindriques ayant une longueur  $L$  et un diamètre  $D$ , sont prédits par les relations :

$$n_i = 13,36 / \pi L^2 D \quad (\text{équation VI.1})$$

$$n_a = 17,96 / \pi L^2 D \quad (\text{équation VI.2})$$

où  $n_i$  et  $n_a$  sont les densités en nombre de bâtonnets critiques (en  $\text{nm}^{-3}$ ) correspondant à  $\phi_i$  et  $\phi_a$ . La longueur des NCC est de 126 nm et leur section a comme largeur 26 nm et comme épaisseur 5,5 nm. Cela correspond à un diamètre équivalent de 13,5 nm calculé avec la relation  $l.e = \pi.r^2$ . Les densités critiques en nombre de bâtonnets prédites par Onsager transformées en fractions volumiques critiques (par multiplication par le volume d'un objet) sont respectivement de 35,8 et 48,1% (v/v) pour  $\phi_i$  et  $\phi_a$ . Ces valeurs sont bien loin des valeurs expérimentales pour les NCC sulfatés (2,75 et 7,5%). La première explication envisageable de cette différence pourrait venir du fait que la théorie d'Onsager suppose que les bâtonnets ont une longueur beaucoup plus importante que leur diamètre ( $L \gg D$ ), ce qui n'est pas le cas des NCC de coton. Les travaux de Lee<sup>108</sup> constituent une extension de la théorie d'Onsager contenant des calculs numériques des concentrations critiques de la transition isotrope-anisotrope qui tiennent compte du facteur de forme des objets ( $L/D$ ). D'après leurs calculs, pour des bâtonnets de facteur de forme  $L/D$  égal à 10 (très proche de celui de nos NCC), les fractions volumiques critiques,  $\phi_i$  et  $\phi_a$ , sont respectivement de 26,98 et 29,29% (v/v). Les concentrations critiques calculées par ce modèle restent également loin des concentrations expérimentales (Tableau VI.1). La différence vient de la nature des interactions entre les objets. En effet, la théorie d'Onsager se base uniquement sur les interactions de cœurs durs, alors que des interactions électrostatiques entre les NCC sulfatés chargés négativement interviennent. Ces dernières induisent un diamètre effectif des NCC,  $D_{eff}$ , plus grand que leur diamètre géométrique,  $D$ . Selon les équations VI.1 et VI.2, une augmentation du diamètre se traduit par une diminution des concentrations critiques, ce que nous observons expérimentalement.

L'effet des interactions électrostatiques sur le diagramme de phase a été observé précédemment en comparant le cas des NCC décorés de tensioactifs dispersés dans un solvant organique apolaire à celui des NCC nus sulfatés dans l'eau.<sup>116,203</sup> Les concentrations critiques augmentent significativement ( $\phi_i$  passe de 3,2 à 13 % (v/v)) en passant de l'eau, où l'expression des interactions électrostatiques est forte, au cyclohexane, solvant pour lequel les interactions électrostatiques sont négligeables.

**Tableau VI.1** Fractions volumiques critiques expérimentales des suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et décorés de Jeffamine M2070 et fractions volumiques critiques théoriques calculées à partir des modèles de Onsager et Lee à partir des dimensions des NCC nus.

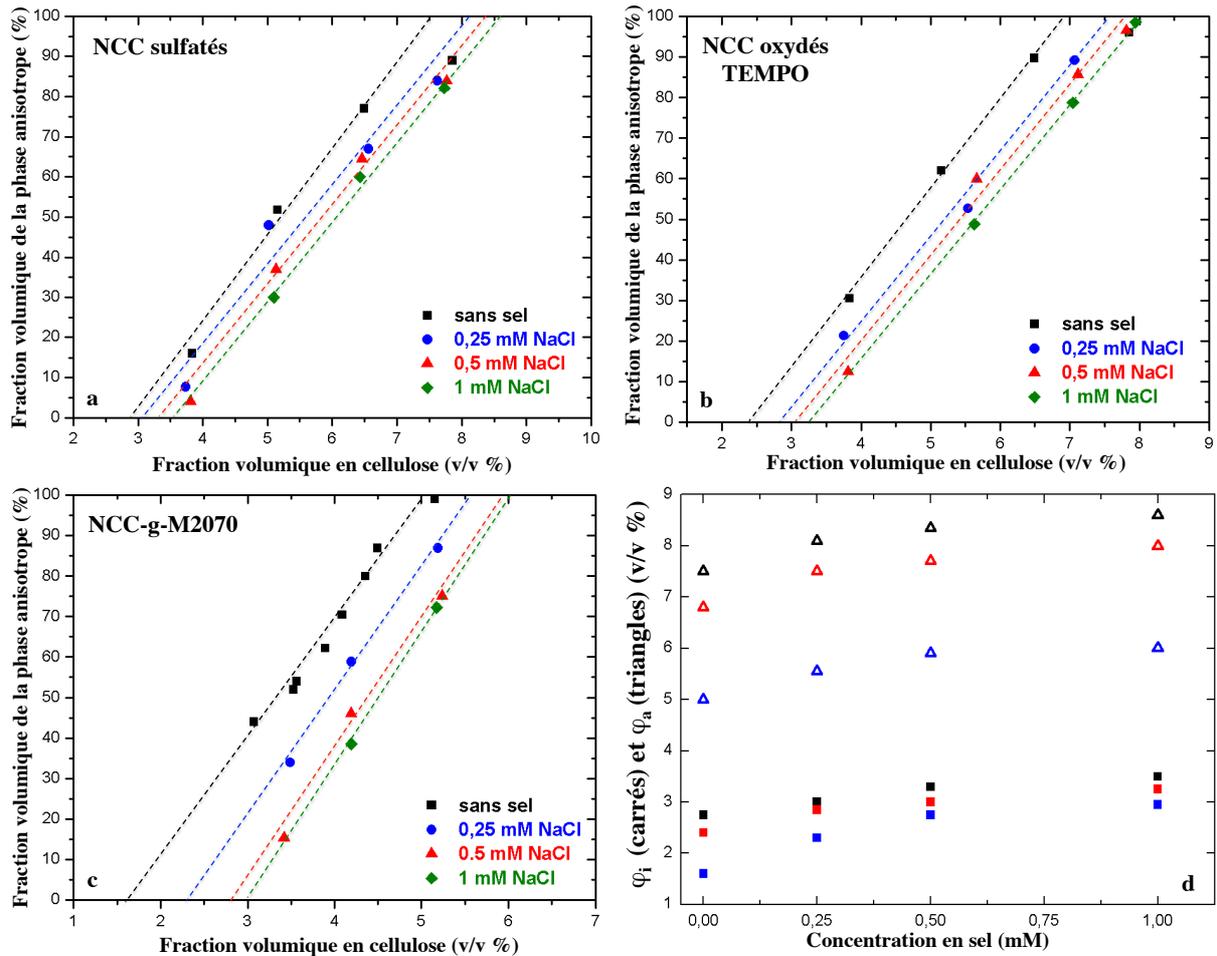
	$\phi_i$ (v/v %)	$\phi_a$ (v/v %)
<b>NCC sulfatés</b>	2,75	7,5
<b>NCC oxydés TEMPO</b>	2,4	6,8
<b>NCC-g-M2070</b>	1,6	5,0
<b>Prédiction d'Onsager<sup>75</sup></b>	35,78	48,1
<b>Prédiction de Lee<sup>108</sup></b>	26,98	29,29

Comparons maintenant les diagrammes de phase des suspensions de NCC sulfatés et de NCC oxydés TEMPO (Figure VI.7). Nous constatons un décalage du diagramme de phase des NCC oxydés TEMPO vers la gauche par rapport aux NCC sulfatés, soit une diminution des fractions volumiques critiques (Tableau VI.1). Les NCC oxydés TEMPO, étant plus chargés (0,12 mol/mol d'AGU pour les NCC oxydés TEMPO contre 0,04 mol/mol pour les NCC sulfatés), ils possèdent un diamètre effectif plus grand qui induisent des valeurs plus faibles de  $\phi_i$  et  $\phi_a$ .

Quant aux suspensions de NCC-g-M2070, nous remarquons que les fractions volumiques critiques, respectivement égales à 2,1 et 8%, sont nettement inférieures à celles obtenues pour les NCC sulfatés et oxydés TEMPO. Ce résultat traduit des interactions plus fortes dans le cas des NCC décorés de polymère que dans le cas des NCC sulfatés ou oxydés TEMPO. Nous pouvons faire l'hypothèse qu'il s'agit d'une addition des interactions électrostatiques qui subsistent grâce aux groupements COO<sup>-</sup> résiduels à la surface des NCC et des interactions stériques induites par les chaînes de polymère.

## VI.2.2 Effet de la force ionique

Dans les trois cas, les diagrammes de phase des suspensions dépendent des interactions électrostatiques entre les nanoparticules. Nous nous sommes donc intéressés à l'effet du sel sur ces diagrammes, en ajoutant 0,25, 0,5 ou 1 mM NaCl aux différentes suspensions.



**Figure VI.8.** Variation du diagramme de phase en fonction de la concentration en sel pour les suspensions : (a) NCC sulfatés, (b) NCC oxydés TEMPO et (c) et NCC-g-M2070. (d) Variation des fractions volumique critiques en fonction de la concentration en sel : noir pour la suspension de NCC sulfatés, rouge pour la suspension de NCC oxydés TEMPO et bleu pour la suspension de NCC-g-M2070.

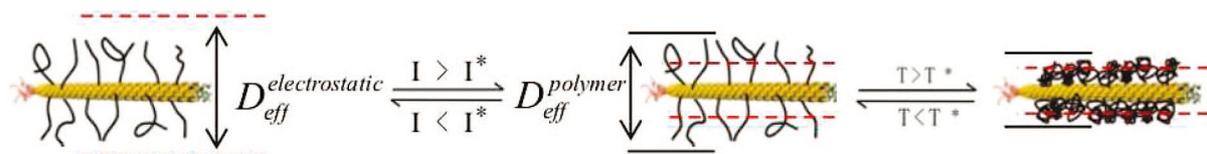
Les figures VI.8a-c montrent l'évolution du diagramme de phase des trois suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070, en fonction de la concentration en sel. Pour les suspensions de NCC sulfatés et oxydés TEMPO, nous remarquons un déplacement du diagramme à droite dans le sens d'une augmentation des concentrations critiques. Dans le cas des NCC sulfatés, en allant de 0 à 1 mM de NaCl,  $\phi_1$  augmente de 2,75 à 3,5 % (v/v) et  $\phi_a$  augmente de 7,5 à 8,6 % (v/v). Dans le cas des NCC oxydés TEMPO et pour les mêmes concentrations en NaCl,  $\phi_1$  augmente de 2,4 à 3,25 % (v/v) et  $\phi_a$  augmente de 6,8 à 8 % (v/v). Nous pouvons également dire que pour une fraction volumique en cellulose donnée, la fraction volumique de la phase anisotrope diminue quand la force ionique augmente. Cette variation pourrait être expliquée par l'intermédiaire des

interactions électrostatiques entre les NCC chargés négativement. En ajoutant du sel, nous écranons une partie des charges, ce qui induit une diminution des interactions et du diamètre effectif et, par conséquent, une augmentation des concentrations critiques. Ceci rejoint l'effet de la modification sur les diagrammes de phase qui a été également attribué à une variation des interactions entre les nanoparticules.

L'effet du sel sur les concentrations critiques a été étudié par Dong *et al.*<sup>68</sup> et par Araki et Kuga<sup>76</sup> respectivement sur des suspensions de NCC sulfatés issus de papier-filtre Whatman et de nanocristaux de cellulose bactérienne. L'augmentation des concentrations critiques a été expliquée par une diminution des interactions électrostatiques causant une diminution des diamètres effectifs des nanoparticules.

La même augmentation des fractions volumiques critiques apparaît en ajoutant du sel à la suspension de NCC-g-M2070.  $\phi_i$  augmente de 1,6 à 3 % (v/v) en allant de 0 à 1 mM de NaCl, et  $\phi_a$  augmente de 5 à 6 % (v/v). Ce résultat illustre une nouvelle fois la contribution électrostatique assurée par les charges COO<sup>-</sup> résiduelles, qui est affaiblie par l'ajout de sel.

Nous avons reporté sur la figure VI.8.d l'évolution de  $\phi_i$  et  $\phi_a$  en fonction de la concentration en sel pour les trois types de nanoparticules. Quelle que soit la concentration en sel dans la gamme étudiée, les fractions volumiques critiques de la suspension de NCC-g-M2070 restent bien inférieures à celles mesurées pour les suspensions de NCC oxydés TEMPO, qui sont elles-mêmes légèrement inférieures à celles des NCC sulfatés, quelle que soit la concentration en sel ajouté. Ceci pourrait être interprété, comme dans le cas des suspensions sans ajout de sel, par l'existence des interactions stériques entre les NCC.



**Figure VI.9.** Représentation schématique de la variation des diamètres effectifs dans le système virus fd-g-PNIPAM, en fonction de la concentration en sel et de la température, avec  $I^* = 20 \text{ mM}$  et  $T^* = 32^\circ\text{C}$ , d'après Zhang *et al.*, 2009.<sup>207</sup>

Zhang *et al.*<sup>207</sup> ont greffé des chaînes de PNIPAM sur des nanoparticules de virus fd formant des phases chirales nématiques. En augmentant la concentration en sel dans ces suspensions, les concentrations critiques augmentent pour finalement se stabiliser à partir d'une certaine concentration en sel  $I^*$ , où le système devient stabilisé stériquement et le

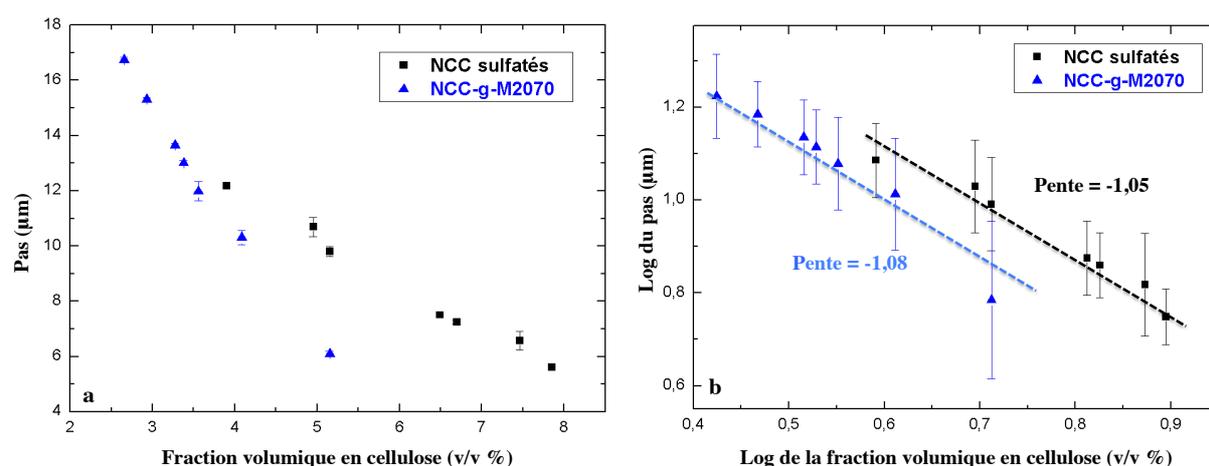
diamètre effectif des nanoparticules ne change pas (figure VI.9). L'effet de la température sur ce système sera discuté dans la partie VI.3.4. Dans notre cas, la concentration de NaCl maximale que nous avons utilisée (1 mM) ne permettrait pas d'écranter toutes les charges résiduelles des NCC-g-M2070. Par conséquent, nous ne pouvons pas parler de concentrations critiques d'un système avec des interactions purement stériques.

## VI.3 Pas de la phase cholestérique

La deuxième caractéristique d'un ordre cholestérique est son pas  $P$  (cf. § I.2.3.1, figure I.8). Il correspond à la distance nécessaire à une rotation de  $360^\circ$  des nanoparticules dans la structure hélicoïdale. Concrètement, la mesure des pas se fait à partir de micrographies de microscopie optique en lumière polarisée des suspensions. Le demi-pas,  $P/2$ , de l'ordre cholestérique correspond à la distance entre deux bandes lumineuses ou sombres dans une texture en *fingerprints*. La mesure est améliorée en mesurant la distance entre quelques dizaines de bandes. Comme nous l'avons déjà précédemment décrit, la texture en *fingerprints* n'est ni obligatoirement homogène ni présente partout dans la phase cholestérique. Pour cela, avant d'effectuer les mesures des pas de nos différentes suspensions, nous avons orienté les phases anisotropes grâce à un champ magnétique de 7 T, dans le but d'avoir une phase anisotrope homogène, totalement en *fingerprints*. Nous avons vérifié que cette orientation n'affecte pas les valeurs des pas en mesurant les pas avant et après orientation. En effet, les mesures sont similaires avec un écart-type de  $\pm 3\%$ . Par conséquent, l'orientation a été appliquée systématiquement et les pas ont été mesurés par une moyenne d'une dizaine de mesures dans différentes régions de l'échantillon.

### VI.3.1 Effet de la modification

Dans un premier temps, nous avons comparé les valeurs des pas du cholestérique en fonction de la fraction volumique en cellulose de suspensions de NCC sulfatés et de NCC-g-M2070 (figure VI.10a). Pour les deux suspensions, nous trouvons une diminution du pas avec l'augmentation de la concentration. Cette diminution a déjà été observée pour des NCC issus de papier-filtre Whatman<sup>68</sup> et pour d'autres systèmes de bâtonnets chiraux comme les virus fd.<sup>120</sup> Il s'agit d'une compression des plans du cholestérique quand la concentration augmente.<sup>68,81</sup>



**Figure VI.10.** (a) Variation du pas dans la phase chiral nématique des suspensions de NCC sulfatés et NCC-g-M2070 en fonction de la fraction volumique en cellulose. (b) Tracé Log-Log.

Dans la littérature, il existe plusieurs théories pour essayer de prédire la variation du pas cholestérique avec la concentration. Straley,<sup>208</sup> grâce à une hypothèse d'interactions purement géométriques et un calcul basé sur la densité d'énergie libre et la constante de torsion de Frank, a suggéré une relation qui pourrait s'écrire sous la forme :  $P \propto C^{-\nu}$  où  $P$  est la valeur du pas,  $C$  la concentration en bâtonnets et  $\nu$  un exposant éventuellement dépendant de la flexibilité des objets. Pour des bâtonnets chiraux rigides, Straley a trouvé un coefficient  $\nu = 1$ . Avec un calcul similaire, Odjik a prédit une valeur de  $\nu$  égale à  $5/3$  pour des objets semi-flexibles.<sup>209</sup> En revanche, Pelcovits a suggéré que la flexibilité des objets n'affecterait pas la valeur de  $\nu$  qui est toujours égale à 2.<sup>210</sup> Dans le cas de nos deux suspensions, en représentant  $\log(P)$  en fonction de  $\log(C)$ , nous obtenons deux droites dont les coefficients directeurs sont égaux aux valeurs de  $\nu$  correspondantes (figure VI.10b). Dans le cas des suspensions de NCC sulfatés et de NCC-g-M2070, la valeur de  $\nu$  est très proche de 1. Ces résultats sont en accord avec la prédiction de Straley pour des bâtonnets chiraux rigides. Le greffage de polymère n'a pas affecté la rigidité et la chiralité des objets vis à vis de cette théorie. Elazzouzi *et al.*<sup>203</sup> a obtenu une valeur de  $\nu$  d'environ 1 sur des suspensions de NCC de coton. Dogic et Fraden<sup>120</sup> ont calculé ce coefficient pour des suspensions de virus fd et ils ont trouvé que  $\nu$  diminue de 1,65 à 1,09 en abaissant la concentration en sel dans la suspension de 68 à 4 mM. Senechal *et al.*<sup>211</sup> ont trouvé  $\nu = 0,5$  pour des chaînes d'ARN où la flexibilité intervient. En revanche, pour des nanocristaux de chitine qui sont des objets très similaires aux NCC de coton, le coefficient  $\nu$  a une valeur de 0,3.<sup>107</sup>

En comparant les valeurs des pas des deux suspensions, nous trouvons que, pour une même fraction volumique (5,2 %), le pas  $P$  d'une suspension de NCC-g-M2070 (6,1  $\mu\text{m}$ ) est plus petit que celui d'une suspension de NCC sulfatés (10  $\mu\text{m}$ ), donc le coefficient de chiralité  $I/P$  est plus important dans le cas des NCC-g-M2070 que pour les NCC sulfatés. Une explication possible à cette variation pourrait provenir de la différence d'interactions chirales entre les deux suspensions. En effet, dans les deux cas, les bâtonnets chiraux sont chargés et par conséquent une double couche électrique les enveloppe. Dans le cas des NCC-g-M2070, les chaînes greffées sur les NCC permettent de mieux exprimer la chiralité, ce qui se traduit par des pas cholestériques plus faibles. Ce résultat est en accord avec celui d'Araki *et al.*<sup>78</sup> qui ont greffé des chaînes de PEG de masse molaire 1000 g/mol sur les NCC. Même s'ils n'ont pas étudié l'auto-organisation du système NCC-g-PEG, ils ont trouvé, à fraction volumique en cellulose constante, une diminution de 7 à 4  $\mu\text{m}$  du pas du cholestérique des suspensions de NCC greffés par rapport à celles non greffés.

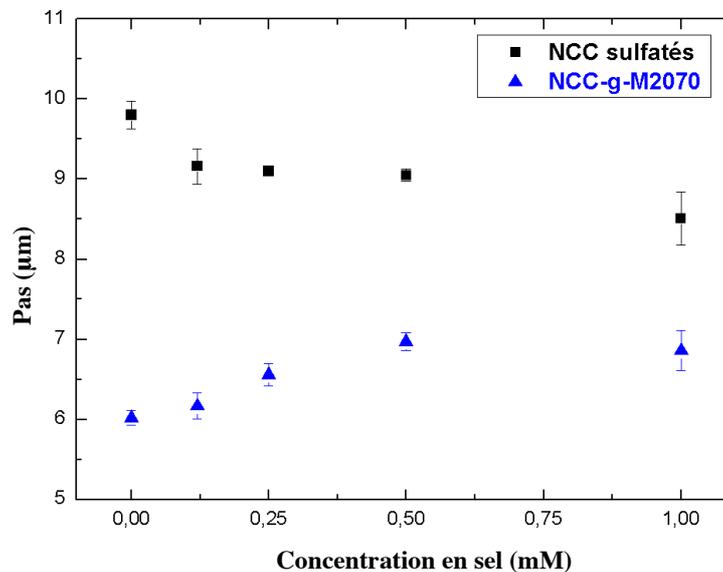
### VI.3.2 Effet de la force ionique

Pour essayer de mieux comprendre le comportement des deux systèmes de NCC sulfatés et de NCC-g-M2070, nous avons testé l'effet de l'addition de sel sur le pas.

La figure VI.11 montre la variation du pas en fonction de la concentration en sel ajouté pour deux suspensions de NCC sulfatés et NCC-g-M2070 ayant la même fraction volumique en cellulose (5,2 %). Pour la suspension de NCC non modifiés, une diminution du pas apparaît avec l'augmentation de la force ionique. Ce phénomène a déjà été observé sur des suspensions similaires<sup>68,111</sup> et également sur des chaînes d'ADN.<sup>212</sup> L'origine de cette diminution du pas s'explique par la diminution de l'épaisseur de la double couche créée par les charges de surface. Ceci rend la forme apparente des objets plus torsadée et, par conséquent, induit une augmentation des interactions chirales traduite par une diminution du pas.

Dans le cas des NCC-g-M2070, contrairement aux NCC sulfatés, nous observons une faible augmentation du pas après l'ajout du sel. Cette augmentation est non intuitive si nous considérons que l'augmentation de la force ionique devrait diminuer la contribution électrostatique et par conséquent diminuer le pas, ce qui n'est pas le cas. On pourrait penser à un effet du sel sur les chaînes de polymère greffé (*salting out*) qui peut intervenir, mais les

concentrations en sel ajouté sont sans doute trop faibles pour causer un tel effet. L'origine exacte de cette observation reste donc inconnue.



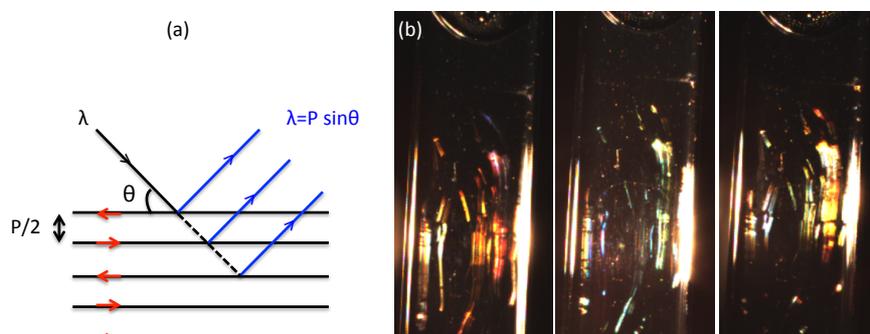
**Figure VI.11.** Variation du pas dans la phase chiral nématique des suspensions de NCC sulfatés et NCC-g-M2070 ayant la même fraction volumique de 5,2 % (v/v), en fonction de la concentration en sel.

Comme dans le cas de l'effet du sel sur les diagrammes de phase (§ VI.2.2), la concentration maximale en sel utilisée (1 mM) ne permet pas d'écranter toutes les charges résiduelles des NCC-g-M2070. Un tel écrantage serait crucial pour comprendre l'effet des chaînes greffées uniquement, sans intervention d'effet de charge. Il serait également intéressant de suivre l'auto-organisation des NCC-g-M2070 dans un solvant organique et de comparer les effets de la différence de constante diélectrique sur l'auto-organisation en général, et sur les interactions chirales en particulier.

### VI.3.3 Iridescence de l'échantillon NCC-g-M2070

On qualifie d'iridescent un objet qui change de couleur selon l'angle sous lequel on le regarde ou selon l'angle sous lequel il est éclairé. Cette propriété se manifeste avec des matériaux nanostructurés et se rencontre dans la nature par exemple dans les carapaces de certains arthropodes formées d'une phase choléstérique de chitine. Pour une périodicité  $d$  de la structure et une longueur d'onde incidente  $\lambda$ , la lumière réfléchie aura une longueur d'onde  $\lambda=2d.\sin\theta$  avec  $\theta$  l'angle d'éclairage. Dans le cas d'une structure chirale nématique, la

périodicité est égale au demi-pas cholestérique ( $P/2$ ) et, par conséquent, la lumière réfléchie aura une longueur d'onde  $\lambda = P \cdot \sin\theta$  (figure VI.12a). Si la valeur de  $P$  est du même ordre de grandeur que la longueur d'onde de la lumière visible, l'échantillon apparaît alors iridescent.



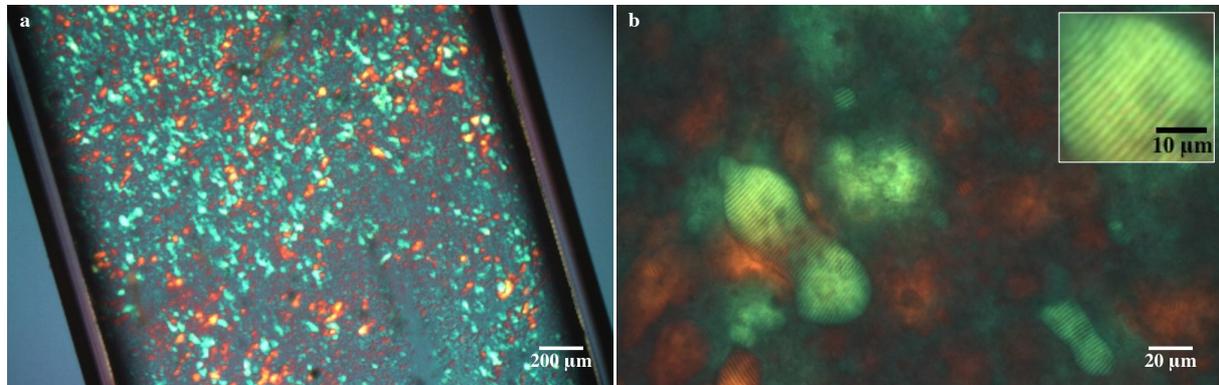
**Figure VI.12.** (a) Schéma de la réflexion de la lumière par une structure chirale nématique. (b) Observation à l'œil nu d'une suspension de NCC-g-M2070 à 12% (m/m) iridescente changeant de couleur avec l'angle d'éclairage.

Dans ce contexte, nous avons remarqué que la suspension de NCC-g-M2070 à 12% (m/m), ayant un pas cholestérique de  $6 \mu\text{m}$ , montre un phénomène d'iridescence pour certains faibles angles d'éclairage (figure VI.12 b). Les zones que nous voyons changer de couleur avec l'angle sont en fait les zones de la phase anisotrope où la texture est en *fingerprints*. Les zones restantes qui apparaissent sombres sont celles où la texture de la phase est planaire. Le fait que nous observions les couleurs seulement pour des faibles angles d'éclairage est expliqué par la formule  $\lambda = P \cdot \sin\theta$ . Comme  $P$  est d'environ  $6 \mu\text{m}$  pour cet échantillon, les valeurs de  $\lambda$  dans le domaine du visible ( $0,4\text{-}0,8 \mu\text{m}$ ) correspondent à de faibles valeurs de  $\theta$  comprises en  $4$  et  $8^\circ$ .

### VI.3.4 Test préliminaire de la variation du pas avec la température

Après l'étude comparative que nous avons menée sur l'auto-organisation des suspensions de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070, nous avons voulu tester en particulier l'effet de la température sur le pas cholestérique des suspensions greffés de polymère thermosensible. Ceci est difficile à voir pour les suspensions de NCC-g-M2070 puisque la LCST du polymère correspondant ( $\approx 80^\circ\text{C}$ ) n'est pas facilement accessible expérimentalement. Notre choix s'est donc porté sur les échantillons de Jeffamine M2005 pour lesquelles la LCST est d'environ  $16^\circ\text{C}$ . Une suspension de NCC-g-M2005 à 12%

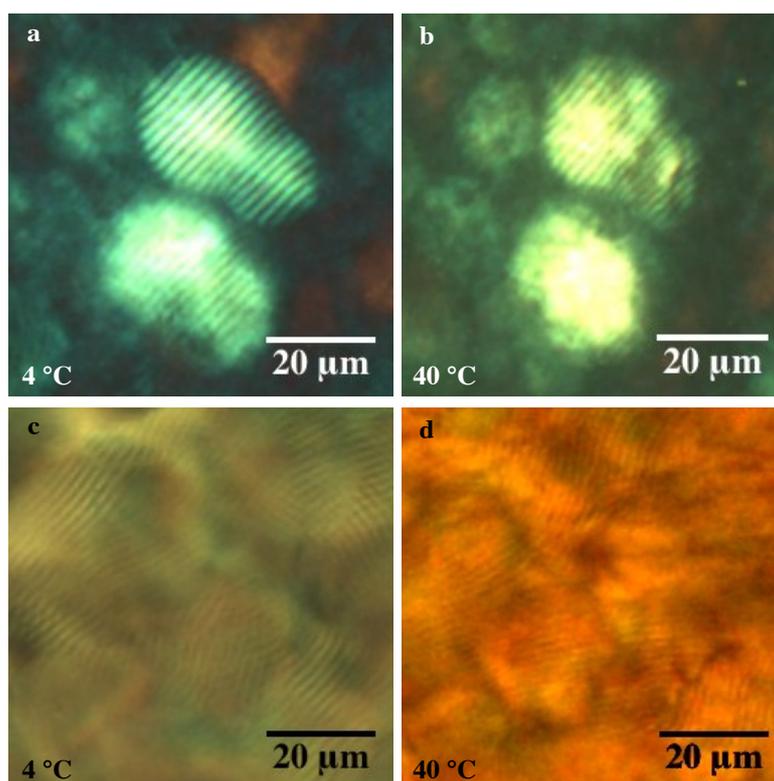
(m/m) a donc été introduite dans un capillaire en verre et placée à 4°C pendant quelques mois pour que la séparation de phase soit complète. Cette basse température, nettement inférieure à la LCST du polymère est nécessaire pour éviter l'agrégation des NCC-g-M2005 dans la suspension.



**Figure VI.13.** Observation par MOLP d'une suspension de NCC-g-M2005 à 8% (m/m) à 8°C et à différentes échelles.

Après observation par MOLP, nous avons constaté que même après quatre mois, la suspension n'est pas totalement séparée. Des tactoïdes biréfringents de différentes tailles sont observés partout dans la suspension (figure VI.13 a) avec des textures en fingerprints, signature d'un ordre chiral nématique. L'absence de séparation de phase macroscopique peut être attribuée à la température de stockage de la suspension (4°C) qui ralentit la séparation de phase pour une question cinétique.

Grâce à une platine à température contrôlée, nous avons observé les échantillons par MOLP en faisant varier la température de l'échantillon entre 8 et 40 °C. L'équipement nécessaire à cette expérience a été mis à notre disposition par Frédéric Pignon du Laboratoire Rhéologie et Procédés à Grenoble. Les observations montrent que des tactoïdes avec une texture en *fingerprints* sont conservés à 40°C. Cependant, le pas du cholestérique n'a pas varié quand la température est passée de 8 à 40°C (figure VI.14). Zhang *et al.*<sup>207</sup> ont greffé des chaînes de PNIPAM sur des nanoparticules de virus fd formant des phases chirales nématiques (figure VI.9). Après avoir ajouté du sel, l'augmentation de la température n'a pas entraîné une diminution des pas cholestériques mais plutôt leur hétérogénéisation, reflétant une perturbation de l'ordre chiral nématique. Le paramètre d'ordre orientationnel du système passe de 0,71 à 0,56 en passant de 20 à 40 °C, respectivement.



**Figure VI.14.** Observation en MOLP d'une suspension de NCC-g-M2005 à 8% (m/m) dans deux zones différentes à 8 °C (a et c) et à 40 °C (b et d).

Dans notre cas, cet unique essai ne nous permet pas de tirer des conclusions définitives. Toutefois, ce comportement pourrait être attribué aux répulsions électrostatiques résiduelles entre les NCC qui contrarient les interactions attractives hydrophobes attendues entre les chaînes de polymère pour les températures supérieures à la LCST. Ajouter une certaine quantité de sel à la suspension pour écranter les répulsions électrostatiques serait une expérience intéressante pour voir l'effet d'interactions purement stériques sur l'auto-organisation des NCC-g-P.

## VI.4 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons mené une étude comparative de l'auto-organisation des systèmes de NCC sulfatés, oxydés TEMPO et greffés de Jeffamine M2070. Dans cette étude les suspensions ont été observées par microscopie optique en lumière polarisée. Comme dans le cas des NCC sulfatés, les suspensions de NCC oxydés TEMPO et NCC-g-M2070 présentent une séparation de phase pour une concentration supérieure à une certaine concentration critique. Ni l'introduction de charges négatives supplémentaires, ni le greffage

de chaînes de polymère à la surface n'ont affecté cette propriété. Le mécanisme et l'évolution de la séparation semblent être similaires pour les trois suspensions, avec un mécanisme de nucléation et de croissance où des tactoïdes se forment dès les premières heures et qui coalescent pour finir par tomber au fond du capillaire et former une séparation nette entre les phases anisotrope et isotrope. Dans la phase anisotrope des trois suspensions, deux textures coexistent. La première, constituée d'une série de bandes lumineuses et sombres, caractéristique d'un ordre chiral nématique (cholestérique) est appelée texture en "*fingerprints*". La seconde, qui apparaît sombre, est appelée texture planaire. La différence provient de la direction de l'axe cholestérique s'il est parallèle (*fingerprint*) ou perpendiculaire (planaire) au plan d'observation. L'orientation des suspensions sous un champ magnétique de 7 T impose aux axes cholestériques une direction parallèle au plan d'observation et par conséquent la texture de la phase anisotrope devient totalement en *fingerprints*.

Les diagrammes de phase de chaque suspension, présentant la fraction volumique de la phase anisotrope en fonction de la fraction volumique en bâtonnets, ont été comparés. Les diagrammes de phase des trois suspensions suivent qualitativement la théorie d'Onsager. Les concentrations critiques semblent dépendre des interactions entre les nanoparticules. Elles diminuent en allant des NCC sulfatés aux NCC oxydés TEMPO et aux NCC-g-M2070. Par rapport aux NCC sulfatés, les NCC oxydés TEMPO présentent plus d'interactions grâce à la densité de charge supérieure. Les NCC-g-M2070, quant à eux, présentent des interactions stériques induites par les chaînes de polymère greffées et des interactions électrostatiques dues aux charges résiduelles. En ajoutant du sel, les concentrations critiques augmentent pour les trois suspensions, tout en gardant le même ordre initial.

Les pas cholestériques des suspensions de NCC sulfatés et de NCC-g-M2070 ont été ensuite comparés. Pour la même concentration, le pas dans la suspension de NCC-g-M2070 est plus faible. La chiralité semble mieux s'exprimer dans le cas des nanoparticules greffées. L'ajout du sel cause une diminution des pas dans le cas des suspensions de NCC non modifiés, ce qui peut s'expliquer par une diminution de la double couche électrique entourant la nanoparticule, ce qui augmente sa chiralité. Dans le cas des NCC-g-M2070, nous observons une augmentation du pas en fonction de la concentration en sel, dont l'origine reste non élucidée. Une suspension de NCC-g-M2070 de concentration 12% (m/m) montre un phénomène d'iridescence. Le faible pas de la suspension ainsi que les faibles angles d'éclairage sont à l'origine de cette propriété. Finalement, un test préliminaire de la variation

du pas avec la température a été réalisé avec une suspension de NCC-g-M2005. Aucun changement des pas n'a été détecté, probablement dû aux répulsions électrostatiques résiduelles entre les NCC qui contrarient les interactions attractives hydrophobes attendues.



# **Conclusions et perspectives**



## Conclusions

Au cours de ce travail, nous nous sommes attachés à modifier chimiquement les nanocristaux de cellulose par greffage de chaînes de polymère thermosensible, appartenant à la famille de polyétheramines Jeffamine<sup>®</sup>, sur la surface des NCC. Cette modification avait pour but, d'une part, de changer la physicochimie de la surface en passant de répulsions électrostatiques à des répulsions stériques et, d'autre part, d'ajouter la température comme levier de contrôle des interactions entre ces nanoparticules. Pour ce faire, nous avons suivi deux stratégies de modification.

La première méthode de greffage de polymère sur la surface des NCC consiste à oxyder sélectivement en acides carboxyliques les hydroxyles primaires de la surface de la cellulose par l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à l'aide du radical TEMPO. Cette oxydation a permis d'enchaîner une réaction de couplage peptidique impliquant les acides nouvellement générés et les fonctions amines terminales du polymère à greffer (Jeffamine). Après avoir démontré la covalence du greffage par spectroscopies infrarouge et RMN, une étude d'optimisation du degré de substitution a été menée en variant certains paramètres comme le solvant, le nombre d'équivalents en réactifs et le polymère greffé. Des *DS* entre 0,03 et 0,06 mol/mol de glucose ont été obtenus. Ces relativement faibles valeurs ont fait que les chaînes greffées, formant une couronne autour de des NCC, adoptent une conformation en pelote statistique, comme l'ont montré les mesures de diffusion de neutrons aux petits angles, avec une épaisseur de la couche égale au rayon de giration de la chaîne correspondante. Les nouveaux systèmes de NCC-g-P présentent de nouvelles propriétés comme l'insensibilité à la force ionique, la capacité à se redisperser dans des solvants organiques apolaires, la tensioactivité ainsi qu'une meilleure stabilité thermique.

Les polymères greffés étant thermosensibles, les nouveaux systèmes présentent une thermoaggrégation réversible. Les répulsions électrostatiques résiduelles jouent un rôle dans la limitation de la taille des agrégats formés. Comme dans le cas des NCC non modifiés, les suspensions de NCC-g-P présentent une auto-organisation en phases chirales nématiques (cholestériques) à partir d'une certaine concentration critique  $C_i$ . Grâce aux interactions fortes entre ces bâtonnets, résultant d'une addition d'interactions électrostatiques et stériques, les valeurs de  $C_i$  sont inférieures à celles des suspensions de NCC non modifiés. Des pas cholestériques plus bas ont été également mesurés pour les suspensions de NCC-g-P.

Cependant la variation de la température n'a aucun effet sur les pas, ce qui a confirmé le rôle des charges résiduelles.

Une deuxième méthode de greffage des Jeffamines sur les NCC a été étudiée. Elle consiste en une première étape d'oxydation par l'ion métaperiodate, générant des groupements dialdéhydes sur les carbones C2 et C3 de la cellulose, suivie d'une réaction d'amination réductrice visant à attacher les chaînes de Jeffamine sur les NCC via une liaison amine secondaire. Les spectroscopies infrarouge et RMN du solide ont montré la réussite de l'oxydation dont le degré d'oxydation a été contrôlé par la durée de la réaction. Cependant, ces mêmes techniques ont mis en évidence une disparition des groupements aldéhydes après amination réductrice, sans détecter aucune trace des polymères. Une hypothèse a été émise pour expliquer cette observation et qui consiste en un détachement partiel des chaînes de cellulose suite à l'oxydation, qui est suivie d'un détachement complet des copolymères cellulose-Jeffamine, après greffage du polymère par amination réductrice. Cette hypothèse a été confrontée à d'autres résultats expérimentaux. Une analyse par RMN liquide du surnageant de la suspension après la réaction d'amination réductrice a montré la présence de chaînes de cellulose et de Jeffamine. Les images de MET, associées aux résultats de DNPA, ont montré une tendance à la diminution de la largeur des NCC après des oxydations prolongées. Les mesures de diamètre hydrodynamique ( $D_H$ ) par DLS ont révélé une augmentation après oxydation attribuée aux chaînes détachées partiellement. Une diminution de  $D_H$  a été notée après la réaction d'amination réductrice avec les polymères qui est probablement due à une diminution du coefficient de diffusion des nanoparticules suite à un détachement complet des chaînes greffées. Les analyses thermogravimétriques ont montré des stabilités thermiques différentes des NCC après l'oxydation ou après l'amination réductrice.

### **Perspectives**

L'ensemble de nos résultats ont montré qu'il était possible de modifier, par couplage peptidique, les NCC en greffant des chaînes d'un polymère thermosensible sur la surface. La caractérisation complète de ces systèmes a révélé de nouvelles propriétés, colloïdales, optiques et thermiques très intéressantes. L'efficacité de cette modification ouvre la porte à l'utilisation d'autres types de molécules ou de polymère mono- ou bifonctionnels. L'amination réductrice précédée par une oxydation à l'ion métaperiodate s'est avérée inefficace pour le greffage de polymère. Néanmoins, nous obtenons des copolymères cellulose-Jeffamine ayant éventuellement des particularités intéressantes à étudier.

Au vu de ces résultats, une série de perspectives peut être envisagée.

Tout d'abord, nous avons vu que le greffage des chaînes de polymère a ajouté une contribution stérique aux interactions entre les nanoparticules, en plus de la contribution électrostatique. Il serait intéressant d'étudier les propriétés du système pour des interactions purement stériques, soit par l'ajout de la quantité de sel nécessaire à un écrantage complet des charges résiduelles de surface, soit par une désulfatation suivie d'une neutralisation des groupements carboxylates par abaissement du pH. En particulier, les propriétés d'auto-organisation d'un tel système, stabilisé stériquement dans l'eau, pourraient être comparées à celles de son équivalent dans d'autres solvants. La comparaison contribuerait à une meilleure compréhension de l'origine des interactions chirales entre ces bâtonnets. En même temps, un système purement stérique de NCC-g-M2005 permettrait de détecter une éventuelle variation du pas cholestérique en fonction de la température. L'ajout de sel a été utilisé pour montrer l'effet des interactions électrostatiques sur la taille des agrégats après une thermo-agrégation. Cet aspect n'a pas été suffisamment exploré. Il serait important de suivre l'évolution de cette taille pour différentes valeurs de forces ioniques et envisager un contrôle de la taille des agrégats via le couple température-force ionique. La DNPA et la MET s'avèrent être des techniques adaptées et complémentaires pour clarifier cet aspect. En évoquant cette thermo-agrégation, il paraît évident de coupler ces observations à des études rhéologiques. En effet, la multitude des situations qu'on peut avoir, notamment en régime dilué ou concentré, en présence ou en absence de polymère, à basse ou haute température, rendrait une telle étude « riche » et intéressante. En plus des nouvelles propriétés que cette étude pourrait dévoiler, d'un point de vue applicatif, il serait envisageable d'utiliser les phénomènes rhéologiques dans la conception d'un assemblage dirigé par écoulement sous cisaillement à partir des NCC greffés de polymères thermosensibles. Un tel assemblage pourrait mener à des structures cristal-liquides macroscopiques pour élaborer des matériaux avec des propriétés particulières comme une porosité ou une sélectivité des longueurs d'onde contrôlée.

Même si la réaction d'oxydation au métaperiodate s'est montrée efficace, nous ne connaissons pas la manière dont elle progresse sur les nanocristaux. En d'autres termes, nous ne savons pas s'il s'agit d'abord d'une oxydation en surface qui progresse ensuite vers le cœur cristallin une fois la surface entièrement oxydée ou si l'oxydation commence en des points précis des nanocristaux et progresse directement dans le cœur. Une méthode pour comprendre la topochemie de la réaction serait d'utiliser des nanocristaux deutérés. Le suivi par spectroscopie infrarouge de la variation des signaux OD du cœur (différents des OH de la

surface) en fonction du degré d'oxydation permettrait de suivre la progression de cette réaction. Si le greffage des chaînes de Jeffamine mono-aminées a entraîné un détachement total des chaînes de cellulose détachées partiellement après oxydation, greffer des Jeffamines diamminées pourrait être envisagé pour éviter ce détachement total en limitant la mobilité des chaînes greffées et en créant un réseau de NCC. Une éventuelle oxydation des aldéhydes en acides carboxyliques couplée à une oxydation TEMPO pourrait être intéressante dans le but de produire des NCC superchargés et étudier leurs propriétés. Pour revenir aux objets obtenus après oxydation au métaperiodate suivie d'une amination réductrice, il serait important d'évaluer leurs degrés de cristallinité et la taille des cristallites par des analyses quantitatives de RMN du solide et de diffraction des rayons X.

D'une façon plus générale, utiliser des NCC issus d'une source autre que le coton constituerait un enrichissement de l'étude, en particulier à cause de la complexité relative de forme des NCC de coton et de leur polydispersité. D'autres sources, comme la tunicine ou les microfibrilles de *Valonia* ou de *Glaucozystis*, permettraient de préparer des NCC « modèles », plus larges et plus uniformes (mais toujours polydisperses en longueur), ce qui permettrait peut-être de détecter plus facilement l'effet de modifications chimiques à partir d'observations par MET.

# **Références bibliographiques**



- (1) Angles, M. N.; Dufresne, A. *Macromolecules* **2001**, *34*, 2921.
- (2) Ruiz, M. M.; Cavaille, J.-Y.; Dufresne, A.; Gerard, J.-F.; Graillat, C. *Compos. Interfaces* **2000**, *7*, 117.
- (3) Habibi, Y.; Lucia, L. A.; Rojas, O. J. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3479.
- (4) Revol, J.-F.; Godbout, J. D. L.; Gray, D. G.; Pulp and Paper Research Institute of Canada, 1995, p 33 pp.
- (5) Revol, J.-F.; Godbout, L.; Gray, D. G. *J. Pulp Pap. Sci.* **1998**, *24*, 146.
- (6) Shopsowitz, K. E.; Qi, H.; Hamad, W. Y.; MacLachlan, M. J. *Nature (London, U. K.)* **2010**, *468*, 422.
- (7) Roman, M.; Winter, W. T. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1671.
- (8) Zhu, M.-Q.; Wang, L.-Q.; Exarhos, G. J.; Li, A. D. Q. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 2656.
- (9) Etika, K. C.; Jochum, F. D.; Theato, P.; Grunlan, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 13598.
- (10) Eichhorn, S. J.; Dufresne, A.; Aranguren, M.; Marcovich, N. E.; Capadona, J. R.; Rowan, S. J.; Weder, C.; Thielemans, W.; Roman, M.; Renneckar, S.; Gindl, W.; Veigel, S.; Keckes, J.; Yano, H.; Abe, K.; Nogi, M.; Nakagaito, A. N.; Mangalam, A.; Simonsen, J.; Benight, A. S.; Bismarck, A.; Berglund, L. A.; Peijs, T. *Journal of Materials Science* **2010**, *45*, 1.
- (11) Peng, B. L.; Dhar, N.; Liu, H. L.; Tam, K. C. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* **2011**, *89*, 1191.
- (12) Hon, D. N. S. *Cellulose* **1994**, *1*, 1.
- (13) Klemm, D.; Philip, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. *Comprehensive Cellulose Chemistry, Volume 1: General Principles & Analytical Methods*; Wiley, 1998.
- (14) Shibasaki, H.; Kuga, S.; Onabe, F.; Brown Jr, R. M. *Polymer* **1995**, *36*, 4971.
- (15) Brown, R. M., Jr. *Journal of Macromolar Science, Pure and Applied Chemistry* **1996**, *A33*, 1345.
- (16) Haigler, C. H.; *Biosynthesis and biodegradation of cellulose* 1991, p 99.
- (17) Williamson, R. E.; Burn, J. E.; Hocart, C. H. *Trends in Plant Science* **2002**, *7*, 461.
- (18) Payen, A. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* **1838**.
- (19) Willstatter, R. *Zur kenntnis der hydrolyse von cellulose* **1913**.
- (20) Staudinger, H. *Berichte Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1920**.
- (21) Irvine, J. C. a. Hirst, E.L. *Journal of the Chemical Society* **1923**.
- (22) Freudenberg, K. a. Braun, E. *Methylcellulose 5* **1928**.
- (23) Howorth, W. N., Hirst, E.L. and Thomas, H.A. *Nature* **1930**, *126*. (24) Chu, S. S. C.; Jeffrey, G. A. *Acta Crystallographica, Section B* **1968**, *24*, 830.
- (25) Conner, A.H. *Handbook of Size exclusion Chromatography* **1995**.
- (26) Meyer, K. H.; Misch, L. *Helvetica Chimica Acta* **1937**, *20*, 232.
- (27) Watanabe, G. H. M. *Nature* **1958**, *181*.
- (28) Gardner, K. H.; Blackwell, J. *Biopolymers* **1974**, *13*, 1975.
- (29) Atalla, R. H.; VanderHart, D. L. *Science (New York, N.Y.)* **1984**, *223*, 283.
- (30) VanderHart, D. L.; Atalla, R. H. *Macromolecules* **1984**, *17*, 1465.
- (31) Sugiyama, J.; Vuong, R.; Chanzy, H. *Macromolecules* **1991**, *24*, 4168.
- (32) Viëtor, R. J.; Mazeau, K.; Lakin, M.; Pérez, S. *Biopolymers* **2000**, *54*, 342.
- (33) Belton, P. S.; Tanner, S. F.; Cartier, N.; Chanzy, H. *Macromolecules* **1989**, *22*, 1615.

- (34) Sugiyama, J.; Okano, T.; Yamamoto, H.; Horii, F. *Macromolecules* **1990**, *23*, 3196.
- (35) Yamamoto, H.; Horii, F. *Macromolecules* **1993**, *26*, 1313.
- (36) Debzi, E. M.; Chanzy, H.; Sugiyama, J.; Tekely, P.; Excoffier, G. *Macromolecules* **1991**, *24*, 6816.
- (37) Nishiyama, Y.; Sugiyama, J.; Chanzy, H.; Langan, P. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 14300.
- (38) Nishiyama, Y.; Langan, P.; Chanzy, H. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 9074.
- (39) Chanzy, H.; Imada, K.; Mollard, A.; Vuong, R.; Barnoud, F. *Protoplasma* **1979**, *100*, 303.
- (40) Helbert, W.; Sugiyama, J.; Ishihara, M.; Yamanaka, S. *Journal of Biotechnology* **1997**, *57*, 29.
- (41) Isogai, A.; Hanser: 1994, p 1.
- (42) Kroon-Batenburg, L. M. J.; Bouma, B.; Kroon, J. *Macromolecules* **1996**, *29*, 5695.
- (43) French, A. D.; Miller, D. P.; Aabloo, A. *International Journal of Biological Macromolecules* **1993**, *15*, 30.
- (44) Rowland, S. P.; Roberts, E. J. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* **1972**, *10*, 2447.
- (45) Mühlethaler, K. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia* **1969**, *28*, 305.
- (46) Earl, W. L.; VanderHart, D. L. *Macromolecules* **1981**, *14*, 570.
- (47) Fink, H.-P.; Philipp, B.; Paul, D.; Serimaa, R.; Paakkari, T. *Polymer* **1987**, *28*, 1265.
- (48) Ishikawa, A.; Okano, T.; Sugiyama, J. *Polymer* **1997**, *38*, 463.
- (49) Heux, L.; Dinand, E.; Vignon, M. R. *Carbohydr. Polym.* **1999**, *40*, 115.
- (50) Newman, R. H. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **1999**, *15*, 21.
- (51) Chanzy, H.; Horwood: 1990, p 3.
- (52) Young, R. A.; Rowell, R. M.; Editors *Cellulose: Structure, Modification, and Hydrolysis*; John Wiley & Sons, 1986.
- (53) Nickerson, R. F.; Habrle, J. A. *Industrial & Engineering Chemistry* **1945**, *37*, 1115.
- (54) Rånby, B. G. *Acta Chem. Scand. (1947-1973)* **1949**, *3*, 649.
- (55) Rånby, B. G. *Discussions of the Faraday Society* **1951**, *11*, 158.
- (56) Rånby, B. G.; Ribi, E. *Experientia* **1950**, *6*, 12.
- (57) Mukherjee, S. M.; Woods, H. J. *Biochimica et Biophysica Acta* **1953**, *10*, 499.
- (58) Battista, O. A. *J. Ind. Eng. Chem. (Washington, D. C.)* **1950**, *42*, 502.
- (59) Battista, O. A.; Coppick, S.; Howsmon, J. A.; Morehead, F. F.; Sisson, W. A. *Journal of Industrial Engineering Chemistry* **1956**, *48*, 333.
- (60) Marchessault, R. H.; Morehead, F. F.; Walter, N. M. *Nature* **1959**, *184*, 632.
- (61) Revol, J.-F.; Bradford, H.; Giasson, J.; Marchessault, R. H.; Gray, D. G. *International Journal of Biological Macromolecules* **1992**, *14*, 170.
- (62) Favier, V.; Chanzy, H.; Cavaille, J.-Y. *Macromolecules* **1995**, *28*, 6365.
- (63) Bondeson, D.; Mathew, A.; Oksman, K. *Cellulose* **2006**, *13*, 171.
- (64) Fan, J.-s.; Li, Y.-h. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *88*, 1184.
- (65) Hamad, W. Y.; Hu, T. Q. *Canadian Journal of Chemical Engineering.* **2010**, *88*, 392.
- (66) Beck-Candanedo, S.; Roman, M.; Gray, D. G. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1048.

- (67) Dong, X. M.; Revol, J.-F.; Gray, D. G. *Cellulose* **1998**, *5*, 19.
- (68) Dong, X. M.; Kimura, T.; Revol, J.-F.; Gray, D. G. *Langmuir* **1996**, *12*, 2076.
- (69) Elazzouzi-Hafraoui, S.; Nishiyama, Y.; Putaux, J.-L.; Heux, L.; Dubreuil, F.; Rochas, C. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 57.
- (70) Araki, J.; Wada, M.; Kuga, S.; Okano, T. *Journal of Wood Science* **1999**, *45*, 258.
- (71) Araki, J.; Wada, M.; Kuga, S.; Okano, T. *Langmuir* **2000**, *16*, 2413.
- (72) Sadeghifar, H.; Filpponen, I.; Clarke, S. P.; Brougham, D. F.; Argyropoulos, D. S. *Journal of Materials Science* **2011**, *46*, 7344.
- (73) Okano, T.; Kuga, S.; Wada, M.; Araki, J.; Ikuina, J.; *Japanese Patent JP11343301A*, Nisshin Oil Mills Ltd., Japan . 1999.
- (74) Dufresne, A. *Canadian Journal of Chemistry* **2008**, *86*, 484.
- (75) Onsager, L. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1949**, *51*, 627.
- (76) Araki, J.; Kuga, S. *Langmuir* **2001**, *17*, 4493.
- (77) Grunert, M.; Winter, W. T. *Journal of Polymers and the Environment* **2002**, *10*, 27.
- (78) Araki, J.; Wada, M.; Kuga, S. *Langmuir* **2001**, *17*, 21.
- (79) Heux, L.; Chauve, G.; Bonini, C. *Langmuir* **2000**, *16*, 8210.
- (80) De Souza Lima, M. M.; Wong, J. T.; Paillet, M.; Borsali, R.; Pecora, R. *Langmuir* **2002**, *19*, 24.
- (81) Miller, A. F.; Donald, A. M. *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 510.
- (82) Roohani, M.; Habibi, Y.; Belgacem, N. M.; Ebrahim, G.; Karimi, A. N.; Dufresne, A. *European Polymer Journal* **2008**, *44*, 2489.
- (83) Li, Q.; Zhou, J.; Zhang, L. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2009**, *47*, 1069.
- (84) Pranger, L.; Tannenbaum, R. *Macromolecules* **2008**, *41*, 8682.
- (85) Capadona, J. R.; Shanmuganathan, K.; Trittschuh, S.; Seidel, S.; Rowan, S. J.; Weder, C. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 712.
- (86) Habibi, Y.; Goffin, A.-L.; Schiltz, N.; Duquesne, E.; Dubois, P.; Dufresne, A. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, *18*, 5002.
- (87) Junior de Menezes, A.; Siqueira, G.; Curvelo, A. A. S.; Dufresne, A. *Polymer* **2009**, *50*, 4552.
- (88) Garcia, d. R. N. L.; Thielemans, W.; Dufresne, A. *Cellulose* **2006**, *13*, 261.
- (89) Siqueira, G.; Bras, J.; Dufresne, A. *Langmuir* **2009**, *26*, 402.
- (90) Terech, P.; Chazeau, L.; Cavaille, J. Y. *Macromolecules* **1999**, *32*, 1872.
- (91) de Souza Lima, M. M.; Borsali, R. *Macromolecular Rapid Communications* **2004**, *25*, 771.
- (92) Kimura, F.; Kimura, T.; Tamura, M.; Hirai, A.; Ikuno, M.; Horii, F. *Langmuir* **2005**, *21*, 2034.
- (93) Revol, J.-F. *Carbohydrate Polymers* **1982**, *2*, 123.
- (94) Araki, J.; Wada, M.; Kuga, S.; Okano, T. *Colloids Surfaces, A* **1998**, *142*, 75.
- (95) Brown, R. M. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2004**, *42*, 487.
- (96) Brito, B. S. L.; Pereira, F. V.; Putaux, J.-L.; Jean, B. *Cellulose* **2012**, *19*, 1527.
- (97) Viet, D.; Beck-Candanedo, S.; Gray, D. G. *Cellulose* **2007**, *14*, 109.
- (98) Buining, P. A.; Philipse, A. P.; Lekkerkerker, H. N. W. *Langmuir* **1994**, *10*, 2106.
- (99) Davidson, P.; Gabriel, J.-C. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2005**, *9*, 377.
- (100) Davidson, P.; Garreau, A.; Livage, J. *Liquid Crystals* **1994**, *16*, 905.

- (101) Folda, T.; Hoffmann, H.; Chanzy, H.; Smith, P. *Nature* **1988**, *333*, 55.
- (102) Bawden, F. C.; Pirie, N. W.; Bernal, J. D.; Fankuchen, I. *Nature* **1935**, *138*, 1051.
- (103) Dogic, Z.; Fraden, S. *Physical Review Letters* **1997**, *78*, 2417.
- (104) Grelet, E.; Fraden, S. *Physical Review Letters* **2003**, *90*, 198302.
- (105) Strzelecka, T. E.; Davidson, M. W.; Rill, R. L. *Nature* **1988**, *331*, 457.
- (106) Giraud-Guille, M. M.; Mosser, G.; Belamie, E. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2008**, *13*, 303.
- (107) Belamie, E.; Davidson, P.; Giraud-Guille, M. M. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 14991.
- (108) Lee, S. D. *Journal of Chemical Physics* **1987**, *87*, 4972.
- (109) Vroege, G. J.; Thies-Weesie, D. M. E.; Petukhov, A. V.; Lemaire, B. J.; Davidson, P. *Advanced Materials* **2006**, *18*, 2565.
- (110) Stroobants, A.; Lekkerkerker, H. N. W.; Odijk, T. *Macromolecules* **1986**, *19*, 2232.
- (111) Hirai, A.; Inui, O.; Horii, F.; Tsuji, M. *Langmuir* **2008**, *25*, 497.
- (112) Chu, P.; Marinsky, J. A. *The Journal of Physical Chemistry* **1967**, *71*, 4352.
- (113) Pashley, R. M. *Journal of Colloid and Interface Science* **1981**, *80*, 153.
- (114) Anderson, C. F.; Record, M. T., Jr. *Annual Reviews of Biophysics and Biophysical Chemistry* **1990**, *19*, 423.
- (115) Dong, X. M.; Gray, D. G. *Langmuir* **1997**, *13*, 2404.
- (116) Elazzouzi-Hafraoui, S.; Putaux, J.-L.; Heux, L. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113*, 11069.
- (117) Zhou, Q.; Brumer, H.; Teeri, T. T. *Macromolecules* **2009**, *42*, 5430.
- (118) Revol, J.-F.; Giasson, J.; Guo, J. X.; Hanley, S. J.; Harkness, B.; Marchessault, R. H.; Gray, D. G.; Horwood: 1993, p 115.
- (119) Orts, W. J.; Godbout, L.; Marchessault, R. H.; Revol, J.-F. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5717.
- (120) Dogic, Z.; Fraden, S. *Langmuir* **2000**, *16*, 7820.
- (121) Bonini, C.; Heux, L.; Cavaille, J.-Y.; Lindner, P.; Dewhurst, C.; Terech, P. *Langmuir* **2002**, *18*, 3311.
- (122) Bondeson, D.; Oksman, K. *Composite Interfaces* **2007**, *14*, 617.
- (123) Kim, J.; Montero, G.; Habibi, Y.; Hinestroza, J. P.; Genzer, J.; Argyropoulos, D. S.; Rojas, O. J. *Polymer Engineering & Science* **2009**, *49*, 2054.
- (124) Rojas, O. J.; Montero, G. A.; Habibi, Y. *Journal of Applied Polymer Science* **2009**, *113*, 927.
- (125) Filpponen, I.; Kontturi, E.; Nummelin, S.; Rosilo, H.; Kolehmainen, E.; Ikkala, O.; Laine, J. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 736.
- (126) Sato, T.; Ali, M. M.; Pelton, R.; Cranston, E. D. *Biomacromolecules* **2012**.
- (127) Salajkova, M.; Berglund, L. A.; Zhou, Q. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22*, 19798.
- (128) Sassi, J.-F.; Chanzy, H. *Cellulose* **1995**, *2*, 111.
- (129) Yuan, H.; Nishiyama, Y.; Wada, M.; Kuga, S. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 696.
- (130) Çetin, N. S.; Tingaut, P.; Özmen, N.; Henry, N.; Harper, D.; Dadmun, M.; Sèbe, G. *Macromolecular Bioscience* **2009**, *9*, 997.
- (131) Berlioz, S.; Molina-Boisseau, S.; Nishiyama, Y.; Heux, L. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 2144.
- (132) Braun, B.; Dorgan, J. R. *Biomacromolecules* **2008**, *10*, 334.

- (133) Goussé, C.; Chanzy, H.; Excoffier, G.; Soubeyrand, L.; Fleury, E. *Polymer* **2002**, *43*, 2645.
- (134) Hasani, M.; Cranston, E. D.; Westman, G.; Gray, D. G. *Soft Matter* **2008**, *4*, 2238.
- (135) Zaman, M.; Liu, H.; Xiao, H.; Chibante, F.; Ni, Y. *Carbohydrate Polymers* **2013**, *91*, 560.
- (136) Dong, S.; Roman, M. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 13810.
- (137) Nielsen, L. J.; Eyley, S.; Thielemans, W.; Aylott, J. W. *Chemical Communications* **2010**, *46*, 8929.
- (138) de Nooy, A. E. J.; Besemer, A. C.; van Bekkum, H. *Recueil des Travaux de Chimie, Pays-Bas* **1994**, *113*, 165.
- (139) Montanari, S.; Roumani, M.; Heux, L.; Vignon, M. R. *Macromolecules* **2005**, *38*, 1665.
- (140) Habibi, Y.; Chanzy, H.; Vignon, M. R. *Cellulose* **2006**, *13*, 679.
- (141) Lasseguette, E. *Cellulose* **2008**, *15*, 571.
- (142) Bruneel, D.; Schacht, E. *Polymer* **1993**, *34*, 2628.
- (143) Uraz, I.; Güner, A. *Carbohydrate Polymers* **1997**, *34*, 127.
- (144) Kim, U.-J.; Kuga, S.; Wada, M.; Okano, T.; Kondo, T. *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 488.
- (145) Yang, H.; Tejado, A.; Alam, N.; Antal, M.; van de Ven, T. G. M. *Langmuir* **2012**, *28*, 7834.
- (146) Drogat, N.; Granet, R.; Le Morvan, C.; Bégau-Grimaud, G.; Krausz, P.; Sol, V. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22*, 3648.
- (147) Dash, R.; Elder, T.; Ragauskas, A. *Cellulose* **2012**, *1*.
- (148) Mangalam, A. P.; Simonsen, J.; Benight, A. S. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 497.
- (149) Harrisson, S.; Drisko, G. L.; Malmström, E.; Hult, A.; Wooley, K. L. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1214.
- (150) Ljungberg, N.; Bonini, C.; Bortolussi, F.; Boisson, C.; Heux, L.; Cavaille *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 2732.
- (151) Habibi, Y.; Dufresne, A. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1974.
- (152) Cao, X.; Habibi, Y.; Lucia, L. A. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 7137.
- (153) Kloser, E.; Gray, D. G. *Langmuir* **2010**, *26*, 13450.
- (154) Chen, G.; Dufresne, A.; Huang, J.; Chang, P. R. *Macromolecular Materials and Engineering* **2009**, *294*, 59.
- (155) Morandi, G.; Heath, L.; Thielemans, W. *Langmuir* **2009**, *25*, 8280.
- (156) Yi, J.; Xu, Q. X.; Zhang, X. F.; Zhang, H. L. *Polymer* **2008**, *49*, 4406.
- (157) Yi, J.; Xu, Q. X.; Zhang, X. F.; Zhang, H. L. *Cellulose* **2009**, *16*, 989.
- (158) Morandi, G.; Thielemans, W. *Polymer Chemistry* **2012**, *3*, 1402.
- (159) Zoppe, J. O.; Habibi, Y.; Rojas, O. J.; Venditti, R. A.; Johansson, L. S.; Efimenko, K.; Österberg, M.; Laine, J. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2683.
- (160) Zoppe, J. O.; Venditti, R. A.; Rojas, O. J. *Journal of Colloid and Interface Science* **2012**, *369*, 202.
- (161) Majoinen, J.; Walther, A.; McKee, J. R.; Kontturi, E.; Aseyev, V.; Malho, J. M.; Ruokolainen, J.; Ikkala, O. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 2997.
- (162) Engelhardt, J. *Carbohydrates in Europe* **1995**, *12*.
- (163) Nishiyama, Y.; Isogai, A.; Okano, T.; Müller, M.; Chanzy, H. *Macromolecules* **1999**, *32*, 2078.

- (164) Dubochet, J.; Adrian, M.; Chang, J.-J.; Homo, J.-C.; Lepault, J.; McDowell, A. W.; Schultz, P. *Quarterly Reviews of Biophysics* **1988**, *21*, 129.
- (165) Harris, J. R. *oxford, Bios Scientific Publishers* **1997**.
- (166) Durrieu, V.; Putaux, J.-L.; Passas, R.; Gandini, A. *European Microscopy & Analysis* **2004**, *19-21*.
- (167) Cousin, F.; Genix, C.; Grillo, I.; Jestin, J.; Oberdisse, J. *Neutrons et matière molle, JDN* **2010**.
- (168) Lindner, P.; Zemb, T. *Neutrons, X-Rays and Light: Scattering Methods Applied to Soft Condensed Matter*; Elsevier Science B.V., 2002.
- (169) Rawiso, M. *J. Phys. IV France* **1999**, *09*, Pr1.
- (170) Maréchal, Y.; Chanzy, H. *Journal of Molecular Structure* **2000**, *523*, 183.
- (171) Saito, T.; Isogai, A. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1983.
- (172) van den Berg, O.; Capadona, J. R.; Weder, C. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1353.
- (173) Tang, L.; Weder, C. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2010**, *2*, 1073.
- (174) Cerovsky, V.; Jakubke, H. D. *Biocatalysis* **1994**, *11*, 233.
- (175) Spedding, H. *Journal of the Chemical Society* **1960**, 3147.
- (176) Rowen, J. W.; Forziati, F. H.; Reeves, R. E. *Journal of the American Chemical Society* **1951**, *73*, 4484.
- (177) Varma, A. J.; Chavan, V. B. *Polymer Degradation and Stability* **1995**, *49*, 245.
- (178) Zhao, H.; Heindel, N. D. *Pharm. Res.* **1991**, *8*, 400.
- (179) Larsson, P.; Gimåker, M.; Wågberg, L. *Cellulose* **2008**, *15*, 837.
- (180) Guigo, N.; Heux, L.; ACS Spring Meeting, San Diego **2012**, p CELL.
- (181) Mazeau, K.; Rivet, A. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1352.
- (182) Kalashnikova, I.; Bizot, H.; Cathala, B.; Capron, I. *Langmuir* **2011**, *27*, 7471.
- (183) Kalashnikova, I.; Bizot, H.; Cathala, B.; Capron, I. *Biomacromolecules* **2011**, *13*, 267.
- (184) Rodionova, G.; Eriksen, Ø.; Gregersen, Ø. *Cellulose* **2012**, *19*, 1115.
- (185) Okita, Y.; Saito, T.; Isogai, A. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 1696.
- (186) Heux, L.; Bonini, C.; *International patent Centre National de la Recherche Scientifique*, 2000.
- (187) Xu, Q. X.; Yi, J.; Zhang, X. F.; Zhang, H. L. *European Polymers Journal* **2008**, *44*, 2830.
- (188) Mocanu, G.; Mihai, D.; Dulong, V.; Picton, L.; Lecerf, D. *Carbohydrate Polymers* **2011**, *84*, 276.
- (189) Durand-Gassel, C. I.; Capelot, M.; Sanson, N.; Lequeux, N. *Langmuir* **2010**, *26*, 12321.
- (190) Wang, X.; Qiu, X.; Wu, C. *Macromolecules* **1998**, *31*, 2972.
- (191) Beck-Candanedo, S.; Viet, D.; Gray, D. G. *Langmuir* **2006**, *22*, 8690.
- (192) Bailey, F. E.; Callard, R. W. *Journal of Applied Polymer Science* **1959**, *1*, 373.
- (193) Beck, S.; Bouchard, J.; Berry, R. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 1486.
- (194) Ewart, R. H.; Roe, C. P.; Debye, P.; McCartney, J. R. *Journal of Chemical Physics* **1946**, *14*, 687.
- (195) Bonini, C.; Heux, L.; Cavaillé, J.-Y.; Lindner, P.; Dewhurst, C.; Terech, P. *Langmuir* **2002**, *18*, 3311.
- (196) Glatter, O.; Kratky, O. *Small Angle X-ray Scattering*; Academic Press, 1982.
- (197) Pedersen, J. S.; Gerstenberg, M. C. *Macromolecules* **1996**, *29*, 1363.
- (198) De Gennes. P. G. *Scaling Concepts in Polymer Physics*; Cornell Univ. Press, 1979.
- (199) Flory, P. J. *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell Univ. Press, 1953.

- (200) Lu, K.; Jacob, J.; Thiyagarajan, P.; Conticello, V. P.; Lynn, D. G. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 6391.
- (201) Robbes, A.-S.; Cousin, F.; Meneau, F.; Chevigny, C.; Gigmes, D.; Fresnais, J.; Schweins, R.; Jestin, J. *Soft Matter* **2012**, *8*, 3407.
- (202) Revol, J.-F.; Bradford, H.; Giasson, J.; Marchessault, R. H.; Gray, D. G. *International Journal of Biological Macromolecules* **1992**, *14*, 170.
- (203) Elazzouzi, S., Ph.D. Thesis, Université Joseph Fourier, 2006.
- (204) Leforestier, A.; Livolant, F. *Biophysical Journal* **1993**, *65*, 56.
- (205) Revol, J.-F.; Godbout, L.; Dong, X. M.; Gray, D. G.; Chanzy, H.; Maret, G. *Liq. Cryst.* **1994**, *16*, 127.
- (206) Sugiyama, J.; Chanzy, H.; Maret, G. *Macromolecules* **1992**, *25*, 4232.
- (207) Zhang, Z.; Krishna, N.; Lettinga, M. P.; Vermant, J.; Grelet, E. *Langmuir* **2009**, *25*, 2437.
- (208) Straley, J. P. *Phys. Rev. A* **1976**, *14*, 1835.
- (209) Odijk, T. *The Journal of Physical Chemistry* **1987**, *91*, 6060.
- (210) Pelcovits, R. A. *Liq. Cryst.* **1996**, *21*, 361.
- (211) Senechal, E.; Maret, G.; Dransfeld, K. *International Journal of Biological Macromolecules* **1980**, *2*, 256.
- (212) Stanley, C. B.; Hong, H.; Strey, H. H. *Biophysical Journal* **2005**, *89*, 2552.





## **Résumé**

Les nanocristaux de cellulose (NCC), obtenus par hydrolyse acide des microfibrilles de cellulose native sous forme de suspensions colloïdales aqueuses, sont des nanoparticules biosourcées ayant des propriétés mécaniques et optiques particulièrement séduisantes pour la conception de nanomatériaux à haute performance. Pour éliminer certaines de leurs limitations comme la sensibilité à la force ionique et l'absence de contrôle de leurs interactions, nous nous sommes attachés au cours de ce travail à modifier chimiquement ces NCC par greffage de chaînes de polymère thermosensible de la famille des polyétheramines Jeffamine® sur leur surface. La première méthode de greffage utilisée a fait appel à une oxydation TEMPO suivie d'un couplage peptidique. Après optimisation de la réaction de greffage et sa caractérisation à l'échelle moléculaire, les nouveaux systèmes (NCC-g-Jeffamine) ont été étudiés et de nouvelles propriétés ont été identifiées comme leur insensibilité au sel, leur capacité de redispersion dans des solvants organiques, leur caractère tensioactif, leur stabilité thermique améliorée ainsi que leur thermoaggrégation réversible. L'étude structurale par diffusion des neutrons aux petits angles a permis d'avoir des informations sur les épaisseurs des couches de polymère greffé ainsi que sur la conformation des chaînes. De nouvelles caractéristiques de l'auto-organisation en phase chirale-nématique de ces systèmes ont été notées suite à l'étude des diagrammes de phase et des pas cholestériques. La deuxième méthode de greffage explorée a consisté en une oxydation aux ions métapériodate suivie d'une amination réductrice. Les résultats ont montré un détachement partiel des chaînes de cellulose suite à l'oxydation puis leur détachement complet après le greffage du polymère pour obtenir des copolymères cellulose-Jeffamine solubles dans l'eau.

## **Summary**

Cellulose nanocrystals (CNC), obtained by acid hydrolysis of native cellulose microfibrils as colloidal aqueous suspensions, are biosourced nanoparticles that have great mechanical and optical properties well adapted for the conception of new nanomaterials with high performance. In order to eliminate some of their limitations like sensitivity to ionic strength and absence of control of the interactions, we studied in this work the chemical modification of these CNC by grafting thermoresponsive polymer chains (polyetheramines Jeffamine®) on their surface. The first grafting strategy used was a TEMPO oxidation followed by peptidic coupling. After the optimization of the grafting reaction and its characterization at the molecular scale, the new systems (CNC-g-Jeffamine) were investigated and new properties were identified like their insensitivity to salts, their ability to be redispersed in organic solvents, their surfactant character, their enhanced thermal stability and their reversible thermoaggregation. The structural study using small angle neutron scattering gave information about the thickness of the polymer corona and the chain conformation. New characteristics of their self-assembly into chiral-nematic phases were noticed upon the measurement of the phase diagrams and cholesteric pitches. The second grafting strategy consisted in an oxidation using periodate ions followed by reductive amination. Results showed a partial detachment of cellulose chains after oxidation. A complete detachment was observed after grafting the polymer chains to finally obtain-water soluble cellulose-Jeffamine copolymers.