

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF-1

THESE

Présentée à la faculté de Technologie
Département de " Génie des Procédés "
pour l'obtention de diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Option : génie des polymères

Par

M^{elle} **CHAIBI SAMIRA**

THEME

**IMPACT DE LA RETICULATION PHYSIQUE
ET /OU CHIMIQUE SUR LES
PROPRIETES MICROSTRUCTURALES
DE FILMS A BASE DE GELATINE**

Soutenu le : 19 Janvier 2016
Devant la commission d'examen

Mr.N.CHELALI	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj	Président
Mr.D.BENACHOUR	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Encadreur
Mme.M.MERBAH .ELKOLLI	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Co-encadreur
Mlle.R. DOUFNOUNE	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Examinatrice
Mr. B. DJALLEL	Professeur	E.N.P. Constantine	Examineur
Mr.M. DJENNAD	Professeur	Université de Mostaganem	Examineur
Mme. M .E.CAGIAO	Docteur	ISIC, Madrid, Espagne	Invitée

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF-1

THESE

Présentée à la faculté de Technologie
Département de " Génie des Procédés "
pour l'obtention de diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Option : génie des polymères

Par

M^{elle} **CHAIBI SAMIRA**

THEME

**IMPACT DE LA RETICULATION PHYSIQUE
ET /OU CHIMIQUE SUR LES
PROPRIETES MICROSTRUCTURALES
DE FILMS A BASE DE GELATINE**

Soutenu le : 19 Janvier 2016
Devant la commission d'examen

Mr.N.CHELALI	Professeur	Université de Bordj Bou Arreridj	Président
Mr.D.BENACHOUR	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Encadreur
Mme.M.MERBAH .ELKOLLI	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Co-encadreur
Mlle.R. DOUFNOUNE	Professeur	Université Ferhat ABBAS Sétif-1	Examinatrice
Mr. B. DJALLEL	Professeur	E.N.P. Constantine	Examineur
Mr.M. DJENNAD	Professeur	Université de Mostaganem	Examineur
Mme. M .E.CAGIAO	Docteur	ISIC, Madrid, Espagne	Invitée

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire des Matériaux Multiphasiques (LMPMP) de la Faculté de Technologie, Université Ferhat ABBAS –Sétif-1.

Je tiens à exprimer mes remerciements à mon directeur de recherche Pr.Djafer BENACHOUR, pour sa compétence et sa rigueur scientifique ; et pour m'avoir accordée son appui et sa confiance tout au long de ces années et de m'avoir permis ainsi d'assumer la responsabilité entière d'accomplir ce travail de thèse en toute liberté, sans aucune contrainte. Ceci fut une grande source de motivation pour moi.

Je tiens également à remercier mon co-rapporteur Pr, Madame MERBAH ELKOLLI-Meriem, pour avoir pensé à moi pour ce projet de thèse et pour ses encouragements de près ou de loin, pour ses compétences scientifiques dont j'avais bénéficié durant la période de la préparation de ma thèse de Magistère et qui étaient un appui et une source d'inspiration et de motivation qui m'avaient aidée à atteindre l'objectif de ce long travail .

Je tiens également à présenter mes vifs remerciements au Professeur N.CHELALI d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury.

J'adresse également mes remerciements aux Professeurs : R.DOUFNOUNE, M.DJENNAD et B.DJALLEL de m'avoir honorée de leur présence et de l'intérêt qu'ils ont accordé à la lecture de cette thèse. Qu'ils me permettent de leur exprimer ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier plus particulièrement nos collaborateurs Madame la Directrice de Recherche Maria Esperanza.Cagiao et Monsieur le Pr .Francisco Balta-Calleja, qui n'ont pas cessé une minute de m'aider et de m'encourager avec tout ce qu'ils pouvaient faire, soit scientifiquement soit moralement durant les moments les plus propices. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude. Je ne dois pas oublier aussi tout le personnel de l'institut de la structure de la matière, notamment ceux de la Division de Physique Macromoléculaire du CSIC (Madrid), pour leur orientation et l'accueil sympathique lors de mon séjour en Espagne.

Pour leur patience, leur gentillesse, leur soutien et leur aide précieuse, je tiens à remercier les collègues, F.CHEBIRA ; F.RIAHI et plus particulièrement Melle R. DOUUFNOUNE pour son aide, ses précieux conseils et pour ses compétences scientifiques assez particulières.

Je tiens à souligner aussi la contribution, le soutien et l'aide de l'ensemble du personnel du Département « Génie des Procédés » de la Faculté de Technologie ainsi que de celui de mes collègues de la Faculté de Médecine.

Enfin, je ne dois surtout pas oublier le soutien moral indéfectible de mes parents, de mes frères et de mes sœurs qui n'ont jamais cessé de m'encourager.

DEDICACES

*Mes vifs remerciements à mes très chers
parents*

A mes sœurs et frères

A mes Beaux frères

A mes Belles sœurs

A mes nièces et mes neveux

*Plus particulièrement à ma très chère
nièce et adorable **ALIA MIRA**.*

A mes amis (es).

SOMMAIRE

Liste des abréviations utilisées	vi
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	xiii
Liste des schémas	xiv

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I

Revue générale sur la gélatine 5

I.1 Les polymères naturels 8

I.2 Le Collagène 10

I.2.1 La gélification du collagène (Transition sol-gel) 10

I.2.2 Formation de la gélatine 10

I.3 La gélatine 10

I.4 Technologie et production de la gélatine 11

I.4.1 Matières premières 11

I.4.2 Procédés de fabrication 12

I.4.2.1 L'acidulation 12

I.4.2.2 Le prétraitement 12

I.4.2.3 Les traitements 12

a) Le traitement alcalin et chaulage 13

b) Le traitement acide 13

I.4.2.4 La cuisson 13

I.4.2.5 Du jus de cuisson à la gélatine commercialisée 14

I.5 Le contrôle de laboratoire et normalisation	16
I.6 Structure et composition chimique de la gélatine	20
I.7 Conformation de la gélatine	20
I.8 Les principales propriétés de la gélatine	21
I.8.1 Le point isoélectrique	21
I.8.2 La solubilité	21
I.8.3 La viscosité	22
I.8.4 La rigidité du gel	23
I.8.5 Force en gel ou pouvoir gélifiant	24
I.8.6 La modification chimique de la gélatine	25
I.8.6.1 La réactivité de la gélatine	25
I.8.6.2 Réactivité des groupements NH₂	27
I.8.6.3 Réactivité des groupements –COOH	27
I.9 Applications de la gélatine	29
a) Applications générales	29
b) Applications Thérapeutiques de la gélatine	30

CHAPITRE II

Les gels polymériques et les différentes réactions de réticulation	32
II.1 Généralités	32
II.2 Définition des gels	32
II.3 Classification des gels	32
II .3.1 Les gels physiques	34
II.3.2 Les gels chimiques	34
II.3.3 Exemple de gel : l'hydrogel à base gélatine	35

II.3.3.1 Utilisations communes des hydrogels	35
II.3.3.2 Utilisations moins communes	35
II.4 Les principales réactions de réticulation	36
II.4.1 La réticulation par la présence de groupements fonctionnels	36
II.4.2 La réticulation par irradiation	37
II.4.3 La photo-réticulation	37
II.4.4 La réticulation thermique	39
CHAPITRE III	
Caractérisation des films à base de gélatine	41
III.1 Les différentes méthodes d'analyses de traitement thermique	41
III.2. Calorimétrie différentielle à balayage / DSC	41
III.3 La méthode de la Microdureté	47
III.3.1 Essai de la dureté Vickers (Hv)	47
III.4 Les avantages de la méthode	50
CHAPITRE IV	
Préparation et caractérisation des différents films à base de gélatine	51
IV.1 Matériaux	51
IV.2 Préparation de films de gélatine	52
IV .2.1 Plastification des films	52
IV.2.2 Réticulation des films	52
IV.2.3 Evaluation du degré de réticulation	53
IV.2.4 Méthode de dosage des protéines	53

IV.3 Méthodes de caractérisation des films de gélatine	55
IV.3.1 Détermination des propriétés mécaniques	55
IV.3.2 Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)	55
IV.3.3 Caractérisation par Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC)	56
IV.3.4 Analyse par diffraction des rayons X (DRX)	56
IV.3.5 Caractérisation par Microdureté	56
CHAPITRE V	
RESULTATS ET DISCUSSIONS	57
V.I Préambule	57
V.2 Essais de Traction	58
V.2.1 L'effet du GTA sur la variation de la contrainte à la rupture σ_r des différents films étudiés	58
V.2.2 l'effet de l'addition des additifs et de l'agent de réticulation sur la contrainte à la rupture σ_r	60
V.3 Réaction des groupes ε-amino des différents films de gélatine avec le TNBS en absence et en présence de GTA	61
V.3.1 Dosage des protéines	61
V.3.2 Variation des propriétés mécaniques en tension avec le degré de réticulation	63
V.3.2.1 Effet de la concentration de l'agent réticulant sur le module d'élasticité E des films modifiés et non modifiés	64
V.3.2.2 Effet du degré de la réticulation χ_c sur le module E pour les deux types de formulation gélatine (GEL) pure et gélatine (MGEL) modifiée (MGEL)	65
V.4 Modification et réticulation des différents films à base de gélatine	70
V.5 Analyse Spectrophotométrique IRTF	72
V.6 Microdureté, comportement thermique et cristallinité	80
V.6.1 l'Effet du type de plastifiant et de l'agent de réticulation	80
V.6.2 Effet de la concentration de l'agent réticulant sur la	81

microdureté pour les films modifiés et non modifiés	
V.6.3 Corrélation entre le degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et la cristallinité α_{DSC}	87
V.6.4 Corrélation entre le degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et les propriétés mécaniques en tension (E , σ_r , ε_r et w_r) en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation (gélatine pure et gélatine modifiée)	91
V.7 Détermination de la teneur en eau et les différents types d'eau	97
CONCLUSION GENERALE	101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	103
ANNEXES	

LISTE DES ABREVIATIONS

GLY	glycérol
PVA	Poly(vinyl alcool)
GTA	Glutaraldéhyde
TNBS	Acide 2.4.6 trinitrobenzènesulfonique
NaCMC	Sodium carboxyméthylcellulose
H	Dureté
MPa	Méga pascal
MEC	Matrice extra cellulaire
PI	Point isoélectrique
PEGD	Poly (éthylène glycol) Dialdéhyde
EDTAD	Ethylènediaminetétracétique Dialdéhyde
SCMC	Carboxyméthylcellulose succinide
NaHCO ₃	Bicarbonate de Sodium
HCl	Acide Clohydrique
N _ε	Nombre de groupement amino
χ _c	Taux de réticulation
SF	Fibres de soie
NaCNBH ₃	Ciano Borohydrure de Sodium
GI	Gélatine coated polyimide
TGase	Transglutaminase (enzyme)
IPN	Réseau de polymère interpénétré
IP	Polyimide
AFB	Acide 4-azide (-2,3,4,5,6 Tétrafluorobenzoïque)

GEL

Gélatine pure

MGEL

Gélatine modifiée

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I.1:** Comparaison des compositions types en acides aminés des gélatines de type A, de type B et du collagène; exprimées en résidus pour 1000 résidus d'acides aminés.
- Tableau I.2:** Exemples de Blooms par application
- Tableau I.3:** Bilan mondial de la production en gélatine (million de tonnes par année)
- Tableau II.1** Différents types de gels
- Tableau II.2:** Classification des différents types de réticulation des gels polymériques
- Tableau IV.1:** Agents de réticulation, plastifiants, additifs et autres agents chimiques utilisés pour la préparation des films.
- Tableau V.1:** caractérisation des différents films étudiés en fonction de leurs compositions
- Tableau V.2 :** Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) des films de gélatine en fonction de leur composition.
- Tableau V. 3:** Nombre des groupes ε -amino ayant réagit avec le TNBS, en absence de GTA, pour la gélatine pure et pour les différentes formulations étudiées à base de gélatine
- Tableau V.4:** Effet de [GTA] (0.05%) sur le nombre N_ε des groupes ε -amino ayant réagi avec le TNBS
- Tableau V.5:** Effet de la variation de la concentration de l'agent réticulant (GTA) sur le Module (E) des films de gélatine (GEL) pure et modifiée (MGEL)
- Tableau V.6:** Effet du degré de la réticulation χ_c sur le module E pour les deux types de formulation (GEL) pure et (MGEL) modifiée
- Tableau V.7 :** Effet du type de plastifiant et de l'agent de réticulation sur la Microdureté

(H), les caractéristiques de fusion (T_m and ΔH_m) et la cristallinité (α_{DSC}) de la gélatine pure et des films réticulés pour une concentration de 1.5 % GTA.

Tableau V. 8 : Effet de la variation de la concentration de l'agent réticulant (GTA) sur la Microdureté (H) des films de (GEL) pure et modifiée (MGEL)

Tableau V.9 : Effet de la variation de la concentration (GTA) sur les propriétés thermiques (T_m and ΔH_m) et sur la cristallinité (α_{DSC}) des films de (GEL) pure et modifiée (MGEL)

Tableau V.10 : Variation du degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et les propriétés mécaniques en tension (E , σ_r , ε_r et w_r) en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation

Tableau V.11 : Teneur en eau contenue dans la gélatine et le collagène

Tableau V.12: Variation en (%) de la teneur en eau des films de F.I et F.IV en absence et en présence du GTA à 1,5% à $T = 120^\circ\text{C}$

LISTE DES FIGURES

- Figure I.1 :** Schéma illustrant un hydrogel injectable comme méthode de régénération des tissus.
- Figure I.2:** Caractérisation du scaffold à base de gélatine dans un milieu aqueux
- Figure I.3 :** Architecture poreuse du scaffold à base de gélatine à différents temps sous l'effet de la dégradation hydrolytique (PBS, pH 7.4. 37°C°)
- Figure I.4 :** Schéma représentatif de la structure de la molécule du procollagène
- Figure I.5 :** Les différents types de gélatine
- Figure I.6 :** Différents types de production de la gélatine
- Figure I.7 :** Charge de la gélatine de type A et B en fonction du pH
- Figure I.8 :** Variation de la viscosité de la gélatine en fonction de la concentration
- Figure I.9 a:** Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction de la concentration
- Figure I.9 b :** Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction du pH
- Figure I.9 c :** Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction du temps
- Figure I.10 :** Exemple de réticulation physique
- Figure 1.11 :** Schéma représentant l'architecture de la molécule du réseau de l'hydrogel en formant des jonctions qui peuvent mener à une réticulation chimique ou physique
- Figure I.12:** Représentation de la chaîne de la gélatine
- Figure I.13 :** Préparation des hydrogels réticulés à base de gélatine par une oxydation partielle du dextran
- Figure II.1 :** Les différents gels physiques réticulés par liaisons intermoléculaires
- Figure II.2 :** Gélatine modifiée par le PEG dialdéhyde et EDTAD

- Figure II.3 :** Schéma d'une réaction probable des interactions entre SCMC, la gélatine et le glutaraldéhyde avec SCMC-gélatine un complexe
- Figure II.4 :** mécanisme de la réaction de réticulation de la gélatine et de la soie synthétisée en présence de TGase
- Figure II.5 :** Schémas de la réaction pour l'immobilisation de la gélatine sur la surface du PI en utilisant l'ester de succinimidyl du AFB
- Figure II.6:** Schémas représentant la synthèse de la gélatine méthacrylate (GelMA), GelMA-SF composite semi-IPN et IPN hydrogels.
- Figure II.7 :** Synthèse de la gélatine-dérivée des surfactants modifiée avec polyoxyéthylène
- Figure III.1:** Thermogramme DSC d'un polymère semi-cristallin
- Figure III.2:** Figure illustrant un thermogramme DSC avec les différentes températures et enthalpies (pics) de transition du poly(éthylène téréphtalate), PET
- Figure III.3 :** Schéma illustrant la préparation de l'échantillon et la mesure de la dureté par la méthode Vickers.
- Figure III.4 :** Indentation Vickers
- Figure IV. 1 :** Réaction de l'acide 2,4,6-trinitrobenzenesulfonique avec les groupements ϵ -amino primaires d'une protéine en milieu alcalin
- Figure V.1 :** Courbes contrainte – Déformation des films étudiés
- Figure V.2:** Variation de la contrainte à la rupture en fonction de la teneur en [GTA] pour les différentes formulations

- Figure V.3:** Variation du degré de réticulation en fonction de la concentration de GTA pour les formulations FI et FIV.
- Figure V. 4 :** Variation du module d'élasticité E en fonction de la variation de la concentration de GTA des films de gélatine modifiés par (GLY/PVA/GTA) et des films non modifiés (GEL)
- Figure.V 5.a,b :** Correlation entre le degré de réticulation χ_c et le module E pour les films non modifiés et les films modifiés
- Figure V.6 :** Spectre IFTR de (a) PVA, (b) gélatine et (c) mélange gélatine /PVA.
- Figure V.7 :** Spectre IFTR de (a) Gélatine (a), (b) Glycérol et (c) du mélange Gélatine/Glycérol.
- Figure V.8:** Spectres IFTR des mélanges (a) gélatine/glycérol et (b) gélatine/glycérol/PVA
- Figure V.9:** Spectre IFTR des mélanges (a) gélatine/glycérol /P (b) gélatine/ glycérol /PVA) /GTA respectivement.
- Figure V.10:** Variation de la microdureté H en fonction de la concentration de GTA pour les films modifiés (GEL/GLY/PVA) et les films non- modifiés (GEL).
- Figure V.11:** Variation la cristallinité α_{DSC} en fonction de [GTA] pour les films modifiés (GEL/GLY/PVA) et non modifiés (GEL).
- Figure V.12.a,b :** Correlation entre le degré de réticulation χ_c et la Microdureté H pour les films non modifiés et les films modifié
- FigureV.13.a,b :** Correlation entre le degré de réticulation χ_c et le taux de cristallinité α_{DSC} pour les films non modifiés et les films modifiés

Figure V.14 a,b : Corrélation entre le degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et le Module (E) en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation

Figure V.15 : Variation de la contrainte à la rupture σ_r en fonction de la variation de la concentration de GTA des films de gélatine modifiés par (GLY/PVA/GTA) et des films non modifiés (GEL)

Figure V.16.a,b : Correlation entre le degré de réticulation χ_c et la contrainte à la rupture σ_r pour les films non modifiés et les films modifiés

Figure V.17a, b : Variation du degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et la contrainte à la rupture σ_r en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation

LISTE DES SCHEMAS

- Schéma I.1 :** Représentation de la molécule de gélatine selon la convention de Lewis
- Schéma I.2 :** Formule chimique générale des acides aminés
- Schéma I.3 :** Formation de la liaison peptidique
- Schéma I.4 :** la structure chimique de la glycine (Gly), proline (Pro) et l'hydroxyprolyne (Hyp)
- Schéma I.5 :** Composition classique de la gélatine
- Schéma I.6 :** Hélice α gauche
- Schéma V.1 :** Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre les groupes NH_2 et les groupes OH du ou le Glycérol
- Schéma V.2 :** Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre le groupe ($\text{C}=\text{O}$) du groupement COOH de la gélatine et le groupe OH du PVA ou le Glycérol
- Schéma V.3 :** Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre le groupe (OH) des groupements de COOH de la gélatine et les groupes OH du PVA ou du Glycérol .
- Schéma V.4 :** Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre les groupes NH_2 et COOH de la gélatine et les groupes OH du PVA et du Glycérol.
- Schéma V.5 :** Réaction de réticulation chimique induite par l'interaction entre les groupes NH_2 de la gélatine et les groupes CHO du Glutaraldéhyde
- Schéma V.6 :** Réaction de réticulation chimique induite par les groupes NH_2 de la gélatine et les groupes CHO du Glutaraldéhyde et les groupes OH du PVA ou du Glycérol

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

De nos jours, pour traiter des plaies de brûlures, des lésions traumatiques, des ulcères de diabète et de veine, il est recommandé d'utiliser un agent de cicatrisation rapide et propre, qui agirait comme protection de la surface de la peau vis à vis des pertes de fluides et de protéines, prévenant ainsi l'infection et permettant de faire face à l'invasion bactérienne et les endommagements subséquent des tissus.

Durant les deux dernières décennies, il y'a eu une activité scientifique intense dans ce domaine : un très grand nombre de groupes de chercheurs ont travaillé sur la synthèse et la modification des matériaux biocompatibles, afin d'obtenir des matériaux efficaces pour la cicatrisation des plaies [1]. De tels produits sont capables de stimuler la régénération des tissus, de ralentir la contraction de la plaie et de protéger les « lits de la blessure des effets externes indésirables ».

La gélatine est un produit très disponible, obtenu à partir de ressources naturelles d'origine animale ; elle consiste en des chaînes de résidus d'acides aminés, de proportion et de distribution variables le long d'un squelette macromoléculaire [2]. La gélatine est connue aussi comme un produit mou et poreux, ne possédant pas d'anticorps, à cause de sa capacité d'absorption élevée qui empêche l'accumulation des fluides (composés exsudés lors des blessures) ; ainsi les débris des cellules sont absorbés et retenus à l'intérieur des hydrogels à base de gélatine modifiée [1]. En plus, la gélatine est considérée comme un polymère biocompatible. Toutes ces caractéristiques la rendent un candidat potentiel dans la fabrication des films hémostatiques et cicatrisants. Par exemple, les pansements à base de gélatine pure mélangée par le sodium carboxyméthyle cellulose (NaCMC) sont commercialement disponibles [3]. En outre, la gélatine a été largement utilisée pour la préparation des hydrogels pour l'ingénierie tissulaire [4,5].

D'autres utilisations récentes de la gélatine concernent la préparation des films biodégradables, exemple du mélange gélatine /chitosan) [6] ou l'obtention des films à base de gélatine comestible (de grade alimentaire) [7].

Les aldéhydes, tel que le glutaraldéhyde, réagissent avec les protéines à travers un mécanisme de réticulation [8], et la réticulation de la gélatine par les aldéhydes (formaldéhyde, glutaraldéhyde) est bien documentée dans la littérature [9,10]. La réticulation résulte essentiellement de la formation d'une base de Schiff par condensation de groupes formyl des aldéhydes avec les groupes ϵ -amino présents dans les résidus de la lysine et de l'hydroxylysine. Une telle réaction peut se produire avec un rendement élevé même à la température ambiante [2]. La réticulation ainsi introduite apporte une meilleure résistance mécanique tout en augmentant la résistance thermique ; elle induit aussi à une diminution de l'hydrosolubilité de la gélatine [11,12].

La transglutaminase d'origine microbienne, seule [13] ou en présence de la glycérine [14], a été aussi utilisée pour la réticulation de la gélatine. D'autres réactions de réticulation ont utilisé la gélatine comme mélange avec d'autres additifs tels que l'éthylhexyl acrylate, le poly (vinyl alcool), etc.), réactions suivies par irradiation gamma ou faisceau d'électrons. Ces recherches induisent à une amélioration des propriétés mécaniques et de mettre une barrière à l'eau due aux propriétés résultant des produits biodégradables [15,16].

Le test mécanique est considéré comme un test simple pour la mesure des propriétés mécaniques des produits très fins. Le comportement de la micromécanique des polymères et sa corrélation à la nanostructure et la morphologie, a été discutée en détails dans la littérature [17,18]. Le test de la microindentation a, en plus, une extrême sensibilité concernant le changement structurel dans les phases amorphe et cristalline des produits polymériques [19].

Pour la plupart des polymères synthétiques commerciaux, les valeurs de H de la microdureté se situent dans un intervalle de 100-250 MPa. Des films de gélatine pure, conditionnés à la température ambiante, contenant environ 15% d'eau, présentent des valeurs de H relativement élevées (au dessus de 200 MPa). Toutefois, il a été reporté que des échantillons de gélatine, réticulés en présence du formaldéhyde et chauffés entre 130°C et 160°C, exhibaient des duretés aussi élevées que 390 MPa [20,23]. Bien plus, lorsque les films de gélatine sont préchauffés selon une méthode particulière puis soumis à plusieurs cycles et le chauffage entre 100-190 jusqu'à 250°C, les valeurs de H augmentent jusqu'à atteindre 630 MPa [21]. Cependant, malgré des valeurs de H élevées qu'ils peuvent atteindre, les films de gélatine sont très fragiles (cassants). Aussi, il s'est avéré nécessaire de modifier la gélatine par différentes méthodes : séchage, plastification et réticulation (aussi bien physique que chimique) afin d'améliorer les propriétés mécaniques des films à base de gélatine et de les rendre plus manipulables [23]. La modification de la gélatine induit aussi une amélioration de la résistance thermique ainsi que des changements structuraux. Ces effets résultent de la présence des différents groupes chimique présents dans la gélatine, principalement (-NH₂, OH, -COOH) qui sont capables de réagir avec les additifs (plastifiants et autres) et qui induisent à la formation des réseaux interpénétrés chimiques et physiques [23,25].

Afin de diminuer la fragilité des films à base de gélatine, l'incorporation des agents plastifiants comme le glycérol, le poly (vinyl alcool) ou le poly (éthylène glycol) a été reportée [12, 26,27]. Cependant, les films plastifiés ainsi obtenus montrent une faible résistance thermique et une grande hydrosolubilité ... Aussi, et en vue d'obtenir des films de gélatine avec une balance entre des propriétés mécaniques et des propriétés thermiques et de solubilité adéquates, il a été envisagé de combiner l'effet de la plastification et celui de la réticulation.

Dans ce but, deux agents plastifiants (glycérol GLY et alcool polyvinylique, PVA) et un agent réticulant (gluttraldéhyde, GTA) ont été utilisés pour modifier la gélatine. Les films à base de gélatine ainsi modifiée ont été caractérisés par FTIR, DSC, XRD, essais mécaniques (traction et microdureté).

Des corrélations entre les propriétés microstructurales, le degré de réticulation et la composition des films ont été établies.

Une formulation optimale Gélatine/Plastifiant1/Plastifiant2/Réticulant a été proposée vis à vis des propriétés mécaniques, thermiques et d'hydrosolubilité.

CHAPITRE I

REVUE GENERALE SUR LA GELATINE

I. Revue générale sur la gélatine

I.1 Polymères naturels :

Dans l'objectif d'améliorer la biocompatibilité des matériaux, les polymères, d'origine naturelle ou synthétique offrent des caractéristiques parfaitement adaptées à l'ingénierie tissulaire. En plus de leur biodégradabilité qui est un atout majeur et, pour certains, leur faible coût, ils offrent une multitude d'avantages tels qu'une activité biologique remarquable ou encore de meilleurs résultats d'adhérence et de prolifération cellulaire. Cependant, leurs propriétés mécaniques parfois inadaptées ou encore la faible réparation comme exemple (la destruction des os), demeurent des inconvénients majeurs compromettant leur utilisation comme structure tridimensionnelle. En effet, leur solubilité dans l'eau, leur dégradation rapide ou la possibilité de perdre leurs propriétés biologiques durant leur formulation, sont des obstacles à surmonter afin d'améliorer leur stabilité. [28,29]. En plus, il a été rapporté que l'utilisation **du collagène** s'est rapidement développée dans le domaine biomédical grâce à sa très faible antigénicité, l'absence de l'immuno-réaction, sa biocompatibilité, sa non toxicité, son hydrosolubilité et aussi sa capacité à relarguer lentement les médicaments [30]. Le collagène est considéré donc comme la protéine idéale dans le cadre de l'élaboration d'une matrice pour l'ingénierie tissulaire, étant donné qu'il est le composant majeur de la matrice extra-cellulaire (MEC) [30]. De plus, il est capable de fournir un support structurel et mécanique pour divers tissus (peau, os, vaisseaux, etc.), interagissant avec les cellules et transduisant les signaux essentiels pour le développement cellulaire ...ce qui le rend ainsi un matériau de choix dans le domaine de l'ingénierie tissulaire [31]. Une des applications est illustrée dans le schéma représenté dans la figure I.1 ci-après qui décrit le processus de la régénération cellulaire à partir d'hydrogels **à base de collagène** [4].

Les cellules ont été détachées à partir d'une petite biopsie, développée in vitro ; et sont encapsulées dans l'hydrogel précédent. Ces cellules seront ensuite transplantées au patient par injection en utilisant une aiguille.

L'hydrogel apporte un support structurel initial et retient les cellules dans la surface défectueuse et permet l'accroissement des cellules, le métabolisme et de nouvelles synthèses de matrice extracellulaire. L'hydrogel est facilement dégradé quand la cellule est secrétée. Cette expérience permet cliniquement la transplantation de la cellule, le facteur de croissance et la combinaison de l'hydrogel pour une migration minimale. [4]

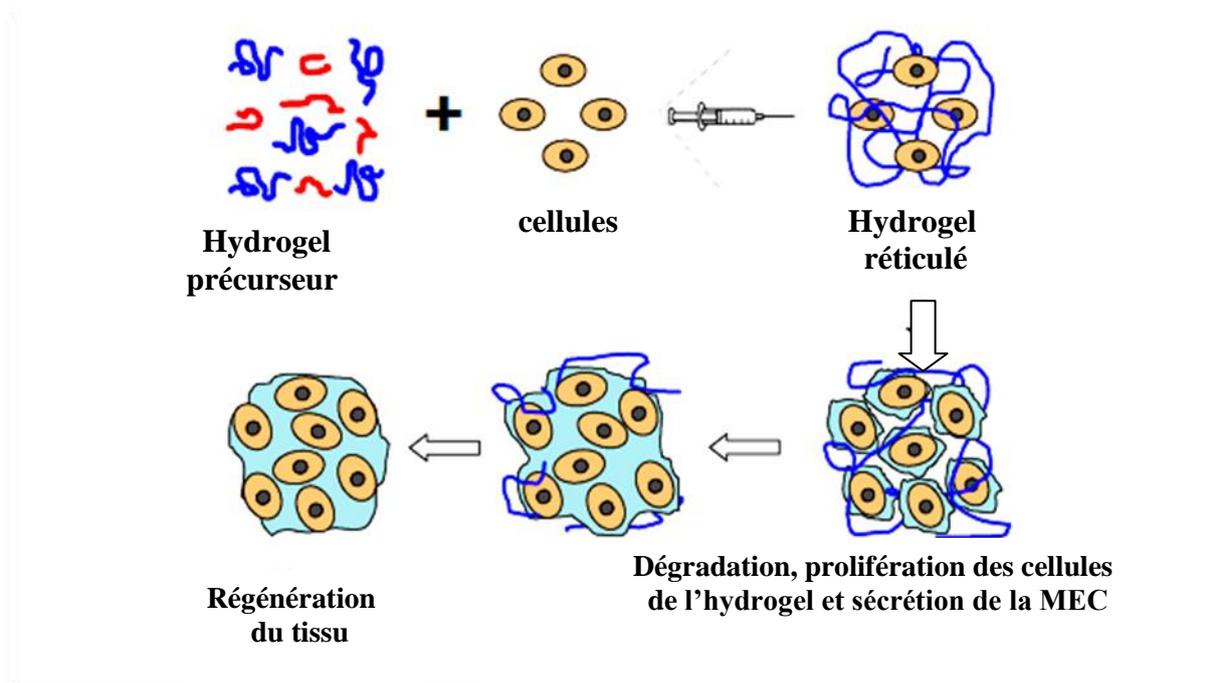


Figure I.1 : Schéma illustrant le rôle de l'hydrogel injectable à base de gélatine comme méthode de régénération des tissus. (d'après [4])

Au cours de ces dernières années des hydrogels injectables, vu leurs excellentes biocompatibilité et bio activité, ont été utilisés dans les systèmes de libération des cellules transporteuses dans les tissus mous et dans la régénération des cellules du système nerveux central (SNC). Ils sont capables de former des matrices extracellulaires (MEC) en introduisant des polymères naturels et synthétiques.

Les hydrogels injectables naturels à base de gélatine, par exemple, apportent une distribution homogène des cellules dans la partie défectueuse du tissu endommagé. Ils empêchent le risque de l'ouverture de la plaie lors de l'opération chirurgicale. Ces hydrogels font augmenter l'encapsulation des cellules et sécrètent de nouvelles MEC pour la régénération des tissus endommagés [4].

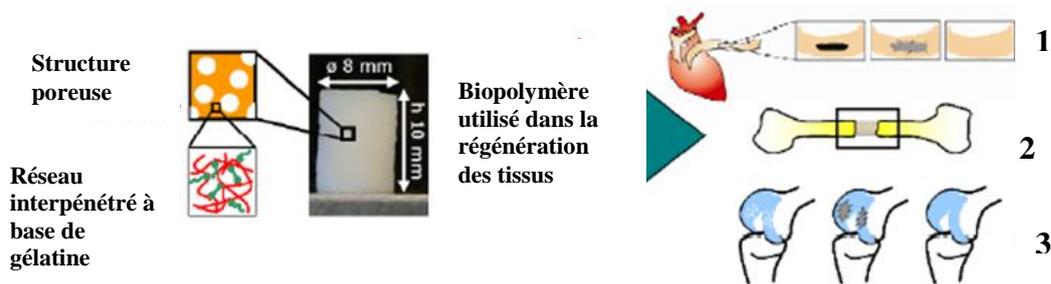


Figure I.2 : Caractérisation du scaffold à base de gélatine dans un milieu aqueux [32]

Les applications multifonctionnelles du scaffold à base de gélatine pour la régénération des tissus endommagés se font par le contrôle de la géométrie des pores ; les propriétés mécaniques du scaffold, peuvent être ajustées selon la situation « in vitro » sous la variation systématique des paramètres de la molécule.

- (1) les applications importantes menant à la reconstruction des vaisseaux sanguins après l'opération chirurgicale.
- (2) la cicatrisation de la couche défectueuse des os.
- (3) la réparation du cartilage.

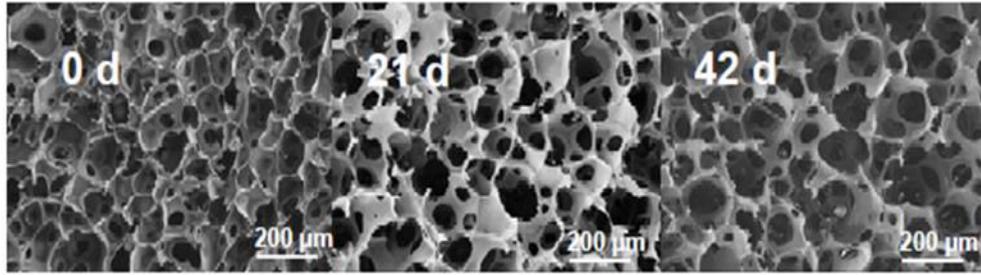


Figure [I.3] : Architecture poreuse du scaffold à base de gélatine à différents temps sous l'effet de la dégradation hydrolytique (PBS, pH 7.4. 37°C°) [32]

❖ 0d , 21d , 42d (d = day (jour))

I.2 Le Collagène

Le collagène est une protéine mère, très répandue dans le règne animal et qui chez l'homme représente approximativement un tiers des protéines de l'organisme. Actuellement, 20 types de collagène ont été identifiés. Ils ont tous une partie commune « la structure triple hélice » (Figure I.4). Celle-ci comprend trois chaînes de protéines entrelacées et associées parallèlement pour former des fibres rigides. La longueur de la triple hélice, le type et la position des parties non-hélicoïdales varient d'un collagène à un autre. Le plus important de ces types de collagène est le type I « classique » appelé aussi « pro-collagène », utilisé dans la production de la gélatine.

Ce dernier apparaît principalement dans les peaux et les os des animaux. La structure triple hélice est constituée par trois chaînes- α hélicoïdales dont deux sont appelées chaînes- α_1 qui sont identiques alors que la troisième est appelée chaîne- α_2 , qui est similaire aux deux premières mais qui diffère par le nombre d'acides aminés dans la chaîne non-hélicoïdale [33-36]. La chaîne hélicoïdale a une longueur de 300 nm et un diamètre de 1,4 nm.

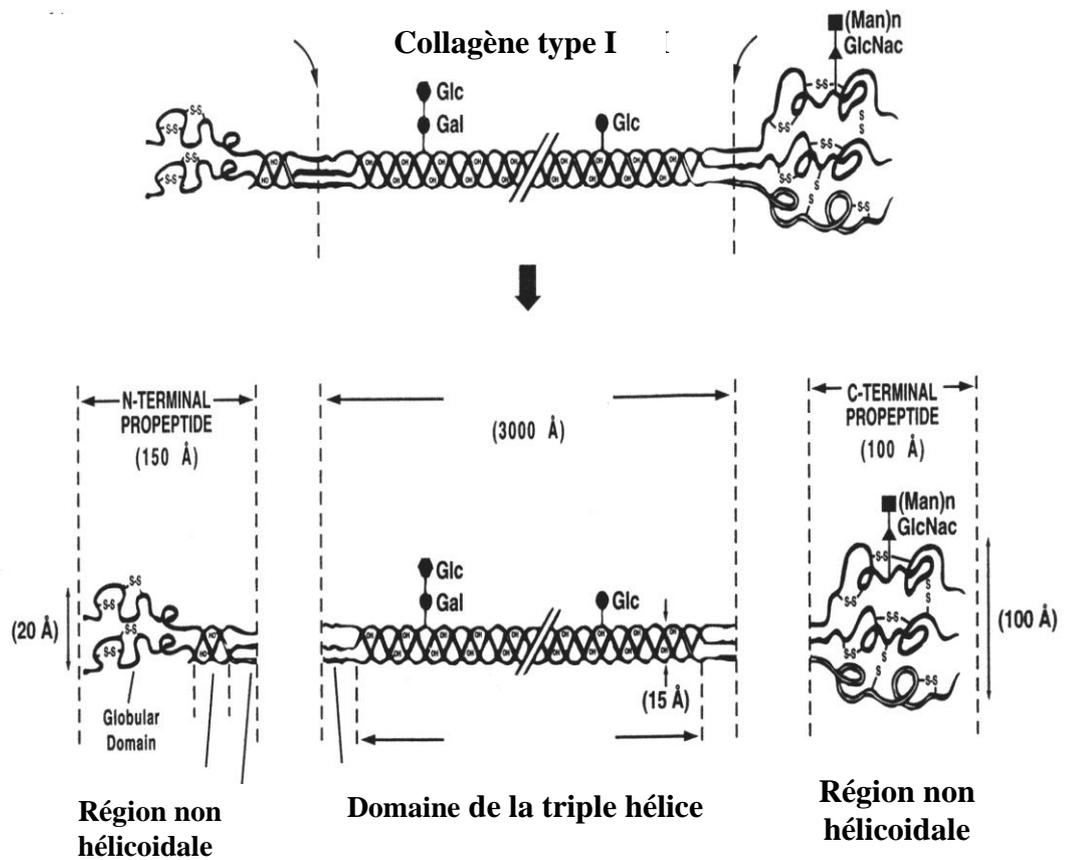


Figure I.4 : Schémas représentatif de la structure de la molécule du procollagène [37]

Glc = glucose ; Gal = galactose ; Man = mannose ; GlcNac = N-acétylglucosanine

I.2.1 La gélification du collagène (Transition sol-gel) [38]

Les caractéristiques de cette transition ne dépendant pas du type de gel considéré ; prenons la molécule de collagène comme exemple.

I.2.2 Formation de la gélatine [39. 40]

Les molécules de collagène sont mises en solution dans de l'eau à haute température (50°C). Par refroidissement, et jusqu'à 20°C, les chaînes de collagène forment des points de réticulation entre elles. Il y a d'abord la formation de structures complexes, les amas. Ceux-ci sont de formes et de tailles très variables et constituent la phase *sol*. Lors de ce processus, la taille des amas augmente, ainsi que la viscosité de la préparation. Au point de gélification p_c se développe un amas de la taille du récipient. Au-dessus de ce point, le système est constitué des deux phases, à la fois *sol et gel*.

I.3 La gélatine

La gélatine provient de la dénaturation thermique (voir figure : I.5) ou de la dégradation physique et chimique de la structure trimérique du collagène contenue essentiellement dans les peaux et les os de bovins et porcins [35.36]. C'est une protéine semi-cristalline, ayant une structure chimique simple et caractérisée par sa grande affinité avec l'eau [41]. Pendant la gélification de la gélatine, les chaînes subissent une transition conformationnelle qui tend à récupérer la structure en triple hélice du collagène [42.43]. Sa consistance est de 83% de matière protéique (mélange de polypeptides); 15% d'eau et 2% de résidus minéraux. Elle contient tous les acides aminés essentiels au corps humain excepté le tryptophane. Sa valeur énergétique est de **344 calories dans 100 gr gélatine [44]**.

La production annuelle mondiale de la gélatine avoisine 320.000 (million de tonnes par année) (source : GME) (G.M.E: Fabricateurs de la gélatine en Europe) [45]. 60% de cette production est destinée à l'industrie

alimentaire et le reste est exploité dans les industries pharmaceutiques, la production des films de photographie et autres.

Il existe deux types de gélatine A et B.

La gélatine de type A est obtenue par un traitement acide des couennes de porcs et des os de bétails âgés de moins de 6 mois.

La gélatine de type B est produite à partir d'un traitement alcalin des os et des peaux ou cuirs de bovins adultes. [35.36]

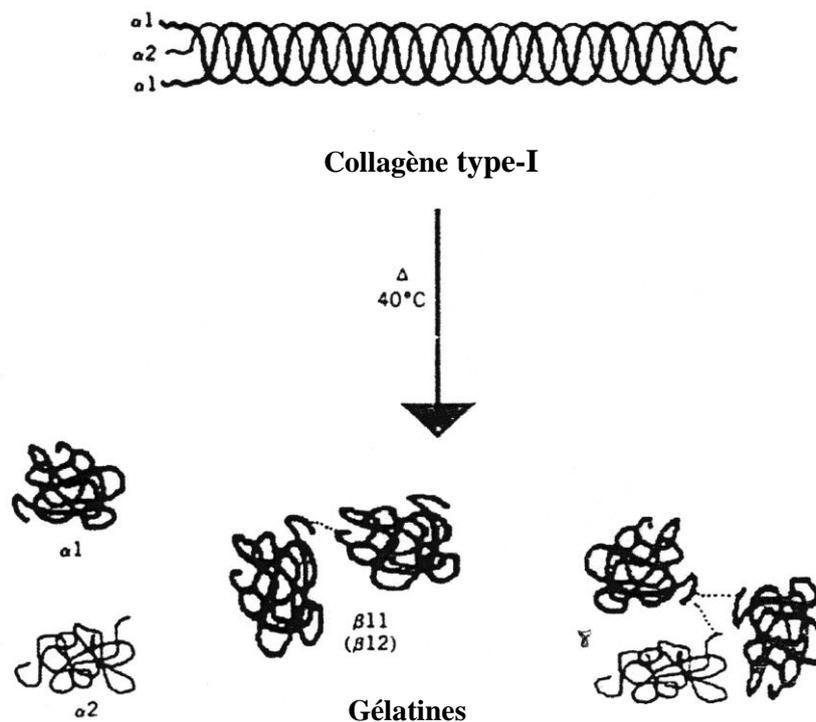


Figure I.5 : Les différents types de gélatine [46]

I.4 Technologie et production de la gélatine [47- 49]

I.4.1 Matières premières

La gélatine est une protéine animale extraite, après hydrolyse, de trois principales matières premières riches en collagène :

Les couennes de porc, les peaux, cuirs ou os de bovins ou porcins et qui peuvent donner des gélatines de types A ou B.

I.4.2 Procédés de fabrication

I.4.2.1 L'acidulation

Avant tout traitement, les peaux sont lavées et dégraissées. Par contre, les os sont d'abord débarrassés des graisses et des résidus avant d'être broyés et calibrés. Le traitement est réalisé dans des cuves inoxydables contenant de l'acide chlorhydrique et dure 2 à 5 jours. Au cours de cette étape, le phosphate tricalcique passe en solution sous forme de phosphate monocalcique. Ce dernier est alors précipité sous forme de phosphate bicalcique sous l'action du lait de chaux. Il est ensuite lavé, essoré, séché et conditionné pour être commercialisé. La matière organique qui n'a pas été attaquée gonfle dans l'eau tout en conservant sa forme mais est devenue élastique : c'est l'osséine.

I.4.2.2 Le prétraitement

Lorsque les tissus contenant le collagène sont soumis à un traitement acide ou alcalin et sont chauffés en présence d'eau, deux cas sont à envisager :

- d'une part, le collagène qui provient d'animaux jeunes est hydrosoluble. La dénaturation thermique obtenue en chauffant les solutions à 40°C détruit les liaisons hydrogène et les liaisons hydrostatiques et, par conséquent, on obtient une solution de gélatine formée d'un mélange de chaînes de poids moléculaire : 100.000 (chaînes- α), 200.000 (chaînes- β) ou 300.000 (chaînes- γ) (Figure I.3)

- d'autre part, pour le collagène provenant des tissus d'animaux adultes, il a été établi que des liaisons covalentes se sont développées au cours de la croissance créant des pontages principalement aux extrémités. Dans ce cas, le collagène est insoluble et un traitement thermique est alors nécessaire afin de provoquer la rupture des ponts entre chaînes par hydrolyse.

I.4.2.3 Les traitements

Le but de cette étape est d'éliminer totalement les graisses, de décolorer l'osséine et de séparer le collagène rendu fusible des protéines étrangères indésirables.

a) Le traitement alcalin et chaulage

Le traitement alcalin peut être attribué à n'importe quel traitement à un pH élevé mais le terme « chaulage » est utilisé principalement pour la production de la gélatine.

La matière première récupérée est immergée dans l'hydroxyde de calcium en suspension qui stabilise le pH à 12 et apporte un bon contrôle pour la dégradation. A ce stade les poils seront éliminés, puis l'hydroxyde de sodium et certains sels et amines sont ajoutés afin de modifier la vitesse et le degré de gonflement de l'ossein.

Le chaulage est réalisé à température ambiante dans une large cuve inoxydable, qui pourra durer quelques semaines. L'ossein obtenue est alors chaulée pendant 8 à 10 semaines, à température ambiante dans le lait de chaux de concentration variable, maintenu sous agitation et c'est à ce niveau que se produisent des réactions chimiques importantes : solubilisation et épuration des produits non collagéniques. L'ossein subit alors un dégrillage suivi d'un lavage afin d'abaisser le pH de 12 à 9. Enfin, une neutralisation à pH = 7 se fait dans un bain acide (acide phosphorique).

b) Le traitement acide

Le traitement acide est plus adéquat pour les couennes de porcs qui sont plongées dans une solution diluée d'acide chlorhydrique ou sulfurique pendant 36 à 48 heures. La durée du traitement dépend de la nature de la matière et de la concentration en acide. Ceci réduit le coût de la gélatine du type A par rapport à celle du type B.

L'amidolyse, dans le cas du type A, est lente au pH acide d'où elle affecte le point isoélectrique de la gélatine et devient élevée par rapport à celle de type B. La matière première gonflée sera ensuite lavée et trempée dans les solutions acides minérales diluées, dont la concentration ne doit pas excéder 5% et dont le pH doit se situer autour de 3.5 et 4.5.

I.4.2.4 La cuisson

Au cours de cette étape, sous l'action de la chaleur, le collagène est solubilisé et se transforme en gélatine. Ensuite, l'ossein est placée dans des cuves de cuisson en acier inoxydable. Par une circulation d'eau stérilisée à température strictement contrôlée,

on réalise différents bouillons de gélatine. La cuisson dure 24 heures. Le premier bouillon est réalisé vers 60°C, les suivants se font à des températures de plus en plus élevées.

I.4.2.5 Du jus de cuisson à la gélatine commercialisée

A la fin de chaque bouillon, le jus est récupéré par égouttage de l'oséine. Il est ensuite centrifugé et filtré dans une couche de sable puis sur cellulose afin d'éliminer les impuretés résiduelles en suspension ainsi que les dernières traces de graisses et de substances albuminoïdes coagulées sous l'influence de la cuisson.

Le jus est ensuite pré-concentré à 20-25% dans des concentrateuses, filtré à nouveau sur cellulose puis, passé enfin dans un sur-concentreur. La solution de la gélatine est ensuite soumise à une pasteurisation très rapide à 120°C avant d'être brutalement refroidie dans un cylindre réfrigéré à l'ammoniaque liquide. Ceci provoque sa prise en gel. Ce dernier est ensuite extrudé sous forme de nouilles qui passeront dans un séchoir avant d'être broyées et conservées en attendant les premiers contrôles de laboratoire

La gélatine doit être stockée au froid et dans un milieu sec. Elle peut être conservée pour une durée avoisinant trois années.

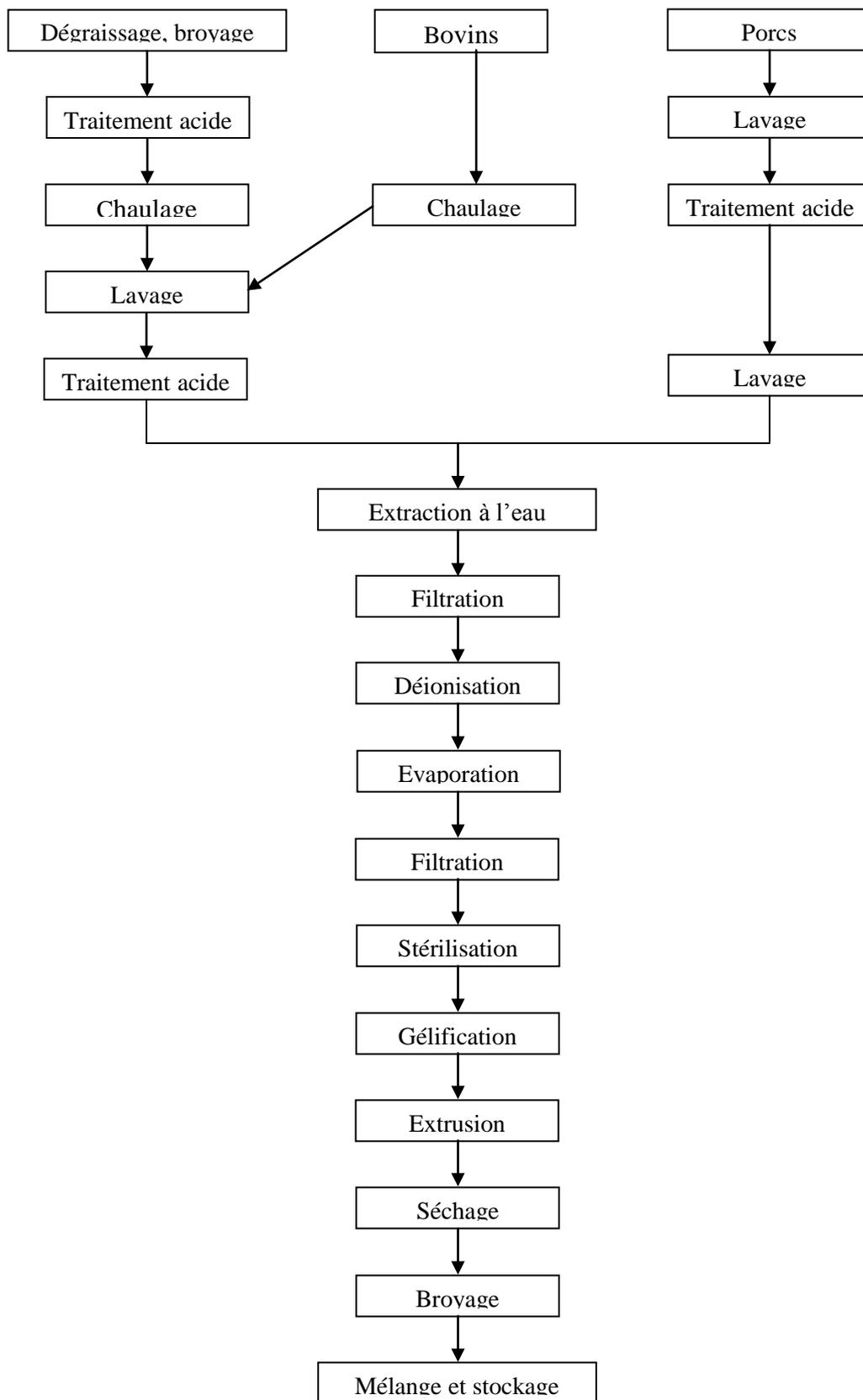


Figure I.6 : Différents types de production de la gélatine [47,48]

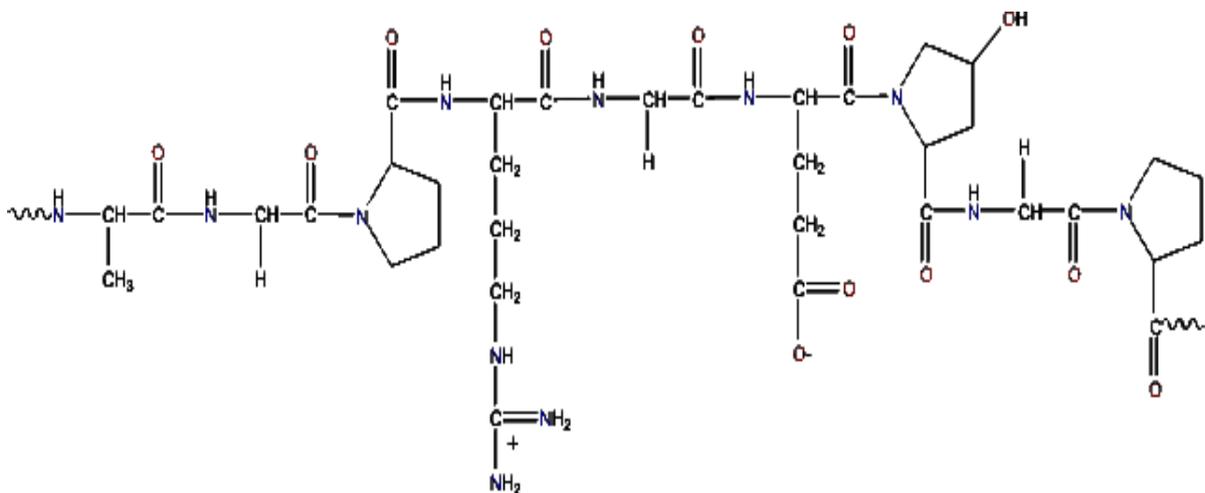
I.5 Le contrôle de laboratoire et normalisation

Le spectre d'applications alimentaires et pharmaceutiques de la gélatine nécessite une standardisation rigoureuse du produit et une batterie de tests de contrôle de sa qualité.

Les méthodes officielles des tests de normalisation sont celles développées par l'Institut des producteurs de gélatine : **GMI, l'institut de producteurs de la gélatine aux USA qui a été fondé en 1956. Les membres de cet institut représentent les principaux fabricants de la gélatine à travers l'Amérique du nord et celle de la grande Bretagne.** Le contrôle de la qualité comprend des essais physico-chimiques et bactériologiques en fonction des spécificités de chaque application (viscosité, rigidité, grade, pouvoir gélifiant, coloration, absence de germes).

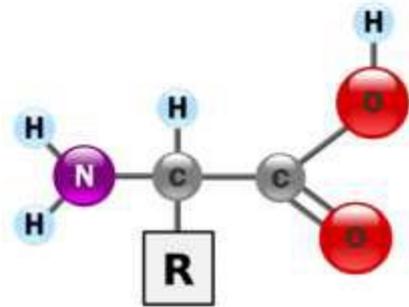
I.6 Structure et composition chimique de la gélatine [50]

La molécule de la gélatine est formée par une série de triplets d'acides aminés : $(\text{glycine-X-Y})_n$ où X et Y peuvent être tout acide aminé mais généralement la proline a une préférence pour la position X et l'hydroxyproline pour la position Y. Les séquences répétées de triplets d'acides aminés sont responsables de la formation de la structure en triple hélice de la gélatine.



Schémas I.1 : Représentation de la molécule de gélatine selon Lewis [50].

On rappelle que tout acide aminé a la structure suivante :

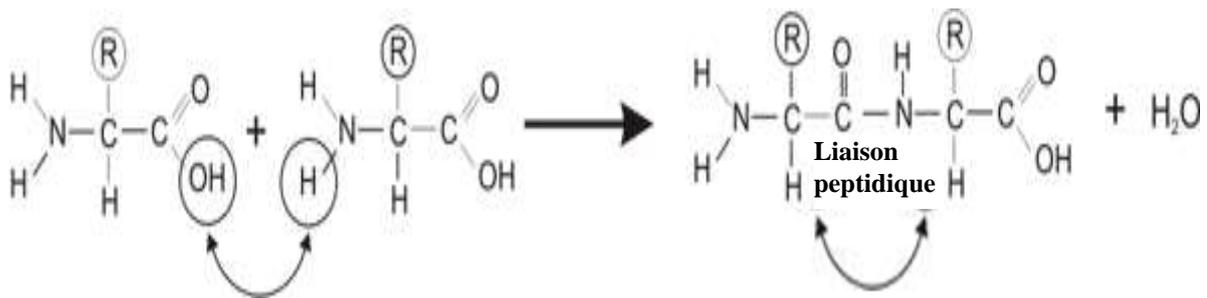


Schémas I.2 : Formule chimique générale des acides aminés [51]

Où :

R est le groupement latéral qui diffère d'un acide aminé à un autre, appelé aussi groupement résiduel. (Tableau I.1)

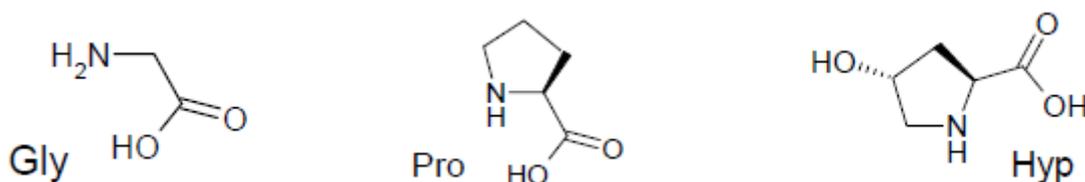
La chaîne polypeptidique de la gélatine est obtenue par la condensation de n acides aminés comme suit :



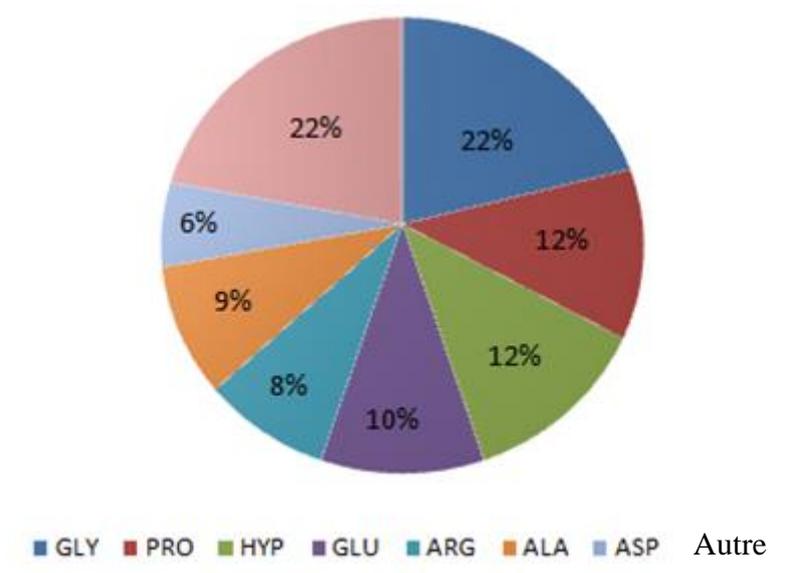
Schémas I.3 : Formation de la liaison peptidique [51]

Ces chaînes d'acides aminés sont ordonnées de telle manière qu'il existe deux régions polaires dans chaque chaîne.

En général, les chaînes de la gélatine comprennent 14% d'hydroxyproline, 16%, de proline et 26% de glycine.



Schémas 1.4: structure chimique de la glycine (**Gly**), proline (**Pro**) et hydroxyproline (**Hyp**) [32]



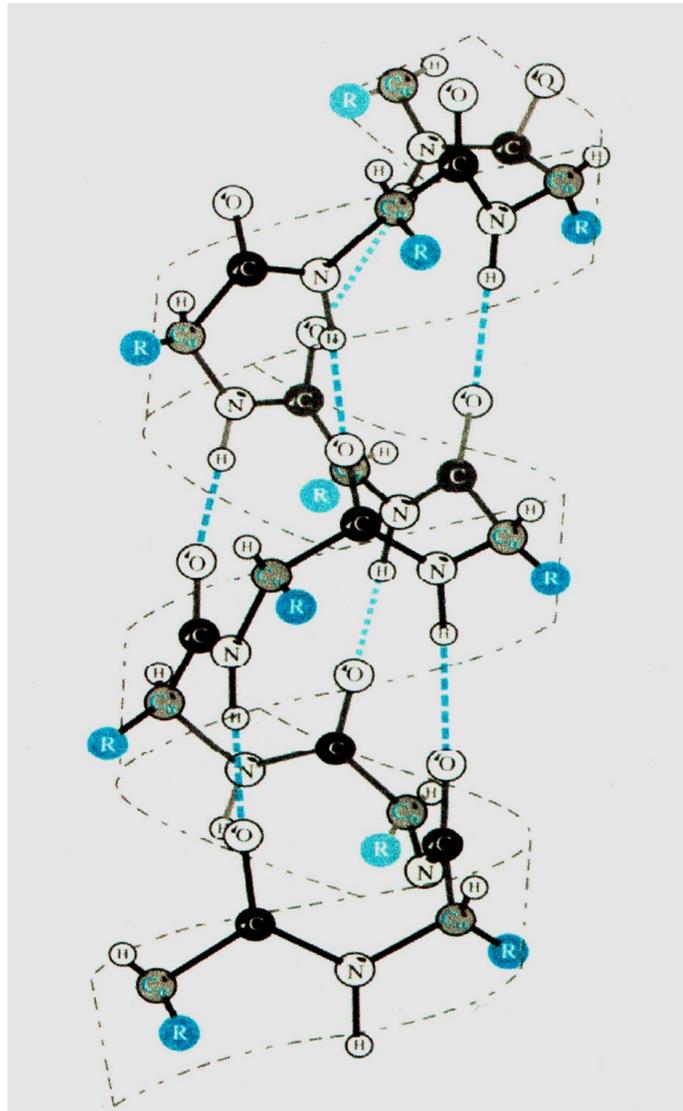
Schémas I.5 : Composition classique de la gélatine [52]

Tableau I.1: Comparaison des compositions types en acides aminés des gélatines de type A, de type B et du collagène; exprimées en résidus pour 1000 résidus d'acides aminés. [53]

Classes d'acides aminés	Acides aminés	Gélatine type A	Gélatine type B	Collagène (Type I)
R Hydrophobe	Alanine	112	117	114
	Hydroxyproline	91	93	104
	Isoleucine	10	11	11
	Leucine	24	24,3	24
	Méthionine	3,6	3,9	5,7
	Phénylalanine	14	14	13
	Proline	132	124	115
	Tryptophane	-	-	-
R polaire non chargé	Glycine	330	335	332
	Asparagine	16	0	16
	Glutamine	25	0	25
	Sérine	35	33	35
	Thréonine	18	18	17
	Cystéine	-	-	-
	Tyrosine	2,6	1,2	4,4
R Chargé > 0	Arginine	49	48	51
	Histidine	4	4,2	4,4
	Hydroxylysine	6,4	4,3	5,4
	Lysine	27	28	28
	Acide Aspartique	29	46	29
	Acide Glutamique	48	72	48

I.7 Conformation de la gélatine

Les hélices sont caractérisées par le sens de rotation, le pas et le nombre d'atomes par tour. L'une des conformations la plus connue est l'hélice- α ou hélice de Pauling, gauche ou droite, ayant 3 à 6 résidus par tour (Fig. I.6). Elle est stabilisée par des liaisons hydrogène entre groupements CO et NH de la chaîne polypeptidique orientés parallèlement à l'axe de l'hélice et pointant les unes sur les autres. Cette structure est particulièrement stable.



Schémas I.6 : Hélice α gauche type B [35.36]

I.8 Les principales propriétés de la gélatine [54.55]

I.8.1 Le point isoélectrique

Comme toute autre protéine, la gélatine contient à la fois des acides aminés à charges positives et négatives. Les propriétés de la gélatine varient selon la prédominance des uns et des autres. Alors, le point isoélectrique (P.I) est défini comme étant le pH auquel les charges négatives sont égales aux charges positives.

La gélatine type A possède un (P. I.) de : 6 à 9,5 ;

La gélatine type B possède un (P. I.) de 4,5 à 5,5.

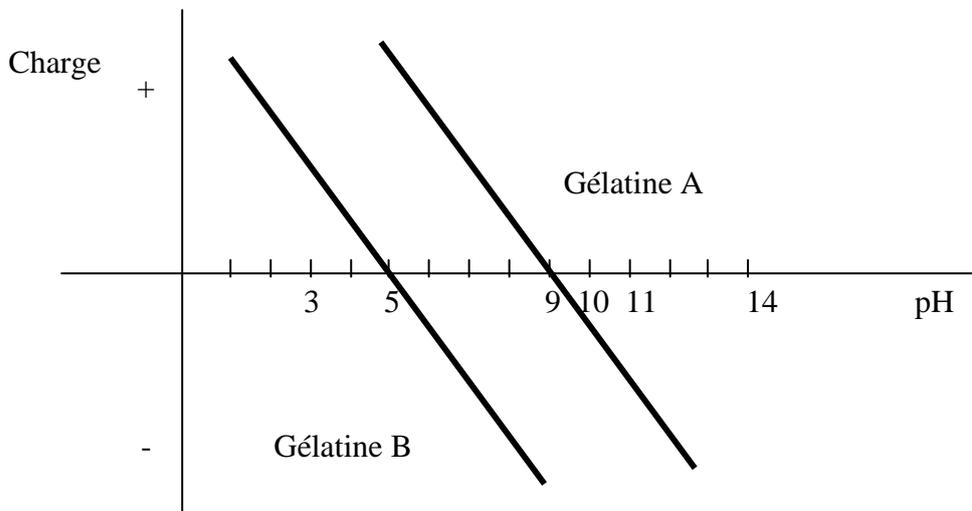


Figure I.7: Charge de la gélatine de type A et B en fonction du pH [54].

I.8.2 La solubilité

A chaud, la gélatine est hydrosoluble. Le gel de gélatine gonfle de 5 à 10 fois par rapport à son poids initial dans l'eau froide. Cependant, lorsqu'on augmente la température jusqu'à 40°C, les grains de la gélatine déjà gonflés se solubilisent jusqu'à la formation d'une solution uniforme et limpide. La vitesse de solubilité est affectée par plusieurs facteurs tels que la température, le pH, la concentration et la taille des particules de la poudre de gélatine.

I.8.3 La viscosité

La mesure de la viscosité fait partie des paramètres « clé » de la gélatine, ce résultat est souvent de première importance. Elle dépend de trois paramètres : la concentration, la température et le pH. On la détermine à l'aide d'un viscosimètre capillaire. Elle est déterminée en mesurant le temps d'écoulement de 100 ml d'une solution à 6.67% de gélatine dans l'eau à 60°C (plus la solution est visqueuse, plus la durée d'écoulement est longue). On en déduit la viscosité par une corrélation entre le temps d'écoulement et les caractéristiques du capillaire. Les viscosités des solutions varient suivant l'extraction et l'origine de la gélatine

La viscosité des solutions de la gélatine dépend de la concentration, du pH, de la température et du grade de la gélatine utilisée ainsi que les additifs présents dans la solution. Voir (Fig. I.8).

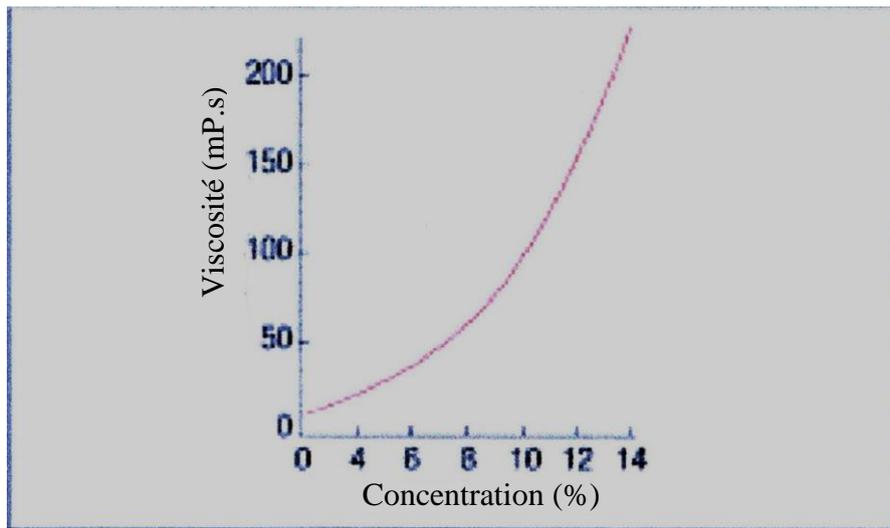


Figure I.8 : Variation de la viscosité de la gélatine en fonction de la concentration [55].

I.8.4 La rigidité du gel

La rigidité des gels de gélatine augmente avec le temps jusqu'au point d'équilibre et dépend aussi de la concentration de la gélatine choisie, du pH et de la température (Fig. I.9 a – b et c).

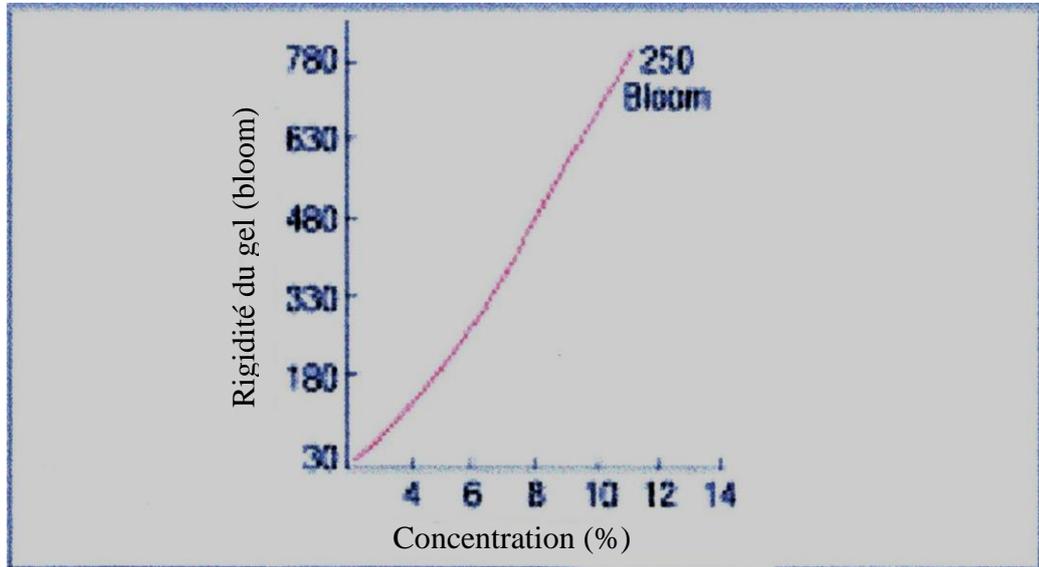


Figure I.9 a : Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction de la concentration [55].

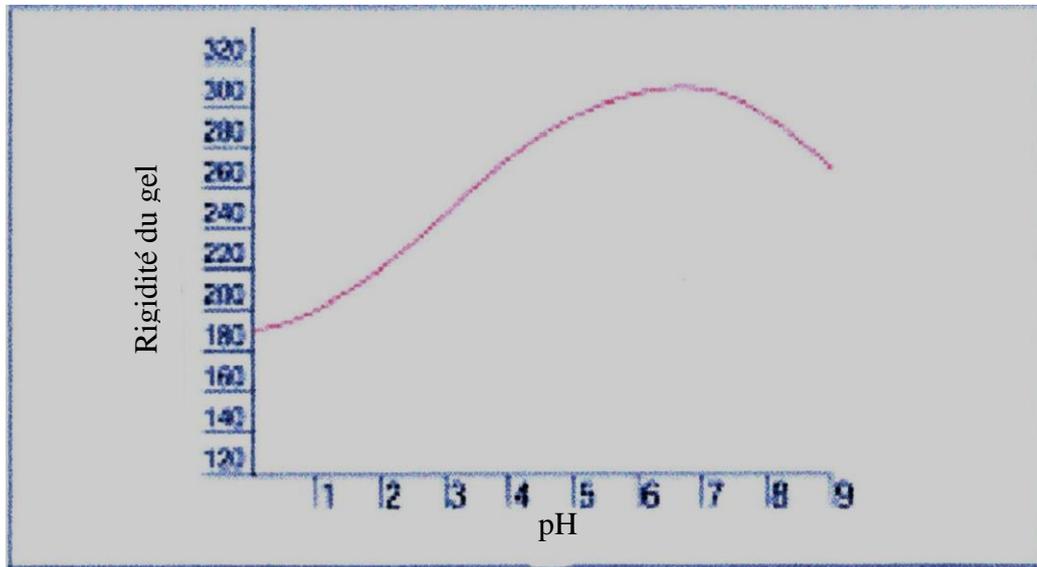


Figure I.9 b : Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction du pH [55].

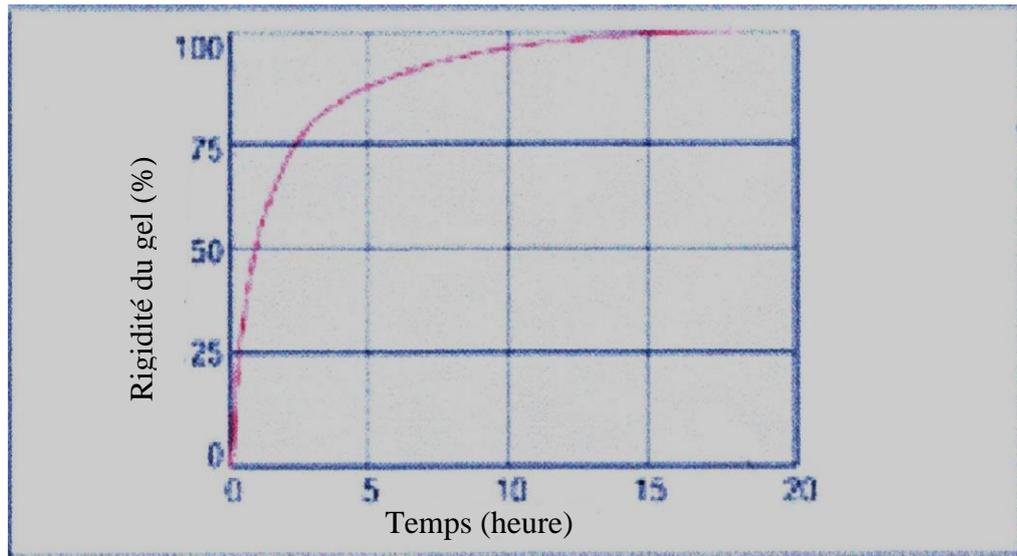


Figure I.9 c : Variation de la rigidité du gel de la gélatine en fonction du temps [55].

I.8.5 Force en gel ou pouvoir gélifiant [38]

La force en gel (Bloom)

La première propriété de la gélatine utilisée par l'industrie est son effet gélifiant. Traditionnellement, ce paramètre détermine principalement le prix d'un type particulier de gélatine. La force en gel est donc, une des caractéristiques les plus importantes. La force en gel, ou Bloom, exprimée en gramme, est liée à l'élasticité mécanique du gel de gélatine. Elle permet la classification des gélatines. La mesure standardisée, faite grâce à un gélomètre, consiste à déterminer la force nécessaire pour enfoncer un piston (12.7 mm de diamètre) dans un gel de gélatine (de concentration 6.67% P/V) d'une profondeur de 4 mm. Le gel est gardé préalablement pendant 18 h à 10°C. Ces conditions sont décrites par les normes internationales (norme BSI n°757 BS1 (British Standards Institution) (1975), BS 757.Methods for Sampling and Testing Gelatin (Physical and Chemical Methods). BS1, London, norme AFNOR n°NFV 59001-82). Les gélatines commerciales ont un Bloom situé entre 50 et 300 g. Quelques exemples d'applications industrielles, selon les blooms, sont donnés dans le Tableau I.2 ci-après.

Tableau I.2: Exemples de Blooms par application [51]

Application	Bloom (g)
Guimauves	75 - 125
Nougats	100 - 150
Desserts / laits industriels	150 - 250
Capsules molles	120 - 200
Capsules dures	150 - 280
Photographie	200 - 300

I.8.6 La modification chimique de la gélatine [56]

La gélatine contient un nombre d'acides aminés important contenant des groupements latéraux tels que : $-NH_2$, $-COOH$ et $-OH$. Ces groupements lui confèrent la capacité de réagir avec des réactifs mono et bi fonctionnels. Ils provoquent ainsi la variation des propriétés chimiques et physiques de la gélatine et de ses dérivées.

I.8.6.1 La réactivité de la gélatine

a) Liaison hydrogène

Les liaisons hydrogène jouent un rôle prédominant dans la formation de la structure de la gélatine : elles stabilisent le collagène et provoquent la formation des gels. Ces liaisons provoquent la « réticulation physique » des chaînes de la gélatine.

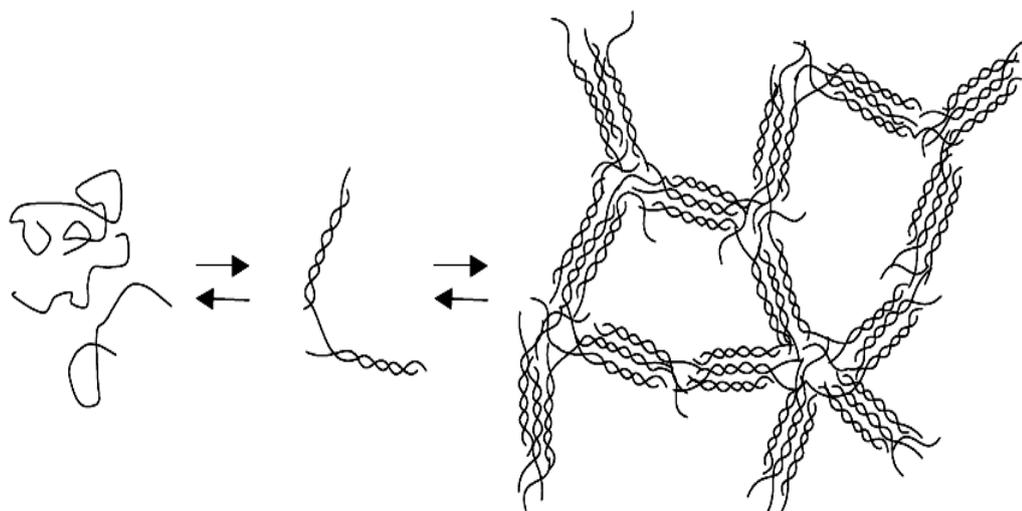


Figure I.10 : Exemple de réticulation physique [56]

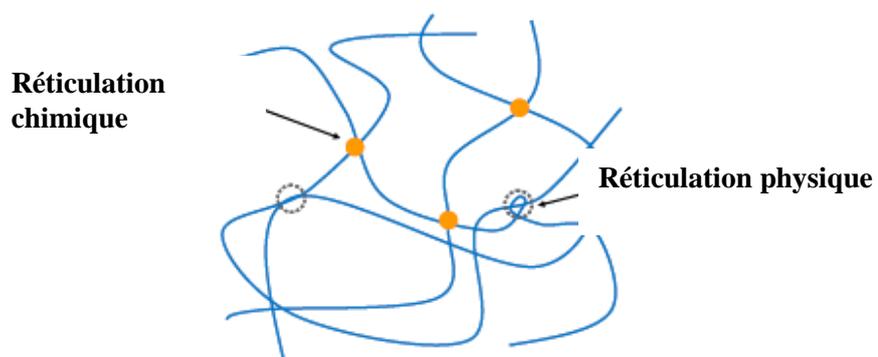


Figure 1.11 : Schéma représentant l'architecture de la molécule du réseau de l'hydrogel en formant des jonctions qui peuvent mener à une réticulation chimique ou physique [32]

I.8.6.2 Réactivité des groupements NH_2

La réactivité de la gélatine augmente avec le taux de la lysine et hydroxylysine car les groupements ϵ -amino peuvent réagir comme une amine traditionnelle. En général, les amines sont basiques mais elles peuvent se comporter comme des acides faibles. Elles provoquent des liaisons hydrogène et elles jouent le rôle d'agent nucléophile dans les réactions de substitutions nucléophiles. Cette réactivité est responsable de la réaction de réticulation et de modification de la gélatine.

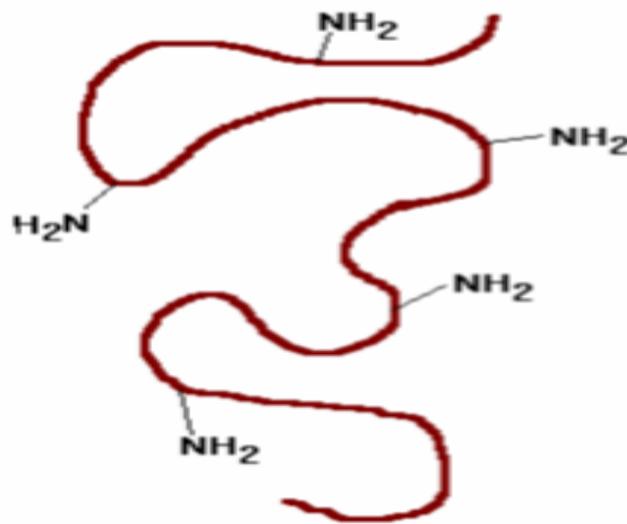


Figure I.12: Représentation de la chaîne de la gélatine [56]

I.8.6.3 Réactivité des groupements $-\text{COOH}$

La deuxième réactivité des groupements fonctionnels dans la gélatine provient des groupements fonctionnels de l'acide carboxylique des résidus aspartique et glutamique. Cette réactivité des groupements fonctionnels d'acide carboxylique est utilisée pour "la réticulation chimique".

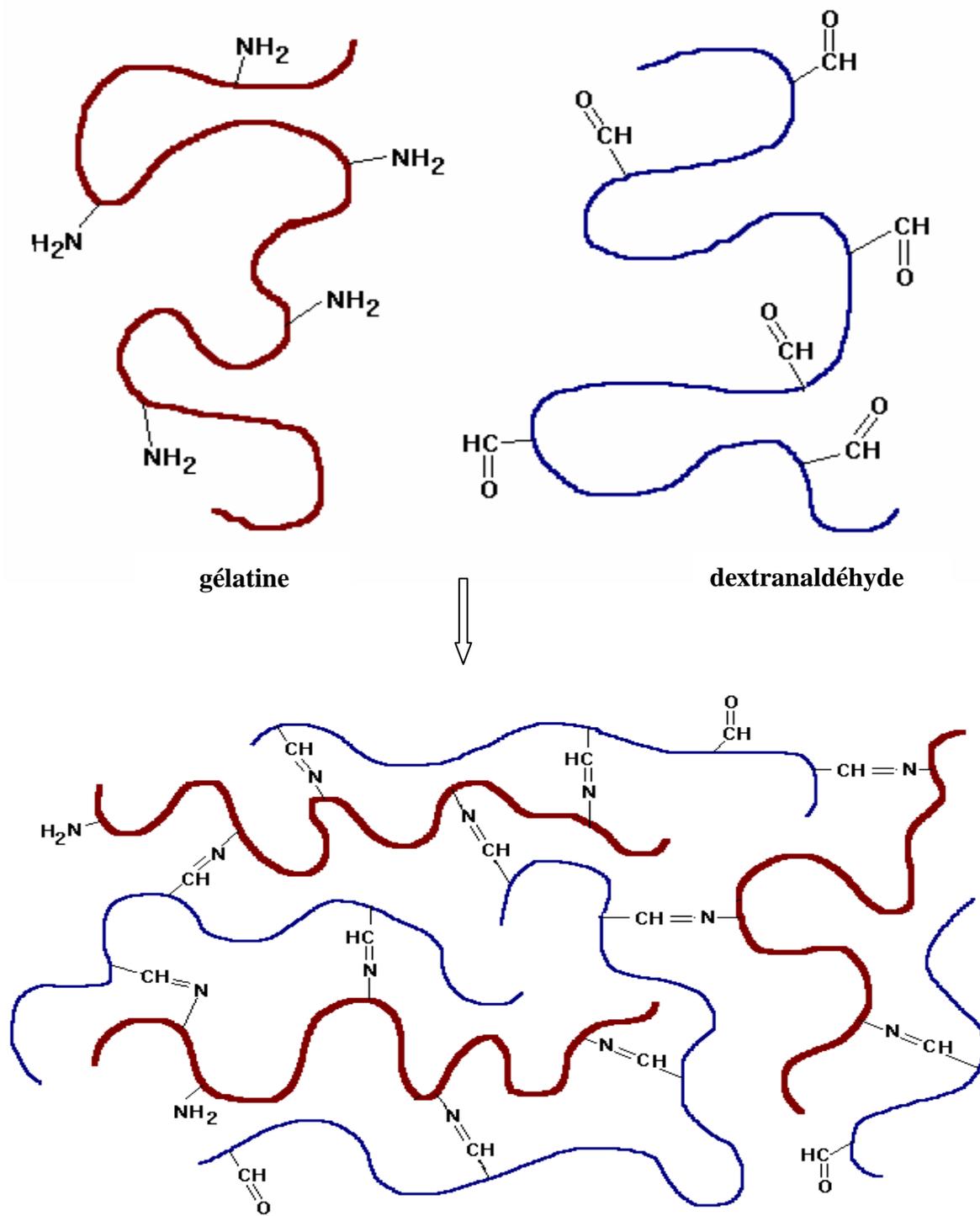


Figure I.13: Préparation des hydrogels réticulés à base de gélatine par une oxydation partielle du dextran [56].

I.9 Applications de la gélatine

a) Applications générales [57. 58]

La gélatine est une protéine possédant des propriétés amphotères. Elle participe dans la formation de l'interface air/eau et huile/eau. Elle est utilisée comme stabilisant pour les solutions hétérogènes et émulsifiant pour la fabrication des produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires telles que la mousse, la mayonnaise, etc.

La gélatine peut être utilisée dans la fabrication de pellicules photographiques. Elle joue un rôle important dans le recouvrement des supports photographiques. Elle régularise la croissance du cristal et sa dimension.

Elle est fréquemment utilisée comme enveloppe pour la fabrication de microcapsules (de 5-500 μm de diamètre), comme encre pour papier carbone et agent éclaircissant pour les détergents.

Tableau I.3: Bilan mondial de la production en gélatine (milliers de tonnes par année) [51]

	1974	1990	2000	2005	2014
Europe de l'Ouest	62	83	118	119	121
Europe de l'est	12	10	04	07	14
Amérique du Nord	31	35	57	61	90
Amérique du Sud	05	21	35	52	73
Asie	15	38	38	59	78
Océanie et Afrique	05	06	06	07	12
Production totale	130	193	258	305	388

b) Applications Thérapeutiques de la gélatine

L'intérêt thérapeutique de la gélatine se manifeste dans certaines applications comme :

L'étude de la biocompatibilité et la cinétique de la libération des microparticules à base de (cefoperazone sodium utilisé comme médicament) à travers le film polymérique à base de (gélatine-PVA) et réticulée par le glutaraldéhyde ont été approuvés en utilisant la méthode d'émulsion (eau /huile) [1].

Le greffage de la N-vinylpyrrolidone sur le mélange (gélatine –PVA) donne un matériau qui a été aussi utilisé comme peau artificielle [59].

La gélatine humidifiée par la glycérine, réticulée par le glutaraldéhyde et couverte par une couche sous forme d'éponge à base de (Téflon humidifié par polyuréthane) a été utilisée dans le traitement des brûlures, gelures, les ulcères de peaux [60]. Dans les applications cliniques nous trouvons aussi le mélange (gélatine – résorcine – glutaraldéhyde) utilisé comme colle bioadhésive [11]. Le système (gélatine-NaCMC- glutaraldéhyde) a été utilisé comme pansement pour le traitement des ulcères de jambe. [61].

Comme exemple de matériau biocompatible, on peut citer le gel polymère interactif binaire composé de l'hydroxycellulose et de la carboxyméthylcellulose, comme nouvel outil viscochirurgical ophtalmique. Ce système offre la balance correcte entre la viscosité à l'état stationnaire, l'adhésivité (donc la bioadhésion) et les propriétés viscoélastiques et d'écoulement sous compression, afin d'assurer la maintenance de l'espace oculaire et les interactions avec, et donc, la protection de l'endothélium cornéen [62].

Pour une bonne restauration des tissus endommagés, récemment une nouvelle synthèse a été étudiée par photo réticulation d'un (IPN) hydrogel à base de gélatine- méthacrylate (GelMA) et les fibres de la soie (SF) ;

la photo lithographie plus la lyophilisation ont conduit à la fabrication d'un micro modèle tridimensionnel sous forme d'un tissu poreux similaire à un échafaudage utilisé pour la régénération des tissus (GelMA-SF) sous forme d'un IPN (physique ou chimique) (hydrogel hybride) ayant un taux d'enchevêtrement élevé (ce qui augmente le renforcement mécanique) et est utilisé donc dans l'ingénierie tissulaire [5].

La laine contient principalement des protéines et des lipides comme les protéases et lipases. Certaines enzymes non protéolytiques, exemples les TGases et les oxydases, ont pu modifier la structure de la fibre de la laine sans destruction de la liaison peptidique.

TGase (protéine glutamine–glumyltransférase enzyme) ; c'est une enzyme capable de provoquer des réactions de réticulation chimique entre les protéines , les peptides et plusieurs groupes amines primaires qui conduisent à la stabilité de la protéine ; néanmoins , il a été remarqué que les TGases peuvent contribuer à la réparation des endommagements causés par les protéases , c'est à dire l'existence d'une possibilité de changer la fonctionnalité de la laine en la mélangeant avec des protéines actives en provoquant un greffage en présence de TGase. La gélatine s'est avérée être un bon substituant pour TGase [13].

CHAPITRE II
LES GELS POLYMERIQUES ET LES DIFFERENTES
REACTIONS DE RETICULATION

II. Les gels polymériques et les différentes réactions de réticulation

II.1 Généralités

Les gels occupent une place de plus en plus importante dans les sciences des matériaux. Le nom « gel » est utilisé pour une grande variété de systèmes comprenant des solutions de polymères ou de particules minérales. La richesse et la diversité de leurs propriétés se manifestent dans plusieurs applications à savoir : les industries agroalimentaires, cosmétiques, peintures, la pharmacie et autres... [63]

II.2 Définition des gels

Il s'agit de systèmes tridimensionnels composés d'au moins deux constituants. L'un, très fortement majoritaire qui est le solvant et l'autre une substance solide qui est finement dispersée à l'intérieur du solvant.

Le milieu dans son ensemble se comporte comme un solide mou ou une pâte facile à déformer.

A partir d'une solution ou d'une dispersion à l'état liquide, la formation du gel est le résultat d'une agrégation partielle des « particules » solides. On appelle cette transformation la transition sol-gel. [63]

II.3 Classification des gels [64]

Les gels peuvent être classés selon :

- a) la nature du solvant ; dans ce cas, les différents types de gels sont représentés dans le tableau ci-après :

Tableau II.1 : différents types de gels

	Solvant
Hydrogel	Eau
Alcogel	Alcool
Xérogel	Eau, alcool, séchage à l'air
Aérogel	Eau, alcool, séchage à l'air
Gel hyopique	Huile

b) la nature des liaisons de la jonction qui forme le réseau.

Généralement, nous distinguons deux types de gels :

- Gels physiques
- Gels chimiques

II.3.1 Les gels physiques (Fig. II.1)

L'agrégation des particules et molécules est réversible. Une variation de température de quelques degrés seulement suffit parfois pour amorcer la prise en gel ou sa fusion. Les liaisons qui constituent les jonctions du réseau sont de nature physique. Elles peuvent être des liaisons hydrogène, Van der Waals, coulombienne ou interactions hydrophobes. L'énergie de ces liaisons est de 4 à 30 kJ/mole. Elle diminue avec l'augmentation de la température. Par conséquent, la température de fusion des gels est la température de dissociation de ces différentes faibles liaisons.

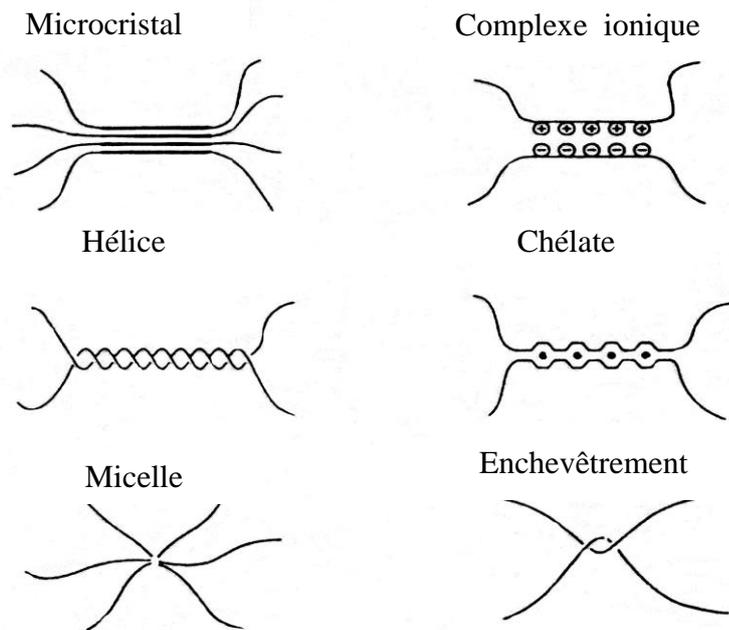


Figure II.1 : Les différents gels physiques réticulés par liaisons intermoléculaires [64]

II .3.2 Les gels chimiques

Ils doivent leur structure à une réaction chimique. Il y a établissement de liaisons covalentes qui mènent à la création d'un réseau permanent.

Les gels chimiques sont irréversibles. Sous l'action d'une force extérieure faible, ils peuvent se déformer d'une manière très importante et retrouver leur forme initiale très rapidement lorsque la force est supprimée (Fig. II.2).

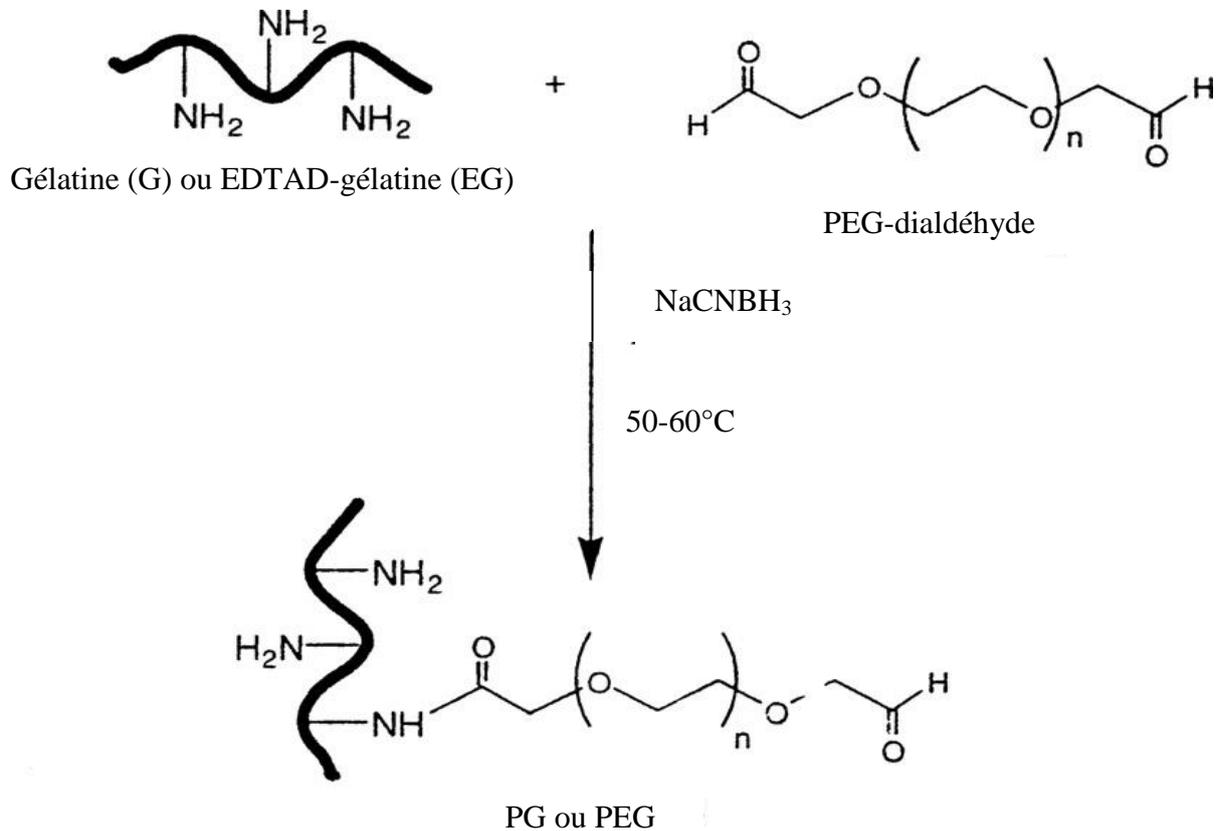


Figure II.2 : Gélatine modifiée par le PEG dialdéhyde et l'EDTAD [65]

II.3.3 Exemple de gel l'hydrogel [66]

Un **Hydrogel** (aussi appelé Aquagel) est un réseau de chaînes de polymères initialement solubles dans l'eau, mais qui sont devenues insolubles après réticulation. On le trouve parfois sous forme de gel colloïdal dans lequel l'eau est le milieu dispersant. Les hydrogels sont des polymères naturels ou synthétiques super absorbants (ils peuvent contenir plus de 99 % d'eau). Les hydrogels possèdent aussi un degré de flexibilité très similaire à celui des tissus naturels, à cause de leur importante teneur en eau.

II.3.3.1 Utilisations communes des hydrogels

- utilisés comme des colles en ingénierie tissulaire. lorsqu'ils sont utilisés, les hydrogels peuvent retenir des cellules humaines en vue de la réparation des tissus.
- hydrogels sensible à l'environnement : ces hydrogels ont la capacité de réagir aux changements de pH, de température ou de concentration de métabolites et libérer leur chargement à la suite d'un tel changement.
- Les hydrogels permettent l'absorption et le débridement des tissus nécrosés fibrinogène.
- les hydrogels qui sont sensibles à des molécules spécifiques, telles que le glucose ou des antigènes et peuvent être utilisés comme Bio senseurs.
- Les hydrogels sont utilisés dans les couches jetables où ils "capturent" l'urine, ou dans les serviettes hygiéniques
- lentilles de contacts (hydrogels de silicone, polyacrylamides)
- les électrodes médicales utilisent de l'hydrogel composé de polymères (oxyde de polyéthylène, polyAMPS et poly(vinylpyrrolidone))
- gels explosifs aqueux

II.3.3.2 Utilisations moins communes

- implants mammaires
- granules pour conserver l'humidité du sol en région aride
- pansements pour la guérison de brûlures ou autres blessures difficiles à guérir. les pansements gels sont excellents pour créer ou maintenir un environnement humide.

Les ingrédients communs sont par exemple l'alcool polyvinylique, le polyacrylate de sodium, les polymères et les copolymères acrylate avec une abondance de groupes hydrophiles.

Des hydrogels de matières naturelles sont à l'étude en ingénierie tissulaire, cela comprend l'agarose, la méthylcellulose, l'hyaluronane, et d'autres dérivés de polymères naturels.

II.4 Les principales réactions de réticulation

II.4.1 La réticulation par la présence de groupements fonctionnels

La présence de groupements fonctionnels tels que : $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}$ et $-\text{OH}$ dans la chaîne polymérique favorise la réticulation chimique.

Nous prenons pour exemple :

Mécanisme de la réticulation

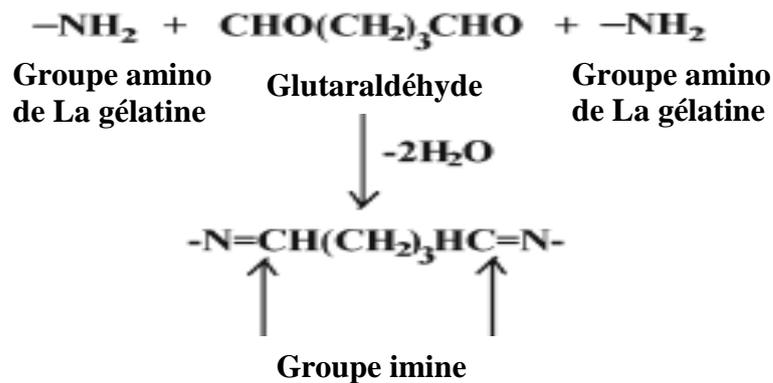


Figure II.3 : Schéma d'une réaction probable des interactions entre SCMC, la gélatine et le glutaraldéhyde avec SCMC-gélatine un complexe. [67]

II.4.2 la Réticulation par irradiation en présence des rayons γ [13]

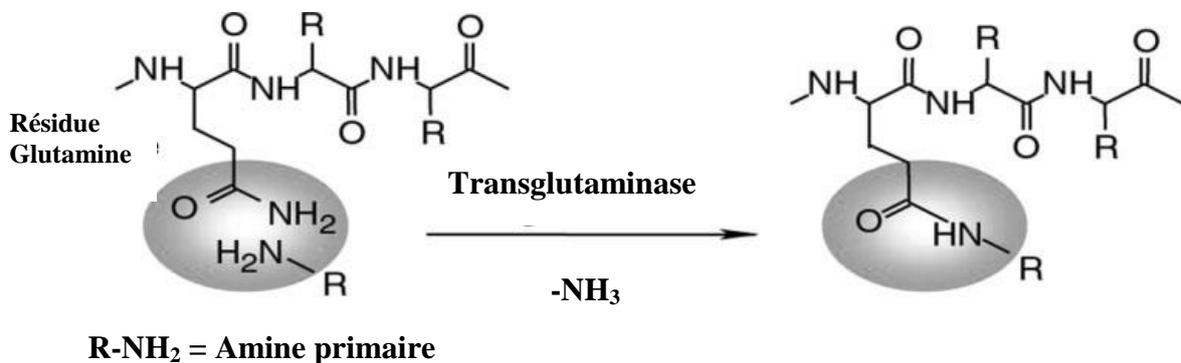


Figure II.4 : mécanisme de la réaction de réticulation de la gélatine et de la soie synthétisée en présence de TGase [13]

II.4.3 La photo-réticulation

Elle se fait en présence de la lumière visible en faisant intervenir les réactions de photoaddition et photodimérisation

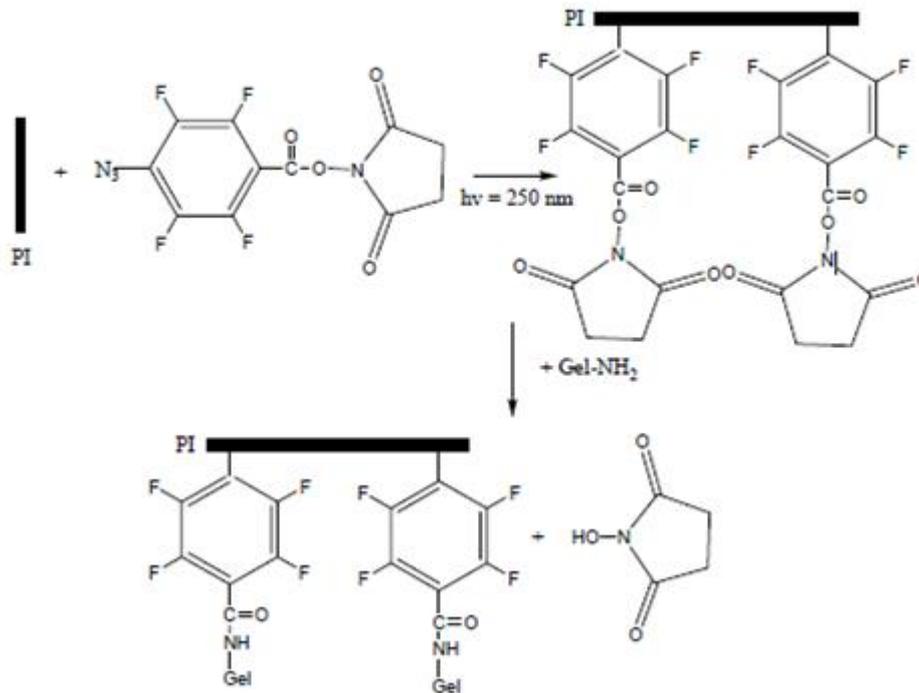


Figure II.5 : Schéma de la réaction pour l'immobilisation de la gélatine sur la surface du PI en utilisant l'ester de succinimidyle et d'AFB [68]

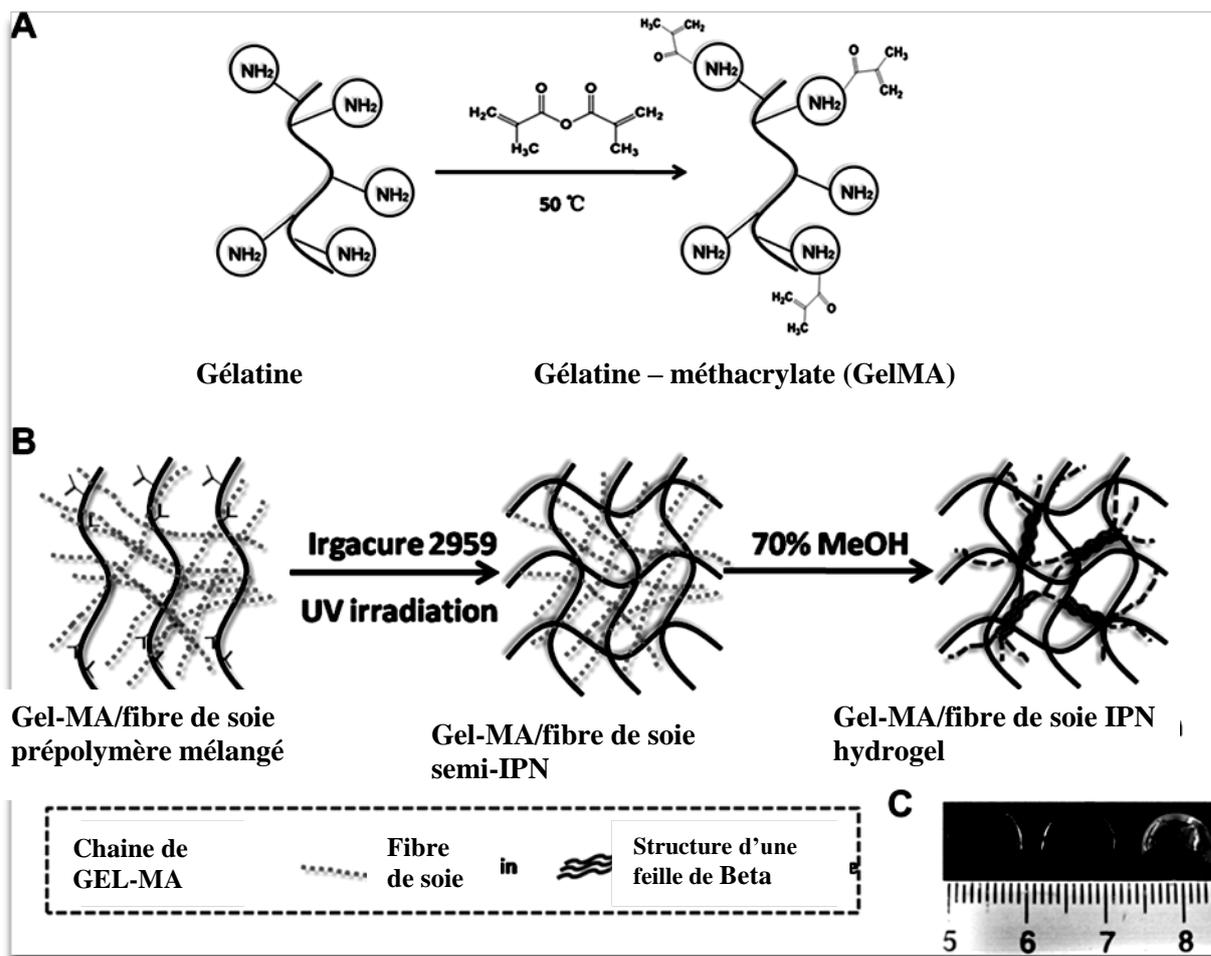


Figure II.6: Schéma représentant la synthèse des hydrogels de la gélatine méthacrylate (GelMA), du semi-IPN composite GelMA–SF et de l’IPN [5].

(A) la gélatine contient des groupes amino primaires qui réagissent avec l’anhydride méthacrylique (MA) par greffage du groupement méthacrylate.

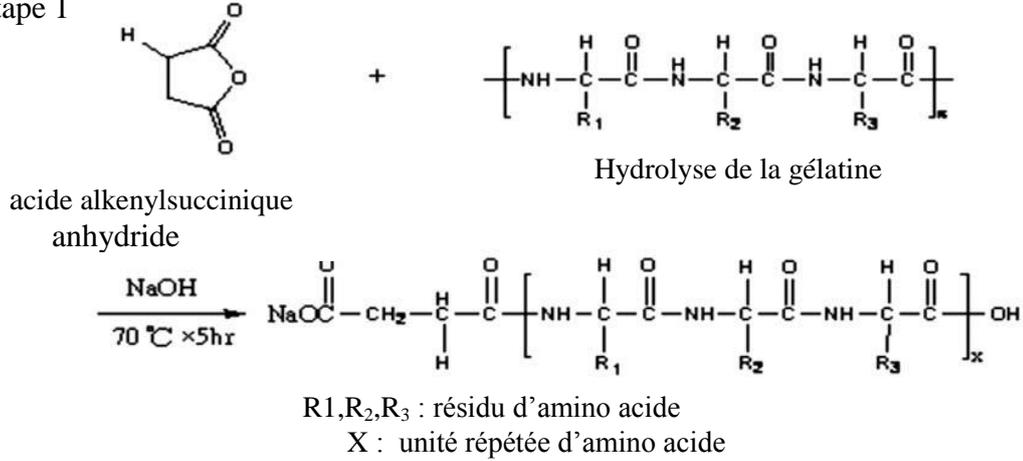
(B) en créant l’hydrogel GelMA–SF IPN, la gélatine méthacrylate a été mélangée avec la solution de SF en provoquant une réticulation par UV irradiation en présence d’un photoinitiateur, suivi par un traitement de 70% méthanol en induisant la cristallisation de SF.

(C) Images optiques représentatives de GelMA, G-S-1 semi-IPN et l’Hydrogel G-S-1 IPN (de gauche à droite) [5]

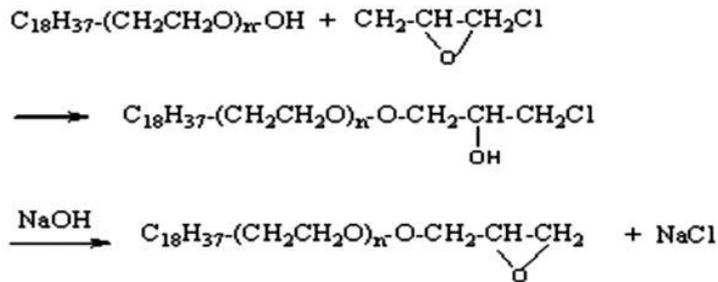
II.4.4 La réticulation thermique

Elle suit un mécanisme radicalaire. La source d'énergie est la chaleur. La température varie de l'ambiante à 100°C.

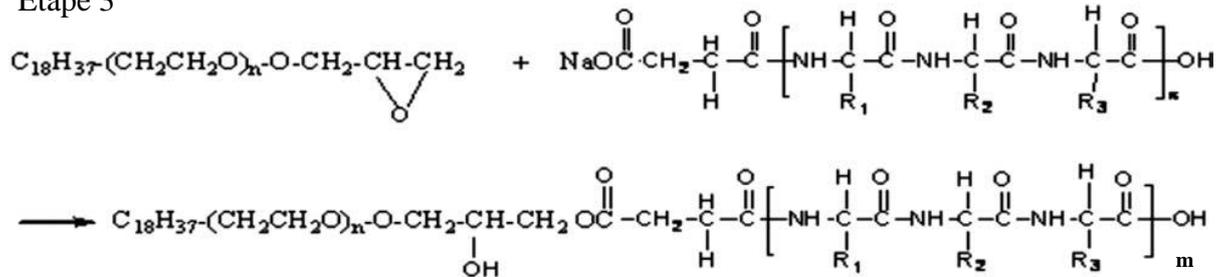
Etape 1



Etape 2



Etape 3



n : longueur de la chaîne du polyoxyéthylène
m : 7,20,30 pour la gélatine-1807,1820 et 1830

Figure II.7 : Synthèse de la gélatine-dérivée des surfactants modifiée avec polyoxyéthylène [69]

Dans le tableau suivant, nous donnons les différentes réactions de réticulation qui interviennent dans la formation de gels physiques et chimiques.

Tableau II.2 : Classification des différents types de réticulation des gels polymériques [64]

Types de gel		Mécanisme et méthode de réticulation		Exemple		
Gels polymériques	Gels polymériques synthétiques et naturels	Gels chimiques	Réticulation lors de la polymérisation	Photopolymérisation thermique	Copolymérisation entre les composés vinyliques	
			Réticulation après polymérisation	Réticulation chimique Photo-réticulation Réticulation par irradiation	PVA-aldéhyde PVA, les sels styrylbazolium Polymères acryliques	
		Gels physique	Réticulation après polymérisation	Liaisons hydrogènes	Cristallisation	PVA
				Liaisons ioniques		Poly(méthacrylate de sodium)
				Liaisons de coordination	Réaction de chélation	Poly(vinyl alcool)-Cu ²⁺
				Formation d'hélices	Formation d'hélices	Agar Gélatine
				Liaisons hydrophobes	Interactions hydrophobes	Albumine

CHAPITRE III
CARACTERISATION DES FILMS A BASE DE
GELATINE

III. Caractérisation des films à base de gélatine

Les différents films étudiés à base de gélatine non modifiée ; plastifiée et/ou réticulée, ont été caractérisés par différentes techniques: dosage chimique ; essai de traction ; gonflement ; spectroscopie IR ; diffraction des RX ; calorimétrie différentielle à balayage et microdureté.

III.1 Les différentes méthodes d'analyses thermiques

La gélatine en général et les films à base de gélatine en particulier, ont été caractérisés par différentes techniques d'analyse thermique, notamment l'Analyse Thermique Gravimétrique (ATG) , l'Analyse Thermique Différentielle (ATD) , la Calorimétrie Différentielle à Balayage (Differential Scanning Calorimetry, DSC) , l'Analyse Thermomécanique (ATM) , De part sa simplicité et les informations qu'elle fournit (les températures et les enthalpies de transition, le degré de cristallinité...) la DSC est la technique la plus utilisée.

III.2. Calorimétrie différentielle à balayage / DSC [70]

Les propriétés mesurées par DSC sont principalement les changements de phase (transition vitreuse, fusion, cristallisation, dégradation et les enthalpies correspondantes) et la détermination de la microstructure, degré de cristallinité, taille des cristallites...) du matériau étudié. Ces mesures sont généralement effectuées sous atmosphère inerte et à une vitesse de chauffe/refroidissement donnée.

Un exemple général de thermogramme DSC illustrant les trois types de transitions rencontrées dans un polymère semi-cristallin, est donné ci-après (Fig. III.1).

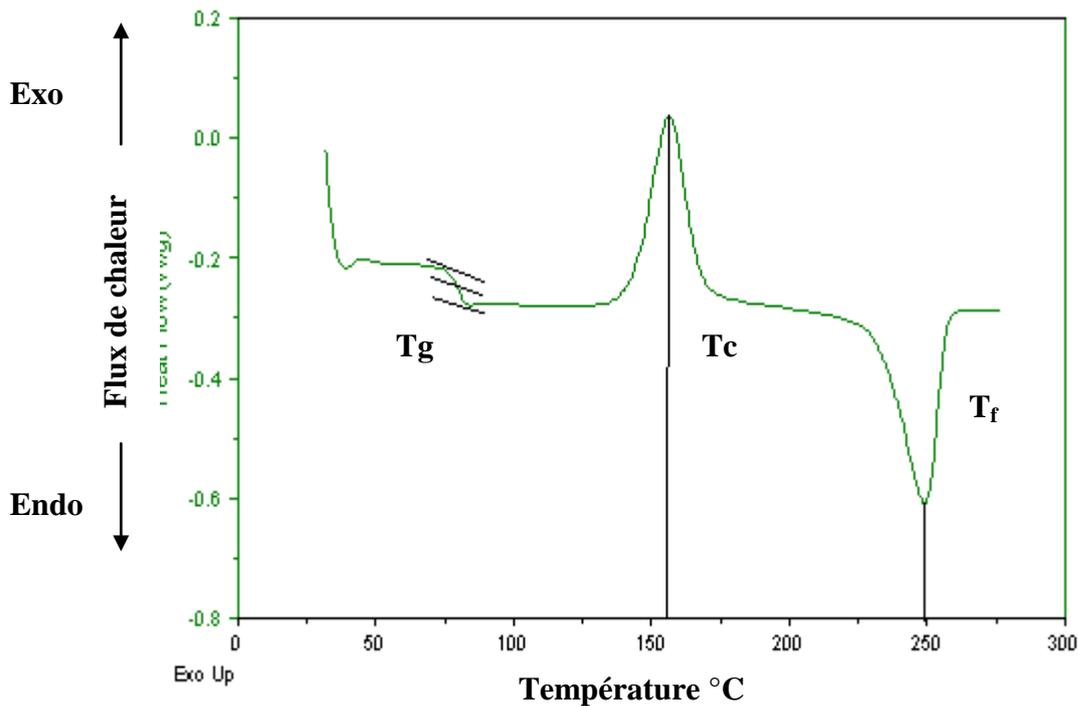


Figure III.1: Thermogramme DSC typique d'un polymère semi-cristallin [70]

Un tel thermogramme est obtenu à travers l'utilisation d'un appareillage basé sur le système d'analyse de l'échantillon (du matériau étudié) par rapport à un échantillon référentiel.

L'exploitation du thermogramme ainsi obtenu permet d'aboutir aux informations caractéristiques suivantes relatives au matériau étudié :

- Tg : température de transition vitreuse (pour les polymères amorphes et semi-cristallins) qui exprime le passage de l'état vitreux (dur et cassant) à l'état caoutchoutique (ductile et déformable).
- Tm : température de fusion, relative à la fusion de la partie cristalline.
- ΔH_m : enthalpie de fusion (énergie absorbée par le matériau au cours de sa fusion). Pic endothermique.
- Tc : température de cristallisation du polymère (au cours du chauffage ou du refroidissement de l'échantillon).

- ΔH_c : Enthalpie de cristallisation (chaleur dégagée par le matériau au cours de sa cristallisation). Pic exothermique.

A partir de ces paramètres, on peut déterminer aussi d'autres propriétés microstructurales notamment le degré de cristallinité (exprimé par α_{DSC}), la taille des cristallites...

La détermination de ces différentes caractéristiques se fait selon les méthodes suivantes :

- a) Détermination des températures de transition : T_g , T_c et T_f

Elles correspondent aux températures de transition (point d'inflexion), de minimum et maximum des pics correspondants

i) Détermination de T_g [71]

La T_g est une transformation de 2ème ordre, c.à.d \implies Pas de chaleur latente mais il y aura variation de la capacité calorifique C_p . Par convention : Q fournie \implies est une transition endothermique. La diminution de $Q/\Delta t$ correspond à une augmentation de la C_p . Il est à noter que les polymères ont une C_p plus grande à l'état caoutchoutique qu'à l'état vitreux.

ii) Détermination de T_c et de $\Delta H_{cristal}$

Si le polymère n'est pas 100% amorphe, il existe une zone, entre T_g et T_f , où le polymère peut (partiellement) cristalliser. La chaleur de cette transition, essentiellement d'ordre entropique, s'exprime par : $dQ = TdS$. Le cristal étant plus organisé que l'état amorphe, la variation d'entropie sera négative $\Delta S < 0$ et, par conséquent, $\Delta Q < 0$, signifiant qu'il y a dégagement de chaleur, i.e ; cette transition est considérée comme exothermique et apparaît comme un pic positif en DSC. L'intégration de l'aire du pic de cristallisation, divisée par $\Delta T/\Delta t$ (la vitesse de variation de la température), donne la chaleur Q qui, à son tour, est ramenée à la masse de l'échantillon, pour donner $\Delta H_{cristal}$ (J/g).

iii) Détermination T_f et de ΔH_{fusion}

La fusion est une transformation du 1er ordre. c.à.d. \implies Chaleur latente T_f et la variation de capacité calorifique Chaleur latente : chaleur consommée (endothermique) : $Q < 0$

On a donc Q qui diminue et T qui reste constante \implies minimum de $Q/\Delta t = f(T)$

Par convention, Q fournie \implies endothermique \implies négative

L'intégration de l'aire du pic de fusion, divisée par $\Delta T/\Delta t$ (la vitesse de variation de la température) donne Q , divisée par la masse de l'échantillon, donne ΔH_{fusion} (J/g)

iv) Détermination des enthalpies de transition

v) Calcul du taux de cristallinité α_{DSC}

A partir de la chaleur latente de fusion, ΔH_m , il est possible d'estimer α_{DSC} en appliquant la relation :

$$\alpha_{\text{DSC}} = \Delta H_m / \Delta H_m^\infty \cdot [72]$$

Où :

ΔH_m = enthalpie de fusion mesurée

ΔH_m^∞ = enthalpie de fusion pour un cristal infiniment épais .

La valeur ΔH_m^∞ est généralement tirée à partir de tables pour différents polymères. Dans le cas de la gélatine, la valeur de ΔH_m^∞ est égale à 149 J/g [73].

Remarque : dans les cas des polymères et autres matériaux analogues la DSC peut être utilisée aussi pour :

- Identifier le point de ramollissement d'un matériau.
- Comparer les effets des additifs sur un matériau.
- Déterminer la température de transition vitreuse (T_g)
- Déterminer le taux de cristallinité et la température de fusion (T_f).
- Déterminer la température minimale du procédé de fabrication d'un matériau.
- Déterminer la quantité d'énergie nécessaire pour faire fondre un matériau.

- Quantifier la chaleur spécifique du matériau (C_p).
- Exécuter un test de stabilité sous oxygène : Durée d'Induction de l'Oxydation (OIT : Oxydation Induction Time). Ce test est normalisé; exemple de norme: ASTM D3895 - 07 Méthode de test standard pour déterminer le temps d'induction de l'oxydation des polyoléfines.
- Comprendre et quantifier les cinétiques de réaction d'un matériau thermodurcissable pendant sa cuisson.
- Comparer le degré de cuisson ou de réticulation d'un matériau par rapport à un autre.
- Caractériser un matériau lorsqu'il réagit sous lumière Ultraviolette.
- Caractériser un matériau lors de sa cuisson.
- Déterminer la température de cristallisation (T_c) pendant un refroidissement.

A titre d'exemple concret illustrant un thermogramme DSC avec les différentes températures et enthalpies (pics) de transition, le cas du poly (éthylène téréphtalate), PET, est donné ci-après [71]

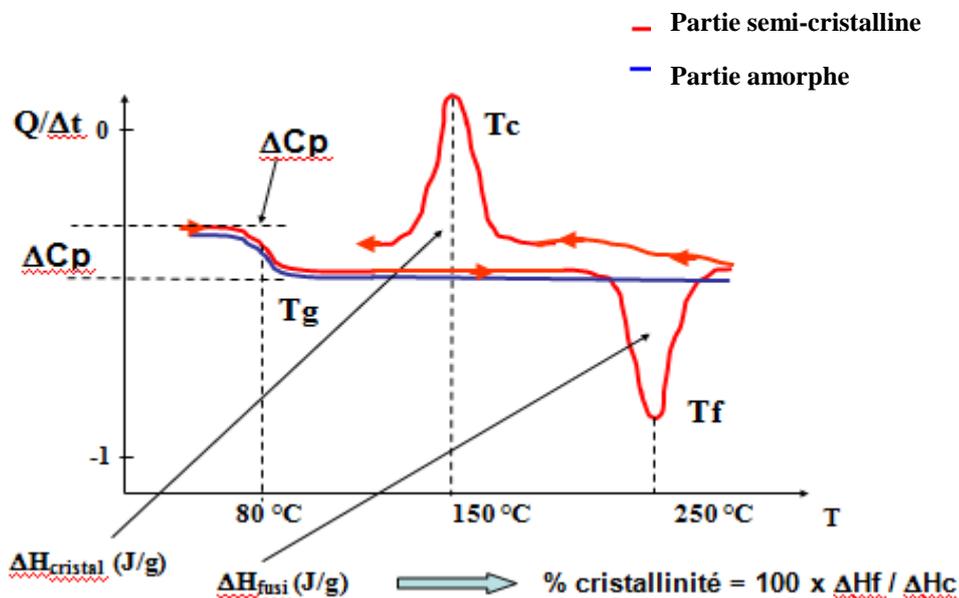


Figure III.2: Figure illustrant un thermogramme DSC avec les différentes températures et enthalpies (pics) de transition du poly (éthylène téréphtalate), PET [71]

vi) Exemples de caractérisation de la gélatine par DSC

Plusieurs auteurs ont appliqué la DSC pour caractériser des matériaux à base de gélatine. On peut citer les travaux de l'équipe de Bigi ainsi que ceux de Fakirov et al. [60, 74] .

Les résultats trouvés par Bigi et al. [74] montrent que l'amélioration des propriétés mécaniques est due aussi à la régénération de la structure trimérique dénaturée de la gélatine suite au traitement thermique. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Achet et He.X.W . [72] ; quelques années auparavant. Bigi et al. ont trouvé que le taux de renaturation (X %) de la gélatine pouvait être estimé à travers les enthalpies de fusion (ΔH_m) et de cristallisation (ΔH_c) selon la relation :

$$X \% = (\Delta H_m / \Delta H_T) \times 100$$

ΔH_m : enthalpie de fusion de la gélatine pour les différents échantillons étudiés.

où $\Delta H_T = 27.8 \text{ J g}^{-1}$ est l'enthalpie de fusion du tendon du collagène traitée dans les mêmes conditions que les échantillons de la gélatine [72].

D'autre part la gélatine, selon Fakirov *et al.* [24], possède deux températures de transition vitreuse : une basse à 82 °C appelée Tg(l) (pour lower Tg) et une haute à 217 °C appelée Tg(u) (pour upper Tg), et une température de fusion à 230 °C proche de Tg(u).

La première température de transition vitreuse est attribuée à la plastification par l'eau présente dans la protéine. Elle diminue quand la quantité d'eau augmente. C'est une contraction thermique qui se manifeste. Elle est due à une contraction physique causée par l'évaporation de l'eau. Par contre, la seconde est une transition conformationnelle de la structure hélicoïdale à la pelote. Elle apparaît dans la gélatine sèche.

Généralement, Tg(u) peut être superposée avec T_f : c'est à dire que sur le thermogramme, il n'y a que T_f qui apparaît [24]

III.3 la méthode de la Microdureté

a) Principe:

Longtemps réservée aux métaux, verres, céramiques..., la technique de l'indentation est de plus en plus utilisée pour caractériser les matériaux polymères.

La technique est très simple ; elle permet d'obtenir une propriété (la dureté, H , sous trois versions (dureté, micro-dureté et nano-dureté) qui peut être directement reliée à l'élasticité du matériau testé et à sa structure (cristallinité, taux et taille des cristallites) [17]. Toutefois la dureté H n'est pas une propriété physique fondamentale du matériau testé, elle fournit des informations sur la microstructure du matériau.

Pour ce qui est des matériaux polymères, c'est plutôt la micro-dureté qui est mesurée ; et c'est ce que nous allons décrire ci- dessous

III.3.1 Essai de la dureté Vickers (H_v):

a) Principe :

La dureté Vickers notée H_v se mesure à l'aide d'un indenteur (en diamant généralement) de forme pyramidale, normalisée, de base carrée et d'angle au sommet entre faces égal à 136° .

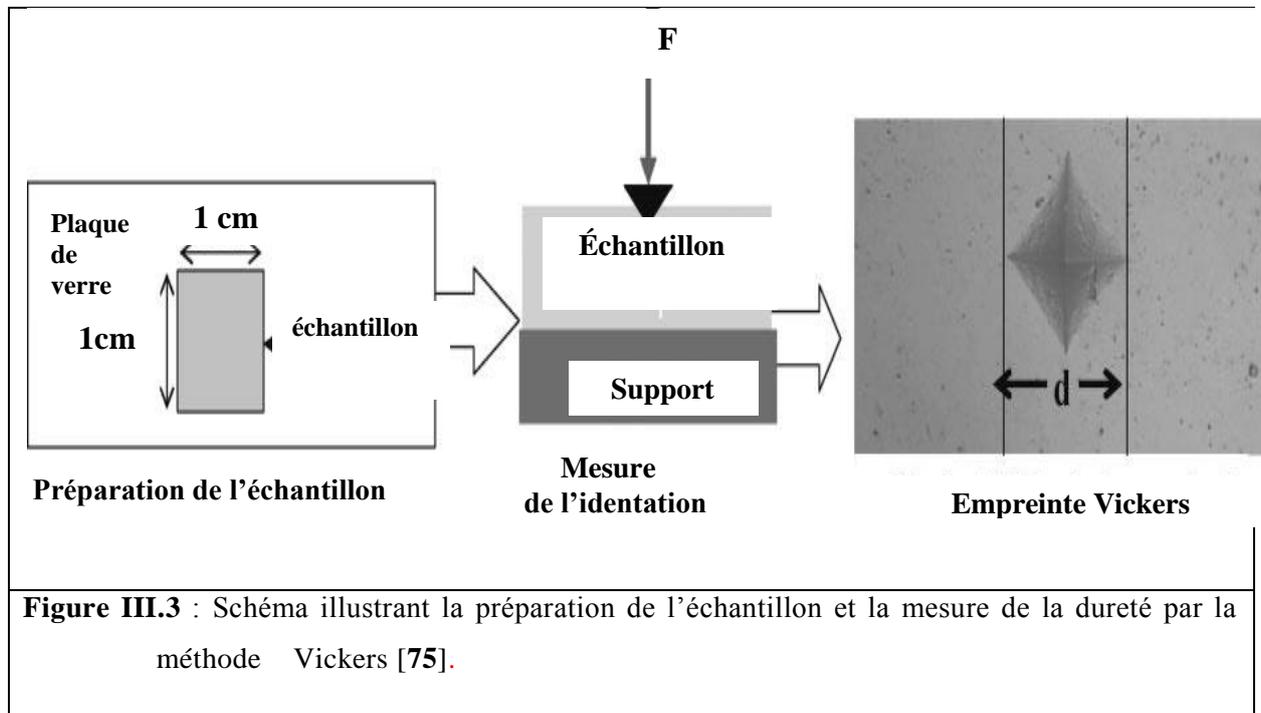


Figure III.3 : Schéma illustrant la préparation de l'échantillon et la mesure de la dureté par la méthode Vickers [75].

Cet indenter, sous l'action d'une force **F** normalisée, appliquée pendant une durée normalisée aussi, va laisser une empreinte à la surface du matériau testé. Les dimensions d'une telle empreinte (profondeur et surtout les diagonales du carré) sont mesurées à l'aide d'un appareil optique. La moyenne des diagonales **d** est alors utilisée pour calculer la dureté **Hv** selon la relation suivante:

$$\mathbf{Hv} = 2\mathbf{F} (\sin 136^\circ / 2) / \mathbf{gd}^2$$

où :

Hv : dureté Vickers

F : force appliquée , en kg ou N

d : dimension de la diagonale de l'empreinte, en mm

g : gravité (m.s²) = 9,80

Cette relation peut se réduire à une forme plus simplifiée :

$$\mathbf{Hv} = 1,854 \mathbf{F} / \mathbf{d}^2$$

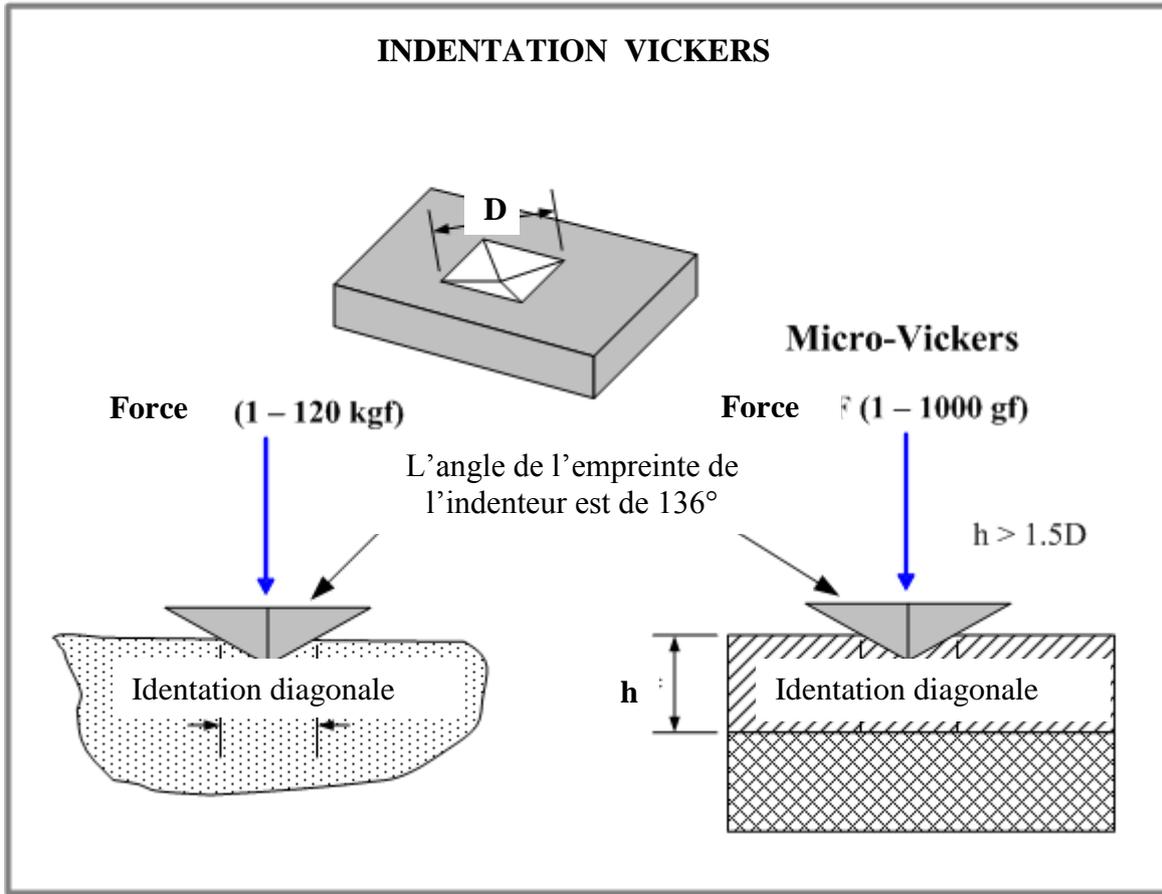


Figure III.4 : INDENTATION VICKERS [76]

Cette propriété est mesurée selon des normes ; la norme européenne étant :
EN ISO 6507-1

Il est à signaler que les mesures de micro-dureté se font sous faibles charges (≈ 100 gf) et permettent des mesures assez localisées ($\approx 100 \mu\text{m}^2$).

Ainsi, un micro-duromètre permet d'arriver à la mesure de la dureté d'une phase donnée (notamment dans les matériaux multiphasiques tels que les composites et les mélanges des polymères). De même les conditions opératoires permettent d'obtenir la micro-dureté de matériaux fragiles et minces (tels que les films de gélatine vierge ou modifiée [23]). Les mesures de micro-dureté nécessitent une préparation délicate des échantillons ; la surface doit être la plus douce possible (absence de rugosité) afin de permettre d'obtenir une empreinte de forme régulière. De plus, l'échantillon doit être maintenu perpendiculaire à l'indenteur de manière à obtenir de bonnes mesures. L'empreinte doit être la plus grande possible afin de maximiser la résolution de la

mesure, généralement, une dizaine d'essais sont réalisés sur le même échantillon et leur moyenne arithmétique prise alors comme valeur de la micro-dureté.

Pour la gélatine vierge, des valeurs de H dépassant les 450 MPa ont été reportées [22]. Cette dureté est abaissée à $H = 250$ MPa pour des films de gélatine plastifiée [20] ou réticulée [21].

III.4. Les avantages du test de Microdureté

C'est une méthode simple, peu coûteuse, rapide, non destructive, qui peut être appliquée pour les échantillons de diverses dimensions et formes ; elle peut être réalisée « in-situ » ; elle dépend de la force appliquée et des dimensions de l'indenteur ; elle nous donne des informations sur la microstructure du matériau à étudier.

CHAPITRE IV

**PREPARATION ET CARACTERISATION DES
DIFFERENTS FILMS A BASE DE GELATINE**

IV. Préparation et caractérisation des différents films à base de gélatine

IV.1 Matériaux

Solutions initiales :

Une gélatine commerciale (Pharmacie Melin, France) d'origine animale et de type B, ayant un point isoélectrique de 5,3 a été utilisée. Des solutions initiales, obtenues à partir de 5g de poudre de gélatine dissous dans 100 ml d'eau distillée, ont été préparées.

Le tableau 1 présente les différents agents chimiques utilisés (plastifiants, réticulant, additifs et autres) pour préparer les films à partir des solutions initiales. Il est à préciser que deux autres agents chimiques ont été utilisés aussi : l'éther- éthylique pour éliminer l'excès de TNBS et l'hydrazide de sodium comme agent antimicrobien afin de prévenir l'apparition de moisissures à la surface des films. Les abréviations suivantes seront utilisées dans le texte :

GEL = Gélatine ; GLY = Glycérol ; PVA = Poly (vinyl alcool) ; GTA = Glutaraldéhyde ; MGEL = Gélatine modifiée (GEL+GLY+PVA) .

Tableau IV.1: Agents de réticulation, plastifiants, additifs et autres agents chimiques utilisés pour la préparation des films.

Produit / (Origine)	Caractéristiques
Glutaraldéhyde (GTA) / (Aldrich)	en solution, concentration massique = 50%
Poly (vinyl alcohol) (PVA)/ (Sigma)	poids moléculaire $\overline{M}_w = 70.000-100.000$ g/mol
Glycerol (GLY)/Riedel de Haen (Germany)	Liquide, pureté = 86-88%
Solution tampon de phosphate (PBS) / Fluka)	pH= 7.4
2,4,6-Trinitro Benzene Sulfonic acid (TNBS) pour dosage des groupements ϵ -amino / (Sigma)	Masse molaire $M=293$ g/mole

IV.2 Préparation de films de gélatine

Diverses études bibliographiques ont été consacrées à la préparation de films à partir de bio-polymères [11. 77]. Il a été rapporté que ces films sont préparés à partir de solutions aqueuses sur des supports hydrophobes tels que le PEHD [78], le Téflon [78], le polystyrène [79], etc.

Pour ce qui est des supports minéraux hydrophiles à base de la silice, la macromolécule protéique ou polysaccharide y adhère fortement et, par conséquent, l'obtention de films devient impossible.

IV .2.1 Plastification des films

Afin d'obtenir des films modifiés, le GLY (à 35% en poids) ou le PVA (à 0,2% en poids) est rajouté à la solution initiale (à 5%/masse/volume de gélatine dans de l'eau distillée). Dans le cas où ces deux plastifiants sont utilisés ensemble, le GLY est rajouté en premier. Le mélange (GEL/GLY ou GEL/PVA ou GEL/GLY/PVA) est ensuite chauffé à 60°C, pendant 20 minutes, sous agitation. Une fois la solution devenue claire, un volume de 15 ml est prélevé et versé dans une boîte de pétri en polystyrène (de diamètre 9,5 cm). Tous les pourcentages sont donnés par rapport à la masse totale de la gélatine (100%) comme rapporté dans une autre étude [63]. Finalement les échantillons sont séchés à l'air et à température ambiante. Les films ainsi obtenus (par casting) ont une épaisseur moyenne de 0,1 mm (mesurée par un réfractomètre opto-mécanique ABBE P01).

IV.2.2 Réticulation des films

Les films (à base de gélatine) réticulés ont été préparés selon la méthode décrite par BIGI et al. [11]. A partir d'une solution initiale de 50% en GTA, différentes concentrations (dilutions) ont été préparées (0,05 ; 0,125 ; 0,25 ; 0,50 ; 1 ; 1,5 et 2,5 %) (en masse/volume) . Les solutions de GTA ont été ensuite utilisées pour réticuler les films de GEL (plastifiés et non- plastifiés) comme suit : les films secs (cast) ont été détachés de leur support et étalés dans des boîtes de pétri. Un volume de 15 ml d'une solution de GTA (PBS, pH =7,4 solution physiologique tampon), pour chacune des concentrations choisies, a été versé directement dans chacune des boîtes de pétri en verre contenant le film correspondant. Après 24 h, sous atmosphère et température ambiante, les échantillons ont

été lavés plusieurs fois à l'eau distillée, puis laissés sécher à l'air libre, à température ambiante.

IV.2.3 Evaluation du degré de réticulation

Compte tenu du fait que la réticulation de la gélatine se produit soit à travers des liaisons hydrogène (réticulation physique) soit à travers des liaisons covalentes (réticulation chimique) impliquant essentiellement les groupements $-NH_2$ et $-COOH$ (de la chaîne principale de la gélatine) et les groupements $-OH$ (des plastifiants et de l'agent de réticulation), il est nécessaire de connaître les différentes réactions qui en lieu et d'évaluer le degré de réticulation résultant. Ce degré a été évalué à travers la détermination du nombre de moles de groupements ϵ -amino, avant et après réticulation, selon la méthode de dosage décrite ci-après.

IV.2.4 Méthode de dosage des protéines

La détermination du nombre de moles de groupes ϵ -amino (mole/g de gélatine) des différents films à base de gélatine étudiés et, subséquentement, l'évaluation du taux de réticulation ont été obtenues à partir de la méthode de dosage des protéines en utilisant l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique (TNBS) telle que décrite par Ofner et al. [80].

Le mécanisme réactionnel mis en jeu dans une telle réaction est illustré par la figure ci-dessous [80] :

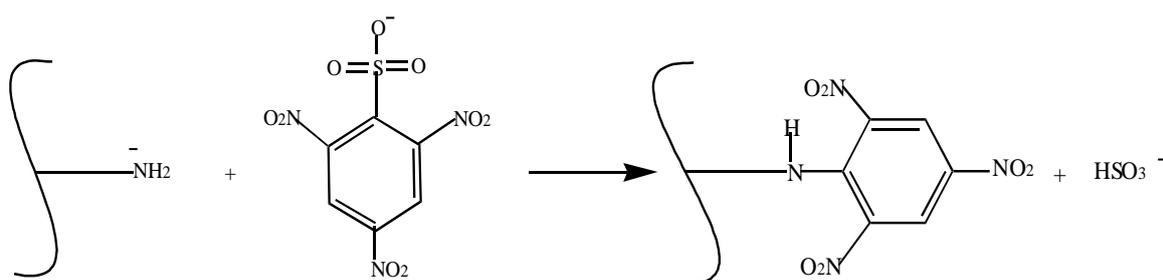


Figure IV. 1 : Réaction de l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique avec les groupements ϵ -amino primaires d'une protéine en milieu alcalin [80]

La réaction de (TNBS) avec les groupes amino primaires de la gélatine permet de déterminer le nombre de groupes ε -amino qui resteraient libres (i.e. non impliqués dans des réaction de réticulation physique et/ou chimique) dans le cas de la gélatine modifiée (plastifiée) et/ou réticulée [80]. Pour cela 11 mg du film sont mélangés avec 1 ml de NaHCO_3 (4% dans l'eau) et 1 ml de TNBS (0,5%). Le mélange est chauffé à 40°C pendant 4 heures, ensuite 3 ml d'HCl (6N) sont rajoutés. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à 60°C, pendant 2 heures afin de solubiliser et dissoudre totalement le film, puis 5 ml d'eau sont ajoutés afin de fixer les produits en excès après la dissolution. Une extraction est faite dans l'éther éthylique pour éliminer l'excès de TNBS ainsi que les groupes α -aminés de trinitrobenzène qui n'ont pas réagi.

Ensuite 5 ml de la phase aqueuse sont prélevés du mélange et chauffés pendant 15 min dans un bain marie afin d'évaporer l'éther résiduel. Puis, 15 ml d'eau sont additionnés à la phase aqueuse. L'absorbance est mesuré à 346 nm, l'appareil utilisé est de type spectrophotomètre UNICAM -UV /VIS à double faisceaux. Les résultats ont été obtenus en convertissant les valeurs d'absorbance en moles de groupements ε -amino par gramme de gélatine en utilisant l'équation (1) [80] :

La relation entre l'absorbance et le nombre de moles des groupes ε -amino par gramme de gélatine est:

$$N_{\varepsilon} = \frac{\text{Nombre de moles de } \varepsilon \text{- amino groupe}}{\text{Gramme de gelatine}} = \frac{2 (\text{Absorbance}) (0.02 \text{ litres})}{(1,46 \times 10^4 \text{ litres/mole.cm}) (b)(x)} \quad (1)$$

b : épaisseur de la cellule mesurée (en cm)

x : masse de l'échantillon (en gramme)

La même absorbance UV est utilisée pour déduire le degré de réticulation par le GTA (χ_c) selon l'équation (2) (Choi et al) [81]

$$\chi_c = 1 - \frac{\text{Absorbance du film réticulé}}{\text{Absorbance du film non réticulé}} \times 100 \quad (2)$$

Les résultats obtenus N_{ε} et χ_c sont donnés dans les Tableaux V.3. et V.4. Une illustration de ces résultats est présentée dans la Figure V. 3.

IV.3 Méthodes de caractérisation des films de gélatine

IV.3.1 Détermination des propriétés mécaniques

Le but de cette caractérisation est de déterminer les propriétés mécaniques en tension. Pour cela, les courbes contraintes-déformation de plusieurs films, préparés à partir de différentes formulations à différentes concentrations de GTA, ont été établies. Les principales propriétés (module d'élasticité E ; contrainte σ_r et déformation à la rupture ϵ_r , ainsi que l'énergie de rupture W_r) sont directement calculés à partir de ces courbes.

Les essais de traction ont été réalisés sur une machine (Adamel-Lhomargy) , équipée d'un micro-ordinateur permettant l'enregistrement de la courbe $\sigma = f(\epsilon)$ et le calcul des différentes caractéristiques (E ; σ_r ; ϵ_r et W_r) . Des échantillons de dimensions 50x50x0.1 mm ont été étirés à une vitesse de 5 mm/min, à température ambiante ; les valeurs données sont les moyennes de cinq essais pour chaque échantillon. La variation de ces propriétés mécaniques a été étudiée aussi en fonction de la composition des films (teneurs en GLY, PVA et GTA) dans le but **d'établir une composition optimale vis-à-vis des propriétés mécaniques en tension.**

Les abréviations suivantes seront utilisées (Juste pour les tests mécaniques) :

Formulation	composition de la formulation
GEL	gélatine pure (100%)
A.I	GEL /GLY/PVA 100/20/0.2 % (wt/wt)
A.II	GEL /GLY/PVA 100/35/0.2% (wt/wt)
A.III	GEL /GLY/PVA 100/50/0.2% (wt/wt)

IV.3.2 Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre IR à transformée de Fourier (IFTR) type : IF/TR-4200 type A, la résolution est de 4 cm^{-1} pour un domaine d'étude allant de 4000 à 400 cm^{-1} , avec un nombre de scans de 32 pour chaque échantillon.

Les échantillons utilisés étaient sous forme de films d'épaisseur 0,1mm, séchés pendant 48 heures à $T=50^\circ\text{C}$.

IV.3.3 Caractérisation par Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC)

Cette caractérisation thermique a été réalisée à l'aide d'un appareil PERKIN-ELMER DSC-7 TAX/7/DX, sous atmosphère inerte de N₂. L'intervalle de température était de 40- 250°C, avec une vitesse de chauffe de 10°C/min. L'Indium pur a été utilisé pour calibrer l'appareil. Les échantillons étudiés étaient sous forme de poudre (gélatine vierge) ou films secs (gélatine modifiée et/ou réticulée) et de masse 2-3 mg environ.

Le taux de cristallinité des films de gélatine mesuré par DSC, α_{DSC} , a été dérivé à partir de l'enthalpie de fusion selon l'expression : $\alpha_{DSC} = \Delta H_m / \Delta H_m^\circ$.

où:

ΔH_m = enthalpie de fusion mesurée, (J/g)

ΔH_m° = enthalpie de fusion pour un cristal infiniment épais, (J/g)

Nous rappelons que la valeur ΔH_m° utilisée dans notre cas était de 149 J/g [72]

IV.3.4 Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

Le diffractomètre utilisé pour la caractérisation "WAXS" (Wide Angle X-ray Scattering) utilisé est de type (Seifert diffractomètre XRD-3000 TT réflexion mode), les conditions de travail sont : Voltage : 40 Kv ; intensité : 35 mA ; intervalle angulaire: 5-40 ° (2θ) ; vitesse de balayage : 0,02°/s.

IV.3.5 Caractérisation par Microdureté

La dureté Vickers notée Hv a été mesurée à l'aide d'un indenteur (type Leika VMHT MOT DFC 320) (en diamant) de forme pyramidale, normalisée, de base carrée et d'angle au sommet entre faces égal à 136°. (voir figure III.3, 4 du chapitre III).

Les valeurs de microdureté données sont les moyennes de huit mesures en différents points de la surface du même échantillon

CHAPITRE V
RESULTATS ET DISCUSSION

V. Résultats et Discussions

V.1 Préambule

Dans un premier temps les films de gélatine (préparés à partir d'une solution de gélatine dans 100 ml d'eau distillée) ont été comparés par rapport à leur tenue mécanique (fragilité, ductilité, retrait...), leur couleur ainsi que leur résistance à la température. Cette comparaison a conduit aux résultats et observations qui sont résumés dans le Tableau V.1

Tableau V.1: caractérisation des différents films étudiés en fonction de leurs compositions

Code	Composition du film	Propriétés Mécaniques	Transparence et couleur	Résistance à la chaleur
1	(GEL)	Dur et fragile	Transparent	Soluble à 40°C
2	GEL/ GLY	Un peu plus dur et moins fragile que 1	Légèrement jaunâtre	Soluble à 40°C
3	GEL/(PVA)	Moins fragile que 1 & 2 et plus souple	Couleur blanchâtre	Soluble à 40°C
4	GEL/GLY/PVA	Non fragile et plus souple que 1 & 2 & 3	Transparent	Soluble à 40°C
5	GEL/ GTA	Film dur + retrait important	Coloration jaunâtre	résistant à la chaleur pour $T \leq 200^{\circ}\text{C}$
6	GEL/GLY/GTA	Film dur + retrait plus faible que 5	Coloration jaunâtre	résistant à la chaleur pour $T \leq 200^{\circ}\text{C}$
7	GEL/PVA/GTA	Moins dur que 6 et retrait moins important que 3 & 6	Légèrement jaunâtre + couleur blanchâtre	résistant à la chaleur pour $T \leq 200^{\circ}\text{C}$
8	GEL/GLY/PVA/ GTA	Plus dur que 4, moins fragile ; souple et sans retrait	Coloration jaunâtre et pas de coloration blanche	résistant à la chaleur pour $T \leq 200^{\circ}\text{C}$

Remarque: - les films GEL, GEL/GLY, GEL/PVA et GEL/GLY/PVA restent hydrosolubles à T=40°C

- les films GEL/GTA, GEL/GLY/GTA, GEL/PVA/GTA et GEL/GLY ne sont pas hydrosolubles et résistent jusqu'à T=200°C.

Nous avons constaté, après le séchage des films préparés à base de gélatine pure qu'ils montraient des propriétés mécaniques faibles et qu'ils étaient très fragiles et solubles à température 40°C. De plus, leur réticulation par le GTA les rend plus difficiles à manipuler : ils deviennent très cassants, et exhibent un important retrait (l'ordre de 15%). Aussi, pour remédier à ce problème nous avons décidé de modifier les films à base de gélatine pure en incorporant différents additifs (agents plastifiants) afin d'introduire plus de ductilité et d'améliorer les propriétés mécaniques, avant de procéder à leur réticulation chimique par le GTA.

V.2 Essais de traction

Les différents résultats (des essais de traction) trouvés sont illustrés à travers les courbes données dans les Figures V.1 et V.2 ci-après.

V.2.1 L'effet du GTA sur la variation de la contrainte à la rupture σ_r des différents films étudiés

La réticulation des différents films de gélatine par le glutaraldéhyde a entraîné une amélioration des propriétés mécaniques statiques de traction par rapport aux films non réticulés (FigV.1)

Afin d'obtenir une composition optimale, nous avons fait varier la concentration de GTA et les propriétés des films correspondants ont été étudiées (évolution des courbes contrainte-déformation en fonction de la teneur de l'agent de réticulation (% GTA)). Les résultats sont illustrés dans la Figure V.1. La valeur la plus élevée de la contrainte à la rupture est obtenue pour la composition suivante : (GEL /GLY /PVA) / GTA : (100/35/0.2) (1.5) (% wt.). Cette valeur est de l'ordre de $\sigma_r = 92.59$ (MPa).

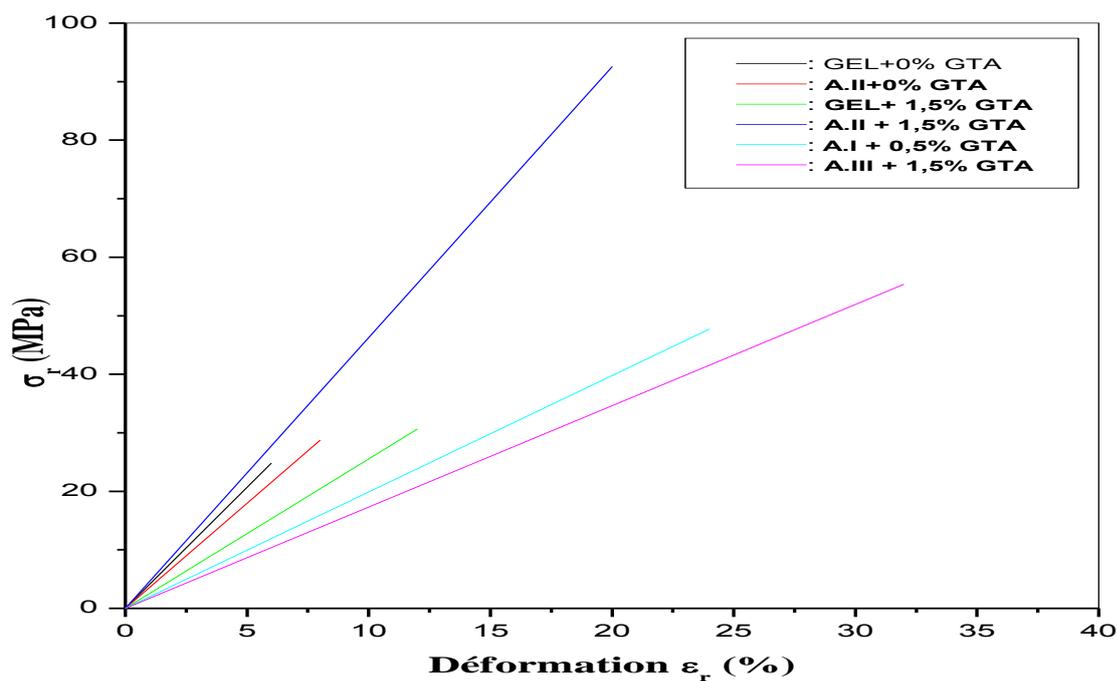


Figure V.1 : Courbes contrainte – Déformation des films étudiés

Tableau V.2 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ϵ_r , E, W_r) des films de gélatine en fonction de leurs compositions.

	Concentration de GTA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation à la rupture (%)
GEL	0	413,61	24,81	0,74	6
A.II	0	359,50	28,76	1,15	8
GEL + GTA	1,5	255,46	30,65	1,83	12
A. I + GTA	0,5	198,86	47,72	5,72	24
A.II + GTA	1,5	462,96	92,59	9,25	20
A.III + GTA	1,5	173,02	55,36	8,85	32

Ces résultats confirment les études antérieures menées par Bigi et al [11, 74] qui ont noté qu'après réticulation, la contrainte à la rupture et le module de Young augmentaient alors que la déformation à la rupture diminuait lorsque la concentration en GTA augmentait et, aussi, que les films restent rigides quelle que soit la concentration de GTA.

V.2.2 l'effet de l'addition des additifs et de l'agent de réticulation sur la contrainte à la rupture σ_r

Une telle étude a montré :

a) que l'addition du glycérol à la solution de la gélatine et en présence du GTA a donné des films durs avec une certaine amélioration du retrait pour une concentration du glycérol dépassant 20% tout en restant fragile.

a) par contre l'ajout du PVA à la solution de gélatine a entraîné une diminution de la fragilité et une diminution du retrait par rapport à (a) pour une concentration de 0,2%.

b) L'incorporation du mélange (GLY/PVA) à la solution de la gélatine a enfin donné des films sans retrait et souples pour une COMPOSITION OPTIMALE (100/35/0,2/1,5) (GEL/GLY/PVA/GTA). (voir FigV.2)

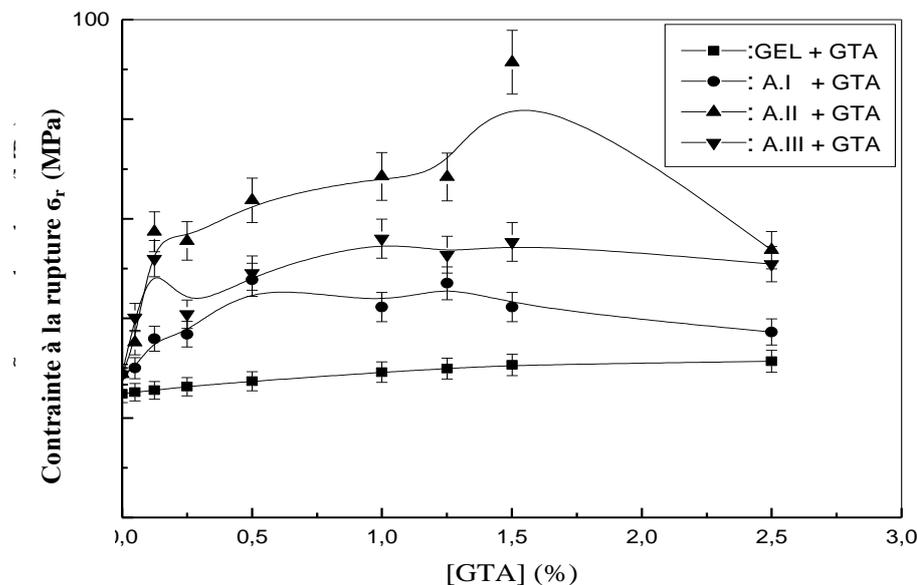


Figure V.2: Variation de la contrainte à la rupture en fonction de la teneur en GTA pour

V.3 Réaction des groupes ϵ -Amino des différents films de gélatine avec le TNBS en absence et en présence de GTA

V.3.1 Dosage des protéines

Les valeurs trouvées de N_{ϵ} , avec une précision de 0.2×10^{-5} moles/g de gélatine, sont données dans les Tableaux 3 et 4, pour les films plastifiés et réticulés, respectivement.

Les abréviations suivantes seront utilisées dans le reste du texte (choisies après optimisation de la composition). (Voir Tableaux 3 et 4)

Tableau V. 3: Nombre des groupes ϵ -amino ayant réagit avec le TNBS, en absence de GTA, pour la gélatine pure et pour les différentes formulations étudiées à base de gélatine.

Symbole de la Formulation	Composition de la Formulation	N_{ϵ} (mole.g ⁻¹)(x 10 ⁻⁵)
F.I	GEL (100%)	33,60
F.II	GEL/PVA (100/0,2) (%)	29,43
F.III	GEL/GLY (100/35) (%)	23,31
F.IV	GEL/GLY/PVA (100/35/0,2) (%)	29,19

Tableau V.4: Effet de [GTA] (0.05%) sur le nombre N_{ϵ} des groupes ϵ -amino ayant réagi avec le TNBS

Symbole de la formulation	composition de la Formulation	N_{ϵ} (mole.g ⁻¹)(x 10 ⁻⁵)
F.I	Gelatine pure (100%)	33,60
F.I/GTA	GEL + GTA (0.05%)	21,17
F.IV	Gélatine modifiée par (GLY/PVA) (100/35/0.2) (%)	29,19
FIV/GTA	GEL modifiée par (GLY/PVA) (100/35/0.2) (%) + GTA (0.05%)	17,16

Ces valeurs nous amènent à conclure que:

i) En absence de GTA : l'addition des différents additifs entraîne une diminution de N_{ϵ} . Ceci peut être expliqué par le fait que ces additifs ont réagi avec la gélatine en provoquant une réticulation physique avec le GLY et le PVA en premier lieu (puis avec leur mélange) car ces derniers possèdent un proton et/ou deux protons labiles, et la gélatine à son tour possède un groupe nucléophile $-NH_2$ qui peut facilement provoquer une liaison hydrogène. [82,83].

ii) En présence de GTA : le même raisonnement qui a été donné précédemment peut être évoqué. Toutefois la diminution de N_{ϵ} est plus importante car le GTA à son tour possède des groupements carbonyle qui provoquent une réticulation chimique en même temps. Ainsi, les valeurs de N_{ϵ} peuvent diminuer encore plus, ce qui ressort clairement à travers les valeurs reportées dans le Tableau V. 4 (de 33.60 pour FI à 21.17 pour FI/GTA, et de 29.19 pour FIV à 17.16 pour FIV/GTA). La même tendance a été observée pour d'autres formulations.

La variation de N_{ϵ} , équation (1), est traduite dans la variation du degré de réticulation χ_c , équation (2). (par exemple), pour la gélatine pure, ce degré varie de $\chi_c = 37\%$ for $[GTA] = 0.05\%$ à $\chi_c = 82\%$ pour $[GTA] = 1.50\%$. Un exemple de cette variation est montré dans la Figure V.3, juste pour illustrer la tendance générale. Dans cette figure, l'évolution du degré de réticulation en fonction de la variation de la concentration de GTA est montrée pour les films à base de gélatine pure FI et plastifiée FIV. On constate que χ_c est plus élevé pour FIV, cela signifie que les agents plastifiants réagissent aussi comme agents de réticulation physique pour le GTA. Nous pouvons noter que χ_c tend vers une valeur maximale (pour $[GTA] = 0.5\%$ de l'échantillon FIV et pour $[GTA] = 1.25\%$ pour l'échantillon de FI). Une telle variation en fonction de la variation de la concentration de GTA est similaire à celle déjà observée dans la figure V.2

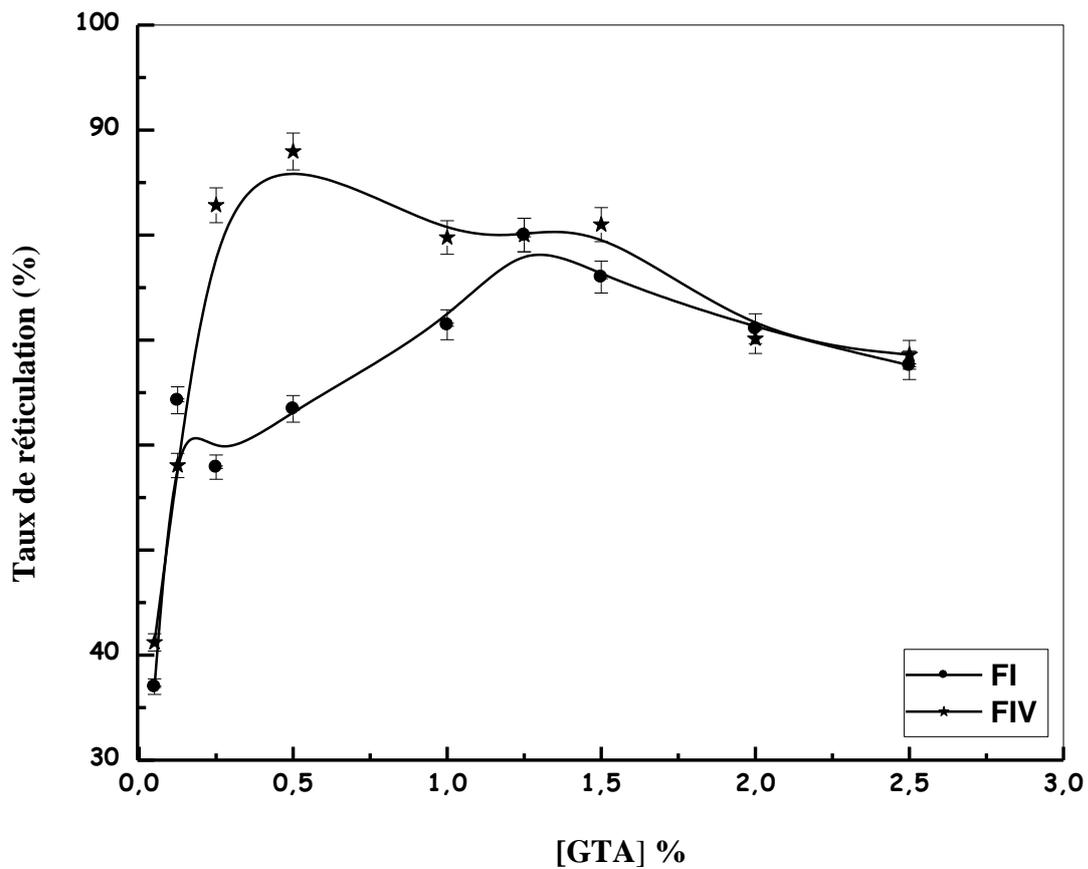


Figure V.3: Variation du degré de réticulation en fonction de la concentration de GTA pour les formulations FI et FIV.

V.3.2 variation des propriétés mécaniques en tension avec le degré de réticulation .

Après avoir déterminé les taux de réticulation et leur variation avec [GTA], il est opportun d'illustrer l'effet de ce taux de réticulation sur les propriétés mécaniques en tension.

V.3.2.1 Effet de la concentration de l'agent réticulant sur le module d'élasticité E des films modifiés et non modifiés

La variation du module d'élasticité de Young E, en fonction de la concentration de l'agent réticulant, pour les films modifiés et non modifiés est montrée dans le tableau 5.

Tableau V. 5 : Effet de la variation de la concentration de l'agent réticulant (GTA) sur le Module (E) des films de (GEL) pure et modifiée (MGEL)

Composition des échantillons	Energie Wr en (Joule)	Module de Young E(MPa)	Composition des échantillons	Energie Wr en (Joule)	Module de Young E(MPa)
GEL	0.745	413.61	MGEL(GEL+GLY+PVA)	1.15	359.50
GEL + 0.05 % GTA	1.51	209.85	MGEL + 0.05 % GTA	2.10	401.23
GEL + 0.125 % GTA	1.53	212.89	MGEL + 0.125 % GTA	5.74	287.03
GEL + 0.25 % GTA	1.57	218.97	MGEL + 0.25 % GTA	3.33	462.90
GEL + 0.5 % GTA	1.64	228.10	MGEL + 0.5 % GTA	8.92	220.45
GEL + 1.0 % GTA	1.45	291.97	MGEL + 1.0 % GTA	4.11	570.98
GEL + 1.5 % GTA	1.83	255.46	MGEL + 1.5 % GTA	9.25	462.96
GEL + 2.5 % GTA	1.25	392.32	MGEL + 2.5 % GTA	5.30	268.51

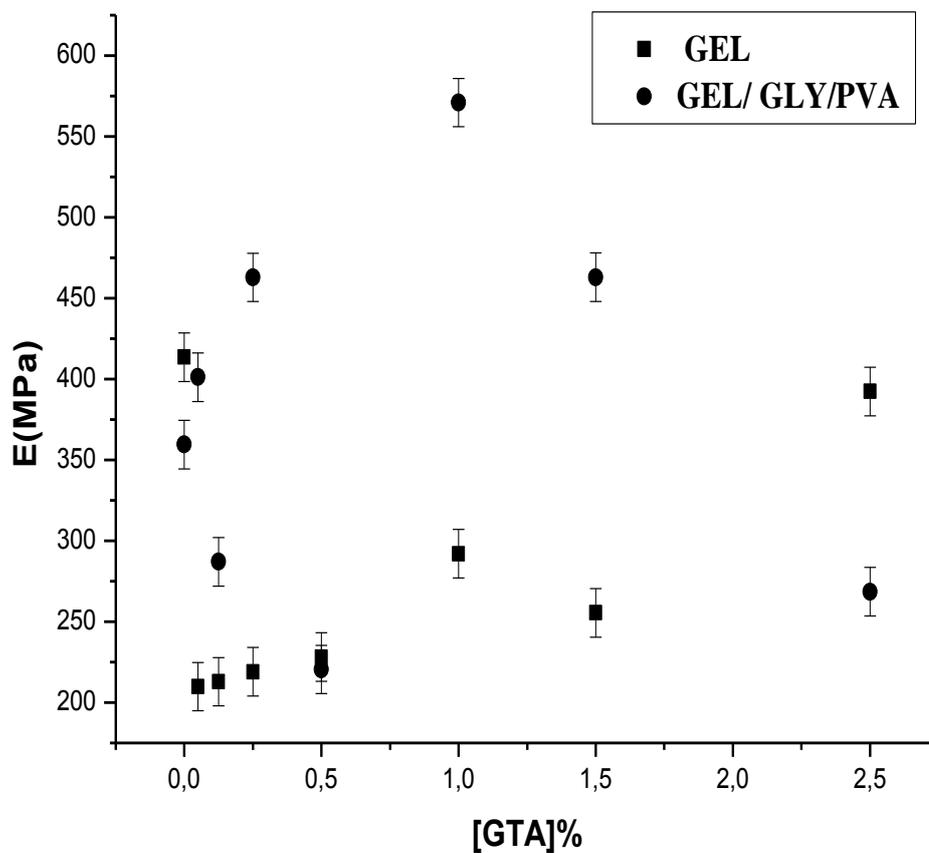


Fig V. 4 : variation du module d'élasticité E en fonction de la variation de la concentration de GTA des films de gélatine modifiés par (GLY/PVA/GTA) et des films non modifiés (GEL)

V.3.2.2 Effet du degré de la réticulation χ_c sur le module E pour les deux types de formulation (GEL) pure et (MGEL) modifiée

L'effet du degré de la réticulation sur le module d'élasticité E pour les deux types de formulation (GEL) et (MGEL) est illustré dans le tableau V.6

Tableau V. 6: Effet du degré de la réticulation χ_c sur le module E pour les deux types de formulation (GEL) pure et (MGEL) modifiée

Composition des échantillons	Taux de réticulation χ_c (%)	Module de Young E(MPa)	Composition des échantillons	Taux de réticulation χ_c (%)	Module de Young E(MPa)
GEL	–	413.61	MGEL (GEL+GLY+PVA)	–	359.50
GEL + 0.05 % GTA	36.99	209.85	MGEL + 0.05 % GTA	41.21	401.23
GEL + 0.125 % GTA	64.27	212.89	MGEL + 0.125 % GTA	58.06	287.03
GEL + 0.25 % GTA	63.60	218.97	MGEL + 0.25 % GTA	82.84	462.90
GEL + 0.5 % GTA	63.45	228.10	MGEL + 0.5 % GTA	83.27	220.45
GEL + 1.0 % GTA	71.46	291.97	MGEL + 1.0 % GTA	79.77	570.98
GEL + 1.5 % GTA	82.60	255.46	MGEL + 1.5 % GTA	87.80	462.96
GEL + 2.5 % GTA	67.60	392.32	MGEL + 2.5 % GTA	68.60	268.51

En comparant les deux courbes des deux types de formulation en fonction de la variation de la concentration de GTA, nous remarquons qu'elles ont la même tendance : une valeur de E a été observée égale à 413 MPa pour le film non modifié et non réticulé puis une diminution rapide de E pour les films réticulés égale à 210 MPa pour [GTA]= 0.05% suivie d'une augmentation presque progressive de E allant jusqu'à 390 MPa pour [GTA]= 2.5% . Ceci, peut être expliqué par le fait que l'évaporation de l'eau a favorisé la formation de cristallites [20,23,24] dû aux interactions électrostatiques entre la gélatine et l'eau en formant un IPN physique d'où diminution de la mobilité des chaînes linéaires ou individuelles et par conséquent une diminution de la température de transition vitreuse Tg [20,23,24,53]. Le film ainsi obtenu a montré une grande fragilité et une déformation très courte à la rupture ce qui a entraîné une énergie à la rupture très faible (voir Tableau.V.5) bien que, nous remarquons que la valeur de E du film non réticulé est plus élevée par rapport aux films réticulés. Nous

pouvant dire que l'effet plastifiant de l'eau [20, 23,24] seule dans le film a augmenté la fragilité et a diminué la rigidité du film. Par contre, l'ajout de l'agent réticulant a fait diminuer beaucoup plus la quantité d'eau (voir Tableau.V.12) et a favorisé une réticulation chimique (IPN chimique) d'où une restriction de la mobilité des chaînes individuelles par la présence des groupements fonctionnels volumineux et, par conséquent, une diminution plus importante de Tg. La variation de la concentration de GTA a montré une augmentation presque progressive du taux de réticulation allant de (36.99 à 82.60 %) (voir Fig.V.3) puis une diminution jusqu'à 62.60 %. Néanmoins, nous remarquons que les valeurs de E sont plus faibles que celles du film non réticulé, mais la déformation à la rupture a augmenté et, par conséquent, l'énergie à la rupture a augmenté en fonction de l'agent réticulant GTA de 1.51-1.83 (voir Tableau.V.2, 5) puis, nous observons une diminution de la valeur de E pour [GTA] = 2.5%. Nous pouvons dire donc que les films réticulés sont moins fragiles et plus rigides que le film non réticulé. De plus, la réticulation par le GTA affecte le module d'élasticité E, en provoquant une diminution de sa valeur et, en même temps, il y'a eu une augmentation du réseau réticulé en fonction de la variation de GTA et par la même une augmentation de la quantité d'eau libérée. (Tableaux.V.5, 12).

En analysant les courbes du degré de réticulation et du module E en fonction de la variation de la concentration de (GTA) pour les films modifiés et/ou modifiés et réticulés, nous constatons qu'elles ont la même tendance, plus [GTA] augmente et plus le module E augmente. Pour E= 360 MPa pour le film modifié et non réticulé, nous remarquons qu'il a eu une diminution de la valeur de E par rapport au film non modifié et non réticulé ceci peut être expliqué par l'incorporation du mélange (GLY/PVA) qui a joué le rôle de plastifiant [20,23,24,83] .

Pour les films modifiés et réticulés E augmente de 401.233 pour [GTA]= 0.05 % et passe par un maximum E= 570 MPa pour la concentration de [GTA] = 1% (ceci s'explique par l'effet plastifiant du mélange GLY/PVA vis à vis de la gélatine) puis une diminution de E jusqu'à 462 MPa pour une concentration de [GTA] = 1.5 % et suivi d'une diminution jusqu'à 268MPa pour une concentration de [GTA] = 2.5%. Nous pouvons dire que l'effet combiné de la plastification et de la réticulation l'emporte sur l'effet de la réticulation seule ; c'est-à-dire que le processus de la plastification et de la réticulation ont rendu les films non seulement beaucoup moins fragiles mais aussi plus rigides par rapport aux films non modifiés et réticulés dans un domaine de concentration de GTA allant de (0.05-1.5). Au delà ils, deviennent moins rigides par rapport au film modifié et non réticulé .Nous pouvons dire que cet effet combiné de la plastification et la réticulation a amélioré les propriétés mécaniques (E, ϵ_r , W_r et σ_r) (voir les Tableaux.V.5, 6,12) et qui mène à conclure que le processus de la plastification et de réticulation l'emporte sur l'effet de la réticulation seule.

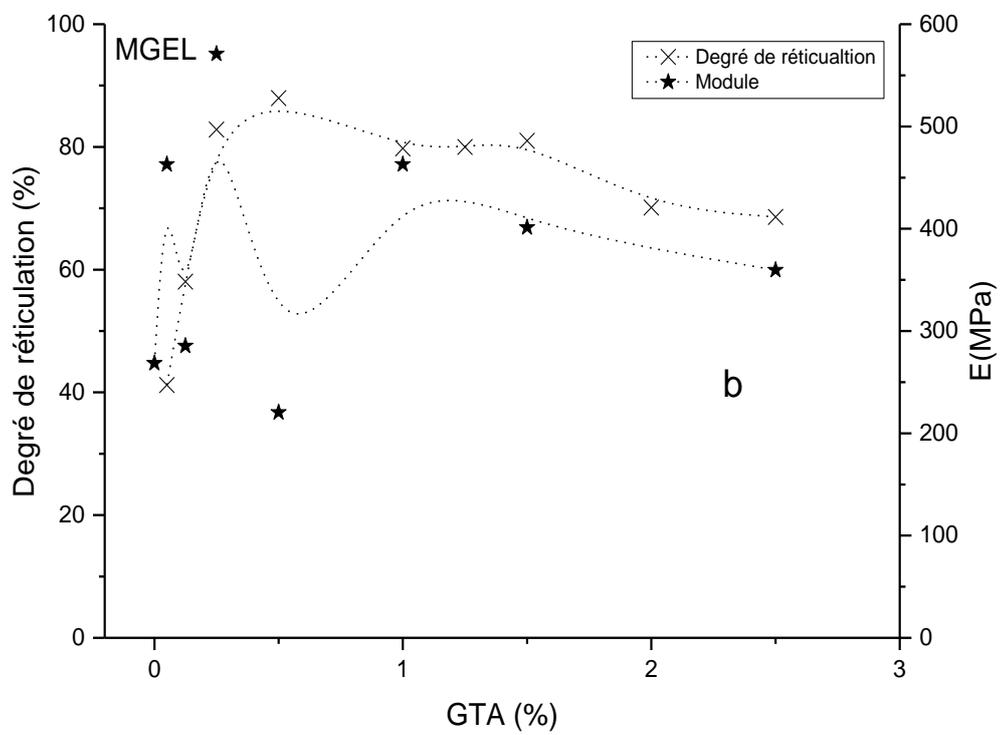
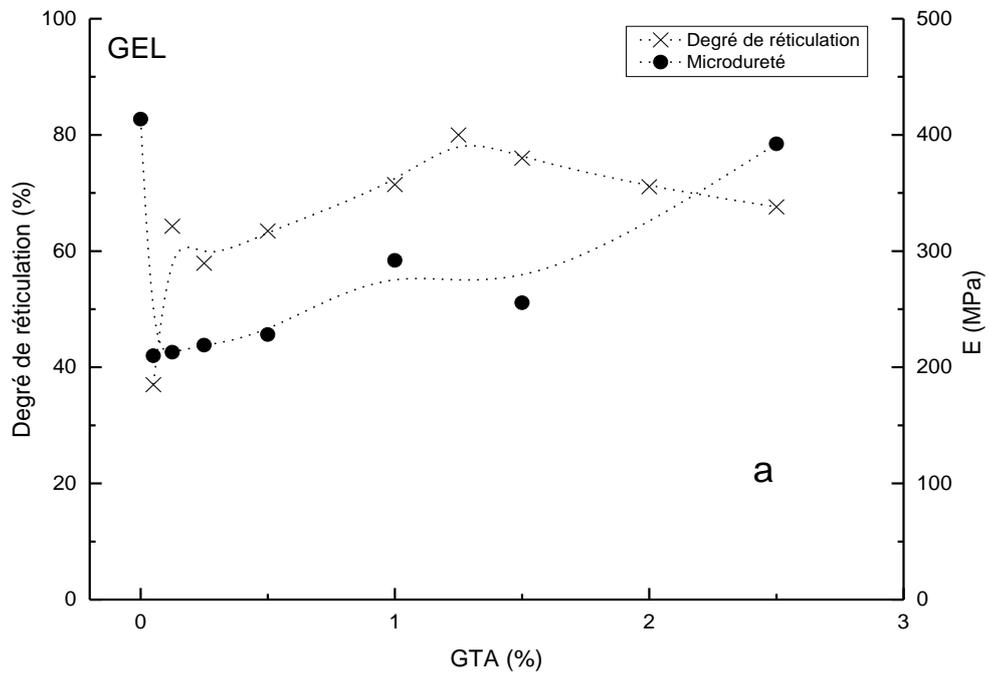


Fig.V.5 a,b

V.4 Modification et réticulation des différents films à base de gélatine

Dans le cas de la modification et de la réticulation des films à base de gélatine, nous observons que le nombre des groupes ε -amino, $N\varepsilon$, a considérablement diminué par rapport aux films non modifiés et réticulés (voir Tableau V.3) ; en conséquence le degré de réticulation χ_c a nettement augmenté pour les différentes concentrations de GTA, particulièrement pour [GTA] supérieure ou égale à 0.25%. Une telle augmentation de χ_c peut être expliquée comme suit : plus [GTA] augmente, plus le nombre de sites de réticulation chimique augmente. Toutefois cette augmentation atteint rapidement un palier pour [GTA] ≥ 0.5 %.

Cette augmentation de χ_c résulte du fait que le mélange (GLY/PVA) réagit non seulement avec la gélatine mais aussi avec le GTA. Ceci montre que, dans un premier temps, une formation d'une liaison hydrogène entre les hydrogènes labiles des groupes hydroxyle des additifs ajoutés, et les groupes amino $-NH_2$ de la gélatine (réseau physique). Dans un deuxième temps, (et, additionnellement à la réaction entre les groupements carbonyles du GTA et les groupements $-NH_2$ de la gélatine comme déjà vu, d'autres réactions entre les groupes carbonyle de GTA et le différent alcool groupe (hydroxy) du PVA et du GLY, ont lieu, et mènent à la formation des héli acétals et acétals. Ensuite, cette formation est suivie par une amination et déshydratation, résultant ainsi en un réseau réticulé chimiquement [84, 85].

Nous pouvons noter que pour les différentes formulations étudiées, le degré de réticulation tend vers une valeur maximale qui représente le taux de réticulation le plus élevé avoisinant 88% pour la formulation FIV. Au delà de cette valeur, la vitesse de la réticulation diminue, ainsi que le nombre de pontage. Ceci peut être expliqué probablement par le fait que GTA devient monofonctionnel. i.e. menant à un greffage au lieu d'une réaction de réticulation.

A travers les valeurs reportées dans les (tableaux V.3 et 4) et la Figure.V. 3. ; nous pouvons conclure aussi que:

- le PVA réagit beaucoup plus comme un plastifiant au lieu d'un réticulant physique (une faible diminution en $N\varepsilon$ est observée),
- Quand il est mélangé avec le GLY, le PVA est plus effectif que le GLY dû à sa longue chaîne qui mène à une structure d'un semi-IPN avec la gélatine. Ce type de réseau interpénétrant est typique pour la gélatine et a été reporté par Fakirov et al. [23].
- Les films GEL/GLY sont plus fragiles que les films GEL/PVA ou GEL/GLY/PVA. Ceci est dû à la grande efficacité de la réticulation du GLY à travers la présence de ses trois groupes -OH (Remarque: GLY joue un double rôle: plastifiant pour la gélatine et pour le PVA aussi).
- GTA est un fort et bon agent de réticulation chimique pour la gélatine et les films à base de gélatine (comme montré par la diminution importante en $N\varepsilon$).

Les réactions de réticulation physiques aussi bien que chimiques prévues ont été confirmées par IFTR des différents films étudiés; Ceci a été bien visible à travers les spectres: V.6 ; V.7 ; V.8 et V.9. [86]

L'examen du spectre du mélange (Gel/PVA) montre une large bande allant de 3600 cm^{-1} jusqu'à 2800 cm^{-1} . Cette importante absorption résulte de la superposition des bandes d'élongation des liens OH et NH_2 mais aussi des liens OH et COOH. Ceci semble témoigner d'une réaction entre les groupes amino acides de la gélatine et les groupes OH du poly(vinyl alcool) conduisant à la formation des liaisons de types $\text{HN}^+ \cdots \text{OH}^-$ ou $\text{C}=\text{O} \cdots \text{HO}^-$.

V.5 Analyse Spectrophotométrique IRTF

a) Gélatine / PVA

La figure V.6 montre le spectre IRTF du mélange (Gélatine/PVA) de la gélatine et du PVA purs.

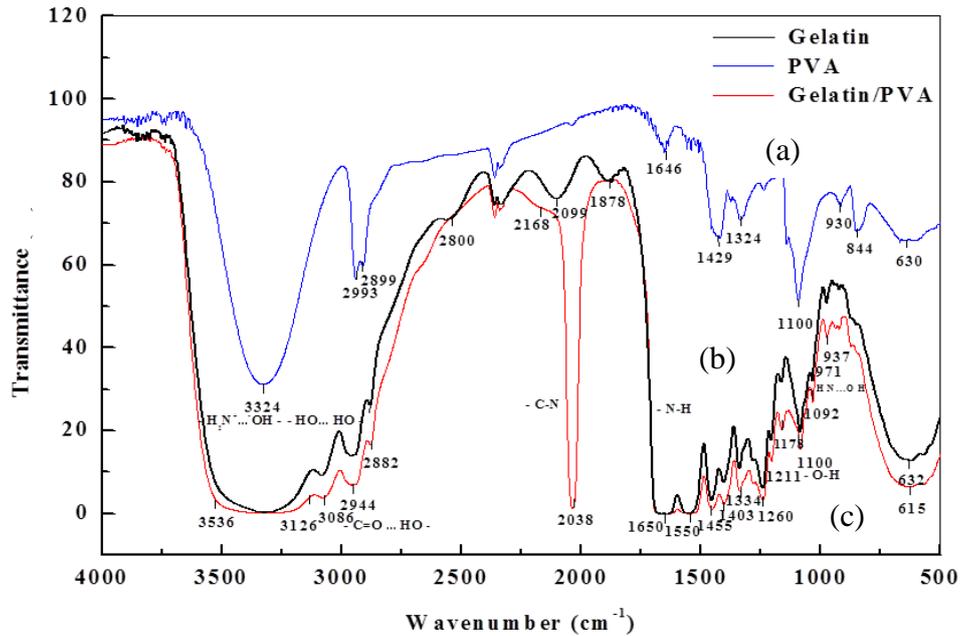


Figure V.6: Spectre IFTR de (a) PVA, (b) gélatine et (c) mélange gélatine /PVA .

En conséquence, la gélatine par l'intermédiaire de ses fonctions acide aminé, réagit avec les fonctions alcool du PVA suivant les réactions suivantes :

Association par liaisons hydrogène des groupes OH et NH.

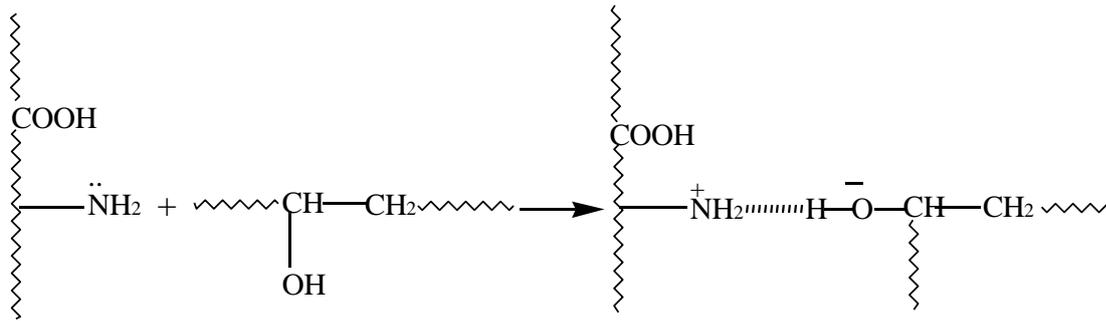


Schéma V.1 : Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre les groupes -NH_2 et les groupes -OH du PVA ou le Glycérol

Association par liaison hydrogène des groupes OH et CO.

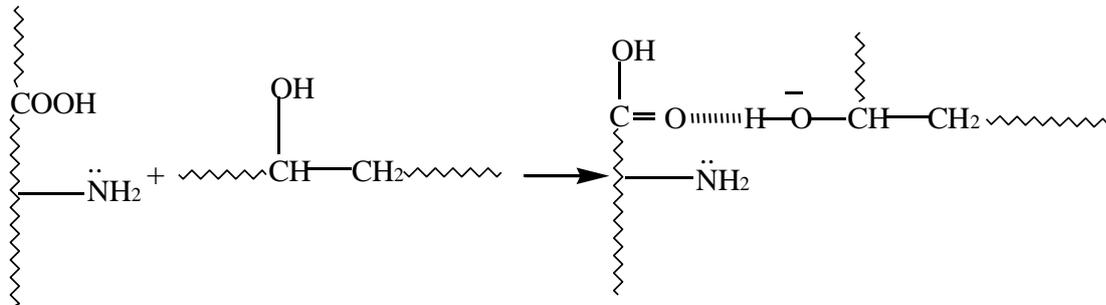


Schéma V.2 : Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre le groupe (-C=O) du groupement -COOH de la gélatine et le groupe -OH du PVA ou le Glycérol

De plus, des bandes de combinaisons multiples apparaissent entre 3086 cm^{-1} et 2000 cm^{-1} . La plus importante est celle centrée vers 2038 cm^{-1} attribuée aux vibrations d'élongation de la liaison C-N d'un sel d'amine primaire. Les autres bandes traduisent les vibrations d'élongation OH des acides carboxyliques impliquées dans les liaisons hydrogène. Dans ce cas la gélatine s'associe par l'intermédiaire de ses groupes -COOH avec les groupes -OH du poly (vinyl alcool) selon la réaction :

Association par liaisons hydrogène des groupes OH.

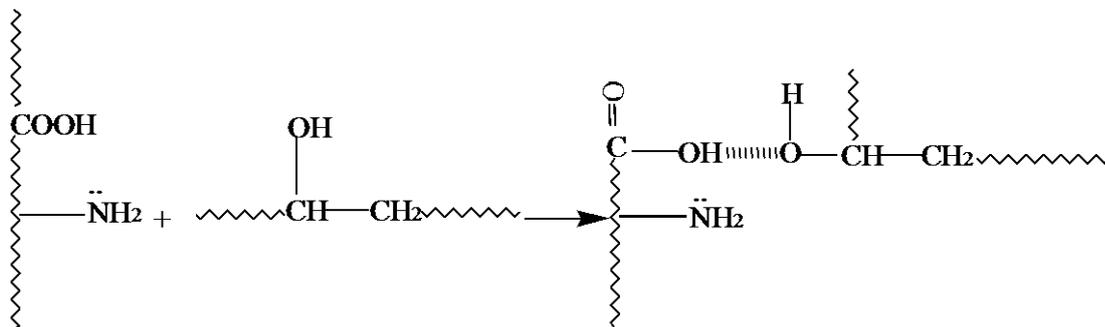


Schéma V.3 : Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre le groupe (-OH) des groupements de -COOH de la gélatine et les groupes -OH du PVA ou du Glycérol.

La bande de faible intensité centrée à 937 cm^{-1} provient vraisemblablement du balancement hors du plan de la liaison NH impliquée dans un pont hydrogène. Les deux bandes observées à 1650 cm^{-1} et à 1550 cm^{-1} sont assignées à la déformation NH du groupe NH_2 , l'épaulement à 2168 cm^{-1} provient de l'harmonique du NH des amines primaires. De plus, les deux bandes observées vers 1260 cm^{-1} et 1100 cm^{-1} représentent les absorptions typiques des alcools primaires. Une explication plausible à ce résultat serait que les groupes NH_2 de la gélatine et les groupes OH du poly (vinyl alcool) ne participent pas tous à une telle réaction.

En conséquence, la réaction globale est illustrée par le schéma suivant :

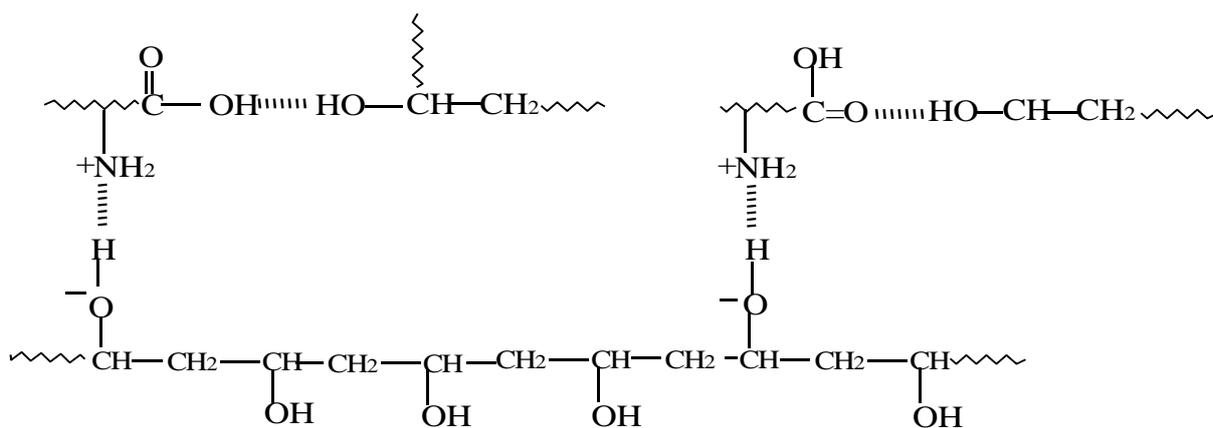


Schéma V.4 : Réaction de réticulation physique induite par l'interaction entre les groupes -NH₂ et -COOH de la gélatine et les groupes -OH du PVA et du Glycérol .

b) Gélatine / Glycérol

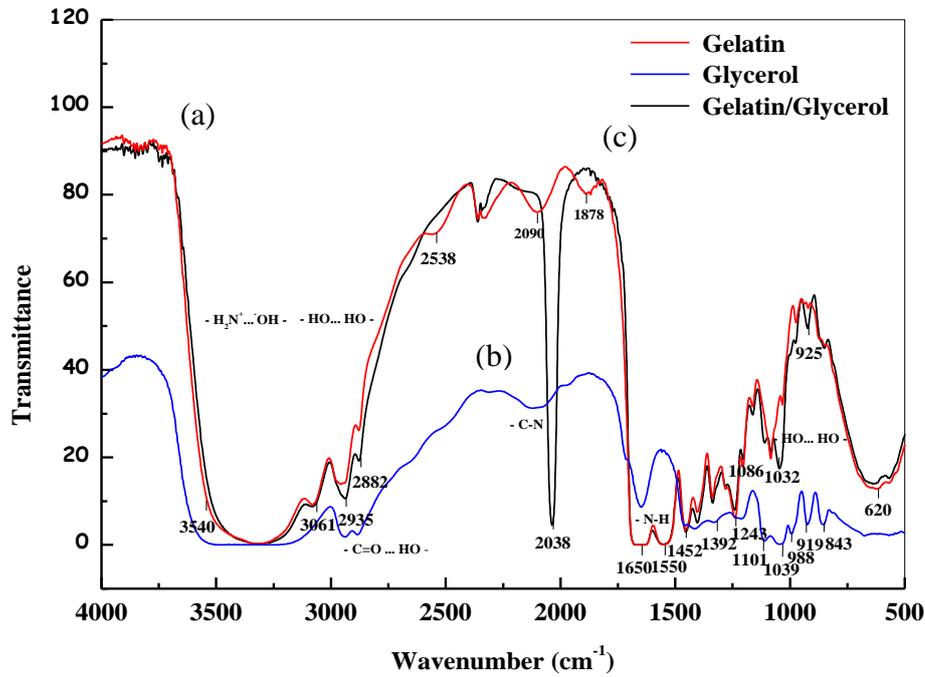


Figure V.7 : Spectres IFTR de la (a) Gélatine (a), (b) du Glycérol et (c) du mélange Gélatine/Glycérol .

Le spectre (c) du mélange Gélatine /Glycérol montre une large bande allant de 3600 cm⁻¹ jusqu'à 2600 cm⁻¹. Cette absorption importante est attribuée aux vibrations d'élongations NH ou OH engagées dans les liaisons hydrogène. Comme prévu, une réticulation physique a eu lieu (comme déjà observé pour les mélanges Gélatine/PVA, une réticulation physique peut se produire. Les bandes d'absorption situées à 2360, 2345 et 2140 cm⁻¹, traduisent les vibrations élongations de la liaison C-H des motifs CH₂ des segments hydrocarbonés des deux constituants du mélange.

c) Gélatine / Glycérol /PVA

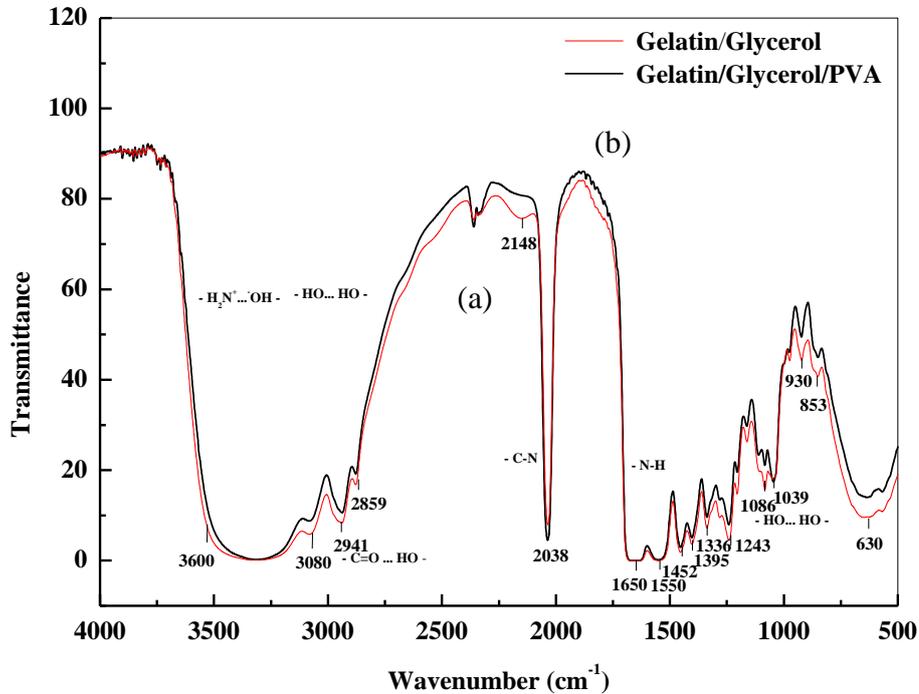


Figure V.8: Spectres IFTR des mélanges (a) gélatine/glycérol et (b) gélatine/glycérol/PVA

L'examen des deux spectres montre une large bande allant de 3600 cm^{-1} jusqu'à 2859 cm^{-1} . Cette importante absorption résulte de la superposition des bandes d'élongations des liens OH et NH_2 mais aussi des liens OH et COOH ; ceci semble témoigner d'une réaction entre les groupes amino-acides de la gélatine et les groupes OH du PVA ou du glycérol conduisant à la formation des interactions de types $\text{HN}^+\cdots\text{OH}^-$ ou $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}^-$. Une bande centrée à 2038 cm^{-1} par le mélange (gel/gly /PVA) similaire aux deux premiers spectres des mélanges (GEL /PVA et GEL/Gly), est attribuée aux vibrations, d'élongation de la liaison C-N d'une seule amine primaire. La bande de faible intensité centrée à 930 cm^{-1} similaire aux deux premiers spectres qui provient du balancement hors du plan de la liaison -NH impliquée dans un pont hydrogène.

Les deux bandes observées 1650 cm^{-1} et à 1550 cm^{-1} sont assignées à la déformation -NH du groupe NH_2 , l'épaule à 2148 cm^{-1} provient de l'harmonique du -NH des amines primaires. les deux bandes observées vers 1243 cm^{-1} et 1039 cm^{-1} représentent les absorptions typiques des alcools primaires. Nous remarquons que les groupes NH_2 de la gélatine et les groupes OH du PVA et du glycérol ne participent pas tous à cette réaction comme déjà prévu pour les mélanges (gélatine /PVA et gélatine/glycérol) dans les deux premiers spectres respectivement.

d) Gélatine / glycérol / poly (vinyl alcool)/ glutaraldéhyde

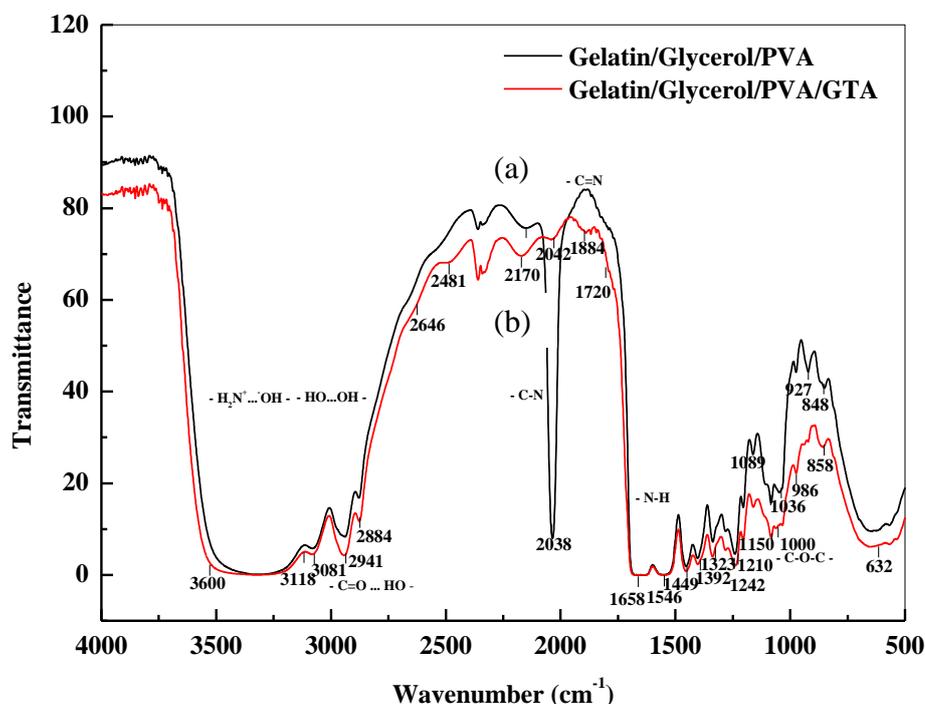


Figure V.9: Spectres IFTR des mélanges (a) gélatine/glycérol /PVA et (b) gélatine/ glycérol /PVA) /GTA

La figure V.9 représente les spectres IFTR du mélange réticulé avec le glutaraldéhyde (GEL/ GLY / PVA) /GTA).

Le spectre du mélange réticulé se distingue par l'apparition d'une nouvelle bande, de faible intensité, vers 1884 cm^{-1} . La courbe (b) peut indiquer la formation d'un sel d'amine primaire. La bande très large observée entre 3600 cm^{-1} et 2700 cm^{-1} confirme une fois de plus la présence d'un pont hydrogène témoignant d'une réaction entre les groupes NH_2 et COOH de la gélatine et les OH du glycérol et/ou du poly(vinyl alcool). Le spectre du mélange réticulé se distingue aussi par plusieurs bandes d'absorption situées respectivement à 3081 , 2941 et 2884 cm^{-1} .

Ces différentes bandes sont attribuées à l'absorption du groupement OH des acides carboxyliques associés par liaison hydrogène. Le mécanisme réactionnel met en jeu différentes associations par liaison hydrogène comme proposées précédemment. La bande centrée vers 1884 cm^{-1} pourrait être due à la vibration de valence du groupement C=N .

L'explication de ce résultat implique que l'interaction entre l'agent réticulant et le mélange est suivie d'une condensation avec élimination d'eau selon la réaction :

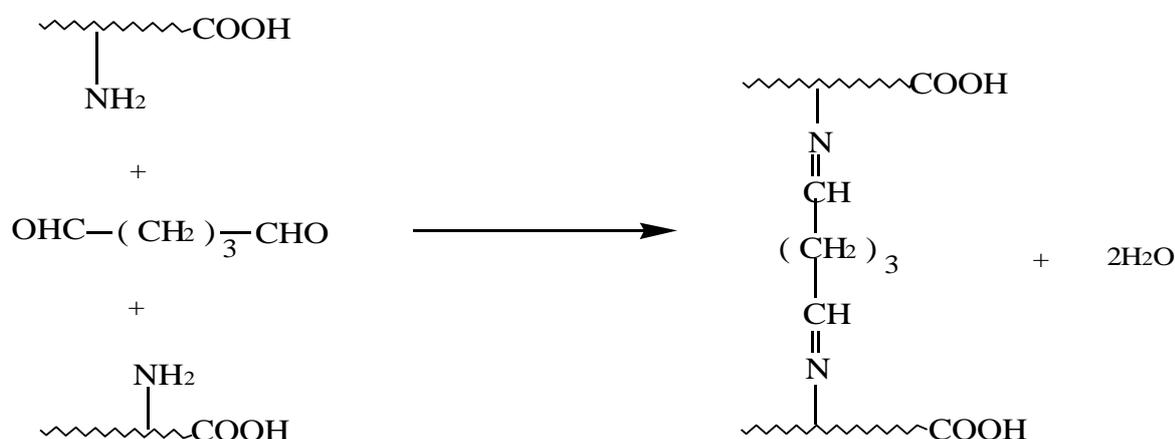


Schéma V.5 : Réaction de réticulation chimique induite par l'interaction entre les groupes $-\text{NH}_2$ de la gélatine et les groupes $-\text{CHO}$ du Glutaraldehyde

Les deux bandes de faibles intensités observées vers 1150 cm^{-1} et 1000 cm^{-1} confirment la présence d'une liaison de type C-O-C. Ce résultat plaide en faveur de la formation d'une réaction d'acétalisation produite suite à des interactions entre le glutaraldéhyde, le glycérol et le poly(vinyl alcool).

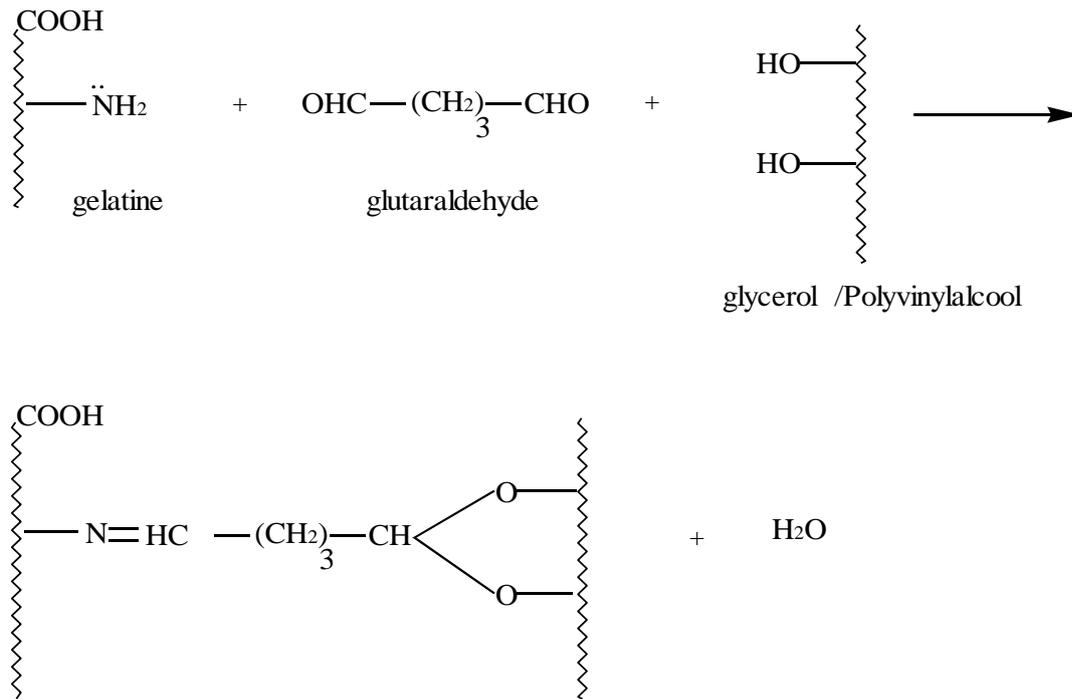


Schéma V.6 : Réaction de réticulation chimique induite par les groupes $-\text{NH}_2$ de la gélatine et les groupes $-\text{CHO}$ du Glutaraldéhyde et les groupes $-\text{OH}$ du PVA ou du Glycérol

V.6 Microdureté, comportement thermique et cristallinité

V.6.1 1' Effet du type de plastifiant et de l'agent de réticulation

L'effet du type de plastifiant et de l'agent de réticulation sur la Microdureté, le comportement thermique et le taux de cristallinité des différents films à base de gélatine, est illustré à travers les valeurs listées dans le tableau V.7.

Tableau V.7: Effet du type de plastifiant et de l'agent de réticulation sur la Microdureté (H), les caractéristiques de fusion (T_m and ΔH_m) et la cristallinité (α_{DSC}) des films de gélatine pure, de gélatine plastifiée et des films réticulés pour une concentration de 1,5 % GTA.

composition des échantillons	Remarques	H (MPa)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	α_{DSC} (%)
GEL	Effet du type de plastifiant	157	227,3	24,6	16,50
GEL + GLY		93	169,4	15,4	15,80
GEL + PVA		147	227,8	15,3	10,30
GEL + GLY + PVA		107	155,5	14,2	14,80
GEL + 1,5 % GTA	Effet de la réticulation (pour 1.5% de GTA) sur les films modifiés	238	229,1	6,3	4,30
GEL + GLY + 1,5 % GTA		107	239,4	8,6	9,10
GEL + PVA + 1,5 % GTA		159	241,9	6,3	4,30
GEL + GLY + PVA + 1,5 % GTA		210	231,7	6,2	6,40

Remarque :

(solution mère de 5 g gélatine/100 ml d'eau distillée. Les films ont été séchés à 80 °C pendant 5h, puis 24 h sous vide à température ambiante).

À partir des différentes valeurs de H, nous observons que :

- i) la microdureté dépend de la composition du film,
- ii) les agents plastifiants (GLY et PVA), comme prévu, diminuent la microdureté des films correspondants. Par contre l'ajout de l'agent réticulant

(GTA) fait augmenter une telle propriété (par exemple H allant de 157 pour GEL à 238 pour GEL/GTA)

iii) l'addition de GLY et PVA ne donne pas un effet strictement contributif et additif ; ceci est dû au fait que chaque plastifiant peut réagir aussi bien avec la gélatine qu'avec l'autre plastifiant en présence.

iv) les films réticulés ont une microdureté élevée par rapport à leurs films correspondants non réticulés. Aussi, à partir des différentes valeurs de T_m , et ΔH_m , nous notons que:

v) l'addition des plastifiants GLY ou GLY/PVA fait diminuer la température et l'enthalpie de fusion. Ceci est dû à l'effet du plastifiant induit par chaque additif. La réticulation chimique, au contraire, fait augmenter la température de fusion par rapport à la plastification des échantillons du moment que la structure réticulée devient très difficile à fondre par rapport aux films non-réticulés.

vi) À partir des différentes valeurs de α_{DSC} il est clair que l'addition des agents « modificateurs » (GLY, PVA ou GTA) à la GEL peut induire la diminution de la cristallinité des films à base de gélatine. Ces agents de réticulation physique/chimique vont créer un réseau tridimensionnel, plus ou moins dense, qui va limiter le mouvement de chaînes de la gélatine, les empêchant de s'aligner pour former d'éventuelles cristallites, et réduisant ainsi la cristallinité.

V.6.2 Effet de la concentration de l'agent réticulant sur la microdureté pour les films modifiés et non modifiés

La variation de la microdureté, en fonction de la concentration de l'agent réticulant, pour les films non modifiés et modifiés est montrée dans le tableau.8.

Tableau V. 8: Effet de la variation de la concentration de l'agent réticulant (GTA) sur la Microdureté (H) des films de (GEL) pure et modifiée (MGEL)

Composition des échantillons	H (MPa)	Composition des échantillons	H (MPa)
GEL	157	MGEL (GEL+GLY+PVA)	107
GEL + 0.05 % GTA	259	MGEL + 0.05 % GTA	190
GEL + 0.125 % GTA	237	MGEL + 0.125 % GTA	208
GEL + 0.25 % GTA	252	MGEL + 0.25 % GTA	228
GEL + 0.5 % GTA	250	MGEL + 0.5 % GTA	215
GEL + 1.0 % GTA	243	MGEL + 1.0 % GTA	208
GEL + 1.5 % GTA	238	MGEL + 1.5 % GTA	210
GEL + 2.5 % GTA	251	MGEL + 2.5 % GTA	198

Comme il a été déjà observé, la réticulation chimique de la gélatine, à travers l'utilisation de GTA, conduit à une augmentation des valeurs de H. La variation de H en fonction de [GTA] tend vers un maximum (pour [GTA] \approx 0,50 %). La gélatine modifiée par (GLY + PVA), donc plastifiée, voit sa valeur H diminuer d'environ \approx 32 % (de 157 à 107 MPa), et les valeurs de H des films modifiés et réticulés sont plus faibles que celles des films non modifiés correspondants. (comme attendu, la plastification conduit à une plus faible dureté des films). Il est donc clair que les films à base de gélatine pure et réticulée sont plus durs que les films à base de gélatine modifiée et réticulée. L'évolution de H en fonction de la concentration de GTA, illustrée dans la Figure V.10, suit la même tendance déjà observée (voir Figures V.2 et V. 3).

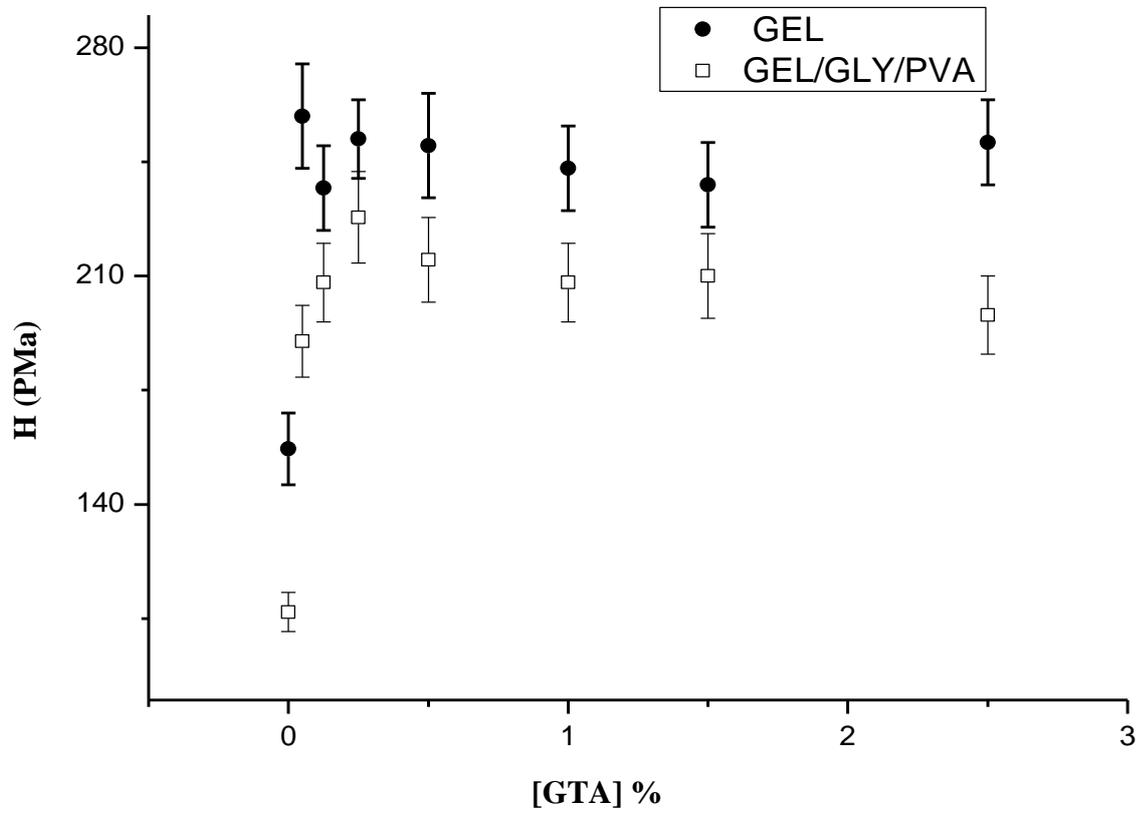


Figure V.10: Variation de la microdureté H en fonction de la concentration de GTA pour les films modifiés (GEL/GLY/PVA) et les films non- modifiés (GEL).

Tableau V.9: Effet de la variation de la concentration [GTA] sur les propriétés thermiques (T_m , ΔH_m) et sur la cristallinité α_{DSC} des films de (GEL) pure et modifiée (MGEL)

Composition des échantillons	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	α_{DSC} (%)	Composition des échantillons	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	α_{DSC} (%)
GEL	227,3	24,6	16,50	MGEL (GEL+GLY+PVA)	155.5	14.2	9,50
GEL + 0.05 % GTA	223,1	11,6	7,80	MGEL + 0.05 % GTA	224.5	10,4	7,00
GEL + 0.125 % GTA	232,1	9,1	6,10	MGEL + 0.125 % GTA	223.9	13,9	9,30
GEL + 0.25 % GTA	227,8	4,3	2,90	MGEL + 0.25 % GTA	234.4	6,0	4,00
GEL + 0.5 % GTA	225,6	6,8	4,60	MGEL + 0.5 % GTA	226.3	4,2	4,80
GEL + 1.0 % GTA	225,0	5,5	3,70	MGEL + 1.0 % GTA	229.3	5,8	3,90
GEL + 1.5 % GTA	229,1	6,3	4,20	MGEL + 1.5 % GTA	231.7	6,2	4,20
GEL + 2.5 % GTA	230,1	4,2	2,80	MGEL + 2.5 % GTA	231.3	6,4	4,30

A partir des différentes valeurs de T_m et ΔH_m , nous pouvons noter que :

La réticulation de la gélatine par GTA a montré une faible augmentation de T_m ; par contre les films à base de gélatine modifiée ont montré une plus faible T_m que celle à base de la gélatine pure (GEL). La plastification et la réticulation ont un grand effet sur T_m ; cependant la variation de la concentration de GTA n'affecte pas tellement cette température (voir Fig V.3) qui montre que la courbe passe par un maximum au point [GTA] = 0. 5% puis, une brusque diminution puis une

stabilisation c'est-à-dire, elle nous donne un plateau où le taux de réticulation devient à peu près constant avec [GTA].

L'enthalpie de fusion ΔH_m est affectée par le processus de la modification et la réticulation, (les deux montrent une augmentation ou une diminution de leur valeur). Pour les deux séries d'échantillons, l'enthalpie de fusion devient faible quand la concentration de GTA augmente. Nous pouvons dire aussi que, d'une autre part, l'effet de l'évaporation de l'eau favorise la formation de cristallites dues aux interactions intermoléculaires électro-statiques (liaisons covalentes simples) entre la gélatine et l'eau qui peuvent former des nœuds en forme de spirale c'est à dire formation des IPN physiques qui provoquent une diminution de la mobilité des chaînes linéaires ou individuelles, ce qui entraîne une diminution de la température de transition vitreuse T_g . Une diminution de T_m a été observée de 230°C [24] pour la gélatine poudre jusqu'à 227°C (Voir Tableau.V.9) pour le film de gélatine non modifiée et non réticulée et par la même une diminution de ΔH_m 27.8 J/g [72,74] jusqu'à 24.6 J/g (Voir Tableau.V.9).

Pour les films modifiés et non réticulés, la quantité d'eau libérée est un peu plus élevée par rapport aux films non modifiés (voir Tableau.V.12) , qui peut être aussi expliquée par le fait que la gélatine ne réagit pas seulement avec l'eau mais aussi avec le mélange (GLY/PVA) par des interactions intermoléculaires qui favorisent ainsi la formation des cristallites et, par conséquent, T_g diminue d'où diminution du mouvement des chaînes linéaires encore plus et par la même une diminution de T_m jusqu'à 155.5°C et de ΔH_m jusqu'à 14.2J/g(voir Tableau. V.9).

Par contre, pour les films non modifiés et réticulés, la quantité d'eau évaporée a augmenté encore plus sous l'effet de la réticulation chimique et, par conséquent, une restriction de la mobilité des chaînes individuelles (due à la formation de nouveaux groupes fonctionnels volumineux suite à la réticulation ainsi induite. Ceci a résulté en une faible augmentation de la température T_m et une diminution de ΔH_m en fonction de la variation de la concentration de GTA.

Concernant les films modifiés et réticulés, l'évaporation de l'eau s'est accentuée encore plus que celle des films non modifiés et réticulés sous l'effet de la plastification et la réticulation. Ceci a mené à la formation des IPN (chimique et physique), d'où restriction de la mobilité des chaînes et, par conséquent, T_g diminue encore plus. Une faible augmentation de T_m apparaît, par contre, la valeur de ΔH_m diminue en fonction de la variation de la concentration de GTA.

Ces valeurs de (T_m , ΔH_m) sont en accord avec les différentes valeurs de α_{DSC} ; il est évident que l'addition de chaque agent (GLY, PVA ou GTA) à la GEL, peut induire une diminution de la cristallinité des films à base de gélatine. Comme il a été déjà expliqué, le plastifiant et/ou l'agent de réticulation peut affecter la microstructure de la matrice de la gélatine, (par la formation d'un réseau réticulé tridimensionnel, de type Interpénétrant, IPN). Ainsi, la réticulation des échantillons résulte en un taux de cristallinité bien plus faible, même si la taille et le nombre de cristallites ne semble pas en être affectés (vu que la valeur de la température de fusion, T_m ne varie pas) voir FigV .3.

L'effet de la concentration de GTA sur la cristallinité pour les différents types de films à base de gélatine est montré dans la figure V.11.

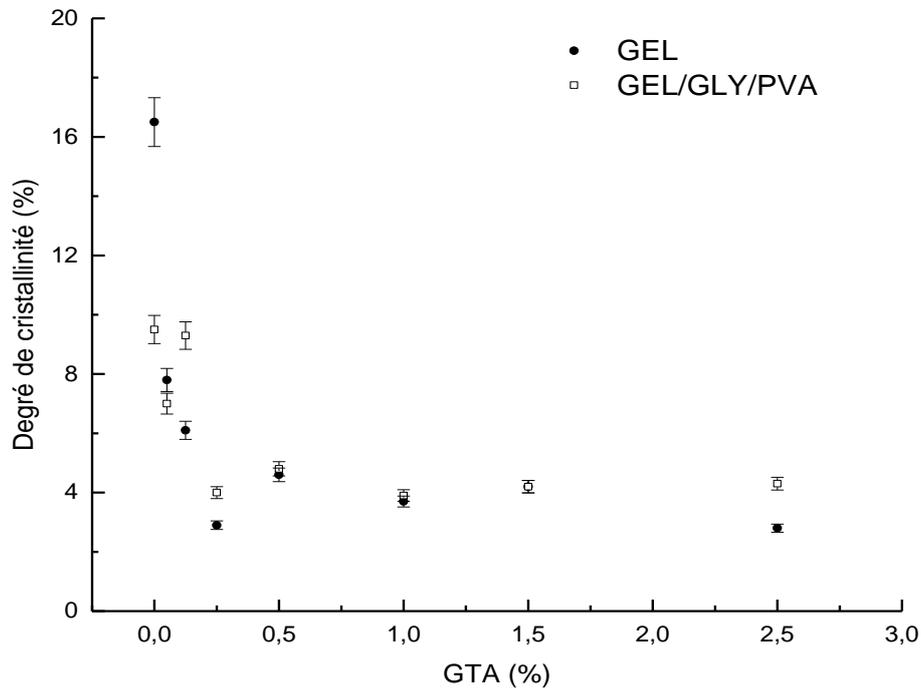


Figure V.11: variation la cristallinité α_{DSC} en fonction de [GTA] pour les films modifiés GEL/GLY/PVA) et non modifiés (GEL).

V.6.3 Correlation entre le degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et la cristallinité α_{DSC}

Afin de mieux illustrer la corrélation entre le degré de réticulation χ_c , H et α_{DSC} , nous avons tracé les courbes χ_c et H en fonction de la variation de la concentration de GTA voir Fig (12a et 12b). Il est clair que les deux courbes pour les deux types de formulation montrent la même tendance : H augmente avec l'augmentation de χ_c (H=259 MPa pour GEL) et (H=190 MPa pour MGEL). ΔH_m est affectée par le processus de la modification et de la réticulation, ΔH_m varie donc en fonction de l'augmentation de GTA et en fonction de la composition.

L'ajout de (GLY, PVA, GTA) diminue le taux de cristallinité α_{DSC} comme il a été déjà expliqué (les agents de plastification et de la réticulation affectent la microstructure de la matrice de la gélatine). Ainsi les réticulés non modifiés présentent une véritable diminution du taux de cristallinité.

La corrélation entre le degré de réticulation et le taux de cristallinité pour les deux types de formulation a été mieux illustrée à travers le tracé des courbes en fonction de la variation de la concentration de GTA (voir Fig.13.a, b) la même tendance a été observée pour les deux types de formulation : la réticulation augmente la densité du réseau interpénétré ; par conséquent il y a diminution de la mobilité des chaînes de la gélatine. Cette diminution est claire du fait qu'une très faible quantité de GTA (0.05%) provoque une large augmentation puis une rapide diminution de α_{DSC} (de 16.5 à 7.8% pour GEL et de 16.5 à 7% pour MGEL).

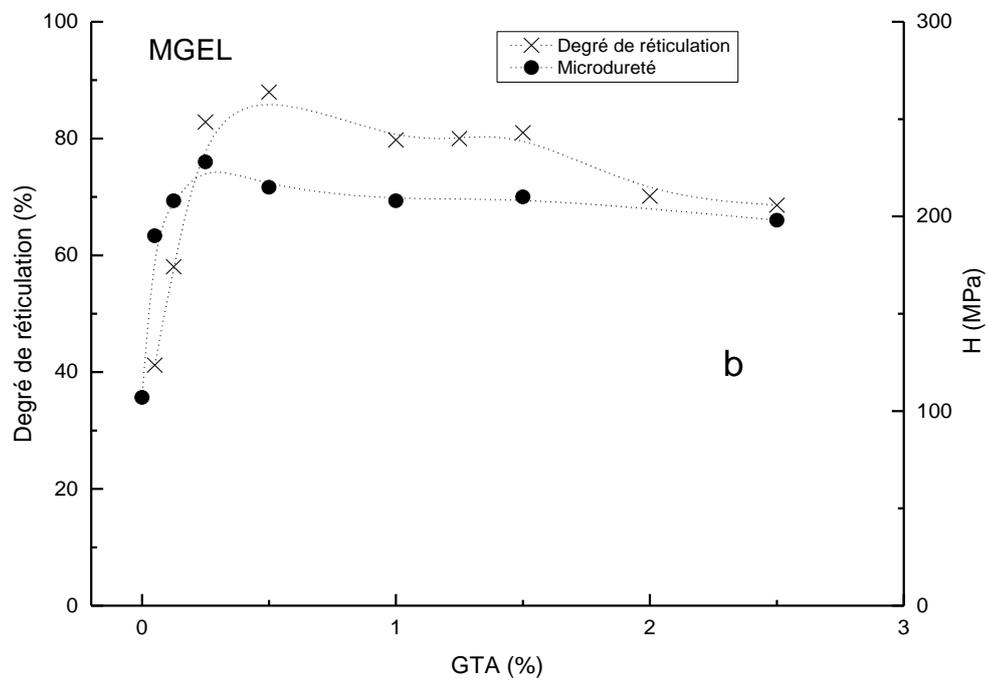
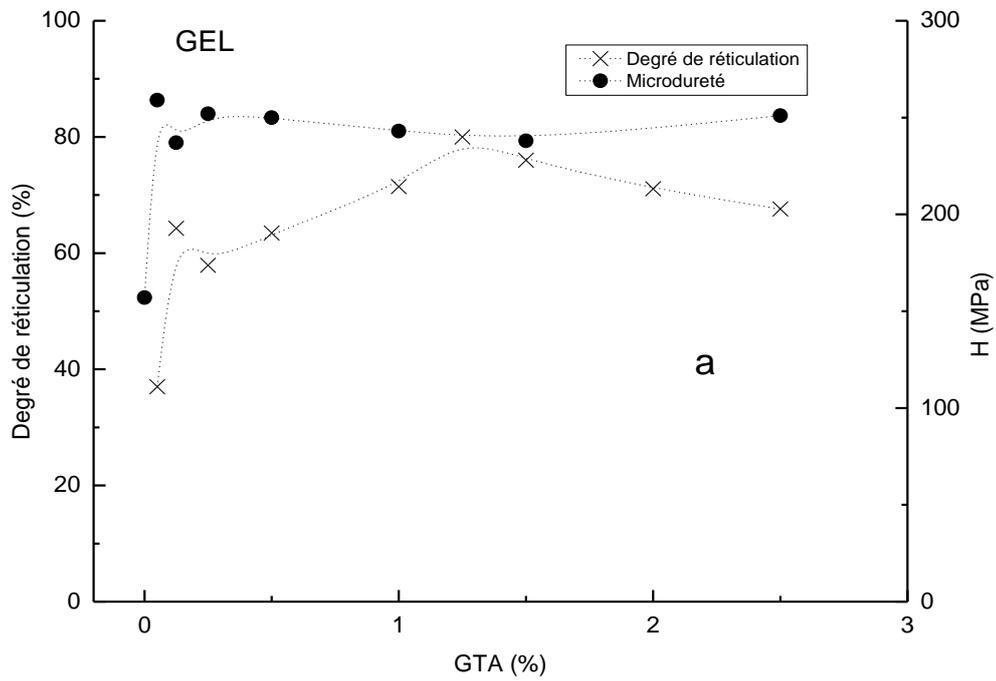


Figure V.12 (a,b)

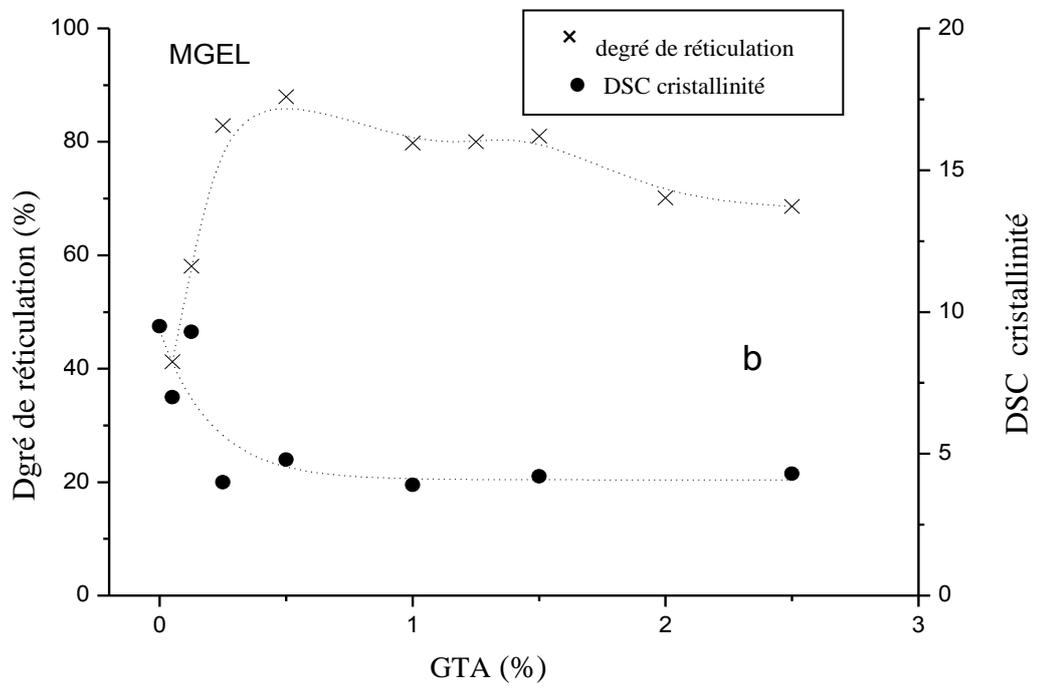
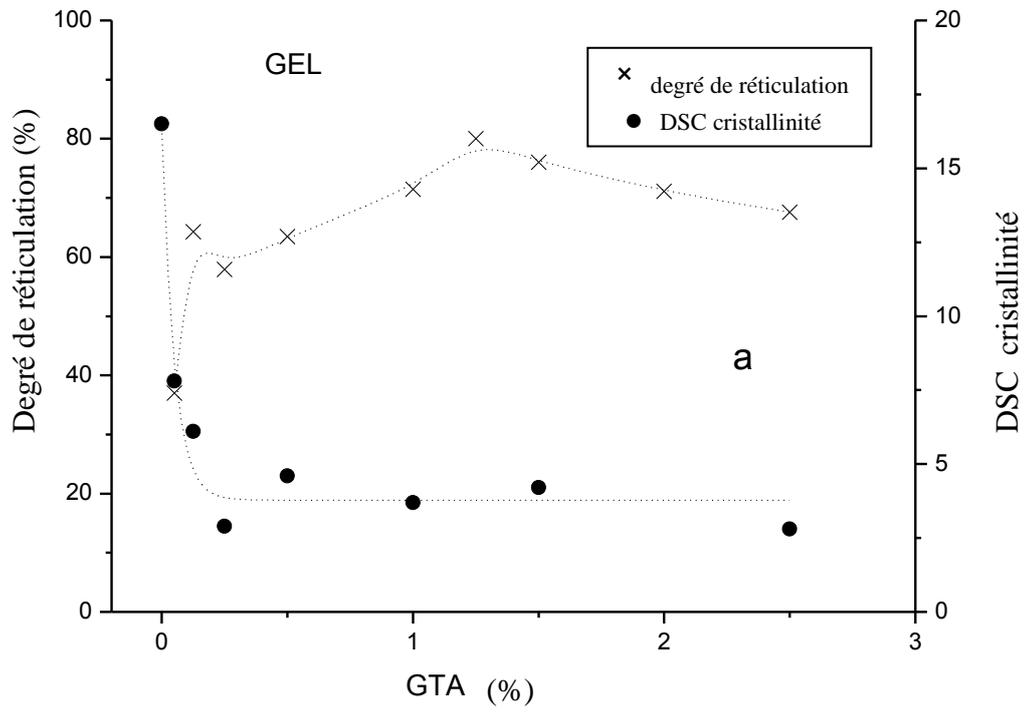


Figure V.13 a,b

V.6.4 Corrélation entre le degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et les propriétés mécaniques en tension (E , σ_r , ϵ_r et w_r) en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation

Nous remarquons dans le cas des films non modifiés et réticulés que les trois courbes tracées ont la même tendance. Le degré de réticulation affecte la microdureté, plus χ_c augmente plus H augmente. Ceci peut être expliqué par le fait que la réticulation chimique affecte la microstructure de la matrice de la gélatine et, inversement, pour le module E ; nous remarquons que plus χ_c augmente et plus E diminue c'est-à-dire que la rigidité diminue sous l'effet de la réticulation.

Contrairement à cela, pour les films modifiés et réticulés, après avoir tracé les trois courbes, nous observons la même tendance. Cependant, plus χ_c augmente et plus H diminue. Ceci est dû à l'effet plastifiant du mélange (GLY/PVA) et, d'autre part, nous observons que plus χ_c augmente et plus E augmente ceci est dû à l'effet combiné de la plastification et de la réticulation qui a pu améliorer les propriétés mécaniques c'est-à-dire la rigidité par rapport aux films non modifiés et réticulés et, par la même, le taux de réticulation a augmenté plus que dans le cas des films non modifiés et réticulés : l'effet combiné de la plastification et la réticulation l'emporte sur l'effet de la réticulation seule .

Par la même, nous avons jugé utile de comparer les variations de E , σ_r , ϵ_r et w_r et χ_c avec la teneur en GTA. Les courbes correspondantes sont tracées dans les (figures : V.14 a,b ;V.15 ; V.16 a,b ;V.17 a,b) . Il est évident que la similarité des tendances des courbes est une preuve des relations étroites qui existent entre ces différents paramètres et leur variation en fonction de [GTA]. Il est utile de rappeler à ce niveau que H et E sont des propriétés de surface et qu'une relation empirique a été établie entre ces deux propriétés ($H = \alpha E$) [87,88].

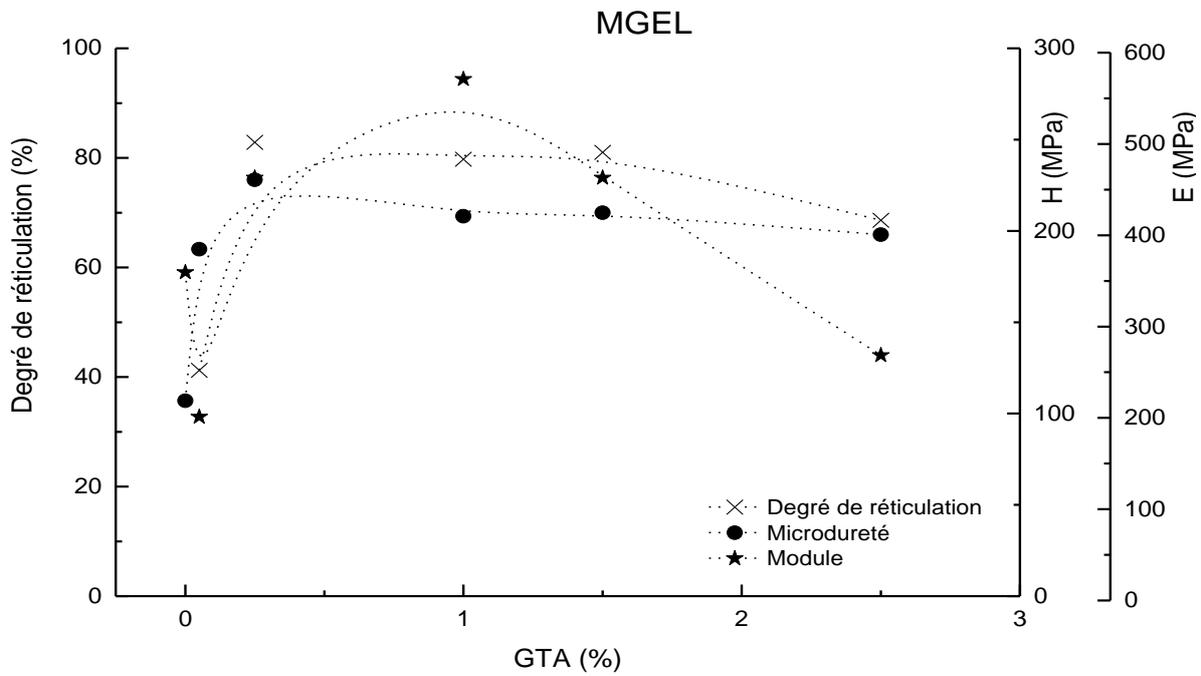
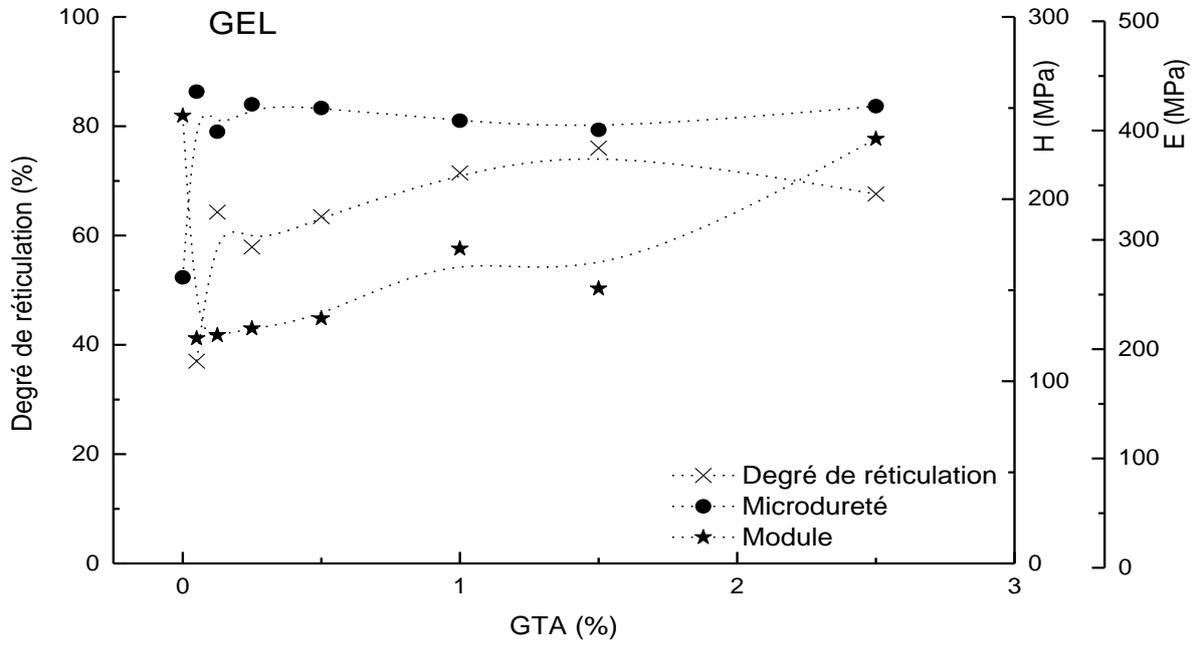


Fig .V.14a,b

Tableau V. 10 : Variation du degré de réticulation χ_c , la Microdureté (H) et les propriétés mécaniques en tension (E , σ_r , ϵ_r et w_r) en fonction de la variation de GTA pour les deux types de formulation

Composition des échantillons	H (MPa)	Taux de réticulation (%)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Composition des échantillons	H (MPa)	Taux de réticulation (%)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)
GEL	157	-	24.81	MGEL (GEL+GLY+PVA)	107	-	28.76
GEL + 0.05 % GTA	259	36.99	25.18	MGEL + 0.05 % GTA	190	41.21	35.14
GEL + 0.125 % GTA	237	64.27	25.54	MGEL + 0.125 % GTA	208	58.06	57.40
GEL + 0.25 % GTA	252	63.60	26.27	MGEL + 0.25 % GTA	228	82.84	55.55
GEL + 0.5 % GTA	250	63.45	27.37	MGEL + 0.5 % GTA	215	83.27	63.72
GEL + 1.0 % GTA	243	71.46	29.19	MGEL + 1.0 % GTA	208	79.77	68.51
GEL +1.5 % GTA	238	82.60	30.65	MGEL + 1.5 % GTA	210	87.8	92.59
GEL + 2.5 % GTA	251	67.60	31.38	MGEL + 2.5 % GTA	198	68.60	53.703

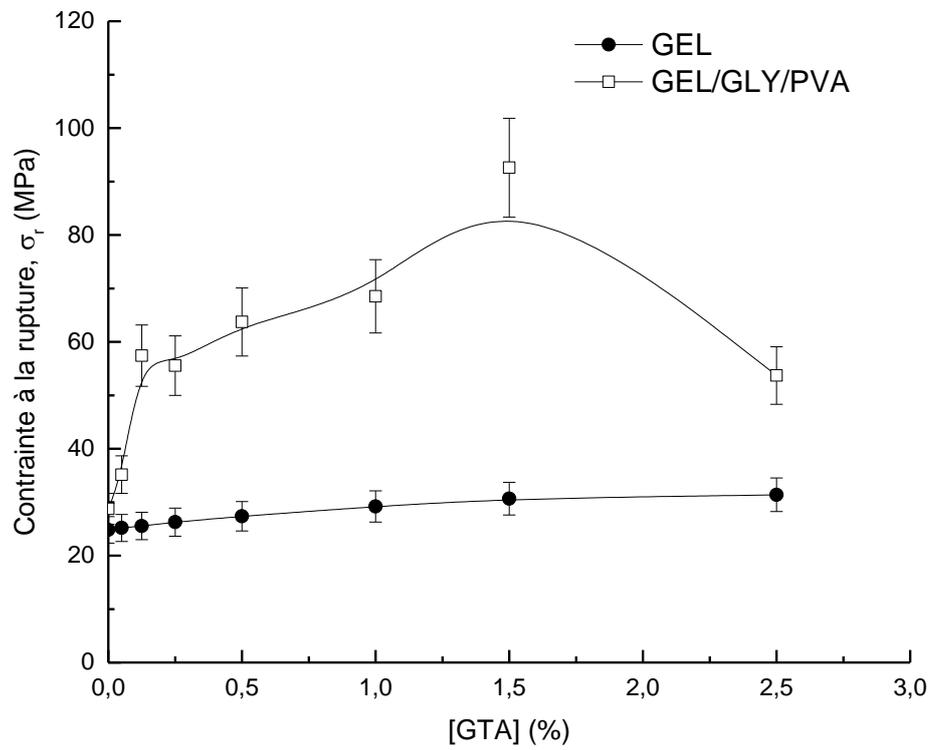


Figure V.15 : Variation de la contrainte à la rupture σ_r en fonction de la variation de la concentration de GTA des films de gélatine modifiés par (GLY/PVA/GTA) et des films non modifiés (GEL)

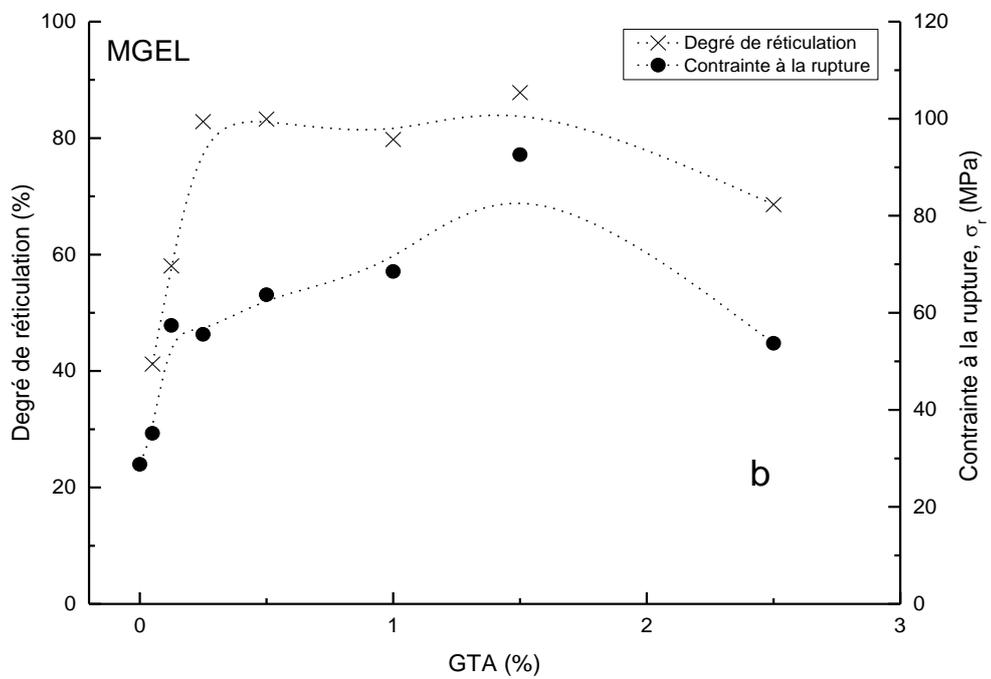
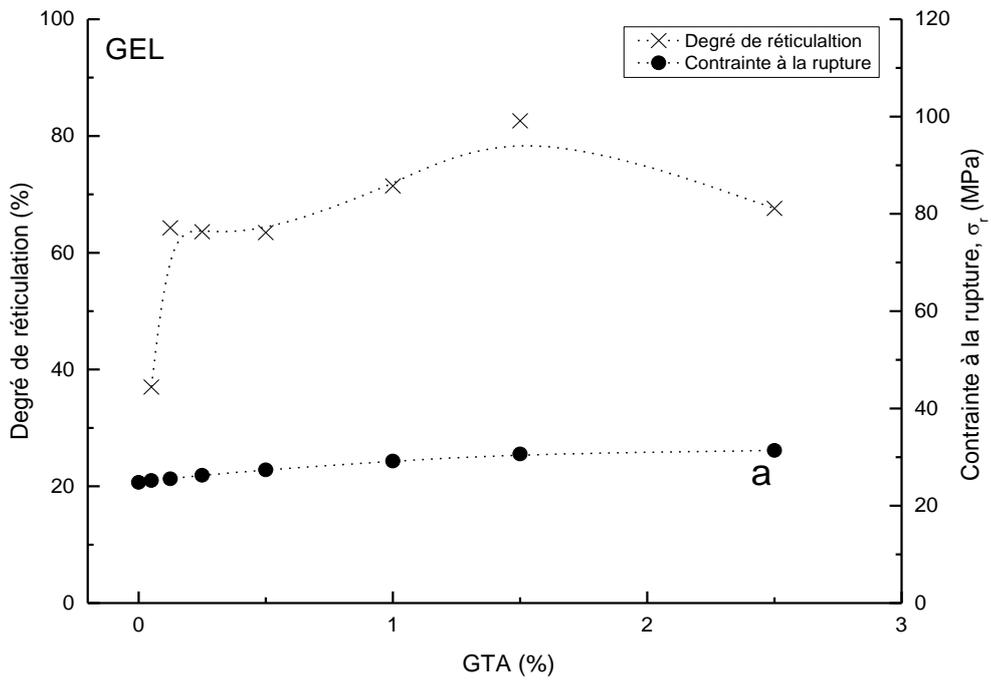


Figure V.16 (a,b)

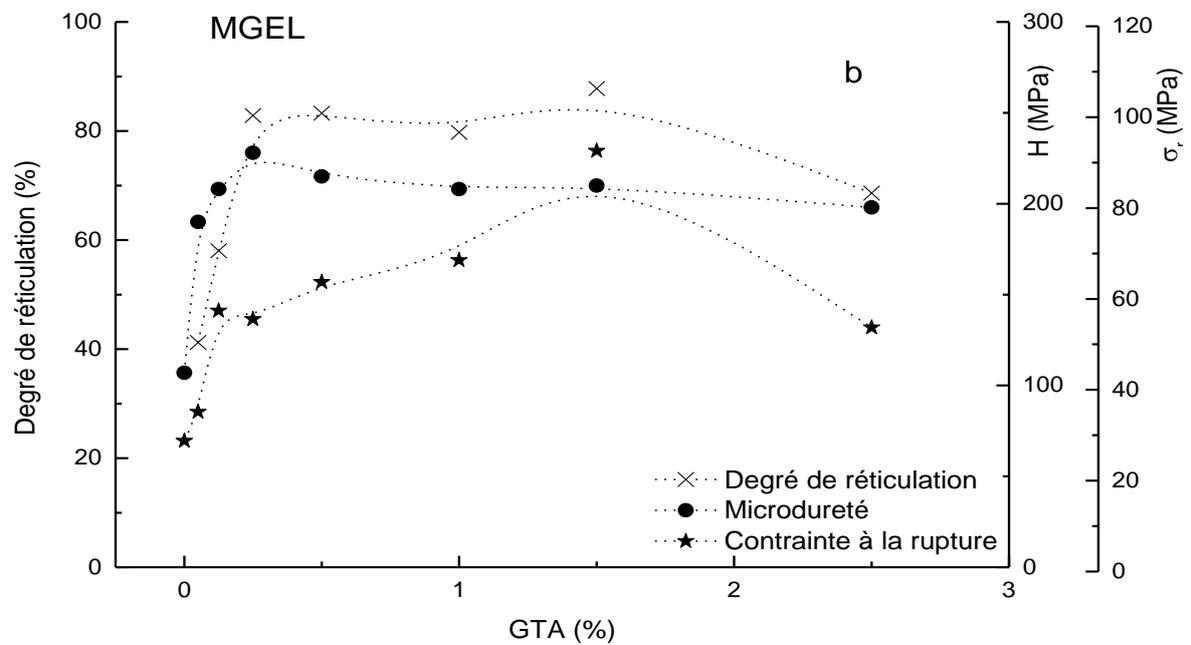
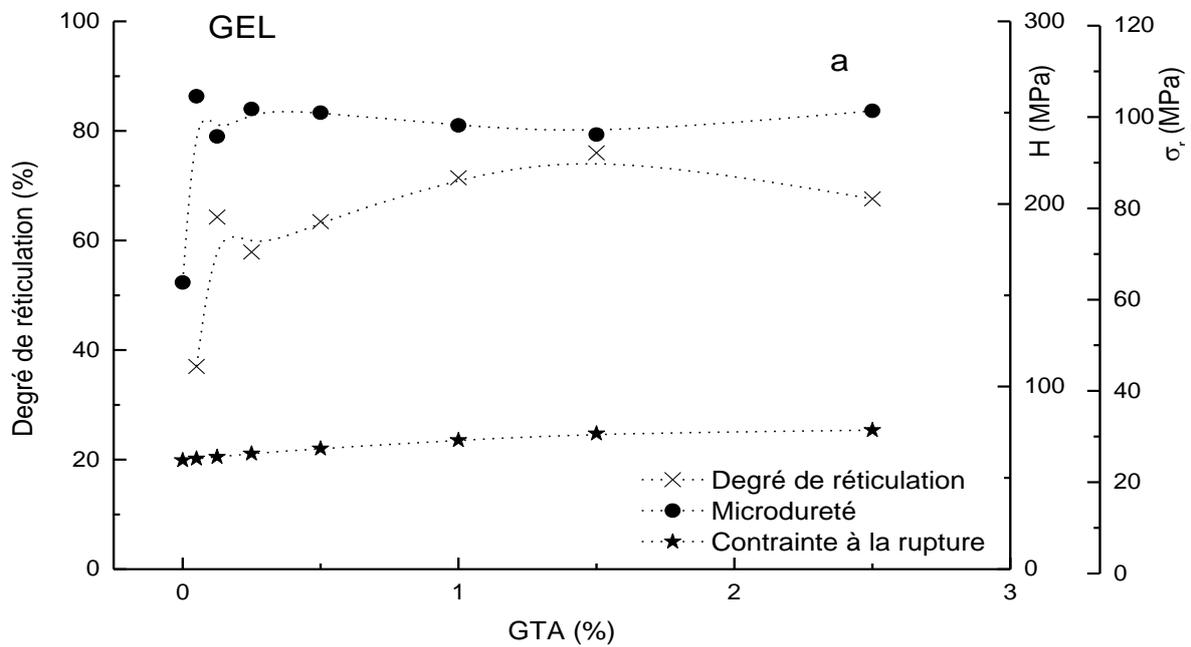


Figure V.17 (a,b)

V.7 Détermination de la teneur en eau et les différents types d'eau

Dans le cas de la gélatine, il existe trois types d'eau. [89] :

- L'eau de structure :

Elle se trouve à l'intérieur de la triple hélice. Elle joue un rôle majeur dans sa stabilisation par la présence de liaisons hydrogène. Cette quantité dépend du taux d'hélicité. Elle est de 0,040 – 0,055 g/g de gélatine.

- L'eau liée :

Elle est absorbée par les groupements polaires. Cette eau est fortement liée par la présence de liaisons hydrogène. Elle est appelée aussi eau de solvation. Elle contribue à la stabilisation de sa structure. Elle est de l'ordre de 0,12 – 0,14 g/g de gélatine.

Et enfin,

- L'eau libre ou eau de surface :

Elle se comporte comme eau pure. Elle est de 0,14 – 0,37 g/g de gélatine.

La teneur en eau (appelée aussi perte en eau ou humidité relative H.R) a été déterminée par la relation suivante :

$$\mathbf{H.R.(\%) = \frac{M_0 - M}{M_0} \times 100} \quad [90]$$

où

M_0 : masse initiale à température ambiante ;

M : masse des films à température T au bout d'un temps t .

Les différentes méthodes pour la détermination de la teneur en eau dans la gélatine sont données ci dessous.

Tableau V.11 : Teneur en eau contenue dans la gélatine et le collagène. [91]

Gélatine		Collagène	
Qté d'eau g/g	Méthode	Qté d'eau g/g	Méthode
0.30	compressibilité	0.52	Calorimétrie
0.30	Pression de vapeur	0.465	Calorimétrie
0.40	Calorimétrie	0.35	R.X.
0.42	Calorimétrie	0.54	Calorimétrie
0.50	Calculé	0.50	R.M.N.
0.45	R.M.N.	0.30	Calorimétrie
0.35	R.M.N.	0.70	Calorimétrie
0.28	A.T.D.	0.54	Électrique
0.38	Refroidissement	0.61	Calorimétrie
0.50	Refroidissement	0.30	Ultrason
		0.45	M.T.A.
Moyenne		Moyenne	
0.37		0.47	

Dans notre cas, l'appareil utilisée est une étuve de type PROLABO, 220V, 4-5 A avec une gamme de température de 0-220°C.

Les taux de H.R ont été déterminés à T= 120°C pour des périodes variables.

Tableau V.12 : Variation en (% massique) de la teneur en eau des films de F.I et F.IV en absence et en présence du GTA à 1,5% à T = 120°C.

		Teneur en eau (%)															
Temps(min, h)	0	5'	15'	30'	50'	1 h 15'	1 h 45'	2 h 20'	3 h	5 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h
	GTA (%)																
GEL	0	10,98	11,77	12,62	13,28	13,99	13,51	13,91	14,35	14,39	14,42	14,42	14,42	14,60	14,93	14,90	14,90
MGEL.	0	10,98	11,51	11,86	12,30	12,82	13,05	13,35	13,44	13,45	14,76	14,20	14,64	14,93	14,80	14,92	14,93
F.I à 1,5% de GTA	0	13,62	14,71	14,98	15,35	15,35	15,44	15,71	16,67	16,67	17,16	17,45	17,67	17,70	17,70	15,70	17,72
F.IV à 1,5% de GTA	0	14,85	16,10	16,10	16,10	16,48	16,60	16,73	17,73	17,85	19,10	20,20	20,60	20,97	20,97	20,97	20,99

D'après les résultats obtenus dans le tableau V.12, nous pouvons déduire qu'à la température de 120 °C, seule l'eau de surface est éliminée.

1. Pour le film de gélatine à 5% en masse, nous avons une élimination jusqu'à 14,5% pour $t = 24$ heures, suivie par une stabilisation jusqu'à $t = 72$ heures, puis une augmentation jusqu'à 14,90% pour $t = 7$ jours.
2. Pour le film réticulé à 1,5% de GA, nous avons 16,10% à $t = 5$ heures, suivie d'une stabilisation jusqu'à $t = 7$ jours.
3. Pour le film modifié par le mélange glycérol/PVA, la masse diminue de 15% à $t = 7$ jours.

Et enfin,

4. Pour le film modifié et réticulé, l'eau libérée est de 21% pendant $t = 7$ jours.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSIONS

La gélatine vierge donne des films très fragiles (cassants) et difficiles à manipuler. De plus, de tels films présentent de faibles propriétés mécaniques et thermiques ainsi qu'une hydrosolubilité élevée. Aussi, il s'est avéré nécessaire de modifier la gélatine à travers une réaction de réticulation chimique. Toutefois, les films à base de gélatine ainsi réticulés présentent un retrait important de (15%), rendant leur utilisation très délicate. En vue de remédier à ces inconvénients, il a été jugé nécessaire de modifier la gélatine avant sa réticulation. La modification se fait par l'incorporation d'agents plastifiants qui vont introduire une meilleure déformabilité des films via une réticulation physique.

Pour évaluer le taux de réticulation, la méthode de dosage des protéines (TNBS) a été utilisée. Elle nous a permis non seulement de calculer le nombre de mole des groupes ϵ -amino (mole /gramme de gélatine) mais aussi d'évaluer le taux de réticulation des différents films étudiés.

La présence de l'agent réticulant GTA conduit à une réaction de réticulation chimique entre la gélatine et le glutaraldéhyde. Cette réticulation se traduit en une diminution du nombre de mole des groupes ϵ -amino (mole /gramme de gélatine) vue l'implication de ces groupes dans la réaction chimique de la réticulation, entraînant par la même une évolution du taux de réticulation en fonction de la concentration de GTA (jusqu'à un maximum approximativement (88%).

L'incorporation des additifs (GLY/PVA) suivie par l'ajout de l'agent de réticulation GTA résulte en une diminution plus accentuée du nombre de mole des groupes ϵ -amino par rapport aux films non modifiés et réticulés et, par conséquent, une augmentation remarquable du taux de réticulation est observée. Ceci confirme le fait que ces groupes ϵ -amino entraînent non seulement à une réaction de réticulation chimique mais aussi à une réaction de réticulation physique, avec les OH du GLY et du PVA.

Deux types de formulation ont montré un maximum du taux de réticulation. Une composition optimale a pu être ainsi établie [(GEL/GLY/PVA)(100/35/0.2)+(0.5-1.5)(%)(GTA)].

L'analyse spectroscopique infrarouge par transformée de Fourier nous a permis de confirmer les interactions possibles entre les différents constituants étudiés. Les résultats montrent que la majorité des réactions se produisent selon une réaction donneur-accepteur entre les sites réactifs. Les différentes réactions de réticulations entre les mélanges étudiés ont été établies comme étant dépendantes des fonctions chimiques en présence.

Les résultats trouvés ont confirmé qu'une telle formulation [(GEL/GLY/PVA)(100/35/0.2)+(0.5-1.5)(%)(GTA)] conduit à un matériau exhibant de meilleures propriétés mécaniques (E , ϵ_r , σ_r et w_r), et thermiques (T_f ) et une plus faible hydrosolubilité .

Nous pouvons dire que le processus de la plastification et de la réticulation affecte la microstructure de la matrice de la gélatine par l'augmentation du taux de la réticulation (aussi bien physique que chimique) (formation des IPN physique et chimique) et, d'une autre part ce changement de la microstructure du matériau va se répercuter sur les différentes propriétés microstructurales (Microdureté, Cristallinité, T° de fusion etc.). Ainsi , nous constatons une augmentation de H des films non modifiés et réticulés et une diminution de la valeur de H des films modifiés et réticulés par la présence des agents plastifiants provoquant non seulement une diminution de la fragilité mais aussi une augmentation de la rigidité des films par l'ajout de l'agent de réticulation.

Ces propriétés microstructurales sont étroitement liées (H , E , α_{DSC} , T_f ) et démontrent l'effet de la réticulation physique et/ou chimique sur les propriétés finales des films à base de gélatine .

Comme perspective à ce travail, il serait intéressant de prendre la composition optimale trouvée et d'étudier ses propriétés de surface (adhésion, adsorption, porosité) et de toxicité, en vue d'une éventuelle application comme pansement cicatrisant.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES

- [1] Chiellini, E., Cinelli, P., Fernandes, E.G., Kenaway, E.S., and Lazzeri, A., "Gelatin-based blends and composites: Morphological and Thermal Mechanical Characterization", *J. Biomacromolecules*, 2, pp 806-811, (2001).
- [2] Ulubayram, K., Nur Cakar A., Korkusuz, P., Erton, C., and Hasirci, N., "EGF Containing gelatin-based wound dressing", *J. Biomaterials*, 22, pp 1345-1356, (2001).
- [3] Prasad, M.P., Kalyanasundaram, M., "Ionotropic crosslinking of sodium carboxymethylcellulose and sodium carboxymethylcellulose-gelatin matrices and their erosion properties", *J. Appl. Polym. Sci.*, 49, pp 2075-2079, (1993).
- [4] Tan, H., Marra, K.G., "Injectable, Biodegradable Hydrogels for Tissue Engineering Applications", *J. Materials*, 3, pp 1746-1767 (2010).
- [5] Wenqian, X., Jiankang, He., Jason, W., Nichol, Wang., Ché, B. H., Ben Wang, Y.D., Hongsong, F., Khademhosseini, A., "Synthesis and characterization of photocrosslinkable gelatin and silk fibroin interpenetrating polymer network hydrogels", *Acta Biomaterialia*, 7, pp 2384-2390 (2011).
- [6] Benbettaieb, N., Kurek, M., Bornaz, S., and Debeaufort, F., "Barrier, Structural and Mechanical Properties of Bovine Gelatin-Chitosan blend films related to biopolymer interactions", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, pp 2409-2419, (2014).
- [7] Andreuccetti, C., Carvalho, R.A., Galicia-Garcia, T., Bustos, M.F., Grosso, C. R.F., "Effect of Surfactants on the Functional Properties of Gelatin based edible films", *Journal of Food Engineering*, 103, pp 129-136, (2011).

- [8] Schacht, E., Bogdanov, B., Van Den Bulcke, A., De Rooze, N., “Hydrogels Prepared by Cross-Linking of Gelatin with Dextran Dialdehyde“, *React. Funct. Polym*, 33, pp 109-116,(1997).
- [9] Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M. J., Waldron, K. C.,“ in Glutaraldehyde: behavior aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking”, *BioTechniques* , 37, pp 790–802 ,(2004).
- [10] Kim, J-Y. ; Yoon, J. H ; Kim, D-H. ; Kim, S. B.; “Surface forces apparatus and its applications for nanomechanics of underwater adhesive”, *Korean J. Chem .Eng*, 29, pp 503-510, (2012).
- [11] Bigi, A., Ojazzi, G.C., Panzavolta , S., Rubini, K., and Roveri , N. “Mechanical and thermal Properties of gelatin films at different degree of glutaraldehyde crosslinking”, *J .Biomaterials*, 22, pp 763-768 (2001).
- [12] Biscarat, J., Charmette, C., Sanchez,J., and Pochat-Bohatier, C., “Development of a new family of food packaging bioplastics from crosslinked gelatin based films “, *The Canadian Journal of Chemical Engineering* , 93, pp 176-182 (2015).
- [13] Cui,L., Qiang, W., Ping, W., Qingsong, H., Xuerong , F., “Transglutaminase-Mediated Crosslinking of Gelatin onto Wool Surfaces to Improve the Fabric Properties”. *Journal of Applied Polymer Science*, 113, pp 2599-5605, (2009).
- [14] Zhu, D.Y., Jin, L.Q. Wang, L., Renn, H.X., “ Barrier Property of Gelatin Based Films Crosslinked with Microbial Transglutaminase “, *Advanced Materials Research* , 335-336, pp 1391-1395 (2013).
- [15] Zaman, H. U., Khan, M. A., KHAN, R. A.,” modification of Gelatin films using 2-ethylhexyl acrylate by Gamma radiation “, *Journal of Thermoplastic Composite Materials* , 26, pp795-808, (2013).

- [16] Hossam , M. S., “Development of films based on poly(vinyl alcohol)/ Gelatin blends crosslinked by electron beam irradiation “, Arab Journal of Nuclear Science and Applications, 45, pp 70-78, (2013).
- [17] Baltá Calleja, F.J., and Fakirov, S., “Microhardness of Polymers” (Solid State Science Series); Cambridge University press: Cambridge, p. 11, (2000).
- [18] Michler, G.H.; Baltá Calleja, F.J., “Nano- and Micromechanics of Polymers: Structure modification and improvement of Properties”, Carl Hanser Verlag, München, pp. 1- 563, (2012).
- [19] Flores, A., Ania, A., Baltá Calleja, F.J., “From the glassy state to ordered polymer structures: A microhardness study”, Polymer, 50, pp 729-746,(2009).
- [20] Fakirov, S., Cagiao, M.E., Baltá Calleja, F.J., Sapundjieva, D., and Vassileva, E., Melting of Gelatin Crystals below Glass Transition Temperature : A Direct Crystal-Glass Transition as Revealed by Microhardness“, Intern. J. Polymeric Mater, 43, pp195-206, (1999) .
- [21] Vassileva, E., Baltá Calleja, F.J., Cagiao, M.E., Fakirov, S., “Gelatin films with very high surface hardness. Macromol. Rapid Commun“, 19, pp 451-454, (1998).
- [22] Fakirov, S., Baltá Calleja, F.J., Krumova, M. A., “ Journal of Polym. Sci. Part B.: Polymer Physics“, 37, pp 1413-1419 ,(1999).
- [23] Fakirov, S., Sarac, Z., Anbar, T., Boz, B., Bahar, B., Evstatiev, M., Apostolov, A.A., Mark, J.E., Kloczkowski, A.,”Mechanical properties and transition temperatures of cross-linked oriented gelatin PartI. Static and dynamic mechanical properties of cross-linked gelatin”, Colloid Polym. Sci., 274, pp 334-341 ,(1996).

- [24] Fakirov, S., Srac, Z., Anbar, T., Boz, B., Bahar, I., Evstatiev, M., Apostolov, A.A., Mark, J.E., Kloczkowski, A., "Mechanical properties and transition temperatures of cross linked-oriented gelatin", *Colloid. Polym. Sci.*, 275, pp. 307-314, (1997).
- [25] Chaibi, S., " Préparation et Caractérisation de films à Base de Gélatine réticulée par du Glutaraldéhyde et/ou modifiée par du Glycérol /Polyvinylalcool ,
Thèse de Magistère, Université Ferhat-ABBAS, SETIF, ALGERIA. (2003)
- [26] Maria, T.M.C., De Carvalho, R.A., Sobral, P.J.A., Habitante, A.M.B.Q., Solorza-Feria, J., "Mixture design applied for the development of films based on starch, polyvinyl alcohol, and glycerol", *J. Food Eng*, 87, 191-199, (2008).
- [27] Mendieta-Taboada, O., Sobral, P.J.A., De Carvalho, R.A., Habitante, A.M.B.Q., "Thermomechanical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol)", *Food Hydrocolloids*; 22, pp 1485-1492, (2008).
- [28] Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., Chiellini, E., " Polymeric materials for bone and cartilage repair", *Prog. Polym. Sci.*, 35, pp 403-440, (2010).
- [29] Varghese, S., Elisseeff, J., "Hydrogels for musculoskeletal tissue engineering". Springer: Berlin, 233, pp 95-144, (2006).
- [30] Lee, C. H., Singla, A., Lee, Y., " Biomedical applications of collagen". *Int. J. Pharm*, 221, pp 1-22, (2001).
- [31] Yang, C., Hillas, P. J., Báez, J. A., Nokelainen, M., Balan, J., Tang, J., Spiro, R., Polarek, J. W., "The Application of Recombinant Human Collagen in Tissue Engineering". *BioDrugs* .18, pp 103-119 , (2004)

- [32] Naturalium. R., “Synthesis, Characterization, and Biological Evaluation of Gelatin-based Scaffolds”, Doctorat Thesis, Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, der Universität Potsdam von Giuseppe Tronciaus Lecce, Italien Potsdam, (2010).
- [33] J. B. Weiss and S. Eyed , in ‘An introduction to collagen’, ed. J. B. Weiss and M. I. V. Jayson, Churchill Livingstone, Edinburgh, (1982).
- [34] Thomsen, H., Pueschel, K., “Aggregation of postmortem platelets after stimulation with collagen and arachidonic acid”, *Legal Medicine*, 1, Issue 1, pp 11–17 , (1999).
- [35] Stainsby, G.,” The physical chemistry of gelatin. In A.G. Wand & A. Courts, “The science and technology of gelatin ” (pp.109-136). London: Academic press. (1977).
- [36] Gorham, S.D. "Collagen," in *Biomaterials. Novel Materials from Biological Sources*, (1991).
- [37] Ramachandran, G. N., in ‘Structure of collagen at a molecular level’, ed. G. N. Ramachandran, Academic Press, London, (1967).
- [38] <http://tpegelification.e-monsite.com/pages/le-processus-physico-chimique.html>
08/09/2015
- [39] Bigi, A., Panzavolta, S. and Rubini, K. “Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films”. *Biomaterials*, 25, pp 5675-5680, (2004).
- [40] Djabourov, M., Maquet, J., Theveneau, H., Leblond, J., and Papon, P., “Kinetics of gelation of aqueous gelatin solutions”, *British Polymer Journal*, 17 (2), pp 169-174, (1985).

- [41] Bigi, A., Borghi, M., Cojazzi, M., Fichera, A.M., Panzavolta, S., Roveri, N., "structural and mechanical properties of crosslinked drawn gelatin films", *J. Thermal Anal.*, 61, pp 451-459, (2000).
- [42] Djabourov, M., Leblond, J., and Papon, P., "Gelation of aqueous gelatin solutions. I. Structural investigation", *Journal de Physique France*, 49, pp 319-332, (1988).
- [43] Herning, T., Djabourov, M., Leblond, J., and Takerkart, G., "Conformation of gelatin chains in aqueous solutions: 2. A quasi-elastic light scattering study". *Polymer*, 32 (17), 3211-3217. (1991).
- [44] Site Internet : www.monmenu.fr/s/aliments/Feuille-gelatine 08/09/2015
- [45] Site internet: [fr.wikipedia.org/wiki/Gélatine](http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9latine) G.M.E: Gelatine Manufacturers of Europe: <http://www.gelatine.org>
- [46] Rose, P.I. "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering", 2nd edition, Volume 7. pp 220-227, (1987).
- [47] Harding, J. J. "The unusual links and cross-links of collagen". *Advances in Protein Chemistry*, 20, pp 109–190 (1965).
- [48] Veis, A. "*The macromolecular chemistry of gelatin*". Academic Press: London (1964).
- [49] Ward, A.G., and Courts, A. "The science and technology of gelatin". London: Academic Press. (1977).
- [50] Site Internet : jelly.e-monsite.com/.../la-gelatine-une-proteine.html 08/09/2015
- [51] Khalid, R., « Formation d'agrégats de hauts poids moléculaires dans la gélatine et comportement en solution aqueuse », Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France. (2010).
- [52] Site Internet : <http://gelatin.com>

- [53] Ross, P.I., Gelatin in Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 1987, vol 7, Wiley, New York, p 488.
- [54] Site Internet : www.docstoc.com/docs/159987091/GELATIN-HANDBOOK
08/09/2015
- [55] Site Internet : Heka Consult gélatin chemistry , properties and application in foods
08/09/2015
- [56] Schacht. E H Department of Organic Chemistry, Polymer Materials Research Group
Journal of Physics: Conference Series 3(1) 2004, pp 22–28 Third International
Conference on Radiotherapy Gel Dosimetr.
- [57] Schrieber, R., and Gareis, H.,” Gelatin Handbook: Theory and Industrial Practice”.
Wiley-VCH. (2007).
- [58] Segtnan, V.H., Kvaal, K., Rukke, E.O., Schuller, R.B., and Isaksson, T.,” Rapid
assessment of physico-chemical properties of gelatine using near infrared
spectroscopy”, *Food Hydrocolloids*, 17, pp 585-592, (2003).
- [59] Petersen, J.K., Krogsgaard, J., Nielsen , K.M., and Norgaard , E.B.,” A comparison
between two absorbable hemostatic agents: gelatin sponge (spongostan) and oxidized
regenerated cellulose (surgical)”, *Int. J. Oral Surg*, 13, pp 406-410, (1984).
- [60] Akin, H. and Hasirci, N., “Preparation and characterization of crosslinked gelatin
microspheres”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 58, pp 95–100, (1995).
- [61] Boucard, N., Viton C., Agay, D., Mari E., Roger, T., Chancerelle Y., Doumard
,A.,”The use of physical hydrogels of Chitosan for Skin regeneration following third-
degree burns”, *J. Biomaterials*, 28, pp 3478-3488, (2007).

- [62] Papa, M., Peptu, C., Spataru, D., Verestinc, L., Perrichaud A.,” Microparticules based on gelatin and poly(vinylalcohol) with pharmaceutical applications”. Buletinul Stiintific al Universitatii "Polytehnica" Romania, 48(1-2), pp 195-198, (2003).
- [63] Djabourov, M., "La gélification thermoréversible. exemple : la gélatine", Revue générale de thermique, pp. 309-315, (1987).
- [64] Osada ,Y., "*Gels handbook*", Academic Press”, New York, Vol. N°1, p 58 ,(1997).
- [65] Bajpai. A.K., Shukla. S.K., Smitha. B., Sanjana. K., “Responsive polymers in controlled drug delivery”, Progress in Polymer Science ,33 , pp 1088–1118, (2008).
- [66] Site Internet : HYDROGEL pegelification.e-monsite.com/pages/le-processus-physico-chimique.html
- [67] Nirmala, D., and Tarun, K. M., ”Preparation and Evaluation of Gelatin/Sodium Carboxymethyl Cellulose Polyelectrolyte Complex Microparticles for Controlled Delivery of Isoniazid”, AAPS PharmSciTech, 10, pp 1412-1419, (2009)
- [68] Van Vlierberghe, S., Vanderleyden, E., Boterberg, V., and Dubrue, P., “Gelatin Functionalization of Biomaterial Surfaces: Strategies for Immobilization and Visualization “. *Polymers*, 3, pp 114-130, (2011).
- [69] Li-Huei, L., Po-Chang, L., “Preparation and Surface Activity of Gelatin-Derived Surfactants Modified with Polyoxyethylene”, in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com) Journal of Applied Polymer Science, pp 2993- 3000, 30 March (2011).
- [70] Site Internet : http://www.rechercher.me/fichiers/calorimetrie-differentielle-a-balayage-dsc_ppt_1037457.html 08/09/2015
- [71] <http://materiaux.ecam.fr/savoirplus/dsc/dscla.html#Explication%20de%20la%20courbe%20de%20DSC%20obtenue> Site internet .

- [72] Achet , D . , He , X.W. , “Determination of the renaturation level in gelatin films”, J.Polymer , 36 , pp 787 – 91 ,(1995).
- [73] Site internet : Athas Databank [http : // athas.prz.lzeszow.pl](http://athas.prz.lzeszow.pl).
- [74] Bigi, A., Bracci, B. , Cojazzi , G. , Panzavolt , S., Roveri , N., “Drawn gelatin films with improved mechanical properties” , Biomaterials ,19 , pp 2335-2340, (1998).
- [75] Adhikari, R., Khatri, S,K., Adhikari, S., Michler, H,G., Balta Calleja , J.F., “Microhardness of nanostructure thermoplastic materials”, Macromol.Symp, 290, pp 166-174, (2010).
- [76] Site Internet http://www.substech.com/dokuwiki/lib/exe/detail.php?id=hardness_test_methods&cache=cache&media=vickers.png 08/09/2015
- [77] Draye, J. P., Schacht, E., Delaey, B., Voodre, A .V.Den Bulcke , A.V.,Bogdanov, B., "Invitro release characteristics of bioactive molecules from dextrandialdehyde-crosslinked gelatin-hydrogels films", J. biomaterials, N°19, pp. 99-107, 1997
- [78] Mohammed ,T. H., Abdul-Sada, A. M., Greenway, P., Hitchcock ., B, ”covalent crosslinking in heated protein systems", c J. of food science, 2, pp. 220-230, (2000).
- [79] Young, S.C., Sung, R.H.,Young, M.L.,Kang, W.S.,Moon, H.P.,Young, S.N., “Study on gelatin-containing artificial skin:I.Preparation and characteristics of novel gelatin-alginate sponge", J. biomaterials, 20, pp 409-417, (1999).
- [80] Bubnis, W. A., and Ofner III, C. M.,” The determination of ϵ - amino groups in soluble and poorly soluble proteins materials by a spectrophotomeric.Method using Trinitrobenzensulfonique –acid”, Analytical Biochemistry, 207, 129-133, (1992).

- [81] Choi, Y. S., Hong, S. R., Lee, Y. M., Song, K. W., Park, M. H., Nam, Y. S., Sung Young, S. R.H., and Young M.L.,” Study on gelatin-containing artificial Skin : I . Preparation and characteristics of Novel gelatin-alginate sponge”, J .Biomaterials, 20, pp 409-417, (1999).
- [82] Wu, J., Chiu, S.C., Pearce, E., and Kwel , T.K,” Effects of Phenolics Compounds on Gelatin Behavior of Gelatin gels”, .J. Polym. Sci. : Part A : Polymer Chemistry , 39, pp 224-231 , (2001) .
- [83] Bajpai , Q.K., and Saini, R.,” Preparation and characterization of biocompatible spongy cryogels of poly (vinylalcohol)-gelatin and study of water sorption behavior”, J. Polym.Int, 54, pp 1232-1242, (2005).
- [84] Ikada, Y., Shalaby, W. S., Langer, R., and Williams, J.,"Polymers of biological and biomedical significance", Symposium August 24-28 by the Division of Polymer Chemistry of American Chemical Society; Inc. Washington, D.C. (1994).
- [85] Dworak , A., Chistova, D., Velichkova, R, Ivanova S., and Wojciech , W. B.T., “Glutaraldehyde crosslinked poly (glycerol-Block-Ethylene-Oxide- block- glycerol) networks with temperature-responsive swelling behavior “,J. Polym .Org , 42, pp 1618-7229, (2003).
- [86] Bellamy, L.J., (1984).” The Infrared Spectra of Complex Molecules.” John Wiley and Sons, New York.
- [87] Flores. A, Aurrekoechea. J, Gensler. R, Kauschand. HH, Balta.Calleja. FJ., “Microhardness structure correlation of IP/EPR blends: influence of molecular weight and EPR particule content”, Journalof colloid polymer science, 276, pp786-793,(1998)
- [88] Gmenez, E; Laganon, J M., Gavava, R., and Saura., JJ., “On the linear correlation between microhardness properties in polar polymers and blends,”Polym.int.52, pp 1243-1245, (2003).

- [89] Primalov A., C. M. Biofizika, C. M. , "The macromolecular chemistry of gelatin", Chem. Phys. And Biol., N°67, pp. 229, 1970.
- [90] Kanamori, T., "Difference in solute diffusivity in crosslinked collagen gels prepared under various conditions", Materials Science and Engineering, 13, pp 85-89, (2000).p
- [91] Chirgadze, B., "The state and role of water in biological objects", J. biomaterials, pp. pp 71-85, 1967.

A N N E X E S

A N N E X E A

TABLEAU DES VALEURS DES PROPRIETES MECANIQUES EN TRACTION (E , ϵ_r , σ_r , W_r).

Tableau V.A.1 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) en fonction de la concentration en GTA.

	Concentration de GTA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation $\varepsilon_r = (\Delta L/L_0)$ (%)
GEL	2,50	392,325	31,386	1,255	8
	1,50	255,466	30,656	1,839	12
	1,25	299,290	29,929	1,496	10
	1,00	291,970	29,197	1,459	10
	0,50	228,100	27,372	1,642	12
	0,25	218,975	26,277	1,576	12
	0,125	212,891	25,547	1,532	12
	0,05	209,850	25,182	1,510	12
	0	413,61	24,817	0,745	6

Tableau V.A.2 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) en fonction de la concentration de GTA.

	Concentration de GA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation $\varepsilon_r = (\Delta L/L_0)$ (%)
A.I	2,50	377,830	37,272	1,863	10
	1,50	352,266	42,271	2,536	12
	1,25	392,041	47,045	2,822	12
	1,00	211,360	42,272	4,227	20
	0,50	198,862	47,727	5,727	24
	0,25	184,090	36,818	3,681	20
	0,125	179,545	35,909	3,590	20
	0,05	250,000	30,000	1,80	12
	0	359,500	28,760	1,150	8

Tableau V.A.3: Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) en fonction de la concentration de GTA.

	Concentration de GA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation $\varepsilon_r = (\Delta L/L_0)$ (%)
A.II	2,50	268,515	53,703	5,370	20
	1,50	462,960	92,591	9,259	20
	1,25	285,490	57,098	5,709	20
	1,00	570,983	68,518	4,111	12
	0,50	220,457	63,728	8,921	28
	0,25	462,910	55,555	3,333	12
	0,125	287,035	57,407	5,747	20
	0,05	401,233 ??	35,148	2,108	12
	0	359,500	28,760	1,150	8

Tableau V.A.4 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) en fonction de la concentration de GTA

	Concentration de GA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation $\varepsilon_r = (\Delta L/L_0)$ (%)
A.III	2,50	178,571	50,892	7,124	28
	1,50	173,021	55,367	8,858	32
	1,25	178,571	50,000	7,000	28
	1,00	280,130	56,026	5,602	20
	0,50	175,382	49,107	6,874	28
	0,25	170,200	40,848	4,901	24
	0,125	162,500	52,000	8,320	32
	0,05	100,445	40,178	8,035	40
	0	359,500	28,760	1,150	8

Tableau V.A.5 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ_r , ε_r , E, W_r) des films de A.I₀ à 1,5% de GTA, A.I à 0,5% de GTA, A.II à 1,5% de GTA et A.III à 1,5% de GTA

	Concentration de GA (%)	Module de Young E(MPa)	Contrainte à la rupture σ_r (MPa)	Energie W_r (Joule)	Déformation $\varepsilon_r = (\Delta L/10)$ (%)
GEL	0	413,61	24,817	0,745	6
MGEL	0	359,50	28,76	1,150	8
GEL + GTA	1,5	255,466	30,656	1,839	12
A. I + GTA	0,5	198,862	47,727	5,727	24
A.II + GTA	1,5	462,96	92,591	9,259	20
A.III + GTA	1,5	173,021	55,367	8,858	32

A N N E X E B
THERMOGRAMMES DSC

A N N E X E C
D I F F R A C T O G R A M M E S D R X

ANNEXE B

Les thermogrammes obtenus par DSC

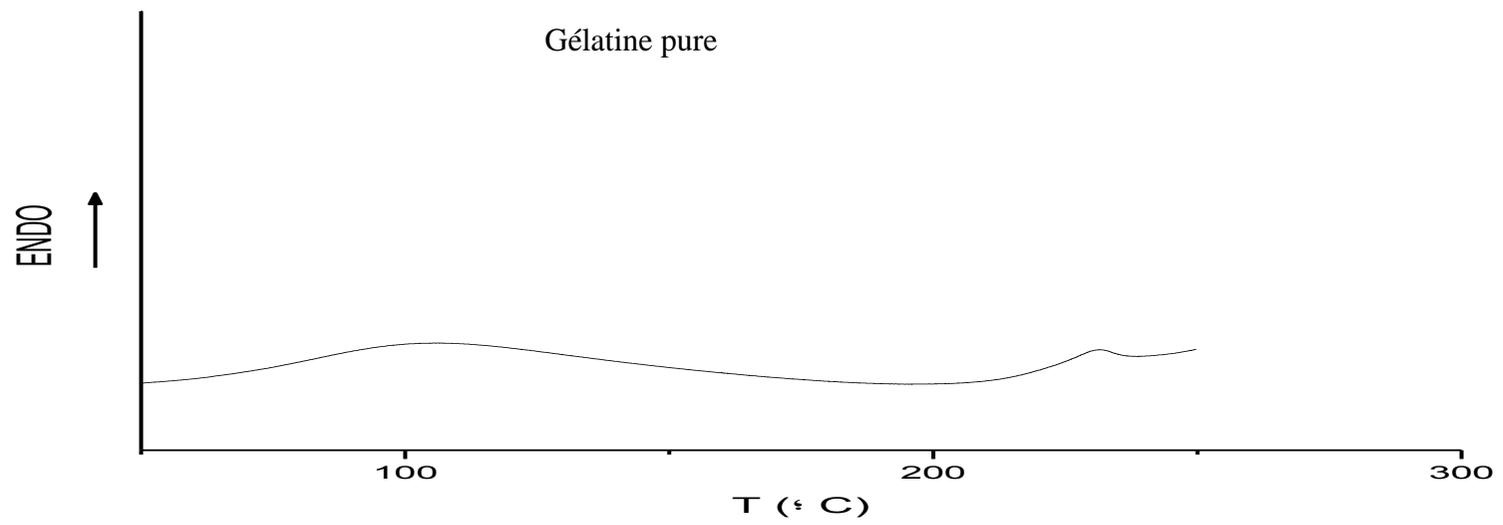


Fig.V.B.1.

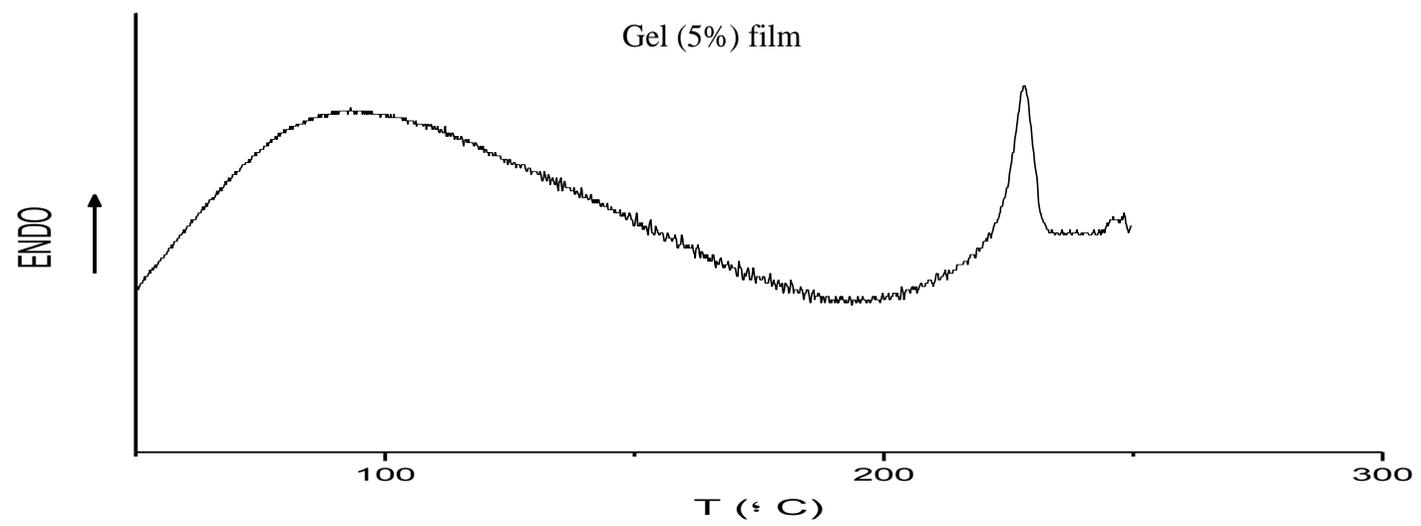
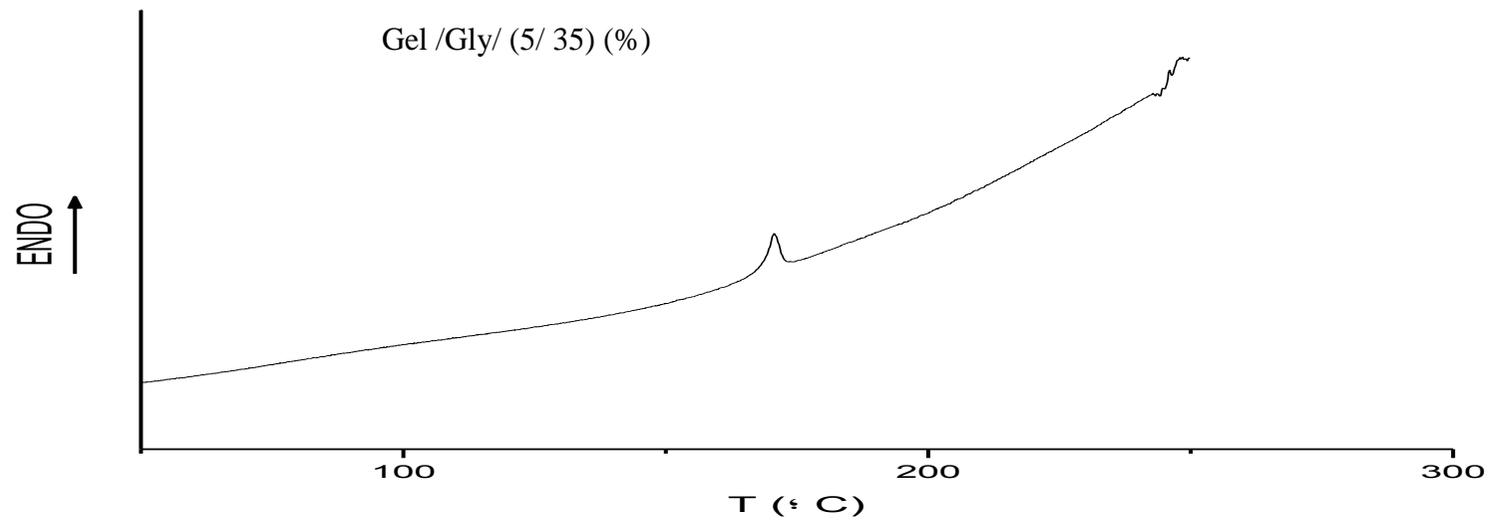


Fig. V.B.2.



FigV.B.3.

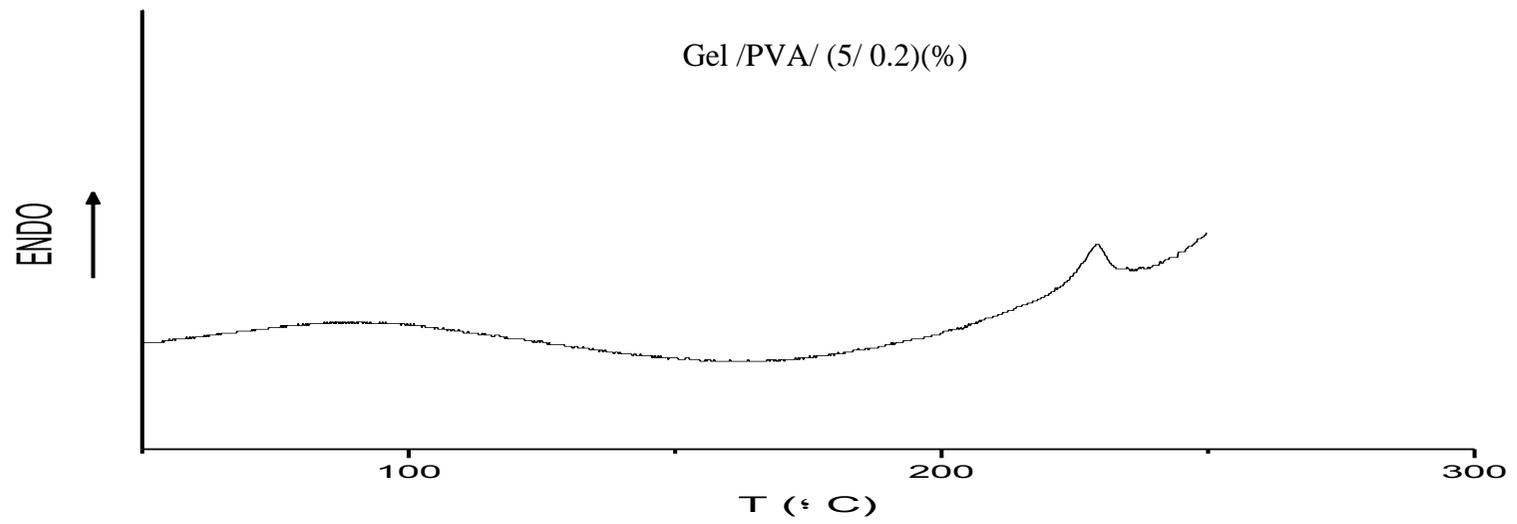


Fig.V.B.4.

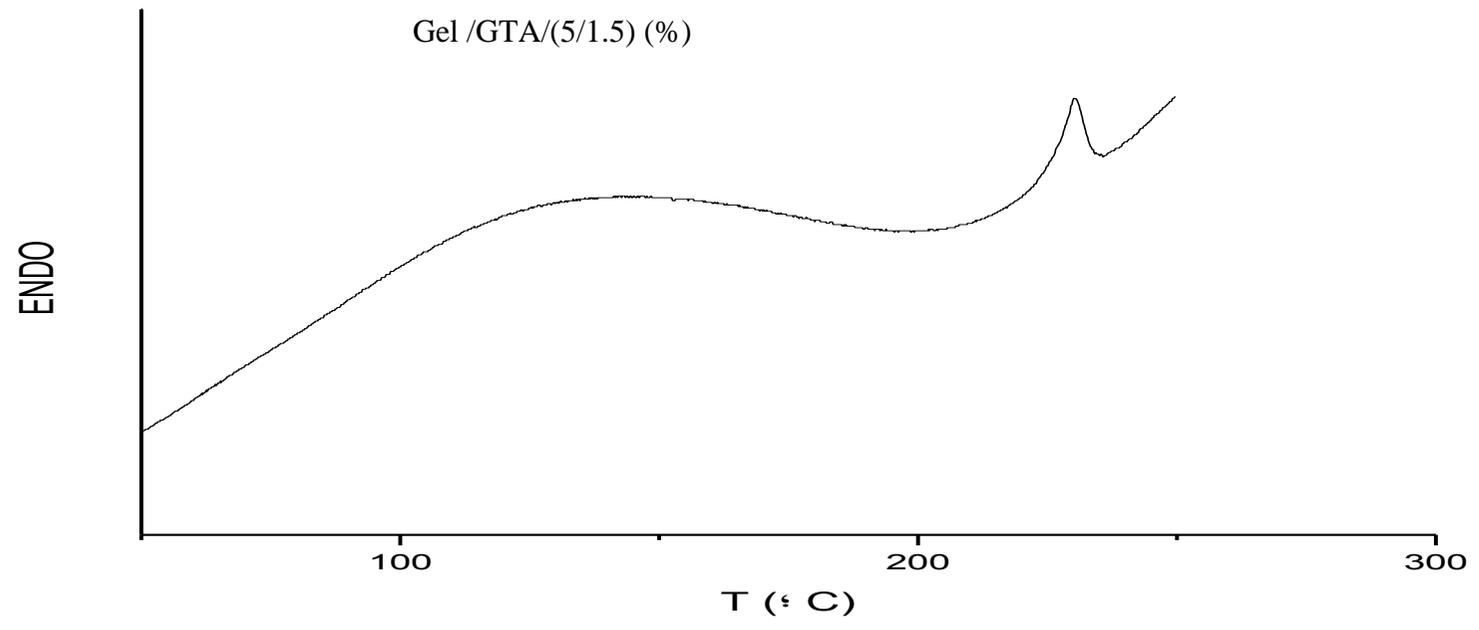


Fig.V.B.5.

Gel /Gly/PVA/(5/35/0.2) (%)

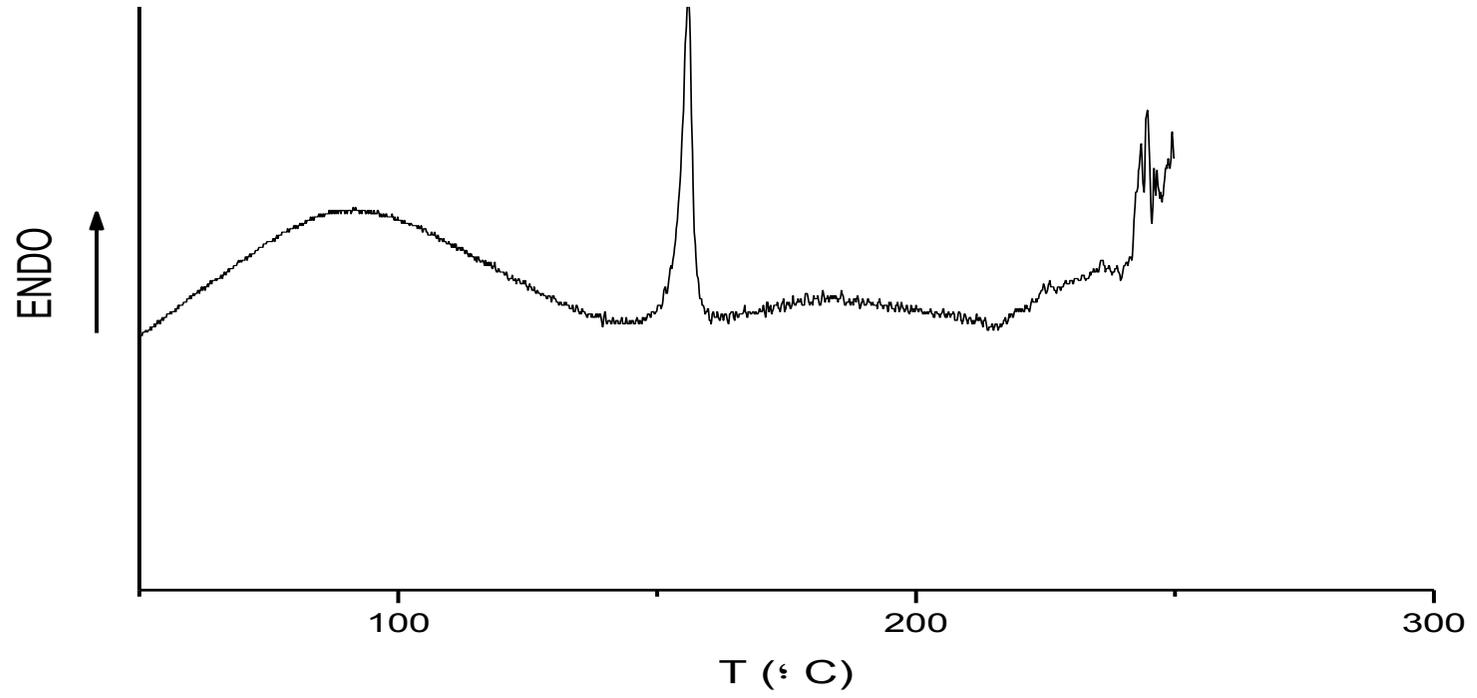


Fig.V.B.6.

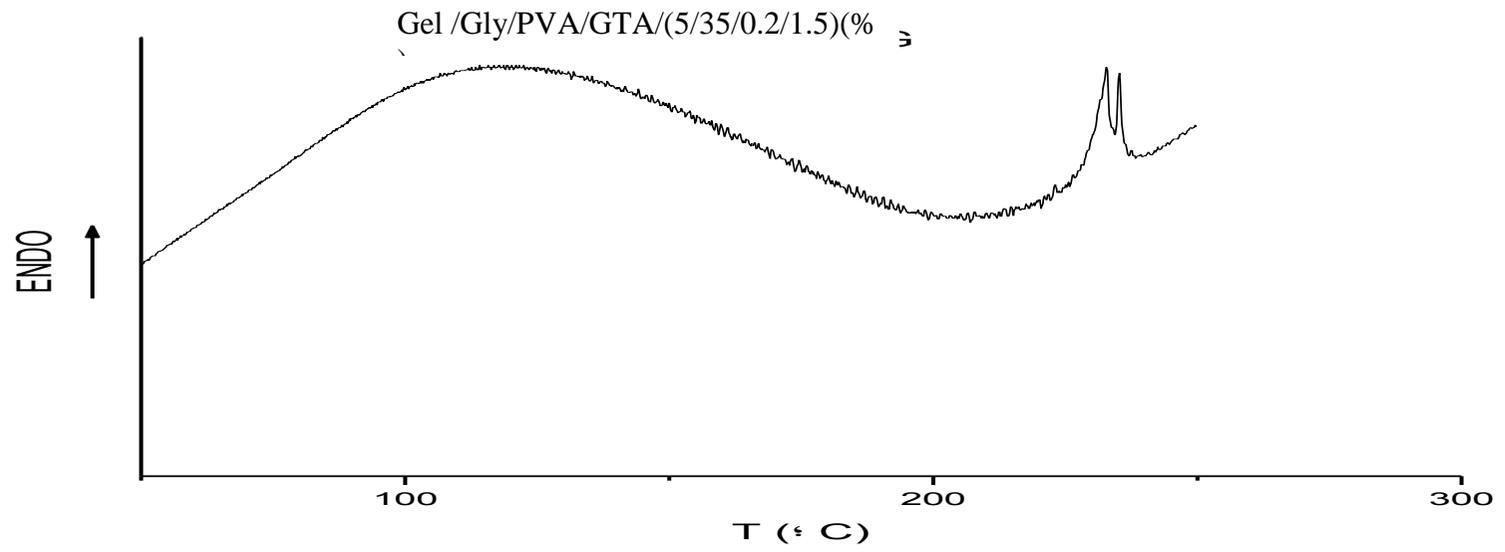


Fig.V.B.7

ANNEXE C

DIFFRACTOGRAMMES DRX

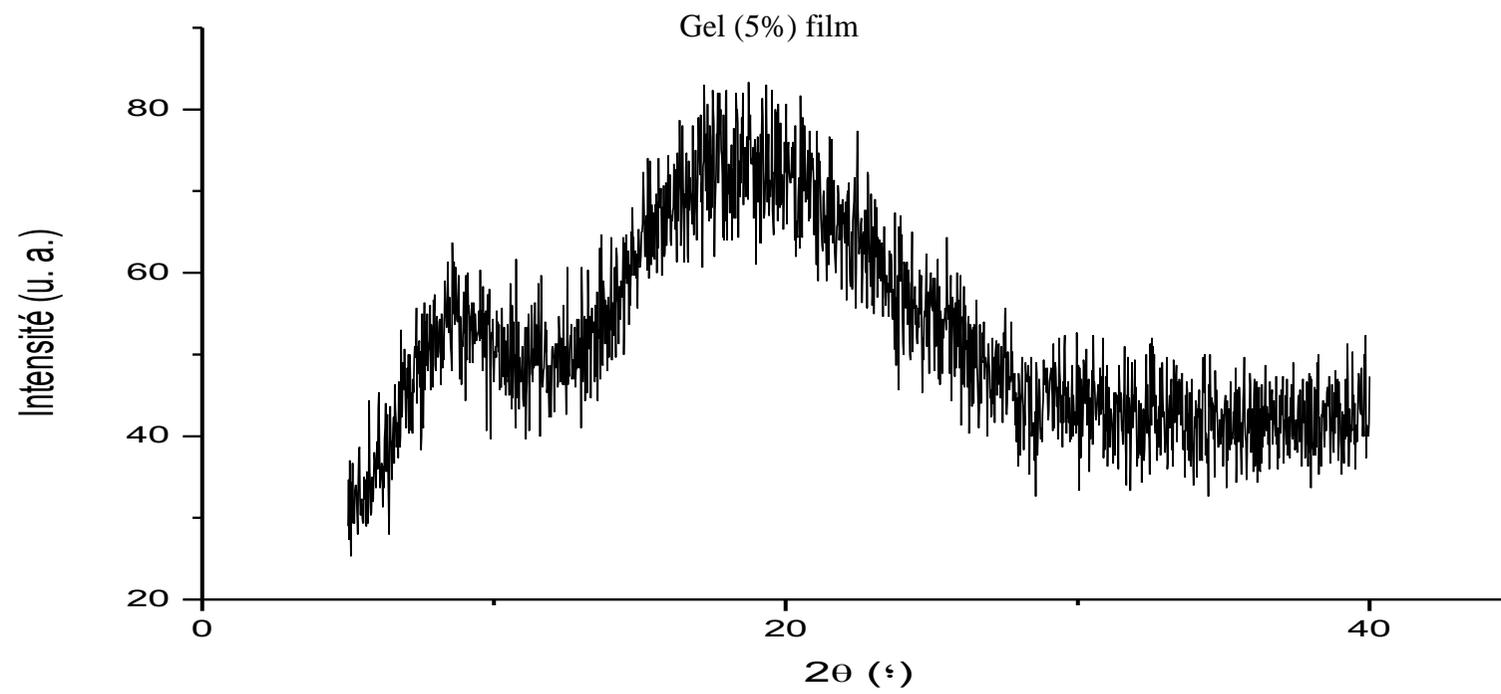


Fig.V.C.1

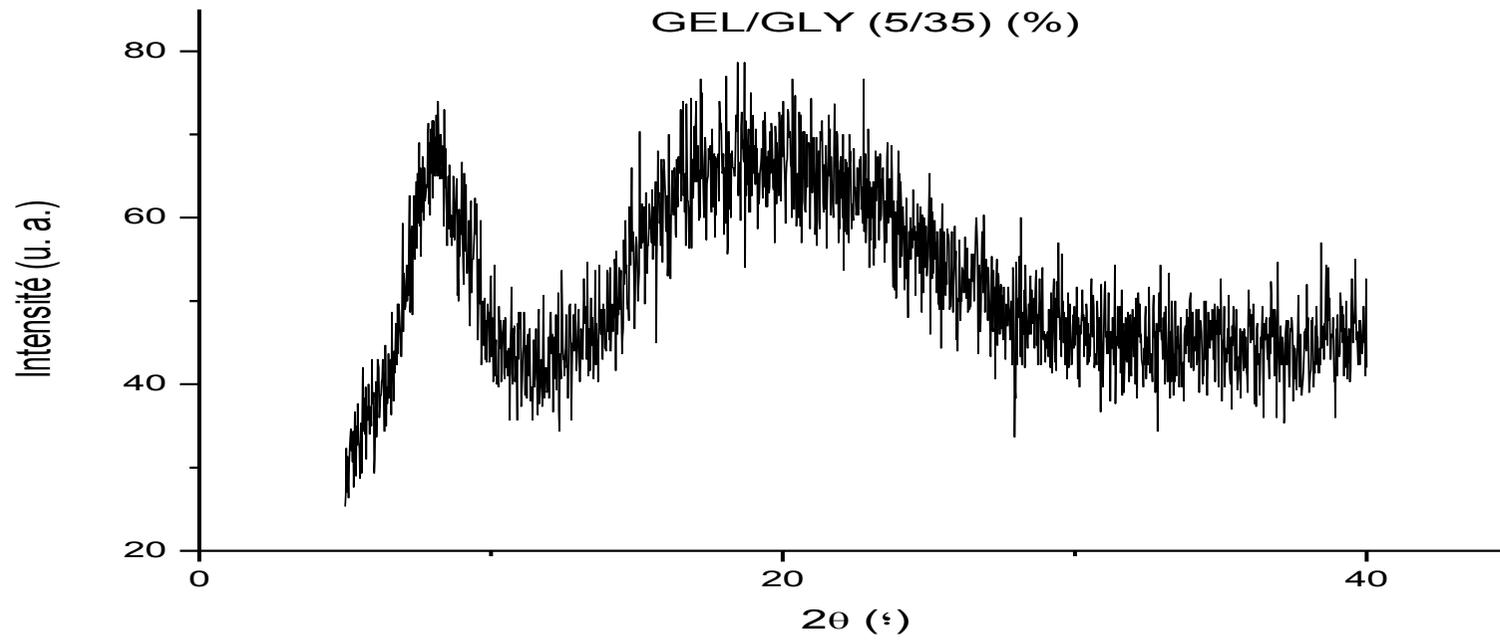


Fig. V.C.2.

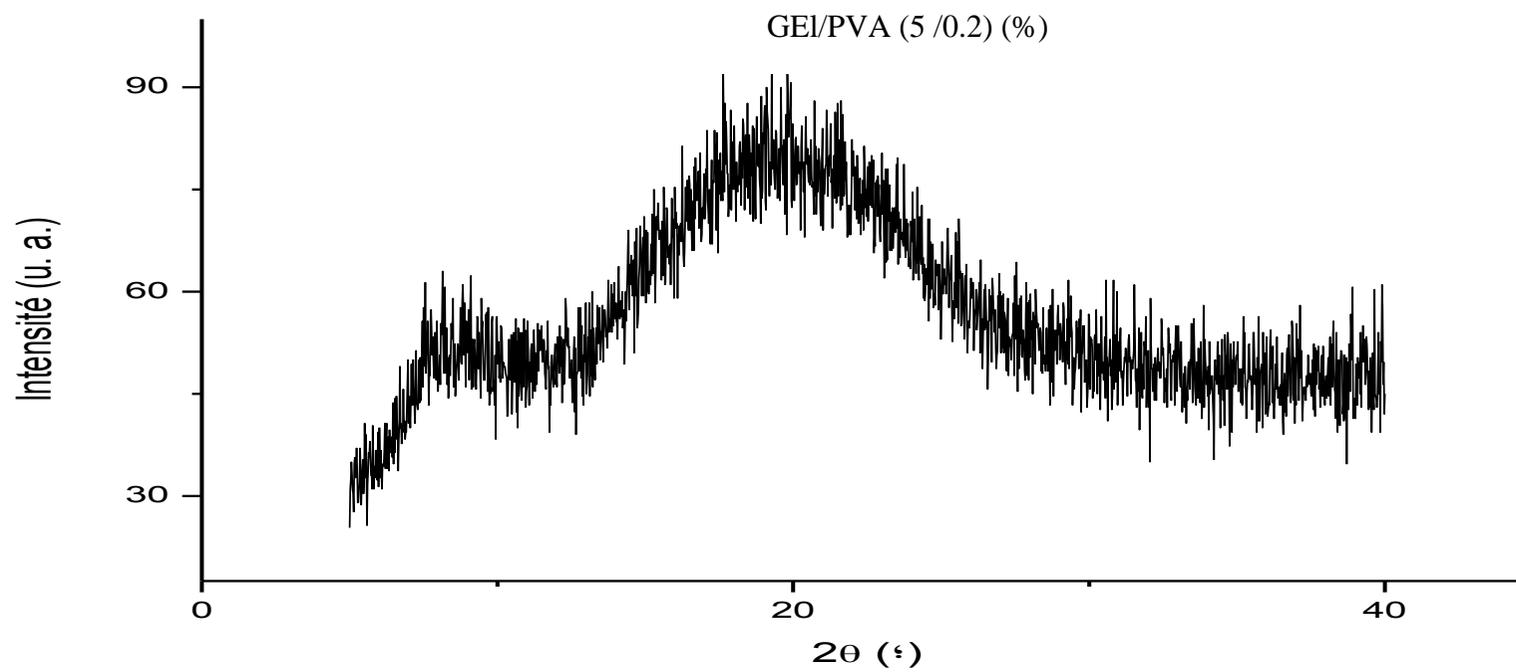


Fig.V.C.3.

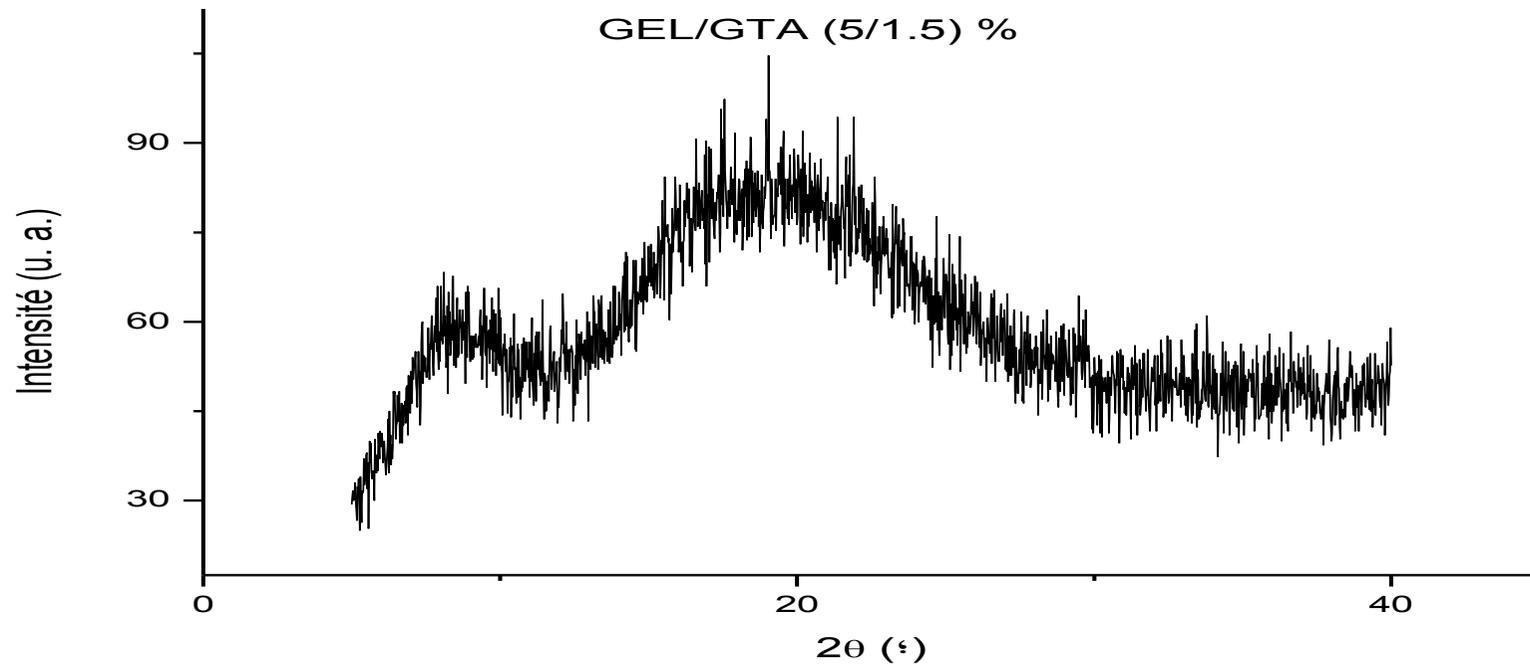


Fig.V.C.4

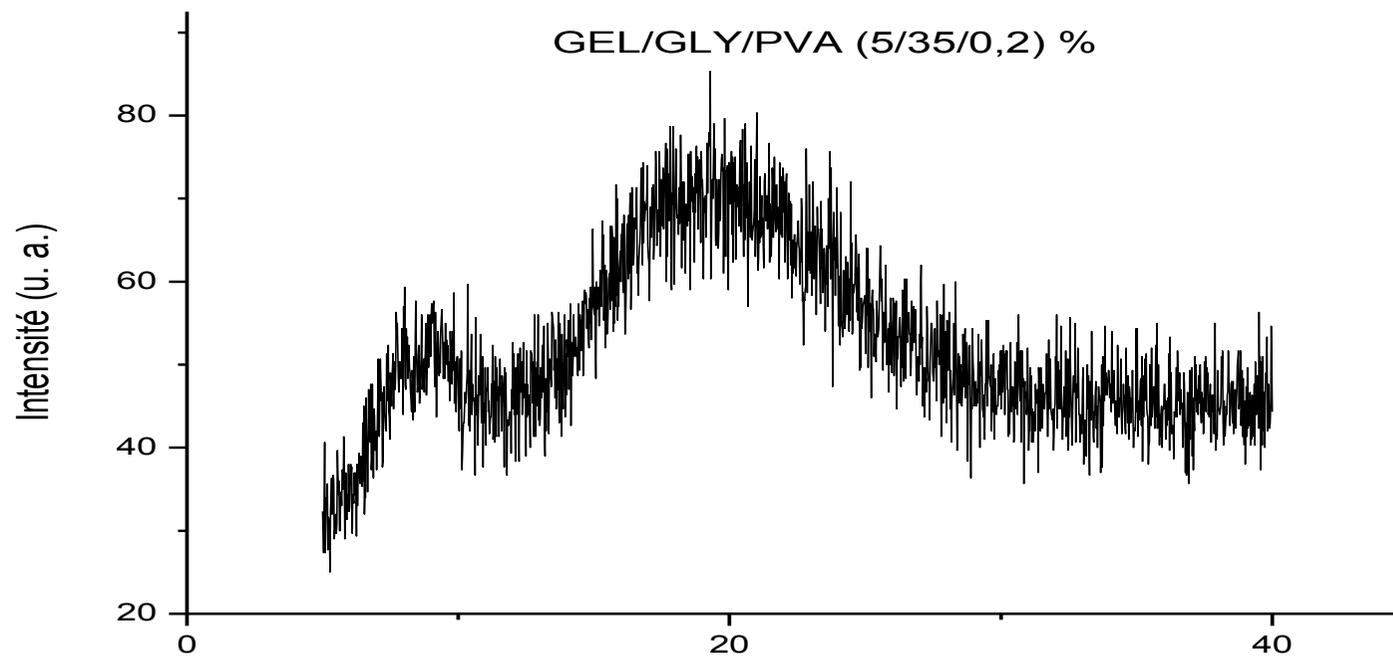


Fig.V.C.5

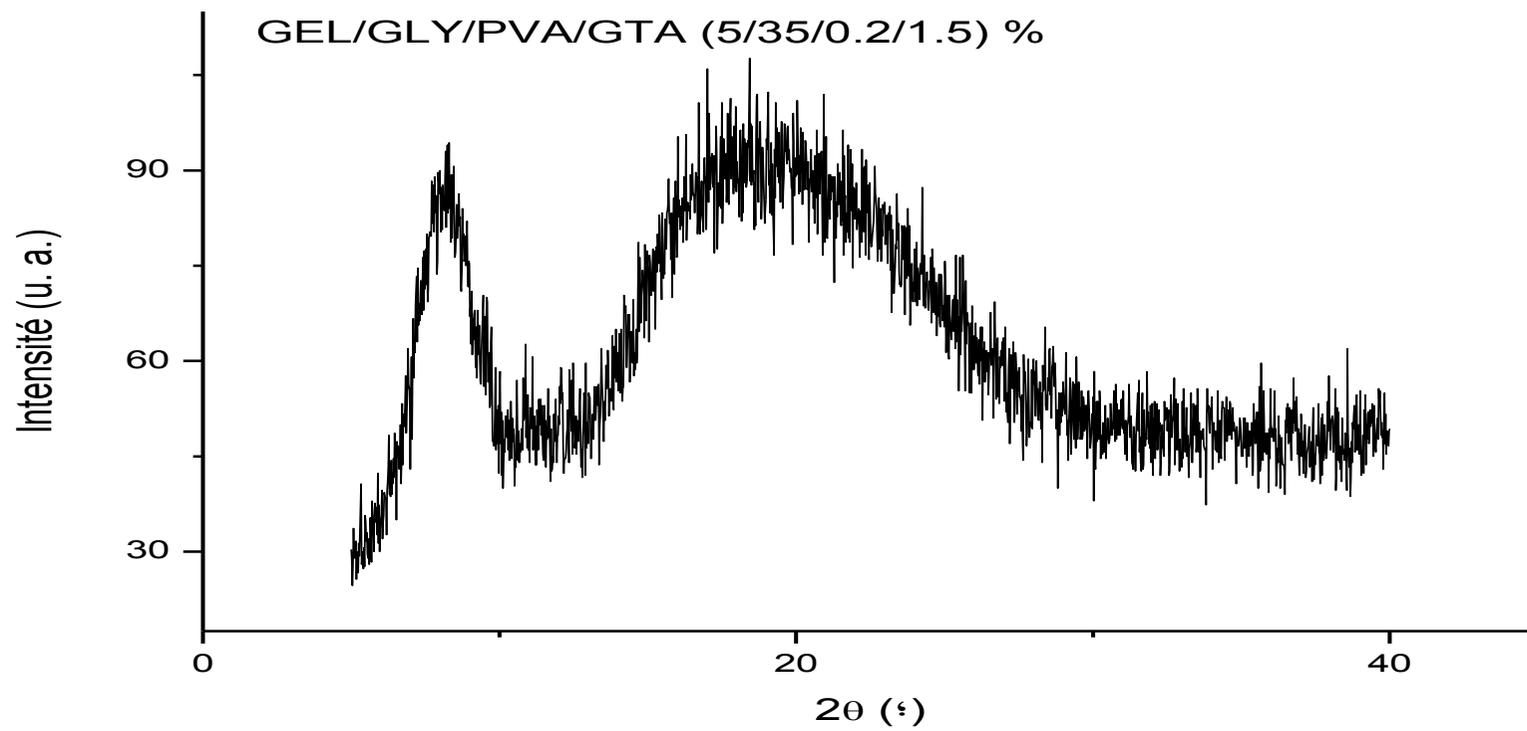


Fig.V.C.6.

SUMMARY: The crosslinking of gelatin using crosslinking agents based on condensation of the aldehyde groups and ϵ -amine groups present in lysine and hydroxylysine rests is a very attractive method reported recently. The present work deals with different films prepared from commercial gelatin of type B and animal origin, aiming at an improvement of physical properties. These films were modified by two plasticizing agents (glycerol, GLY, and poly (vinyl alcohol), PVA) and/or crosslinked by glutaraldehyde (GTA). The number of ϵ -amino groups present in the gelatin chains, before and after modification, was determined by the method of protein dosage using 2,4,6-trinitro benzene sulfonic acid (TNBS). The addition of the plasticizing and/or crosslinking agents induced a decrease in the number of ϵ -amino-groups due to the fact that these groups are involved in the physical and/or chemical crosslinking reactions occurring among the different components. The variation of the crosslinking ratio was studied as a function of formulation type, crosslinking nature and GTA concentration. The use of microhardness (H) in this study emphasizes the effect of the crosslinking on the improvement of the micromechanical properties. Differential scanning calorimetry reveals that crosslinking induces a decrease of crystallinity in the samples.

المخلص: يعتبر التكايف أساسيا مجموعات الالدهيد ومجموعات ϵ -أمين (عوامل الترابط) الموجودة في بقايا اللزين وهيدروكسي-اللزين كطريقة هامة و جذابة حديثا لحدوث التشابك. حاليا يعالج البحث العلمي تحضير عدة رقائق من الجيلاتين التجاري (حيواني) صنف B لتحسين الخصائص الفيزيائية. تم تحويل هذه الرقائق بواسطة عاملين ملدنين (غليسرول و متعدد فنيل الكحول: PVA) و/أو بالتشابك مع غليترالدهيد (GTA). تم تحديد عدد مجموعات ϵ -أمين الموجودة في سلاسل الجيلاتين قبل و بعد التحويل بواسطة المعايرة للبروتين باستعمال (TNBS) 2,4,6-trinitro benzene sulfonic acid. إضافة عوامل ملدنة و/أو عوامل الترابط تؤدي إلى نقصان في عدد مجموعات ϵ -أمين ويرجع ذلك إلى حقيقة أن هذه المجموعات تشارك في تفاعلات التشابك فيزيائيا و/أو كيميائيا التي تحدث وسط مختلف المكونات. تمت دراسة نسبة تغير التشابك كنوع الصياغة، طبيعة التشابك و تركيز GTA. استعمال الصلادة الدقيقة (H) في هذه الدراسة يؤكد تأثير التشابك على تحسين الخصائص الميكروميكانيكية. دراسة المسح الكلورمترى التفاضلي (DSC) بينت حدوث تشابك مما أدى نقصان كبير في تبلور العينات.

RESUME

La réticulation de la gélatine en présence des agents de réticulation par la condensation des groupes aldéhydes et les ϵ -amino groupe présent dans la lysine et l'hydroxylysine, reste une très intéressante méthode décrite récemment. Le présent travail s'intéresse à la préparation des différents films à base de gélatine animale commercialisée type B, (l'objectif est d'améliorer les propriétés physiques). Ces films ont été modifiés par deux plastifiants (Glycérol (GLY) et Poly(vinylalcool) (PVA) et /ou réticulés par le Glutaraldéhyde (GTA) . Le nombre de ϵ -amino groupe présent dans la chaîne de la gélatine, avant et après la modification, a été déterminé par la méthode de dosage des protéines utilisant l'acide 2,4,6 trinitrobenzène sulfonique (TNBS) . L'addition des plastifiants et/ou agent de réticulation a entraîné une diminution du nombre de ϵ -amino groupe, ceci est dû au fait que ces groupes sont impliqués dans les réactions de réticulation physique et chimique (se manifestent entre les différents composants). La variation du taux de réticulation a été étudiée selon le type de formulation étudiée, la nature de la réticulation et la variation de la concentration de GTA. L'introduction de la microdureté (H) avait pour but de mettre l'action sur l'effet de la réticulation dans l'amélioration des propriétés mécaniques ; l'utilisation de la DSC révèle que la réticulation conduit à une diminution importante de la cristallinité des produits.