



**HAL**  
open science

# Etude des propriétés rhéologiques et structurales d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose

Kévin Jacques Le Goff

► **To cite this version:**

Kévin Jacques Le Goff. Etude des propriétés rhéologiques et structurales d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose. Autre. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2014. Français. NNT : 2014BRES0108 . tel-02155233

**HAL Id: tel-02155233**

**<https://theses.hal.science/tel-02155233>**

Submitted on 13 Jun 2019

**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 / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

*sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne*

pour obtenir le titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

*Mention : Sciences pour l'Ingénieur, Spécialité : Sciences et Génie des Matériaux*  
École Doctorale SICMA

présentée par

**Kévin Jacques Le Goff**

Préparée au Laboratoire d'Ingénierie des  
MATériaux de Bretagne

Etude des propriétés  
rhéologiques et structurales  
d'hydrogels d'agarose  
chargés de nanowhiskers de  
cellulose

**Soutenance prévue le 2 décembre 2014**  
devant le jury composé de :

**Thierry AUBRY**

Professeur, Université de Bretagne Occidentale, Brest  
*Directeur de thèse*

**Lazhar BENYAHIA**

Professeur, Université du Maine, Le Mans  
*Rapporteur*

**Catherine GARNIER**

Chargée de Recherche, INRA, Nantes  
*Co-encadrante*

**Yves GROHENS**

Professeur, Université de Bretagne Sud, Lorient  
*Examineur*

**William HELBERT**

Directeur de Recherche, CERMAV, Grenoble  
*Examineur*

**Pascal MEDERIC**

Maître de Conférences HDR, Université de Bretagne Occidentale, Brest  
*Examineur*

**Patrick NAVARD**

Directeur de Recherche, Mines ParisTech, Sophia Antipolis  
*Rapporteur*



## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de thèse, Monsieur Thierry Aubry, de m'avoir accompagné au quotidien durant ces trois années et pour le temps qu'il m'a consacré. Trois années durant lesquelles son exigence, sa rigueur, mais aussi sa confiance et ses encouragements, m'ont permis de m'enrichir tant sur le plan professionnel que personnel.

Je tiens également à remercier ma co-encadrante, Madame Catherine Garnier, de m'avoir suivi et accueilli à Nantes. Je la remercie également pour sa sympathie et ses conseils avisés.

J'ai été très honoré de la faveur que m'ont fait l'ensemble des membres du jury de juger et d'examiner ce travail. J'adresse toute ma reconnaissance à Messieurs Lazhar Benyahia et Patrick Navard, d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit. Mes remerciements s'adressent également à Messieurs Yves Grohens, William Helbert et Pascal Médéric d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent à l'Equipe Rhéologie du LIMATB pour leur accueil depuis mon stage de licence jusqu'à la fin de thèse. Je remercie à cette occasion Monsieur Pascal Médéric, mon premier maître de stage dans l'équipe, pour sa sympathie, son calme, ses encouragements et ses conseils. Je remercie également Monsieur Jacques Huitric, mon second maître de stage, pour sa gentillesse et son enthousiasme, ainsi que Monsieur Julien Ville, jeune maître de conférences, pour sa sympathie, son dynamisme et sa disponibilité. Je remercie aussi Monsieur Philippe Roquefort, technicien du laboratoire, de m'avoir accompagné sur les rhéomètres, mais aussi pour son humour et sa bonne humeur communicative. Je remercie également Monsieur Quentin Beuguel, mon collègue doctorant, pour sa sympathie, ses conseils, ainsi que pour nos discussions enflammées autour de problèmes épineux et pour nos rigolades. Je tiens aussi à remercier Madame Isabelle Labaume, ancienne doctorante du laboratoire, mais aussi les différents stagiaires du laboratoire (Imane, Amaury, Gauthier et Antoine) pour leur sympathie et leur bonne humeur.

J'adresse mes remerciements à l'équipe Interfaces et Systèmes Dispersés de l'Unité Biopolymères, Interactions, Assemblages de l'INRA de Nantes, dont Mesdames Valérie Beaumal, Elisabeth David-Briand, Anne-Laure Fameau, Claude Genot, Patricia Le Bail, Geneviève Llamas, Anne Meynier, Lucie Ribourg, Marie-Hélène Ropers, Véronique Solé, Michèle Viau et Sylvaine Bizon, et Messieurs Marc Anton, Alain Riaublanc, Michel Audebrand, Dominique Guibert,

## Remerciements

Sébastien Marze et Bruno Novales, ainsi que les doctorants de m'avoir accueilli ponctuellement et chaleureusement durant ces trois années.

Un grand merci à Monsieur Cédric Gaillard pour l'ensemble des travaux réalisés en microscopie dans le cadre de ma thèse, ainsi que pour ses conseils et sa grande sympathie. Je remercie également Monsieur William Helbert et Madame Diane Jouanneau de nous avoir fourni le protocole d'élaboration des nanowhiskers et de me l'avoir montré.

Je tiens également à remercier chaleureusement L'Ecole Doctorale SICMA et particulièrement Madame Michèle Kerleroux pour son travail, sa disponibilité et sa sympathie. Je souhaite également remercier Mesdames Catherine Archieri et Valérie Dantec, et Monsieur Alain Fessant, du continuum Lycées-Université, de m'avoir permis de travailler avec des lycéens durant ma seconde année de thèse, mais aussi pour leur gentillesse et leur enthousiasme. Un grand merci aux différents doctorants (David, Laetitia, Olivier, Charlotte, Vincent, Melissa, Aymeric, Christelle, Damien, Morgan, ...) que j'ai pu croiser durant ma thèse et avec qui j'ai partagé de bons moments.

Je souhaite également remercier mes amis qui m'ont soutenu durant ce long périple : Antoine (le chauve), Alan, Benoit, Jonathan, Lionel, Steven, Sabrina, Marion, Maureen, Adrien, Julia, Carole, Annaïg, Camille, Tiphaine, Yohann, Binôme (JB), Mathilde, Ilan, Marie, Sarah, Danièle, Antoine (le blond), Anne-Hélène et Alice. Je remercie aussi Bérénice de m'avoir soutenu et accompagné durant une partie de mon doctorant. Pour finir, je tiens à remercier du fond du cœur ma famille et plus particulièrement mes parents sans qui rien n'aurait été possible, ainsi que Pauline, qui a rendu mon quotidien en fin de thèse beaucoup plus agréable et doux.

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>5</b>
<b>Chapitre I</b>	
<b>Bibliographie</b> .....	<b>9</b>
I.1. Agarose.....	9
I.1.1. Généralités .....	9
I.1.2. Structure chimique.....	9
I.1.3. Mécanisme de gélification de l'agarose .....	10
I.1.4. Propriétés rhéologiques des hydrogels d'agarose.....	12
Références.....	14
I.2. Nanowhiskers de cellulose : élaboration, caractéristiques et propriétés .....	17
I.2.1. Les sources de cellulose .....	17
I.2.2. Structure de la cellulose .....	18
I.2.3. Extraction des nanowhiskers de cellulose.....	21
I.2.4. Caractéristiques des nanowhiskers de cellulose.....	21
I.2.5. Propriétés des nanowhiskers de cellulose en suspension dans l'eau .....	23
I.2.6. Effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose à une matrice polymère thermoplastique .....	26
I.2.7. Effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose à une matrice polymère hydrogel.....	28
Références.....	32
<b>Chapitre II</b>	
<b>Matériaux et méthodes</b> .....	<b>37</b>
II.1. Matériaux.....	37
II.1.1. Matrice .....	37
II.1.2. Charges.....	37
II.1.3. Hydrogels nanocomposites .....	40
II.2. Titrage conductimétrique.....	40
II.3. Caractérisation structurale .....	42
II.3.1. Microscopie électronique en transmission (MET) .....	42
II.3.2. Microscopie à force atomique (AFM) .....	42

II.4. Caractérisation rhéologique .....	43
II.4.1. Principe .....	43
II.4.2. Rhéomètres .....	43
II.4.3. Tests .....	44
Références .....	49
 <b>Chapitre III</b>	
<b>Gélification d'une suspension de nanowhiskers en milieu aqueux .....</b>	<b>51</b>
III.1. Evidence expérimentale de l'existence d'une cinétique de structuration .....	52
III.3. Cinétique de gélification .....	58
III.4. Structure du gel .....	62
III.5. Influence du régime de concentration des nanowhiskers sur la gélification.....	63
Conclusion.....	64
Références .....	65
 <b>Chapitre IV</b>	
<b>Etude rhéologique du renforcement des hydrogels d'agarose par des nanowhiskers de cellulose.....</b>	<b>67</b>
IV.1. Balayage en déformation .....	67
IV.2. Balayage en fréquence .....	70
IV.3. Relaxation des contraintes.....	79
IV.4. Fluage et écoulement permanent.....	83
Conclusion.....	97
Références .....	99
 <b>Chapitre V</b>	
<b>Modulation de l'effet renfort des hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose .....</b>	<b>101</b>
V.1. Effet de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers .....	101
V.1.1. Microscopie électronique en transmission .....	102
V.1.2. Détermination de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers .....	106
V.1.3. Rhéologie.....	108
V.2. Effet de la concentration en agarose.....	116

Conclusion.....	127
<b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>129</b>
Annexe A .....	133
Annexe B .....	141





# Introduction

Les hydrogels sont des matériaux qui connaissent un développement important depuis une cinquantaine d'années dans de nombreux champs d'applications tels que les tamis moléculaires pour des techniques séparatives (électrophorèse, chromatographie d'exclusion stérique) [1], les superabsorbants (couches pour bébés), les dépolluants (adsorption spécifique de métaux lourds) [2], le domaine biomédical (libération contrôlée de médicaments, pansements) [3, 4] ou encore le domaine agroalimentaire (additifs) [5].

Les hydrogels sont des matériaux constitués de deux composants principaux : un réseau polymérique hydrophile comme partie minoritaire, et un solvant aqueux comme partie majoritaire. La grande variété de sources utilisées pour l'élaboration de ces derniers est à l'origine de la grande richesse de propriétés de ces matériaux : propriétés de gonflement, perméabilité, biodégradabilité, biocompatibilité, propriétés mécaniques,...

Récemment, une attention particulière a été portée, d'une part, aux hydrogels dits « intelligents », qui présentent l'intérêt de pouvoir changer brutalement certaines de leurs propriétés sous l'influence de stimuli physiques externes (température, ultrasons, champs magnétique/électrique, lumière, sollicitation mécanique) et/ou chimiques (pH) [6, 7]. D'autre part, un intérêt particulier a été porté aux hydrogels chargés de micro ou nanoparticules [8, 9]. L'incorporation de charges peut permettre en effet d'améliorer les propriétés (perméabilité, propriétés mécaniques) de ces hydrogels, comme c'est le cas avec l'addition de nanoparticules d'argiles (Laponite, Montmorillonite,...) [10], et/ou d'apporter de nouvelles propriétés aux hydrogels (électrique, magnétique,...), par exemple par l'ajout de micro ou nanoparticules métalliques (argent, oxyde de fer,...), ouvrant la voie à de nouveaux champs d'applications (actionneur, organe artificiel, ...) [11, 12].

Ces travaux de thèse, menés en collaboration avec l'INRA de Nantes, s'inscrivent dans le contexte du développement d'hydrogels nanocomposites dits « verts », *i.e.* issus de ressources naturelles et biodégradables ; l'accent étant mis sur les propriétés de renfort mécanique apportées par les nanocharges. Les travaux présentés dans ce manuscrit ont été réalisés dans le cadre du réseau émergent inter-régional Bretagne-Pays de la Loire GlycoOuest.

Les matériaux utilisés dans cette thèse sont d'origine animale ou végétale. La matrice de l'étude est l'agarose, extrait d'algues rouges, et les charges sont des nanowhiskers de cellulose issus de l'enveloppe protectrice du tunicier, un animal marin. Les nanowhiskers de cellulose ont été beaucoup étudiés en tant que renforts dans de nombreux polymères thermoplastiques [13, 14], mais peu d'études se sont intéressées à l'effet structurant de nanowhiskers dans les hydrogels [15, 16], en dépit d'un intérêt potentiel pour la formulation d'hydrogels verts innovants.

L'objectif principal de cette thèse est de contribuer à une meilleure compréhension des relations entre propriétés structurales, à différentes échelles, et propriétés rhéologiques d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose de tunicier.

Le manuscrit comprend cinq chapitres. Le premier chapitre permettra, à travers la littérature sur les nanowhiskers de cellulose, d'introduire le sujet. Le second chapitre présentera les caractéristiques des matériaux, leurs méthodes d'élaboration et de caractérisation. Le chapitre trois sera consacré à l'étude de la cinétique de gélification d'une suspension aqueuse de nanowhiskers de tunicier faiblement concentrée, l'objectif étant de mieux comprendre le mécanisme physique de gélification, et de caractériser la structure du gel formé. Le chapitre quatre se focalisera sur l'étude de l'influence de l'ajout de nanowhiskers de cellulose de tunicier sur les propriétés structurales et rhéologiques d'un hydrogel d'agarose, l'accent étant mis sur l'effet renfort dû à la présence de nanowhiskers. Enfin, le chapitre cinq s'intéressera à la modulation de cet effet renfort, en étudiant l'influence de deux paramètres : la concentration en agarose, d'une part, et la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers, d'autre part. Deux annexes, correspondant aux deux articles publiés issus de ces travaux de thèse, clôtureront ce manuscrit.

## Références

- [1] P. Cuatrecasas, Protein purification by affinity chromatography derivatizations of agarose and polyacrylamide beads, *Journal of Biology Chemistry*, 245, 3059-3065, 1970.
- [2] H. Kaşgöz, S. Özgümüş, M. Orbay, Modified polyacrylamide hydrogels and their application in removal of heavy metal ions, *Polymer*, 44, 1785-1793, 2003.
- [3] C. C. Lin, A. T. Metters, Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 1379-1408, 2006.
- [4] L. Yu, J. Ding, Injectable hydrogels as unique biomedical materials, *Chemical Society Reviews*, 37, 1473-1481, 2008.
- [5] X. Chen, B. D. Marin, T. K. Neubauer, R. J. Linhardt, J. S. Dordick, D. G. Rethwisch, Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar-based polymers and hydrogels, *Carbohydrate Polymers*, 28, 15-21, 1995.
- [6] C. Tsitsilianis, Responsive reversible hydrogels from associative “smart” macromolecules, *Soft Matter*, 6, 2372-2388, 2010.
- [7] A. Patel, K. Mequanint, Hydrogels biomaterials, *Biomedical Engineering – Frontiers and challenges*, In Reza Fazel, P., editor, Intech edition, 2011.
- [8] P. Schexnailder, G. Schmidt, Nanocomposite polymer hydrogels, *Colloid and Polymer Science*, 287, 1-11, 2009.
- [9] A. K. Gaharwar, N. A. Peppas, A. Khademhosseini, Nanocomposite hydrogels for biomedical applications, *Biotechnology and Bioengineering*, 111, 441-453, 2013.
- [10] K. Haraguchi, Nanocomposite hydrogels, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 11, 47-54, 2007.
- [11] E. Wang, M. S. Desai, S. W. Lee, Light-controlled graphene-elastin composite hydrogel actuators, *Nano letters*, 13, 2826-2830, 2013.
- [12] R. V. Ramanujan, L. L. Lao, The mechanical behavior of smart magnet-hydrogel composites, *Smart Materials and Structures*, 15, 952-956, 2006.

[13] M. A. S. A. Samir, F. Alloin, A. Dufresne, Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field, *Biomacromolecules*, 6, 612-626, 2005.

[14] G. Siqueira, J. Bras, A. Dufresne, Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications, *Polymers*, 2, 728-765, 2010.

[15] X. Zhang, J. Huang, P. R. Chang, J. Li, Y. Chen, D. Wang, J. Yu, J. Chen, Structure and properties of polysaccharide nanocrystal-doped supramolecular hydrogels based on cyclodextrin inclusion, *Polymer*, 51, 4398-4407, 2010.

[16] C. Zhou, Q. Wu, Y. Yue, Q. Zhang, Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels, *Journal of Colloid and Interface Science*, 353, 116-123, 2011.

# Chapitre I

## Bibliographie

### I.1. Agarose

#### I.1.1. Généralités

L'agarose est un polysaccharide majoritairement neutre extrait d'algues rouges (ex : *Gracilaria*, *Gelidium*,...). Lors de cette extraction, les algues sont nettoyées puis chauffées dans un solvant plus ou moins alcalin, elles sont ensuite filtrées, séchées puis moulues [1].

Cette molécule est couramment utilisée dans la séparation et la caractérisation de biomolécules en électrophorèse [2] et en chromatographie d'affinité [3]. Plus récemment, l'agarose a été étudié en vue d'applications dans le domaine des lubrifiants [4] et dans le domaine biomédical [5].

#### I.1.2. Structure chimique

L'agarose est la fraction gélifiante majeure de l'agar, l'autre composant étant l'agaropectine [6]. L'agarose est un polymère linéaire de galactose dont la chaîne principale, appelée agarobiose, consiste en l'alternance de  $\beta$ -D-galactopyranose lié en 1,3- et de 3-6-anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose lié en 1,4-. La faible teneur en groupements substitués sulfatés est caractéristique de la molécule d'agarose. Sa structure chimique est représentée sur la Figure I.1.

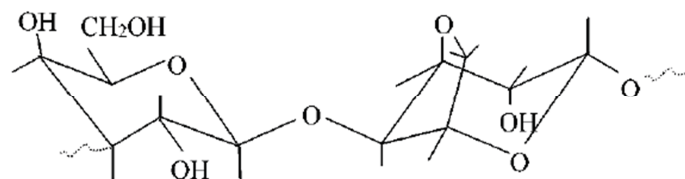


Figure I.1. Structure chimique de l'agarose.

La masse moléculaire moyenne de l'agarose commercial se situe entre 80 000 et 140 000 g/mol, avec une polydispersité inférieure à 1,7 [7].

### **I.1.3. Mécanisme de gélification de l'agarose**

La gélification de l'agarose est dépendante de deux paramètres : la température et la concentration.

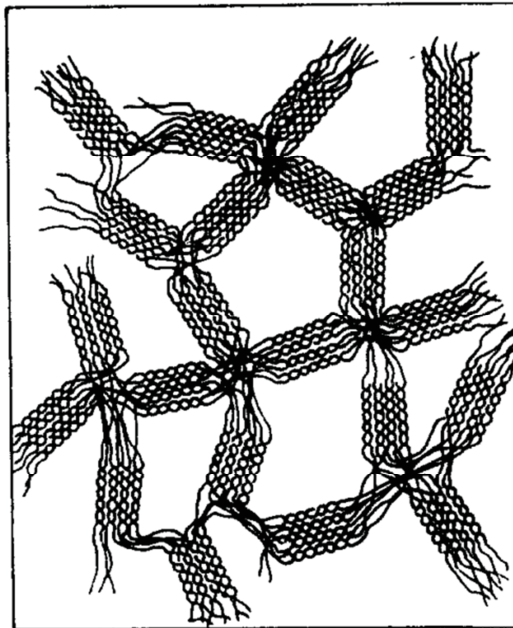
Lors de la solubilisation, à haute température (90°C), les chaînes de polymères s'hydratent puis adoptent une conformation en pelote statistique. Lorsque la température décroît, des liaisons hydrogène intramoléculaires se forment et les chaînes d'agarose adoptent une conformation hélicoïdale (simple [8] ou double [6]) ; ce changement de conformation a lieu entre 60 et 40°C [9]. Le diamètre des hélices d'agarose a été estimé, par une méthode de chromatographie, à 5 nm [10]. Ce résultat a été confirmé quelques années plus tard par microscopie électronique [11], et par calcul à partir de données recueillies en diffusion de lumière dépolarisée [12]. Des résultats obtenus en cryo-microscopie électronique en transmission tendent à montrer que le diamètre maximum d'une hélice est de 10 nm et que la longueur moyenne est de 300 nm [13].

En dessous de 40°C, des liaisons hydrogène intermoléculaires hélices-hélices et hélices-molécules d'eau se forment, participant à la formation d'agrégats d'hélices [6, 9]. La longueur de ces agrégats, mesurée à partir de clichés obtenus en cryo-microscopie électronique, se situe entre 1 et 2  $\mu\text{m}$  [13]. La longueur estimée à partir de mesure de diffusion de lumière est de 3  $\mu\text{m}$  à 0,01% et de 6  $\mu\text{m}$  à 0,05% [12].

Au cours du refroidissement, lorsque la concentration en polymère est suffisante, une transition sol-gel apparaît, les agrégats se connectent *via* des jonctions fibrillaires de composition variable [14], conduisant à la formation d'un réseau tridimensionnel (Figure I.2). Une étude par diffusion de neutrons aux petits angles a montré que l'épaisseur minimale d'une zone de jonctions se situe entre 3,5 et 4 nm, correspondant au diamètre d'une hélice [15]. L'épaisseur moyenne de ces zones de jonctions, mesurée par microscopie électronique, varie entre 15 et 30 nm [16].

La taille caractéristique de la maille du réseau d'agarose en fonction de la concentration a été étudiée par une méthode d'électrophorèse et de diffusion de lumière aux

petits angles. Pour des hydrogels d'agarose à 0,2% et 0,5% en masse, la taille moyenne de la maille est estimée respectivement à 500 et 300 nm [17, 18]. Des études en diffusion de lumière dépolarisée et en microscopie à force atomique (AFM) sur deux gammes de concentrations (0,01 à 0,05% en masse et de 2 à 5% en masse) ont montré que la taille de maille était une fonction puissance de la concentration en agarose, d'exposant -0,64 [12, 19]. Cet exposant est proche de l'exposant -0,75, caractéristique de la loi de percolation scalaire [20]. De plus, la distribution en taille des mailles est d'autant plus étroite que la concentration en agarose augmente [19, 21].



**Figure I.2. Représentation schématique du réseau d'un hydrogel d'agarose [6].**

Les conditions d'élaboration influencent le mécanisme de structuration des hydrogels d'agarose. Lorsque la vitesse de refroidissement est lente, les hélices d'agarose sont plus longues et ont plus de temps pour s'agréger [22]. Par conséquent, le niveau de structuration est plus important et les propriétés rhéologiques sont renforcées. Aymard *et al.* (2001) [23] ont confirmé ces résultats et ont également étudié l'effet de la température finale de refroidissement, à une vitesse de refroidissement donnée (1°C/min). A une température de refroidissement finale supérieure à la température de gélification, la formation des hélices est lente et une séparation de phases, observée en microscopie électronique en transmission (MET), a lieu entre les phases riches et pauvres en polymères. A une température de refroidissement finale inférieure à la température de gélification, la gélification est rapide, ce



qui se traduit par des propriétés rhéologiques plus élevées quand la température de refroidissement finale diminue [23].

### I.1.4. Propriétés rhéologiques des hydrogels d'agarose

Les propriétés rhéologiques des hydrogels d'agarose ont été étudiées aux petites et aux grandes déformations. Aux faibles déformations, l'hydrogel d'agarose a un comportement de type solide viscoélastique (Figure I.3). En effet, même à faible concentration en agarose, le spectre mécanique montre que le module de conservation est très supérieur au module de perte et que les modules viscoélastiques sont très peu dépendants de la fréquence [24].

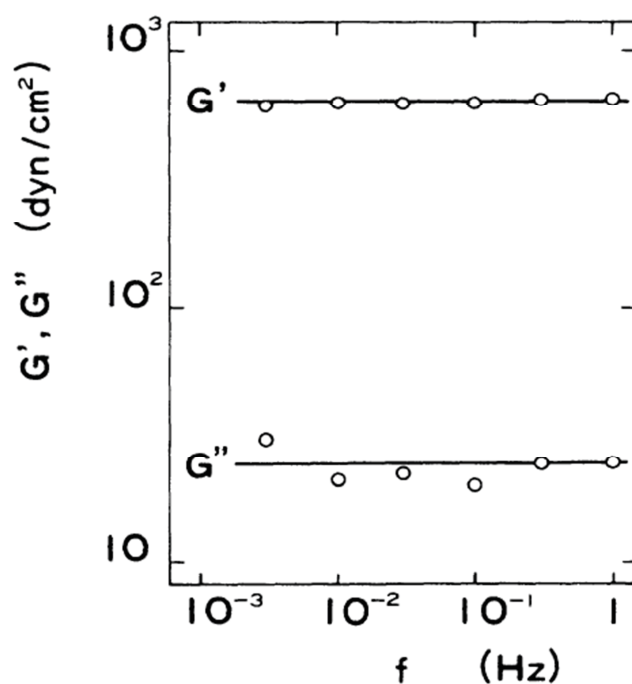


Figure I.3. Spectre mécanique d'un hydrogel d'agarose à 0,16% en masse, à 20°C [24].

Par ailleurs, lorsque la concentration en agarose augmente, les modules viscoélastiques des hydrogels augmentent. Une étude rhéologique a démontré que le comportement mécanique des hydrogels d'agarose au voisinage de la transition sol-gel, comme pour beaucoup d'hydrogels, était bien décrit par une loi de percolation scalaire [25] :

$$G' = (C - C_g)^t \quad (\text{Equation I.1})$$

avec  $G'$ , le module de conservation,  $C$ , la concentration d'agarose,  $C_g$ , la concentration de gélification et  $t$ , l'exposant critique, proche de 2 [20]. En revanche, lorsque la concentration s'éloigne du seuil de percolation, le module de conservation suit une loi de percolation vectorielle avec un exposant critique  $t$  proche de 3 [24]. Ce passage d'une percolation scalaire à une percolation vectorielle pourrait être lié à une évolution structurale des amas d'hélices agrégées qui constituent les zones de jonctions du réseau.

Aux grandes déformations, l'étude de la fracturation d'hydrogels d'agarose a montré l'influence de la concentration. Lorsque la concentration en agarose augmente, la contrainte à la rupture augmente mais la déformation à la rupture diminue. Ceci peut être expliqué d'une part, par une augmentation des interactions entre les hélices et d'autre part, par une diminution de la longueur des zones de jonctions, dont l'extensibilité est maximale à une déformation plus faible, ce qui induit une rupture plus rapide [26, 27].

Normand *et al.* (2000) ont aussi démontré l'influence de la masse moléculaire sur les propriétés rhéologiques d'hydrogels d'agarose aux faibles et fortes déformations (cisaillement/compression/traction) [27]. La contrainte à la rupture et le module de conservation suivent une loi de puissance croissante en fonction de la masse moléculaire avec un exposant de 2,4. Le renforcement du réseau peut s'expliquer par le fait que plus les chaînes de polymères sont longues, plus les interactions entre elles sont nombreuses et plus la probabilité de former des zones de jonctions est grande. Par ailleurs, la diminution de la masse moléculaire s'accompagne d'une diminution de la déformation à la rupture [27].

En conclusion, les paramètres importants influençant la gélification et les propriétés rhéologiques d'hydrogels formés à partir d'un même échantillon d'agarose sont la concentration en polymère, la température et la vitesse de refroidissement.

## Références

- [1] M. Lahaye, Chemistry and physico-chemistry of phycocolloids, *Cahiers de la Biologie Marine*, 42, 137-157, 2001.
- [2] P. Cuatrecasas, Protein purification by affinity chromatography derivatizations of agarose and polyacrylamide beads, *Journal of Biology Chemistry*, 245, 3059-3065, 1970.
- [3] D. L. Sparks, M. C. Phillips, Quantitative measurement of lipoprotein surface charge by agarose gel electrophoresis, *Journal of Lipid Research*, 33, 123-130, 1992.
- [4] A. Gabriele, F. Spyropoulos, I. T. Norton, A conceptual model for fluid gel lubrication, *Soft Matter*, 6, 4205-4213, 2010.
- [5] K. C. Yang, C. C. Wu, Y. H. Chen, T. F. Kuo, F. H. Lin, Chitosan/gelatin hydrogel prolonged the function of insulinoma/agarose microspheres in vivo during xenogenic transplantation, *Transplantation Proceedings*, 40, 3623-3626, 2008.
- [6] S. Arnott, A. Fulmer, W. E. Scott, I. C. M. Dea, R. Moorhouse, D. A. Rees, The agarose double helix and its function in agarose gel structure, *Journal of Molecular Biology*, 90, 269-284, 1974.
- [7] C. Rochas, M. Lahaye, Average molecular weight and molecular weight distribution of agarose and agarose-type polysaccharides, *Carbohydrate Polymers*, 10, 289-298, 1989.
- [8] C. Rochas, A. Brûlet, J. M. Guenet, Thermoreversible gelation of agarose in water/dimethyl sulfoxide mixtures, *Macromolecules*, 27, 3830-3835, 1994.
- [9] M. Tako, S. Nakamura, Gelation mechanism of agarose, *Carbohydrate Research*, 180, 277-284, 1988.
- [10] T. C. Laurent, Determination of the structure of agarose gels by gel chromatography, *Biochimica et Biophysica Acta*, 136, 199-205, 1967.
- [11] Y. Dormoy, S. Candau, Transient electric birefringence study of highly dilute agarose solutions, *Biopolymers*, 31, 109-117, 1991.
- [12] D. Bulone, P. L. San Biagio, Mesoscopic gel at low agarose concentration in water: a dynamic light scattering study, *Biophysical Journal*, 68, 1569-1573, 1995.

- [13] J. Sugiyama, C. Rochas, T. Turquois, F. Taravel, H. Chanzy, Direct imaging of polysaccharide aggregates in frozen aqueous dilute systems, *Carbohydrate Polymers*, 23, 261-264, 1994.
- [14] E. Pines, W. Prins, Structure-property relations of thermoreversible macromolecular hydrogels, *Macromolecules*, 6, 888-895, 1973.
- [15] S. Krueger, A. P. Andrews, P. Nossal, Small angle neutron scattering studies of structural characteristics of agarose gels, *Biophysical Chemistry*, 53, 85-94, 1994.
- [16] G. A. Griess, K. B. Guiseley, P. Serwer, The relationship of agarose gel structure to the sieving of spheres during agarose gel electrophoresis, *Biophysical Journal*, 65, 138-148, 1993.
- [17] N. C. Stellwagen, Agarose gel pore radii are not dependent on the casting buffer, *Electrophoresis*, 13, 601-603, 1992.
- [18] C. I. D. Bica, R. Borsali, E. Geissler, C. Rochas, Dynamics of cellulose whiskers in agarose gels. 1. Polarized dynamic light scattering, *Macromolecules*, 34, 5275-5279, 2001.
- [19] N. Pernodet, M. Maaloum, B. Tinland, Pore size of agarose gels by atomic force microscopy, *Electrophoresis*, 18, 55-58, 1997.
- [20] P. G. De Gennes, On a relation between percolation theory and the elasticity of gels, *Le Journal de Physique – Lettres*, 37, 1-2, 1976
- [21] M. Maaloum, N. Pernodet, B. Tinland, Agarose gel structure using atomic force microscopy: gel concentration and ionic strength effects, *Electrophoresis*, 19, 1606-1610, 1998.
- [22] Z. H. Mohammed, M. W. N. Hember, R. K. Richardson, E. R. Morris, Kinetic and equilibrium processes in the formation and melting of agarose gels, *Carbohydrate Polymers*, 36, 15-26, 1998.
- [23] P. Aymard, D. R. Martin, K. Plucknett, T. J. Foster, A. H. Clark, I. T. Norton, Influence of thermal history on the structural and mechanical properties of agarose gels, *Biopolymers*, 59, 131-144, 2001.

- [24] M. Tokita, K. Hikichi, Mechanical studies of sol-gel transition: universal behavior of elastic modulus, *Physical Review A*, 35, 4329-4333, 1987.
- [25] T. Fujii, T. Yano, H. Kumagai, O. Miyawaki, Scaling analysis on elasticity of agarose gel near the sol-gel transition temperature, *Food Hydrocolloids*, 14, 359-363, 2000.
- [26] L. M. Barrangou, C. R. Daubert, E. A. Foegeding, Textural properties of agarose gels. I. Rheological and fracture properties, *Food Hydrocolloids*, 20, 184-195, 2006.
- [27] V. Normand, D. L. Lootens, E. Amici, K. P. Plucknett, P. Aymard, New insight into agarose gel mechanical properties, *Biomacromolecules*, 1, 730-738, 2000.

## I.2. Nanowhiskers de cellulose : élaboration, caractéristiques et propriétés

### I.2.1. Les sources de cellulose

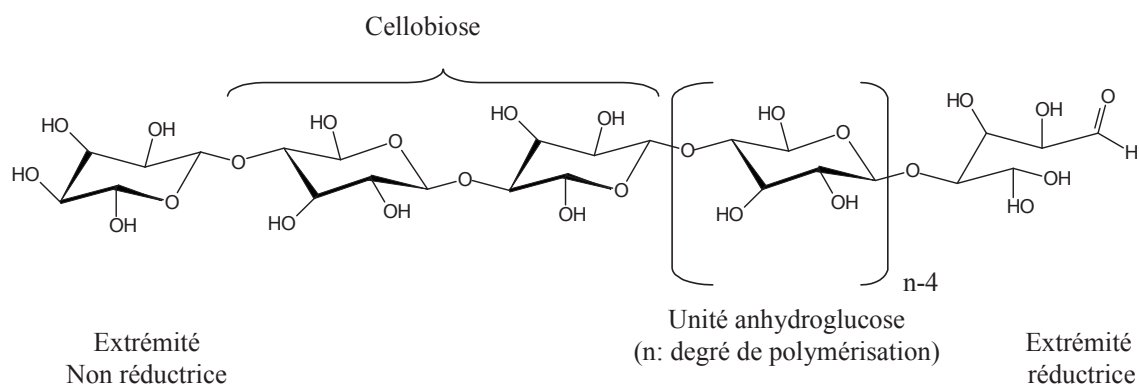
La cellulose est le biopolymère le plus abondant sur terre ; elle assure la protection et le soutien de tous les végétaux supérieurs (ex : arbres, plantes). Elle est le constituant majeur des organismes photosynthétiques (coton, ramie, jute) et de certaines algues (*Cladophora*, *Valonia* [1]). Elle est aussi présente dans l'enveloppe protectrice de certains animaux marins, comme le tunicier [2]. Enfin, elle peut être sécrétée par des bactéries (*Acetobacter xylinum* [3]). Le Tableau I.1 présente à titre d'exemple la teneur en cellulose de quelques sources. La production de la cellulose dans la biosphère est estimée à plus de  $7,5 \times 10^{10}$  tonnes par an [4].

**Tableau I.1. Principales sources de cellulose native. Les pourcentages sont indiqués par rapport à la matière sèche.**

Sources de cellulose	Cellulose (%)	Références
Coton (linters)	98	[5]
Ramie (fibres)	70-80	[6]
Jute (fibres)	60-65	[7]
Bois (tronc, branches)	40-50	[8]
Tunicier (enveloppe)	5-50	[9]
Betterave (racines)	20-30	[10]

## I.2.2. Structure de la cellulose

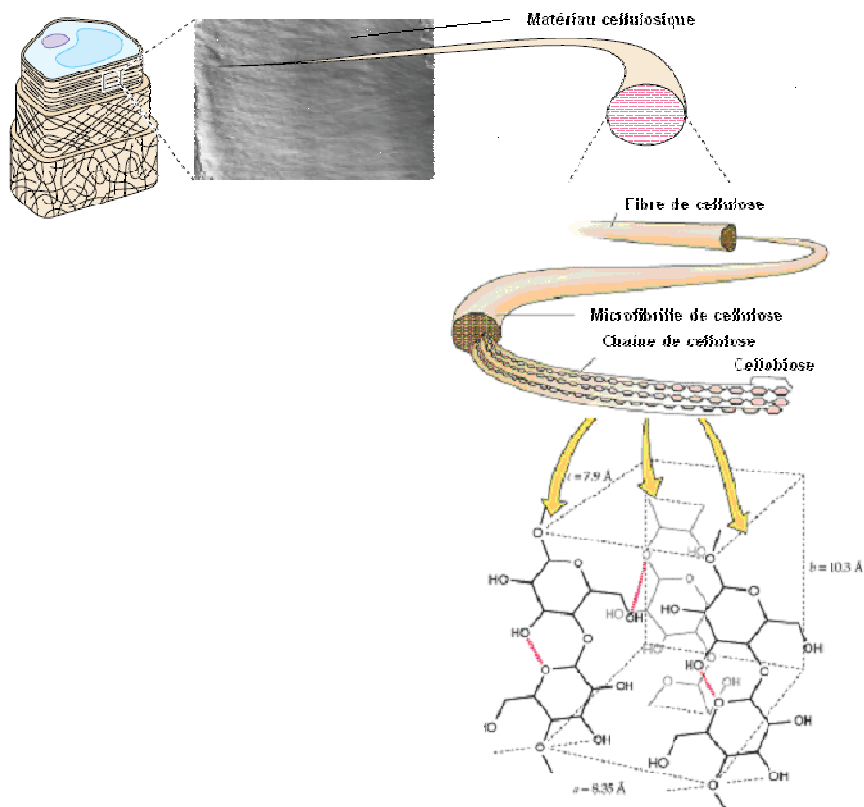
La cellulose est un homopolymère linéaire constitué d'unités D-anhydroglucopyranose en conformation  ${}^4C_1$ , reliées par des liaisons  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4). L'unité de répétition est le cellobiose, constitué de deux motifs de glucose disposés à 180° l'un par rapport à l'autre, conférant à la molécule son caractère linéaire (Figure I.4).



**Figure I.4. Structure chimique de la cellulose.**

Le degré de polymérisation (DP) de la cellulose, dépendant de l'origine et du traitement subi lors de l'extraction, peut beaucoup varier. Le degré de polymérisation moyen, estimé à partir de mesures viscosimétriques, est d'environ 10 000 pour le bois et 15 000 pour le coton [11].

Les fibres de cellulose sont des édifices architecturaux complexes présentant une structure multi-échelles. En effet, les fibres de cellulose sont constituées de microfibrilles. Ces microfibrilles sont des unités semi-cristallines composées de chaînes de cellulose, associées entre elles *via* des liaisons hydrogène intra- et inter-chaînes (Figure I.5).

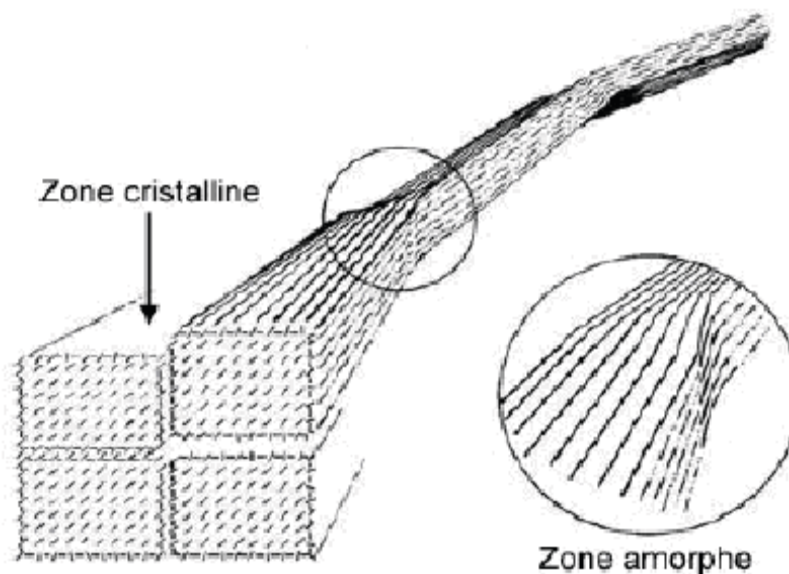


**Figure I.5. Représentation schématique de la structure multi-échelles hiérarchique d'une fibre cellulosique [12].**

En moyenne, dans les plantes supérieures, les microfibrilles sont constituées de 36 chaînes de cellulose associées entre elles [12] ; dans les algues, elles peuvent être constituées de plusieurs centaines de chaînes de cellulose. Selon l'origine de la cellulose, les microfibrilles ont un diamètre de 2 à 20 nm. Par ailleurs, selon Carpita et McCann (2000), chaque microfibrille peut atteindre des centaines de micromètres de longueur [12].

La microfibrille est l'élément de base de la cellulose native ; elle est constituée par une alternance de régions ordonnées, les zones cristallines, et de régions non ordonnées, les zones amorphes (Figure I.6). Les régions non ordonnées constituent des défauts structuraux qui peuvent être dégradés pour ne retenir que la phase cristalline [13].





**Figure I.6. Représentation schématique de l'alternance des zones cristallines et amorphes le long d'une microfibrille [14].**

A titre d'exemple, une étude détaillée de microfibrilles de ramie, par diffraction des neutrons, a montré que 4 à 5 résidus glucose perturbés (région amorphe) s'inséreraient périodiquement tous les 300 résidus glucose (région cristalline) [15].

Comme souligné précédemment, les chaînes de cellulose sont organisées dans un réseau complexe de liaisons hydrogène. La partie cristalline de ce réseau peut beaucoup varier et donner lieu à plusieurs formes cristallographiques de cellulose : I, II, III, IV. La forme de la cellulose native est la cellulose I, qui peut présenter elle-même deux formes différentes  $I_\alpha$  et  $I_\beta$ . La proportion d' $I_\alpha$  et d' $I_\beta$  dépend de la source de la cellulose. Par exemple, la forme  $I_\alpha$  prédomine dans les organismes primitifs tels que les algues et les bactéries, alors que la forme  $I_\beta$  est majoritaire chez les végétaux supérieurs. Il est à noter que la forme  $I_\beta$  constitue la phase unique de la cellulose du tunicier, utilisée comme source de cellulose dans ce travail [16, 17].

### **I.2.3. Extraction des nanowhiskers de cellulose**

L'extraction sélective de la région cristalline de la cellulose sous forme de nanowhiskers est obtenue classiquement par hydrolyse acide des régions amorphes. Les conditions de l'hydrolyse acide influencent fortement les propriétés des nanowhiskers de cellulose. En effet, l'augmentation du temps d'hydrolyse diminue la taille des nanocristaux et augmente la densité de charges électriques à leur surface [18]. L'utilisation d'acide sulfurique pour la préparation des nanowhiskers de cellulose conduit à une meilleure stabilisation de la suspension aqueuse de nanowhiskers qu'en présence d'acide chlorhydrique [19]. Cette meilleure stabilité est due à la présence d'ions sulfates, à la surface des nanowhiskers de cellulose traités par acide sulfurique, qui interagissent par répulsion électrostatique [20]. Dans le cas d'une hydrolyse à l'acide chlorhydrique, la quantité de groupements carboxyles à la surface des nanowhiskers est trop faible pour permettre la stabilité de la suspension. Plus généralement, la stabilité des suspensions aqueuses de nanowhiskers dépend de la dimension des particules dispersées, de leur polydispersité et de la densité surfacique de charges [16, 17].

### **I.2.4. Caractéristiques des nanowhiskers de cellulose**

#### *Caractéristiques géométriques*

Les nanowhiskers de cellulose ont une forme de bâtonnets, dont les dimensions caractéristiques dépendent de leur origine. Ces bâtonnets sont généralement modélisés par des cylindres, de longueur  $L$  et de diamètre  $d$ , mais dans certaines études plus fines de cristallographie, ils sont modélisés par des parallélépipèdes. Ces dimensions peuvent être mesurées à partir de clichés obtenus en Microscopie Electronique en Transmission (MET) ou en Microscopie à Force Atomique (AFM). Des clichés MET de nanowhiskers obtenus pour différentes sources de cellulose sont présentés sur la Figure I.7.

Les clichés MET de la Figure I.7 mettent en évidence que les nanowhiskers de cellulose de tunicier sont significativement plus longs que les nanowhiskers de cellulose issus des autres sources considérées.

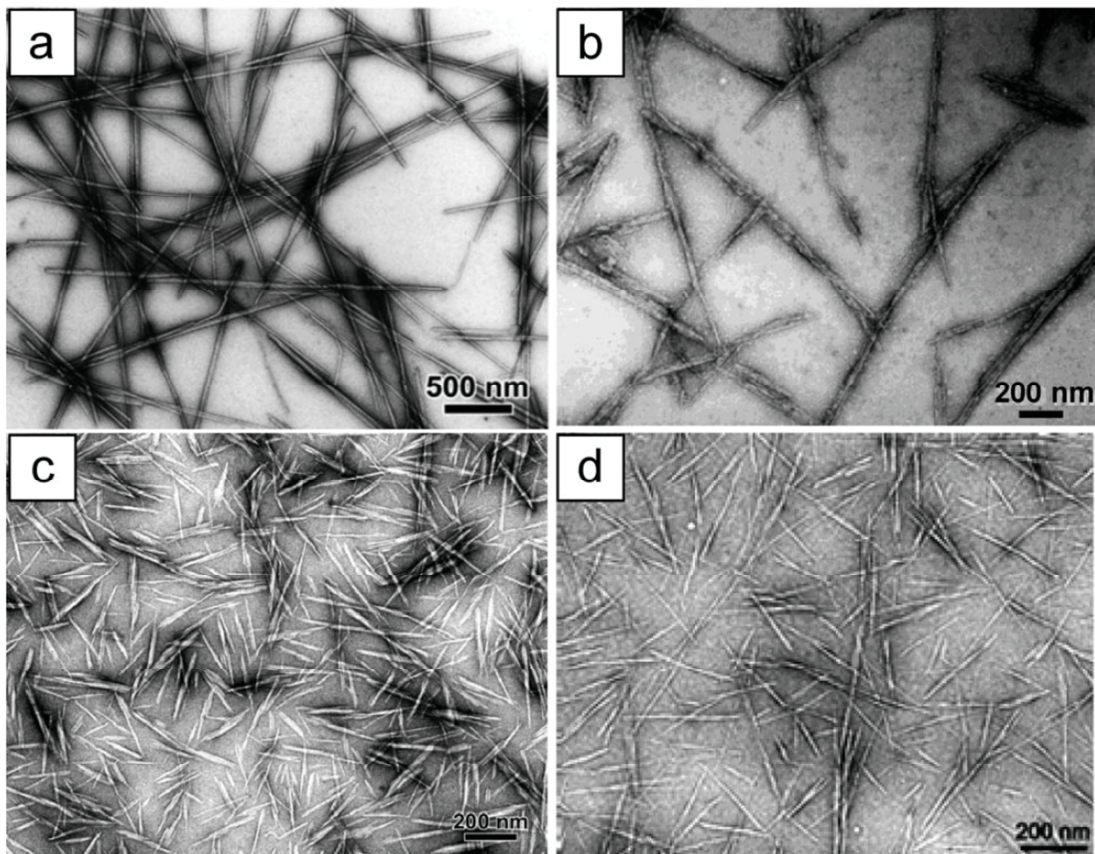


Figure I.7. Clichés MET de dispersions séchées de nanowhiskers extraits de : a) tunicier, b) bactérie, c) ramie, d) sisal [17].

Des exemples de clichés AFM de suspensions de nanowhiskers de coton et de tunicier sont représentés sur la Figure I.8.

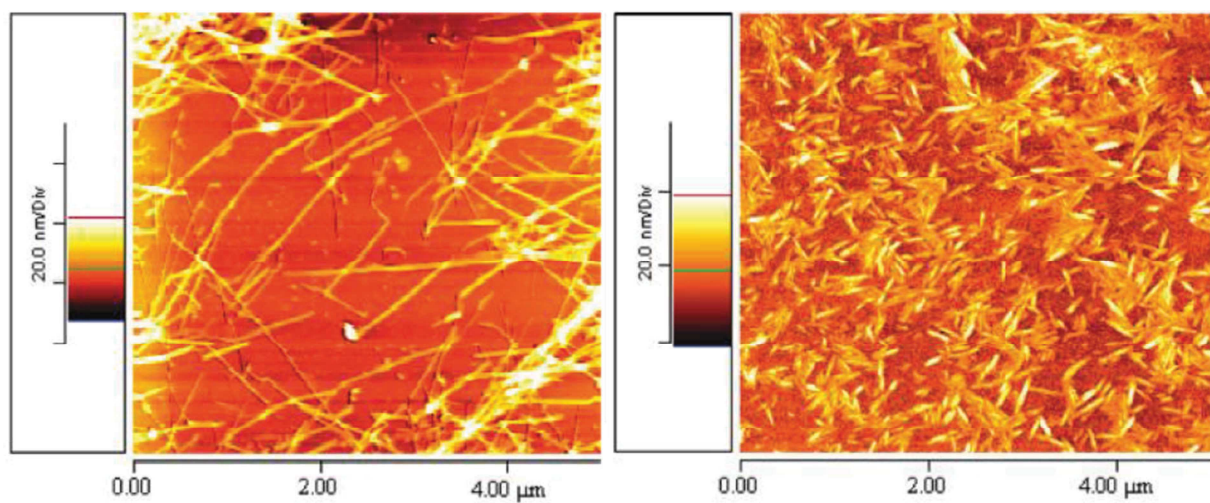


Figure I.8. Images AFM de nanowhiskers de tunicier (à gauche) et de coton (à droite) [21].

La longueur  $L$  et le diamètre  $d$ , de nanowhiskers issus de différentes sources, ainsi que leur rapport de forme  $p=(L/d)$  sont reportés dans le Tableau I.2.

**Tableau I.2. Longueur  $L$ , diamètre  $d$  et rapport de forme  $p=(L/d)$  de nanowhiskers de cellulose de différentes origines.**

Source	Longueur $L$ (nm)	diamètre $d$ (nm)	Rapport de forme $p=(L/d)$	Références
Coton	172	15	12	[22]
Ramie	200	7	29	[23]
Palmier	260	6	43	[24]
Tunicier	1000	15	67	[25]

### *Propriétés mécaniques*

Les nanowhiskers de cellulose ont une grande capacité potentielle de renfort due à leur grande surface spécifique (de l'ordre de plusieurs centaines de  $m^2/g$ ), et à leur rigidité : leur module d'Young varie entre 100 et 160 GPa [26]. Notons que les nanowhiskers de tunicier, utilisés dans ce travail de thèse, présentent un rapport de forme particulièrement élevé comparé à celui de nanowhiskers issus d'autres sources de cellulose (Tableau I.2), ce qui en fait des candidats au renfort particulièrement intéressants.

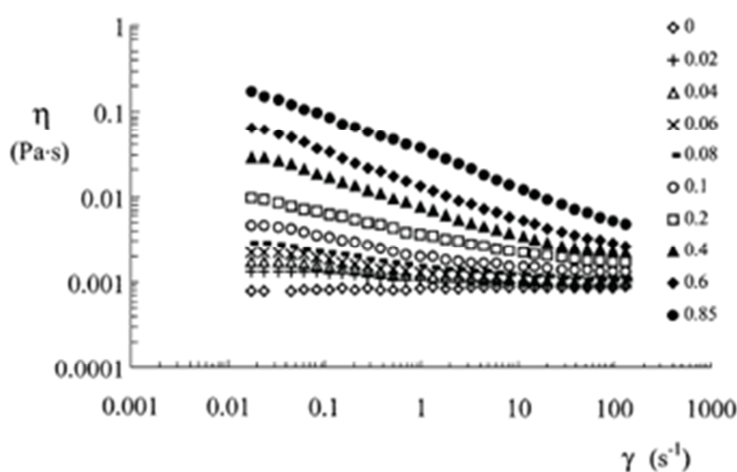
### **I.2.5. Propriétés des nanowhiskers de cellulose en suspension dans l'eau**

L'essentiel des études concernant des nanowhiskers de cellulose en suspension dans l'eau, s'est intéressé à la transition de la phase isotrope à la phase anisotrope, observée d'ailleurs classiquement pour les systèmes à rapport de forme [27]. Cette transition a été classiquement mise en évidence en utilisant des techniques optiques, comme présenté dans plusieurs articles de revue [17, 28].

En revanche, peu d'études se sont intéressées à la mise en évidence de cette transition par caractérisation rhéologique. C'est le cas de Bercea et Navard (2000), qui ont étudié le

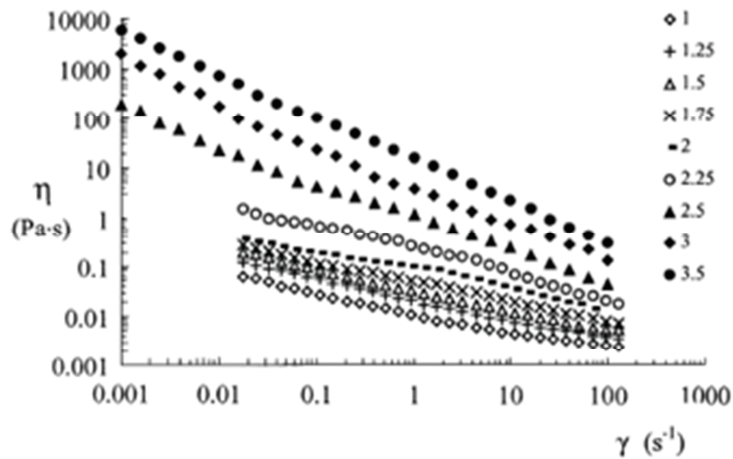
comportement rhéologique de suspensions aqueuses de nanowhiskers de cellulose de tunicier sur une gamme de concentrations allant de 0 à 3,5% en masse [29]. Suivant la concentration, la suspension peut être isotrope au repos, à des concentrations  $c < 0,85\%$  en masse, ou anisotrope au repos, à des concentrations  $c > 0,85\%$  en masse.

Les courbes d'écoulement pour les différentes concentrations en nanowhiskers sont représentées sur les Figures I.9 et I.10. Pour des concentrations inférieures à 0,4% en masse (Figure I.9), il apparaît un plateau newtonien aux faibles taux de cisaillement, en raison de l'orientation aléatoire des nanowhiskers. La viscosité diminue lorsque le taux de cisaillement augmente (comportement rhéofluidifiant), traduisant une tendance à l'alignement des nanowhiskers dans le sens de l'écoulement, jusqu'à obtenir un alignement maximum conduisant à un plateau de viscosité aux forts taux de cisaillement.



**Figure I.9. Courbes d'écoulement de suspensions aqueuses de nanowhiskers de tunicier sur une gamme de concentrations de 0 à 0,85% en masse [29].**

Dans la gamme de concentrations supérieures à 0,6% (Figures I.9 et I.10), les courbes rhéologiques montrent l'existence d'un seuil d'écoulement et de deux régimes rhéofluidifiants marqués de part et d'autre d'une région étroite de comportement rhéofluidifiant plus discrète. Les auteurs font, à ces concentrations plus élevées, une analogie entre le comportement rhéologique des suspensions aqueuses de nanowhiskers de cellulose et celui des solutions de polymères cristaux liquides.



**Figure I.10. Courbes d'écoulement de suspensions aqueuses de nanowhiskers de tunicier sur une gamme de concentrations de 1 à 3,5% en masse [29].**

Une autre étude s'est intéressée à l'influence de la concentration et du rapport de forme sur les propriétés rhéologiques de suspensions de nanowhiskers de coton et de panic (céréale sauvage répandue aux Etats-Unis) [30]. Les résultats, en viscoélasticité linéaire et en écoulement, mettent en évidence trois régimes de concentrations, pour les deux variétés de nanowhiskers étudiées, définissant deux concentrations de transition : la concentration marquant le début du régime semi-dilué (début des contacts entre les nanowhiskers) et la concentration de gélification. Ces deux concentrations sont plus faibles dans le cas des nanowhiskers de panic, en raison de leur rapport de forme plus élevé ( $p_{\text{panic}}=39$ ,  $p_{\text{coton}}=13$ ). Par ailleurs, les auteurs ont étudié la validité de la loi de Cox-Merz ( $\eta(\omega)=\eta(\dot{\gamma})$ ), sur toute la gamme de concentrations, pour les deux suspensions de nanowhiskers. Les résultats, qui confirment ceux obtenus par Ureña-Benavides *et al.*, ne sont pas en accord avec la loi de Cox-Merz [31], ce qui est attribué à la présence de domaines de type cristal liquide dans les suspensions, en accord avec l'analogie proposée par Bercea et Navard (2000) [29].

A notre connaissance, très peu d'études se sont intéressées à la gélification d'une suspension aqueuse de nanowhiskers de cellulose, qui fera l'objet du chapitre III de ce manuscrit.

### **I.2.6. Effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose à une matrice polymère thermoplastique**

Les fibres cellulosiques (ex : chanvre, lin) ont été très étudiées pour le remplacement des fibres inorganiques, telles que les fibres de verre, dans les composites à matrice thermoplastique [32-34]. Les fibres végétales présentent de nombreux avantages : elles sont disponibles dans la nature, faciles à extraire, biodégradables et ont une faible densité. Cependant, leur utilisation comme charges dans des matrices thermoplastiques est limitée en raison d'une mauvaise compatibilité entre les fibres de cellulose hydrophiles et les matrices polymères hydrophobes, ce qui peut avoir pour conséquence un mauvais état de dispersion des charges, qui ont tendance à s'agréger et donc à limiter l'effet renfort.

Plus récemment, les fibres cellulosiques ont été remplacées dans les composites par des nanowhiskers, jugés plus intéressants en raison de leur module d'Young élevé et de leur grande surface spécifique. Ils ont ainsi été étudiés en tant que renforts dans de nombreux thermoplastiques synthétiques (polychlorure de vinyle, polypropylène, polyéthylène, polycaprolactone, poly(styrène-co-butyl acrylate), polysulfone, ...) et plus récemment dans des matrices biopolymères (polyacide lactique, polyhydroxyalcanoate, amidon, ...) [16, 28].

La première étude montrant l'effet renfort des nanowhiskers dans une matrice polymère a été réalisée par Favier *et al.* (1995) [25]. Ces auteurs ont montré une augmentation d'un facteur 500 du module de conservation d'une matrice latex poly(styrène-co-butyl acrylate), par ajout de 6% en masse de nanowhiskers de cellulose de tunicier. Ces charges, aléatoirement distribuées dans la matrice, ont un rapport de forme d'environ 67. L'influence du rapport de forme des charges sur l'effet renfort a été mise en évidence dans la littérature : il faut ajouter 10% de nanocristaux d'amidon ( $p \sim 1$ ) à une matrice thermoplastique pour obtenir un effet renfort comparable à celui apporté par l'ajout de 1% en masse de nanowhiskers de tunicier ( $p \sim 67$ ) [35].

Dans les études publiées, l'effet renfort est attribué non seulement au rapport de forme et à la rigidité élevée des charges, mais aussi au fait qu'elles forment un réseau de percolation au-delà d'une fraction volumique critique. La présence d'un tel réseau percolant permet, en effet, un transfert des contraintes plus efficace, et donc un renforcement plus significatif du composite.

Par exemple, dans le cas de nanowhiskers de cellulose de tunicier ( $p = 67$ ) renforçant un poly( $\beta$ -hydroxyoctanoate), l'effet renfort apporté, à température ambiante, par 3% en masse de nanowhiskers (au-dessus du seuil de percolation) est environ 50 fois supérieur à celui apporté par 1% en masse de nanowhiskers, *i.e.* 0,64% en volume (en-dessous du seuil de percolation) [35]. La fraction volumique critique en nanowhiskers à partir de laquelle le réseau de percolation se forme, dépend du rapport de forme des charges et de leur état de dispersion [16, 36].

Par exemple, pour un réseau homogène aléatoire de bâtonnets :

$$\varphi_c = \frac{0,7}{p} \quad (1) [27]$$

avec  $\varphi_c$ , la fraction volumique critique théorique de percolation et  $p$  le rapport de forme.

Ainsi très logiquement, plus le rapport de forme est grand, plus le seuil de percolation est faible. Par exemple, à partir de la relation (1), la fraction volumique théorique de percolation de nanowhiskers de tunicier, de rapport de forme égal à 67, est de 1% en volume alors que celui de nanowhiskers de coton, de rapport de forme égal à 12, est de 6% en volume [37].

Par ailleurs, une modification chimique adéquate de la surface des nanowhiskers (ex : greffage de polymères [38]) permet d'améliorer l'état de dispersion des nanocharges et donc d'améliorer l'effet renfort.

En conclusion, l'effet renfort apporté par les nanowhiskers dans une matrice polymère thermoplastique dépend de l'état de dispersion des nanocharges, de leur affinité avec la matrice, ainsi que de leur rapport de forme. Ces différents paramètres influencent fortement la formation d'un réseau de percolation, nécessaire à l'obtention du transfert des contraintes le plus efficace. Enfin si l'affinité avec la matrice n'est pas suffisante, des modifications chimiques peuvent être apportées à la surface des nanowhiskers pour améliorer l'état de dispersion des nanocharges et donc l'effet renfort.



### **I.2.7. Effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose à une matrice polymère hydrogel**

Depuis peu, quelques études se sont intéressées à des hydrogels nanocomposites chargés de nanowhiskers de cellulose. Les hydrogels sont caractérisés par un réseau de mailles polymériques emprisonnant des molécules d'eau.

Les hydrogels nanocomposites chargés de nanowhiskers de cellulose sont destinés à différentes applications, dans des secteurs d'activités variés, par exemple dans le secteur biomédical (libération contrôlée de médicaments, ingénierie tissulaire) ou encore celui de l'emballage. Dans le cas d'applications biomédicales, les nanowhiskers sont susceptibles de moduler les propriétés mécaniques d'un hydrogel, en n'entravant ni le caractère injectable, ni la biocompatibilité, ni la biodégradabilité propre à la matrice [39]. Les hydrogels nanocomposites à matrice polysaccharide chargés de nanowhiskers, par exemple les gels d'alginate [40] et de chitosan [41] sont, quant à eux, principalement destinés à être utilisés en tant que films dans l'emballage. Pour ce type d'applications, la présence de nanowhiskers bien dispersés peut permettre d'augmenter les propriétés mécaniques du film pur (par de fortes interactions entre les deux composants) et l'hydrophobie du matériau (en diminuant le nombre de groupements hydrophiles disponibles), tout en diminuant sa perméabilité (augmentation de la tortuosité).

L'effet renfort apporté par les nanowhiskers à un hydrogel a été observé dans la littérature. Par exemple, l'incorporation de 0,5% en masse de nanowhiskers de coton ( $p \sim 10$ ) à une matrice cyclodextrine (un oligosaccharide cyclique)/PEO-PPO-PEO (PEO : polyéthylène glycol ; PPO : poly(oxyde de propylène)) augmente d'un facteur 50 le module de conservation de la matrice seule [39]. Cet effet renfort serait lié à la formation de liaisons hydrogène entre les charges et la matrice, conduisant à un transfert des contraintes efficace entre les deux composants. De même, dans des systèmes alcool polyvinylique (PVA) chargés de nanowhiskers de bois ( $p \sim 20$ ), l'ajout de 1,5% en masse de nanowhiskers augmente d'un facteur 6 la contrainte en compression de l'hydrogel, à 25% de déformation [42].

A ces liaisons hydrogène peuvent s'ajouter des liaisons covalentes, comme dans le cas d'hydrogels de polyacrylamide (PAA) synthétisés par voie radicalaire, chargés de nanowhiskers de cellulose ( $p \sim 12$ ) issus de cellulose microcristalline commerciale. Pour ce système, les propriétés viscoélastiques et en compression s'améliorent avec la concentration

en nanowhiskers. En effet, l'ajout de 6,7% en masse de nanowhiskers augmente d'un facteur 5 le module de conservation et de 2,5 fois la contrainte en compression à 85% de déformation [43]. Un effet renfort bien plus remarquable a été observé dans le cas d'une matrice PAA synthétisée par voie radicalaire, chargée de nanowhiskers de bois ( $p \sim 21$ ) modifiés par un traitement silane. Aux petites déformations, les résultats montrent qu'un hydrogel de PAA chargé à 3% en masse de nanowhiskers a un module de conservation deux décades au-dessus de celui d'un hydrogel de PAA chargé à 0,2%. Aux grandes déformations, l'ajout de 3% en masse de nanowhiskers permet une augmentation d'un facteur 12 de la résistance à la traction et d'un facteur 7 de la déformation à la rupture, par rapport à la matrice PAA seule [44]. Dans ce cas, la présence d'un réseau réticulé entre la matrice et les charges, impliquant des liaisons covalentes, contribue à l'effet renfort.

Ainsi, l'effet renfort peut être apporté par des nanowhiskers interagissant *via* des interactions faibles (hydrogène) et/ou des interactions fortes (covalentes). Cela dit, il est difficile de tirer de la littérature les conditions permettant d'obtenir un effet renfort optimum par ajout des nanowhiskers à une matrice hydrogel. En outre, à notre connaissance, la question importante de l'effet de la présence ou non d'un réseau percolant de nanowhiskers sur les propriétés de renfort d'hydrogels nanocomposites n'a pas été abordé dans la littérature.

Comme dans le cas des thermoplastiques, l'amélioration des propriétés mécaniques des hydrogels par l'ajout de nanowhiskers ne dépend pas uniquement des propriétés intrinsèques de ces derniers (grande surface spécifique et module d'Young élevé), mais elle dépend aussi d'un bon état de dispersion, lié à la densité de charges électriques présente à la surface des nanowhiskers, ainsi que de la nature et de l'intensité des interactions charges/matrice. Cependant, contrairement aux cas des matrices thermoplastiques, peu de modifications chimiques à la surface des nanowhiskers sont nécessaires pour améliorer l'affinité des nanowhiskers avec la matrice en raison du caractère hydrophile des nanocharges.

La différence la plus importante entre les nanocomposites à matrice thermoplastique et ceux à matrice hydrogel vient de la différence de structure entre ces systèmes : l'un a une matrice constituée de chaînes de polymères enchevêtrées et l'autre, une matrice constituée d'un réseau tridimensionnel plus ou moins lâche de mailles stabilisé par des zones de jonctions. La question de la localisation des nanowhiskers dans les mailles est donc une question clé dans le cas des nanocomposites à matrice hydrogel.

En lien avec la localisation des nanowhiskers dans le réseau, l'ajout de nanowhiskers dans une matrice hydrogel n'est pas toujours favorable à l'amélioration de l'effet renfort. L'un des facteurs limitant est l'agrégation des nanocharges celluloses, due à la diminution de la taille des mailles de l'hydrogel [45] et/ou à l'excès de nanowhiskers [39, 43]. Bica *et al.* (2000) ont étudié le mouvement de nanowhiskers de coton, emprisonnés dans un hydrogel d'agarose, matrice de notre étude, par diffusion de lumière polarisée [45]. Ils ont constaté que le mouvement des nanowhiskers était dépendant de la taille de maille de l'agarose, en accord avec l'hypothèse de localisation de ces charges dans les mailles de l'hydrogel. En effet, lorsque la taille de maille est plus grande que la longueur des nanowhiskers, les charges peuvent se mouvoir librement. Cependant, lorsque la concentration en agarose augmente et par conséquent, que la taille de maille devient plus faible que la longueur des nanowhiskers, des phénomènes de migration apparaissent conduisant à l'agrégation des nanowhiskers dans les mailles de tailles les plus larges.

Par ailleurs, Osorio-Madrado *et al.* (2012) ont réalisé une étude sur l'orientation de nanowhiskers de cellulose dans un hydrogel d'agarose (5%), matrice de notre étude [46]. Ces travaux montrent qu'une orientation des nanowhiskers peut être induite dans la matrice en couplant une méthode de séchage de l'hydrogel chargé à une sollicitation mécanique en traction. Lorsque l'hydrogel nanocomposite, étiré, est séché, les nanowhiskers, emprisonnés dans les mailles du réseau, s'orientent dans le sens de la contrainte et des interactions apparaissent entre la matrice et les charges, *via* des liaisons hydrogène. Ces interactions permettent un transfert des contraintes plus important entre ces deux composants, améliorant ainsi les propriétés mécaniques du nanocomposite dans une direction privilégiée.

En conclusion, cette partie a permis de présenter l'élaboration et les caractéristiques des nanowhiskers de cellulose, ainsi que les propriétés de ces derniers dans différents systèmes. Dans les hydrogels nanocomposites, l'effet renfort apporté par les nanowhiskers est influencé par l'état de dispersion des nanocharges (lié à la charge électrique à la surface des nanowhiskers) et, la nature et l'intensité des interactions charges/matrice. Cependant, on peut s'étonner que contrairement aux très nombreuses études menées sur l'effet renfort apporté par les nanowhiskers à des matrices thermoplastiques, aucune étude réalisée sur les hydrogels nanocomposites n'aborde la question de l'existence ou non d'un réseau de percolation formé par les nanocharges celluloses.

Par ailleurs, les travaux réalisés sur des hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose, systèmes de notre étude, ont montré que les nanocharges cellulosiques se dispersaient bien dans les mailles du réseau d'agarose et que des liaisons faibles (hydrogène) pouvaient être formées entre les charges et la matrice. Néanmoins, lorsque l'un des deux composants est en excès, les nanowhiskers peuvent s'agréger. Enfin, il a été montré qu'il était possible d'orienter les nanowhiskers dans une matrice agarose afin d'obtenir un hydrogel nanocomposite anisotrope.

Ces données de la littérature seront utiles dans la compréhension de l'étude structurale et rhéologique de l'effet renfort apporté par des nanowhiskers de tunicier à une matrice agarose et à sa modulation, qui fera l'objet des chapitres IV et V de ce manuscrit.

## Références

- [1] J. F. Revol, C. Gancet, D. A. I. Goring, Orientation of cellulose crystallites in the S2 layer of spruce and birch wood cell-walls, *Wood Science*, 14, 120-126, 1982.
- [2] E. Winterstein, Zur kenntniss der thiercelulose oder des tunicins, *Biological Chemistry*, 18, 43-56, 1894.
- [3] C. Tokoh, K. Takabe, M. Fujita, H. Saiki, Cellulose synthetized by *Acetobacter xylinum* in presence of acetyl glucomannan, *Cellulose*, 5, 249-261, 1998.
- [4] A. D. French, N. R. Bertoniere, R. N. Brown, H. Chanzy, D. Gray, K. Hattori, W. Glasser, In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* 5th ed.; Seidel, A., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2004; Vol. 5.
- [5] J. Engelhardt, Sources, industrial derivatives and commercial application of cellulose, *Carbohydrates in Europe*, 12, 5-14, 1995.
- [6] R. Thakur, C. R. Sarkar, M. Sarmah, Chemical composition of some varieties of ramie and their fibre characteristics, *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, 24, 276-278
- [7] P. B. Sarkar, The cellulosan of jute fibre, *Nature*, 167, 357-358, 1951.
- [8] P. J. Harris, B. G. Smith, Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products, *International Journal of Food Science & Technology*, 41, 129-143, 2006.
- [9] M. J. DeNiro, S. Epstein, Isotopic composition of cellulose from aquatic organisms, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45, 1885-1894, 1981.
- [10] E. Dinand, H. Chanzy, M. R. Vignon, Parenchymal cell cellulose from sugar beet pulp: preparation and properties, *Cellulose*, 3, 183-188, 1996.
- [11] E. Sjöström, *Wood chemistry: fundamentals and applications*. Wood pulping (p. 140-164), London, UK: Academic Press Limited.
- [12] N. Carpita, M. McCann, *The cell wall*. In B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (p. 52-108). Rockville, Maryland: American Society of Plants Physiologists, 2000.

- [13] S. Elazzouzi-Hafraoui, S. Nishiyama, Y. Putaux, J. L. Heux, L. Dubreuil, C. Rochas, The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose, *Biomacromolecules*, 9, 57-65, 2008.
- [14] S. P. Rowland, E. J. Roberts, The nature of accessible surfaces in the microstructure of cotton cellulose, *Journal of Polymer Science: Part A-1*, 10, 2447-2461, 1972.
- [15] Y. Nishiyama, U. J. Kim, D. Y. Kim, K. S. Katsumata, R. P. May, P. Langan, Periodic disorder along ramie cellulose microfibrils, *Biomacromolecules*, 4, 1013-1017, 2003.
- [16] M. A. S. A. Samir, F. Alloin, A. Dufresne, Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field, *Biomacromolecules*, 6, 612-626, 2005.
- [17] Y. Habibi, L. A. Lucia, O. J. Rojas, Cellulose Nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications, *Chemical Reviews*, 110, 3479-3500, 2010.
- [18] X. M. Dong, J. Revol, D. G. Gray, Effect of microcrystalline preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose, *Cellulose*, 5, 19-32, 1998.
- [19] J. Araki, M. Wada, S. Kuga, T. Okano, Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 142, 75-82, 1998.
- [20] S. Beck-Candanedo, M. Roman, D. G. Gray, Effect of reaction conditions on the properties and behaviour of wood cellulose nanocrystal suspensions, *Biomacromolecules*, 6, 1048-1054, 2005.
- [21] R. Rusli, K. Shanmuganathan, S. J. Rowan, C. Weber, S. J. Eichhorn, Stress transfer in cellulose nanowhisker composites – influence of whisker aspect ratio and surface charge, *Biomacromolecules*, 12, 1363-1369, 2011.
- [22] M. Roohani, Y. Habibi, N. M. Belgacem, G. Ebrahim, A. N. Karimi, A. Dufresne, Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites, *European Polymer Journal*, 44, 2489-2498, 2008.
- [23] Y. Habibi, A. L. Goffin, N. Schiltz, E. Duquesne, P. Dubois, A. Dufresne, Bionanocomposites based on poly(epsilon-caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization, *Journal of Materials Chemistry*, 18, 5002-5010, 2008.

- [24] A. Bendahou, Y. Habibi, H. Kaddami, A. Dufresne, Physico-chemical characterization of palm from Phoenix Dactylifera-L, preparation of cellulose whiskers and natural rubber-based nanocomposites, *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 3, 81-90, 2009.
- [25] V. Favier, H. Chanzy, J. Y. Cavaille, Polymer nanocomposite reinforced by cellulose nanowhiskers, *Macromolecules*, 28, 3311-3314, 1995.
- [26] A. Sturcova, G. R. Davies, S. J. Eichhorn, Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers, *Biomacromolecules*, 6, 1055-1061, 2005.
- [27] M. J. Solomon, P. T. Spicer, Microstructural regimes of colloidal rod suspensions, gels, and glasses, *Soft Matter*, 6, 1391-1400, 2010.
- [28] M. M. De Souza Lima, R. Borsali, Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications, *Macromolecular Rapid Communication*, 25, 771-787, 2004.
- [29] M. Bercea, P. Navard, Shear dynamics of aqueous suspensions of cellulose whiskers, *Macromolecules*, 33, 6011-6016, 2000.
- [30] Q. Wu, Y. Meng, S. Wang, Y. Li, S. Fu, L. Ma, D. Harper, Rheological behavior of cellulose nanocrystal suspension: influence of concentration and aspect ratio, *Journal of Applied Polymer Science*, 131, 40525, 2014.
- [31] E. E. Ureña-Benavides, G. Ao, V. A. Davis, C. L. Kitchens, Rheology and phase behavior of lyotropic cellulose nanocrystal suspensions, *Macromolecules*, 44, 8990-8998, 2011.
- [32] P. Wambua, J. Ivens, I. Verpoest, Natural fibers: can they replace glass in fibre reinforced plastics, *Composite Science and Technology*, 63, 1259-1264, 2003.
- [33] S. Taj, M. A. Munawar, S. Kahn, Natural fiber-reinforced polymer composites, *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences*, 44, 129-144, 2007.
- [34] X. Li, L. G. Tabil, S. Panigrahi, Chemical treatments of natural fiber for use in natural fiber-reinforced composites: a review, *Journal of Polymers and the Environment*, 15, 25-33, 2007.
- [35] D. Dubief, E. Samin, A. Dufresne, Polysaccharide microcrystals reinforced amorphous poly( $\beta$ -hydroxyoctanoate) nanocomposite materials, *Macromolecules*, 32, 5765-5771, 1999.

- [36] S. J. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren, N. E. Marcovitch, J. R. Capadona, S. J. Rowan, C. Weder, W. Thielemans, M. Roman, S. Renneckar, W. Gindl, S. Veigel, J. Keckes, H. Yano, K. Abe, M. Nogi, A. N. Nakagaito, A. Mangalam, J. Simonsen, A.S. Benight, A. Bismarck, L. A. Berglund, T. Peijs, Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites, *Journal of Materials Science*, 45, 1-33, 2010.
- [37] G. Siqueira, J. Bras, A. Dufresne, Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications, *Polymers*, 2, 728-765, 2010.
- [38] G. Siqueira, J. Bras, A. Dufresne, Cellulose whiskers versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites, *Biomacromolecules*, 10, 425-432, 2009.
- [39] X. Zhang, J. Huang, P. R. Chang, J. Li, Y. Chen, D. Wang, J. Yu, J. Chen, Structure and properties of polysaccharide nanocrystal-doped supramolecular hydrogels based on cyclodextrin inclusion, *Polymer*, 51, 4398-4407, 2010.
- [40] M. Abdollahi, M. Alboofetileh, M. Rezaei, R. Behrooz, Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers, *Food Hydrocolloids*, 32, 416-424, 2013.
- [41] A. Khan, R. A. Khan, S. Salmieri, C. L. Tien, B. Riedl, J. Bouchard, G. Chauve, V. Tan, M. R. Kamal, M. Lacroix, Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films, *Carbohydrate Polymers*, 90, 1601-1608, 2012.
- [42] T. Abitbol, T. Johnstone, T. M. Quinn, D. G. Gray, Reinforcement with cellulose nanocrystals of poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by cyclic freezing and thawing, *Soft Matter*, 7, 2373-2379, 2011.
- [43] C. Zhou, Q. Wu, Y. Yue, Q. Zhang, Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels, *Journal of Colloid and Interface Science*, 353, 116-123, 2011.
- [44] J. Yang, C. R. Han, J. F. Duan, M. G. Ma, X. M. Zhang, F. Xu, R. C. Sun, Synthesis and characterization of mechanically flexible and tough cellulose nanocrystals-polyacrylamide nanocomposite hydrogels, *Cellulose*, 227-237, 2013.



[45] C. I. D. Bica, R. Borsali, E. Geissler, C. Rochas, Dynamics of cellulose whiskers in agarose gels. 1. Polarized dynamic light scattering, *Macromolecules*, 34, 5275-5279, 2001.

[46] A. Osorio-Madrado, M. Eder, M. Rueggeberg, J. K. Pandey, M. J. Harrington, Y. Nishiyama, J. L. Putaux, C. Rochas, I. Burgert, Reorientation of cellulose nanowhiskers in agarose hydrogels under tensile loading, *Biomacromolecules*, 13, 850-856, 2012.

# Chapitre II

## Matériaux et méthodes

### II.1. Matériaux

#### II.1.1. Matrice

##### *Caractéristiques*

La matrice de l'étude, l'agarose, est fournie sous forme de poudre par la société *Eurogotec* (Belgique). Sa viscosité intrinsèque est de  $280 \text{ cm}^3/\text{g}$ , correspondant à une masse molaire moyenne de 101 000 Da.

##### *Préparation des solutions d'agarose*

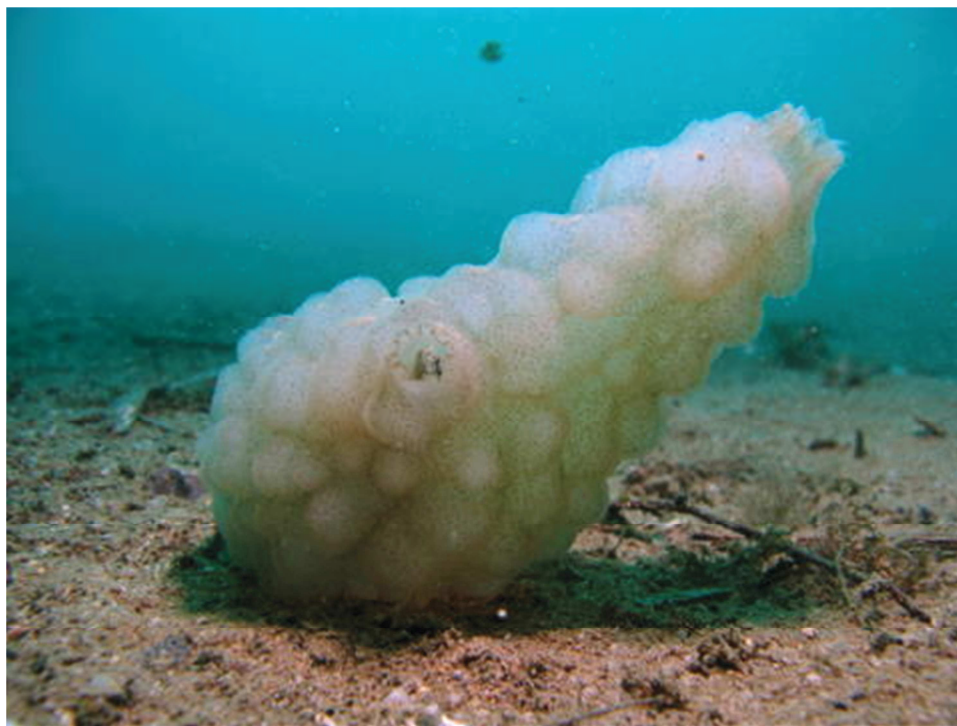
Pour préparer des solutions aqueuses d'agarose, la quantité souhaitée de poudre d'agarose est dispersée dans une eau déionisée à une température proche de  $90^\circ\text{C}$  sous agitation magnétique à 800 tours/min durant 10 min. Les solutions forment des gels en refroidissant jusqu'à température ambiante dans des boîtes de Pétri et sont caractérisées dans les 48h. L'utilisation de boîtes de Pétri facilite l'extraction des échantillons pour la caractérisation rhéologique.

#### II.1.2. Charges

##### *Origine de la cellulose*

La cellulose est extraite d'un animal marin : le tunicier. Le tunicier est un invertébré, nomade ou sédentaire, vivant dans toutes les eaux du globe. Les tuniciers sont caractérisés par leur enveloppe protectrice, composée de cellulose, appelée tunique. Environ 1500 espèces sont recensées. L'espèce utilisée lors de notre étude est le *Phallusia Mammillata*. Le tunicier est uniquement constitué de cellulose  $I\beta$ .

Les tuniciers, illustrés sur la Figure II.1, ont été fournis par la station biologique de Roscoff.



**Figure II.1. Tunicier (*Phallusia Mammillata*).**

### *Elaboration des nanowhiskers de cellulose*

Les nanowhiskers de cellulose sont extraits du tunicier en utilisant un protocole mis au point à la station biologique de Roscoff.

Le protocole d'élaboration est composé de deux grandes étapes : l'extraction/purification de la cellulose et l'hydrolyse acide de cette dernière.

### *Extraction et purification de la cellulose*

Les tuniques d'une douzaine de tuniciers sont nettoyées à l'eau puis découpées en morceaux d'environ 1 cm<sup>3</sup>, préalablement à leur dégradation dans de la potasse KOH 5%.

Les morceaux de tuniques ainsi dégradés sont récupérés, rincés à l'eau puis broyés à l'aide d'un ultraturax après extraction des impuretés.

Les protéines sont ensuite extraites en suivant trois étapes successives de blanchiment et d'élimination des protéines, alternant un nettoyage à la potasse 5% à température ambiante durant 3h, et un nettoyage avec un mélange constitué de chlorite de sodium à 1,7% en masse et d'une solution d'acétate (27g de soude et 75 ml d'acide acétique, complétés par un litre d'eau distillé), à 70°C durant 4h.

Cette étape est menée jusqu'à l'obtention d'une cellulose blanche.

### *Hydrolyse acide*

Après blanchiment, la cellulose subit une hydrolyse acide à l'acide sulfurique 96%. L'hydrolyse acide est effectuée en plusieurs étapes.

Dans un premier temps, le résidu cellulosique purifié est dispersé dans de l'eau déionisée à une concentration voisine de 10% en masse. Dans un second temps, environ 100 ml d'acide sulfurique à 96% sont ajoutés goutte-à-goutte sous agitation mécanique et dans un bain de glace. Durant cette étape, la température du milieu doit rester inférieure à 32°C afin de ne pas dégrader les nanocristaux. Dans un troisième temps, le mélange est chauffé durant 45 min à 70°C pour permettre à l'acide sulfurique de dégrader les parties amorphes de la cellulose.

### *Préparation des suspensions de nanowhiskers*

Après l'hydrolyse acide, les nanowhiskers de cellulose sont récupérés à l'aide d'un entonnoir filtrant n°4 de taille de pores de 10 à 16 µm. De l'eau est rajoutée afin d'éliminer au maximum l'acide sulfurique. Les nanowhiskers de cellulose sont ensuite dispersés dans de l'eau déionisée. La suspension est dialysée durant 36 h jusqu'à atteindre un pH de 7, garantissant l'élimination quasi-totale de l'acide sulfurique. La suspension subit un fort traitement aux ultrasons (sonde Misonix d'une puissance de 600 W, émettant des ultrasons à une fréquence de 20 kHz) afin d'individualiser les nanowhiskers. Environ 1,5 g de résine échangeuse d'ions (Mixed bed resin TDM-8, Sigma Aldrich) est mis en contact avec la suspension aqueuse de nanowhiskers, sous agitation durant 36 à 48 h, afin d'éliminer les ions non-covalents. La résine échangeuse d'ions est enlevée, puis 0,02% d'azoture de sodium est incorporé à la suspension afin d'éviter un développement bactérien. La suspension finale est conservée au réfrigérateur à environ 4°C. Le pH final de la suspension est d'environ 6, stable sur 6 mois.

### II.1.3. Hydrogels nanocomposites

#### *Préparation d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose*

La suspension de nanowhiskers, préalablement traitée par ultrasons durant 10 min dans un bain de glace, est chauffée sous agitation magnétique à 800 tours/min. La sonde à ultrasons utilisée (Vibra Cell, Bioblock Scientific) a une puissance de 50 W et émet des ultrasons à une fréquence de 23 kHz. Lorsque la température est proche de 90°C, la quantité souhaitée de poudre d'agarose est ajoutée à la suspension sous agitation mécanique. Cette agitation est poursuivie 10 min, puis environ 10 ml de mélange sont versés dans des boîtes de Pétri.

Les échantillons d'hydrogels sont conservés au réfrigérateur à 4°C et caractérisés dans les 48h.

## II.2. Titrage conductimétrique

Un titrage conductimétrique à la soude (NaOH) a été réalisé afin de déterminer le degré de substitution des groupements OH par les groupements  $\text{SO}_3^-$ , en raison de l'hydrolyse acide à l'acide sulfurique.

La connaissance du volume de soude,  $V_{\text{éq}}$ , nécessaire à la neutralisation des ions  $\text{SO}_3^-$  permet la détermination du degré de substitution :

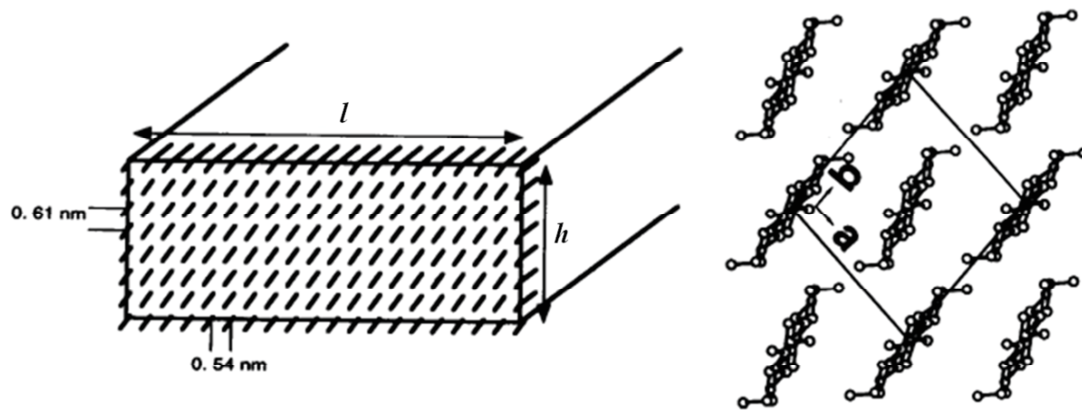
$$DS = \frac{V_{\text{éq}} * C_{\text{NaOH}} * M_{\text{moyenne}}}{m_{\text{cellulose}}}$$

avec  $C_{\text{NaOH}}$  : la concentration molaire de soude,  $M_{\text{moyenne}}$  : la masse molaire moyenne d'une unité glucose et  $m_{\text{cellulose}}$  : la masse sèche de cellulose.

$$M_{\text{moyenne}} = \frac{M_{\text{glucose}}}{1 - \left( \frac{(M_{\text{glucose}} - M_{\text{sulfaté}}) * V_{\text{éq}} * C_{\text{NaOH}}}{m_{\text{cellulose}}} \right)}$$

avec  $M_{\text{glucose}}$  : la masse molaire d'une unité glucose et  $M_{\text{sulfaté}}$  : la masse molaire d'une unité glucose sulfatée. Ainsi, la masse molaire moyenne,  $M_{\text{moyenne}}$ , tient compte de la masse des unités de glucose sulfatées.

Dans l'hypothèse où seuls les groupements OH situés à la surface sont substitués, à partir du degré de substitution  $DS$ , on peut déduire le degré de substitution à la surface des nanowhiskers  $DSS$ , si l'on connaît le pourcentage de chaînes de cellulose à la surface d'un nanowhisker. Ce pourcentage est obtenu en suivant la démarche décrite par Goussé *et al.* (2002) [1] : la section d'un nanowhisker est modélisée par un rectangle de largeur  $l$  et de hauteur  $h$  (voir Figure II.2), déterminées à partir des clichés obtenus en MET et AFM. La structure cristallographique de la cellulose  $I_\beta$ , qui compose le nanowhisker, est caractérisée par les longueurs caractéristiques  $a = 0,801$  nm et  $b = 0,817$  nm, comme représenté sur la Figure II.2 [2].



**Figure II.2. Schéma d'une section de nanowhisker de tunicien (à gauche) et du modèle de la structure cristallographique de la cellulose  $I_\beta$  (à droite) [1].**

Les plans cristallographiques  $(1\bar{1}0)$  sont séparés d'une distance de  $0,61$  nm, sur la hauteur, et d'une distance de  $0,54$  nm, sur la largeur du nanowhisker. Ainsi, dans ce cristal moyen, il y a  $(l \times h) / (0,61 \times 0,54)$  chaînes de cellulose, tandis que le nombre de chaînes de cellulose à la surface est  $2(l/0,54) + 2(h/0,61)$ . D'où un pourcentage de chaînes de cellulose à la surface d'un nanowhisker égal à :

$$\% \text{chaînes de cellulose à la surface} = \frac{2(l/0,54) + 2(h/0,61)}{(l \times h) / (0,61 \times 0,54)}$$

On en déduit le degré de substitution surfacique  $DSS$  :

$$DSS = DS / \% \text{chaînes de cellulose à la surface}$$

## II.3. Caractérisation structurale

### II.3.1. Microscopie électronique en transmission (MET)

Un microscope JEOL JEM-1230, équipé d'un canon à filament LaB6 (hexaborure de lanthane), fonctionnant à une tension d'accélération de 80kV, a été utilisé (Plateforme de Microscopie BIBS de l'INRA de Nantes).

Les échantillons sont déposés sur une grille de cuivre recouverte de carbone ionisé, avant application d'une coloration négative à l'acétate d'uranyle (1%), qui permet de mieux distinguer les contours des objets organiques dont le contraste est naturellement faible.

Les clichés MET ont été utilisés pour déterminer les longueurs caractéristiques des nanowhiskers (longueur moyenne  $L$  et diamètre moyen  $d$ ), et par conséquent leur rapport de forme  $p=L/d$ . Les échantillons sont observés à un grossissement compris entre 3000x et 80000x.

### II.3.2. Microscopie à force atomique (AFM)

Les images de microscopie à force atomique (AFM) ont été acquises à l'air sur un microscope Autoprobe CP Park Scientific Instrument (Sunnyvale, CA).

Les échantillons d'hydrogels d'agarose pur et chargés, préalablement déposés sur une lame de verre après avoir été chauffés à environ 90°C, sont ensuite séchés à température ambiante.

Pour chaque échantillon, des images de topographie et de contraste de phase sont enregistrées à l'air en utilisant le mode intermittent (ou tapping). La constante de raideur du levier est de 38 N/m. Les pointes utilisées sont en silicium dopé au phosphore (Veeco probes, CA-USA). La fréquence d'excitation de la pointe est, dans chaque cas, fixée autour de 280 kHz et la vitesse de balayage à la surface de l'échantillon est de 1 Hz. Les surfaces scannées varient entre 1 x 1  $\mu\text{m}^2$  et 40 x 40  $\mu\text{m}^2$ . Les images expérimentales sont traitées avec le logiciel WSxM 4.0 (NanotecElectronica).

Les clichés AFM permettent de caractériser la hauteur  $h$  des nanowhiskers, ainsi que la structure des hydrogels d'agarose pur et chargés.

## II.4. Caractérisation rhéologique

### II.4.1. Principe

La rhéologie est la science de l'écoulement et de la déformation de la matière. La caractérisation rhéologique repose sur l'application d'une contrainte  $\tau$  à un échantillon et sur la mesure de sa déformation  $\gamma$  ou le contraire.

Tous les tests menés dans ces travaux de thèse ont été effectués en cisaillement simple plan (Figure II.3).

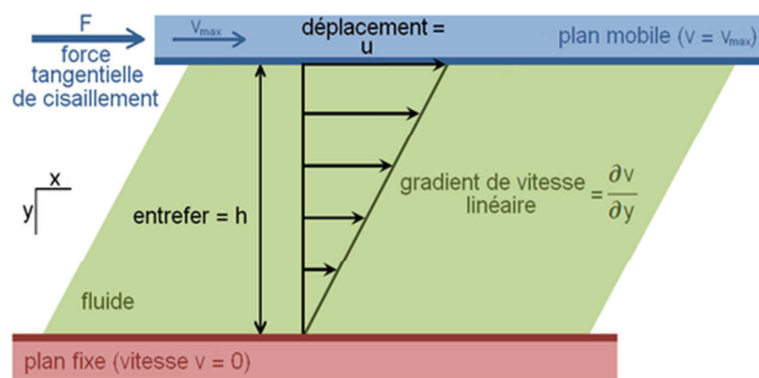


Figure II.3. Cisaillement simple plan.

### II.4.2. Rhéomètres

Le comportement rhéologique des suspensions aqueuses de nanowhiskers de cellulose a été étudié à l'aide d'un rhéomètre rotatif à déformation imposée ARES (RheometricScientific). La géométrie utilisée est une géométrie plan-plan de 50 mm de diamètre recouverte de papier abrasif d'une rugosité de  $80 \mu\text{m}$  pour éliminer les phénomènes de glissement. L'entrefer est fixé à 1 mm et la température à  $20^\circ\text{C}$ .

Les essais rhéologiques des hydrogels d'agarose pur et chargés ont été menés sur le rhéomètre rotatif à contrainte imposée Gemini (Bohlin Instruments). Les mesures ont été effectuées avec une géométrie de type plan-plan de diamètre 25 mm, recouverte de papier abrasif d'une rugosité de  $80 \mu\text{m}$  à une température de  $20^\circ\text{C}$ , l'entrefer étant fixé à 1,5 mm. Les tests commencent 15 min après le chargement afin de laisser relaxer les contraintes liées au chargement de l'échantillon dans l'entrefer de mesure.



Enfin, de l'huile de silicone basse viscosité a été utilisée afin d'éviter l'évaporation de l'eau durant les tests rhéologiques.

### II.4.3. Tests

#### *Cisaillement oscillatoire*

Le principe des mesures en cisaillement oscillatoire consiste à faire subir au milieu une contrainte  $\tau$  (ou une déformation  $\gamma$ ) fonction sinusoïdale du temps :

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t), \quad \text{avec } \omega = 2\pi f$$

$f$  étant la fréquence,  $\omega$  la pulsation (ou la fréquence angulaire) et  $\tau_0$  l'amplitude maximale de contrainte.

Dans le domaine de viscoélasticité linéaire, la déformation  $\gamma$  (ou la contrainte  $\tau$ ) est aussi une fonction sinusoïdale du temps, de même fréquence angulaire  $\omega$ , mais avec un déphasage  $\delta$ ; la déformation s'écrit donc :

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t + \delta)$$

$\gamma_0$  est l'amplitude maximale de déformation.

Le déphasage  $\delta$  entre la contrainte  $\tau$  et la déformation  $\gamma$  permet de caractériser les comportements purement élastiques ( $\delta = 0$ ), purement visqueux ( $\delta = \pi/2$ ) ou viscoélastiques ( $0 < \delta < \pi/2$ ).

La contrainte et la déformation peuvent être écrites en notation complexe :

$$\tau^* = \tau_0 e^{i\omega t}$$

$$\gamma^* = \gamma_0 e^{i(\omega t + \delta)}$$

Et le module complexe de cisaillement est alors défini par :

$$G^* = \tau^*/\gamma^* = G' + iG''$$

avec

$G' = (\tau_0/\gamma_0)\cos\delta$ , la partie réelle du module complexe, appelée module de conservation, ou module élastique.

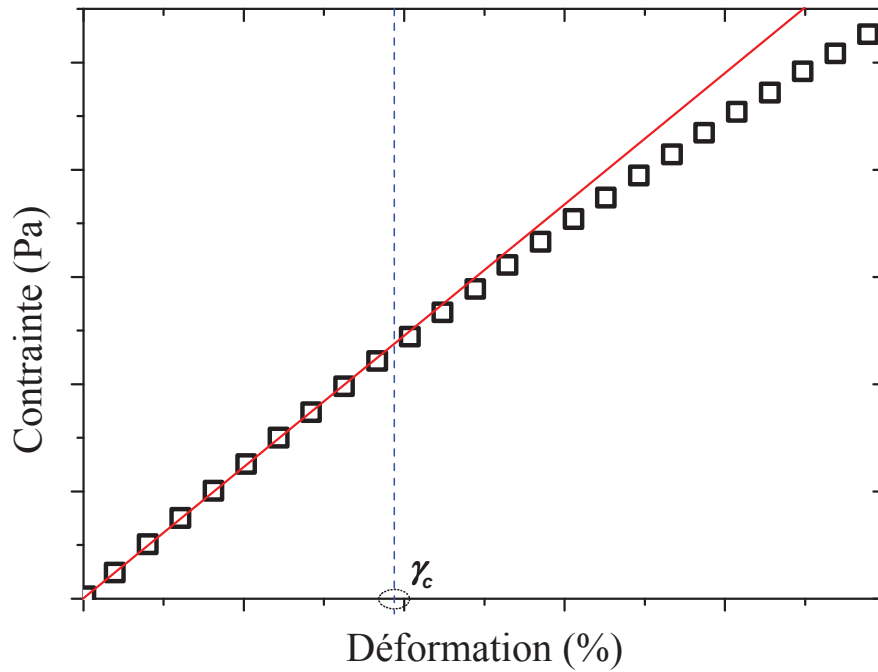
$G'' = (\tau_0/\gamma_0)\sin\delta$ , la partie imaginaire du module complexe, appelée module de perte, ou module visqueux.

Le module de conservation  $G'$  quantifie l'énergie emmagasinée dans l'échantillon sous forme élastique, et le module de perte  $G''$  l'énergie dissipée par frottement visqueux au sein de cet échantillon. Pour quantifier la valeur relative de ces modules viscoélastiques, on définit l'angle de perte  $\delta$  (déphasage):

$$\tan \delta = G''/G'$$

La variation des modules  $G'$  et  $G''$  d'un système en fonction de la fréquence (ou de la pulsation) permet de caractériser le comportement viscoélastique du milieu et renseigne sur sa structure.

Les essais en spectrométrie mécanique menés dans ce travail de thèse ont été réalisés dans le domaine de réponse linéaire. La détermination expérimentale de la déformation critique,  $\gamma_c$ , délimitant le domaine de réponse linéaire, est illustrée sur la Figure II.4.

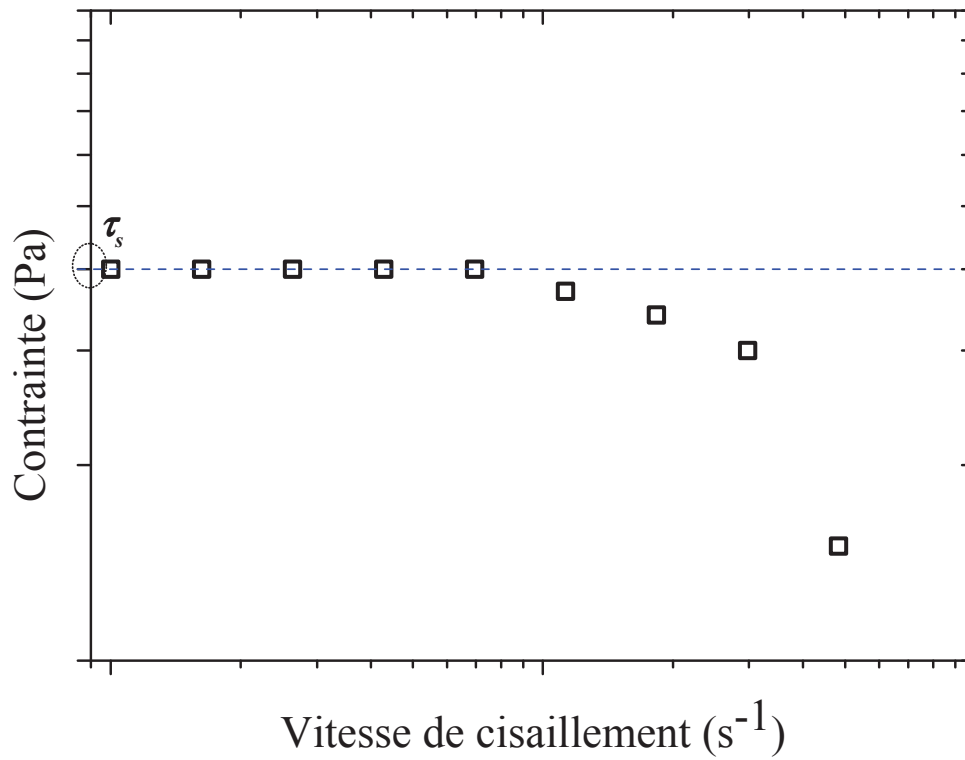


**Figure II.4. Principe de la détermination graphique de la déformation critique  $\gamma_c$ .**

### *Cisaillement permanent*

L'objectif de ces tests est d'étudier les différents régimes d'écoulement et de déterminer l'existence d'une éventuelle contrainte-seuil.

La Figure II.5 illustre la détermination d'une contrainte-seuil à partir d'une courbe représentant la contrainte en fonction du taux de cisaillement.

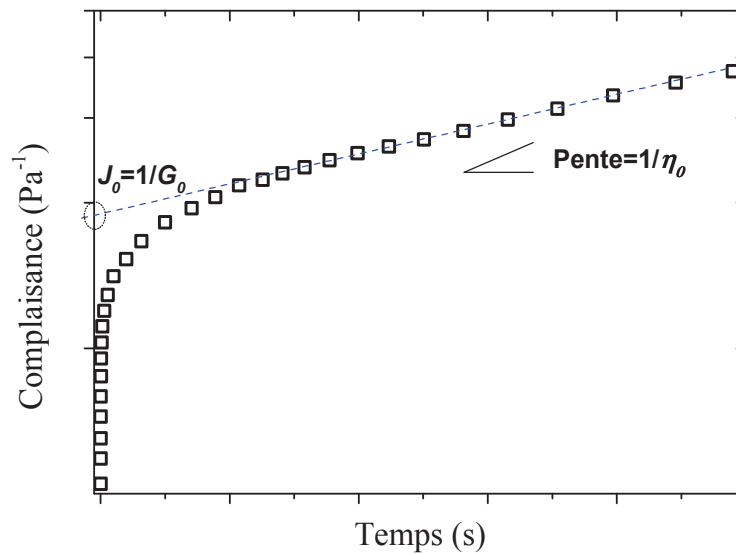


**Figure II.5. Principe de la détermination de la contrainte-seuil à partir d'une courbe d'écoulement.**

### *Fluage*

Un essai de fluage consiste à imposer une contrainte de cisaillement  $\tau$  constante et à mesurer la déformation  $\gamma(t)$  au cours du temps, permettant de déterminer la complaisance  $J(t)$  du matériau :

$$J(t) = \frac{\gamma(t)}{\tau}$$



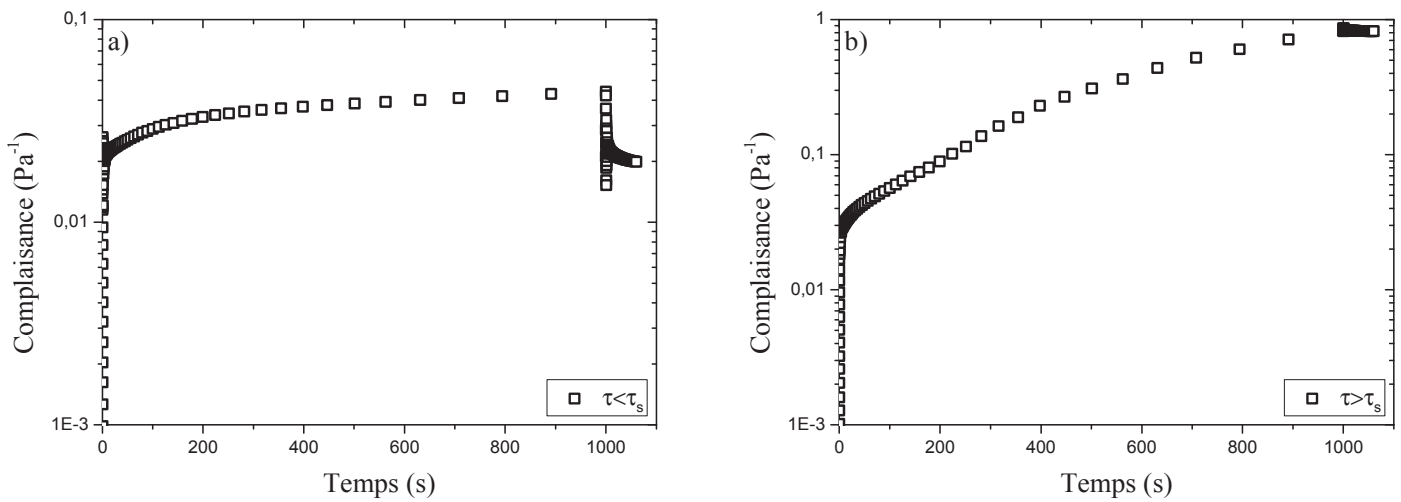
**Figure II.6. Principe de la détermination graphique du module élastique instantané  $G_0$  et de la viscosité newtonienne  $\eta_0$  à partir d'une courbe de fluage.**

Comme le montre la Figure II.6, le fluage permet de déterminer le module élastique instantané  $G_0$ . La viscosité, à très faible taux de cisaillement,  $\eta_0$ , peut également être obtenue à partir de la Figure II.6 (partie linéaire de la courbe aux temps longs):

$$J(t) = J_0 + \frac{t}{\eta_0}$$

Les résultats issus d'un test de fluage peuvent ainsi permettre de compléter les courbes d'écoulement aux très faibles taux de cisaillement.

Par ailleurs, les tests en fluage ont également été utilisés pour déterminer les contraintes-seuil apparentes. Pour illustration, la Figure II.7 représente deux courbes de fluage classiquement obtenues lors d'un essai avec un hydrogel présentant un seuil. La Figure II.7.a montre la réponse à une contrainte inférieure à la contrainte-seuil, et la Figure II.7.b à une contrainte supérieure.



**Figure II.7. Principe de la détermination de la contrainte-seuil apparente en fluage : complaisance en fonction du temps pour un hydrogel d'agarose à une contrainte inférieure à la contrainte-seuil (a) supérieure à la contrainte-seuil (b).**

### *Relaxation des contraintes*

Un test de relaxation des contraintes consiste à imposer une déformation  $\gamma$  constante et à suivre l'évolution de la contrainte  $\tau(t)$  en fonction du temps. Ce type de caractérisation sera utilisé principalement afin d'explorer d'éventuels phénomènes de relaxation sur une plage de temps long.

### Références

- [1] C. Goussé, H. Chanzy, G. Excoffier, L. Soubeyrand, E. Fleury, Stable suspensions of partially silylated cellulose whiskers dispersed in organic solvents, *Polymer*, 43, 2645-2651, 2002.
- [2] J. Sugiyama, R. Vuong, H. Chanzy, Electron diffraction on the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall, *Macromolecules*, 24, 4168-4175, 1991.



## Chapitre III

# Gélification d'une suspension de nanowhiskers en milieu aqueux

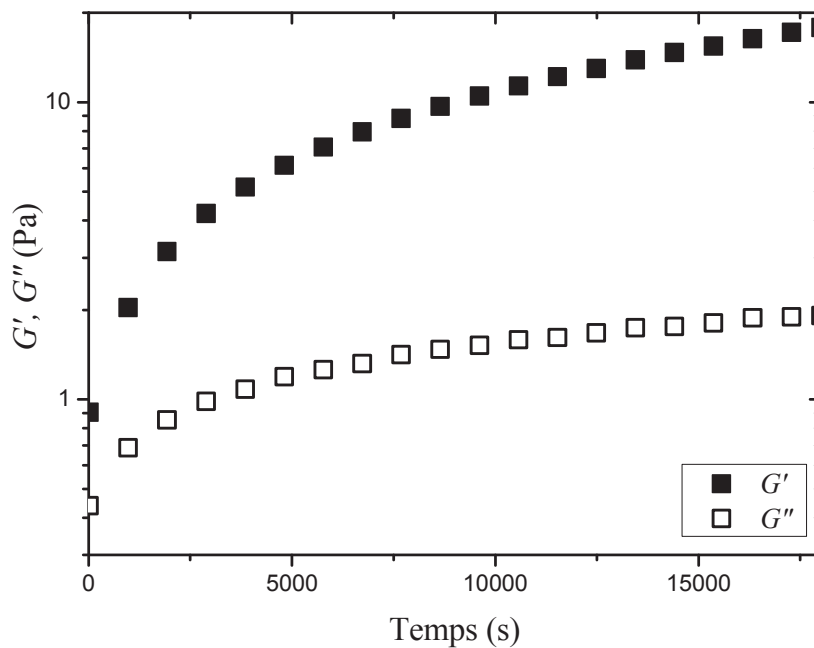
L'objectif de cette étude est de caractériser les propriétés viscoélastiques linéaires d'une suspension aqueuse, faiblement concentrée, de nanowhiskers de cellulose de tunicier. Sur le plan fondamental, cette étude vise à une compréhension physique du mécanisme de gélification et à une caractérisation structurale du gel formé par une suspension aqueuse semi-diluée de nanowhiskers de cellulose, ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été étudié dans la littérature. D'un point de vue plus appliqué, une meilleure connaissance du phénomène de gélification, qui peut être rencontré dans une suspension aqueuse de nanowhiskers, pourrait être utile pour améliorer le procédé sol-gel, qui est une des méthodes de traitement utilisées pour préparer des nanocomposites à base de nanowhiskers [1].

Le chapitre est structuré de la manière suivante : dans un premier temps seront présentés, d'une part, une étude préliminaire visant à mettre en évidence l'existence d'une cinétique de structuration au sein d'une suspension aqueuse de nanowhiskers et, d'autre part, le protocole utilisé pour permettre une bonne reproductibilité des résultats de l'étude. Dans un second temps, les résultats relatifs à l'étude de la gélification d'une suspension semi-diluée de nanowhiskers dans l'eau seront exposés. La dernière partie sera consacrée à la description des propriétés structurales du gel ainsi qu'à l'influence du régime de concentration des nanowhiskers sur la gélification.



### III.1.Evidence expérimentale de l'existence d'une cinétique de structuration

Une étude préliminaire des propriétés viscoélastiques, à 20°C, de suspensions de nanowhiskers de tunicier concentrées à 0,3% en volume (soit 0,46% en masse) en milieu aqueux a mis en évidence une évolution en temps continue des grandeurs matérielles. La Figure III.1 illustre l'évolution des modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  sur plusieurs heures. Il convient de préciser que la suspension caractérisée sur la Figure III.1 a été soumise à une sonication préalablement à sa caractérisation rhéologique, comme discuté plus loin. La Figure III.1 est tout à fait représentative de ce qui a été observé pour tous les échantillons étudiés, quelle que soit l'histoire mécanique imposée avant leur caractérisation.



**Figure III.1. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction du temps d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $f=1$  Hz ; déformation= 3%,  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

Cette Figure montre clairement qu'après une croissance rapide des modules aux temps courts, une croissance plus lente, mais régulière, est observée et qu'aucun état d'équilibre n'est atteint au bout de 6h, ce qui interdit toute caractérisation classique en spectrométrie mécanique. Par ailleurs, cette Figure montre que le rapport des modules viscoélastiques  $G'/G''$  est toujours supérieur à 1 et que ce rapport est d'autant plus important que le temps s'écoule, ce qui souligne que l'évolution temporelle des modules viscoélastiques est liée à une cinétique de structuration de la suspension. Une telle cinétique de structuration sur des temps longs, voire très longs, a été observée sur des suspensions aqueuses de Laponite, une argile synthétique gonflante constituée de particules plaquettaires, dans certaines conditions de concentration et de force ionique, où des gels se forment [2]. Cette remarque nous semble tout à fait pertinente dans la mesure où les suspensions de Laponite dans l'eau présentent de fortes analogies avec les suspensions faisant l'objet de ce travail de thèse : les particules de Laponite sont des entités anisométriques chargées négativement, tout comme les nanowhiskers étudiés, même si ces derniers sont des entités anisométriques 1D (et non 2D comme la Laponite).

Les résultats présentés sur la Figure III.1 suggèrent ainsi fortement l'existence d'une cinétique de gélification au sein de la suspension de nanowhiskers étudiée. La formation d'un gel n'est d'ailleurs pas surprenante, au regard de la capacité des nanowhiskers de cellulose à s'auto-assembler et à s'organiser dans des solvants polaires et apolaires, comme soulignée dans un article de revue récent [1]. Lorsqu'ils sont dispersés dans l'eau, les nanowhiskers de cellulose, comme beaucoup d'autres particules en forme de bâtonnets, et plus généralement anisométriques, forment une phase isotrope dans le régime dilué, et une phase anisotrope de type cristal liquide dans le régime semi-dilué. D'ailleurs, les résultats obtenus par Bercea et Navard suggèrent fortement qu'une suspension anisotrope de nanowhiskers a une texture similaire à celle de solutions de polymères cristaux liquides [3].

Une meilleure compréhension de l'effet renfort de nanowhiskers dans des matrices polymères, mais aussi des phénomènes d'auto-assemblage de nanowhiskers dans des solvants, requiert une meilleure caractérisation des microstructures que peuvent adopter ces nanoparticules en forme de bâtonnets.

Comme l'ont montré récemment Solomon et Spicer [4], les dispersions de particules en forme de bâtonnets montrent des caractéristiques communes, à la fois en termes de microstructures, et de réponse rhéologique. Par exemple, aux faibles fractions volumiques, une grande variété de particules en forme de bâtonnets a montré une capacité à former un

réseau de percolation, qui confère une élasticité et des propriétés rhéologiques de type gel aux suspensions de bâtonnets ; la fraction volumique à laquelle le gel se forme dépendant de l'intensité des interactions, mais aussi du rapport de forme des bâtonnets [4]. Dans le cas des nanowhiskers, leur capacité à former un gel, à faible fraction volumique dans l'eau, n'est pas seulement due aux interactions de volume exclu, mais aussi aux interactions électrostatiques induites par la présence de charges négatives à la surface des nanowhiskers suite à l'étape d'hydrolyse acide classiquement utilisée pour la production des nanocristaux de cellulose [5].

Afin de faire l'étude précise de la cinétique de gélification d'une suspension aqueuse de nanowhiskers, un protocole rigoureux a été recherché afin d'obtenir un état de dispersion initial des nanowhiskers optimum et reproductible.

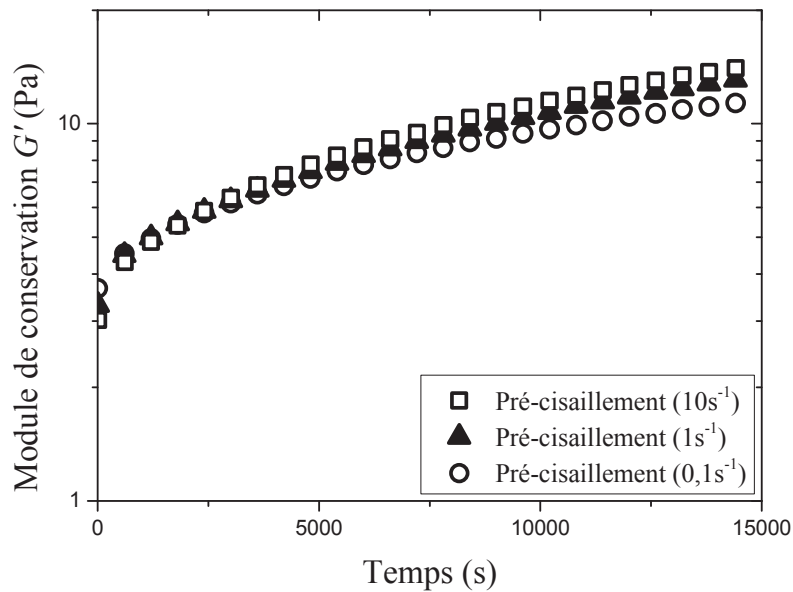
## **III.2. Protocole de dispersion**

Différents moyens de dispersion des nanowhiskers dans l'eau à 20°C ont été étudiés : l'agitation mécanique (barreau aimanté), les ultrasons et le pré-cisaillement sur rhéomètre.

Afin d'étudier l'impact de chacune des méthodes de dispersion considérées, un suivi temporel du module de conservation  $G'$  a été réalisé après application de divers protocoles propres à chacune des méthodes.

Est représenté sur la Figure III.2 le suivi temporel d'une suspension de nanowhiskers concentrée à 0,3% en volume dans l'eau, pour différents pré-cisaillements imposés pendant 20 minutes sur le rhéomètre : 0,1, 1 et 10 s<sup>-1</sup>.

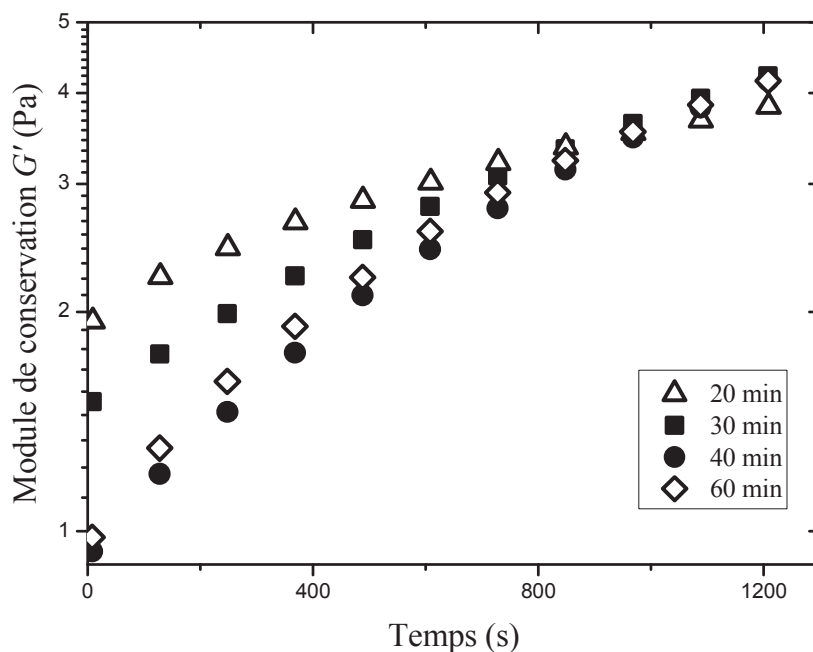
La Figure III.2 montre que les modules de conservation des suspensions pré-cisaillées à 0,1, 1 et 10 s<sup>-1</sup> croissent rapidement aux temps courts, puis plus lentement. La Figure III.2 montre aussi que le pré-cisaillement permettant d'obtenir l'état initial de dispersion optimum, *i.e.* le module de conservation initial le plus faible, est le pré-cisaillement à 10 s<sup>-1</sup>. Cependant, cette courbe met en évidence que, sur cette gamme de pré-cisaillement et pour le temps de sollicitation imposé, l'écart entre les modules de conservation initiaux, c'est-à-dire juste après pré-cisaillement, est faible, ce qui traduit des états de dispersion peu différents.



**Figure III.2. Module de conservation  $G'$  en fonction du temps, pour différents pré-cisaillements, d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $f=1\text{Hz}$  ; déformation=3%,  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

Un autre mode de dispersion étudié est la sonication de la suspension de nanowhiskers à la sonde à ultrasons. La sonde à ultrasons utilisée a une puissance de 50 W et émet des ultrasons à une fréquence de 23 kHz. La Figure III.3 illustre l'évolution au cours du temps du module de conservation  $G'$  pour différents temps de sonication : 20, 30, 40 et 60 min.

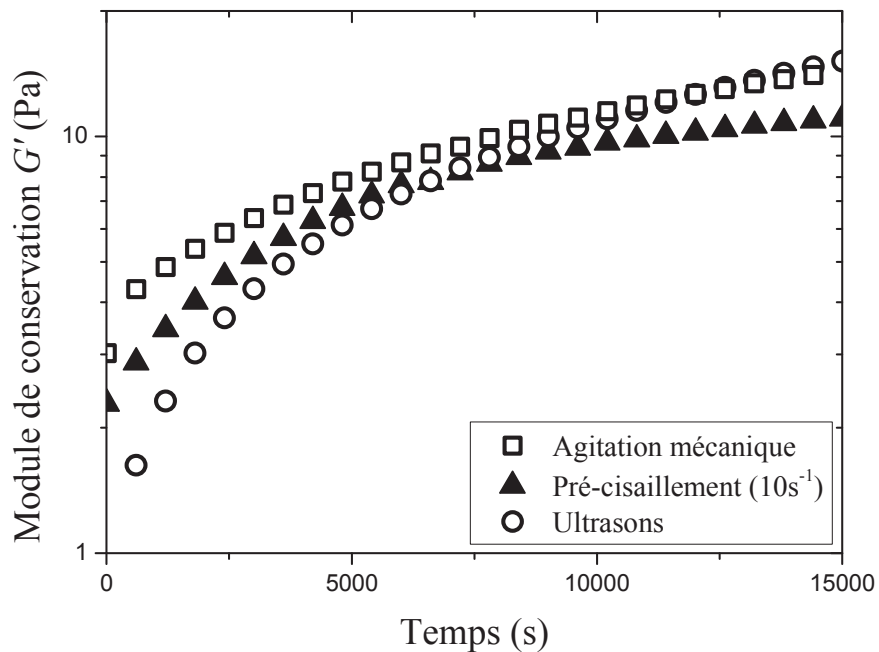
La Figure III.3 montre que le module de conservation  $G'$  augmente fortement après sonication. Les informations obtenues à partir de la Figure III.3 indiquent que l'état initial de dispersion optimum (correspondant au  $G'$  minimum) est observé après 40 min de sonication. Un temps de sollicitation ultrasonore supérieur à 40 min n'améliore pas l'état de dispersion.



**Figure III.3. Module de conservation  $G'$  en fonction du temps, pour différents temps de sonication, d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $f=1\text{Hz}$  ; déformation=3%,  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

Enfin, une autre méthode de dispersion, l'agitation mécanique avec un barreau magnétique, a été utilisée durant 20 min à 800 tours par minute, à titre de comparaison.

Ont été représentés sur la Figure III.4, les résultats relatifs au suivi temporel du module de conservation  $G'$  pour les trois méthodes de dispersion étudiées dans les conditions optimales lorsque celles-ci avaient fait l'objet d'une étude (cas du pré-cisaillement et de la sonication). Rappelons que ces conditions optimales sont définies comme celles conduisant au niveau initial (*i.e.* juste après application de la méthode de dispersion) le plus faible du module  $G'$ , correspondant à la déstructuration maximale atteignable avec le moyen de dispersion et dans les conditions de dispersion utilisées.



**Figure III.4. Module de conservation  $G'$  en fonction du temps, pour différents moyens de dispersion, d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $f=1\text{Hz}$  ; déformation=3%,  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

La Figure III.4 montre que, au regard du critère retenu (niveau initial de  $G'$  minimum), l'état de dispersion optimum est obtenu lorsque le système est dispersé avec la sonde à ultrasons de puissance 50 W pendant 40 min. Notons en outre que l'étude de l'effet de cette méthode de dispersion par ultrasons, dans ces mêmes conditions, a montré une bonne reproductibilité de l'évolution de  $G'$  en fonction du temps. C'est donc cette méthode qui a été retenue pour l'étude de la cinétique de gélification des échantillons de nanowhiskers à 0,3% en volume dans l'eau. Il est d'ailleurs à noter que l'utilisation de méthodes ultrasonores pour disperser des nanowhiskers en suspension dans l'eau est très classique [3].

### III.3. Cinétique de gélification

L'étude expérimentale des propriétés viscoélastiques de nombreux systèmes colloïdaux gélifiants a montré la pertinence du modèle de « gel critique » de Winter et Chambon [6]. Ce modèle, théoriquement valide au point de gel lorsque la structure est auto-similaire, c'est-à-dire invariante par changement d'échelles, a été validé au point de gel pour un grand nombre de gels polymères réticulés chimiquement (réseau permanent) ou pour des gels polymères physiques (réseau transitoire) [7, 8]. Plus récemment, ce modèle a également été validé à des échelles plus fines, par microrhéologie [9]. Dans le cas des gels particuliers (suspensions de particules), l'état de gel critique n'est pas systématiquement observé [10, 11]. Cependant, le modèle de Winter et Chambon a été appliqué avec succès dans l'étude de la cinétique de gélification des suspensions de Laponite dans l'eau [12], et, très récemment, dans l'étude des propriétés viscoélastiques linéaires de gels de particules anisométriques 1D (virus) [13]. C'est ce modèle que nous allons considérer et qui sera utilisé pour définir le point de gel de suspensions de nanowhiskers à 0,3% en volume dans l'eau, mais aussi pour caractériser la structure du gel formé.

#### *Grandeurs matérielles d'un gel critique*

Comme l'ont montré Winter et Chambon [6], l'invariance par changement d'échelles de la structure au point de gel se traduit par un module de relaxation  $G(t)$  qui décroît en loi de puissance avec le temps (signature de l'auto-similarité de la structure) :

$$G(t) = St^{-n} \quad (\text{Equation III.1})$$

où  $S$  représente la force du gel et  $n$ , l'exposant de relaxation, fournit des informations sur la structure du gel.

La théorie de la viscoélasticité linéaire [14] permet alors d'en déduire toutes les grandeurs matérielles.

Ainsi, on peut montrer qu'en cisaillement simple oscillatoire, en régime linéaire, le module de conservation  $G'$  et le module de perte  $G''$  d'un gel critique suivent une loi de puissance en fonction de la fréquence de même exposant  $n$  :

$$G'(\omega) \propto G''(\omega) \propto \omega^n \quad (\text{Equation III.2})$$

Ce résultat a pour conséquence que l'angle de perte  $\tan \delta = G''/G'$  est indépendant de la fréquence lorsqu'on est au point de gel:

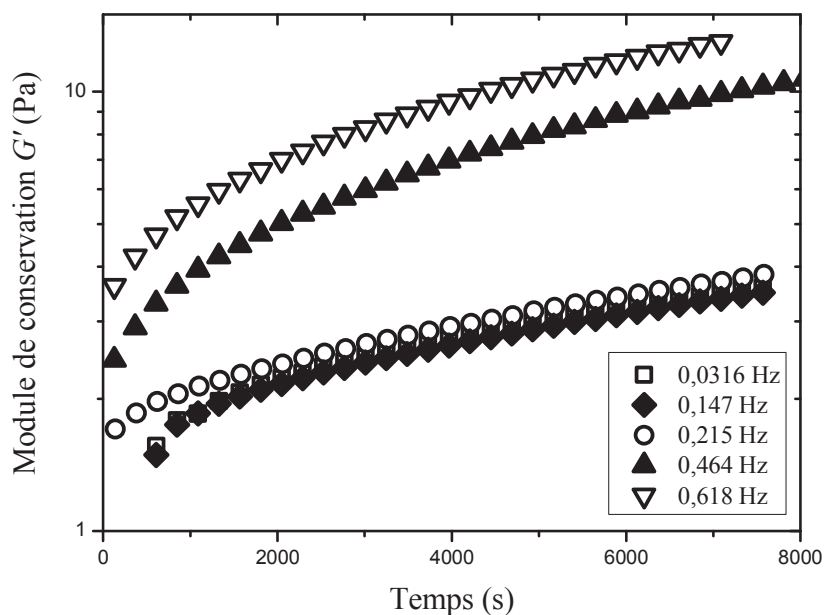
$$\tan \delta = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} = \tan \frac{n\pi}{2} \quad (\text{Equation III.3})$$

Ce qui permet, à partir de mesures rhéométriques en cisaillement simple plan oscillatoire dans le régime linéaire, d'avoir une détermination fine du temps de gel.

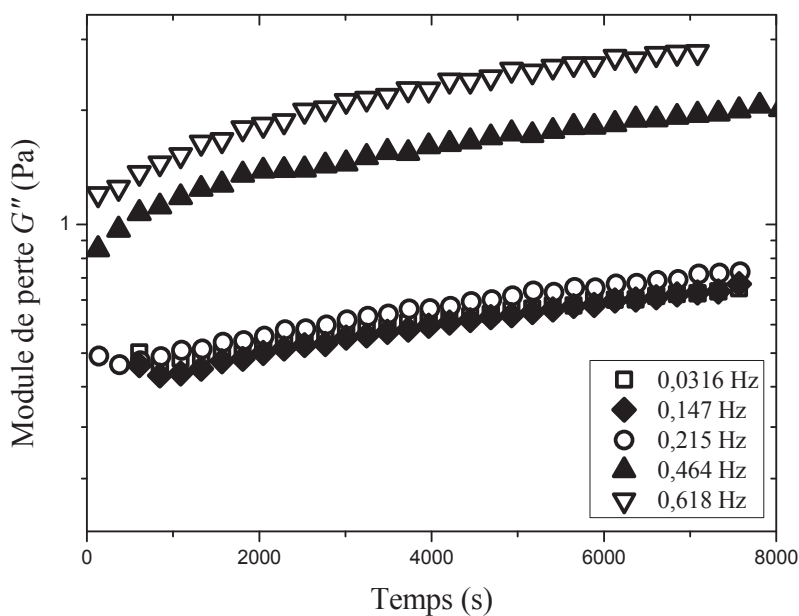
L'étude de la cinétique de gélification d'une suspension aqueuse de nanowhiskers de cellulose à 0,3% en volume dans l'eau a été menée en suivant cette approche : le point de gel a été caractérisé comme le point pour lequel  $\tan \delta = G''/G'$  est indépendant de la fréquence.

Les Figures III.5 et III.6 montrent l'évolution avec le temps des modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$ , respectivement, à différentes fréquences, dans le domaine de viscoélasticité linéaire, à 20°C. Pour chaque fréquence étudiée, un nouvel échantillon a été introduit dans l'entrefer de la géométrie de mesure après avoir été soumis au traitement ultrasonore décrit précédemment.





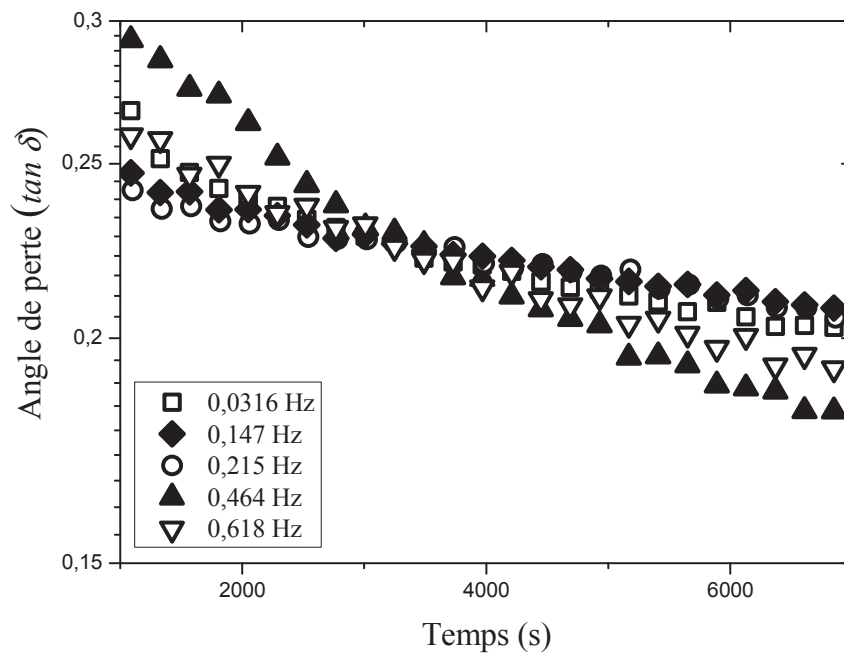
**Figure III.5. Module de conservation  $G'$  en fonction du temps pour différentes fréquences, à 3% de déformation (dans le régime linéaire), d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**



**Figure III.6. Module de perte  $G''$  en fonction du temps pour différentes fréquences, à 3% de déformation (dans le régime linéaire), d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

Ces Figures montrent qu'après une augmentation plus ou moins rapide, une croissance continue des modules viscoélastiques  $G'$  et  $G''$  est observée, pour toutes les fréquences étudiées. De plus, les Figures montrent qu'à chaque instant, les modules de conservation et de perte sont des fonctions croissantes de la fréquence.

La variation de l'angle de perte  $\tan \delta$  en fonction du temps, et pour différentes fréquences, est présentée sur la Figure III.7.



**Figure III.7. Angle de perte  $\tan \delta$  en fonction du temps pour différentes fréquences, à 3% de déformation (dans le régime linéaire), d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,3% en volume ( $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$ ).**

La Figure III.7 montre qu'il existe un point où  $\tan \delta = G''/G'$  est indépendant de la fréquence, du moins sur la plage des fréquences étudiées. Ce point peut donc être identifié à un point de gel et suggère l'existence, en ce point, d'un gel critique, au sens de Winter et Chambon [6]. Ce point de gel apparaît environ 1 heure après la dispersion des nanowhiskers par sonication, qui correspondrait donc au temps de gel d'une suspension aqueuse de nanowhiskers chargée à 0,3% en volume. Il convient cependant d'être très prudent car ce temps de gel dépend très certainement de l'histoire mécanique imposée à l'échantillon avant sa caractérisation rhéologique ; il ne s'agit donc pas du temps de gel absolu, mais plutôt d'un

temps de gel apparent  $t_{gapp}$ , celui d'une suspension à 0,3% en volume, soit 0,46% en masse, de nanowhiskers dans l'eau soumise au protocole retenu dans cette étude. A titre comparatif, remarquons que ce temps de gel est du même ordre de grandeur que celui, déterminé récemment, d'une suspension de nanotubes de carbone à simple paroi, à 0,27% en masse dans de l'eau en présence d'un tensio-actif [15] ; il est en revanche environ 3 fois inférieur au temps de gel d'une suspension de Laponite à 1% en masse dans l'eau, à une force ionique de 0,001M [12].

### III.4. Structure du gel

En supposant que le module de conservation  $G'$  et le module de perte  $G''$  suivent la même dépendance en loi de puissance avec la fréquence, comme prédit par Winter et Chambon au point de gel, l'exposant de relaxation  $n$  peut être déterminé à partir de la valeur de l'angle de perte au point de gel  $t_g$ , égal à 0,23 dans notre cas :

$$n = \frac{2\delta}{\pi} = 0,15.$$

Pour un grand nombre de gels polymères [16, 17], mais aussi pour des gels particuliers de Laponite [12] au point de gel, l'exposant de la loi de puissance  $n$  se situe entre 0,5 et 0,7, ce qui est en accord avec la théorie de la percolation [18]. Cependant, d'autres résultats rhéologiques de la littérature sur des gels critiques ont montré que l'exposant de relaxation  $n$  pouvait être beaucoup plus faible :  $0,1 < n < 0,2$  pour le gel polymère critique induit par la cristallisation d'un élastomère à base de poly(propylène), étudié par Lin *et al.* [8] mais aussi pour le gel particulière critique formé par un virus et étudié par Reddy *et al.* [13]. Une relation, établie par Muthukumar (1989) [18], a permis d'expliquer que  $n$  pouvait prendre toute valeur entre 0 et 1 :

$$n = \frac{d(d+2-2d_f)}{2(d+2-d_f)} \quad (\text{Equation III.4})$$

où  $d$  est la dimension de l'espace ( $d=3$ ), et  $d_f$  est la dimension fractale, caractérisant l'auto-similarité de la structure des amas qui forment un réseau tridimensionnel au point de gel.

Pour la suspension de nanowhiskers à 0,3% en volume que nous avons étudiée, l'Equation III.4 donne :

$$d_f = 2,4.$$

Il convient de noter que cette valeur assez élevée de  $d_f$  est en bon accord avec les valeurs issues de la modélisation de courbes d'écoulement de suspensions de nanoparticules 1D fortement anisométriques [19]. Il a d'ailleurs été montré que la structure fractale des agrégats de bâtonnets colloïdaux était caractérisée par une dimension fractale supérieure à celle caractérisant les agrégats de particules isométriques (sphères), et d'autant plus grande que le rapport de forme des bâtonnets était grand, indépendamment de la cinétique d'agrégation [20].

### **III.5. Influence du régime de concentration des nanowhiskers sur la gélification**

En suivant exactement la même approche que pour la suspension de nanowhiskers à 0,3% en volume, nous avons étudié la dépendance en temps des propriétés mécaniques dynamiques d'une suspension aqueuse de nanowhiskers à 0,2% en volume, soit 0,31% en masse. Les résultats (non montrés ici) n'ont pas mis en évidence l'existence d'un point de gel sur une plage de temps allant jusqu'à  $10^4$  s. Cela souligne l'influence de la concentration en nanowhiskers sur la formation d'un gel : une fraction volumique minimum en nanowhiskers est nécessaire afin qu'une gélification ait lieu. La concentration minimum  $\phi^*$  à partir de laquelle des contacts entre nanowhiskers apparaissent et qui définit le début du régime semi-dilué, a été estimée pour des bâtonnets rigides de rapport de forme  $p$  [21] :

$$\phi^* \approx \frac{24}{p^2} \quad (\text{Equation III.5})$$

où  $p$  est le rapport de forme. En considérant un rapport de forme moyen des nanowhiskers de 60, la relation III.6 conduit à une fraction volumique  $\phi^* \approx 0,6\%$ , qui n'est pas si loin de la fraction volumique de 0,3% étudiée, dans la mesure où les nanowhiskers ont une distribution de taille assez large, ce qui peut modifier la valeur de  $\phi^*$  [4]. De plus, il faut rappeler que les nanowhiskers n'interagissent pas seulement *via* des interactions de volume exclu (hypothèse

faite pour établir la relation III.5), mais aussi *via* des interactions électrostatiques à longue portée.

Ainsi, nos résultats suggèrent que le début du régime semi-dilué, nécessaire à la formation d'un gel, se situe entre  $0,2\% < \phi^* < 0,3\%$ , pour les suspensions de nanowhiskers étudiées dans ce travail de thèse.

## **Conclusion**

Nous avons montré qu'une suspension de nanowhiskers de tunicier à 0,3% en volume dans l'eau, initialement dispersée par une méthode ultrasonore, pouvait gélifier. L'étude de la cinétique de gélification a été menée à l'aide du modèle de gel critique de Winter et Chambon ; elle a permis de déterminer un temps de gel apparent  $t_{gapp}$  et la valeur de l'exposant de relaxation  $n$  :  $t_{gapp} \sim 1h$  et  $n = 0,15$ . L'utilisation de la relation de Muthukumar a permis d'en déduire la dimension fractale caractérisant la structure du gel critique :  $d_f = 2,4$ , en accord avec la littérature. Enfin, les résultats suggèrent que pour qu'un gel se forme, une fraction volumique en nanowhiskers entre 0,2% en volume et 0,3% en volume, correspondant au début du régime semi-dilué, est nécessaire.

## Références

- [1] Y. Habibi, L. A. Lucia, O. J. Rojas, Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications, *Chemical Reviews*, 110, 3479-3500, 2010.
- [2] N. Willenbacher, Unusual thixotropic properties of aqueous dispersions of Laponite RD, *Journal of Colloid and Interface Science*, 182, 501-510, 1996.
- [3] M. Bercea, P. Navard, Shear dynamics of aqueous suspensions of cellulose whiskers, *Macromolecules*, 33, 6011-6016, 2000.
- [4] M. J. Solomon, P. T. Spicer, Microstructural regimes of colloidal rod suspensions, gels, and glasses, *Soft Matter*, 6, 1391-1400, 2010.
- [5] J. Araki, M. Wada, S. Kuga, T. Okano, Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 142, 75-82, 1998.
- [6] H. H. Winter, F. Chambon, Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point, *Journal of Rheology*, 30, 367-382, 1986.
- [7] J. C. Scalan, H. H. Winter, Composition dependence of the viscoelasticity of end-linked poly (dimethylsiloxane) at the gel point, *Macromolecules* 24, 47-54, 1991.
- [8] Y. G. Lin, D. T. Mallin, J. C. W. Chien, H. H. Winter, Dynamic mechanical measurement of crystallization-induced gelation in thermoplastic elastomeric poly (propylene), *Macromolecules*, 24, 850-854, 1991.
- [9] T. H. Larsen, E. M. Furst, Microrheology of the liquid-solid transition during gelation, *Physical Review Letters*, 100, 146001, 2008.
- [10] A. Mohraz, M. J. Solomon, Gelation and internal dynamics of colloidal rod aggregates, *Journal of Colloid and Interface Science*, 300, 155-162, 2006.
- [11] G. Yin, M. J. Solomon, Soft glassy rheology model applied to stress relaxation of a thermoreversible colloidal gel, *Journal of Rheology*, 52, 785-800, 2008.
- [12] S. Cocard, J. F. Tassin, T. Nicolai, Dynamical mechanical properties of gelling colloidal disks, *Journal of Rheology*, 44, 585-594, 2000.

- [13] N. K. Reddy, Z. Zhang, M. P. Lettinga, J. K. G. Dhont, J. Vermant, Probing structure in colloidal gels of thermoreversible rodlike virus particles: Rheology and scattering, *Journal of Rheology*, 56, 1153-1174, 2012.
- [14] B. Gross, Mathematical Structure of the Theories of Viscoelasticity, *Hermann et Cie.*, Paris, 1953.
- [15] D. T. N. Chen, K. Chen, L. A. Hough, M. F. Islam, A.G. Yodh, Rheology of carbon nanotube networks during gelation, *Macromolecules*, 43, 2048-2053, 2010.
- [16] D. Durand, M. Delsanti, M. Adam, J. M. Luck, Frequency dependence of viscoelastic properties of branched polymers near gelation threshold, *Europhysics Letters*, 3, 297-301 1987.
- [17] J. E. Martin, D. Adolf, J. P. Wilcoxon, Viscoelasticity of near-critical gels, *Physical Review Letters*, 61, 2620, 1988.
- [18] M. Muthukumar, Screening effect on viscoelasticity near the gel point, *Macromolecules*, 22, 4656-4658, 1989.
- [19] A. Puisto, X. Illa, M. Mohtaschemi, M. J. Alava, Modeling the viscosity and aggregation of suspensions of highly anisotropic nanoparticles, *European Physical Journal E*, 35 : 6, 2012.
- [20] A. Mohraz, D. B. Moler, R. M. Ziff, M. J. Solomon, Effect of monomer geometry on the fractal structure of colloidal rod aggregates, *Physical Review Letters*, 92, 155503, 2004.
- [21] R. G. Larson, The Structure and Rheology of Complex Fluids, *Oxford University Press*, New York, 1999.

## Chapitre IV

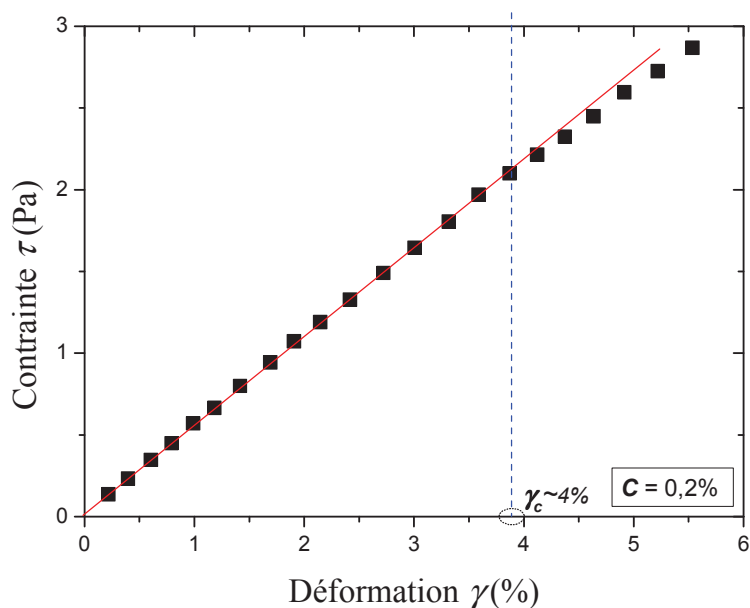
# Etude rhéologique du renforcement des hydrogels d'agarose par des nanowhiskers de cellulose

L'objectif de cette étude est de contribuer à une meilleure compréhension de l'effet de l'ajout de nanowhiskers de cellulose de tunicier sur les propriétés structurale et rhéologique d'hydrogels d'agarose, en se focalisant sur l'effet renfort apporté par les nanocharges.

### **IV.1. Balayage en déformation**

Les balayages en déformation ont été utilisés afin de déterminer la déformation critique,  $\gamma_c$ , caractérisant l'étendue du régime viscoélastique linéaire. La déformation critique a été déterminée à partir de courbes de déformation-contrainte, comme décrit dans le chapitre II – Matériaux et méthodes. La Figure IV.1 présente un exemple de courbe de déformation-contrainte obtenue pour un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse, ainsi que la détermination de la déformation critique  $\gamma_c$ .





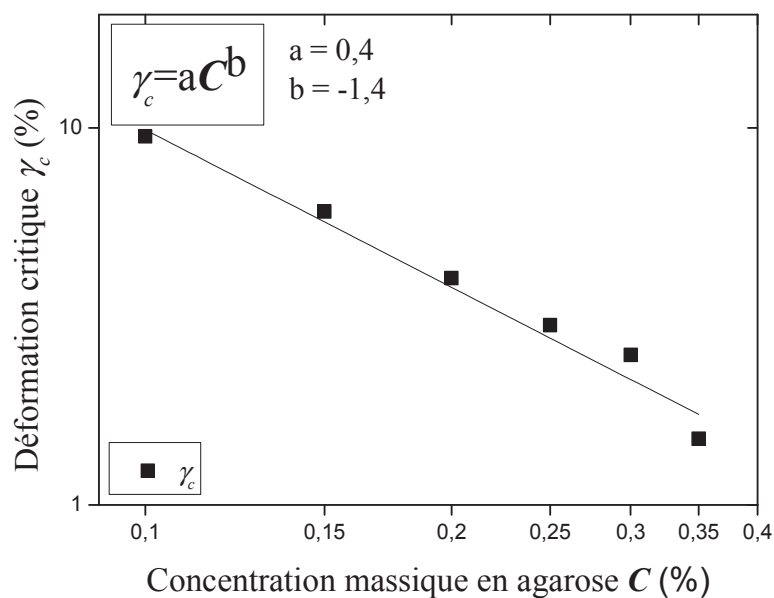
**Figure IV.1. Courbe de déformation-contrainte d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse, détermination de la déformation critique (fréquence = 1 Hz).**

Les valeurs de la déformation critique pour différentes concentrations en agarose sont reportées dans le Tableau IV.1.

**Tableau IV.1. Déformation critique  $\gamma_c$  d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$\gamma_c$ (%)	9,5	6	4	3	2,5	1,5

Les valeurs de la déformation critique en fonction de la concentration sont présentées sur la Figure IV.2.



**Figure IV.2. Déformation critique  $\gamma_c$  en fonction de la concentration en agarose (— : ajustement par une loi de puissance).**

Comme le montre la Figure IV.2, la déformation critique est une fonction puissance décroissante de la concentration, d'exposant -1,4.

Les valeurs de la déformation critique pour un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse à différentes fractions volumiques en nanowhiskers sont reportées dans le Tableau IV.2.

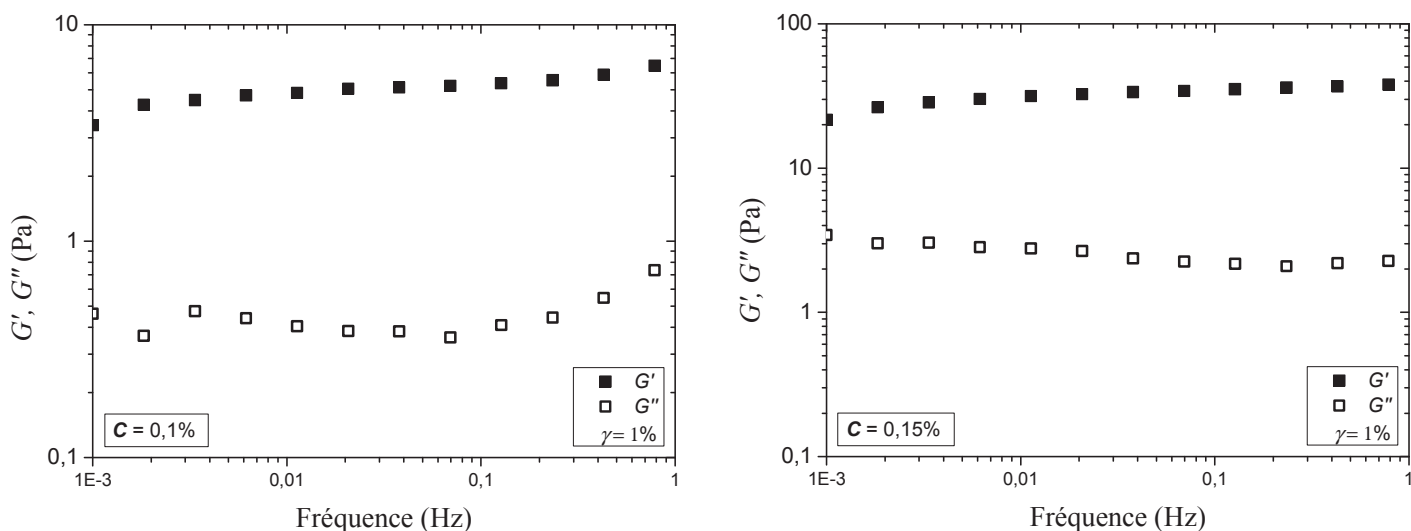
**Tableau IV.2. Déformation critique  $\gamma_c$  d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.**

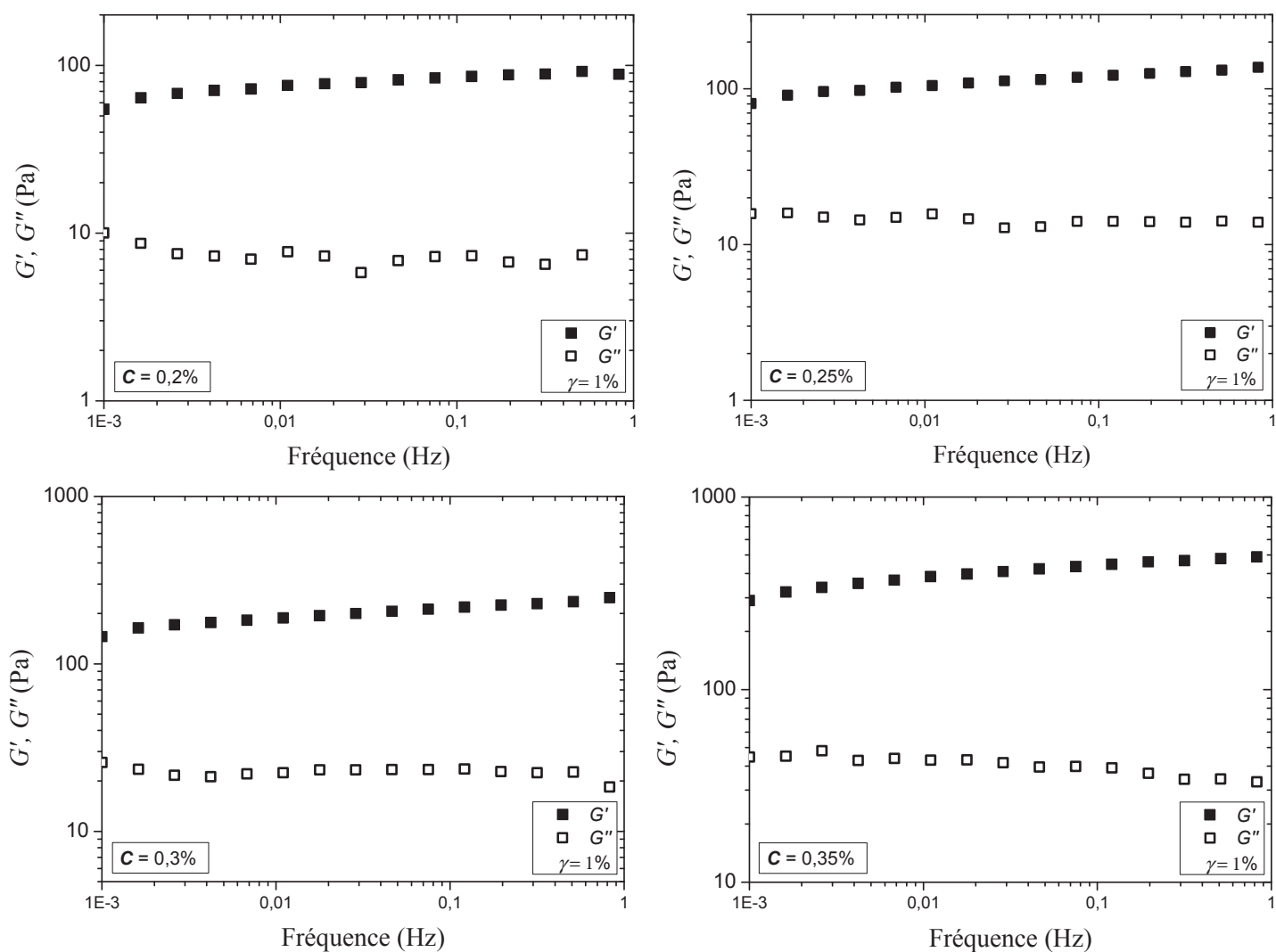
	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$\gamma_c$ (%)	4	2	2	1,5	1	1

Le Tableau IV.2 montre que la déformation critique des hydrogels chargés est légèrement plus faible ( $\sim 1,5\%$ ) que celle de l'hydrogel d'agarose pur à 0,2% en masse (4%), suggérant que le réseau d'un hydrogel chargé est légèrement plus fragile que celui d'un hydrogel d'agarose pur. De plus, contrairement à ce qui a pu être observé dans le cas des hydrogels d'agarose pur (Tableau IV.1), pour lesquels la déformation critique est une fonction puissance décroissante de la concentration,  $\gamma_c \sim C^{-1,4}$  (Figure IV.2), les résultats montrent que la déformation critique est très peu dépendante de la fraction volumique en nanowhiskers, du moins sur la gamme de fractions volumiques étudiée. Ce résultat suggère que la non-linéarité du comportement rhéologique des hydrogels chargés est principalement due à la réponse non-linéaire du réseau d'agarose.

## IV.2. Balayage en fréquence

Un balayage en fréquence, de 0,001 à 1 Hz, a été réalisé dans le domaine linéaire pour les hydrogels d'agarose pur et les hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de nanowhiskers de cellulose. La Figure IV.3 montre les courbes issues des balayages en fréquence des hydrogels d'agarose pur, de 0,1 à 0,35% en masse.





**Figure IV.3. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose pur, à des concentrations,  $C$ , de 0,1% à 0,35% en masse (déformation = 1%).**

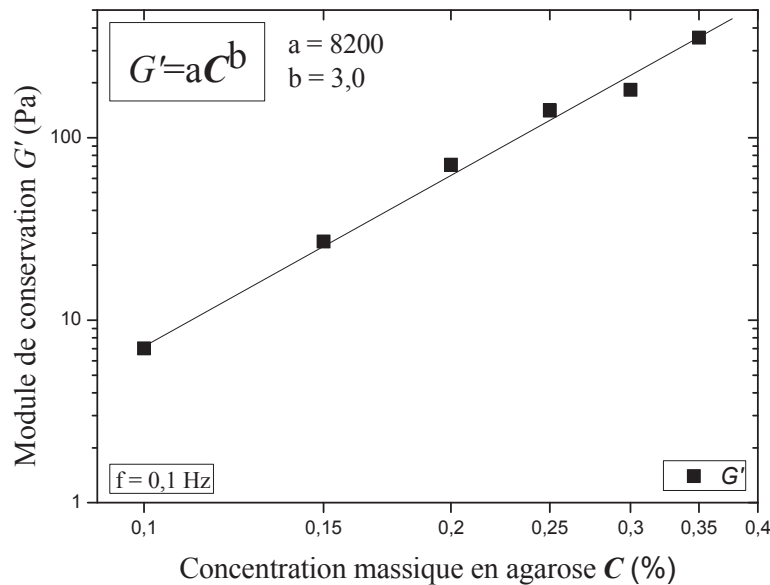
La Figure IV.3 montre que, pour les hydrogels d'agarose pur, le module de conservation  $G'$  est très supérieur au module de perte  $G''$ , et que les deux modules viscoélastiques sont peu dépendants de la fréquence, ce qui est caractéristique d'un comportement de type solide viscoélastique.

La dépendance en fréquence des modules viscoélastiques étant faible, une fréquence de 0,1 Hz a été choisie pour présenter les valeurs de  $G'$  et de  $G''$ , ainsi que de l'angle de perte,  $\tan \delta = G''/G'$ , pour différentes concentrations en agarose, dans le Tableau IV.3.

**Tableau IV.3. Module de conservation  $G'$ , module de perte  $G''$  et angle de perte  $\tan \delta$ , à 0,1 Hz, d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$G'$ (Pa)	7	30	80	140	180	350
$G''$ (Pa)	1	3	7	15	25	50
$Tan \delta$	0,14	0,1	0,1	0,11	0,14	0,14

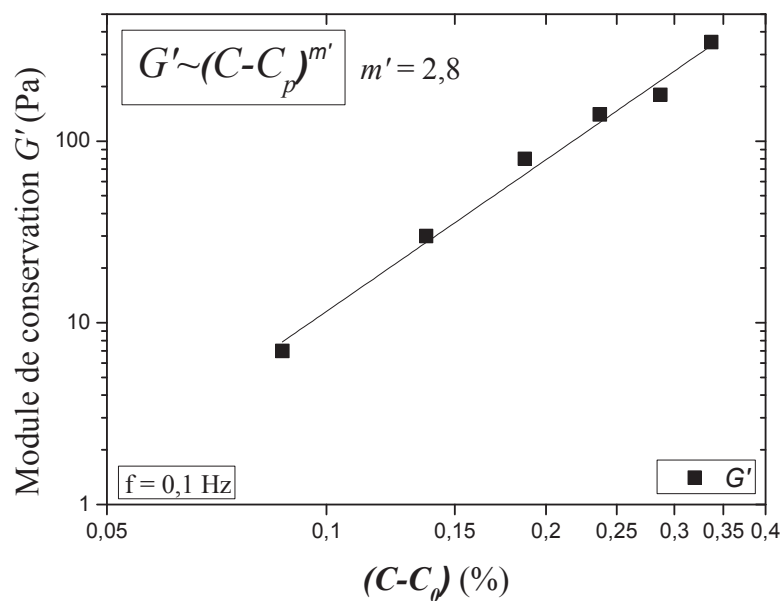
On peut tout d'abord constater que l'augmentation de la concentration en agarose conduit à une augmentation des modules de conservation et de perte, indiquant un renforcement des hydrogels. A 0,1 Hz, le module de conservation des hydrogels d'agarose suit une loi de puissance en fonction de la concentration en agarose, dont l'exposant est égal 3, comme montré sur la Figure IV.4.



**Figure IV.4. Module de conservation  $G'$  d'hydrogels d'agarose en fonction de la concentration, à 0,1 Hz (— : ajustement par une loi de puissance).**

Les données expérimentales reportées sur la Figure IV.4 sont conformes aux résultats présentés dans l'article de Tokita & Hikichi (1987) [1], où :  $G' \sim C^3$ . A partir de ces données,

les auteurs ont tracé le module de conservation  $G'$  en fonction de l'écart au seuil de percolation,  $C-C_p$  ( $C$  : la concentration en agarose et  $C_p$  : concentration critique de gélification de l'agarose), et ont montré qu'à proximité du seuil de percolation ( $C_p = 0,013\%$  en masse), l'exposant  $m$  de la loi de puissance  $G' = (C-C_p)^m$  était très proche de 2, comme prédit par la loi de percolation scalaire [2]. Dans nos travaux, nous sommes loin du seuil de percolation (environ une décade au-dessus), si bien que la courbe  $G' = f(C-C_p)$  (Figure IV.5) est très proche de celle représentée sur la Figure IV.4, avec un exposant de la loi de puissance, pour les deux types de représentations, proche de 3.



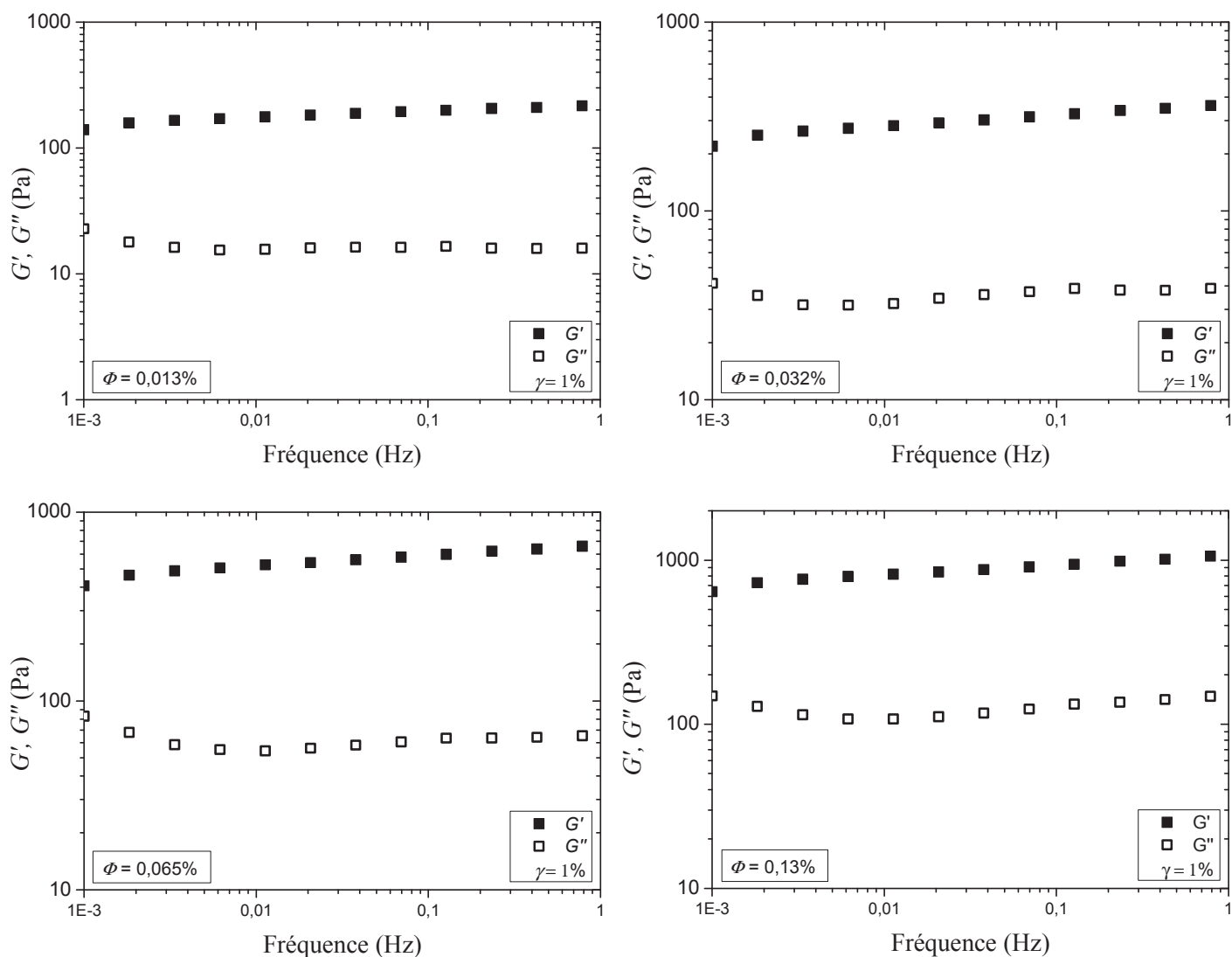
**Figure IV.5. Module de conservation  $G'$ , à 0,1 Hz, en fonction de l'écart au seuil de percolation,  $C-C_p$ , avec  $C_p = 0,013\%$  en masse d'après Tokita et Hikichi (1987) [1] (— : ajustement par une loi de puissance).**

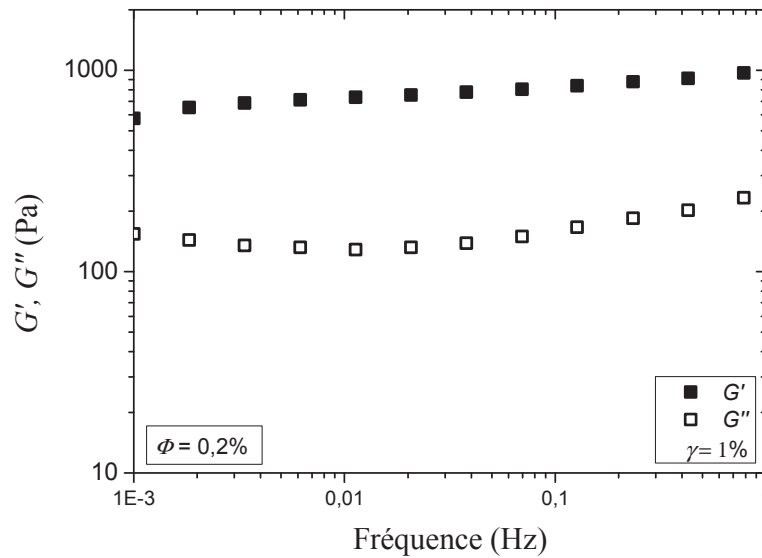
Comme l'ont suggéré Tokita et Hikichi, cela pourrait être dû au passage d'une percolation scalaire au voisinage du seuil de percolation (exposant d'environ 2), à une percolation vectorielle (exposant d'environ 3) à des concentrations éloignées du seuil de percolation [1]. Ce changement de régime de percolation pourrait être dû à une modification de l'état d'organisation et de rigidité des zones de jonctions du réseau d'agarose.

Par ailleurs, le Tableau IV.3 montre que l'angle de perte reste plus ou moins constant, ce qui suggère que la structure globale de l'hydrogel d'agarose est la même à toutes les concentrations étudiées.

Finalement, nous tenons à souligner que les valeurs relativement faibles du module de conservation  $G'$ , du moins au regard de celles trouvées dans la littérature, sont très probablement dues à la technique d'élaboration utilisée dans ces travaux de thèse, pour laquelle le refroidissement, qui a lieu à température ambiante, est plus rapide que celui réalisé dans d'autres travaux, où un refroidissement contrôlé *in situ* a été imposé sur de plus longues périodes [3].

La Figure IV.6 représente les spectres mécaniques d'hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de 0,013% à 0,2% en volume de nanowhiskers de cellulose.





**Figure IV.6. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à des fractions volumiques,  $\Phi$ , de 0,013% à 0,2% de nanowhiskers (déformation = 1%).**

Le comportement viscoélastique observé sur les courbes de la Figure IV.6 est qualitativement comparable à celui montré sur les courbes de la Figure IV.3 pour les hydrogels d'agarose pur, montrant que les hydrogels chargés présentent un comportement de type solide viscoélastique. Toutefois, les valeurs des modules viscoélastiques,  $G'$  et  $G''$ , des hydrogels chargés sont très supérieures à celles des hydrogels d'agarose pur.

La dépendance en fréquence des modules viscoélastiques étant faible, dans le but de décrire l'influence de la concentration en nanowhiskers de cellulose sur les propriétés viscoélastiques des hydrogels d'agarose, les valeurs de  $G'$  et de  $G''$ , ainsi que de l'angle de perte,  $\tan \delta = G''/G'$ , à une fréquence arbitrairement choisie de 0,1 Hz, des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse à différentes fractions volumiques en nanowhiskers ont été reportées dans le Tableau IV.4.

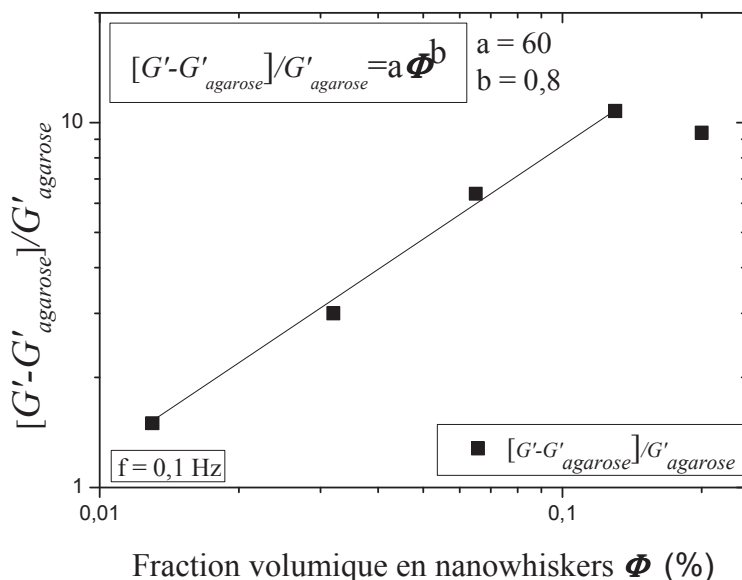


**Tableau IV.4. Module de conservation  $G'$ , module de perte  $G''$  et angle de perte  $\tan \delta$ , à 0,1 Hz, d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.**

	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$G'$ (Pa)	80	200	320	590	940	830
$G''$ (Pa)	7	15	40	60	125	150
$\tan \delta$	0,1	0,08	0,12	0,1	0,13	0,18

Les résultats présents dans le tableau IV.4 montrent que l'effet renfort dû à l'addition des nanowhiskers est marqué. En effet, l'addition de 0,13% en volume de nanowhiskers conduit à une augmentation, d'un facteur 12 environ, du module de conservation d'un hydrogel à 0,2% en masse.

Dans le but d'étudier spécifiquement la contribution des nanowhiskers à l'effet renfort, nous avons reporté le module de conservation réduit  $(G'-G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$ , en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, sur la Figure IV.7.

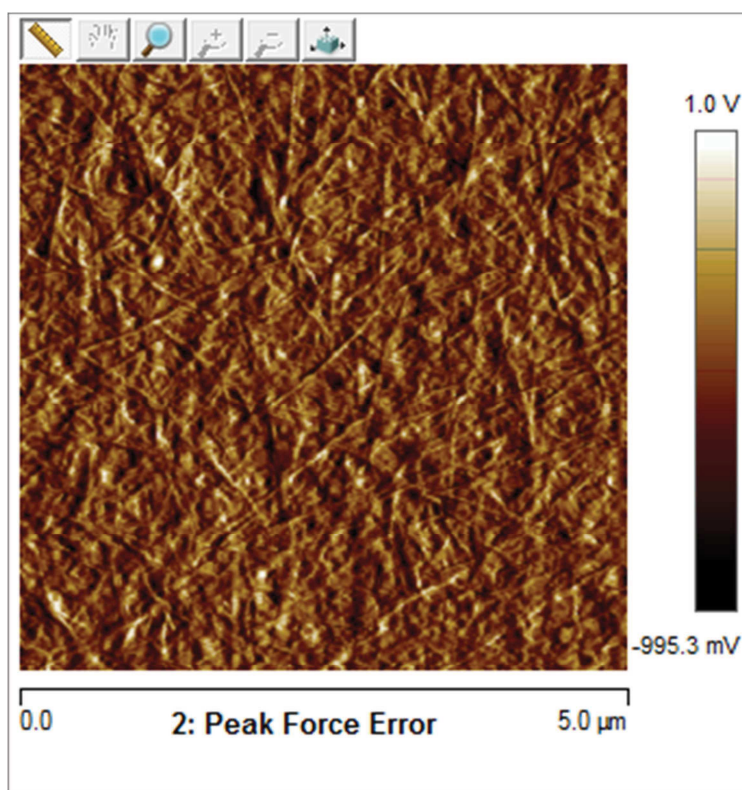


**Figure IV.7.  $(G'-G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$  en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, pour un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse, à 0,1 Hz (— : ajustement par une loi de puissance).**

La dépendance du module de conservation réduit en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers suit une loi de puissance d'exposant 0,8, du moins pour des fractions volumiques allant jusqu'à 0,13% en volume. La faible valeur de cet exposant suggère que l'effet renfort n'est pas dû à l'existence d'un réseau de percolation formé par les nanowhiskers dans ce domaine de fractions volumiques, mais plutôt que les nanowhiskers renforcent le réseau d'agarose en affectant son organisation, *via* des modifications de la topologie du réseau et/ou des changements de connectivité du réseau, entraînant une augmentation de la densité en nombre de jonctions par unité de volume, et donc une augmentation de l'élasticité, comme prédit par le modèle de réseau transitoire de Green et Tobolsky [4]. Par ailleurs, il faut noter que l'augmentation du module de conservation  $G'$  (effet renfort) est accompagnée d'une augmentation de l'angle de perte avec la fraction volumique en nanowhiskers, traduisant une augmentation encore plus importante des phénomènes de dissipation avec l'ajout de nanowhiskers. Cela pourrait être dû à l'augmentation de la dissipation visqueuse induite par les interactions entre les molécules d'agarose et les nanowhiskers de cellulose, et/ou entre les nanowhiskers, *via* les molécules d'eau.

Le fait que les nanowhiskers aient une taille caractéristique (~800 nm de longueur) plus grande que la taille moyenne de maille du réseau d'agarose pur (450 nm pour un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse [5]), mais aussi que la méthode d'élaboration utilisée, où les molécules d'agarose sont ajoutées à la suspension de nanowhiskers préalablement préparée, pourrait expliquer pourquoi les nanowhiskers sont capables de modifier la structure du réseau d'agarose.

En l'absence du réseau de percolation de nanowhiskers, on peut supposer que le transfert des contraintes s'effectue principalement entre la matrice agarose et les nanowhiskers individualisés. Le cliché AFM de la Figure IV.8, montrant des nanowhiskers de cellulose individualisés dans la matrice agarose, tend à valider cette hypothèse.



**Figure IV.8. Cliché AFM d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à 0,13% en volume de nanowhiskers.**

Pour finir, nous souhaitons souligner que le module de conservation  $G'$  de l'hydrogel chargé à 0,2% en volume de nanowhiskers est plus faible que celui de l'hydrogel à 0,13% en volume. Ce résultat, parfaitement reproductible, suggère que, à partir d'une fraction volumique de 0,2%, les nanowhiskers affectent de manière plus importante l'organisation du réseau d'agarose, et plus particulièrement l'organisation des zones de jonctions, conduisant à une diminution de la connectivité du réseau d'agarose, et par conséquent à une perte d'élasticité. Ce phénomène pourrait s'expliquer par l'agrégation des nanowhiskers dans les mailles d'agarose les plus grandes, comme proposé par Bica *et al.* (2001) [2].

Si nous comparons ces résultats à ceux de la littérature, l'effet renfort induit par l'addition de nanowhiskers de cellulose a été observé avec d'autres hydrogels, soit synthétiques [6], soit naturels [7]. Les résultats de ces études ont cependant été obtenus dans des gammes de fractions volumiques supérieures (entre 1 et 10% en masse) à celle utilisée dans notre étude. Il convient d'ailleurs de remarquer que l'effet renfort a parfois lieu à des fractions volumiques très élevées (de l'ordre de 20% en masse) [8]. De plus, il a été montré

que cet effet renfort était bien plus prononcé lorsque le rapport de forme des nanoparticules était plus élevé. Par exemple, l'étude d'une matrice époxy renforcée par des nanowhiskers de cellulose a montré que le transfert des contraintes entre la matrice et les charges était plus efficace pour des nanowhiskers de tunicier ( $p = 76$ ) que pour ceux de coton ( $p = 19$ ) [9]. Finalement, il a aussi été montré que l'effet renfort dû à la présence de nanowhiskers était plus faible que celui obtenu avec des nanoparticules anisométriques (plaquettes) d'argiles synthétiques (Laponites), dont la surface de contact avec la matrice est plus importante [10].

### IV.3. Relaxation des contraintes

Les résultats obtenus en relaxation des contraintes, pour des hydrogels d'agarose pur et des hydrogels chargés, montrent que la dépendance en temps du module de relaxation  $G(t)$  peut être assez correctement ajustée par une loi de puissance décroissante :

$$G(t) = St^{-n} \quad (\text{Equation IV.1})$$

où  $S$  est la force du gel et  $n$ , l'exposant de relaxation. Ce type de loi est caractéristique de la relaxation d'un gel critique [11]. Ce modèle initialement proposé par Winter et Chambon peut être appliqué à chaque fois que la structure du gel est autosimilaire (*i.e.* invariante par changement d'échelle) [11], c'est la raison pour laquelle ce modèle peut décrire le comportement viscoélastique d'un grand nombre de gels de polymères chimiques [12] et physiques [13, 14], mais aussi le comportement de divers gels de particules en forme de bâtonnets ou de disques [15, 16].

La Figure IV.9 représente les courbes de relaxation d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations, de 0,1 à 0,35% en masse, ajustées par l'équation IV.1.

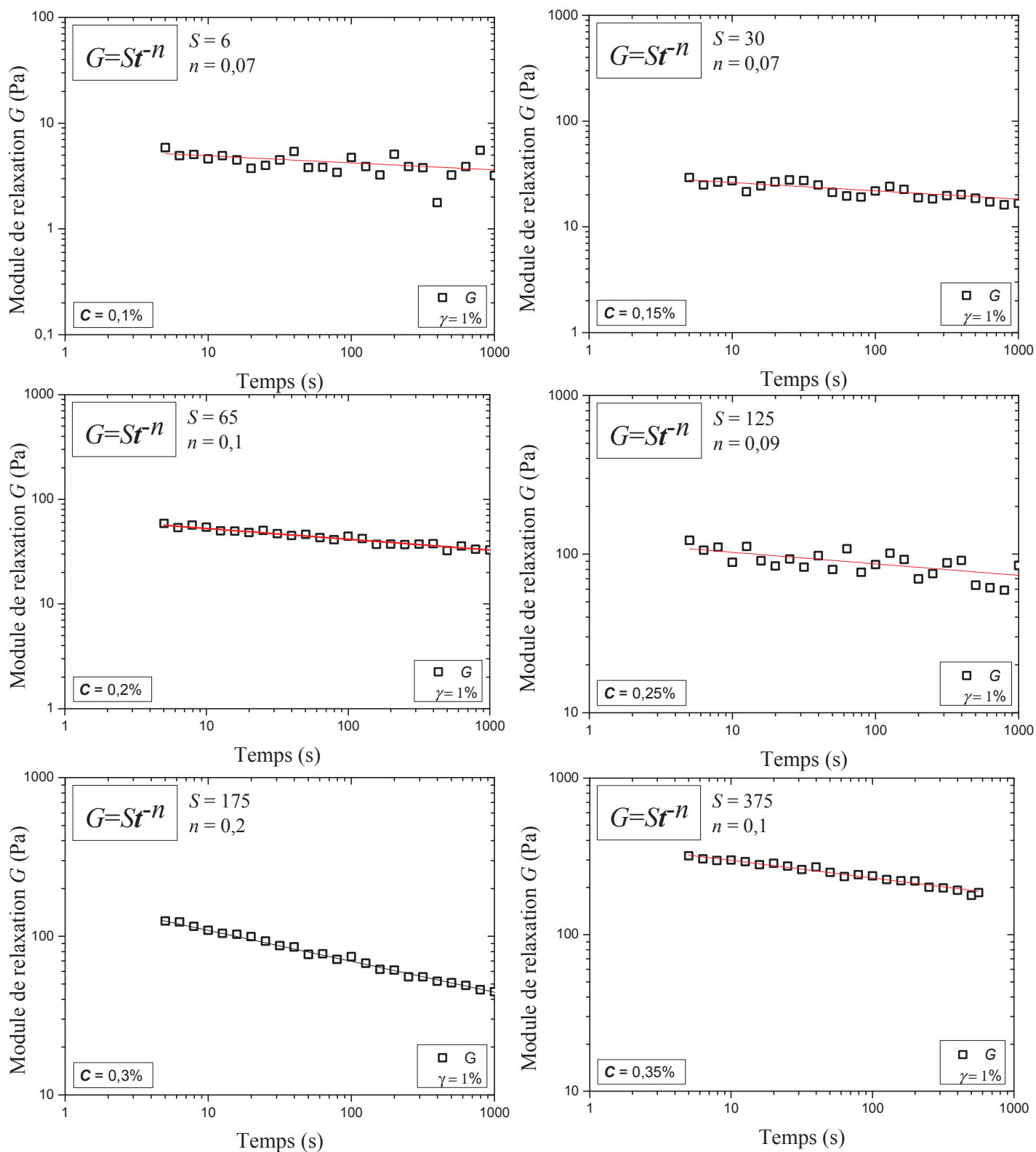


Figure IV.9. Module de relaxation  $G$  en fonction du temps pour des hydrogels d'agarose pur, à des concentrations,  $C$ , de 0,1% à 0,35% en masse (— : ajustement par une loi de puissance).

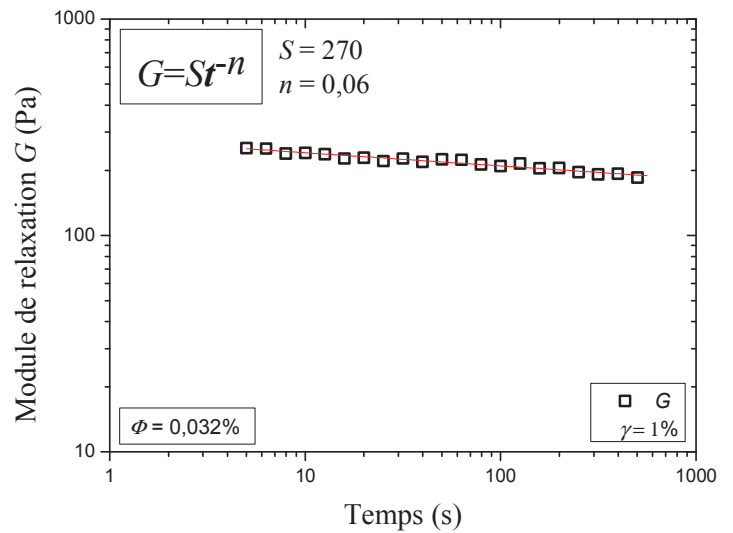
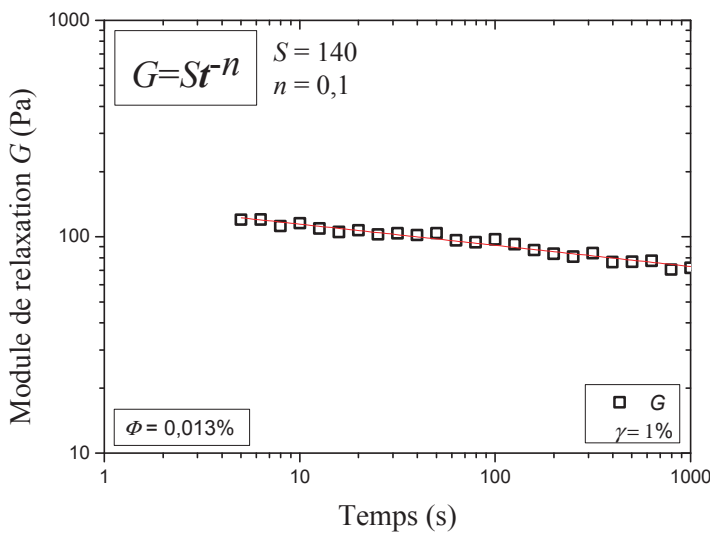
Les valeurs de la force du gel  $S$  et de l'exposant de relaxation  $n$  pour les hydrogels d'agarose pur sont reportées dans le Tableau IV.5.

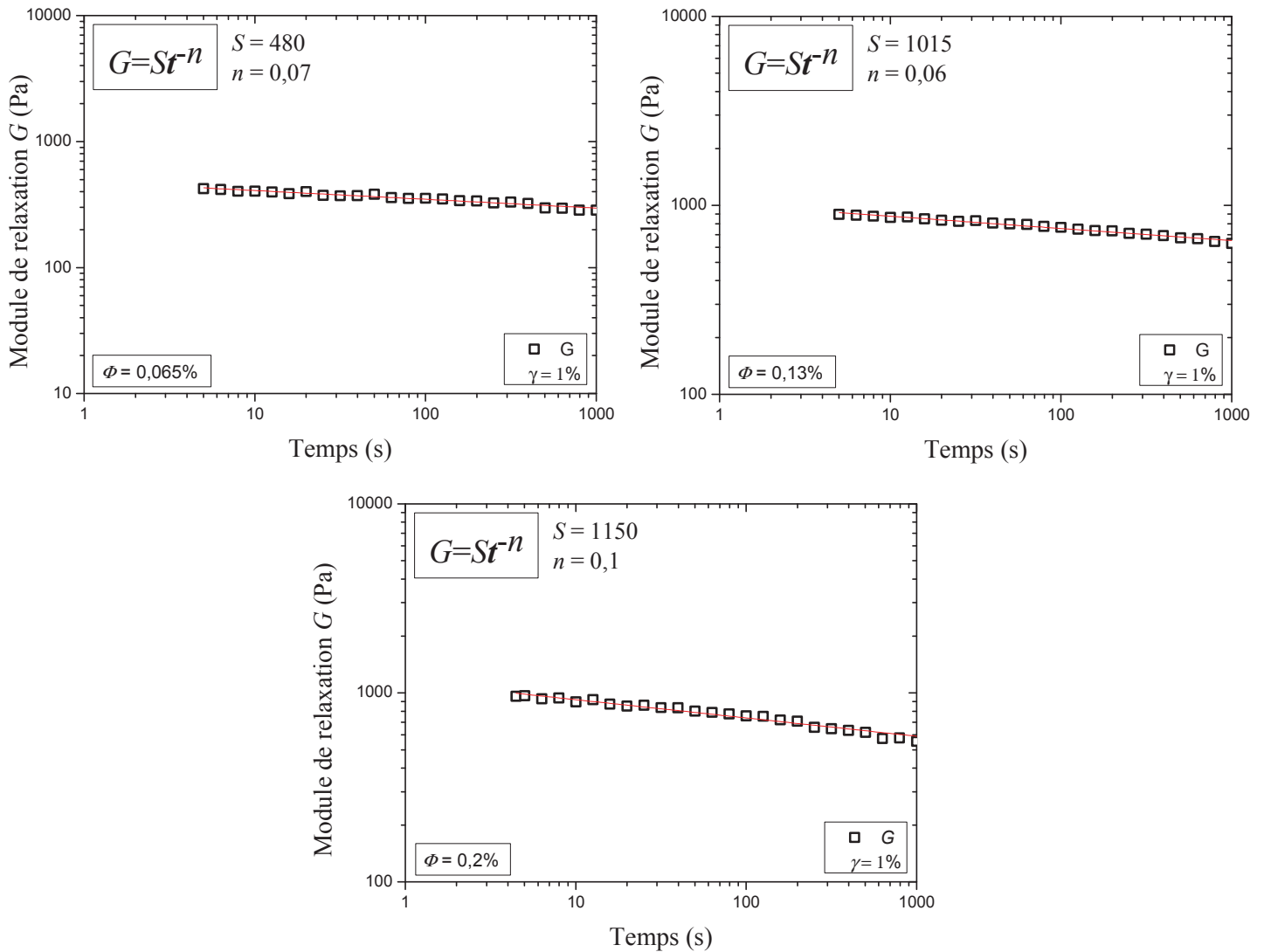
**Tableau IV.5. Force du gel  $S$  et exposant de relaxation  $n$  d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$S$ (Pa)	6	30	65	125	175	375
$n$	0,07	0,07	0,1	0,9	0,2	0,1

Le Tableau IV.5 montre que l'exposant de relaxation des hydrogels d'agarose pur, pour les différentes concentrations étudiées, est faible :  $n \sim 0,1$ .

La Figure IV.10 représente les courbes de relaxation d'hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de 0,013% à 0,2% en volume de nanowhiskers de cellulose, ajustées par l'équation IV.1.





**Figure IV.10. Module de relaxation  $G$  en fonction du temps pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse à des fractions volumiques,  $\Phi$ , de 0,013% à 0,2% de nanowhiskers (— : ajustement par une loi de puissance).**

Les valeurs de la force du gel  $S$  et de l'exposant de relaxation  $n$  pour les hydrogels chargés sont reportées dans le Tableau IV.6.

**Tableau IV.6. Force du gel  $S$  et exposant de relaxation  $n$  d'un hydrogel d'agarose à 0,2% masse à différentes fractions volumiques en nanowhiskers .**

	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$S$ (Pa)	65	140	270	480	1015	1150
$n$	0,1	0,1	0,06	0,07	0,06	0,1

Le Tableau IV.6 montre que les valeurs de l'exposant de relaxation des hydrogels chargés, au moins sur la gamme de fractions volumiques étudiée, sont très proches de celles obtenues pour les hydrogels d'agarose pur.

Ces résultats confirment que l'hydrogel d'agarose semble imposer son comportement viscoélastique aux systèmes chargés, comme souligné précédemment.

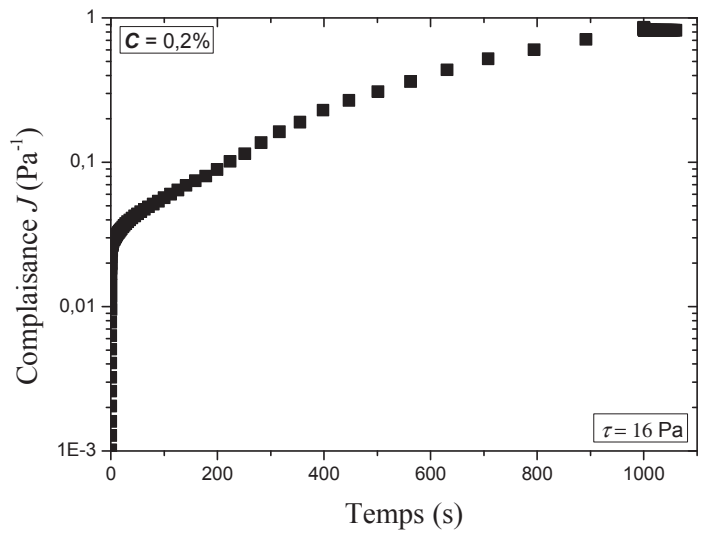
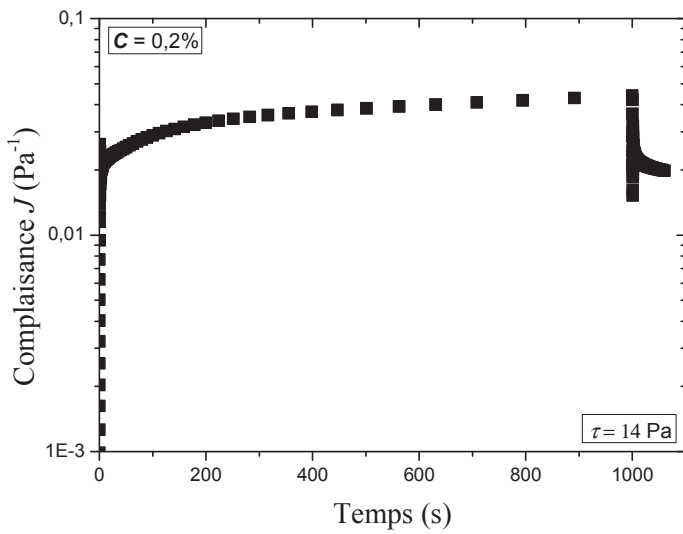
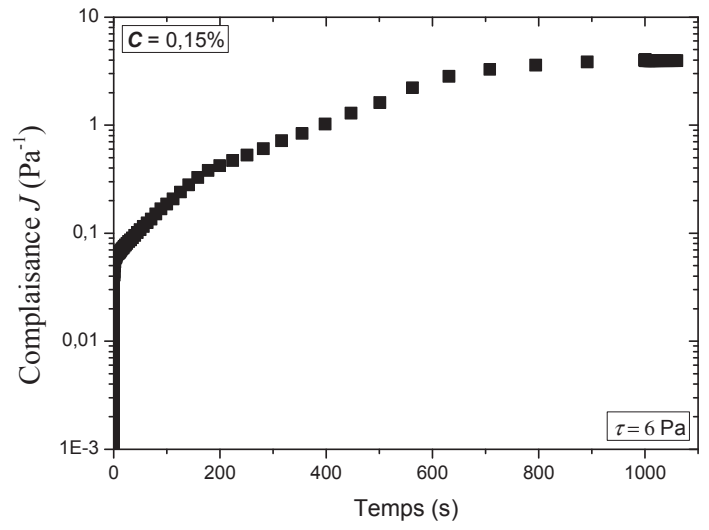
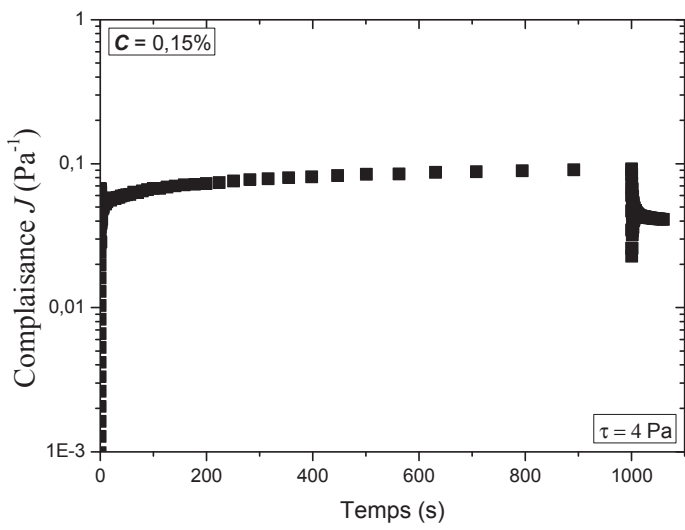
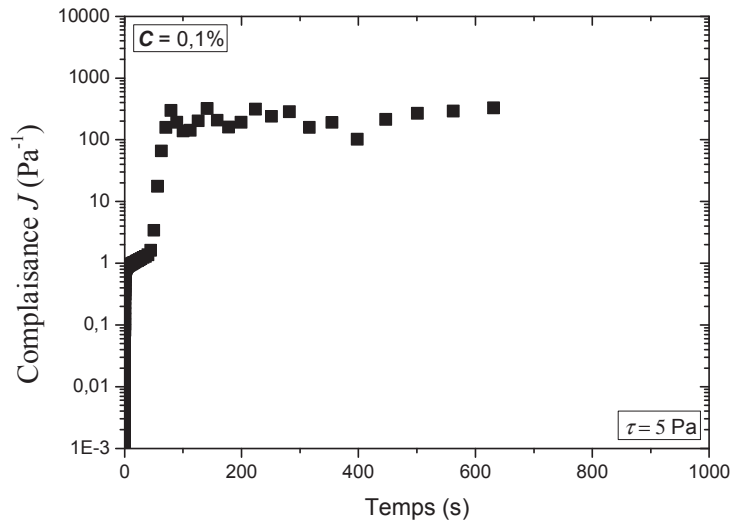
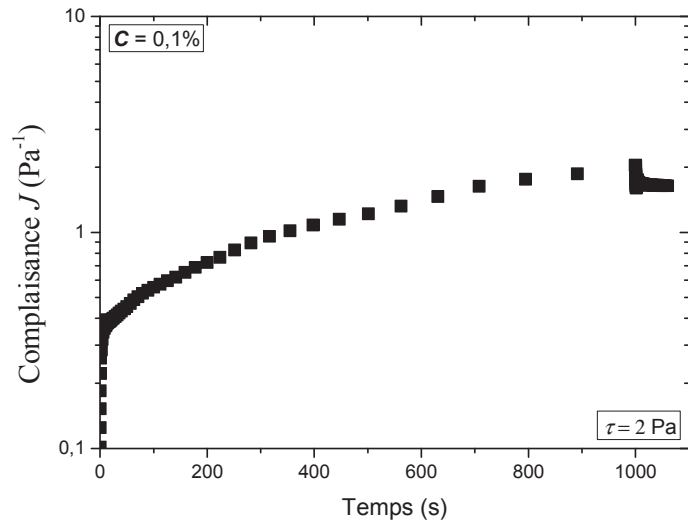
## IV.4. Fluage et écoulement permanent

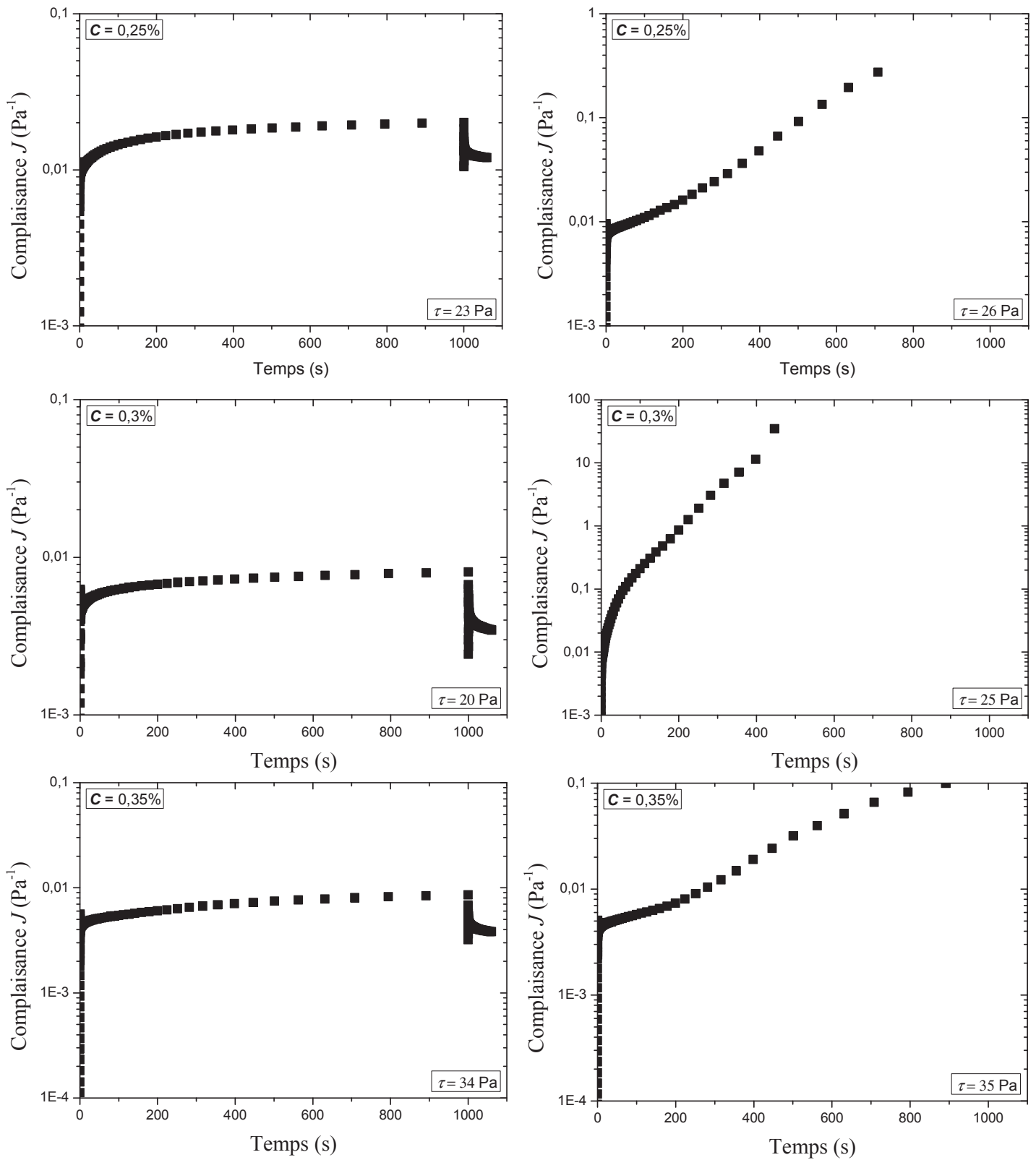
### IV.4.1. Fluage

Les tests de fluage ont permis de déterminer le module instantané  $G_0$  et la contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s,flu}$  des différents échantillons ; cette détermination est décrite dans le chapitre II – Matériaux et méthodes.

La Figure IV.11 représente les courbes de fluage d'hydrogels d'agarose pur à différentes concentrations, avant et après la contrainte-seuil.







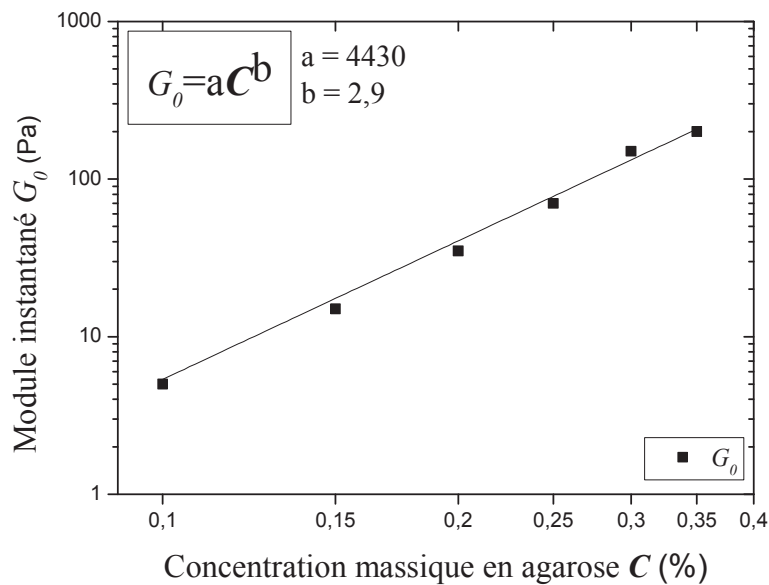
**Figure IV.11. Courbe de fluage d'hydrogels d'agarose pur, à des concentrations,  $C$ , de 0,1% à 0,35% en masse, avant (Figures de gauche) et après (Figures de droite) la contrainte-seuil.**

Les valeurs du module instantané et de la contrainte-seuil apparente en fluage des hydrogels d'agarose pur sont reportées dans le Tableau IV.7.

**Tableau IV.7. Module instantané  $G_0$  et contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s, flu}$  d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$G_0$ (Pa)	3	15	35	70	150	200
$\tau_{s, flu}$ (Pa)	3	5	15	25	25	35

Le module instantané des hydrogels d'agarose pur est reporté en fonction de la concentration en agarose sur la Figure IV.12.



**Figure IV.12. Module instantané  $G_0$  en fonction de la concentration en agarose (— : ajustement par une loi de puissance).**

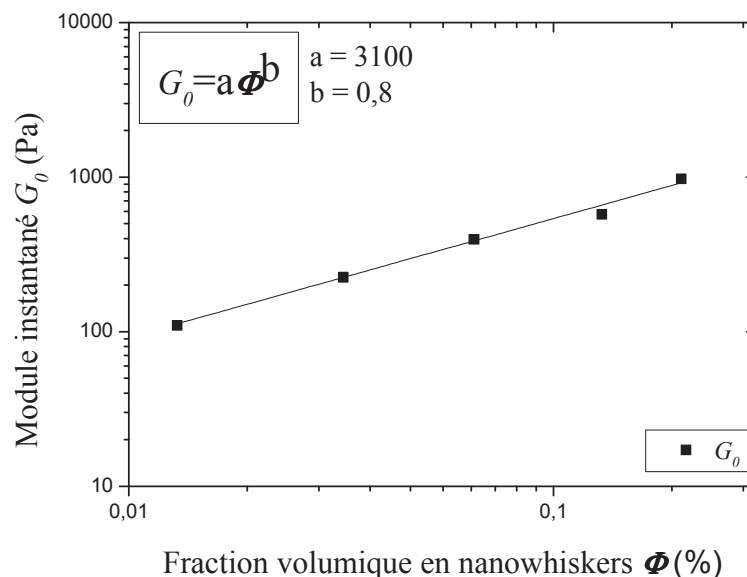
L'ajustement de la courbe  $G_0$  en fonction de  $C$  de la Figure IV.12 donne un exposant de la loi de puissance, de 2,9, très proche de celui (3) caractérisant la dépendance en loi de puissance de  $G'$  en fonction de  $C$  en cisaillement oscillatoire.

Les tests de fluage ont aussi été réalisés sur les hydrogels chargés. Pour déterminer les propriétés en fluage ( $G_0$  et  $\tau_{s,flu}$ ) des hydrogels chargés, nous avons suivi la même démarche que celle adoptée dans le cas des hydrogels d'agarose pur. Les valeurs du module instantané et de la contrainte-seuil des hydrogels d'agarose chargés sont reportées dans le Tableau IV.8.

**Tableau IV.8. Module instantané  $G_0$  et contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s,flu}$  d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.**

	Fractions volumiques en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$G_0$ (Pa)	35	110	225	395	575	975
$\tau_{s,flu}$ (Pa)	10	10	20	30	60	70

Le module instantané des hydrogels chargés en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers est reporté sur la Figure IV.13.



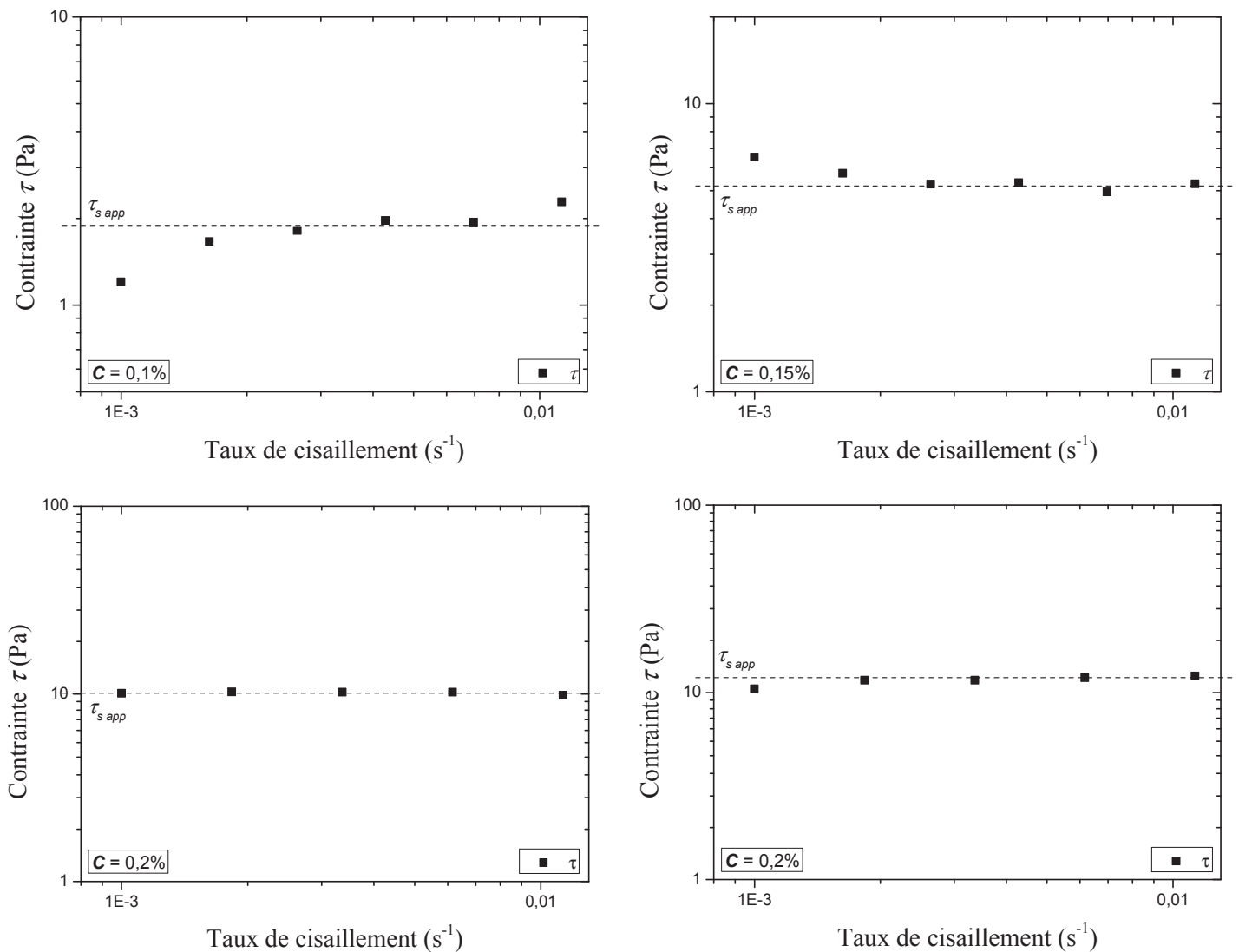
**Figure IV.13. Module instantané  $G_0$  en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers (— : ajustement par une loi de puissance).**

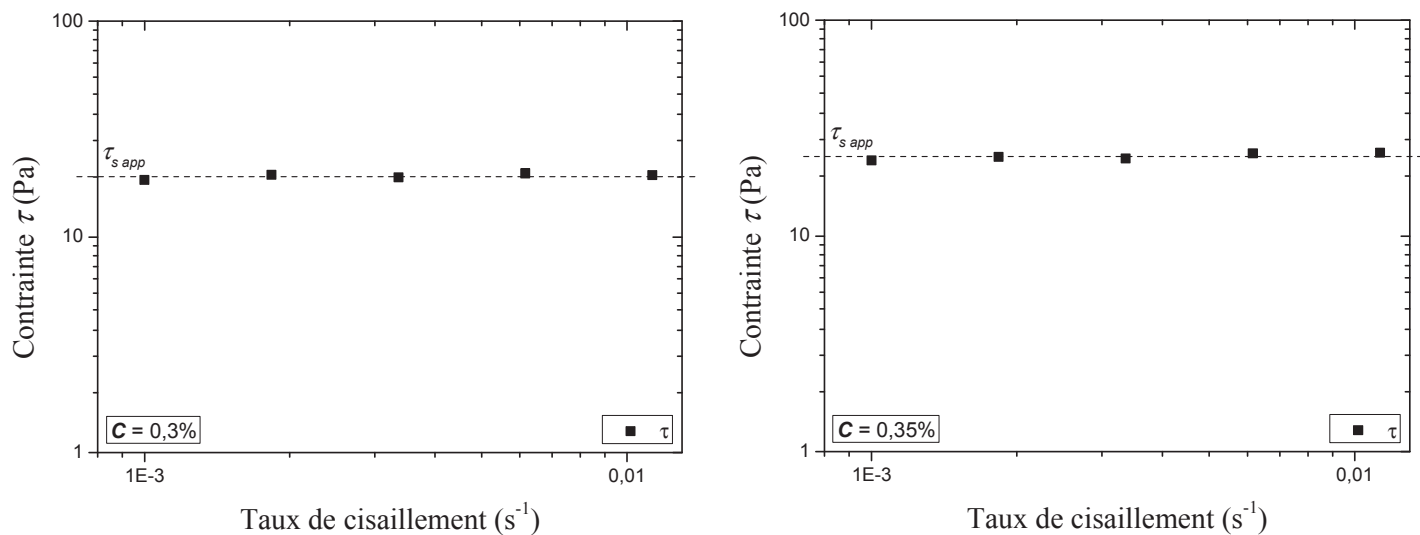
L'ajustement de la courbe  $G_0$  en fonction de  $\Phi$  de la Figure IV.13 donne un exposant de la loi de puissance égal à 0,8, identique à celui caractérisant la dépendance en loi de puissance de  $G'$  en fonction de  $\Phi$  en cisaillement oscillatoire.

#### IV.4.2. Ecoulement permanent

Les tests en cisaillement simple plan permanent ont permis, à partir des courbes d'écoulement, de déterminer la contrainte-seuil apparente en écoulement permanent,  $\tau_{s\ perm}$ , des différents échantillons ; cette détermination est décrite dans le chapitre II – Matériaux et méthodes.

La Figure IV.14 représente les courbes d'écoulement, contrainte en fonction du taux de cisaillement d'hydrogels, à différentes concentrations en agarose.





**Figure IV.14. Contrainte  $\tau$  en fonction du taux de cisaillement d'hydrogels à différentes concentrations en agarose, détermination de la contrainte-seuil apparente à partir des courbes d'écoulement.**

Les valeurs de la contrainte-seuil apparente pour les hydrogels d'agarose pur sont reportées dans le Tableau IV.9.

**Tableau IV.9. Contrainte-seuil apparente en écoulement permanent  $\tau_{s perm}$  d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$\tau_{s perm}$ (Pa)	2	6	10	12	20	25

Par ailleurs, classiquement, les résultats de fluage ont permis de compléter les courbes d'écoulement vers les taux de cisaillement faibles, comme le montre la Figure IV.15.

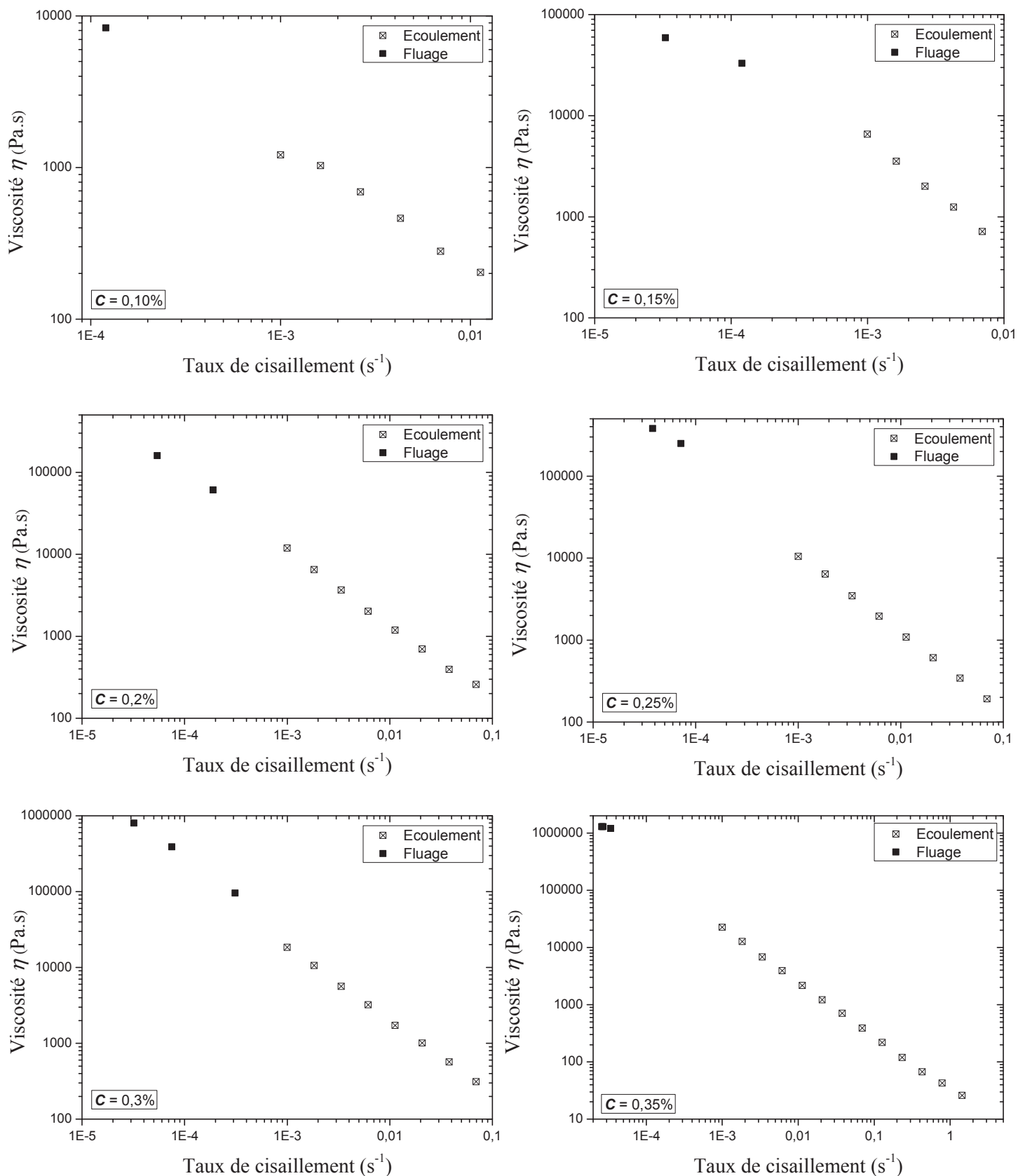
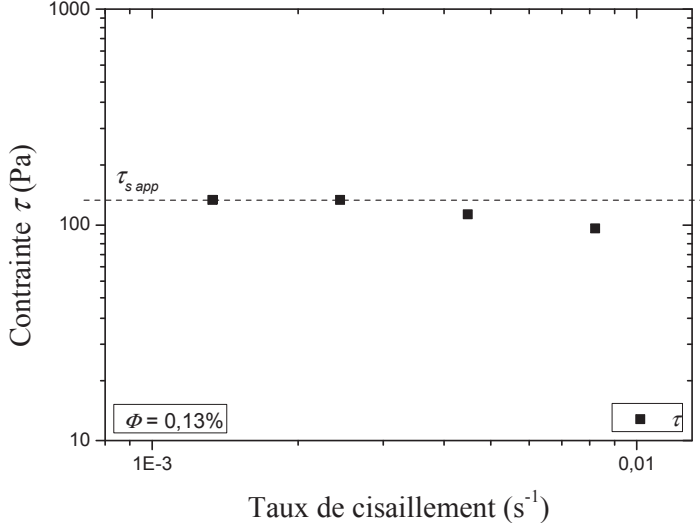
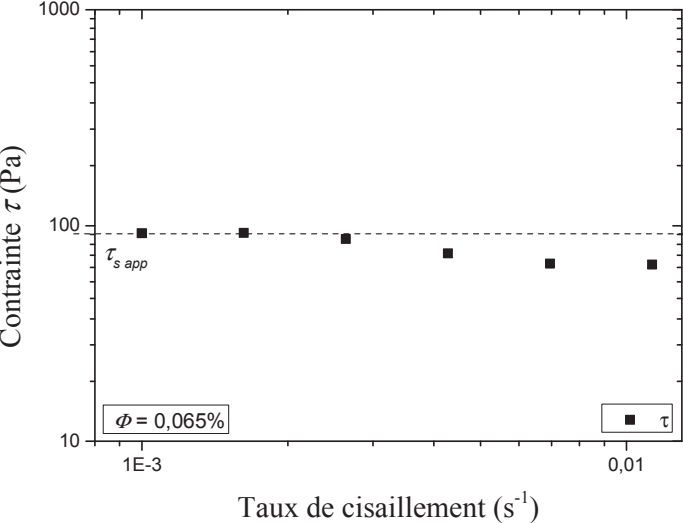
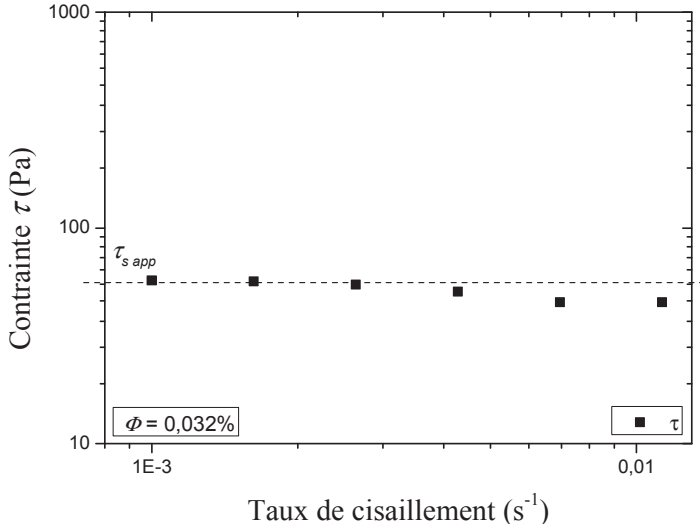
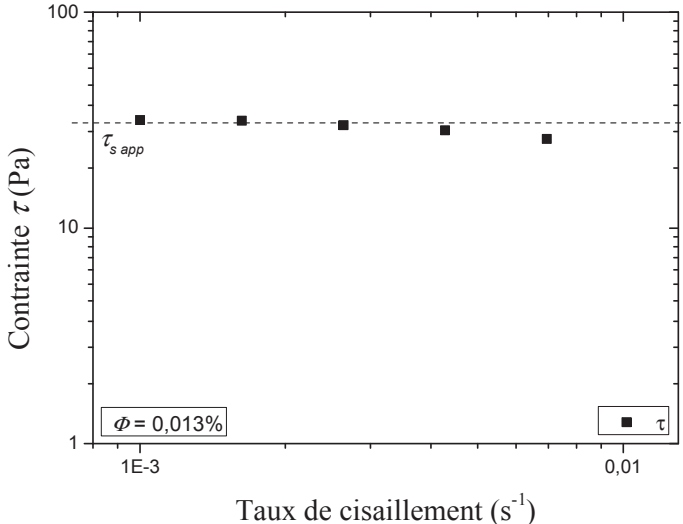


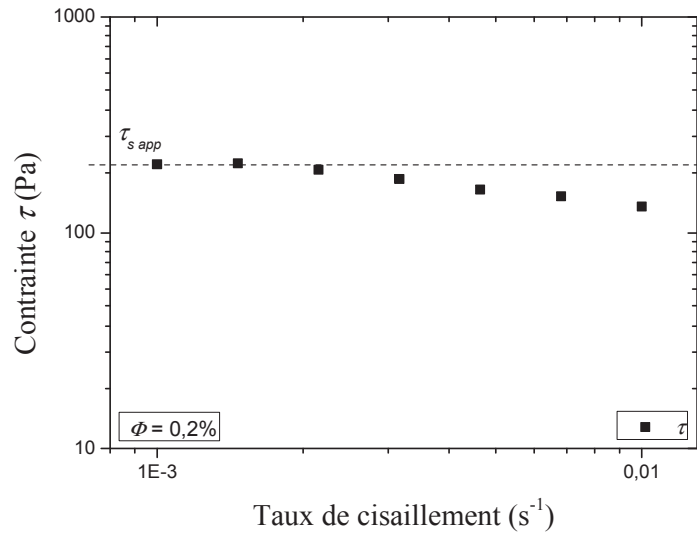
Figure IV.15. Courbes d'écoulement, obtenues à partir de mesures en régime permanent et fluage, pour des hydrogels d'agarose concentrés de 0,1% à 0,35% en masse à 20°C.

Il convient de remarquer que les courbes d'écoulement de la Figure IV.15 montrent une bonne cohérence des résultats obtenus en fluage et en régime permanent.

La Figure IV.16 représente les courbes d'écoulement, contrainte en fonction du taux de cisaillement, des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.







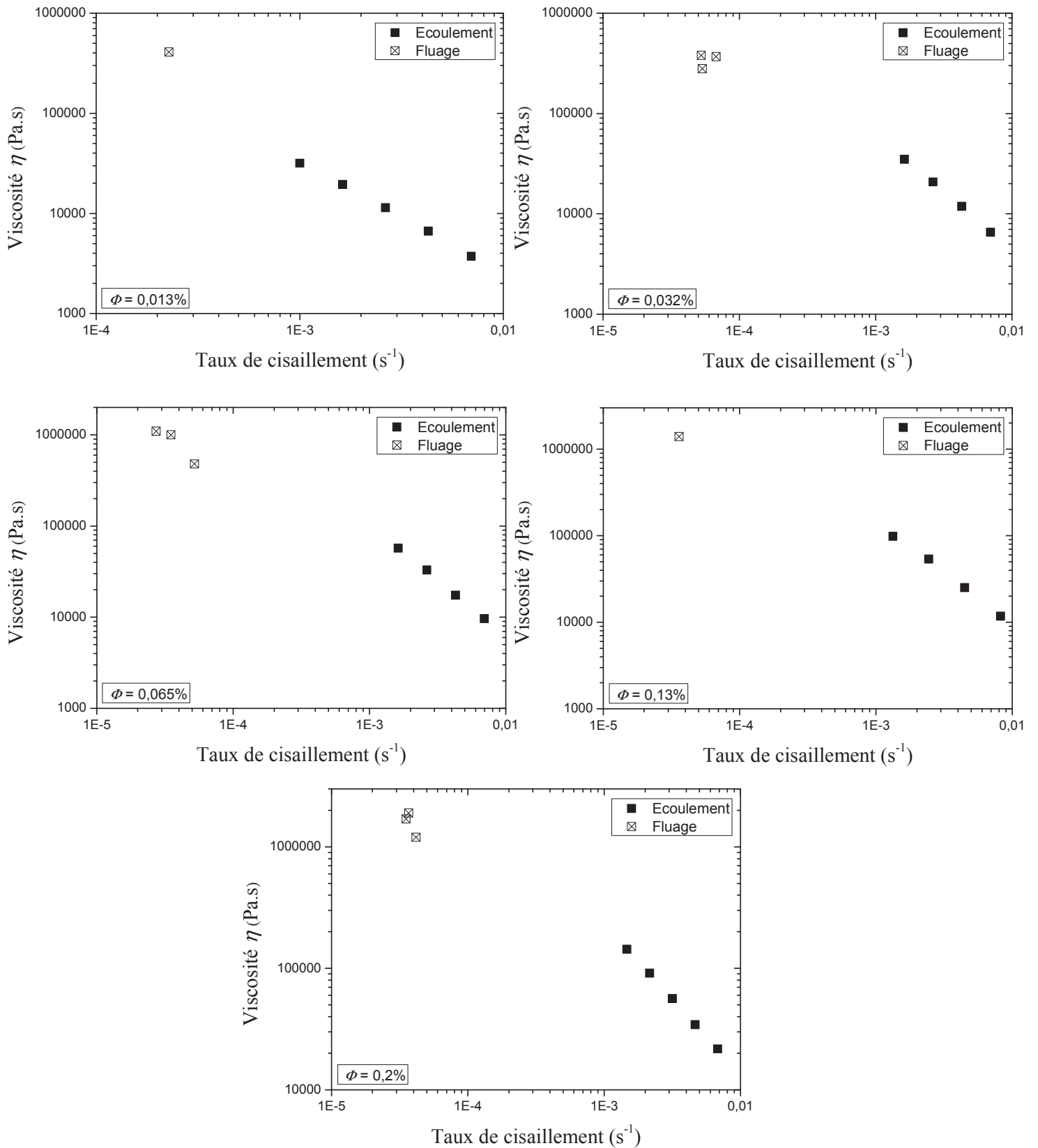
**Figure IV.16. Contrainte  $\tau$  en fonction du taux de cisaillement d'hydrogels d'agarose à 0,2% en masse à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, détermination de la contrainte-seuil apparente à partir des courbes d'écoulement.**

Les valeurs de la contrainte-seuil apparente en écoulement permanent pour les hydrogels d'agarose chargés sont reportées dans le Tableau IV.10.

**Tableau IV.10. Contrainte-seuil apparente en écoulement permanent  $\tau_{s\ perm}$  d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.**

	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$\tau_{s\ perm}$ (Pa)	11	30	55	90	130	210

Comme dans le cas des hydrogels d'agarose pur, les courbes d'écoulement complétées par la viscosité obtenue en fluage, des hydrogels d'agarose chargés, sont représentées sur la Figure IV.17.



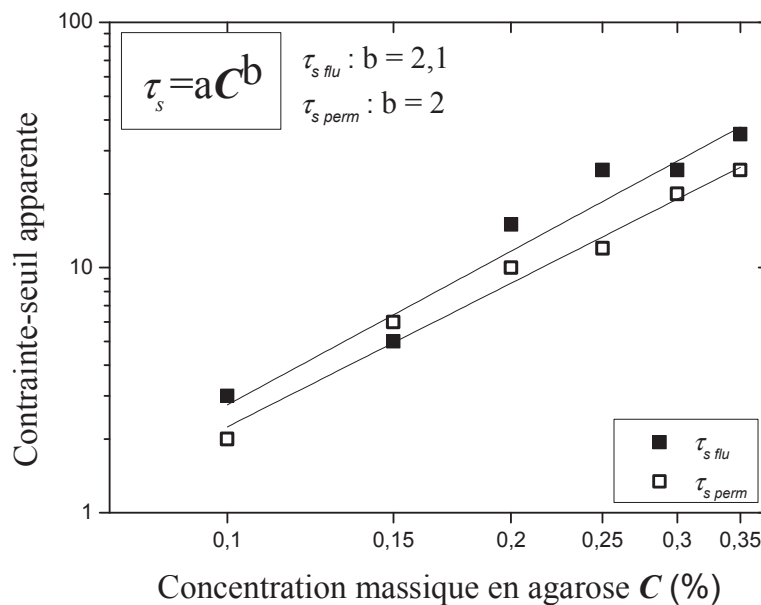
**Figure IV.17. Courbes d'écoulement, obtenues à partir de mesures en régime permanent et fluage, d'hydrogels d'agarose chargés de 0,013% à 0,2% en volume de nanowhiskers à 20°C.**

Les valeurs de la contrainte-seuil apparente, obtenues en fluage et en écoulement permanent, pour les hydrogels d'agarose pur sont reportées dans le Tableau IV.9, en vue de comparaison.

**Tableau IV.9. Contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s\ flu}$  et en écoulement permanent  $\tau_{s\ perm}$  d'hydrogels d'agarose à différentes concentrations.**

	Concentration en agarose $C$ (%)					
	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
$\tau_{s\ flu}$ (Pa)	3	5	15	25	25	35
$\tau_{s\ perm}$ (Pa)	2	6	10	12	20	25

Les contraintes-seuil apparentes, déterminées en fluage et en écoulement permanent, des hydrogels d'agarose pur sont reportées en fonction de la concentration en agarose sur la Figure IV.18.



**Figure IV.18. Contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s\ flu}$  et en écoulement permanent  $\tau_{s\ perm}$  en fonction de la concentration en agarose (— : ajustement par une loi de puissance).**

L'ajustement des courbes de  $\tau_{s\ flu}$  et de  $\tau_{s\ perm}$  en fonction de  $C$  de la Figure IV.18 donne des exposants des lois de puissance très proches ( $\sim 2$ ).

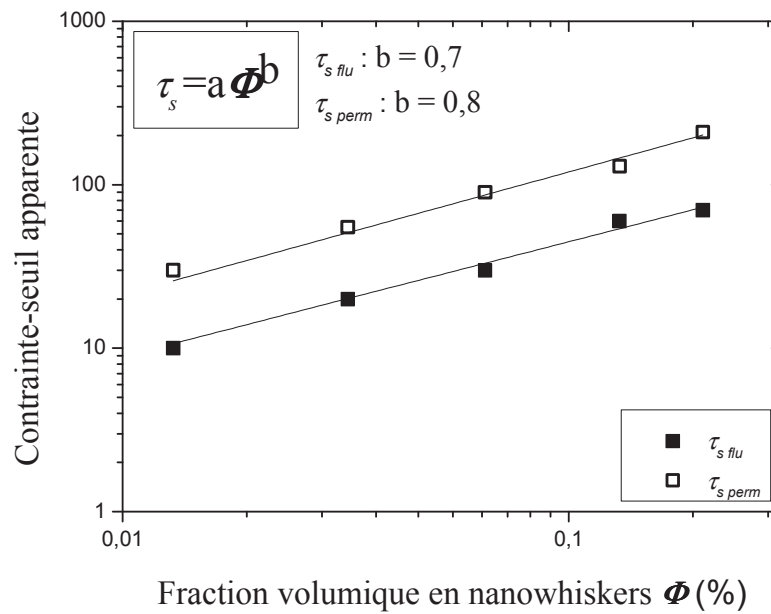
Les valeurs de la contrainte-seuil, obtenues en fluage et en écoulement permanent, pour les hydrogels d'agarose à 0,2% en masse, chargés de nanowhiskers de cellulose, sont reportées dans le Tableau IV.10.

**Tableau IV.10. Contrainte-seuil apparente en fluage  $\tau_{s\ flu}$  et en écoulement permanent  $\tau_{s\ perm}$  d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers.**

	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$\tau_{s\ flu}$ (Pa)	10	10	20	30	60	70
$\tau_{s\ perm}$ (Pa)	11	30	55	90	130	210

Le Tableau IV.10 montre que les valeurs de la contrainte-seuil obtenues en fluage et en écoulement permanent, pour les hydrogels chargés, augmentent avec la fraction volumique en nanowhiskers, en raison du renfort de la matrice par l'ajout de nanowhiskers. Cependant, contrairement aux hydrogels d'agarose pur, les valeurs de contraintes-seuil issues des tests d'écoulement sont deux à trois fois supérieures à celles issues des tests en fluage. Ce phénomène pourrait être dû à des différences dans les modes de réorganisation du réseau dans les deux types de sollicitation étudiées (fluage et écoulement permanent). En effet, on peut imaginer qu'en mode écoulement, les nanowhiskers de cellulose s'orientent plus facilement, favorisant la création d'interactions faibles, de type liaison hydrogène, entre la matrice et les charges et/ou entre les charges, augmentant ainsi la cohésion du système.

Les contraintes-seuil apparentes, en fluage et en écoulement permanent, des hydrogels chargés en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers sont reportées sur la Figure IV.19.



**Figure IV.19. Contraite-seuil apparente, en fluage  $\tau_{s\ flu}$  et en écoulement permanent  $\tau_{s\ perm}$ , en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers (— : ajustement par une loi de puissance).**

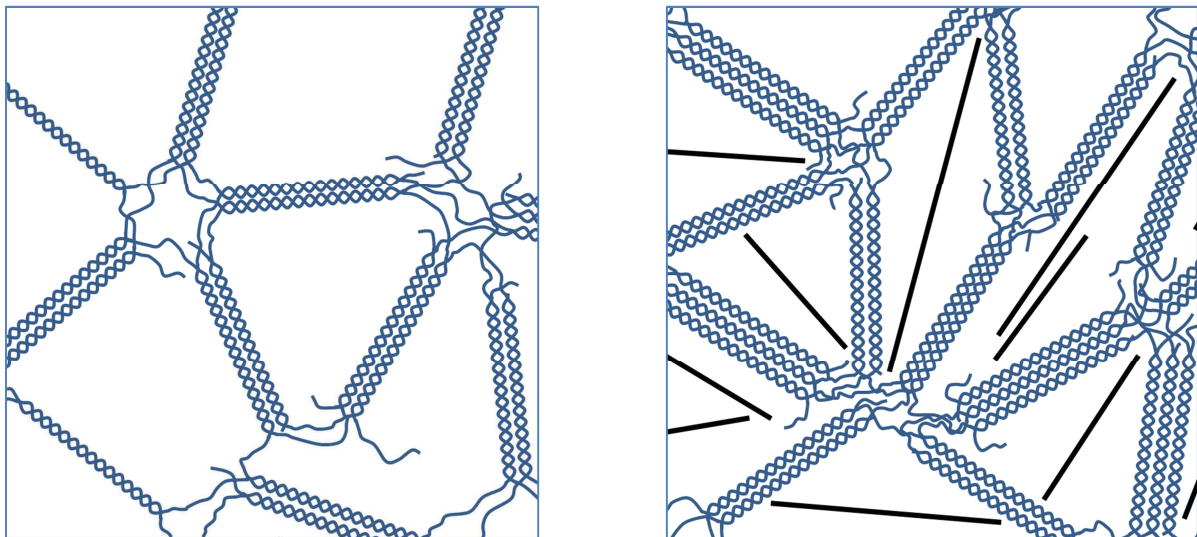
L'ajustement des courbes de  $\tau_{s\ flu}$  et de  $\tau_{s\ perm}$  en fonction de  $\Phi$  sur la Figure IV.19 donne des exposants des lois de puissance très proches ( $\sim 0,8$ ).

Les tests en fluage et en écoulement permanent ont confirmé l'effet renfort apporté par les nanowhiskers et les modifications induites sur la structure de l'agarose, et ont conforté, par leur cohérence, l'ensemble des résultats rhéologiques.

## Conclusion

Les propriétés en cisaillement oscillatoire aux faibles déformations des hydrogels d'agarose pur et des hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose de tunicier ont été étudiées. Les résultats tendent à montrer que les propriétés rhéologiques des hydrogels chargés sont gouvernées par la structure de la matrice agarose, au moins aux faibles fractions volumiques en nanowhiskers ( $\Phi < 0,2\%$ ). A ces faibles fractions, où les nanowhiskers ne percolent pas, les charges ont cependant un effet renfort significatif, caractérisé par une augmentation de plus d'une décade du module de conservation lorsque l'on ajoute 0,13% en volume de nanowhiskers à un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse.

Finalement, les résultats de cette étude suggèrent que les nanowhiskers peuvent modifier la topologie et/ou la connectivité du réseau d'agarose conduisant à un effet renfort significatif, le transfert des contraintes s'effectuant principalement entre les nanowhiskers et la matrice hydrogel. La Figure IV.20 illustre des modifications possibles de la structure du réseau d'agarose induites par l'ajout de nanowhiskers à une fraction volumique inférieure à 0,2% en volume.



**Figure IV.20. Représentation schématique de la structure d'un hydrogel d'agarose (à gauche) et d'un hydrogel d'agarose chargé de nanowhiskers de cellulose à une fraction volumique inférieure de 0,2% en volume (à droite).**

Comme l'illustre la Figure IV.20, les modifications de la structure du réseau d'agarose sont apportées par la présence de nanowhiskers individualisés dans les mailles du réseau d'agarose, comme suggéré par le cliché AFM de la Figure IV.8. Les nanowhiskers ayant une longueur moyenne supérieure à la taille moyenne des mailles du réseau d'agarose, les mailles de l'hydrogel se déforment. De plus, la présence des nanowhiskers a pour conséquence d'augmenter la densité en nombre de jonctions du réseau, favorisant l'effet renfort.

## Références

- [1] M. Tokita, K. Hikichi, Mechanical studies of sol-gel transition: universal behavior of elastic modulus, *Physical Review A*, 35, 4329-4333, 1987.
- [2] P. G. De Gennes, On a relation between percolation theory and the elasticity of gels, *Le Journal de Physique – Lettres*, 37, 1-2, 1976.
- [3] Z. H. Mohammed, M. W. N. Hember, R. K. Richardson, E. R. Morris, Kinetic and equilibrium processes in the formation and melting of agarose gels, *Carbohydrate Polymers*, 36, 15-26, 1998.
- [4] M. S. Green, A. V. Tobolsky, A new approach to the theory of relaxing polymeric media, *The Journal of Chemical Physics*, 14, 80-92, 1946.
- [5] C. I.D. Bica, R. Borsali, E. Geissler, C. Rochas, Dynamics of cellulose whiskers in agarose gels. 1. Polarized dynamic light scattering, *Macromolecules*, 34, 5275-5279, 2001.
- [6] C. Zhou, Q. Wu, Y. Yue, Q. Zhang, Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels, *Journal of Colloid and Interface Science*, 353, 116-123, 2011.
- [7] R. Dash, M. Foston, A. J. Ragauskas, Improving the mechanical and thermal properties of gelatin hydrogels cross-linked by cellulose nanowhiskers, *Carbohydrate Polymers*, 91, 638-645, 2013.
- [8] C. Spagnol, F. H. A. Rodrigues, A. G. B Pereira, A. R. Fajardo, A. F. Rubira, E. C. Muniz, Superabsorbent hydrogel nanocomposites based on starch-g-poly(sodium acrylate) matrix filled with cellulose nanowhiskers, *Cellulose*, 19, 1225-1237, 2012.
- [9] R. Rusli, K. Shanmuganathan, S. J. Rowan, C. Weber, S. J. Eichhorn, Stress transfer in cellulose nanowhisiker composites – influence of whisker aspect ratio and surface charge, *Biomacromolecules*, 12, 1363-1369, 2011.
- [10] I. Kvien, J. Sugiyama, M. Votrubeč, K. Oksman, Characterization of starch based nanocomposites, *Journal of Materials Science*, 42, 8163-8171, 2007.
- [11] H. H. Winter, F. Chambon, Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point, *Journal of Rheology*, 30, 367-382, 1986.



- [12] J. C. Scalan, H. H. Winter, Composition dependence of the viscoelasticity of end-linked poly (dimethylsiloxane) at the gel point, *Macromolecules* 24, 47-54, 1991.
- [13] T. Matsumoto, M. Kawai, T. Masuda, Viscoelastic and SAXS investigation of fractal structure near the gel point in alginate aqueous systems, *Macromolecules*, 25, 5430-5433, 1992.
- [14] C. Michon, G. Cuvelier, B. Launay, Concentration dependence of the critical viscoelastic properties of gelatin at the gel point, *Rheologica Acta*, 32, 94-103, 1993.
- [15] S. Cocard, J. F. Tassin, T. Nicolai, Dynamical mechanical properties of gelling colloidal disks, *Journal of Rheology*, 44, 585-594, 2000.
- [16] N. K. Reddy, Z. Zhang, M. P. Lettinga, J. K. G. Dhont, J. Vermant, Probing structure in colloidal gels of thermoreversible rodlike virus particles: Rheology and scattering, *Journal of Rheology*, 56, 1153-1174, 2012.

## Chapitre V

# Modulation de l'effet renfort des hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose

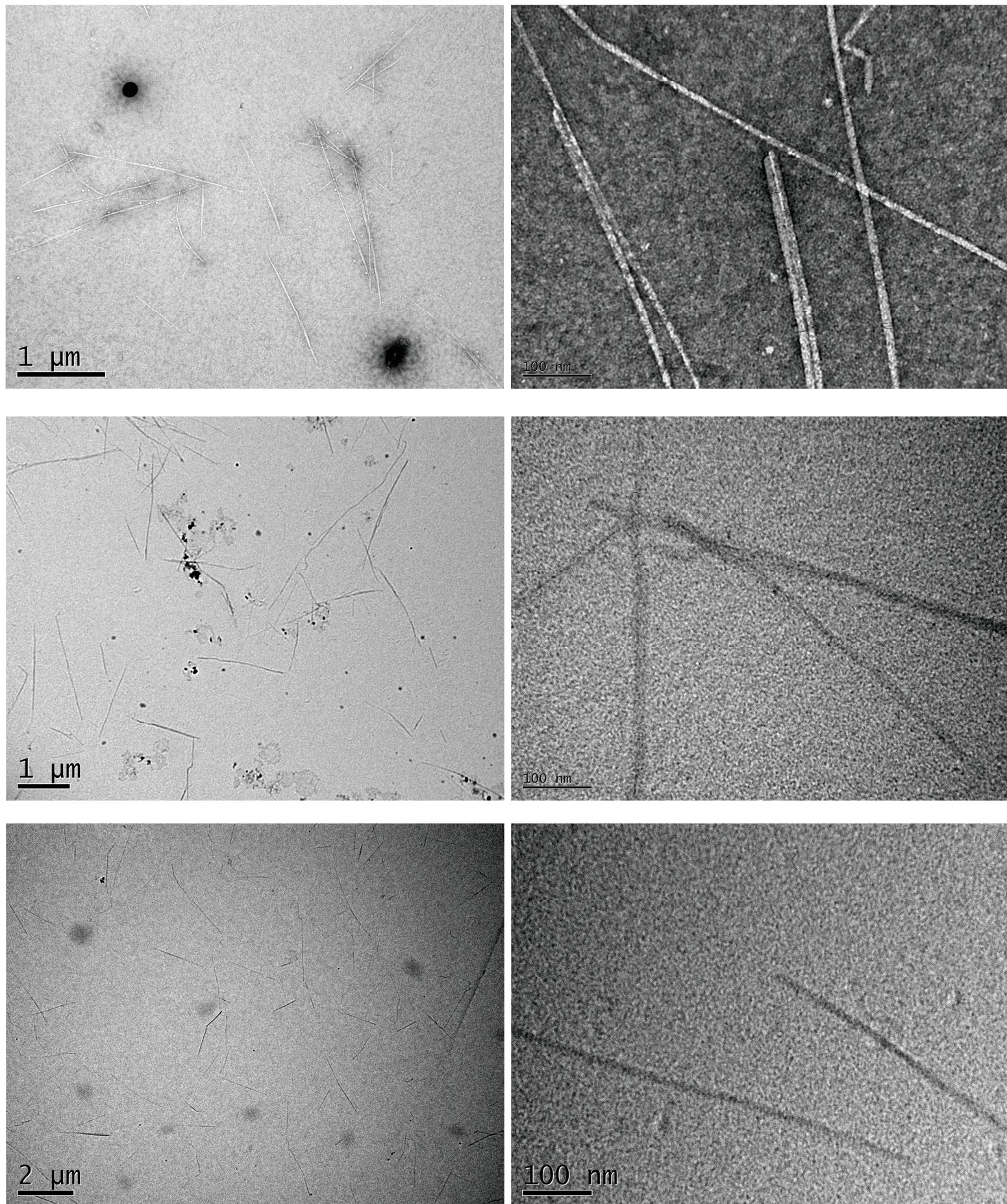
Le chapitre précédent a mis en évidence l'effet renfort apporté par les nanowhiskers lors de l'ajout de ces derniers dans une matrice agarose. On a alors pu constater qu'à concentration en agarose fixe (0,2% en masse), la variation de la fraction volumique en nanowhiskers permettait de moduler l'effet renfort, suggérant même l'existence d'un maximum pour une fraction volumique en nanowhiskers de 0,13%. L'objectif de ce dernier chapitre est d'étudier l'effet de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers et l'effet de la concentration en agarose sur la modulation et/ou l'optimisation de l'effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose de tunicier à des hydrogels d'agarose.

### **V.1. Effet de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers**

Tout d'abord, il convient de souligner la grande variabilité des propriétés des suspensions préparées au cours de cette thèse. Cette variabilité est due non seulement à la variabilité de la source naturelle de la cellulose, le tunicier, mais aussi, et surtout, au protocole d'élaboration et de préparation des suspensions de nanowhiskers, dont les différentes étapes (voir chapitre II) ne sont pas totalement maîtrisées. En effet, toutes les étapes de filtration et de récupération de la matière ont un impact sur la concentration finale en nanowhiskers de la suspension. De plus, certains paramètres durant l'étape d'hydrolyse acide sont difficiles à contrôler, comme par exemple, la vitesse à laquelle l'acide sulfurique est ajouté, goutte-à-goutte, à la suspension afin que la température ne dépasse pas 32°C. Cette variabilité a cependant été mise à profit dans les travaux présentés dans ce chapitre ; elle nous a en effet permis d'étudier des suspensions de nanowhiskers de propriétés différentes, et plus particulièrement de densités de charges électriques à la surface des nanowhiskers différentes.

### **V.1.1. Microscopie électronique en transmission**

Dans ces travaux, trois suspensions de nanowhiskers de cellulose différentes ont été élaborées et utilisées dans la fabrication d'hydrogels nanocomposites. Après préparation, ces suspensions avaient des fractions volumiques en nanowhiskers différentes : 0,2%, 0,28% et 0,37% ; elles seront notées respectivement :  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$  dans la suite du chapitre. Dans un premier temps, les trois suspensions ont été diluées puis caractérisées par microscopie électronique en transmission (MET) afin de déterminer les tailles caractéristiques des nanowhiskers, en termes de longueur et de diamètre. La Figure V.1 présente quelques clichés obtenus pour des nanowhiskers dans chacune de ces suspensions.



**Figure V.1. Clichés MET de nanowhiskers de cellulose dans les suspensions  $S_1$ , (en haut),  $S_2$  (au centre) et  $S_3$  (en bas).**

A partir des clichés MET, la longueur et le diamètre de 500 nanowhiskers ont été mesurés pour chaque suspension. La Figure V.2 présente les histogrammes de la distribution en longueur et en diamètre des nanowhiskers issus des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .

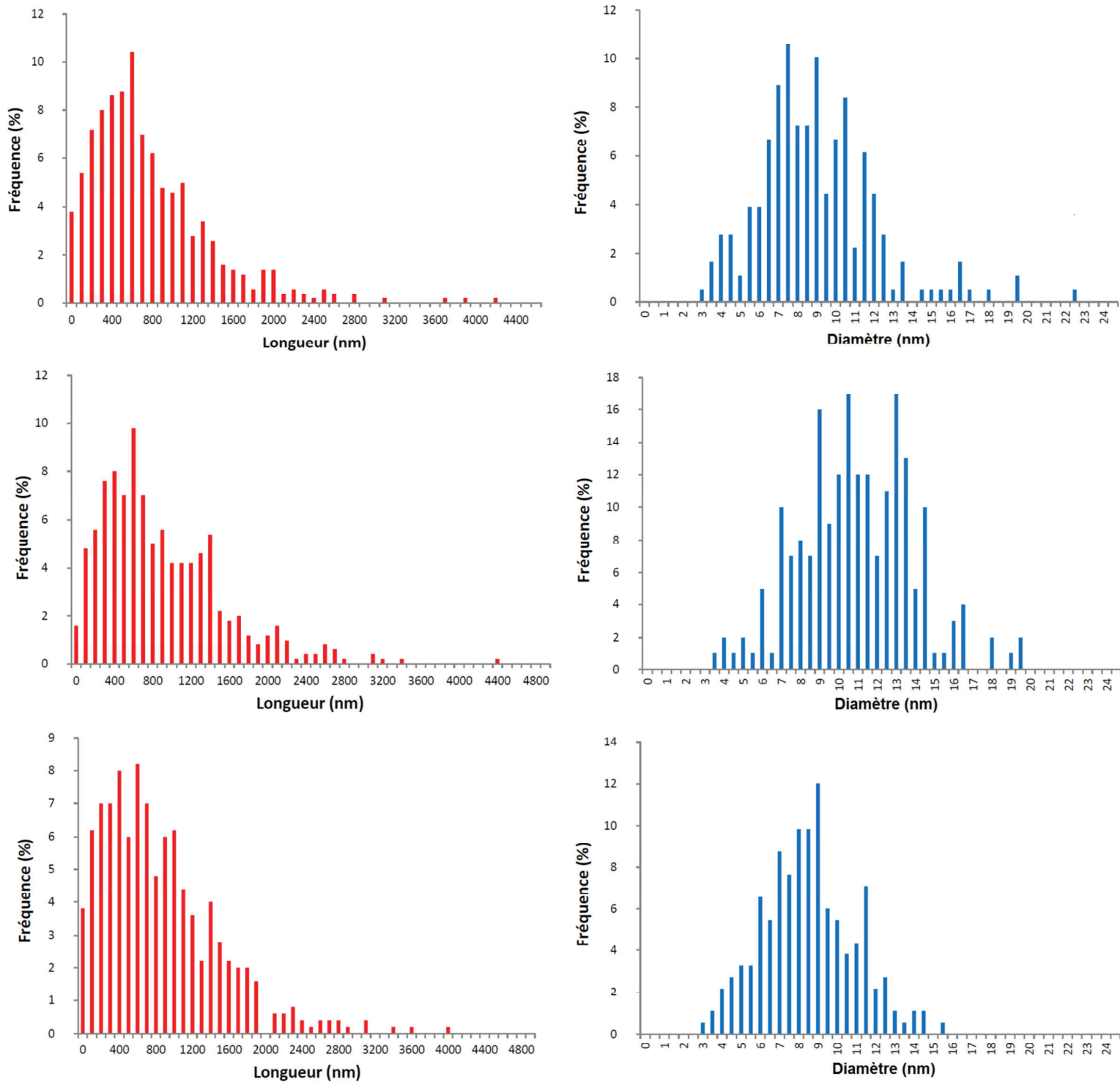


Figure V.2. Distribution en longueur (à gauche) et en diamètre (à droite) des nanowhiskers dans les suspensions  $S_1$ , (en haut),  $S_2$  (au centre) et  $S_3$  (en bas).

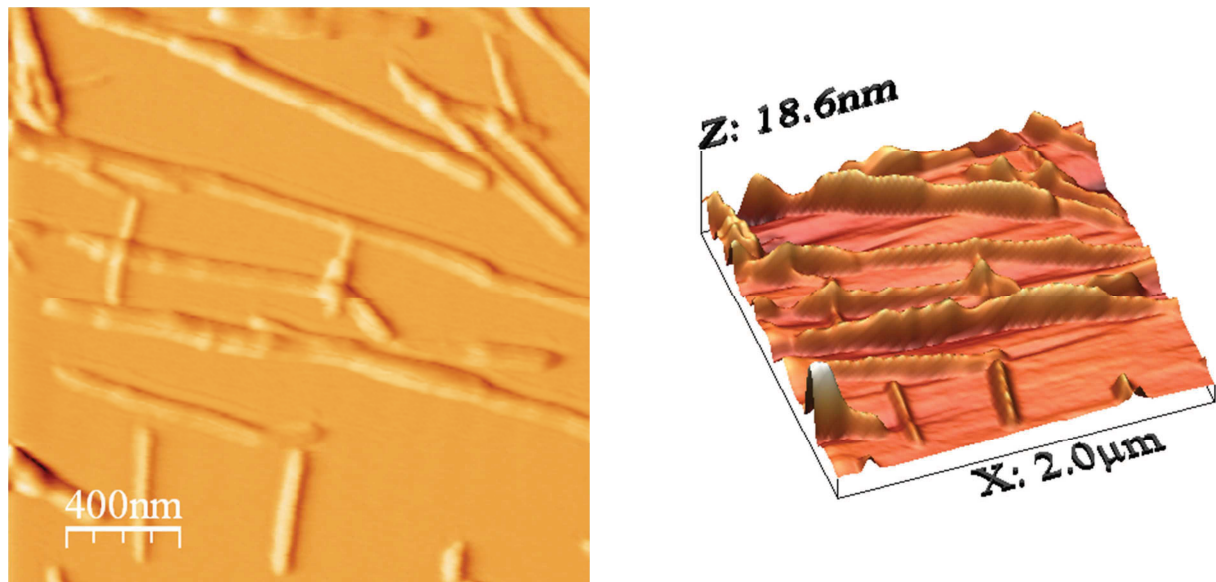
Les valeurs de longueur moyenne  $L$ , du diamètre moyen  $d$  et du rapport de forme,  $p=L/d$ , des nanowhiskers issus des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$  sont reportées dans le Tableau V.1.

**Tableau V.1. Longueur moyenne  $L$ , diamètre moyen  $d$  et rapport de forme  $p=L/d$  des nanowhiskers dans les suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .**

	$S_1$	$S_2$	$S_3$
Longueur $L$ (nm)	$827,2 \pm 607,8$	$943,1 \pm 640,9$	$890,9 \pm 641,4$
Diamètre $d$ (nm)	$9,2 \pm 3,1$	$11,2 \pm 3,0$	$8,7 \pm 2,4$
Rapport de forme $p=L/d$	90	85	100

Les valeurs de longueur et de diamètre reportées dans le Tableau V.1 montrent qu'il y a peu de différences géométriques entre les nanowhiskers dans les suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , à la fois en terme de taille caractéristique et de polydispersité.

Par ailleurs, les clichés obtenus en microscopie à force atomique (AFM), comme ceux présentés sur la Figure V.3 pour des nanowhiskers de la suspension  $S_2$ , ont permis d'estimer la hauteur moyenne des nanowhiskers à environ 5 nm, pour les trois suspensions.



**Figure V.3. Clichés AFM de nanowhiskers de cellulose de tunicier dans la suspension  $S_2$ .**

### V.1.2. Détermination de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers

La Figure V.4 présente les courbes de titrage des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ . Sur les courbes de titrage sont indiquées les caractéristiques de la suspension titrée (son volume  $V$  et sa fraction volumique solide  $\Phi$ ) et celles de la soude utilisée (sa molarité  $M$  et son volume équivalent  $V_{eq}$ ). Ces différentes données sont utilisées dans le calcul du degré de substitution, comme présenté dans le chapitre II – Matériaux et méthodes.

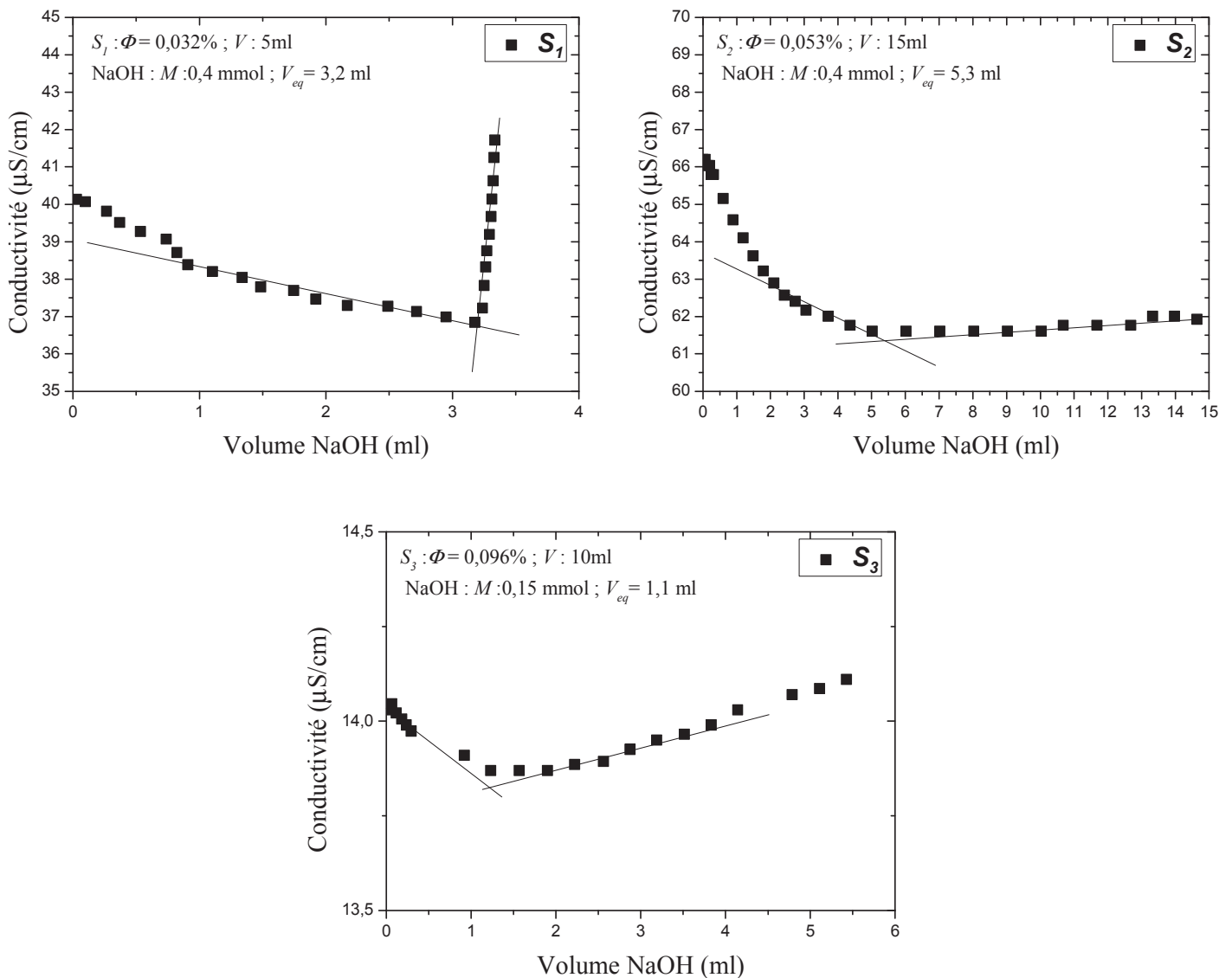


Figure V.4. Courbes de titrage des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .

Les données issues des courbes de titrage sont utilisées pour déterminer le degré de substitution ( $D_s$ ) en ions  $\text{SO}_3^-$ . A partir des caractéristiques géométriques des nanowhiskers et des caractéristiques cristallographiques du réseau cellulosique, on calcule le pourcentage de chaînes de cellulose à la surface d'un nanowhiskers  $\%_{\text{chaînes de cellulose à la surface}}$ , puis on en déduit le degré de substitution surfacique,  $D_{ss}$ , correspondant au pourcentage de groupements OH à la surface d'un nanowhiskers, substitués par des groupements  $\text{SO}_3^-$ . Les valeurs du degré de substitution, du pourcentage de chaînes de cellulose à la surface d'un nanowhiskers et du degré de substitution surfacique, pour les trois suspensions, sont reportées dans le Tableau V.2.

**Tableau V.2. Degré de substitution  $D_s$ , pourcentage de chaînes de cellulose à la surface d'un nanowhiskers  $\%_{\text{chaînes de cellulose à la surface}}$  et degré de substitution surfacique  $D_{ss}$  des nanowhiskers dans les suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .**

	$S_1$	$S_2$	$S_3$
$D_s$	0,087	0,028	0,0017
$\%_{\text{chaînes de cellulose à la surface}}$	29,9	28,4	30,4
$D_{ss}$	0,29	0,10	0,006

Le Tableau V.2 montre que les valeurs du degré de substitution surfacique  $D_{ss}$  des nanowhiskers diffèrent dans les suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ . Les nanowhiskers des suspensions  $S_1$  et  $S_2$  ont été extraits du même lot de tuniciers, et ont les degrés de substitution surfacique  $D_{ss}$  les plus élevés. Le degré de substitution surfacique de la suspension  $S_1$  est légèrement supérieur au degré de substitution surfacique de la suspension  $S_2$ . Cet écart n'est pas très important et son origine n'est pas clairement identifiée. Les nanowhiskers de la suspension  $S_3$  ont le degré de substitution surfacique le plus faible.

Ayant constaté que les tailles caractéristiques des nanowhiskers sont très proches, les différences de propriétés rhéologiques des hydrogels nanocomposites élaborés à partir des trois suspensions, présentées dans la partie suivante, seront attribuées à la différence de densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers.



### V.1.3. Rhéologie

Les trois suspensions de nanowhiskers ( $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ ) ont été utilisées lors de l'élaboration d'hydrogels nanocomposites à matrice agarose, dont la concentration,  $C$ , a été fixée à 0,2% en masse.

#### *Balayage en déformation*

Des balayages en déformation ont été réalisés afin de déterminer la déformation critique,  $\gamma_c$ , caractérisant l'étendue du régime viscoélastique linéaire. La déformation critique a été déterminée à partir de courbes de déformation-contrainte, comme décrit dans le chapitre II – Matériaux et méthodes. Les valeurs de la déformation critique d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse pour différentes fractions volumiques en nanowhiskers, provenant des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , sont reportées dans le Tableau V.3.

**Tableau V.3. Déformation critique  $\gamma_c$  d'hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, préparés à partir des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .**

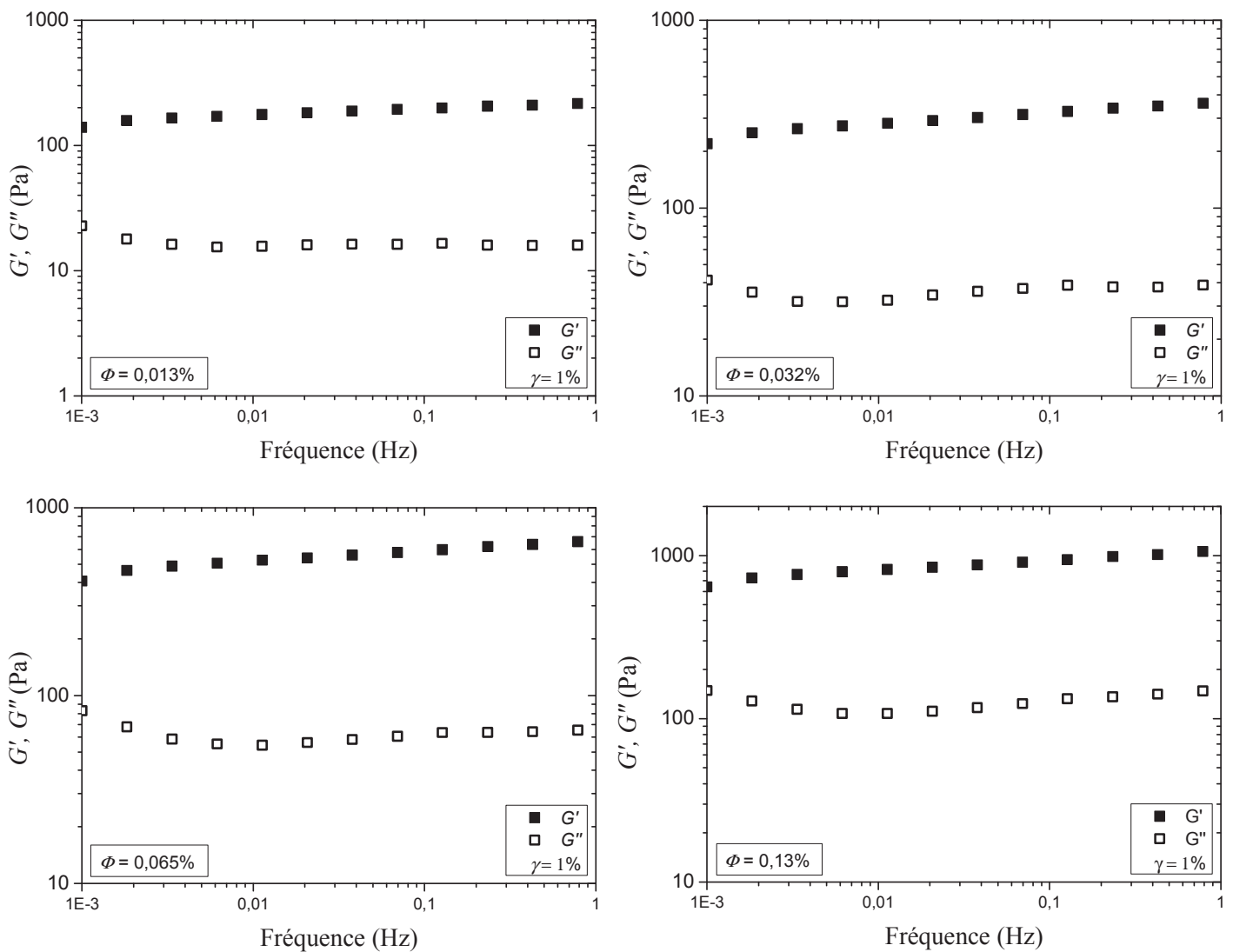
	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)							
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2	0,23	0,28
$\gamma_c$ (%) $S_1$	4	2	2	1,5	1	1	-	-
$\gamma_c$ (%) $S_2$	4	2,5	2	1,5	1,5	1	1	1
$\gamma_c$ (%) $S_3$	4	3,5	3	2,5	2	1,75	-	-

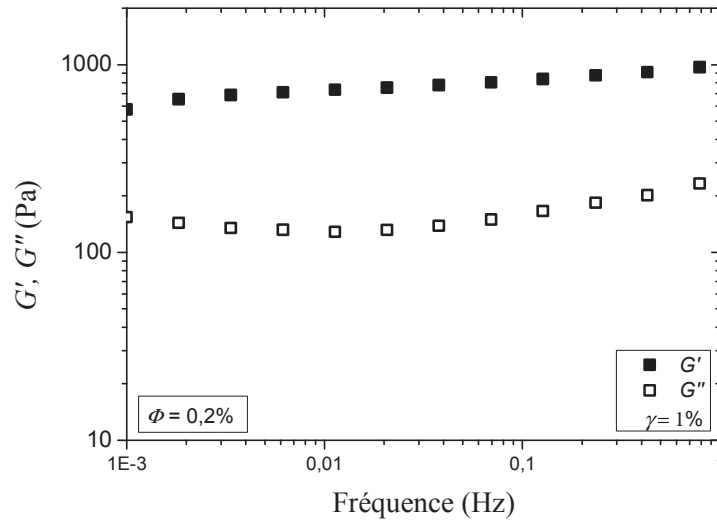
Les déformations critiques des hydrogels chargés, élaborés à partir des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , sont proches de celle de l'hydrogel d'agarose pur. La comparaison entre les déformations critiques pour les trois suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , sur la gamme de fractions volumiques étudiée, montre toutefois que les hydrogels nanocomposites élaborés à partir des nanowhiskers de la suspension  $S_3$  ont des valeurs de  $\gamma_c$  légèrement supérieures aux valeurs de  $\gamma_c$  des hydrogels nanocomposites élaborés à partir des suspensions  $S_1$  et  $S_2$ . Ces résultats peuvent être attribués à la différence de densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers. En effet, plus le degré de substitution surfacique  $D_{ss}$  est faible (cas des

hydrogels élaborés à partir de  $S_3$ ), moins les nanowhiskers interagissent par répulsion électrostatique entre eux et plus ils s'agrègent sous l'effet des liaisons hydrogène, ce qui conduit à des valeurs de  $\gamma_c$  plus élevées que celles obtenues pour les systèmes préparés à partir de  $S_1$  et  $S_2$ , qui sont les systèmes les mieux dispersés.

### Balayage en fréquence

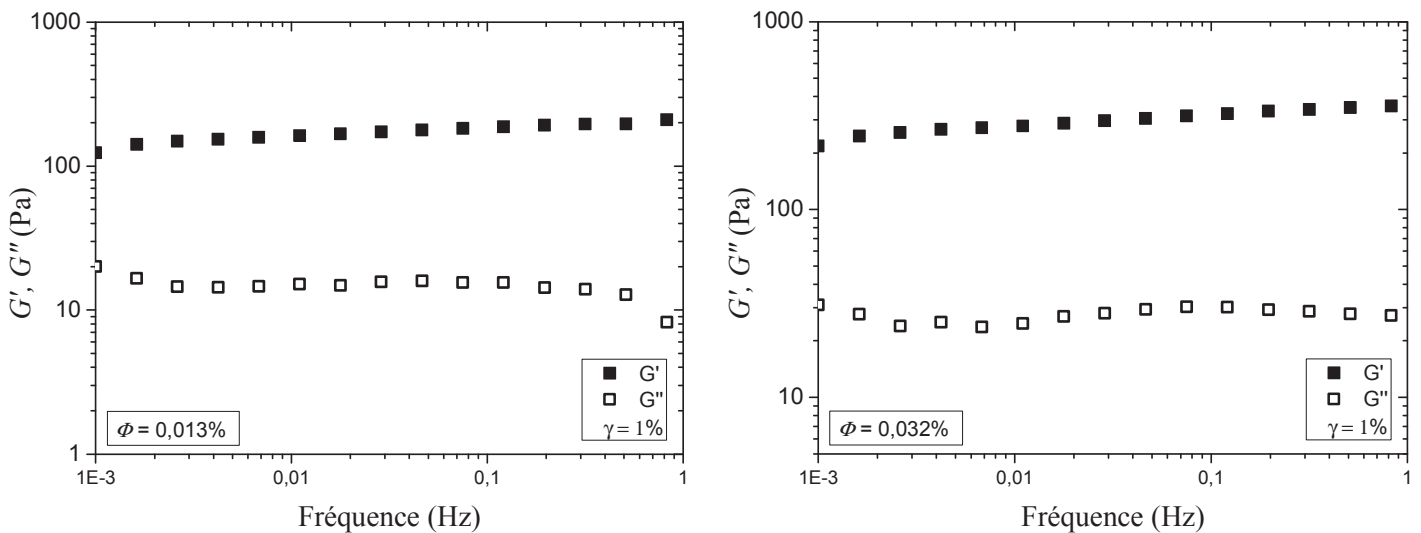
Un balayage en fréquence, de 0,001 à 1 Hz, a été réalisé dans le domaine linéaire pour les hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de nanowhiskers de cellulose, provenant des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ . La Figure V.5 représente les spectres mécaniques des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de 0,013% à 0,2% en volume de nanowhiskers de cellulose, élaborés à partir de la suspension  $S_1$ .

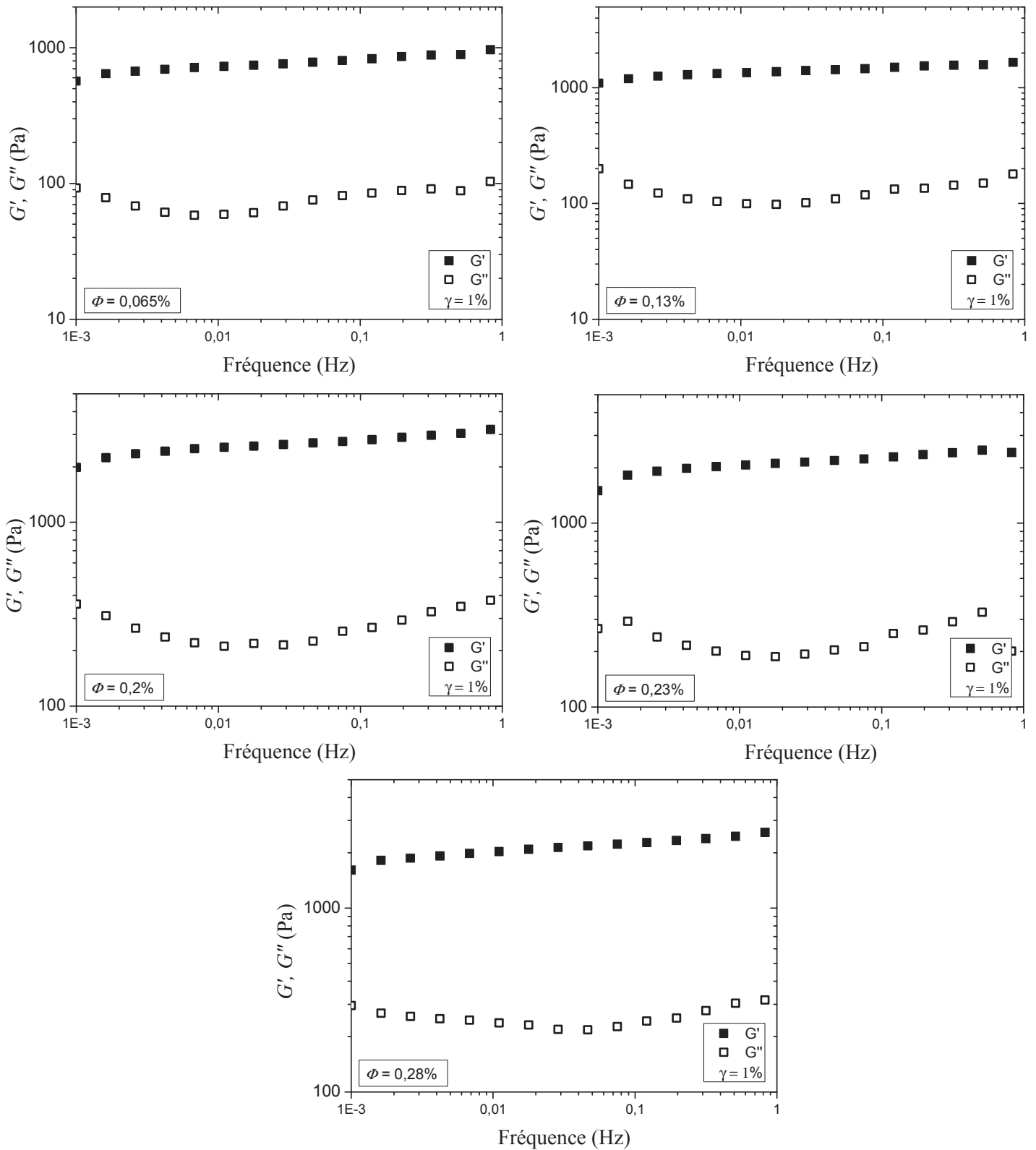




**Figure V.5. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à des fractions volumiques,  $\Phi$ , de 0,013% à 0,2% de nanowhiskers, provenant de la suspension  $S_1$  (déformation = 1%).**

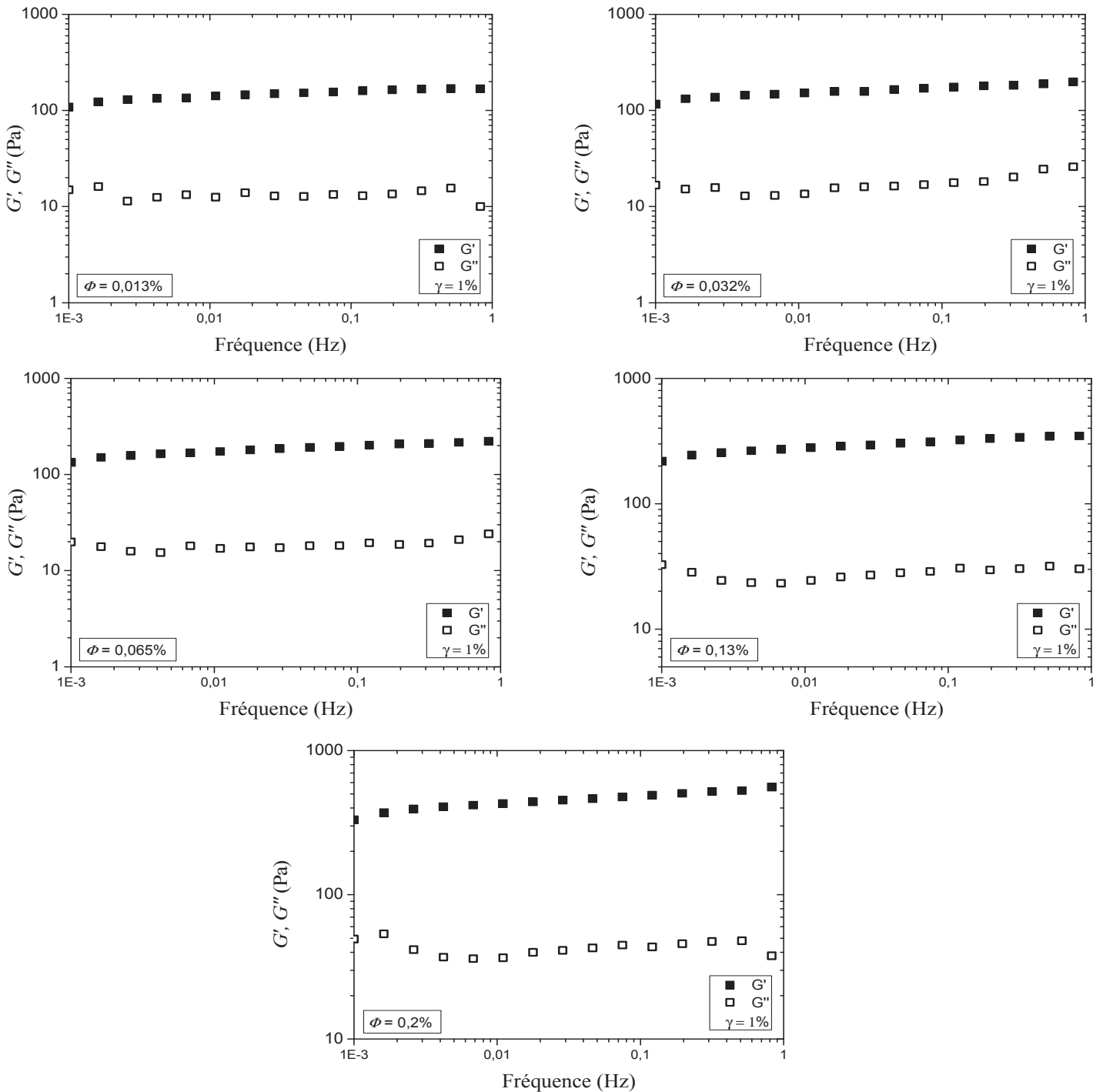
La Figure V.6 représente les spectres mécaniques des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de 0,013% à 0,28% en volume de nanowhiskers de cellulose, préparés à partir de la suspension  $S_2$ .





**Figure V.6. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à des fractions volumiques,  $\phi$ , de 0,013% à 0,28% de nanowhiskers, provenant de la suspension  $S_2$  (déformation = 1%).**

La Figure V.7 représente les spectres mécaniques d'hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés de 0,013% à 0,2% en volume de nanowhiskers de cellulose, élaborés à partir de la suspension  $S_3$ .



**Figure V.7. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à des fractions volumiques,  $\Phi$ , de 0,013% à 0,2% de nanowhiskers, provenant de la suspension  $S_3$  (déformation = 1%).**

La dépendance en fréquence des modules viscoélastiques étant faible, les valeurs de  $G'$  et de  $G''$ , ainsi que de l'angle de perte,  $\tan \delta = G''/G'$ , ont été reportées dans le Tableau V.4 à une fréquence arbitrairement choisie de 0,1 Hz, pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, issus des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .

**Tableau V.4. Module de conservation  $G'$ , module de perte  $G''$  et angle de perte  $\tan \delta$ , à 0,1 Hz, d'un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse chargé à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, provenant des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ .**

		Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)							
		0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2	0,23	0,28
$S_1$	$G'$ (Pa)	80	200	320	590	940	830	-	-
	$G''$ (Pa)	7	15	40	60	125	150	-	-
	$\tan \delta$	0,09	0,07	0,12	0,1	0,13	0,18	-	-
$S_2$	$G'$ (Pa)	80	190	325	830	1500	2815	2290	2270
	$G''$ (Pa)	7	15	30	85	135	265	250	245
	$\tan \delta$	0,09	0,08	0,09	0,1	0,09	0,09	0,11	0,11
$S_3$	$G'$ (Pa)	95	165	220	260	425	490	-	-
	$G''$ (Pa)	7	14	21	24	43	44	-	-
	$\tan \delta$	0,1	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	-	-

Les valeurs des modules viscoélastiques du Tableau V.4 montrent un effet renfort significatif apporté par les nanowhiskers pour tous les hydrogels étudiés, comme observé dans le chapitre précédent. Par ailleurs, on peut constater qu'à fraction volumique en nanowhiskers fixe, l'effet renfort n'est pas le même suivant la suspension utilisée lors de l'élaboration des hydrogels nanocomposites, suggérant que l'effet renfort dépend de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers. En effet, à 0,13% en volume de nanowhiskers, l'hydrogel nanocomposite élaboré à partir de la suspension  $S_2$  a un module de conservation  $G'$  de 1500 Pa, soit une augmentation d'un facteur 19 par rapport à celui de l'hydrogel d'agarose pur. Ce facteur est de 12 pour l'hydrogel nanocomposite élaboré à partir de la suspension  $S_1$  et seulement de 4,5 pour celui préparé à partir de la suspension  $S_3$ , dans laquelle les nanowhiskers sont les plus agrégés, et dont l'efficacité en termes de renfort est donc moindre.

De plus, on a pu aussi remarquer que l'effet renfort maximum (avant diminution du module de conservation  $G'$ ) apporté par les nanowhiskers aux hydrogels nanocomposites n'est pas obtenu aux mêmes fractions volumiques. Par exemple, les hydrogels nanocomposites élaborés à partir de la suspension  $S_2$  ont un effet renfort maximum (augmentation d'un facteur 35 du module de conservation  $G'$  par rapport à celui de l'hydrogel d'agarose pur) à 0,2% en volume de nanowhiskers. En comparaison, l'effet renfort maximum (facteur 12 par rapport à celui de l'hydrogel d'agarose pur) apporté par les nanowhiskers de la suspension  $S_1$ , est observé à une fraction volumique de 0,13%. Dans le cas des hydrogels nanocomposites préparés à partir de la suspension  $S_3$ , aucune diminution du module de conservation  $G'$  n'a été observée sur la plage de fractions volumiques étudiée.

Comme nous l'avons fait dans le chapitre IV, dans le but d'étudier plus spécifiquement la contribution des nanowhiskers à l'effet renfort, nous avons reporté le module de conservation réduit  $(G'-G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$ , en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, provenant des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , sur la Figure V.8.

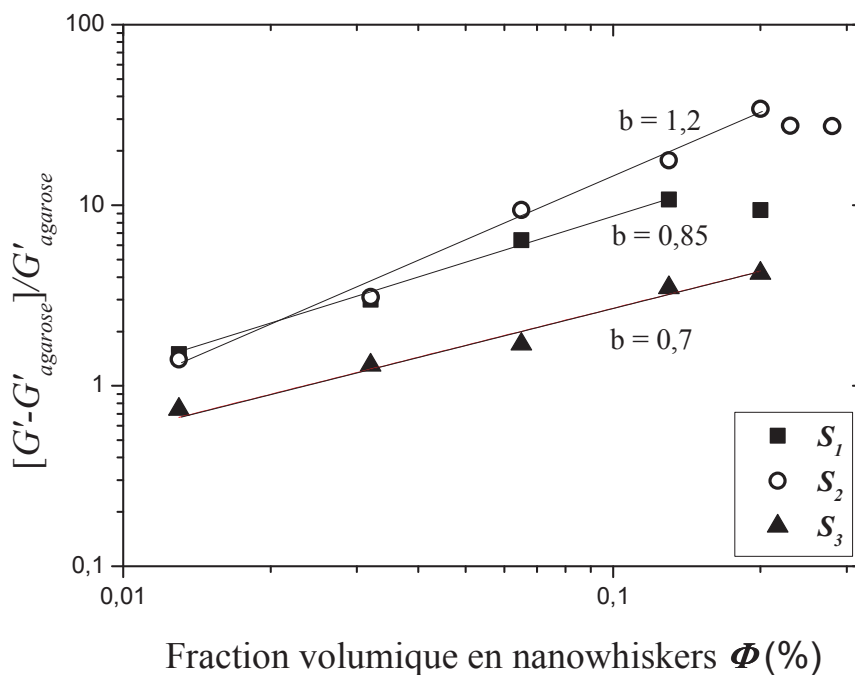


Figure V.8. Module de conservation réduit  $(G'-G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$  en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers issus des suspensions  $S_1$ ,  $S_2$  et  $S_3$ , pour un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse, à 0,1 Hz (— : ajustement par une loi de puissance).

Sur la Figure V.8, la contribution à l'élasticité des nanowhiskers issus de la suspension  $S_3$  est très inférieure à celles issues des deux autres suspensions. Cette contribution moindre des nanowhiskers à l'effet renfort peut être attribuée à l'agrégation de ceux-ci, rendant plus hétérogène l'hydrogel nanocomposite, ce qui a pour conséquence de diminuer l'effet renfort.

Par ailleurs, on constate sur la Figure V.8 que les courbes correspondant aux hydrogels nanocomposites élaborés à partir des suspensions  $S_1$  et  $S_2$  sont proches, en accord avec le fait que la densité d'ions  $\text{SO}_3^-$  à la surface des nanowhiskers est comparable pour les nanowhiskers de ces deux suspensions. Néanmoins, on remarque une différence entre les hydrogels nanocomposites préparés à partir de ces deux suspensions. Cette différence est non seulement une différence de contribution des nanowhiskers à l'effet renfort à une fraction volumique donnée, mais aussi une différence d'exposant de la loi de puissance exprimant la relation entre le module de conservation réduit et la fraction volumique en nanowhiskers. Ces résultats suggèrent que l'état de dispersion n'est pas le seul paramètre à prendre en compte dans l'effet renfort apporté par les nanowhiskers à l'hydrogel.

Plus précisément, les résultats présentés semblent montrer que les nanowhiskers issus de la suspension  $S_2$  permettent d'obtenir l'effet renfort le plus significatif. De tels résultats suggèrent l'existence d'une densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers optimale, c'est-à-dire correspondant à l'effet renfort maximum. Dans le cas des hydrogels nanocomposites élaborés à partir de la suspension  $S_2$ , les nanowhiskers bien dispersés, pourraient interagir avec la matrice *via* des liaisons hydrogène, rendant plus efficace le transfert des contraintes entre la matrice et les charges, et donc apportant l'effet renfort le plus important. En effet, dans le cas des hydrogels nanocomposites élaborés à partir de la suspension  $S_1$ , dont le degré de substitution surfacique des nanowhiskers est le plus élevé, une densité trop élevée de charges électriques à la surface des nanowhiskers pourrait limiter le nombre de liaisons hydrogènes avec la matrice, limitant par conséquent le phénomène de transfert des contraintes entre les nanowhiskers et la matrice, et donc l'effet renfort.

Les résultats de la Figure V.8 montrent également que, pour les hydrogels nanocomposites préparés à partir des suspensions  $S_1$  et  $S_2$ , une contribution maximale des nanowhiskers à l'effet renfort est observée. Plus précisément, cette contribution maximale, pour les nanowhiskers de la suspension  $S_2$ , est obtenue à une fraction volumique supérieure (0,2%) à celle des nanowhiskers de la suspension  $S_1$  (0,13%). En revanche, aucun maximum



n'est observé pour les nanowhiskers de la suspension  $S_3$ , du moins sur la gamme de fractions volumiques étudiée.

L'existence d'une contribution maximale des nanowhiskers à l'effet renfort pour les hydrogels nanocomposites issus des suspensions  $S_1$  et  $S_2$ , pourrait s'expliquer par un phénomène de compétition entre les forces répulsives électrostatiques et les forces attractives dues aux liaisons hydrogène entre nanowhiskers. A des fractions volumiques plus élevées, les distances entre les nanowhiskers diminuant, l'attraction entre les nanocharges pourrait l'emporter, induisant des phénomènes d'agrégation et diminuant par conséquent l'effet renfort. Le fait qu'aucune contribution maximale à l'effet renfort n'a été observée pour les nanowhiskers de la suspension  $S_3$  pourrait être dû à leur état d'agrégation initial élevé.

En conclusion, cette partie montre que l'effet renfort apporté aux hydrogels d'agarose par les nanowhiskers de cellulose de tunicier, peut être modulé en jouant sur la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers, suggérant même l'existence d'un optimum.

## **V.2. Effet de la concentration en agarose**

Dans cette partie, les hydrogels nanocomposites ont été élaborés à partir de la suspension de nanowhiskers à 0,37% en volume,  $S_3$ , dont la densité de charges électriques à la surface est faible ( $D_{ss} = 0,6\%$ ). Les résultats de la partie précédente ont montré que les nanocharges de cette suspension fournissaient aux hydrogels d'agarose l'effet renfort le plus faible, très probablement dû à l'agrégation des nanowhiskers dans la matrice. Cependant, nous nous sommes demandés si l'on pouvait moduler ce faible effet renfort apporté par les nanowhiskers en faisant varier la concentration en agarose.

### *Balayage en déformation*

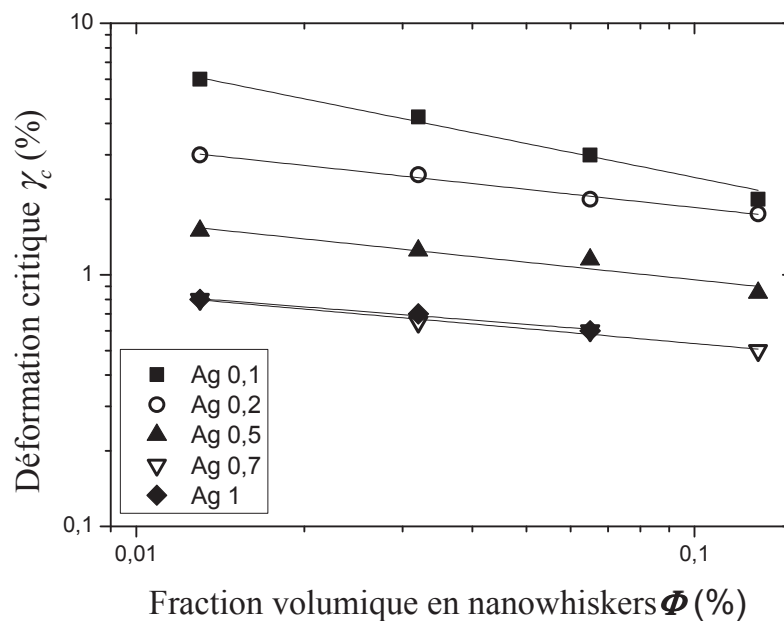
Des balayages en déformation ont été réalisés afin de déterminer la déformation critique,  $\gamma_c$ , des hydrogels chargés à différentes concentrations en agarose et différentes fractions volumiques en nanowhiskers. Cette détermination a été, comme précédemment, faite à partir de courbes de déformation-contrainte. Les valeurs de la déformation critique,  $\gamma_c$ , pour les hydrogels chargés à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse d'agarose, suivant

différentes fractions volumiques en nanowhiskers issus de la suspension  $S_3$ , sont reportées dans le Tableau V.5.

**Tableau V.5. Déformation critique  $\gamma_c$  d'hydrogels à différentes concentrations en agarose, chargés à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, provenant de la suspension  $S_3$ .**

	Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
	0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
$\gamma_{c 0,1\%}$ (%)	9,25	6	4,25	3,5	1,75	-
$\gamma_{c 0,2\%}$ (%)	4	3,5	3	2,5	2	1,75
$\gamma_{c 0,5\%}$ (%)	2	1,5	1,25	1,15	0,85	0,8
$\gamma_{c 0,7\%}$ (%)	1	0,8	0,65	0,6	0,5	1
$\gamma_{c 1\%}$ (%)	0,9	0,8	0,7	0,6	-	-

Les valeurs de  $\gamma_c$ , issues du Tableau V.5, en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, pour les différentes concentrations en agarose étudiées, sont reportées sur la Figure V.9.

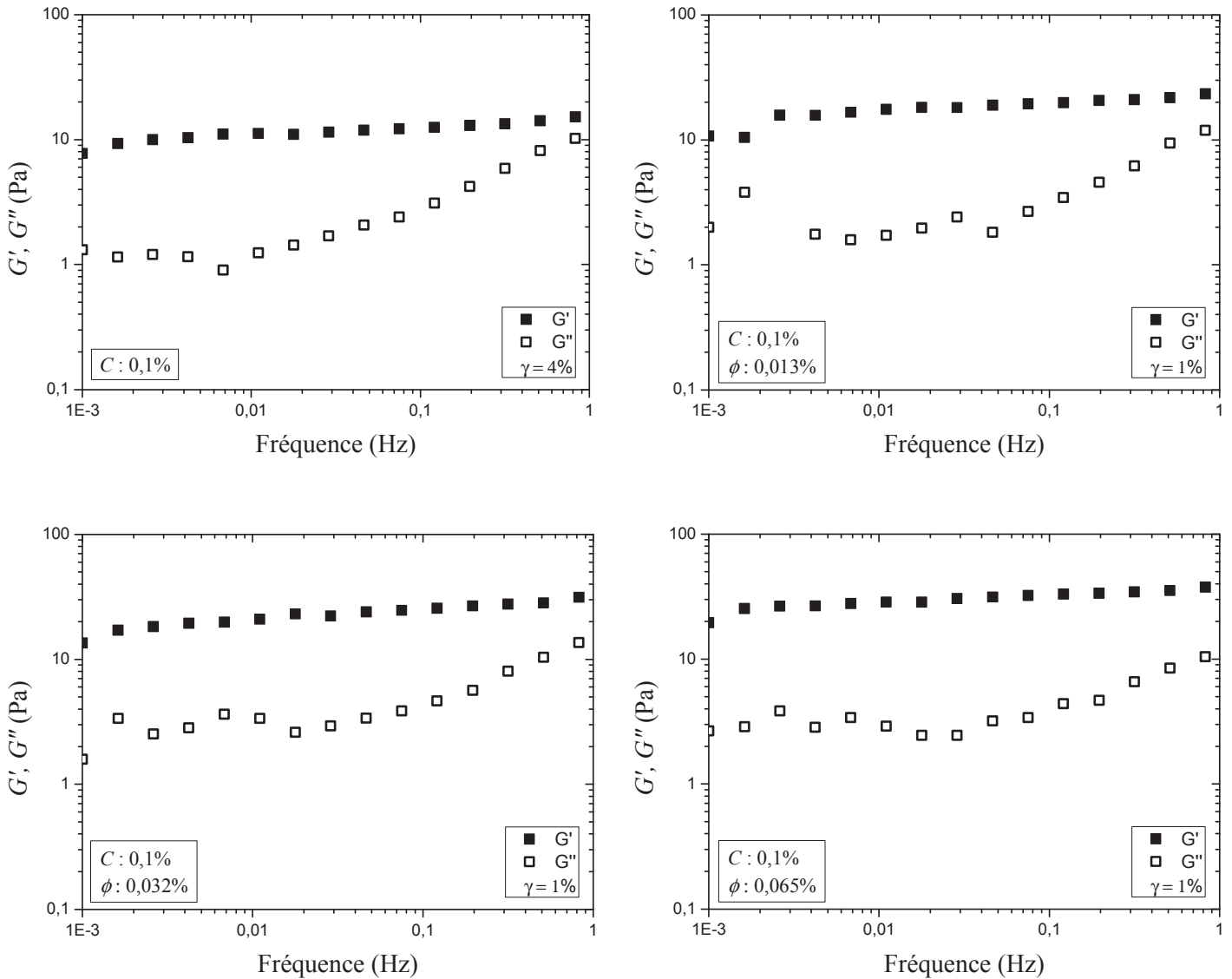


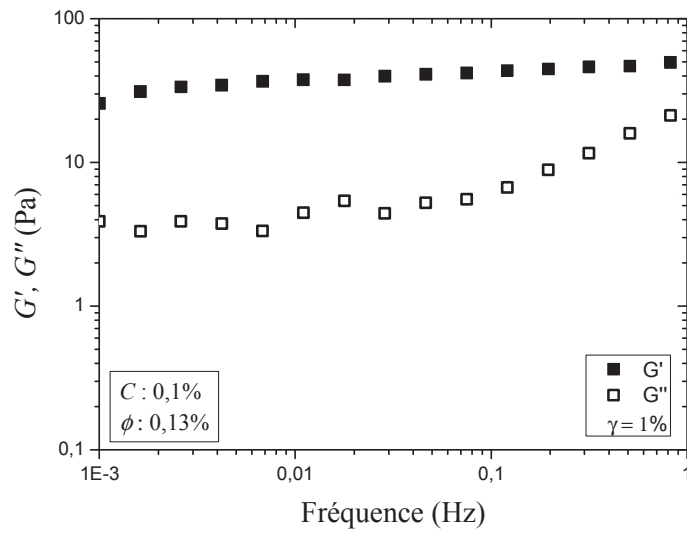
**Figure V.9. Déformation critique  $\gamma_c$  en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, pour différentes concentrations en agarose.**

La Figure V.9 montre classiquement que l'augmentation de la concentration en agarose et/ou l'augmentation de la fraction volumique en nanowhiskers conduit à une diminution de la déformation critique  $\gamma_c$ .

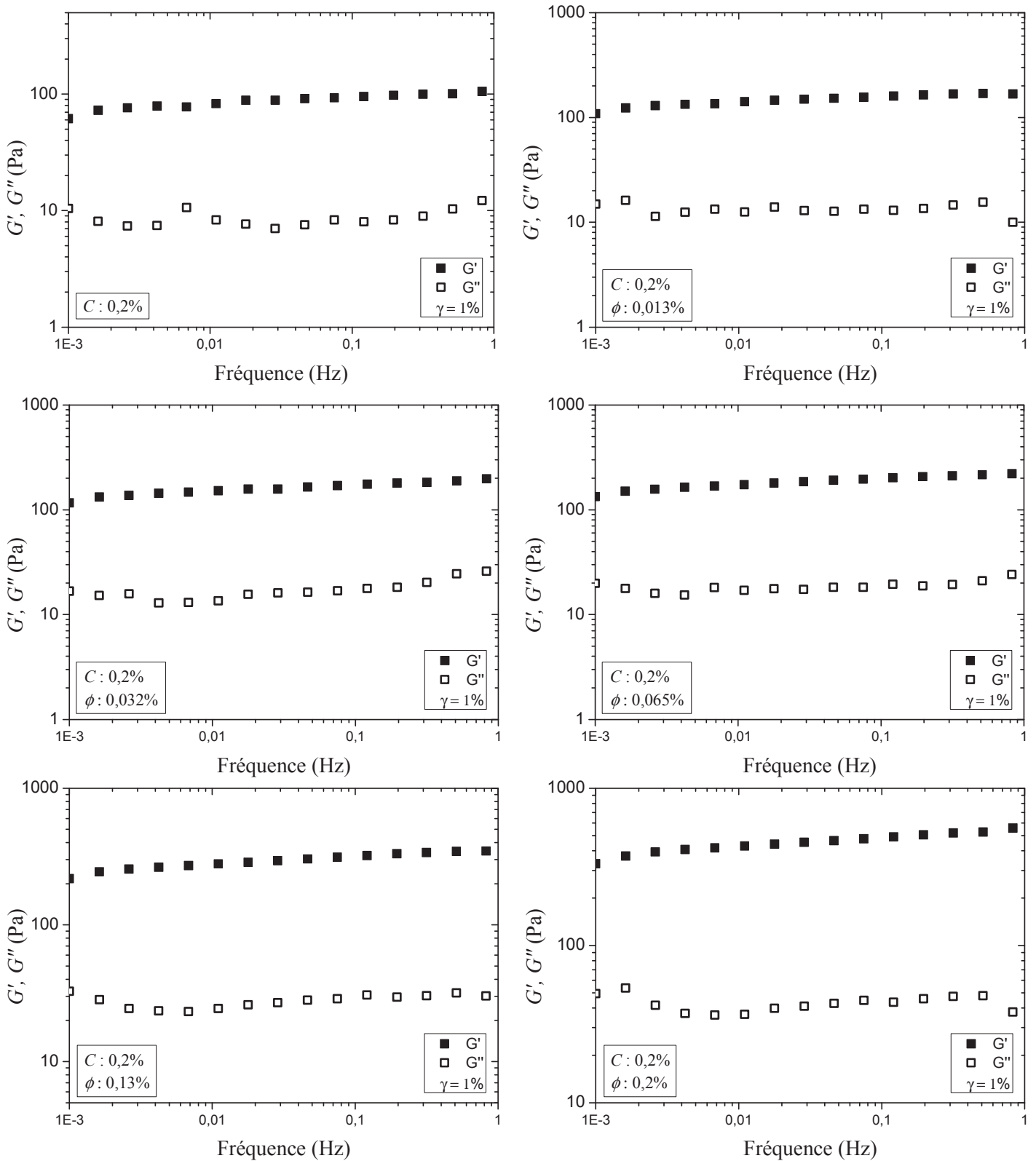
### Balayage en fréquence

Des balayages en fréquence ont été réalisés entre 0,001 et 1 Hz dans le régime linéaire pour des hydrogels d'agarose chargés en nanowhiskers de cellulose, à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse en agarose. Les Figures V.10, V.11, V.12, V.13 et V.14 présentent les résultats obtenus lors du balayage en fréquence des hydrogels d'agarose à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse, chargés de nanowhiskers de cellulose, issus de la suspension  $S_3$ .

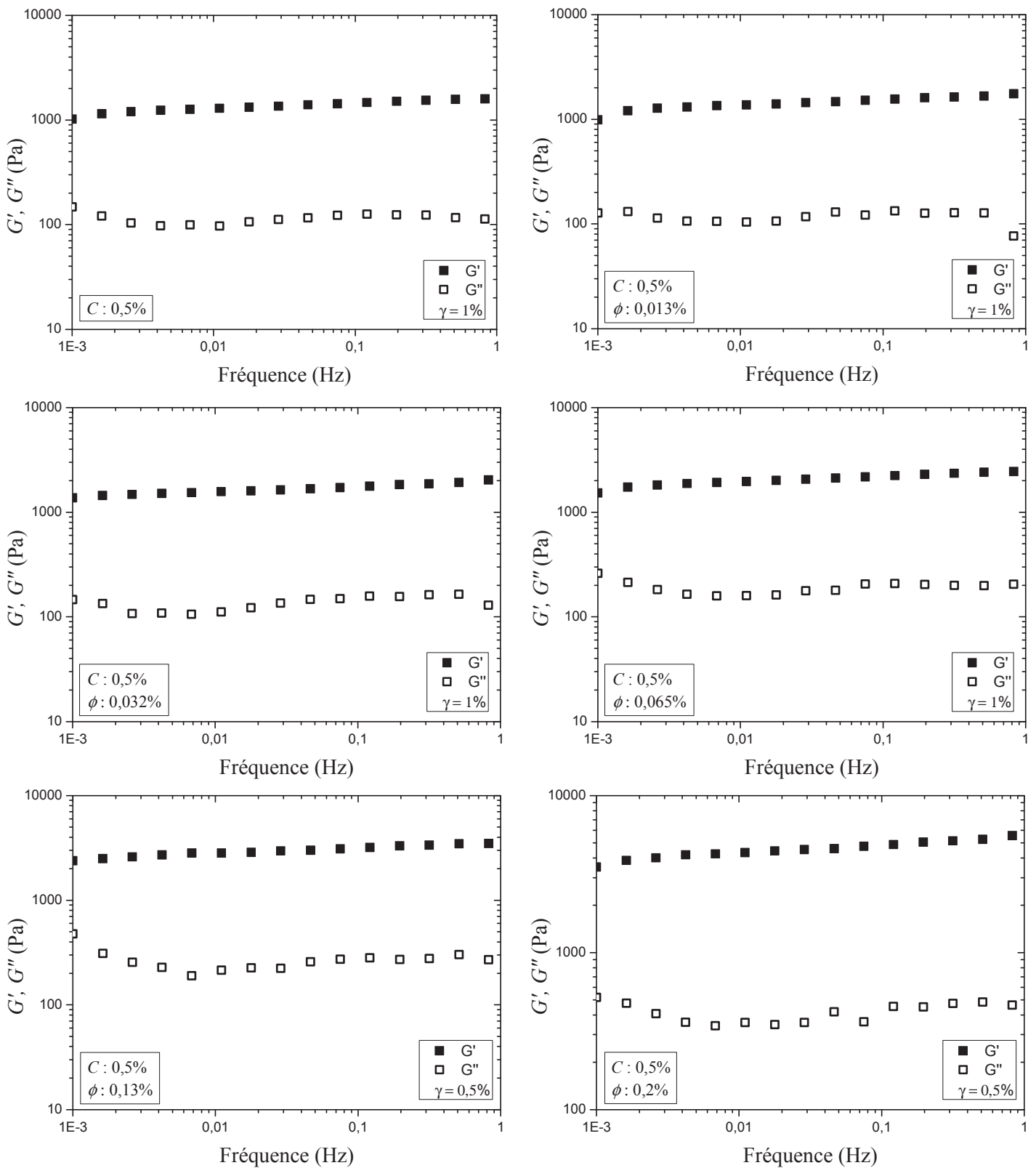




**Figure V.10. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,1% en masse chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers,  $\Phi$ , de 0% à 0,13% (déformation = 1%).**



**Figure V.11. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,2% en masse chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers,  $\Phi$ , de 0% à 0,2% (déformation = 1%).**



**Figure V.12. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,5% en masse chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers,  $\Phi$ , de 0 à 0,2% (déformation = 1% et 0,5%).**

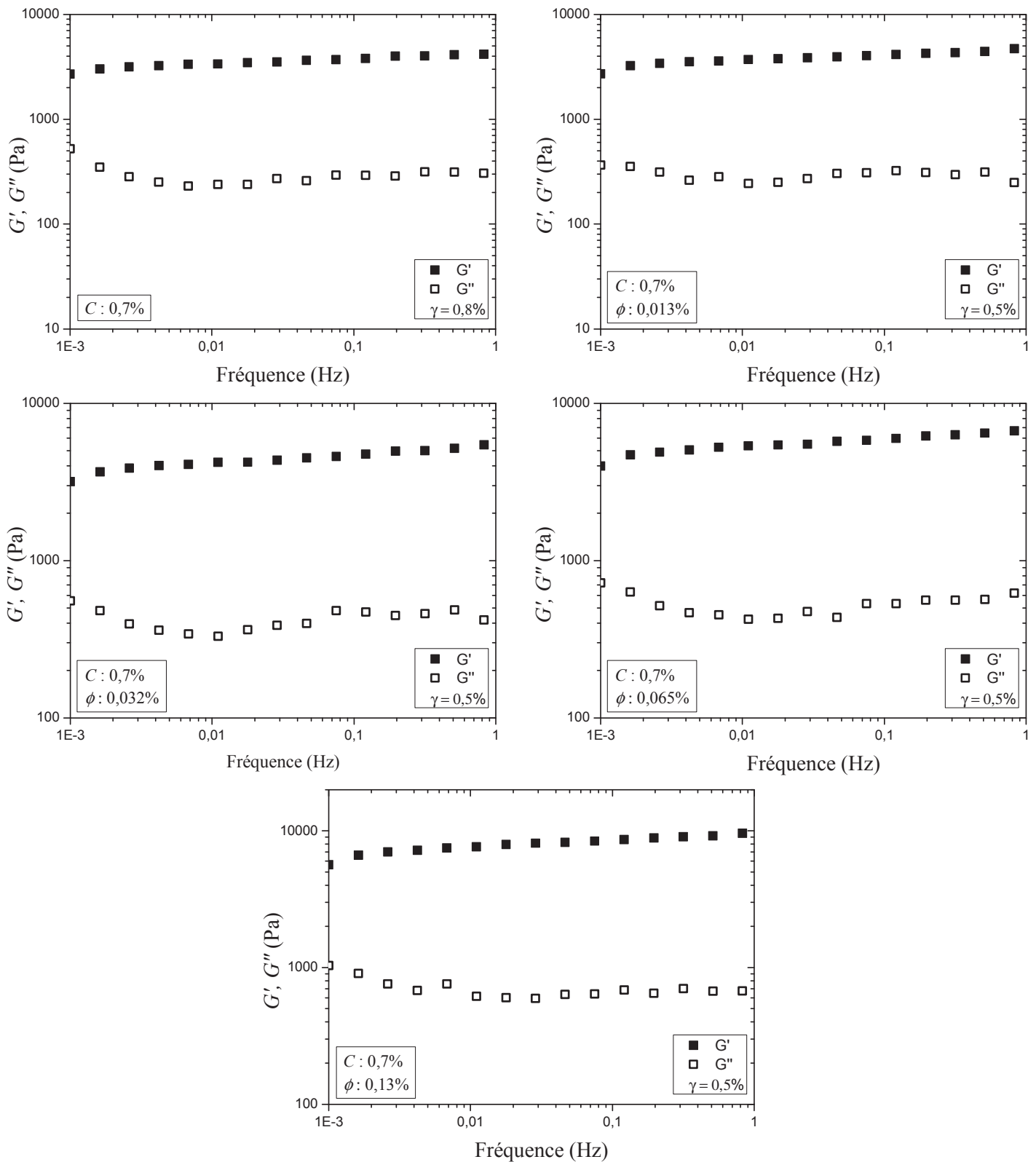
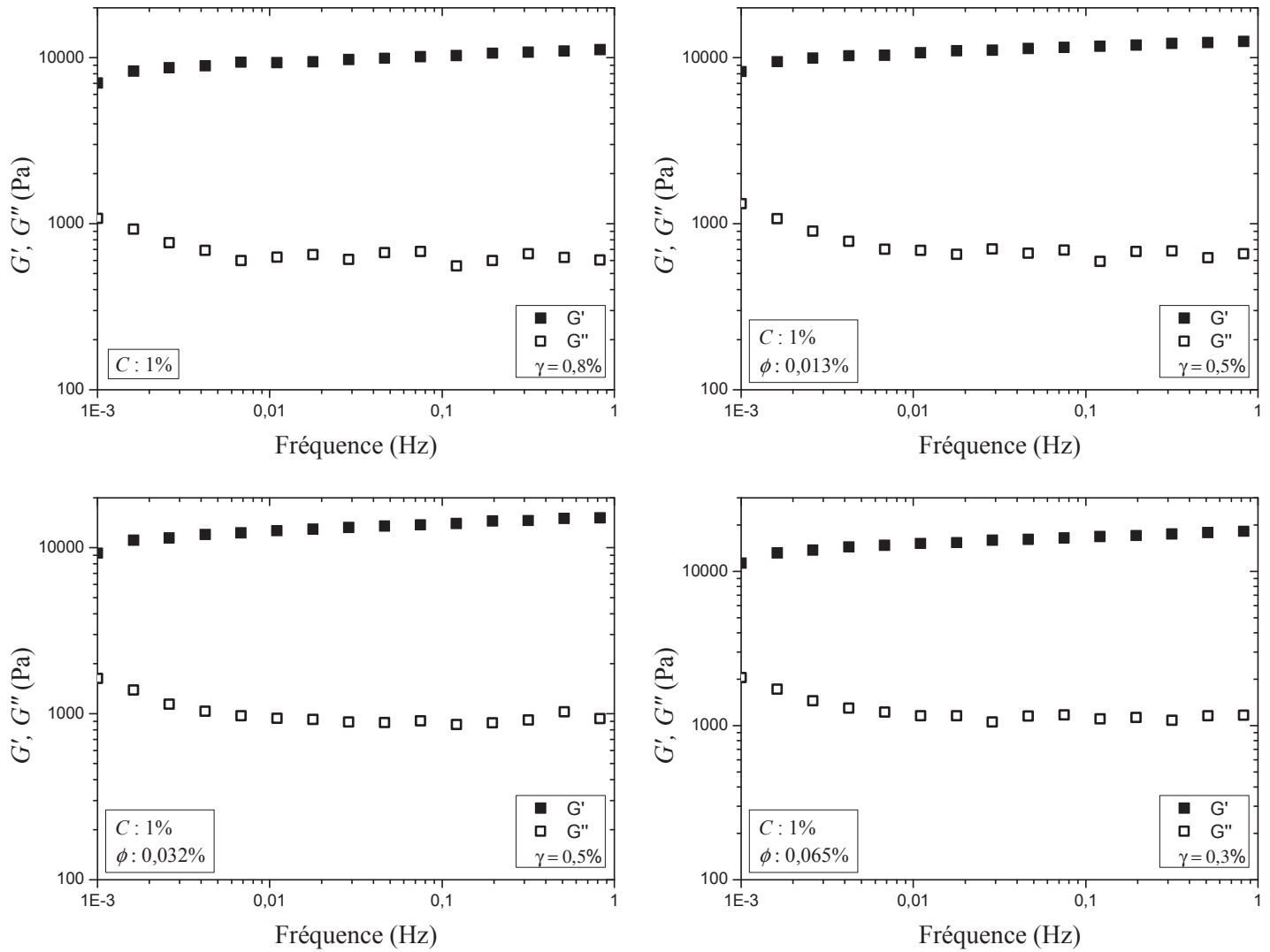


Figure V.13. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 0,7% en masse chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers,  $\Phi$ , de 0 à 0,13% (déformation = 0,8% et 0,5%).



**Figure V.14. Module de conservation  $G'$  et module de perte  $G''$  en fonction de la fréquence pour des hydrogels d'agarose à 1% en masse chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers,  $\Phi$ , de 0% à 0,065% (déformation = 0,8%, 0,5% et 0,3%).**

Les Figures V.10 à V.14 montrent que, pour des hydrogels chargés à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse d'agarose, le module de conservation  $G'$  est très supérieur au module de perte  $G''$ , et que les modules viscoélastiques sont peu dépendants de la fréquence. Ce qui signifie que ces hydrogels nanocomposites ont un comportement de type solide viscoélastique.

La dépendance en fréquence des modules viscoélastiques étant faible, les valeurs de  $G'$  et de  $G''$ , ainsi que de l'angle de perte,  $\tan \delta = G''/G'$ , ont été reportées dans le Tableau V.6 à une fréquence arbitrairement choisie de 0,1 Hz, pour les hydrogels nanocomposites à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse d'agarose.



**Tableau V.6. Module de conservation  $G'$ , module de perte  $G''$  et angle de perte  $\tan \delta$ , à 0,1 Hz, d'hydrogels à différentes concentrations en agarose, chargés à différentes fractions volumiques en nanowhiskers, provenant de la suspension  $S_3$ .**

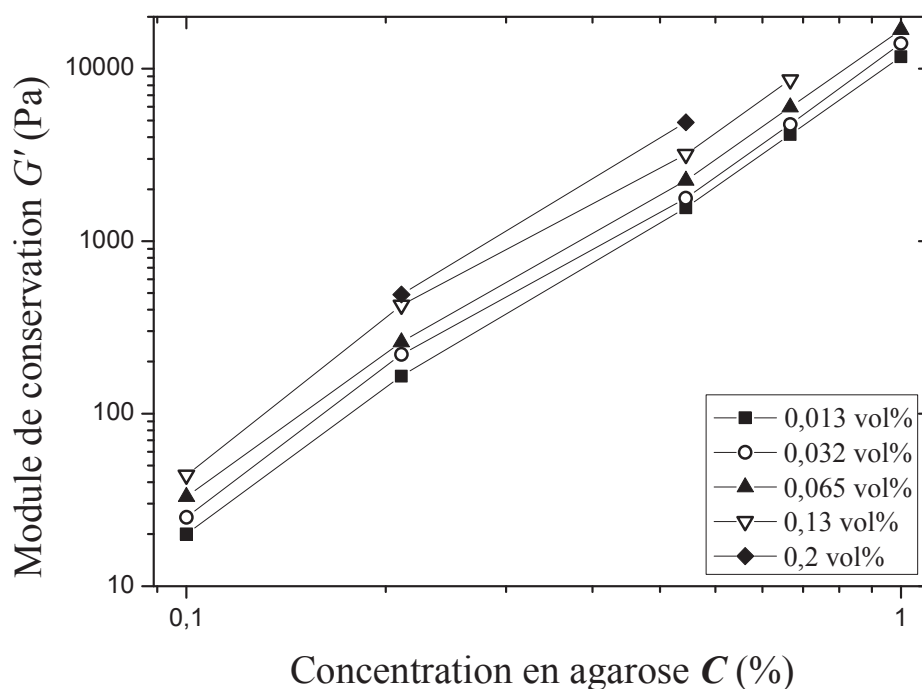
		Fraction volumique en nanowhiskers $\Phi$ (%)					
		0	0,013	0,032	0,065	0,13	0,2
0,1%	$G'$ (Pa)	12	20	25	33	44	-
	$G''$ (Pa)	2	3,5	4,5	4,5	6,5	-
	$\tan \delta$	0,14	0,17	0,18	0,14	0,15	-
0,2%	$G'$ (Pa)	95	165	220	260	425	490
	$G''$ (Pa)	7	14	21	24	43	44
	$\tan \delta$	0,1	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
0,5%	$G'$ (Pa)	1480	1560	1770	2240	3190	4880
	$G''$ (Pa)	150	135	160	208	280	455
	$\tan \delta$	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
0,7%	$G'$ (Pa)	3800	4145	4755	5985	8630	-
	$G''$ (Pa)	290	320	470	530	685	-
	$\tan \delta$	0,08	0,08	0,1	0,09	0,08	-
1%	$G'$ (Pa)	10320	11725	14000	16800	-	-
	$G''$ (Pa)	555	590	860	1105	-	-
	$\tan \delta$	0,05	0,05	0,06	0,07	-	-

Le Tableau V.6 montre qu'à fraction volumique fixe en nanowhiskers, l'augmentation de la concentration en agarose s'accompagne d'une augmentation des modules viscoélastiques. Par exemple, à 0,065% en volume de nanowhiskers, la valeur du module de conservation  $G'$  à 0,1% en agarose est de 33 Pa, alors qu'elle est de 16800 Pa à 1% d'agarose.

Le Tableau V.6 montre également qu'à concentration en agarose fixe, l'augmentation de la fraction volumique en nanowhiskers s'accompagne généralement d'une augmentation des modules viscoélastiques. Par exemple, à 0,5% en agarose, la valeur du module de conservation est de 1560 Pa à 0,013% en volume de nanowhiskers et de 4880 Pa à 0,2% en volume de nanowhiskers.

Ces résultats montrent donc que l'effet renfort peut être modulé en faisant varier la concentration en agarose et/ou la fraction volumique en nanowhiskers.

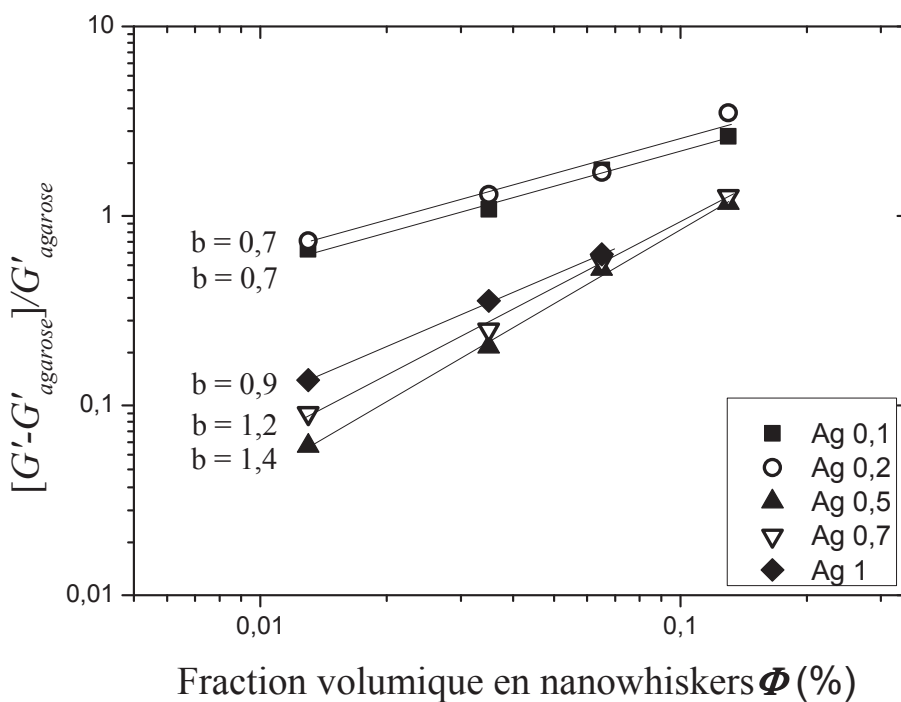
Les valeurs du module de conservation  $G'$ , issus du Tableau V.6, en fonction de la concentration en agarose, pour les différentes fractions volumiques en nanowhiskers étudiées, sont représentées sur la Figure V.15.



**Figure V.15. Module de conservation  $G'$  en fonction de la concentration en agarose, suivant différentes fractions volumiques en nanowhiskers, issus de la suspension  $S_3$ , à 0,1 Hz.**

La Figure V.15 montre clairement l'augmentation du module de conservation sur la gamme de concentrations en agarose étudiée, pour chaque fraction volumique en nanowhiskers. Cependant on peut remarquer une inflexion des courbes entre 0,2 et 0,5% en masse d'agarose.

Dans le but d'étudier plus précisément cette apparente transition, nous avons reporté le module de conservation réduit  $(G' - G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$ , en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers, provenant des suspensions  $S_3$ , pour des hydrogels à 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,7% et 1% en masse d'agarose, sur la Figure V.16.



**Figure V.16. Module de conservation réduit  $(G'-G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$  en fonction de la fraction volumique en nanowhiskers pour différentes concentrations en agarose, à 0,1 Hz (— : ajustement par une loi de puissance).**

Dans un premier temps, on constate sur la Figure V.16 que les contributions à l'effet renfort des nanowhiskers des hydrogels nanocomposites à 0,1% et 0,2% en masse d'agarose sont très semblables, suggérant que ces systèmes ont des structures similaires.

Cependant, la Figure V.16 montre aussi une chute brutale de la contribution des nanowhiskers à l'effet renfort pour l'hydrogel nanocomposite à 0,5% en masse d'agarose, particulièrement aux faibles fractions volumiques, suggérant un changement de structure des hydrogels nanocomposites entre 0,2% et 0,5% en masse d'agarose. Toutefois, cette baisse de la contribution à l'effet renfort des nanowhiskers est à nuancer. En effet, elle est de moins en moins marquée lorsque la fraction volumique en nanocharges augmente ; une extrapolation des courbes de la Figure V.16 conduirait même à montrer qu'à une fraction volumique de 0,5% de nanowhiskers, la contribution la plus élevée à l'effet renfort serait obtenue pour le système à 0,5% en masse d'agarose.

Enfin, à 0,7% et 1% en masse d'agarose, la Figure V.16 montre que les contributions des nanowhiskers à l'effet renfort sont très comparables à celles de l'hydrogel d'agarose à 0,5% en masse, même si une légère augmentation de la contribution à l'effet renfort est observée lorsque l'on augmente la concentration en agarose, plus particulièrement aux faibles fractions volumiques en nanowhiskers. Ces résultats suggèrent que les hydrogels nanocomposites entre 0,5% et 1% en masse d'agarose ont des structures comparables.

## Conclusion

La modulation de l'effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose de tunicier aux hydrogels d'agarose a été étudiée. Dans un premier temps, les résultats ont montré que l'effet renfort pouvait être modulé par la variation de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers. En effet, lorsque la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers est faible, ces derniers ont tendance à s'agréger dans la matrice, contribuant faiblement à l'effet renfort. Au contraire, lorsque la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers est plus élevée, les nanowhiskers, bien dispersés dans la matrice, contribuent plus efficacement à l'effet renfort. Cependant, les résultats suggèrent qu'il existe une densité maximale d'ions  $\text{SO}_3^-$  à la surface des nanowhiskers, au-delà de laquelle la contribution à l'effet renfort des nanocharges celluloses pourrait diminuer.

Dans un second temps, l'étude a porté sur la modulation du faible effet renfort apporté par des nanowhiskers agrégés (densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers faible), en faisant varier la concentration en agarose. Les résultats ont montré que l'effet renfort pouvait être modulé en faisant varier la concentration en agarose et/ou la fraction volumique en nanowhiskers. Par ailleurs, les résultats suggèrent un changement de structure des hydrogels nanocomposites pour une concentration en agarose comprise entre 0,2% et 0,5% en masse.



## Conclusion générale et perspectives

L'objectif principal de cette thèse était de contribuer à une meilleure compréhension des relations entre propriétés structurales, à différentes échelles, et propriétés rhéologiques d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose de tunicier.

La première étude a porté sur le comportement rhéologique des nanowhiskers de cellulose de tunicier en suspension dans l'eau. Nous avons montré qu'une suspension de nanowhiskers de tunicier à 0,3% en volume dans l'eau, initialement dispersée par une méthode ultrasonore, pouvait gélifier. L'étude de la cinétique de gélification, menée à l'aide du modèle de gel critique de Winter et Chambon, a permis de déterminer un temps de gel apparent, ainsi que la dimension fractale, caractérisant la structure du gel critique. Enfin, les résultats obtenus suggèrent que pour qu'un gel se forme, une fraction volumique en nanowhiskers entre 0,2% en volume et 0,3% en volume, correspondant au début du régime semi-dilué, est nécessaire.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les propriétés en cisaillement oscillatoire aux faibles déformations d'hydrogels d'agarose pur et d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose de tunicier. Les résultats tendent à montrer que les propriétés rhéologiques des hydrogels chargés sont gouvernées par la structure de la matrice agarose, au moins aux faibles fractions volumiques en nanowhiskers ( $\Phi < 0,2\%$ ). De plus, à ces faibles fractions, où les nanowhiskers ne percolent pas, les charges ont un effet renfort significatif, avec par exemple, une augmentation de plus d'une décade du module de conservation lorsque l'on ajoute 0,13% en volume de nanowhiskers à un hydrogel d'agarose à 0,2% en masse. Finalement, les résultats de cette étude suggèrent que les nanowhiskers peuvent modifier la topologie et/ou la connectivité du réseau d'agarose, conduisant à un effet renfort significatif.

Enfin, nous nous sommes intéressés à la modulation de l'effet renfort apporté par les nanowhiskers de cellulose de tunicier aux hydrogels d'agarose. Les résultats ont montré que l'effet renfort pouvait être modulé par la variation de la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers, suggérant même l'existence d'un optimum, au-delà duquel l'effet renfort apporté par les nanocharges cellulosiques diminuerait. Les résultats ont aussi montré la possibilité d'améliorer l'effet renfort apporté par des nanowhiskers agrégés en faisant varier la

concentration en agarose. Un changement de structure de l'hydrogel nanocomposite entre 0,2% et 0,5% en masse d'agarose est suggéré par les résultats obtenus.

Durant cette étude, on a pu constater la formation d'un réseau de percolation de nanowhiskers de cellulose dans l'eau, à une fraction volumique de 0,3%. Cependant, à des fractions volumiques proches, les résultats ne semblent pas mettre en évidence l'existence d'un tel réseau percolant dans un hydrogel d'agarose, mais plutôt l'agrégation des nanowhiskers dans les mailles de l'hydrogel. Ces résultats semblent confirmer le rôle fort de l'agarose et les contraintes imposées par ce dernier sur les nanocharges lors de la formation de l'hydrogel nanocomposite. Cependant, les résultats de cette étude montrent aussi l'influence importante de la présence des nanowhiskers sur la formation de l'hydrogel (augmentation de la densité en nombre de jonctions, changement de structure à une certaine concentration en présence de nanowhiskers agrégés).

Les travaux présentés dans ce manuscrit laissent entrevoir quelques perspectives.

A court terme, il pourrait être intéressant d'étudier l'influence de la concentration en agarose sur la modulation de l'effet renfort apporté par des nanowhiskers bien dispersés, mais aussi d'étudier les propriétés rhéologiques des hydrogels d'agarose chargés à des fractions volumiques en nanowhiskers bien supérieures à celles considérées dans nos travaux.

A moyen terme, il serait intéressant d'approfondir l'étude structurale des hydrogels nanocomposites à matrice agarose, en utilisant des techniques de microscopie électronique permettant d'investiguer les différentes échelles pertinentes (réseau d'agarose, zone de jonctions, nanowhiskers). Par ailleurs, la caractérisation des propriétés rhéologiques d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers pré-orientés, pourrait permettre d'étudier les propriétés renfort anisotropes de ces systèmes. Enfin, l'introduction d'une force ionique dans le système pourrait permettre de moduler finement les répulsions électrostatiques entre les nanowhiskers et donc l'effet renfort.

A plus long terme, il serait intéressant d'étudier l'influence du rapport de forme des nanowhiskers sur les propriétés structurales et rhéologiques mise en évidence dans ces travaux de thèse, en travaillant avec des nanowhiskers d'origines différentes. Enfin, l'étude de l'influence des propriétés physico-chimiques de la matrice hydrogel sur les propriétés structurales et rhéologiques des hydrogels nanocomposites, en travaillant par exemple avec

des carraghénanes chargés différemment ( $\kappa$ ,  $\iota$ ), pourrait compléter utilement les travaux présentés dans ce manuscrit.





## **Annexe A :**

*Gelling of cellulose nanowhiskers in aqueous suspension*

Kévin Jacques Le Goff, Diane Jouanneau, Catherine Garnier, Thierry Aubry

Journal of Applied Polymer Science, 131, 40676, 2014.

## Gelling of Cellulose Nanowhiskers in Aqueous Suspension

Kevin Jacques Le Goff,<sup>1</sup> Diane Jouanneau,<sup>2</sup> Catherine Garnier,<sup>3</sup> Thierry Aubry<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LIMATB, Equipe Rhéologie, Université de Bretagne Occidentale, 6, avenue Victor Le Gorgeu CS 93837, 29238 Brest Cedex 3, France

<sup>2</sup>Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, CNRS, Marine Plants and Biomolecules, UMR 7139, Station Biologique, BP 74, 29680 Roscoff Cedex, France

<sup>3</sup>INRA, UR 1268, Unité Biopolymères, Interactions, Assemblages, Rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 3, France

Correspondence to: T. Aubry (E-mail: thierry.aubry@univ-brest.fr)

**ABSTRACT:** The gelling properties of a 0.46 wt % semi-dilute aqueous suspension of well-characterized nanocrystalline cellulose particles extracted from the tunic of marine animals were studied by measuring the time evolution of linear viscoelastic moduli at various frequencies. The results show the existence of a gel time characterized by a frequency-independent loss angle, which suggests that gelling is due to the growth of self-similar clusters, whose fractal dimension was determined. © 2014 Wiley Periodicals, Inc. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, 40676.

**KEYWORDS:** cellulose and other wood products; nanoparticles; nanowires and nanocrystals; gels; rheology

Received 10 January 2014; accepted 25 February 2014

DOI: 10.1002/app.40676

### INTRODUCTION

In the last decade, there was increasing interest in the development of high performance “green” nanocomposites derived from cellulose nanofibers, often referred to as nanowhiskers, coming from animal or plant resources.<sup>1–4</sup> These review articles clearly show that the renewable, biodegradable, nontoxic, cellulose nanowhiskers have a high reinforcement potential of polymer matrices, due to their high Young’s modulus (between 100 and 160 GPa) and their high surface area. Moreover, because of their high aspect ratio, from about 10 to 100 depending on the source of cellulosic material, the reinforcing properties of nanowhiskers can be observed at low contents. An early study of composite reinforcement by cellulose nanowhiskers has clearly shown that dramatic reinforcements could be achieved when nanowhiskers form a percolating network.<sup>5</sup>

Besides, the ability of cellulose nanowhiskers to self-assemble and organize in polar and nonpolar solvents has been recently reviewed.<sup>6</sup> When dispersed in water, the cellulose nanowhiskers, like many other rod-like or anisometric particles, form an isotropic phase in the dilute regime, and an anisotropic liquid crystalline phase in the semi-dilute regime. Moreover, the results obtained by Bercea and Navard strongly suggest that nanowhiskers’ anisotropic suspensions exhibit a texture similar to that of liquid crystalline polymer solutions.<sup>7</sup>

A better understanding of reinforcement effect of polymer matrices by cellulose nanowhiskers, also of self-assembling phenom-

ena exhibited by cellulose nanowhiskers in solvents, requires a better characterization of the microstructures that these rod-shaped nanoparticles can adopt.

As recently reviewed by Solomon and Spicer,<sup>8</sup> rod-shaped particle dispersions exhibit common features regarding their microstructure, as well as their dynamical and rheological response. For example, at low-volume fractions, a great variety of rod-shaped particles have been shown to form a space-filling network, which imparts elasticity and gel-like rheological properties to rod suspensions; the volume fraction at which the gel forms depends on the intensity of pair interactions, and of the rod aspect ratio.<sup>8</sup> In the case of nanowhiskers, their ability to form gels at low volume fractions in water is due to not only excluded volume interactions, but also electrostatic interactions induced by the presence of negative surface charges imparted during the acid hydrolysis step classically used to produce cellulose nanocrystals.<sup>9</sup>

In the gelation literature, the elastic modulus of a gel is often considered analogous to the electrical conductivity of a random network of conductors, and can therefore be described by percolation theory, as originally proposed by de Gennes.<sup>10</sup> Thus, different percolation models have been used in the literature to describe both polymeric and particulate gel formation.<sup>11</sup> Within this theoretical framework, theories of gelation describe the finite fractal cluster growth process, which leads to the formation of an infinite cluster at the gel point, identified with the

percolation threshold.<sup>12</sup> At the gel point, for a great number of covalently and physically cross-linked polymeric systems<sup>13–15</sup> but also for some particulate systems,<sup>16,17</sup> the storage and loss moduli, which characterize the dynamic mechanical behavior of the material, were shown to obey a common power law as a function of frequency. This particular viscoelastic behavior is the signature of the self-similarity (or scale invariance) of the gel structure, as predicted by the critical gel model by Winter and Chambon.<sup>18</sup>

In the present work, we present a viscoelastic investigation of the gelling properties of a low concentrated aqueous suspension of tunicate cellulose nanowhiskers, which are known to exhibit a high average aspect ratio. From a fundamental point of view, the aim of the dynamic mechanical characterization performed in this work is to give a physical insight into the mechanism of the gel formation of cellulose nanowhiskers in aqueous suspensions, which was never studied in the literature. From a more applied point of view, a better knowledge of the gelation phenomenon, which can be encountered in nanowhiskers aqueous suspensions, can be useful to improve the sol–gel processing technique, which is one of the different processing methods used to prepare nanowhiskers-based nanocomposites.<sup>6</sup>

## EXPERIMENTAL

### Production of Cellulose Nanowhiskers

The cellulose resource used in this work comes from the tunic of marine animals (*Phallusia mammilata*), provided by the Roscoff biology station. The proteins were extracted from washed pieces of the tunics by three successive bleaching treatments, alternating a treatment with a 5% potassium hydroxide solution at ambient temperature for 3 h, and a treatment with chlorite at 70°C for 4 h. The tunicate nanowhiskers were prepared by acid hydrolysis of the cellulosic residue dispersed in water at a concentration of about 10 wt %, using 96 wt % sulfuric acid, following a two-step procedure: in the first step, sulfuric acid is added drop by drop under continuous vigorous stirring of the mixture, and the temperature of the mixture is maintained at 32°C; then, in a second step, the reaction mixture is kept at 70°C for 45 min.

### Preparation of Nanowhiskers Suspensions

The cellulose nanowhiskers were dispersed in deionized water and the suspension was dialyzed until the pH of the suspension reaches pH = 7, then it was sonicated for 10 min in order to disperse the cellulose nanoparticles. The suspension was then treated with a mixed-bed ion-exchange resin (Reference TDM-8 from Sigma Aldrich), and 0.02 wt % sodium azide, which acts as a bacteriostatic agent, was added to the suspension. The resulting 0.3 vol % (or 0.46 wt %) nanowhiskers suspension was stored at 4°C.

### Titration

A total of  $10^{-4}$  mol/L sodium hydroxide was added to a 0.17 vol % nanowhiskers aqueous suspension in order to titrate the charged sulfate groups resulting from the reaction of the sulfuric acid with the hydroxyl groups of cellulose. The number of sulfate groups at the surface of nanowhiskers per glucose unit was inferred from the overall number of sulfate groups per glu-

cose unit (derived from the titration measurements), divided by the ratio of surface chains to total chains in a nanowhisker, which can be calculated from the average dimensions of a nanowhisker and from the crystallographic characteristics of the cellulose crystal.<sup>19</sup>

### Transmission Electron Microscopy

Transmission electron microscopy was used in order to determine the geometrical characteristics of cellulose nanowhiskers. A 0.2 vol % nanowhiskers aqueous suspension was placed on a copper grid, and stained with uranyl acetate. Transmission electron micrographs were acquired with JEOL JEM-1230 microscope at 80 kV, and analyzed using SigmaScan Pro 5.0.0.

### Rheometry

All rheological measurements were carried out in oscillatory simple shear with a controlled strain rheometer ARES from TA Instruments, equipped with a parallel plate geometry of diameter 5 cm, at a gap of 1 mm. The sample temperature was fixed at 20°C using a thermostatic bath. Low viscosity silicone oil was used to prevent water evaporation during rheometrical tests, and waterproof abrasive paper with roughness of about 80  $\mu\text{m}$  was used in order to prevent slippage at the surface of both plane geometries.

An optimized dispersion protocol was systematically applied prior to any rheometrical test, in order to reach a good reproducible initial dispersed state of the nanowhiskers in water, the dispersion state being characterized by viscoelastic measurements. This protocol will be presented and discussed in the Results section of the article. Two types of tests were performed: first, strain sweep tests in order to determine the extent of the linear viscoelastic regime at all frequencies tested (0.0316 Hz, 0.147 Hz, 0.215 Hz, 0.464 Hz, 0.618 Hz); then, with a new sample, the time evolution of the storage modulus  $G'$  and loss modulus  $G''$  at the above-mentioned frequencies, in the linear regime, was studied.

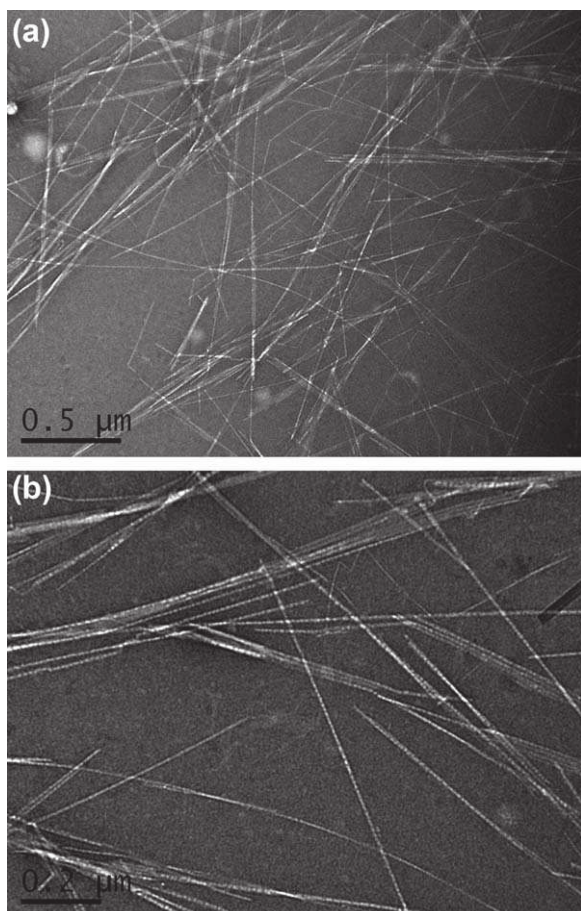
## RESULTS AND DISCUSSION

### Geometrical Characteristics of Nanowhiskers

Figure 1(a,b) shows TEM images of a 0.2 vol % dispersion of cellulose nanowhiskers. These figures clearly confirm that cellulose nanowhiskers are long rigid rods. From such micrographs, the length (from Figure 1a) and diameter (from Figure 1b) of about 400 nanowhiskers were measured. Figure 2(a,b) presents histograms of the length and diameter distribution of the rod-like cellulose nanocrystalline particles. The average rod length  $L = 960$  nm, and the mean rod diameter  $D = 16$  nm, leading to a mean aspect ratio  $p = L/D = 60$ , with a rather large dispersity; these geometrical characteristics are in rather good agreement with those given in the literature for nanowhiskers produced from tunicate sources.<sup>20</sup>

### Surface Charge

The number of sulfate groups,  $\text{SO}_3^-$ , per glucose unit, determined by titration, was found to be about 0.04. When the extent of acid hydrolysis is low, substitution occurs essentially at the surface of the nanowhiskers, so that the number of charged sulfate groups per glucose unit at the surface,  $DS_s$ , is higher, and can be deduced from the ratio of surface chains to total



**Figure 1.** (a) Example of TEM image of a 0.2 vol % aqueous suspension of cellulose nanowhiskers, used for the determination of nanowhiskers length. (b) Example of TEM image of a 0.2 vol % aqueous suspension of cellulose nanowhiskers, used for the determination of nanowhiskers diameter.

chains in a nanowhisker,<sup>19</sup> which is equal to 0.23 in our case, leading to  $DS_s = 0.17$ . This result means that 17% of accessible OH groups have been substituted by sulfate groups bearing a negative elementary charge on glucose units at the nanowhiskers surface by acid hydrolysis of cellulose.

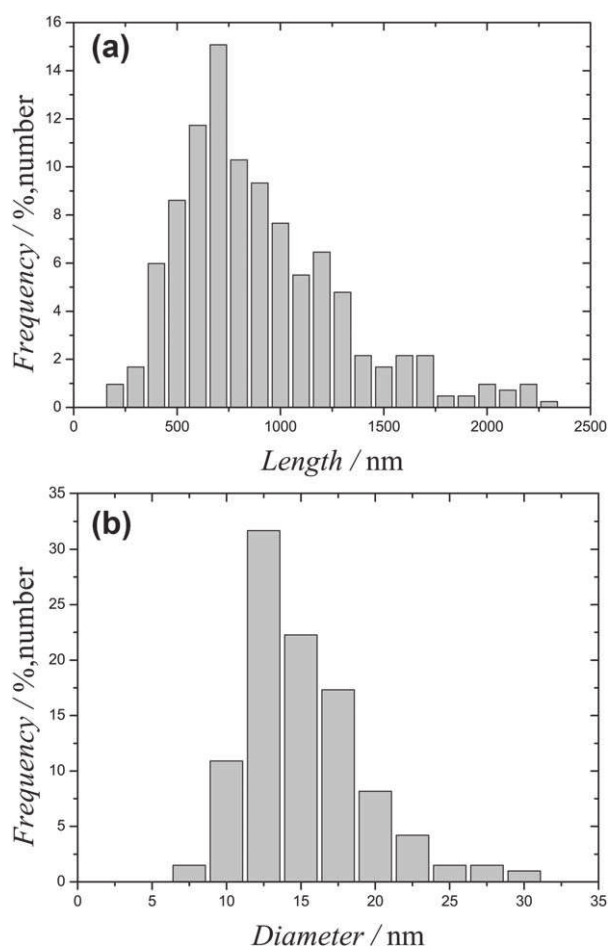
### Rheological Study

**Optimization of the Dispersion Procedure.** Prior to any rheological test, rheological experiments were first performed in order to determine the dispersion protocol leading to the best reproducible initial dispersed state of the nanowhiskers in water. A 50 W sonicator (Vibra cell from Bioblock Scientific) was used with different sonication times and the time evolution of the storage modulus was followed over 20 min just after the sonication step. The results, plotted in Figure 3, show that the sonication time mainly influences the initial  $G'$  values. This effect can be attributed to different initial degrees of dispersion of nanowhiskers in water after different sonication times. The lowest initial  $G'$  value, which is quite reproducible, is obtained for a 40-minute sonication time; it is worth noticing that a longer sonication time does not seem to have any additional effect on  $G'$  level. This result tends to show that 40 minutes would be the

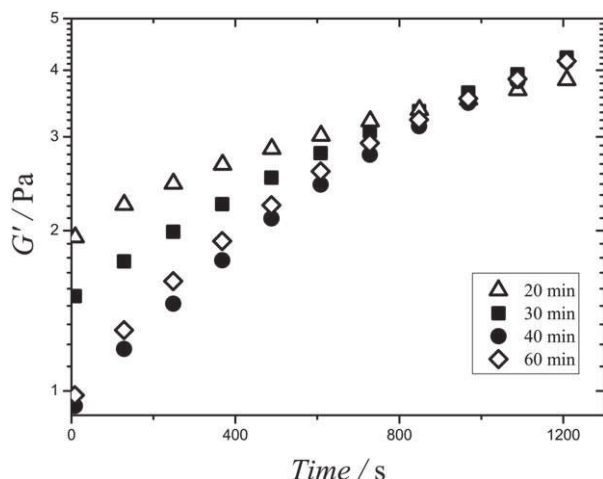
best sonication time, that is, the time required to get the best and reproducible degree of nanowhiskers dispersion, at least with the sonication equipment used in this study. This optimized dispersion protocol was used before any rheometrical characterization performed in this study.

**Evidence of Long-Time Structuration Kinetics.** Figure 4 presents the time evolution of both viscoelastic moduli,  $G'$  and  $G''$ , over 6 hours, for a 0.3 vol % cellulose nanowhiskers aqueous suspension, after the dispersion protocol presented above. This figure shows that both viscoelastic moduli initially increase rapidly, and go on increasing albeit weakly over many hours. This result is reminiscent of results obtained with Laponite clay suspensions, which have been shown to form gels under certain concentration and ionic strength conditions, without finding any equilibrium state over days.<sup>21</sup> We think that this analogy makes sense, because both rod-like cellulose nanowhiskers and disk-like Laponite particles are anisometric charged nanoparticles.

**Dynamic Mechanical Characterization of Gel Formation.** Figure 5(a,b) presents the time evolution of the storage modulus and the loss modulus of a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension, at different frequencies in the linear response regime. These figures show that, after a more or less rapid initial increase, the continuous increase of both viscoelastic moduli,  $G'$



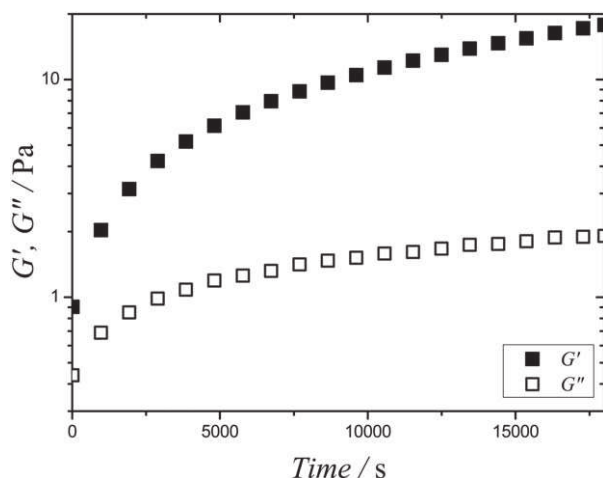
**Figure 2.** (a) Length distribution of nanowhiskers and (b) diameter distribution of nanowhiskers.



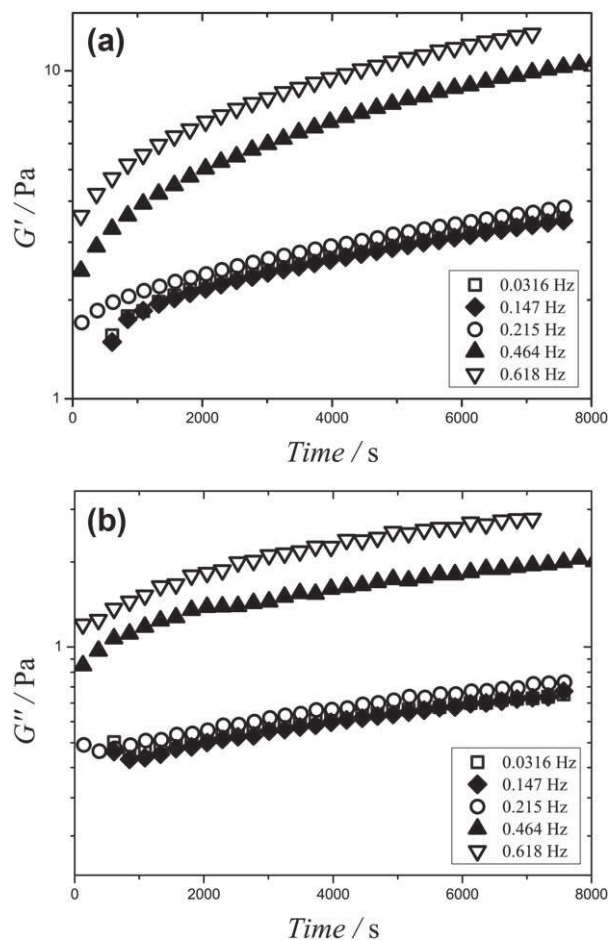
**Figure 3.** Time evolution of the storage modulus  $G'$ , at 1 Hz frequency and 3% strain amplitude, for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension after different sonication times.

and  $G''$ , with time is observed at all frequencies investigated. Moreover, they also show that, at any given time, the storage and loss moduli increase with frequency. The time evolution of the loss angle,  $\tan \delta = G''/G'$ , is plotted in Figure 6.

This figure clearly shows that, at all frequencies, the loss angle decreases with time, and that, at a well-defined time,  $t_g \sim 1$  hour, it is independent of the frequency, at least over some limited frequency range, which means that  $G'$  and  $G''$  exhibit the same frequency dependence at  $t_g$ . This result is in agreement with the prediction of the critical gel model by Winter and Chambon,<sup>18</sup> at the gel point, which suggests that  $t_g$  might be considered as the gel time. It is interesting to notice that, following the same approach, the gel time of a 0.27 wt % surfactant-stabilized carbon nanotubes in aqueous suspension was shown to be about 2 h,<sup>22</sup> whereas that of a 1 wt % Laponite aqueous suspension at an ionic strength of 0.001 M was shown to be about 3 h.<sup>16</sup>



**Figure 4.** Storage modulus  $G'$  and loss modulus  $G''$  as a function of time, at 1 Hz frequency and 3% strain amplitude, for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension.



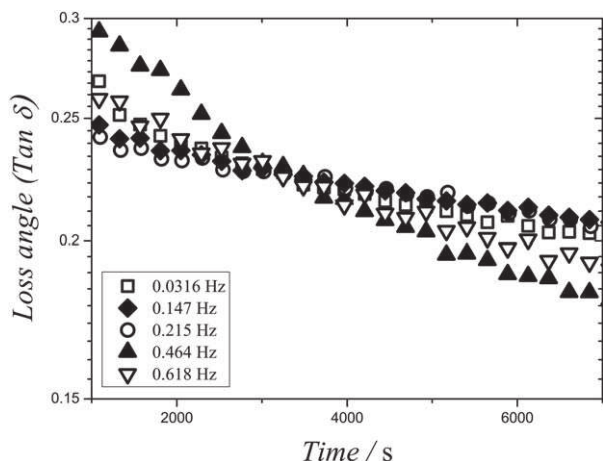
**Figure 5.** (a) Time evolution of the storage modulus  $G'$ , at different frequencies and 3% strain amplitude, for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension. (b) Time evolution of the loss modulus  $G''$ , at different frequencies and 3% strain amplitude, for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension.

Assuming that  $G'$  and  $G''$  have the same power law frequency dependence at all frequencies, as predicted by Winter and Chambon<sup>18</sup> at the gel point, the common power exponent  $\Delta$  can be calculated from the value of the loss angle at  $t_g$ , which is 0.23 in our case, which gives:  $\Delta = 2\delta/\pi = 0.15$ . For most polymer gels<sup>23,24</sup> but also for Laponite nanoparticle gels<sup>16</sup> at the gel point, the power exponent  $\Delta$  was shown to lie between 0.5 and 0.7, in agreement with percolation theory.<sup>25</sup> However, other, much less numerous, critical gels are characterized by a much lower  $\Delta$  value. For example,  $\Delta$  was shown to lie between 0.1 and 0.2 for the critical gel induced by the crystallization of an elastomeric poly(propylene)<sup>26</sup> but also for the critical gel formed by rod-like virus particles.<sup>17</sup> A relationship established by Muthukumar<sup>25</sup> allows to explain that  $\Delta$  can take any value between 0 and 1:

$$\Delta = d(d+2-2d_f)/2(d+2-d_f) \quad (1)$$

where  $d$  is the space dimension ( $d = 3$ ), and  $d_f$  is the fractal dimension characterizing the self-similar structure of the clusters that form a three-dimensional network at the gel point.

Knowing  $\Delta$  for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension, eq. (1) allows to determine the fractal dimension  $d_f$  of the



**Figure 6.** Time evolution of the loss angle,  $\tan \delta = G''/G'$ , at different frequencies and 3% strain amplitude, for a 0.3 vol % nanowhiskers aqueous suspension.

cellulose nanocrystalline clusters:  $d_f = 2.4$ . Such a large value is in good agreement with the fractal dimension deduced from a recent modeling of the viscosity of suspensions of highly anisometric nanoparticles.<sup>27</sup> Indeed, the fractal dimension of clusters of rod-like colloidal particles is higher than that of clusters of spherical colloidal particles, and all the more as the aspect ratio of the rods is higher.<sup>28</sup>

**Influence of Nanowhiskers Concentration Regime on Gelation.** Following exactly the same approach, we studied the time-dependent dynamic mechanical properties of a 0.2 vol % nanowhiskers aqueous suspension. The results (not shown here) did not show the existence of any gel time over  $10^4$  seconds. This highlights the influence of nanowhiskers concentration on the gel formation: a minimum volume fraction is needed for gelation to occur. We suggest that this minimum concentration can be roughly estimated as the semi-dilute limit, from which pair interactions cannot be neglected. This limit, for rigid rods interacting only through excluded volume interactions, is given by<sup>11</sup>:

$$\Phi^* = 24/p^2 \quad (2)$$

where  $p$  is the rod aspect ratio. Using eq. (2) with  $p = 60$ , which is the average aspect ratio of the rod-like cellulose nanowhiskers studied in this work, leads to  $\Phi^* = 0.6\%$ . This value is expected to overestimate the real semi-dilute limit of the nanowhiskers suspensions, because nanowhiskers interact not only through excluded volume interactions, but also through long-range electrostatic interactions. Our results suggest that the onset of semi-dilute regime, needed for gelation to occur, lies between 0.2 vol % and 0.3 vol %, for the nanowhiskers suspensions studied in the present work.

## CONCLUSION

The study of the time evolution of linear viscoelastic moduli at various frequencies of a 0.3 vol % tunicate cellulose nanowhiskers semi-dilute aqueous suspension, submitted to 50 W sonication for 40 minutes, was performed. The dynamical

mechanical characterization shows that, after about 1 hour, the suspension can form a critical gel, resulting from the percolation of self-similar nanowhiskers clusters, whose fractal dimension is 2.4. The results of this study also show that, for gelation to occur, a nanowhiskers volume fraction between 0.2 vol % and 0.3 vol %, corresponding to the onset of semi-dilute regime, is needed. Finally, the results suggest a strong analogy between nanowhiskers gels and other rod-like, or disk-like, anisometric particle gels.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Région Bretagne, Région Pays de Loire, and GlycoOuest Network for financial support, and thank Cédric Gailard (INRA Nantes) for performing the electron microscopy experiments.

## REFERENCES

1. Abdul Khalil, H. P. S.; Bhat, A. H.; Ireana Yusra, A. F. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87*, 963.
2. 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. *J. Mater. Sci.* **2010**, *45*, 1.
3. Eichhorn, S. J. *Soft Matter* **2011**, *7*, 303.
4. Samir, M. A. S. A.; Alloin, E.; Dufresne, A. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 612.
5. Favier, V.; Chanzy, H.; Cavallé, J. Y. *Macromolecules* **1995**, *28*, 6365.
6. Habibi, Y.; Lucia, L. A.; Rojas, O. J. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 3479.
7. Bercea, M.; Navard, P. *Macromolecules* **2000**, *33*, 6011.
8. Solomon, M. J.; Spicer, P. T. *Soft Matter* **2010**, *6*, 1391.
9. Araki, J.; Wada, M.; Kuga, S.; Okano, T. *Colloids Surf. A* **1998**, *142*, 75.
10. de Gennes, P. G. *J. Phys. (Paris)* **1976**, *37*, L1.
11. Larson, R. G. *The Structure and Rheology of Complex Fluids*, Oxford University Press: New York, **1999**.
12. Stauffer, D.; Coniglio, A.; Adam, M. *Adv. Polym. Sci.* **1982**, *44*, 105.
13. Scalan, J. C.; Winter, H. H. *Macromolecules* **1991**, *24*, 47.
14. Matsumoto, T.; Kawai, M.; Masuda, T. *Macromolecules* **1992**, *25*, 5430.
15. Michon, C.; Cuvelier, G.; Launay, B. *Rheol. Acta* **1993**, *32*, 94.
16. Cocard, S.; Tassin, J. F.; Nicolai, T. *J. Rheol.* **2000**, *44*, 585.
17. Reddy, N. K.; Zhang, Z. Z.; Lettinga, M. P.; Dhont, J. K. G.; Vermant, J. *J. Rheol.* **2012**, *56*, 1153.
18. Winter, H. H.; Chambon, F. *J. Rheol.* **1986**, *30*, 367.
19. Goussé, C.; Chanzy, H.; Excoffier, G.; Soubeyrand, L. Fleury, E. *Polymer* **2002**, *43*, 2645.
20. Elazzouzi-Hafraoui, S.; Nishiyama, Y.; Putaux, J. L.; Heux, L.; Dubreuil, F.; Rochas, C. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 57.

21. Willenbacher, N. *J. Coll. Interface Sci.* **1996**, *182*, 501.
22. Chen, D. T. N.; Chen, K.; Hough, L. A.; Islam, M. F.; Yodh, A. G. *Macromolecules* **2010**, *43*, 2048.
23. Durand, D.; Delsanti, M.; Adam, M.; Luck, J. M. *Europhys. Lett.* **1987**, *3*, 297.
24. Martin, J. E.; Adolf, D.; Wilcoxon, J. P. *Phys. Rev. Lett.* **1988**, *61*, 2620.
25. Muthukumar, M. *Macromolecules* **1989**, *22*, 4656.
26. Lin, Y. G.; Mallin, D. T.; Chien, J. C. W.; Winter, H. H. *Macromolecules* **1991**, *24*, 850.
27. Puisto, A.; Illa, X.; Mohtaschemi, M.; Alava, M. J. *Eur. Phys. J.* **2012**, *E 35*, 6.
28. Mohraz, A.; Moler, D. B.; Ziff, R. M.; Solomon, M. J. *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 155503.





**Annexe B :**

*Rheological study of reinforcement of agarose hydrogels by cellulose  
nanowhiskers*

Kévin Jacques Le Goff, Cédric Gaillard, William Helbert, Catherine Garnier, Thierry Aubry

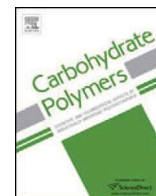
Carbohydrate Polymers, article accepté le 21 avril 2014.



Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/carbpol](http://www.elsevier.com/locate/carbpol)



## Rheological study of reinforcement of agarose hydrogels by cellulose nanowhiskers

Kevin J. Le Goff<sup>a</sup>, Cedric Gaillard<sup>b</sup>, William Helbert<sup>c</sup>, Catherine Garnier<sup>b</sup>, Thierry Aubry<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> LIMATB – Equipe Rhéologie, Université de Bretagne Occidentale, 6 avenue Victor Le Gorgeu, CS 93837, 29238 Brest Cedex 3, France

<sup>b</sup> INRA – UR 1268 Unité Biopolymères, Interactions, Assemblages, Rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 3, France

<sup>c</sup> CERMAV – CNRS UPR 5301, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 31 December 2013

Received in revised form 25 March 2014

Accepted 21 April 2014

Available online xxx

#### Keywords:

Agarose hydrogels

Cellulose nanowhiskers

Structure

Rheological behavior

### ABSTRACT

The influence of the addition of tunicate cellulose nanowhiskers on the structural and rheological properties of an agarose hydrogel matrix has been studied, with the objective to design innovative green material, with good mechanical properties. The cellulose nanowhiskers were characterized using transmission electron microscopy, and their charge surface density was determined by a titration method. Oscillatory shear and stress relaxation tests were performed in order to characterize the rheological properties of the agarose matrix, and of the agarose hydrogels filled by nanowhiskers at volume fractions below 0.2%. The results show a significant reinforcement effect due to the addition of nanowhiskers, and suggest changes in the matrix network structure induced by the cellulose nanoparticles.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Hydrogels are tridimensional, natural or synthetic, polymeric networks able to retain large quantities of aqueous solutions. The junctions are either permanent (chemical hydrogel) or transient (physical hydrogel). Their applications are numerous, as for instance in the biomedical field, where they are sometimes used because of biocompatibility and interesting rheological properties (Peppas, Bures, Leobandung, & Ichikawa, 2000). They are also widely used in food industry when composed of natural polymers. In this study, we have chosen to work on a composite system, agarose being the hydrogel matrix, and cellulose nanowhiskers acting as insoluble fillers.

Agarose is a neutral linear polysaccharide extracted from red algae (*Rhodophyceae*), and is the major component of agar, the other component being agarpectin. It is composed of alternating  $\beta$ -D-galactopyranose and anhydro- $\alpha$ -L-galactopyranose. Agarose is used, for example, in separation techniques and characterization of biomolecules such as electrophoresis or affinity chromatography (Cuatrecasas, 1970; Sparks & Phillips, 1992).

The gelation of agarose is dependent on two parameters: temperature and concentration. The agarose chain conformation changes with temperature, from a random coil conformation, at

high temperatures, to a helical conformation, with decreasing temperature, the transition occurring between 40 °C and 60 °C (Tako & Nakamura, 1988). This thermally induced conformational change is essential for the formation of an agarose gel, if the concentration is high enough. At very low agarose concentrations, the polymer chains in helical conformation aggregate and form clusters (Sugiyama, Rochas, Turquois, Taravel, & Chanzy, 1994); when the polymer concentration increases, a sol–gel transition appears through the clusters connection, *via* fibrillar junctions of variable composition (Pines & Prins, 1973), forming a network spanning the whole sample, that is a gel. The agarose network mesh has a characteristic size which varies as a function of concentration: from 200 nm at 1 wt% to 80 nm at 3 wt% (Rochas, Hech, & Geissler, 1999); it is about 450 nm at 0.2 wt% (Bica, Borsali, Geissler, & Rochas, 2001). However it should be noted that these mesh size values are only averages: indeed, there is a mesh size distribution within the hydrogel (Rochas et al., 1999).

In this study, agarose hydrogels have been studied in the presence of cellulose nanowhiskers. These rod-like nanocrystalline cellulose particles, have been extensively studied because of very attractive properties (biodegradability, renewability, non-toxicity, high elastic modulus, light weight, etc) (De Souza Lima, Wong, Paillet, Borsali, & Pecora, 2003; Eichhorn, Dufresne, Aranguren, Capadona, & Rowan, 2010; Habibi, Lucia, & Rojas, 2010). Cellulose nanowhiskers can be extracted from various plant and animal sources. An acid hydrolysis of cellulose fibers is usually performed in order to degrade the amorphous regions of the cellulose

\* Corresponding author. Tel.: +33 0298016686; fax: +33 0298017930.  
E-mail address: [thierry.aubry@univ-brest.fr](mailto:thierry.aubry@univ-brest.fr) (T. Aubry).

microfibrils, and to get the nanowhiskers. The hydrolysis conditions strongly influence the cellulose nanowhiskers properties, mainly the surface charge and nanowhiskers size, whose dimensions also vary according to the cellulose source, from hundred nanometers to several microns (Araki, Wada, Kuga, & Okano, 1998; Dong, Revol, & Gray, 1998). For example, the aspect ratio, *i.e.* the length/diameter ratio, is of the order of 15 for cotton nanowhiskers and 70 for tunicate ones. Besides, nanowhiskers exhibit very high potential reinforcement capability due to their high surface area (of the order of several hundred  $\text{m}^2/\text{g}$ ), and to their very high rigidity: their Young's modulus lies between 100 GPa and 160 GPa (Sturcova, Davies, & Eichhorn, 2005). Cellulose nanowhiskers have been mainly studied as reinforcement agents in synthetic thermoplastic matrices (poly (vinyl chloride), polypropylene, etc) (De Souza Lima & Borsali, 2004; Samir, Alloin, & Dufresne, 2005). More recently, they have also been investigated in biopolymer matrices (poly (lactic acid), poly (hydroxyalkanoate)) (Abdul Khalil, Bhat, & Ireana Yusra, 2012) and more particularly in polysaccharide matrices (Abdollani, Alboofetileh, Rasaei, & Behrooz, 2013; Khan, Khan, Salmieri, Tien, & Riedl, 2012). The study of nanocomposites composed of hydrogel matrices filled with cellulose nanowhiskers is much more recent (Dash, Foston, & Ragauskas, 2013; Gómez Martínez, Stading, & Hermansson, 2013; Spagnol, Rodrigues, Neto, Pereira, & Fajardo, 2012a; Yang, Han, Duan, Ma, & Zhan, 2013).

The objective of this study is to contribute to a better understanding of the effect of the addition of cellulose nanowhiskers on the structural and rheological properties of agarose hydrogels, focusing on the strengthening effect brought by cellulosic nanofillers. From a more applied point of view, the present work aims at designing new green hydrogels, with good mechanical properties.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

#### 2.1.1. Agarose

The agarose sample has been provided by EUROGENTEC (Belgium). The main characteristics of the agarose used in this study have been given by the supplier. The intrinsic viscosity is  $280 \text{ cm}^3/\text{g}$ , corresponding to an average molecular weight of about 101,000 Da. The sulfate content is inferior to 0.1% and the melting temperature lies between  $88^\circ\text{C}$  and  $90^\circ\text{C}$ .

#### 2.1.2. Preparation of agarose solutions

To prepare the aqueous solutions of agarose studied in this work, the desired amount of agarose powder was dispersed in deionized water under mechanical stirring at a temperature close to  $90^\circ\text{C}$ . The solutions, from 0.1 wt% to 0.35 wt%, form gels on cooling at room temperatures in Petri dishes, and were characterized the day after preparation.

#### 2.1.3. Elaboration of cellulose nanowhiskers

The cellulose source used in this work is the tunic of marine animals (*Phallusia mammillata*), provided by the Station Biologique de Roscoff (France). The proteins were extracted from washed pieces of the tunics by three successive bleaching treatments, alternating the washing with potassium hydroxide 5% at ambient temperature during 3 h and the washing with chlorite at  $70^\circ\text{C}$  during 4 h. The tunicate nanowhiskers were prepared by acid hydrolysis of the cellulosic residue dispersed in water at a concentration of about 10%, using 96 wt% sulfuric acid, following a two-step procedure: in a first step, sulfuric acid was added drop by drop under continuous vigorous stirring of the mixture, and the temperature of the

mixture was maintained at  $32^\circ\text{C}$ , then, in a second step, the reaction mixture was kept at  $70^\circ\text{C}$  during 45 min.

#### 2.1.4. Preparation of nanowhiskers suspensions

The cellulose nanowhiskers were dispersed in deionized water, and the suspension was dialyzed until the pH of the suspension reaches  $\text{pH} = 7$ , then it was sonicated during 10 min in order to disperse the cellulose nanoparticles. The suspension was then treated with a mixed-bed ion-exchange resin (*Mixed bed resin TDM-8* from Sigma Aldrich), and 0.02 wt% sodium azide, which acts as a bacteriostatic agent, was added to the suspension. The resulting 0.2 vol% (or 0.31 wt%) nanowhiskers suspension was stored at  $4^\circ\text{C}$ .

#### 2.1.5. Preparation of agarose gels filled with cellulose nanowhiskers

The nanowhiskers suspension, previously sonicated during 10 min in an ice bath, was agitated under mechanical stirring at about 800 rpm, and heated. When the temperature was close to  $90^\circ\text{C}$ , the desired amount of agarose was added to the suspension. In the present study, the concentration of agarose mass fixed at 0.2 wt%, whereas the cellulose nanowhiskers volume fraction,  $\Phi$ , varied from 0.013% up to 0.2%.

### 2.2. Methods

#### 2.2.1. Transmission electron microscopy (TEM)

Transmission electron microscopy was used in order to determine the geometrical characteristics of cellulose nanowhiskers. A 0.2 vol% nanowhiskers aqueous suspension was placed on a carbon coated TEM copper grid. Samples, negatively stained with uranyl acetate (1%), were let to air dry before observation, using a JEOL JEM-1230 microscope (Nikon, Tokyo, Japan), equipped with a LaB6 gun filament (lanthanum hexaboride), operating at a voltage acceleration of 80 kV. The images were analyzed using SigmaScan Pro 5.0.0 software.

#### 2.2.2. Atomic force microscopy (AFM)

AFM observation was performed in order to investigate the structure of the agarose gels filled with the cellulose nanowhiskers. The samples were deposited on a freshly cleaved mica plane, then dried under an Argon flux. The images were acquired in the air using a microscope AutoProbe CP Park Scientific Instrument (USA). The tips were made of silicon doped with phosphorus (Veeco Probes, USA). The resulting images were processed with the WSxM 4.0 Software (Nanotec Electronica).

#### 2.2.3. Titration

$10^{-4} \text{ mol/l}$  sodium hydroxide was added to a 0.17 vol% nanowhiskers aqueous suspension in order to titrate the charged sulfate groups resulting from the reaction of the sulfuric acid with the hydroxyl groups of cellulose. The number of sulfate groups at the surface of nanowhiskers per glucose unit was inferred from the overall number of sulfate groups per glucose unit (derived from the titration measurements), divided by the ratio of surface chains to total chains in a nanowhisker, which can be calculated from the average dimensions of a nanowhisker and from the crystallographic characteristics of the cellulose crystal (Goussé, Chanzy, Excoffier, Soubeyrand, & Fleury, 2002).

#### 2.2.4. Rheometry

All rheological measurements were carried out using a controlled stress rheometer Gemini (Bohlin Instruments). Oscillatory shear and stress relaxation tests were performed at  $20^\circ\text{C}$ , in parallel-plate geometry (diameter: 25 mm, gap: 1.5 mm), in order to characterize the rheological properties of the agarose matrix and of the filled hydrogels. In both cases, preformed gel samples, with a

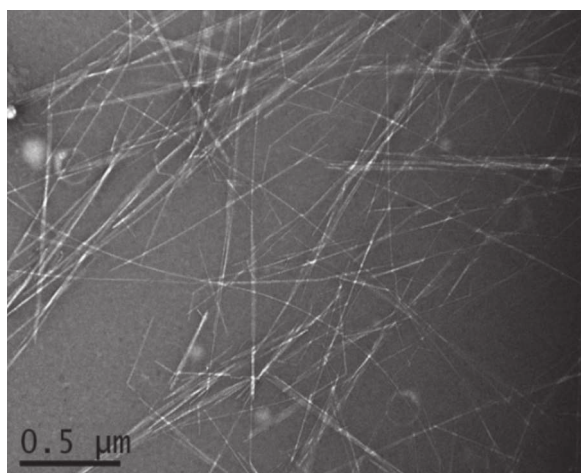


Fig. 1. TEM micrograph of a 0.2 vol% aqueous suspension of nanowhiskers.

diameter of 25 mm, were cut in Petri dishes using a punch and were very carefully transferred with a large spatula from the Petri dishes, with a diameter of 60 mm, to the plate geometry of the rheometer. Both plates were covered with waterproof abrasive paper of roughness of about 80  $\mu\text{m}$  in order to prevent slippage. Low viscosity silicone oil was used to prevent water evaporation during rheometrical tests.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Transmission electron microscopy (TEM)

Fig. 1 shows, as an example, a TEM image of a 0.2 vol% nanowhiskers suspension, and allows to visualize long and entangled rigid rods. From different pictures taken from the same sample, the diameter and length of about 400 nanowhiskers were measured. The average rod length  $L = 960 \pm 475$  nm, and the mean rod diameter  $D = 16 \pm 4$  nm, leading to a mean aspect ratio  $L/D = 60$ . It should be noted that a large polydispersity (mostly for the length) is observed for the nanowhiskers here studied.

The average aspect ratio value is in accordance with the values found in the literature for nanowhiskers of the same origin (Favier, Chanzy, & Cavaille, 1995). It should be noted that the aspect ratio of tunicate nanowhiskers is high, at least compared with that reported for cotton nanowhiskers ( $p = 12$ ) (Roohani, Habibi, Belgacem, Ebrahim, & Karimi, 2008), or ramie nanowhiskers ( $p = 29$ ) (Habibi, Goffin, Schiltz, Duquesne, & Dubois, 2008). It has also to be mentioned here that the average length of the tunicate nanowhiskers used in this study is about two times higher than the average mesh size of a 0.2 wt% agarose hydrogel, used as a matrix in the present work.

#### 3.2. Surface charge

The number of  $\text{SO}_3^-$  groups per glucose unit, determined by titration, was found to be about 0.04. When the extent of acid hydrolysis is low, substitution occurs essentially at the surface of the nanowhiskers, so that the number of charged sulfate groups

per glucose unit at the surface,  $DS_s$  is higher, and can be deduced from the ratio of surface chains to total chains in a nanowhisker (Goussé et al., 2002), which is equal to 0.23 in our case, leading to  $DS_s = 0.17$ . This result means that, due to acid hydrolysis of cellulose, 17% of accessible OH groups have been substituted by sulfate groups bearing a negative elementary charge on glucose units at the nanowhiskers surface.

#### 3.3. Rheology

##### 3.3.1. Strain sweep oscillatory shear

Strain sweep tests were used to determine the critical strain,  $\gamma_c$  (%), characterizing the extent of the linear viscoelastic response regime. The critical strain was determined from two different classical representations, which gave the same results: the first one from the storage modulus  $G'$  versus imposed strain amplitude curves, and the second one from the stress–strain curve. The values of the critical strain for different agarose concentrations and for 0.2 wt% agarose hydrogels, filled at nanowhiskers volume fractions ranging from 0.013 to 0.2%, are reported in Table 1.

Table 1 shows that the critical strain of the filled hydrogels is slightly lower (1%) than that of the pure agarose hydrogel (4%), suggesting that the filled hydrogel network is slightly more fragile than that of the agarose one. Moreover, contrary to what is observed for pure agarose hydrogels, for which the critical deformation is a power law decreasing function of the concentration,  $\gamma_c \sim C^{-1.4}$ , the results show that the critical strain is hardly dependent on nanowhiskers concentration, at least over the concentration range studied. This result suggests that non-linearity in the rheological behavior of filled hydrogels is primarily due to the non-linear response of the agarose network.

##### 3.3.2. Frequency sweep oscillatory shear

A frequency sweep from 0.01 Hz to 1 Hz has been carried out in the linear regime with pure agarose hydrogels and agarose hydrogels filled with nanowhiskers. Fig. 2(A) shows a typical frequency sweep curve for a 0.2 wt% agarose hydrogel, and Fig. 2(B) for a 0.2 wt% agarose hydrogel filled with 0.13 vol% nanowhiskers.

Fig. 2(A) shows that, for a pure 0.2 wt% agarose gel, the storage modulus  $G'$  is much higher than the loss modulus  $G''$ , and that both viscoelastic moduli are slightly dependent on the frequency, which is characteristic of a solid-like viscoelastic behavior.

The viscoelastic behavior shown in Fig. 2(B) exhibits similarities with that shown in Fig. 2(A), proving that filled hydrogels also exhibit solid-like viscoelastic behavior. Nevertheless, the values of the viscoelastic moduli,  $G'$  and  $G''$ , are about 1 decade higher in the case of the filled hydrogel. Moreover, in Fig. 2(A), there is a slightly marked minimum in the frequency dependence of the loss modulus  $G''$  of the agarose gel, which is reminiscent of weak gel behavior (Gabriele, De Cindio, & D'Antona, 2001). Such a minimum is not present in Fig. 2(B) for the agarose gel filled with 0.13 vol% nanowhiskers. This qualitative difference is a rheological signature of differences in gel structure.

The frequency dependence of viscoelastic moduli being weak, in order to have a better understanding of the influence of the presence of cellulose nanowhiskers in the agarose hydrogels, values of  $G'$  and  $G''$ , and of the loss angle,  $\tan \delta = G''/G'$ , for different agarose and nanowhiskers concentrations, at a fixed frequency of

Table 1

Critical strain for different agarose concentrations and at different nanowhiskers volume fractions, for a 0.2 wt% agarose matrix.

	Agarose concentration $C$ (%)						Nanowhiskers volume fraction $\Phi$ (%)					
	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0	0.013	0.032	0.065	0.13	0.2
$\gamma_c$ (%)	9.5	6	4	3	2.5	1.5	4	2	2	1.5	1	1

**Table 2**  
 Storage modulus  $G'$ , loss modulus  $G''$  and loss angle ( $\tan \delta$ ) at different agarose concentrations and different nanowhiskers volume fractions, for a 0.2 wt% agarose matrix.

	Agarose concentration $C$ (%)						Nanowhiskers volume fraction $\Phi$ (%)					
	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0	0.013	0.032	0.065	0.13	0.2
$G'$ (Pa)	7	30	80	140	180	350	80	200	320	590	940	830
$G''$ (Pa)	1	3	7	15	25	50	7	15	40	60	125	150
$\tan \delta$	0.14	0.1	0.1	0.11	0.14	0.14	0.1	0.08	0.12	0.1	0.13	0.18

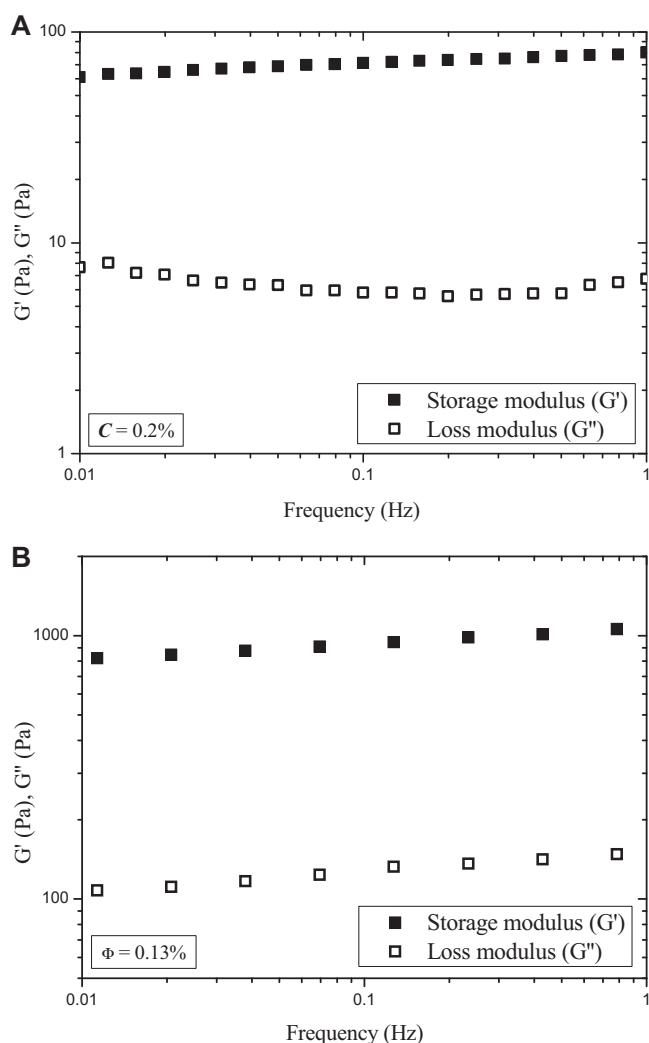
0.1 Hz, were reported in Table 2. These viscoelastic characteristics were also reported in Table 2 for filled 0.2 wt% agarose hydrogels, at different nanowhiskers volume fractions.

It can firstly be seen that increasing the agarose concentration leads to an increase of the storage and loss moduli, showing a strengthening of the hydrogels, in agreement with numerous previous studies on biopolymer gels. At 0.1 Hz, the storage modulus of the agarose gels follows a power law as a function of agarose concentration, with an exponent close to 3 as shown in Fig. 3(A). The data plotted in Fig. 3(A) comply with those plotted in the paper by Tokita and Hikichi (1987):  $G' \sim C^3$ . From these data, these authors have shown that, in the vicinity of the percolation threshold, the exponent of the concentration dependence of  $G'$  rescaled with the critical concentration for percolation was very close to 2, as predicted by scalar percolation theory. However, in our work, we are

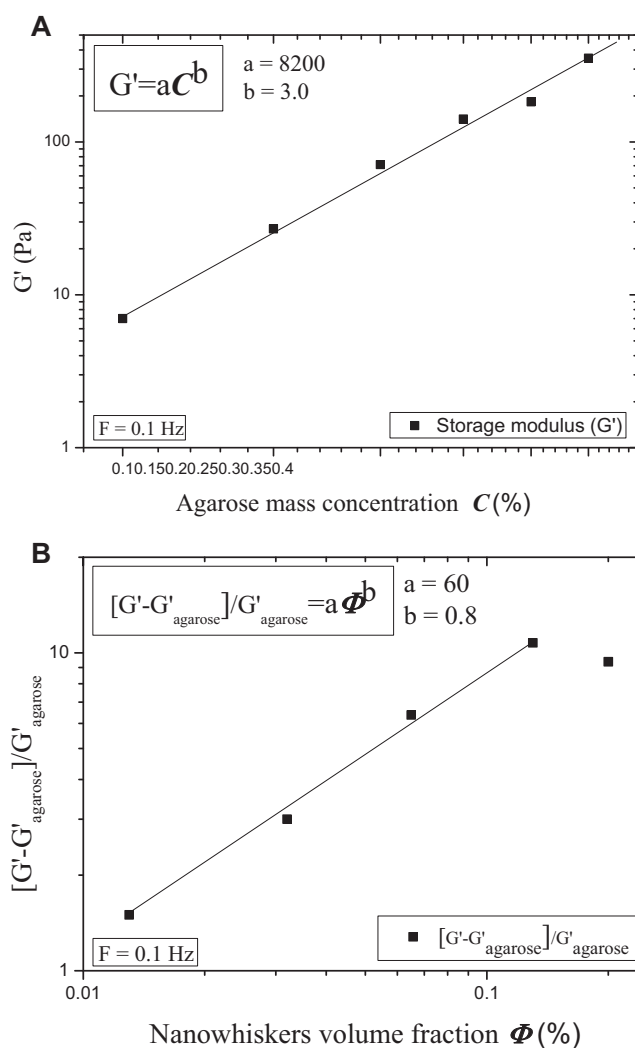
far from the percolation threshold ( $\sim$ one decade higher), and the rescaling with the critical concentration has nearly no effect, so that the exponent of the concentration dependence of  $G'$ , either rescaled or not with the critical concentration for percolation, is close to 3. As suggested by Tokita & Hikichi, this could be due to the change from scalar elasticity percolation (exponent about 2) to vector elasticity percolation (exponent about 3) at concentrations far from the percolation threshold.

Furthermore, Table 2 shows that the loss angle stays roughly constant, which suggests that the global structure of the agarose hydrogel is the same at all concentrations investigated.

Finally, we would like to point out that the relatively low  $G'$  values, in comparison to those found in the literature, are due to the elaboration technique used in this work, for which cooling, which occurs at ambient temperature, is more rapid in



**Fig. 2.** Storage modulus  $G'$  and loss modulus  $G''$  as a function of frequency for (A) a 0.2 wt% agarose hydrogel (B) a 0.2 wt% agarose hydrogel filled with 0.13 vol% nanowhiskers (strain = 1%).



**Fig. 3.** (A) Storage modulus  $G'$  as a function of the agarose mass concentration  $C$  (B)  $(G' - G'_{\text{agarose}}) / G'_{\text{agarose}}$  as a function of the nanowhiskers volume fraction  $\Phi$  for a 0.2 wt% agarose hydrogel, fitting by a power law (frequency = 0.1 Hz).

**Table 3**Gel strength  $S$  and relaxation exponent  $n$  for different mass concentrations of agarose and at different volume fractions of nanowhiskers, for a 0.2 wt% agarose matrix.

	Agarose concentration $C$ (%)						Nanowhiskers volume fraction $\Phi$ (%)					
	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.35	0	0.013	0.032	0.065	0.13	0.2
$S$ (Pa)	3	30	65	125	175	375	65	140	270	480	1015	1150
$n$	0.08	0.07	0.1	0.09	0.2	0.1	0.1	0.1	0.06	0.07	0.06	0.1

comparison to what is performed in other works, where controlled cooling is performed over longer times (Mohammed, Hember, Richardson, & Morris, 1998).

As far as filled hydrogels are concerned, results in Table 2 show that the reinforcement effect due to the addition of cellulose nanowhiskers is quite significant. Indeed, the addition of 0.13 vol% nanowhiskers increases about 12 times the elastic modulus of a 0.2 wt% agarose hydrogel.

In order to study the nanowhiskers contribution to elasticity enhancement, we plotted a scaled storage modulus with respect to agarose, that is  $(G' - G'_{\text{agarose}})/G'_{\text{agarose}}$  as a function of nanowhiskers volume fraction, in Fig. 3(B). The volume fraction dependence of the scaled storage modulus follows a power law with an exponent equal to 0.8, at least for volume fractions up to 0.13%. This result shows that the reinforcement effect is not due to the existence of a tridimensional network formed by the nanowhiskers within this volume fraction domain, but suggests that nanowhiskers strengthen the agarose network by affecting its organization, through topology modifications and/or network connectivity changes, resulting in an increase of the number density of network junctions, which leads to enhanced elastic properties, as predicted by transient network models (Green & Tobolsky, 1946). Besides, it should be noticed that the increase in  $G'$  (reinforcement effect) is accompanied by an increase in the loss angle with nanowhiskers concentration, reflecting an even higher increase of the dissipative phenomena with the addition of nanowhiskers. This could be due to enhanced viscous dissipation induced by water mediated interactions between agarose molecules and cellulose nanowhiskers and/or between nanowhiskers.

The fact that nanowhiskers have a characteristic size larger than the average mesh size of the pure agarose network, but also the method used to prepare filled hydrogels, where agarose molecules are added to a nanowhiskers suspension, might explain why nanowhiskers are able to modify the agarose network structure.

Finally, in the absence of nanowhiskers percolation network, the stress can be assumed to be transferred mostly through individual nanowhiskers/hydrogel matrix interactions. The AFM picture in Fig. 4, which shows individual cellulose nanowhiskers very well dispersed within the agarose matrix, supports this assumption.

However, we would like to point out that the storage modulus of the filled hydrogel with 0.2 vol% nanowhiskers is lower than that obtained with 0.13 vol% nanoparticles. This result, perfectly reproducible, suggests that, from a volume fraction of 0.2%, the nanowhiskers affect in a more extensive way the agarose network organization, leading to a lower connectivity between agarose helices, and therefore to a loss of elasticity.

If we compare with literature, the reinforcement effect induced by addition of cellulose nanowhiskers has been observed with other hydrogels, either made from synthetic polymers (Zhou, Wu, Yue, & Zhang, 2011) or natural ones (Dash et al., 2013). These observations were, however, made in ranges of volume fractions higher than those used in our study (between 1 wt% and 10 wt%). Moreover, it has been shown that the reinforcement effect was even more pronounced as the nanoparticle aspect ratio was higher. Indeed, the study of an epoxy matrix reinforced by nanowhiskers showed that the stress transfer between the matrix and the fillers

was more efficient for tunicate nanowhiskers than for cotton ones (Rusli, Shanmuganathan, Rowan, Weber, & Eichhorn, 2011). Besides, it should be highlighted that the reinforcement effect sometimes occurs at high volume fractions (20 wt%) (Spagnol, Rodrigues, Pereira, Fajardo, & Rubira, 2012b). Finally, it was also shown that the reinforcement effect due to the presence of nanowhiskers is lower than that obtained with synthetic clay nanoparticles, such as Laponites; whose contact area with the matrix is much larger (Kvien, Sugiyama, Votrubec, & Oksman, 2007).

### 3.3.3. Stress relaxation

The stress relaxation results show that for both pure agarose and filled agarose, the time dependence of the relaxation modulus  $G(t)$  can be quite correctly fitted by a decreasing power law (1):

$$G(t) = St^{-n} \quad (1)$$

where  $S$  is the gel strength and  $n$  the relaxation exponent. This type of law is characteristic of the relaxation of a critical gel (Winter & Chambon, 1986). The model originally proposed by Winter and Chambon can be applied each time the gel structure presents self-similarity (or scale invariance), that is the reason why it can describe the viscoelastic behavior of a great number of covalently and physically cross-linked polymer gels (Matsumoto, Kawai, & Masuda, 1992; Michon, Cuvelier, & Launay, 1993; Scalan & Winter, 1991), but also of various rod-like or disk-like particle gels (Cocard, Tassin, & Nicolai, 2000; Reddy, Zhang, Lettinga, Dhont, & Vermant, 2012).

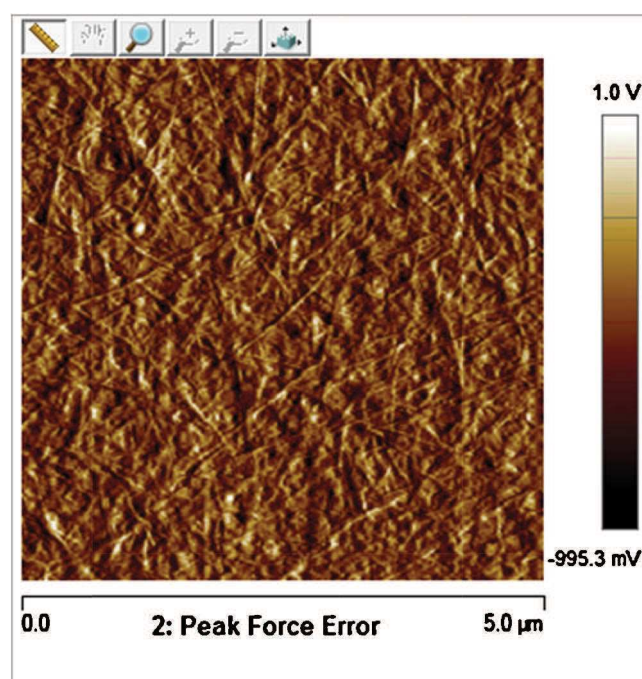


Fig. 4. AFM micrograph of a 0.2-wt% agarose hydrogels filled with 0.13 vol% nanowhiskers.

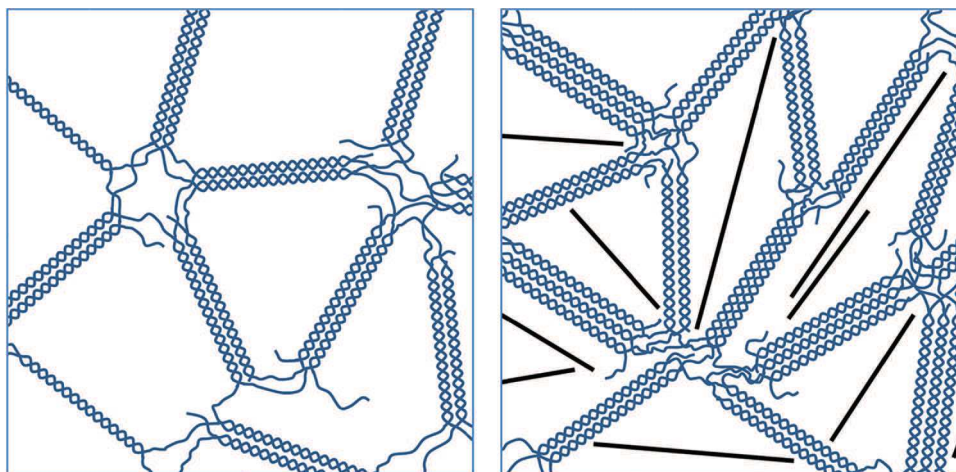


Fig. 5. Schematic illustration of an agarose hydrogel structure (left) and the modification of an agarose hydrogel structure induced by the addition of nanowhiskers at volume fraction less than 0.2% (right).

The values of  $S$  and the relaxation exponent  $n$  for pure agarose and filled agarose hydrogels are shown in Table 3.

Table 3 shows that the relaxation exponent of agarose hydrogels, at the different concentrations studied, is rather low:  $n \sim 0.1$ . In addition, Table 3 shows that the values of the relaxation exponent of the filled hydrogels, at least in the range of volume fractions studied, are very close to those obtained for pure agarose hydrogels.

This result confirms that the agarose gel seems to impose the viscoelastic behavior to the filled systems, as outlined above.

#### 4. Conclusion

The small amplitude oscillatory shear properties of either pure agarose hydrogels or agarose hydrogels filled by tunicate cellulose nanowhiskers have been studied. The results tend to show that the rheological properties of filled hydrogels are governed by the agarose matrix structure, at least at low nanowhiskers volume fractions ( $\Phi < 0.2\%$ ). However, even at these low volume fractions, where nanowhiskers do not percolate, the fillers have a significant reinforcement effect, characterized by an increase of more than one decade of the storage modulus when adding 0.13 vol% nanowhiskers to a 0.2 wt% agarose hydrogel.

Finally, the results of this study suggest that nanowhiskers can modify the agarose network topology and/or connectivity, resulting in a significant reinforcement effect, the stress being transferred mostly through nanowhiskers/hydrogel matrix interactions. Fig. 5 shows a schematic illustration of the modifications of the agarose network structure that could be induced by addition of nanowhiskers at volume fraction less than 0.2%.

#### Acknowledgments

The authors thank Région Bretagne, Région Pays de Loire and GlycoOuest Network for financial support, and Diane Jouanneau for determination of the best preparation protocol for the production of the tunicate cellulose nanowhiskers.

#### References

Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Resaei, M., & Behrooz, R. (2013). Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic fillers. *Food Hydrocolloid*, 32(2), 416–424.

Abdul Khalil, H. P. S., Bhat, A. H., & Ireana Yusra, A. F. (2012). Green composites from sustainable cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 963–979.

Araki, J., Wada, M., Kuga, S., & Okano, T. (1998). Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids and Surfaces A*, 142(1), 75–82.

Bica, C. I. D., Borsali, R., Geissler, E., & Rochas, C. (2001). Dynamics of cellulose whiskers in agarose gels. 1. Polarized dynamic light scattering. *Macromolecules*, 34(15), 5275–5279.

Cocard, S., Tassin, J. F., & Nicolai, T. (2000). Dynamical mechanical properties of gelling colloidal disks. *Journal of Rheology*, 44(3), 585–594.

Cuatrecasas, P. (1970). Protein purification by affinity chromatography derivatizations of agarose and polyacrylamide beads. *Journal of Biology Chemistry*, 245(12), 3059–3065.

Dash, R., Foston, M., & Ragauskas, A. J. (2013). Improving the mechanical and thermal properties of gelatin hydrogels cross-linked by cellulose nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*, 91(2), 638–645.

De Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(7), 771–787.

De Souza Lima, M. M., Wong, J. T., Paillet, M., Borsali, R., & Pecora, R. (2003). Translational and rotational dynamics of rodlike cellulose whiskers. *Langmuir*, 19(1), 24–29.

Dong, X. M., Revol, J., & Gray, D. G. (1998). Effect of microcrystalline preparation conditions on the formation of colloid crystals of cellulose. *Cellulose*, 5(1), 19–32.

Eichhorn, S. J., Dufresne, A., Aranguren, M., Capadona, J. R., Rowan, S. J., et al. (2010). Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their applications in nanocomposites field. *Journal of Materials Science*, 45(1), 1–33.

Favier, V., Chanzy, H., & Cavaille, J. Y. (1995). Polymer nanocomposites reinforced by cellulose whiskers. *Macromolecules*, 28(18), 6365–6367.

Gabriele, G., De Cindio, B., & D'Antona, P. (2001). A weak gel model for foods. *Rheologica Acta*, 40(2), 120–127.

Gómez Martínez, D., Stading, M., & Hermansson, A. M. (2013). Viscoelasticity and microstructure of a hierarchical soft composite based on nano-cellulose and  $\kappa$ -carrageenan. *Rheologica Acta*, 52(10–12), 823–831.

Goussé, C., Chanzy, H., Excoffier, G., Soubeyrand, L., & Fleury, E. (2002). Stable suspensions of partially silylated cellulose whiskers dispersed in organic solvents. *Polymer*, 43(9), 2645–2651.

Green, M. S., & Tobolsky, A. V. (1946). A new approach to the theory of relaxing polymeric media? *The Journal of Chemical Physics*, 14(2), 80–92.

Habibi, Y., Goffin, A. L., Schiltz, N., Duquesne, E., Dubois, P., et al. (2008). Bionanocomposites based on poly(epsilon-caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization. *Journal of Materials Chemistry*, 18(41), 5002–5010.

Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479–3500.

Khan, A., Khan, R. A., Salmieri, S., Tien, C. L., Riedl, B. J., et al. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1601–1608.

Kvien, I., Sugiyama, J., Votrubeck, M., & Oksman, K. (2007). Characterization of starch based nanocomposites. *Journal of Materials Science*, 42(19), 8163–8171.

Matsumoto, T., Kawai, M., & Masuda, T. (1992). Viscoelastic and SAXS investigation of fractal structure near the gel point in alginate aqueous systems. *Macromolecules*, 25(20), 5430–5433.

Michon, C., Cuvelier, G., & Launay, B. (1993). Concentration dependence of the critical viscoelastic properties of gelatin at the gel point. *Rheologica Acta*, 32(1), 94–103.

Mohammed, Z. H., Hember, M. W. N., Richardson, R. K., & Morris, E. R. (1998). Kinetic and equilibrium processes in the formation and melting of agarose gels. *Carbohydrate Polymers*, 36(1), 15–26.

Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W., & Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 27–46.



- Pines, E., & Prins, W. (1973). Structure–property relations of thermoreversible macromolecular hydrogels. *Macromolecules*, 6(6), 888–895.
- Reddy, N. K., Zhang, Z. Z., Lettinga, M. P., Dhont, J. K. G., & Vermant, J. (2012). Probing structure in colloidal gels of thermoreversible rodlike virus particles: Rheology and scattering. *Journal of Rheology*, 56(5), 1153–1174.
- Rochas, C., Hecht, A. M., & Geissler, E. (1999). Scattering properties of agarose gels. *Macromolecular Symposia*, 138(1), 157–163.
- Roohani, M., Habibi, Y., Belgacem, N. M., Ebrahim, G., Karimi, A. N., et al. (2008). Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. *European Polymer Journal*, 44(8), 2489–2498.
- Rusli, R., Shanmuganathan, K., Rowan, S. J., Weber, C., & Eichhorn, S. J. (2011). Stress transfer in cellulose nanowhisker composites – influence of whisker aspect ratio and surface charge. *Biomacromolecules*, 12(4), 1363–1369.
- Samir, M. A. S. A., Alloin, F., & Dufresne, A. (2005). Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their applications in nanocomposites field. *Biomacromolecules*, 6(2), 612–626.
- Scalan, J. C., & Winter, H. H. (1991). Composition dependence of the viscoelasticity of end-linked poly(dimethylsiloxane) at the gel point. *Macromolecules*, 24(1), 47–54.
- Spagnol, C., Rodrigues, F. H. A., Neto, A. G. V. C., Pereira, A. G. B., Fajardo, A. R., et al. (2012). Nanocomposites based on poly(acrylamide-co-acrylate) and cellulose nanowhiskers. *European Polymer Journal*, 48(3), 454–463.
- Spagnol, C., Rodrigues, F. H. A., Pereira, A. G. B., Fajardo, A. R., Rubira, A. F., et al. (2012). Superabsorbent hydrogel nanocomposites based on starch-g-poly(sodium acrylate) matrix filled with cellulose nanowhiskers. *Cellulose*, 19(4), 1225–1237.
- Sparks, D. L., & Phillips, M. C. (1992). Quantitative measurement of lipoprotein surface charge by agarose gel electrophoresis. *Journal of Lipid Research*, 33(1), 123–130.
- Sturcova, A., Davies, G. R., & Eichhorn, S. J. (2005). Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers. *Biomacromolecules*, 6(2), 1055–1061.
- Sugiyama, J., Rochas, C., Turquois, T., Taravel, F., & Chanzy, H. (1994). Direct imaging of polysaccharide aggregates in frozen aqueous dilute systems. *Carbohydrate Polymers*, 23(4), 261–264.
- Tako, M., & Nakamura, S. (1988). Gelation mechanism of agarose. *Carbohydrate Research*, 180(2), 277–284.
- Tokita, M., & Hikichi, K. (1987). Mechanical studies of sol–gel transition: Universal behavior of elastic modulus. *Physical Review A*, 35(10), 4329–4333.
- Winter, H. H., & Chambon, F. (1986). Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point. *Journal of Rheology*, 30(2), 367–382.
- Yang, J., Han, C. R., Duan, J. F., Ma, M. G., Zhan, X. M., et al. (2013). Synthesis and characterization of mechanically flexible and tough cellulose nanocrystals–polyacrylamide nanocomposite hydrogels. *Cellulose*, 20(1), 227–237.
- Zhou, C., Wu, Q., Yue, Y., & Zhang, Q. (2011). Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels. *Journal of Colloid and Interface Science*, 353(1), 116–123.

# **Etude des propriétés rhéologiques et structurales d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose**

## **Résumé :**

La cellulose est l'une des bio-ressources les plus abondantes sur terre ; elle forme des microfibrilles où alternent régions cristallines, de taille nanométrique, et régions amorphes. L'utilisation des nanocrystallites de cellulose, appelés nanowhiskers, comme renforts dans des composites à matrice polymère thermoplastique a fait l'objet de nombreuses publications. En revanche, l'utilisation de nanowhiskers comme éléments structurants d'hydrogels n'a pas été vraiment explorée, en dépit d'un intérêt potentiel pour la formulation d'hydrogels verts innovants. L'objectif de la thèse était d'étudier les relations entre état structural à différentes échelles et propriétés rhéologiques de systèmes hydrocolloïdaux constitués d'hydrogels d'agarose chargés de nanowhiskers de cellulose issus de tunicier, un animal marin.

Les travaux expérimentaux menés au cours de cette thèse ont montré que l'effet renfort apporté par les nanowhiskers à la matrice agarose pouvait être marqué, et qu'il pouvait être modulé en faisant varier la densité de charges électriques à la surface des nanowhiskers. Aux fractions volumiques étudiées, inférieures à 0,2%, les résultats ont montré que les nanowhiskers ne percolaient pas et l'effet renfort a été attribué à des modifications topologiques du réseau d'agarose, et à un transfert des contraintes efficace entre la matrice et les charges, qui interagissent via des liaisons hydrogène.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse permettent d'améliorer la connaissance des mécanismes qui gouvernent les propriétés renfort apportées par l'ajout de nanocharges cellulosiques à une matrice hydrogel, et donnent des pistes réalistes pour une formulation maîtrisée d'hydrogels verts innovants ayant de bonnes propriétés mécaniques.

**Mots-clés :** Hydrogel, agarose, nanowhiskers de cellulose, rhéologie, structure, effet renfort.

## **Rheological and structural study of agarose hydrogels filled by cellulose nanowhiskers**

### **Abstract :**

Cellulose is the most abundant organic compound on Earth; it is composed of microfibrils, containing nanocrystalline regions, and amorphous regions. Cellulose nanocrystallites, called nanowhiskers, have been studied as reinforcement agents in polymer composites with thermoplastic matrix in numerous publications. However, the use of nanowhiskers to reinforce hydrogels has not really been explored up to now, despite potential interest in the formulation of green innovative hydrogels. The aim of this PhD thesis was to study the relationship between the structural state, on different length scales, and the rheological properties of hydrocolloid systems consisting of agarose hydrogels filled by cellulose nanowhiskers from tunicate, a marine animal.

The experimental work performed in this thesis has shown that the reinforcing effect provided by the nanowhiskers could be marked, and could also be modulated by varying the density of electrical charges on the surface of nanowhiskers. Within the volume fraction range studied, that is less than 0.2%, the results have shown that the nanowhiskers could not percolate, and reinforcement effect was attributed to topological modifications of the agarose network, and to an efficient stress transfer between the matrix and the fillers, which interact via hydrogen bonds.

The results obtained in this thesis improve the understanding of the mechanisms that govern the reinforcement effect provided by the addition of cellulose nanofillers in a hydrogel matrix; they could also help to design innovative green hydrogels having good mechanical properties.

**Keywords :** Hydrogels, agarose, cellulose nanowhiskers, rheology, structure, reinforcement effect.