

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

UNIVERSITE FARHAT ABBAS-SETIF
UFAS (ALGERIE)

MEMOIRE

Présenté à :
La Faculté de technologie
Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du Diplôme de

MAGISTER

Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Par :

M^{me} MESSASMA ZAKIA

THEME :

**Etude de l'effet de la résorcine sur les propriétés
de la gélatine.**

Soutenance prévue le : 01 /12/ 2011

devant la commission d'examen :

Pr CHAFAA SALAH.	Professeur	UFAS	Président
Pr EL KOLLI MERBAH M.	Professeur	UFAS	Rapporteur
Pr BOUNEKHEL M.	Professeur	UFAS	Examineur
Dr DJERBOUA BAITICHE M.	Maitre de conférences	UFAS	Examineur

A mes parents,

Pour le réconfort et le soutien que j'ai trouvés auprès de vous, tous les jours,
Pour avoir su effacer mes doutes et éclaircir ma voie,
Pour m'avoir donné les moyens de réaliser tous mes rêves,
Je ne sais comment vous remercier,
Soyez sûrs de mon amour et de mon admiration pour vous,
J'exprime mon immense gratitude à toute ma famille.

A mon mari

J'aimerais sincèrement remercier mon mari de m'avoir largement aidé,
Pour avoir cru en moi aux moments où je perdais espoir,

A mes amis

Un très grand merci à mes camarades du laboratoire LMPMP.

Remerciements

Au Professeur Elkolli Merbah Meriem,

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail et de me guider au cours de sa réalisation.

Merci pour votre disponibilité, votre gentillesse et vos conseils.

En témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Professeur Chafaa Salah,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Avec toute ma gratitude et mes profonds respects.

A tous les membres de jury,

Qui ont fait l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de ce mémoire.

Avec toute ma gratitude et mes profonds respects.

A tous les membres du personnel de SOFIPLAST, de l'université de BEJAIA, et de l'université de JIJEL, sans oublier tous les membres du LMPMP-UFAS de SETIF.

Mes sincères remerciements vont également à mesdames Nekaa S., Guessoum M. et Benabid S. pour leurs aides et leurs conseils. Avec toute ma gratitude.

Je ne saurais terminer sans dire un grand merci à ma collègue chetouani A. que j'ai côtoyé au cours de ce travail passé au laboratoire, pour les bons moments partagés ainsi que pour son soutien dans les moments difficiles.

En témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Table des matières

Table des matières	<i>i</i>
Liste de figures.....	<i>vi</i>
Liste de tableaux.....	<i>xi</i>
Introduction générale.....	01

Chapitre I ; Les matériaux polymériques dans le domaine biomédical.

I.1. les hydrogels dans le génie tissulaire	05
I.2. les biomatériaux dans la régénération tissulaire.....	06
I.2.1. propriétés des biomateriux	06
I.2.2. Domaines d'application	08
I.3. Les polymères biodegradables synthétiques	09
• Les poly(acide lactique) (PLA)	10
• Lespoly(acide glucolique) (PGA)	11
• Les polycprolactone (PCL)	12
• Les polyamides et les poly aminoacides	12
• Les poly orthoester.....	13
• Les polyurethanes	13
I.4.Les polymères biodegradables naturels.....	14
I.4.1. Les polysaccharides.....	14
• L'amidon	15
○ L'amylose.....	16
○ L'amylopectine.....	16
• L'alginate.....	17
• Les hyaluronates	18
• Les carraghénanes	20
• La chitine et le chitosan	20
I.4.2. Les proteines	21

I.4.2.1. Structure des protéines.....	21
a. Acides amines et liaison peptidique	22
a.1. Les acides amines	22
a.2. Liaison peptidique	22
b. Structure primaire des protéines	23
c. Structure tridimensionnelles des protéines	23
c.1. Structure secondaire	23
c.2. Structure tertiaire et quaternaire	24
I.4.2.2. Rôle physiologique	25
a. Protéines fibreuses	25
a.1. Le collagène	25
a.2. La kératine	25
a.3. Le fibrinogène	26
a.4. Les protéines musculaires	26
b. Proteines globulaires	26
I.5. La matrice extracellulaire et leur composition.....	26
a. L'lastine	27
b. Les proteoglycanes	28
c. Le collagène	29
d. Les glycoprotéines	30

Chapitre II : partie expérimentale

II.2.Méthodes.....	31
II.2.1. Préparations des films à base de gélatine/résorcine	31
II.2.2. Réticulation par le GTA	32
II.3. Caractérisation	32
II.3.1. Mesure de l'épaisseur	32
II.3.2. La spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)	33
a. Principe	33
b. Appareil	33
II.3.3. La spectrophotométrie U-Vvisible	34
a. Principe	34

b. Appareil	34
II.3.4.Essais mécanique de traction	35
a. Principe	35
b. Appareil	37
II.3.5. La diffraction des rayons X.....	37
a. Principe	37
b. Appareil.....	38
II.3.6. L'analyse thermique à balayage (DSC)	38
a. Principe	38
b. Appareil	39
II.3.7.Etude de gonflement	40
a. Milieux	40
b. Gonflement	40
II.3.8. Diffusion	41
II.3.9. Test de résidu	43
a. Acidité / basicité	43
b. Les analyses spectrophotométries	43
b.1.Spectrophotométrie UV-visible	43
b.2. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)	43
II.3.10.Détermination de la teneur en eau est des différents types d'eau	43

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Analyse par spectrophotométrie IRTF.....	44
1. Films de gélatine non réticulée additonnée à la résorcine	44
a. Dans un milieu aqueux	49
b. Dans un milieu acide (pH=1.2)	50
c. Dans un milieu basique (pH=8.6)	51
2. Films réticulés par le GTA	52
2.1.Gélatine réticulée	53
a. Dans un milieu aqueux	53
b. Dans un milieu acide (pH=1.2)	56
2.2.Mélange réticulé	58

a.	Dans un milieu aqueux	59
b.	Dans un milieu acide (pH=1.2)	62
c.	Dans un milieu basique (pH=8.6).....	64
III.2.	Analyse par spectrophotométrie UV-VIS	65
1.	Films à base de gélatine additionnée à la résorcine	65
a.	Avant la réticulation par le GTA	65
b.	Après la réticulation par le GTA	66
III.3.	Essais mécaniques de traction	68
1.	Films à une teneur en eau égale à 15%	68
2.	Films à une teneur en eau égale 65-72.5%	69
III.4.	Diffraction des rayons X	71
1.	Effet de résorcinol	71
2.	Effet de glutaraldéhyde	72
a.	Sur les films de gélatine	72
b.	Sur les films de gélatine additionnées au résorcine	74
III.5.	Etude thermique par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	75
1.	Effet de résorcine	75
2.	Effet du glutaraldéhyde.....	77
a.	Sur les films de gélatine	77
b.	Sur les films de gélatine additionné au résorcine	78
III.6.	Gonflement	79
1.	Films non réticulés	82
a.	Effet de la résorcine	82
b.	Effet du milieu	83
c.	Effet de la température.....	83
2.	Films réticulés par le GTA	84
a.	Effet de la résorcine	84
b.	Effet du milieu	85
c.	Effet de la température	86
III.7.	Détermination du mécanisme de gonflement	86
1.	Diffusion des molécules d'eau	86
2.	Facteurs influençant la diffusion	87
a.	Le pH	88
a.1.	Gélatine non réticulée	88

a.2. Mélange non réticulé	89
a.3. Mélange réticulé	89
b. Degré de réticulation	90
c. La température	91
Conclusion.....	92
Glossaire	93
Références bibliographiques	95

Annexes

Annexe 1 : Spectres infrarouge	102
Annexe 2 : Spectres UV- VIS	106
Annexe 3 : Courbes de traction	111
Annexe 4 : Diffractogrammes des rayons X	113
Annexe 5 : Thermogrammes de DSC	116
Annexe 6 : Courbes de diffusion	118
Résumé	121

- Tableau I.1.** Domaines d'application des biomatériaux.
- Tableau I.2.** Concentration en acide hyaluronique pour différentes origines.
- Tableau II.1.** Les différents films biopolymères préparés.
- Tableau II.2.** Les épaisseurs des films.
- Tableau III.1.** Variation des caractéristiques mécaniques (σ, ϵ, E) des films de gélatine (a), (G/R)(85/15)% (b) ; à H.R.= 15%.
- Tableau III.2.** Variation des caractéristiques mécaniques (σ, ϵ, E) des films de gélatine, (G/R)(85/15)% et (G/R) (85/15)% réticulés ; à H.R.= 65-72.5%.
- Tableau III.3.** Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de la gélatine, (G/R)(90/10)% et (G/R)(85/15)%.
- Tableau III.4.** Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de la gélatine, gélatine 1% et gélatine 2%.
- Tableau III.5.** Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de la (G/R) (85/15)%, (G/R/GTA)(85/15/1)% et (G/R/GTA)(85/15/2)%.
- Tableau III.6.** Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de la (G/R) (90/10)% et (G/R/GTA)(90/10/1)% .
- Tableau III.7.** Les valeurs de Tg, Tf et ΔH de gélatine, résorcine et le mélange (G/R).
- Tableau III.8.** Les valeurs de Tg, Tf et ΔH de gélatine et gélatine réticulé.
- Tableau III.9.** Les valeurs de Tg, Tf et ΔH d'un mélange (G/R).
- Tableau III.10.** Les valeurs de R.G.max de différentes compositions des films non réticulés dans différents milieux à Tamb et T= 37°C.
- Tableau III.11.** Les paramètres cinétiques de gélatine non réticulées dans différents milieux.
- Tableau III.12.** Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R)(85/15)% non réticulées dans différents milieux.
- Tableau III.13.** Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA)(85/15/0.5)% dans différents milieux.
- Tableau III.14.** Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R)(85/15)% à (Tamb, l'eau distillée).
- Tableau III.15.** Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA)(85/15/0.5)% dans différents milieux, à T=37°C.

- Tableau A2.1.** Les valeurs de pH pour les films (G/R) à T=25°C (a), à T=37°C (b) dans l'eau distillée.
- Tableau A3.1.** Variation des caractéristiques mécaniques (σ, ϵ, E) des films de gélatine (a), (G/R)(85/15)(%) réticulé (b) à H.R.= 65-72,5%
- Tableau A6.1.** Les paramètres cinétiques de gélatine non réticulée dans différents milieux à T=37°C.
- Tableau A6.2.** Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA)(85/15/0)% dans différents milieux à T=37°C.

- Figure I.1.** Concept de génie tissulaire.
- Figure I.2.** Microphotographie réalisé par microscopie électronique à balayage d'une section verticale d'un gel d'alginate (Scaffold) .
- Figure I.3.** Classification des polymères biodégradables.
- Figure I.4.** Réaction de formation d'un lactide cyclique.
- Figure I.5.** Réaction de polymérisation de lactide cyclique.
- Figure I.6.** Synthèse de l'acide polyglucolique.
- Figure I.7.** Synthèse de l'acide poly (ϵ -caprolactone).
- Figure I.8.** Structure de l'aramide.
- Figure I.9.** Structure de poly orthoester.
- Figure I.10.** Structure de polyuréthane.
- Figure I.11.** Synthèse chimique de polyuréthane.
- Figure I.12.** Presentation d'un fragment d'amidon (a) linéaire, (b) hélicoïdale.
- Figure I.13.** Structure de l'amylose.
- Figure I.14.** Structure de l'amylopectine.
- Figure I.15.** Structure de résidu d'acide manuronique.
- Figure I.16.** Formule chimique de Hyaluronate.
- Figure I.17.** Motif de repetition idéal du λ carraghénane.
- Figure I.18.** Structure chimique de chitine et chitosan.
- Figure I.19.** Synthèse d'une liaison peptidique.
- Figure I.20.** Structure primaire d'une protéine.
- Figure I.21.** Niveaux d'organisation structurales des protéines.
- Figure I.22.** Liaisons secondaires interatomiques dans un protéine .
- Figure I.23.** La matrice extracellulaire.
- Figure I.24.** La forme de l'élastine.
- Figure I.25.** La forme de l'élastine.
- Figure I.26.** La triple hélice de collagène .

- Figure II.1.** Quelques domaines d'absorption correspondant à divers types de liaison chimique.
- Figure II.2.** Diagramme d'un spectrophotomètre UV-Visible à faisceau unique.
- Figure II.3.** Comportement d'un matériau soumis à une traction mécanique.
- Figure II.4.** Dispositif général d'un calorimètre DSC.
- Figure II.5.** Variation de l'enthalpie en fonction de la température.
- Figure III.1.** Spectres IR-TF de la résorcine dans un milieu neutre **(a)**, milieu acide (pH=1.2) **(b)**, et milieu basique (pH=8.6) **(c)**.
- Figure III.2.** Particularité du résidu proline.
- Figure III.3.** Quelques réactions susceptibles de se produire entre les résidus lysine de la caseine et la résorcine.
- Figure III.4.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)**, et le mélange (G/R) (85/15)% **(c)** ; à pH neutre.
- Figure III.5.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)**, et le mélange (G/R) (85/15)% **(c)** ; à pH acide.
- Figure III.6.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)**, et le mélange (G/R) (85/15)% **(c)** ; à pH basique.
- Figure III.7.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t= 30 min), **(b)**, et la gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t= 24 h) **(c)** ; à pH neutre.
- Figure III.8.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la gélatine réticulée à 2,5 % de GTA (t= 30 min), **(b)**, et la gélatine réticulée à 2.5 % de GTA (t= 24 h) **(c)** ; à pH neutre.
- Figure III.9.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t= 30 min), **(b)**, et la gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t= 24 h) **(c)** ; à pH acide.
- Figure III.10.** Spectres IR-TF de la gélatine **(a)**, la gélatine réticulée à 2,5 % de GTA (t= 30 min), **(b)**, et la gélatine réticulée à 2,5 % de GTA (t= 24 h) **(c)** ; à pH acide.
- Figure III.11.** Condensation de la résorcine et du formol, polymérisation de ce complexe en une longue chaîne.
- Figure III.12.** Spectres IR-TF de la (G/R) (85/15)% **(a)**, (G/R)(85/15)% réticulé à 0.1 % (t=30 min) **(b)** , et (G/R)(85/15)% réticulé à 0.1 % (t=24 h) **(c)** ; à pH neutre.

- Figure III.13.** Spectres IR-TF de la (G/R) (85/15)% **(a)**, (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=30 min) **(b)** , et (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=24 h) **(c)** ; à pH neutre.
- Figure III.14.** Spectres IR-TF de la (G/R) (85/15)% **(a)**, (G/R)(85/15)% réticulé à 0.1 % (t=30 min) **(b)** , et (G/R)(85/15)% réticulé à 0.1 % (t=24 h) **(c)** ; à pH acide.
- Figure III.15.** Spectres IR-TF de la (G/R) (85/15)% **(a)**, (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=30 min) **(b)** , et (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=24 h) **(c)** ; à pH acide.
- Figure III.16.** Spectres IR-TF de la (G/R) (85/15)% **(a)**, (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=30 min) **(b)** , et (G/R)(85/15)% réticulé à 2.5 % (t=24 h) **(c)** ; à pH basique.
- Figure III.17.** Spectres d'absorption U.V de la gélatine et le mélange (G/R) dans différents milieux .
- Figure III.18.** Spectres d'absorption U.V de mélange de (Glycine / Résorcine) dans différents milieux.
- Figure III.19.** Spectres d'absorption U.V de la glycine et le mélange de (glycine/ résorcine) réticulés par le GTA.
- Figure III.20.** Courbes contrainte- déformation des films de la gélatine **(a)**, le mélange (G/R) **(b)** , à **H.R. = 15 %**.
- Figure III.21.** Courbes contrainte- déformation des films de la gélatine **(a)**, le mélange (G/R) **(b)** , à **H.R. = 65-72.5 %**.
- Figure III.22.** Diffractogramme des rayons X de la gélatine, la résorcine, (G/R)(85/15)%, et (G/R)(90/10)%.
- Figure III.23.** Diffractogramme des rayons X de la gélatine, Gélatine 1% et gélatine 2%.
- Figure III.24.** Diffractogramme des rayons X de (G/R)(85/15)%, (G/R/GTA)(85/15/1)%, et (G/R/GTA)(85/15/2)%.
- Figure III.25.** Diffractogramme des rayons X de (G/R)(90/10)% et (G/R/GTA)(90/10/1)%.
- Figure III.26.** Thermogrammes de DSC des films de la gélatine, la résorcine et le mélange (G/R) non réticulés ; **(a)** : 1^{er} scan ; **(b)** : 2^{eme} scan.
- Figure III.27.** Thermogrammes de DSC des films de la gélatine réticulées , **(a)** : 1^{er} scan, **(b)** : 2^{eme} scan.
- Figure III.28.** Thermogrammes de DSC des films de mélange de (G/R) (85/15)% , **(a)** : 1^{er} scan, **(b)** : 2^{eme} scan.

- Figure III.29.** Thermogrammes de DSC des films de mélange de (G/R) (90/10)% ,
(a) : 1^{er} scan, (b) : 2^{eme} scan.
- Figure III.30.** Schématisation de la pénétration d'un solvant à l'intérieur d'un système polymère.
- Figure III.31.** Variation de R.G. des différents films non réticulés à T amb en fonction du temps dans les différents milieux.
- Figure III.32.** Variation de R.G. des différents films non réticulés à T amb en fonction du temps dans les différents milieux.
- Figure III.33.** Variation de R.G. des différents films réticulés à 0.5 % de GTA à différents taux de résorcine à 25 °C T dans les différents milieux.
- Figure III.34.** Variation de R.G. des différents films réticulés à 0.5 % de GTA en fonction du temps dans les différents milieux.
- Figure III.35.** Variation de R.G. des différents films réticulés à 0.5 % de GTA à Tamb et T =37 °C en fonction du temps dans le milieu 1 et le milieu 2.
- Figure III.36.** Représentation schématique des groupements hydrophobes et hydrophyles.
- Figure III.37.** Graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de gélatine non réticulés dans différents milieux, à T ambiante.
- Figure III.38.** Graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de (G/R/GTA)(85/15/0)% dans différents milieux, à T ambiante.
- Figure III.39.** Graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% dans différents milieux, à T ambiante.
- Figure III.40.** Graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de (G/R)(85/15)% réticulés, à T ambiante.
- Figure III.41.** Graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% dans différents milieux, à T =37°C.
- Figure A1.1.** Spectres IR-Tf de glutaraldéhyde (source SDBS).
- Figure A1.2.** Spectres IR-Tf de (G/R/GTA)(85/15/0)% .
- Figure A1.3.** Spectres IR-Tf de (G/R/GTA)(85/15/0,5)%.
- Figure A1.4.** Spectres IR-Tf de (G/R/GTA)(85/15/2,5)%.
- Figure A1.5.** Spectres IR-Tf du résidu (G/R)(85/15)% réticulés à différents concentrations à pH neutre.
- Figure A1.6.** Spectres IR-Tf du résidu (G/R)(85/15)% réticulés à différents concentrations à pH acide (pH=1.2).

- Figure A1.7.** Spectres IR-Tf du résidu (G/R)(85/15)% réticulés à différentes concentrations à pH basique (pH=8.6).
- Figure A2.1.** Spectres d'absorption UV de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)**.
- Figure A2.2.** Spectres d'absorption UV de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)** et le mélange (G/R)(85/15)% **(c)** dans différents milieux.
- Figure A2.3.** Spectres d'absorption UV de la gélatine **(a)**, la résorcine **(b)** et le mélange (G/R)(85/15)% **(c)** réticulés par 0.5% dans différents milieux.
- Figure A2.4.** Spectres d'absorption UV du résidu des films de (G/R)(85/15)% non réticulés dans l'eau distillée.
- Figure A2.5.** Spectres d'absorption UV du résidu des films de mélange (G/R/GTA) (85/15/0,5)% **(a)**, (G/R/GTA)(85/15/2,5)% **(b)**, (G/R/GTA)(85/15/1,5)% **(c)**
- Figure A2.6.** Spectres d'absorption UV du résidu des films de (G/R)(85/15)% à différentes concentrations de réticulation à pH =1.2 **(a)** ; pH=7.4 **(b)**.
- Figure A3.1.** Courbes contrainte-déformation des différents films à **H.R=65-72.5 %**
- Figure A4.1.** Diagrammes de diffraction de rayons X de la résorcine **(a)**, de (G/R)(85/15)% **(b)**, de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% **(c)**, (G/R/GTA)(85/15/1)% **(d)** et (G/R/GTA)(85/15/2.5)% **(e)**.
- Figure A4.2.** Diagrammes de diffraction de rayons X de la gélatine et le mélange (G/R)(85/15)% .
- Figure A4.3.** Diagrammes de diffraction de rayons X de la résorcine et le mélange (G/R)(85/15)% et de (G/R)(90/10)%.
- Figure A5.1.** Thermogrammes de DSC de la gélatine **(a)** et de la résorcine **(b)**.
- Figure A6.1.** Graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de gélatine non réticulés à $T=37^{\circ}\text{C}$.
- Figure A6.2.** Graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de mélange (G/R)(85/15)% non réticulés à $T=37^{\circ}\text{C}$.

Une simple coupe histologique révèle que les tissus biologiques, comme par exemple la peau ou le cartilage, sont hautement organisés et stratifiés. Ils sont constitués de différents types cellulaires, organisés de manière adéquate afin de remplir une fonction bien définie et interagir avec leur matrice extracellulaire.

Un des objectifs de l'ingénierie tissulaire est le développement de substituts biologiques qui vont restaurer, maintenir ou améliorer la fonction tissulaire.

De manière générale, l'ingénierie tissulaire implique l'utilisation de biomatériaux tridimensionnels appelés «*scaffolds*», capables de créer un environnement favorable à la prolifération, la différenciation et à la conservation du phénotype cellulaire.

Ainsi, pour leurs diverses propriétés, les hydrogels semblent être des candidats potentiels dans le domaine de l'ingénierie tissulaire comme «*scaffolds* ». Cependant, les méthodes développées jusqu'à nos jours, ne permettent pas une distribution spatiale précise des différents types cellulaires afin de mimer l'architecture stratifiée du tissu à remplacer. Actuellement, des « *scaffolds* » de nouvelle génération sont en cours de développement et consistent en la réalisation de matériaux bioactifs.

La colle GRF Elaborée aux Etats-Unis en **1968** par C.W. Cooper et R.D. Fald, ce nouveau type de colle est constitué, comme son nom l'indique prépolymère protéinique (gélatine) polymérisé en gel par un aldéhyde (Glutaraldéhyde) en présence d'un phénol rendant l'ensemble insoluble (résorcinol).

Cette colle présente l'avantage d'être beaucoup moins toxique que les colles cyanoacrylates, bien que la présence de Glutaraldéhyde dans sa composition puisse entraîner des effets cytotoxiques. L'idée d'une colle réalisée à base d'un composant protéique (la gélatine) vient du fait que les tissus organiques contiennent de grandes quantités de chaînes polypeptidiques. Dans le cadre de la chirurgie humaine, cette colle fut tout d'abord utilisée en urologie, puis en stomatologie, mais son domaine d'utilisation principal reste la chirurgie vasculaire, ou elle est utilisée le plus souvent en renfort de sutures, afin de réaliser une hémostase rapide, dans un souci d'étanchéité (**Richards J, 1968**).

Dans ce contexte et à ce propos, nous nous sommes proposés d'étudier chimiquement, thermiquement, mécaniquement et structurellement (morphologiquement) et d'élucider ensuite, si c'est possible, l'effet des ingrédients (Gélatine, Résorcine et Glutaraldéhyde) sauf ou en mélange sur le comportement de la protéine qui jusqu'à lors suscite de profondes investigations .

Après avoir énoncé un prologue succinct sur l'intérêt de l'usage de la colle GRF ou GRFG, nous avons réparti notre mémoire en trois principaux chapitre.

- Le premier chapitre est consacré à une analyse bibliographique sur les biomatériaux en général. Il nous a paru utile de l'initier en donnant des définitions sur le génie tissulaire suivi par la suite de rappels sur les biomatériaux et notamment les polymères biodégradables.

- Au chapitre II nous avons décrit les matériaux utilisés, les équipements employés, ainsi que les méthodes de caractérisation mises en œuvre tels que la spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier pour voir l'interaction entre la gélatine et la résorcine avant et après la réticulation par le glutaraldéhyde, la diffraction des rayons X, l'analyse thermique par DSC, le test de gonflement dans les différents milieux pseudo-physiologiques. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux propriétés mécaniques de traction.

- Et enfin au chapitre III : nous avons exprimé et discuté les résultats obtenus des différentes caractérisations sus citées.

L'ingénierie tissulaire, au carrefour des sciences du vivant et des sciences de l'ingénieur, a pour but de remplacer, maintenir ou améliorer la fonction de tissus humains, grâce à des substituts tissulaires incluant des éléments vivants (**Langer et Vacanti, 1993**). Il s'agit donc d'élaborer des tissus artificiels, en faisant appel aux cultures de cellules (cellules différenciées, ou plus souvent cellules souches de la moelle osseuse), à des biomatériaux (matériaux poreux à architecture contrôlée, mais également ciments), à des facteurs de croissance (comme les bon morphogénétique protéines), aux protéines intervenant dans l'adhésion cellulaire (telles que la fibronectine, ou les séquences reconnues par les sous unités d'intégrine), ou encore à la thérapie génique des cellules (notamment en utilisant des cellules-souches transfectées). Leur association est un biomatériau hybride (**Figure I.1**).

En outre, la voie de l'ingénierie tissulaire présente l'avantage de s'affranchir des problèmes comme le manque de donneurs et le risque de transmission virale. Les applications sont nombreuses et recouvrent la reconstitution aussi bien de la peau (**MacNeil, 2007**), du foie (**Bhandari et al., 2001**), de la cornée (**Hu et al., 2005**), mais également d'appareil locomoteur (**Hardouin et al., 2000**). Plusieurs de ces tissus sont déjà en cours d'application clinique (greffe de la peau, du cartilage et de l'os) (**Roberts et al., 2008**). Cette approche thérapeutique est actuellement considérée comme innovante en médecine régénérative à côté des deux principales thérapies que sont la transplantation d'organes et la chirurgie prothétique (**Vacanti et Langer, 1999 ; Lavik et Langer, 2004**).

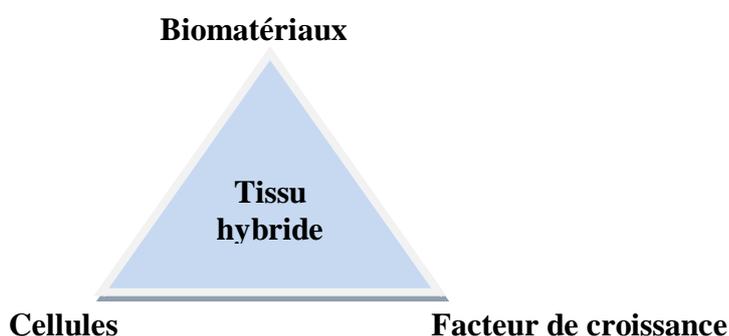


Figure I.1 : Concept de génie tissulaire qui est basée sur le triptyque cellules/biomatériaux/facteurs biologiques dans le but de générer un tissu hybride (**Merceron et al., 2008**).

L'ingénierie tissulaire implique en général l'utilisation des "scaffolds", qui sont des architectures en échafaudage sophistiquées tridimensionnelles, formant des motifs précis. Le «scaffold» doit satisfaire les critères suivants (**Hutmacher, 2001**):

- (1) il doit être hautement poreux avec des pores interconnectés et présente une taille appropriée afin de favoriser l'intégration et la vascularisation du nouveau tissu, la diffusion des nutriments et l'évacuation des déchets,
 - (2) il doit être construit à partir de matériaux biocompatibles et dont la biodégradabilité est contrôlée,
 - (3) il doit favoriser l'adhésion, la prolifération et la différenciation cellulaire,
 - (4) il doit assurer à la fois le rôle de support mécanique lors de la transplantation et le rôle de trame temporaire mimant la matrice extracellulaire des cellules afin de guider la reconstruction tissulaire,
 - (5) il ne doit pas induire une réponse inflammatoire,
- Et (6) il doit être facilement modulable en forme et en taille.

Les « scaffolds » peuvent être fabriqués à partir de matériaux inorganiques comme le phosphate de calcium, utilisé dans la régénération des tissus minéralisés cas de tissu osseux (**Hench *et al.*, 2002**), ou de matériaux organiques comme les polymères naturels ou synthétiques (**Drury *et al.*, 2003**).

Parmi les polymères naturels utilisés dans l'ingénierie tissulaire, les hydrogels à base de biopolymères, comme l'alginate (**Figure I.2**) et le chitosan sont particulièrement attractifs. En effet, ils présentent une structure proche de celle des macromolécules composant les tissus humains, une faible cytotoxicité, une bonne biocompatibilité et un coût relativement bas (**Falcone *et al.*, 2006**).

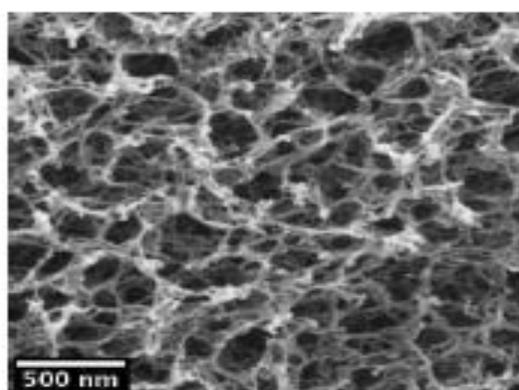


Figure I.2. : Microphotographie réalisée par microscopie électronique à balayage d'une section verticale d'un gel d'alginate (scaffold). Site internet : <http://home.phys.ntnu.no>.

I.1. Les hydrogels dans le génie tissulaire :

Ce sont des polymères très hydratés, 70% de leur masse est constituée d'eau (**Drury et Mooney, 2003**). Leur principale caractéristique est leur capacité à gonfler en présence d'eau.

Les hydrogels sont très utilisés pour :

- Les plaies ouvertes superficielles et profondes,
- Les escarres,
- Les ulcères de jambe,
- Les brûlures du second et troisième degré superficiel et profond,
- Les sites donneurs de greffe,
- Les coups de soleil sévères,
- La dermabrasion,
- La réaction de la peau aux traitements oncologiques (radiothérapie),
- La chirurgie réparatrice et reconstructrice,
- Et la plaie atone.

Les hydrogels sont composés de chaînes polymériques hydrophiles pouvant être soit synthétiques soit naturelles. Les hydrogels synthétiques incluent : le poly(alcool vinylique) (PVA), Le poly(oxyéthylène) (PEO) et le poly(acide acrylique) (PAA)...etc.

Les hydrogels naturels sont habituellement des biopolymères, tels que l'alginate, le collagène, la gélatine, la fibrine, la chitosan, l'agarose et l'acide hyaluronique (**Lee et al., 2001**). Suivant la nature des pontages mis en jeu dans le réseau, il est possible de distinguer les hydrogels «chimiques» et les hydrogels «physiques». Dans les hydrogels chimiques, des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et, l'équilibre de gonflement est, en grande partie, relié au taux de réticulation. Les hydrogels «physiques» présentent, quant à eux, des pontages ioniques, des interactions de type *Van der Waals* ou des interactions électrostatiques (**Hoffman, 2002**).

Les hydrogels doivent répondre aux critères cités précédemment pour être utilisés en tant que « scaffold » dans l'ingénierie tissulaire. De plus, le mécanisme de gélification doit être pris en compte. La formation de gel basée sur des liaisons covalentes peut provoquer, quant à elle, une cytotoxicité provenant de la molécule de réticulation mais également rendre le gel non biodégradable, aspect défavorable pour le génie tissulaire (**Lee et al., 2001**).

I.2. Les biomatériaux dans la régénération tissulaire :

Ils sont au centre d'innovations importantes dans le traitement des traumatismes, de certaines affections (en particulier cardio-vasculaires) ou du vieillissement. Des progrès se poursuivent actuellement dans le cadre du génie tissulaire en s'intégrant dans une approche plus large qui fait appel aux avancées techniques de la chimie des polymères, des biotechnologies, et de la thérapie cellulaire et génique. Cette approche pluridisciplinaire vise à associer dans une même unité fonctionnelle un matériau (synthétique ou naturel) si possible dégradable, et une composante cellulaire, dans une architecture tridimensionnelle.

Il s'agit de favoriser avec ces nouveaux biomatériaux hybrides, l'aptitude de l'organisme à se réparer. De ce champ d'investigations, des innovations importantes sont attendues, en particulier dans le domaine du remplacement des vaisseaux. Du génie biologique et médical au génie tissulaire, les biomatériaux occupent toujours une place centrale (**Auger FA, 2000**).

Une des caractéristiques indispensable des biomatériaux est leur biocompatibilité et leur inertie lors de leur intégration dans le corps humain, ceci afin d'éviter les phénomènes de rejet. Une évolution récente est l'élaboration de composés biodégradables. De tels composés sont destinés à des applications thérapeutiques nécessitant une présence limitée dans le temps comme les stents biorésorbables (**Zilberman et al., 2006**), les fils de suture synthétiques résorbables tels que le Vicryl® rapide ou le Dexon®, les membranes biodégradables pour la cicatrisation des plaies, ou encore les éponges pour la régénération du tissu osseux (**Freed, 1993**).

Cependant, les limitations inhérentes à l'emploi des biomatériaux (détérioration à long terme des propriétés structurales et des interfaces, difficultés à trouver des substituts pour remplacer certains types tissulaires) ont entraîné le développement de l'ingénierie tissulaire qui s'efforce de reproduire les principales propriétés des tissus et de contrôler leur comportement dans le temps.

I.2.1. Propriétés des biomatériaux :

Tout d'abord, le biomatériau ne doit pas être toxique ; il utilise des produits inertes qui n'entraînent pas de risques toxiques et qui sont bien acceptés par le receveur (**Johnson, 1985**).

Actuellement, en médecine, la biocompatibilité des implants est une condition indispensable à leur usage. La biocompatibilité peut être définie par « la capacité d'un biomatériau à induire une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique ». Elle

est caractéristique de l'endommagement que pourrait provoquer l'implant sur les tissus l'avoisinants (**Laing et al., 1990**).

Si les cellules ne sont pas endommagées par le biomatériau ou par des produits libérés par la corrosion ou le frottement, le matériau est considéré comme compatible avec l'organisme. L'implant est un « corps étranger » ne doit pas non plus être endommagé par les fluides corporels ou par les mécanismes de défense de l'organisme. D'autres exigences qui dépendent de la fonction et de l'endroit d'implantation du biomatériau sont aussi recherchées : la connaissance des propriétés mécaniques du biomatériau est indispensable dans le cas de prothèses osseuses. Il faut être en mesure de connaître les contraintes et les déformations mécaniques du biomatériau, qui sont liées à sa structure et à sa composition (**Spector, 2000**). Les contraintes qui s'exercent sur les biomatériaux sont statiques mais aussi dynamiques. Une prothèse de hanche subit des alternances de charge. Les propriétés chimiques comme l'oxydation, la corrosion ou la résistance à l'usure, doivent aussi être prises en compte et connues.

A l'interface du biomatériau et des tissus environnants, des réactions se déroulent (**Coleman, 1974**). Elles ont des répercussions sur les cellules des tissus hôtes et peuvent être à l'origine de nombreuses irritations (inflammations, allergies) ou au contraire, avoir un effet stimulant pour la régénération des tissus environnants.

Idéalement, il devrait y avoir interaction entre les cellules des tissus environnants et le matériau de manière à reconstruire au contact de l'implant les tissus lésés et à incarner activement l'implant dans le tissu hôte. Les interactions entre l'environnement biologique tels que les tissus durs ou mous environnant l'implant, le sang et le liquide corporel peuvent provoquer à l'interface des biomatériaux de nombreuses réactions non désirées (inflammatoires, mutagènes, carcinogènes...). Elles permettent de distinguer trois sortes de matériaux :

- Les matériaux bioinertes qui s'intègrent dans l'os sans interposition de couche fibreuse
- Les matériaux biotolérés qui s'intègrent dans l'os avec interposition d'une couche tissulaire fibreuse.
- Les matériaux bioactifs qui réagissent « positivement » à leur environnement biologique en permettant des réactions spécifiques à l'interface implant-tissu receveur. A leur contact, il se forme un os néoformé, avec l'établissement par des processus physico-chimiques, d'une continuité entre le matériau et la matrice osseuse.

Ces matériaux sont tous biocompatibles ; ils ne libèrent pas de substances toxiques et n'endommagent pas non plus les tissus environnants.

I.2.2. Domaine d'application :

Un récapitulatif du domaine d'application des biomatériaux est donné dans le tableau suivant :

Tableau I.1 : Domaines d'application des biomatériaux (Niklason *et al.*, 1999).

<i>Domaines</i>	<i>Applications</i>
Cardiovasculaire	Valves cardiaques, matérielles pour circulation extracorporelle, cœur artificiel, assistance ventriculaire, stimulateurs cardiaques, prothèses et endoprothèse (stents) vasculaires, matériels pour angioplastie lésionnelle, cathéters.
Chirurgie plastique et reconstructive	Matériaux et implants pour chirurgie esthétique, drains de chirurgie, colles tissulaire, peau artificielle, sutures résorbables.
Chirurgie orthopédique	Prothèses articulaires (hanche, coude, genou, poignet), orthèses, ligaments et tendons artificiels, cartilage, matériel de remplacement ou comblement osseux, chirurgie du rachis, réparation de fractures (vis, plaques, clous, broches).
Endocrinologie	Pancréas artificiel, pompes portables et implantables.
Odontologie et stomatologie	Matériaux de restauration, comblement dentaire et osseux, traitement prophylactiques, orthodontie, traitements du parodonte et de pulpe, implants reconstruction maxillo- faciale
Ophthalmologie	Implants, lentilles, coussinets de récupération, produits visqueux de chambre postérieure.
Radiologie et imagerie	Produits de contraste, produits pour embolisation, produit pour radiologie interventionnelle.
Urologie et néphrologie	Dialyseurs, poches, cathéters et tubulaires pour dialyse, rein artificiel portable, prothèses, matériaux pour traitement de l'incontinence.
Autres applications dans d'autres domaines	Systèmes de libération contrôlée de médicaments ou de gènes, biocapteurs, encapsulation cellulaire, néo-intestin.

La figure suivante note qu'il existe de nombreux types de polymères biodégradables, qui sont généralement classés en deux grandes familles selon leur origine – renouvelable ou fossile (Pétrochimie), auxquelles s'ajoutent les mélanges qui sont souvent utilisés pour les produits commerciaux.

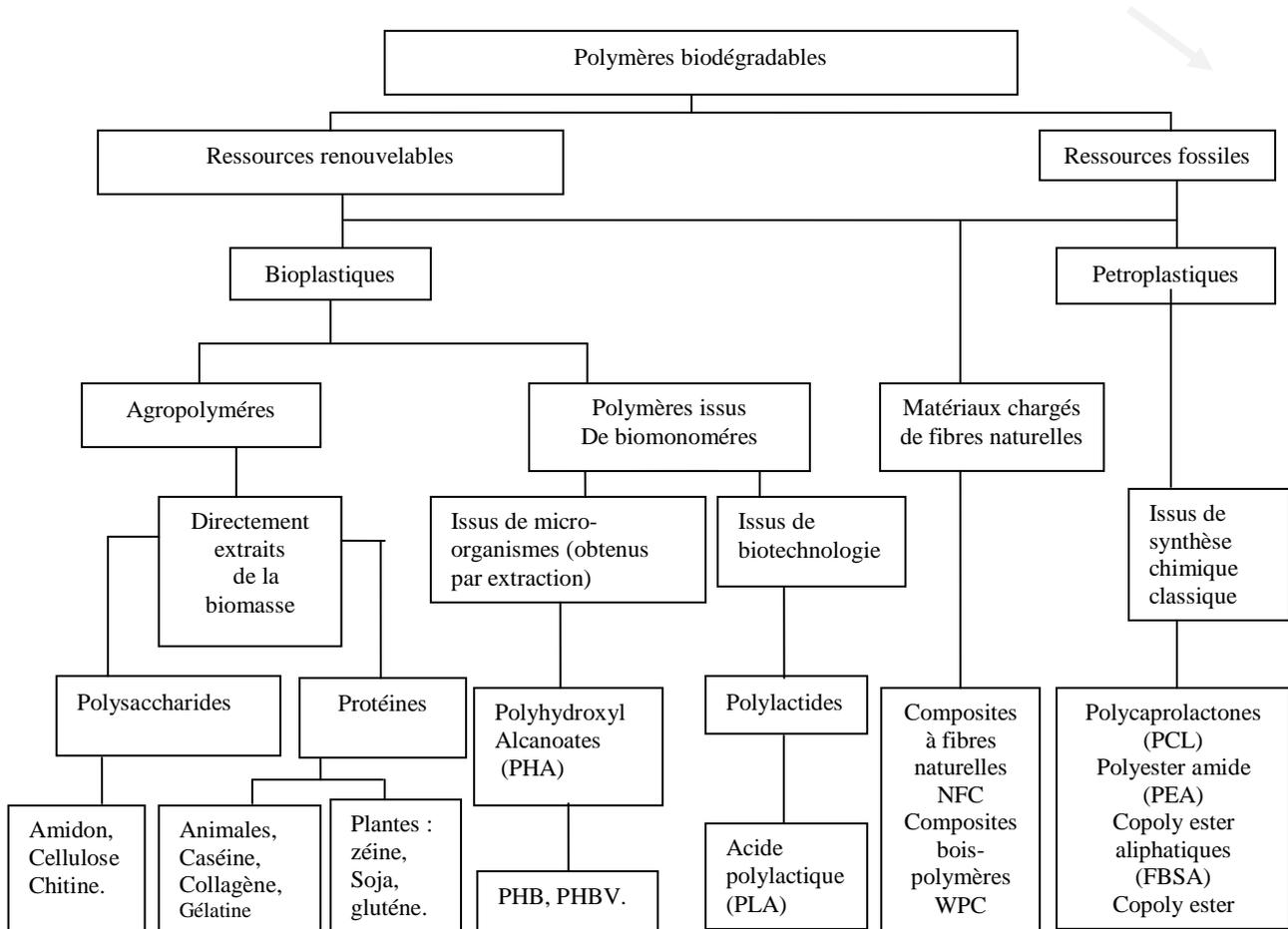


Figure I.3 : classification des polymères biodégradables (Lee et Mooney, 2001).

I.3. Polymères biodégradables synthétiques:

Les polymères biodégradables synthétiques ont la particularité d'avoir de nombreuses compositions et donc de pouvoir être fabriqués sous différentes formes avec des structures plus ou moins complexes (Zignani *et al.*, 1997) .

Ces polymères sont employés sous formes de fibres creuses, de feuilles, de tubes, de nano- ou microsphères, d'objets moulés, de gels... avec une structure semi-cristalline (cas du polyéthylène, des fluorocarbones, des polyesters ...) ou amorphe (cas du chlorure de polyvinyle, des silicones, des acrylates...). L'obtention du biomatériau final sans irrégularité de surface pouvant libérer des éléments toxiques, est une difficulté majeure pour ce type de polymères.

Les biomatériaux polymères synthétiques dégradables, se dégradent *in vivo* de façon contrôlée et sur un temps défini. Cette élimination progressive permet une reconstruction lente du tissu, ce qui présente l'avantage d'éviter une deuxième intervention chirurgicale.

La morphologie du polymère influence également le processus puisqu'une structure amorphe laisse pénétrer plus facilement l'eau qu'une structure cristalline. La forme géométrique, le rapport surface sur volume, le pH, la température, la force ionique ... sont d'autres facteurs intervenant dans le processus de dégradation.

Parmi les biopolymères synthétiques, on peut citer :

- **Le poly (acide lactique) (PLA) :**

Le PLA est un polyester aliphatique, de structure normalement linéaire, biodégradable et thermoplastique. Il possède aussi des propriétés particulières de biocompatibilité. Le PLA se transforme suivant toutes les techniques disponibles en plasturgie. Cependant, comme tous les polyesters, le PLA est sensible à la conjugaison de l'humidité et de la température. Afin de garder les propriétés intrinsèques du matériau, en particulier en termes de propriétés mécaniques, il est recommandé comme pour le PET (polyéthylène téréphtalate) de sécher le polymère avant utilisation.

D'après **Bonduelle (Bonduelle, 2008)**, pour fabriquer un poly (acide lactique), on extrait tout d'abord l'amidon à partir généralement du maïs. Le traitement par hydrolyse de l'amidon produit des sucres (glucose, dextrose...) qui sont ensuite traités par fermentation bactérienne pour convertir ceux-ci en acide lactique ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$). Puis, en milieu acide deux molécules d'acide lactique réagissent l'une sur l'autre pour former un lactide cyclique selon l'équation ci-dessous :

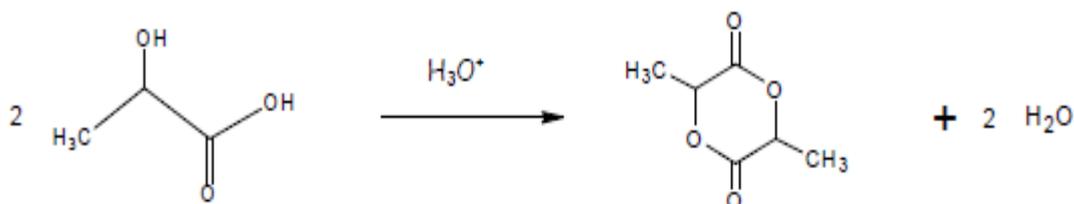


Figure I. 4 : Réaction de formation d'un lactide cyclique.

Le lactide cyclique est ensuite impliqué dans la réaction de polymérisation comme il est présenté ci-dessous :

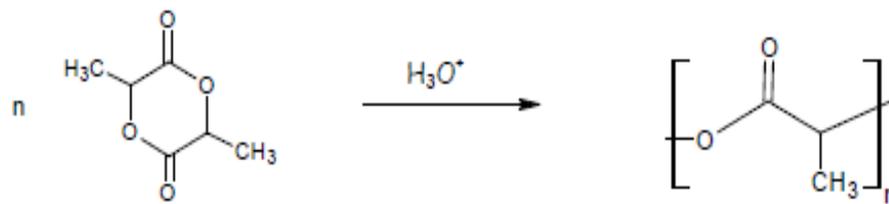


Figure I. 5 : Réaction de polymérisation de lactide cyclique.

Le Poly (acide lactique) est un polymère connu depuis de nombreuses années dans le domaine des applications médicales comme les fils de suture, les broches orthopédiques ou la galénique. Ce secteur d'application a été développé en raison de la biocompatibilité entre ce polymère et l'être humain. Du fait des développements technologiques et des optimisations en terme de procédé, le PLA est aujourd'hui disponible pour des marchés de grande diffusion comme l'emballage, les objets mono-usages et les fibres. De nouveaux développements, en termes de produits, sont en cours et devraient permettre, dans un avenir proche, au PLA d'être plus présent dans les applications durables comme le secteur automobile, les recouvrements de sol ou l'électronique (**Rutot et al., 2004**).

Les applications typiques du poly (acide lactique) incluent :

- Les rapiers et les pots ;
- Les bouteilles ;
- Les gobelets jetables ;
- Les emballages alimentaires ;
- Les fenêtres transparentes d'emballage ;
- Les films divers d'emballage.

• **Le Poly (acide glucolique) (PGA):**

L'acide polyglucolique, est un polymère hydrophobe connu sous le nom de PGA, est composé de polymères de glucolides (**Figure I.6**). Il a été élaboré en réponse aux problèmes rencontrés à l'utilisation du collagène naturel à l'effet de l'antigénicité de la suture, à la réaction tissulaire inflammatoire et au taux d'absorption imprévisible.

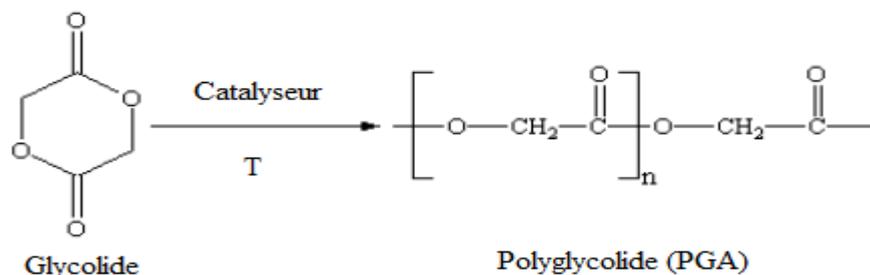


Figure I.6 : Synthèse de l'acide polyglucolique.

Le PGA est dégradé lentement *in vivo*. Seul, il est utilisé dans des systèmes de libération contrôlée, et, en association avec un copolymère d'acide lactide, dans la chirurgie de la main, dans le plan cutané et dans la réparation des épisiotomies et dans les sutures cutanées sous les plâtres.

• **Le polycaprolactone (PCL):**

C'est un polymère hydrophobe dégradé lentement *in vivo*. Sa synthèse se fait en général, selon le schéma en dessous (**Figure I.7**).

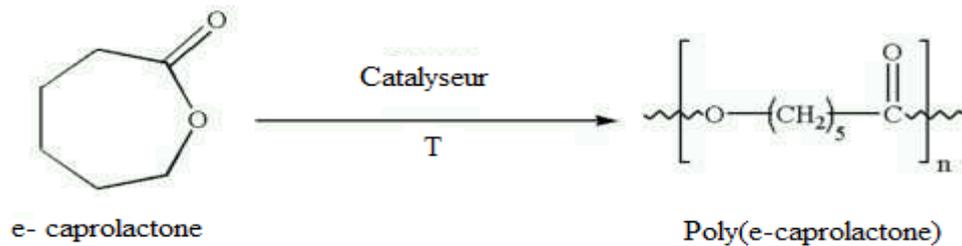


Figure I. 7 : Synthèse de l'acide poly(e-caprolactone).

Sa basse température de transition vitreuse, sa semi-cristallinité, sa température de fusion modérée et sa thermoplasticité qui le rendent attractif pour diverses applications :

- Semelles pour chaussures.
- Fabrication de sacs dégradables ou de films de paillages, rapidement dégradés dans l'environnement, et des applications dans le domaine biomédical où c'est cette fois-ci sa dégradation hydrolytique lente et ses propriétés mécaniques qui sont intéressantes.
- Son utilisation sous forme d'implant permettant la libération prolongée d'un contraceptif sur une période d'un an (Capronor®) (**Huang, 2010**) .

• **Les polyamides et les polyaminoacides :**

Les polyamides sont caractérisés par la répétition du groupement peptidique -CO-NH- qui résulte de la condensation d'un acide carboxylique et d'une amine:



Parmi les polyamides, les aramides qui sont des polyamides comportant des noyaux aromatiques. L'aramide le plus connu est le kévlar obtenu en 1973 (**Figure I.8**).

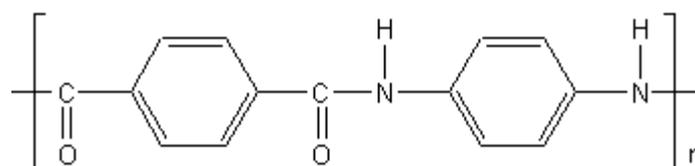


Figure I.8 : Structure de l'aramide.

Certains dérivés de poly aminoacides sont utilisés comme agents conservateurs dans des compositions cosmétiques ou dermatologiques, notamment destinées à une application topique (Huang, 2005).

- **Les polyorthoesters :**

Les poly-(orthoesters) sont employés comme système de libération contrôlée d'hormones ou de facteurs de croissance (polymères hydrophobes) (Bernatchez *et al.*, 1993). Ils sont largement utilisés dans l'encapsulation d'agent de chimiothérapie et étudiés pour la libération contrôlée d'autres médicaments ou de macromolécules (Thomas *et al.*, 1997).

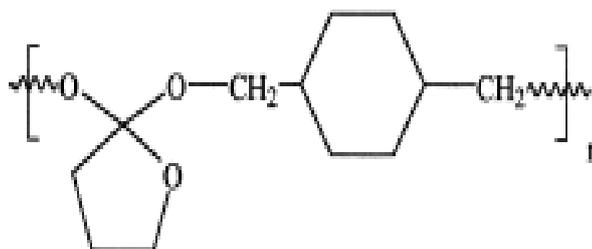


Figure I.9: Structure de polyorthoester.

- **Les polyuréthanes :**

Les polyuréthanes sont la famille de polymères la plus polyvalente qui existe. Ils peuvent être des élastomères, des peintures, des fibres et des colles.

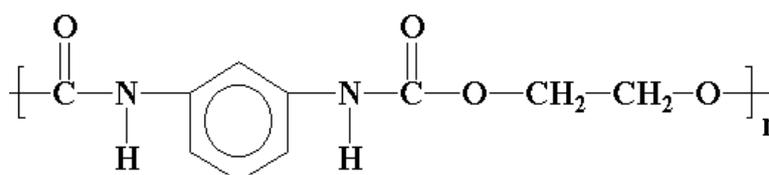


Figure I.10 : Structure de polyuréthane.

Ils résultent d'une condensation d'un polyisocyanate avec des groupements ayant un hydrogène mobile, principalement des hydroxyles (Figure I.11). Cette réaction est exothermique peut s'accompagner d'un dégagement gazeux, qui permet une expansion plus ou moins marquée du matériau.

De nombreux polysaccharides sont utilisés comme des additifs alimentaires sous forme de fibre (inuline) ou de gomme naturelle (**Bruneton, 2009**).

- **L'amidon:**

C'est un polysaccharide d'origine végétale. C'est la principale substance glucidique de réserve des végétaux supérieurs. Il représente une fraction pondérale importante des matières premières agricoles. On le retrouve dans les organes de réserves des plantes telles que les céréales, les tubercules et les légumineuses. Il est également utilisé dans de nombreux secteurs industriels non alimentaires : la production papetière, l'industrie pharmaceutique, cosmétique, textile...etc (**Potocki et al., 2005**).

C'est un polymère du glucose ($C_6H_{10}O_5$), composé de deux homopolymères de structures primaires différentes : l'amylose, macromolécule quasiment linéaire, et l'amylopectine, macromolécule très fortement ramifiée. La teneur en amylose est différente selon l'origine botanique de l'amidon. Elle varie entre 0% (amidon de maïs cireux ou waxy) et 70-80% (amidon de poids ridé et maïs riche en amylose), alors que la teneur en amylose des espèces sauvages telles que la pomme de terre, le blé, le pois lisse est comprise entre 18 et 35%.

L'amidon contient en faibles quantités de constituants non glucidiques représentant 0,1 à 2% selon l'origine botanique. Ces composants mineurs sont principalement des lipides, des protéines et des minéraux localisés aussi bien à la surface des grains d'amidon qu'à l'intérieur (**Puppi et al., 2010**).

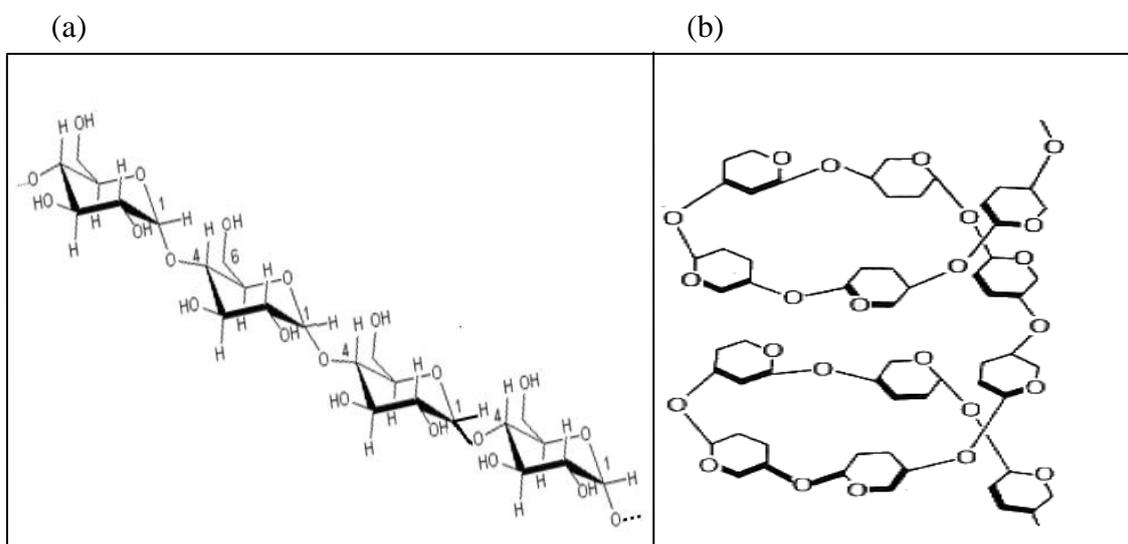


Figure I.12 : Représentation d'un fragment d'amidon (a) : linéaire
(b) : hélicoïdale.

○ **L'amylose :**

L'amylose est un polymère linéaire constitué d'unités de D-glucose (**Figure I.13**), il contient 500 à 6000 unités de glucose selon l'origine botanique, correspondant à une masse molaire moyenne en poids comprise entre 10^5 – 10^6 g/mole (**Berand, 2001**).

L'amylose a la spécificité de pouvoir complexer les molécules hydrophobes telles que l'iode, des acides gras, des alcools, etc..... . L'amylose peut être extraite à partir de grains d'amidon dispersés dans l'eau par complexation avec certains alcools (par exemple le butanol) (**Schoch, 1945**), il peut également être synthétisée *in vitro* par voie enzymatique.

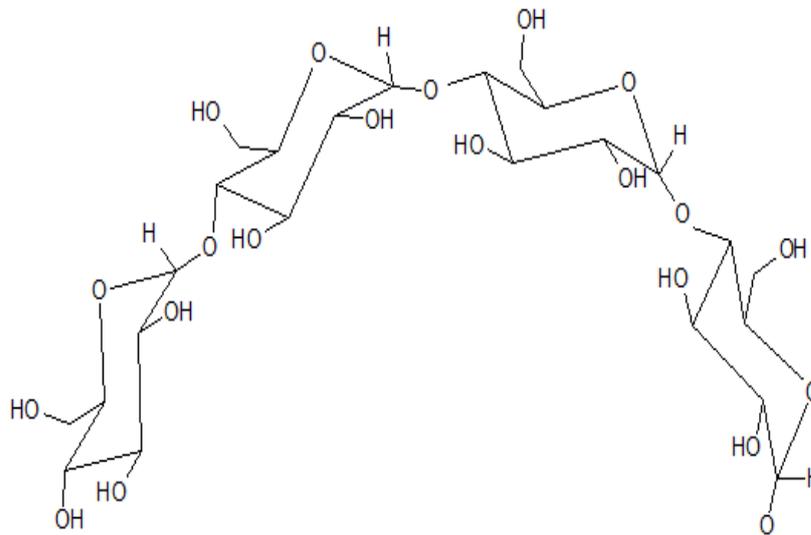


Figure I.13 : Structure de l'amylose.

○ **L'amylopectine :**

C'est une molécule ramifiée avec de longues branches toutes les 24 à 30 unités glucoses. Sa masse moléculaire peut aller de 1 000 000 à 100 000 000 Dalton, selon les estimations scientifiques et son niveau de branchement est de l'ordre de 5%. La chaîne totale peut faire entre 10 000 et 100 000 unités glucoses.

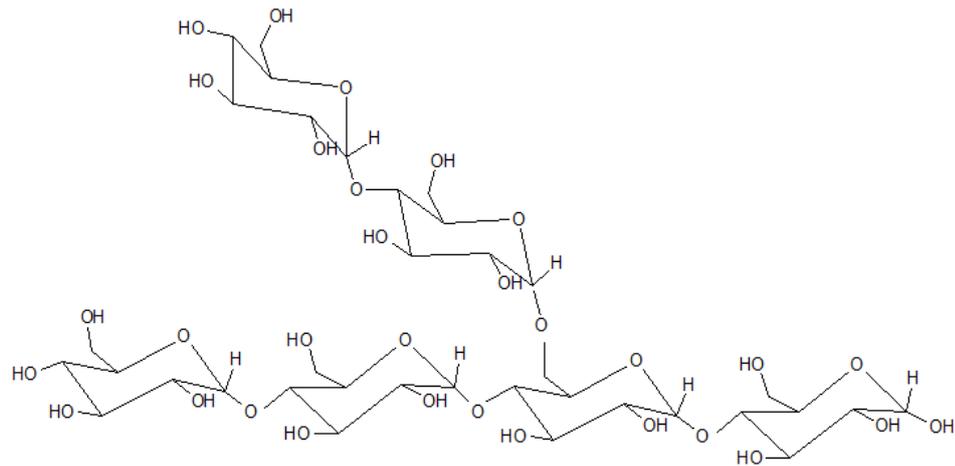


Figure I.14 : Structure de l'amylopectine.

- **L'alginate :**

Les alginates sont des polysaccharides obtenus à partir d'une famille d'algues brunes (les laminaires). Ils sont formés de deux monomères liés ensemble : le mannuronate ou acide mannuronique dont certains sont acétylés et le guluronate ou acide guluronique, il s'agit donc d'un polyuronide. Ces acides sont liés entre eux par des liaisons glycosidiques (**Martinsen *et al.*, 1989**). La proportion et la distribution de ces deux monomères sont déterminantes pour une large expansion des propriétés physiques et chimiques de l'alginate. Sa composition chimique varie selon les diverses espèces d'algues. Les différentes parties de la même plante sont assujetties aux changements saisonniers. Néanmoins par sélection de matières premières aux différentes propriétés, il est possible de fabriquer une variété d'alginate aux caractéristiques constantes (**Ertesvag *et al.*, 1998**).

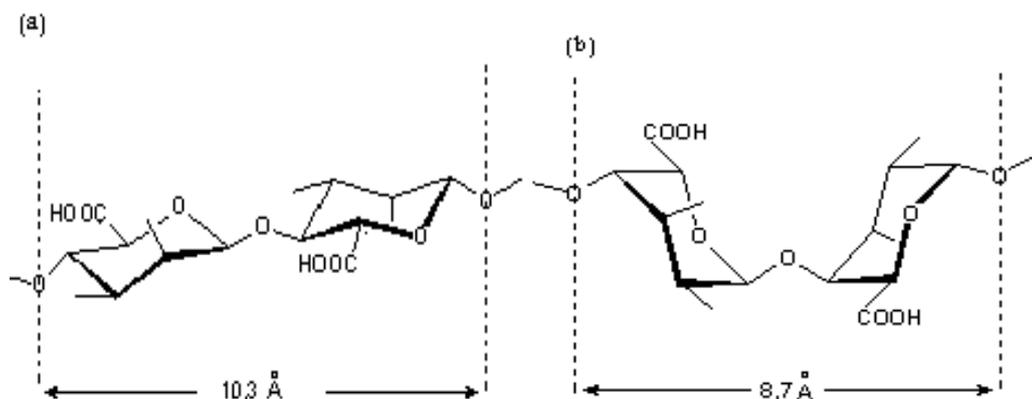


Figure I.15 : Structure de résidu d'acide mannuronique (a) ; résidu d'acide guluronique (b) (**Raymond *et al.*, 2009**).

Les alginates peuvent former des gels durs et thermostables utilisés comme additifs alimentaires permettant la reconstruction des aliments (jambon, cordons bleus, poisson pané...), ils donnent une texture onctueuse de aux telles que les crèmes glacées. Les alginates alcalins forment dans l'eau des solutions colloïdales visqueuses tandis que l'alginate de calcium est insoluble comme l'acide alginique lui-même. Ils sont utilisés comme épaississants, gélifiants, émulsifiants et stabilisants de produits industriels les plus variés depuis les gelées alimentaires, les produits de beauté, jusqu'aux peintures et aux encres d'imprimerie. Les laits gélifiés le sont par des alginates et des carraghénanes, qui produisent des desserts lactés pasteurisés.

Des billes d'alginates peuvent également être utilisées en médecine pour encapsuler des médicaments ou des substances biologiques fragiles (enzymes, microorganismes, cellules animales ou humaines). L'alginate de propane-1,2-diol (E405), ester de l'acide alginique, est utilisé, par exemple, pour stabiliser des mousses (vinification, additif de bière ...), et est également utilisé dans un procédé de préparation de microcapsules (**Saude *et al.*, 2002**).

- **Les hyaluronates :**

Le hyaluronate (HA) est un mucopolysaccharide, sa particularité est d'emmagasiner une grande quantité d'eau formant une matrice visqueuse autour des cellules. Il est le constituant majeur de l'humeur vitrée où il agit comme un gel transparent de faible indice de réfraction permettant au globe oculaire de garder sa forme (**Harada et Takahashi, 2006**). Il représente également la majorité des constituants du liquide synovial où il est présent en grande partie sous forme libre (non complexé avec d'autres macromolécules). Il entre dans la composition de la matrice cartilagineuse où il s'organise en réseau avec les fibres de collagène et les protéoglycanes.

La structure chimique de l'hyaluronate a été déterminée en 1934 par l'équipe de Karl Meyer à partir d'humeur vitrée de bœuf (**Meyer, 1934**).

Le Hyaluronate est un polymère de disaccharides eux-mêmes composés d'acide D-glucuronique et de D-N-acétylglucosamine, liés entre eux par des liaisons glycosidiques en (1-4) et en (1-3). L'enchaînement de ces deux résidus donne une unité disaccharidique appelée acide N-acétyl-hyalobiuronique (**FigureI.16**).

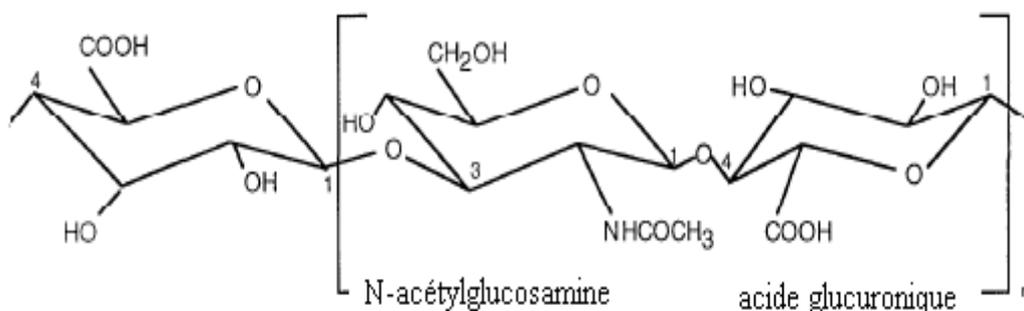


Figure I.16 : Formule chimique du hyaluronate.

L'hyaluronate est synthétisé dans de nombreux tissus conjonctifs tels que la peau, le cordon ombilical, la synoviale, ... et ce chez l'ensemble des vertébrés (**Liu, 2005**).

Le **Tableau I. 2** regroupe les concentrations en HA pour différentes origines.

Tableau I. 2 : Concentrations en acide hyaluronique pour différentes origines (**Laurent et al., 1987**).

Origine de l'acide hyaluronique	Concentration (g/100 g de tissu)
Humeur vitreuse humaine	0.02
Peau (homme adulte)	0.03 à 0.09
Liquide synovial (homme adulte)	0.14 à 0.36
Cordon ombilical humain	0.3
Crête de coq	0.75
Cerveau de bovine	0.015

Le premier produit biomédical à base d'acide hyaluronique, le Healon, a été développé dans les années 1970 et approuvé pour des usages en chirurgie ophtalmique (transplantation de cornée, cataracte, glaucome, etc). En effet, le Healon intracamerulaire s'avère très utile dans les greffes transfixiantes en protégeant le greffon d'une éventuelle lésion chirurgicale, en minimisant la perte de cellules endothéliales et l'augmentation d'épaisseur de la cornée.

Outre son rôle de lubrifiant, il participe à la trophicité du cartilage et lui permet d'assurer sa fonction d'amortisseur de chocs. Ce polysaccharide permet en effet de limiter les frottements dus aux articulations détériorées (aspect purement mécanique) mais aussi jouerait un rôle biochimique direct sur le cartilage (**Jwata, 1993**).

En effet, il pénètre dans le cartilage défectueux pour éviter les protéolyses. Son effet chondroprotecteur est alors dépendant de sa taille (**Hautwann et al., 2001**). Il peut aussi être utilisé lors de soins post-opératoires pour favoriser la reconstitution des tissus, principalement après une opération de la cataracte.

- **Les carraghénanes:**

La famille des carraghénanes se compose des polymères hydrosolubles constitués d'une chaîne linéaire d'unités galactose partiellement sulfatées, qui possèdent une forte potentialité comme matériau filmogène (**Figure I.17**).

Ces polysaccharides sulfatés sont recueillis de la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouges (*Rhodophyceae*). La variation de nombre et de position des groupements sulfate sur l'unité de répétition disaccharidique déterminent leur classification en trois classes majeures : kappa (κ), iota (ι) et lambda (λ), comprenant respectivement 20, 33 et 41% de teneur en sulfate (**Rinaudo et al. 2002**).

Les carraghénanes sont obtenus par extraction aqueuse à partir de souches naturelles d'algues de familles des Gigartinaceae, des Solieriaceae, des Hypneaceae et des Furcellariaceae, de la classe des Rhodophyceae (algues rouges). Les seuls précipitants organiques autorisés sont le méthanol, l'éthanol et le propanol-2. Il se compose essentiellement des sels, des esters sulfates de polysaccharides qui, à l'hydrolyse, donnent du galactose et du 3,6 anhydrogalactose. Le carraghénane ne doit pas être hydrolysé ni avoir subi aucune autre dégradation chimique.

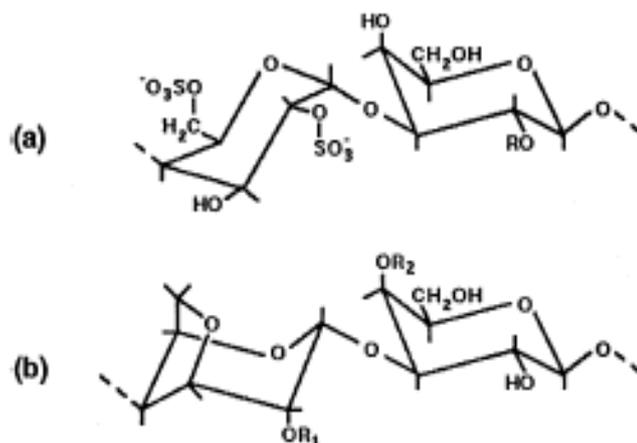


Figure I.17 : Motif de répétition idéal du λ carraghénane , (a) ($R=H$ ou SO_3^-), et (b) du ι carraghénane (R_1 et $R_2= SO_3^-$), et du κ carraghénane ($R_1=H$, $R_2= SO_3^-$) (**Lafargue, 2007**).

- **La chitine et le chitosan :**

Le chitosane est un polysaccharide linéaire formé d'unités D-glucosamines liées entre elles par des liens glycosidiques et de N-acétyl-D-glucosamine. Le chitosane est dérivé de la chitine, le deuxième composant très abondant dans la nature après la cellulose. Elle est la composante principale d'exosquelette des arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette ou de l'endosquelette des céphalopodes (calamards, ...), des cuticules des insectes. Ce polymère

se trouve également dans la paroi de la plupart des champignons et dans certaines algues chlorophycées, levures et bactéries (**Tolaimate et al.,2003**). En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique.

Le chitosan est le produit de la désacétylation (enlèvement groupements acétyles) chimique en milieu alcalin ou enzymatique de la chitine. Cette dernière subit au préalable une déminéralisation à l'acide chlorhydrique, une déprotéinisation par la soude ou la potasse, et enfin un blanchiment par la présence d'un agent oxydant. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur la température, il est possible d'obtenir différents chitosane à partir d'une même chitine. Le chitosane ne diffère de la chitine que par les groupes amines ($-NH_2$) chargés positivement (**Figure I.18**).

Ces derniers confèrent au chitosane une nature cationique, intéressante dans un milieu acide. Ces groupements sont également responsables de son activité floculante. Le chitosane comporte plus d'un centre réactif, grâce à ses fonctions alcool et amine (**Shalidi ,2005**).

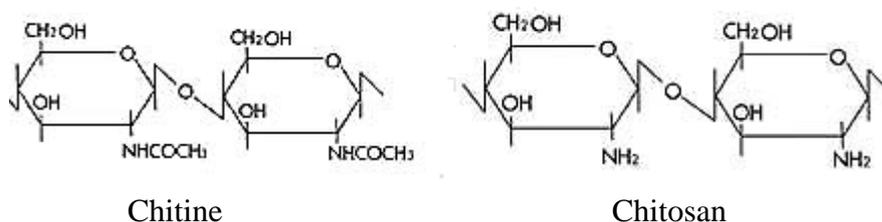


Figure I.18 : structure chimique de chitine et chitosane.

Ce composé organique est généralement bien supporté par les tissus biologiques et est donc utilisé :

- En cosmétique ou dans le traitement des brûlures. En chirurgie, il est utilisé pour les fils chirurgicaux en raison de sa résistance et de sa flexibilité.
- Pour filtrer les eaux usées : Elle forme des chaînes ionisables qui permettent de fixer les éléments organiques en suspension.
- Elle est aussi insérée dans l'alimentation industrielle (fabrication de jus).

I.4.2. Les protéines :

I.4.2.1. Structure des protéines :

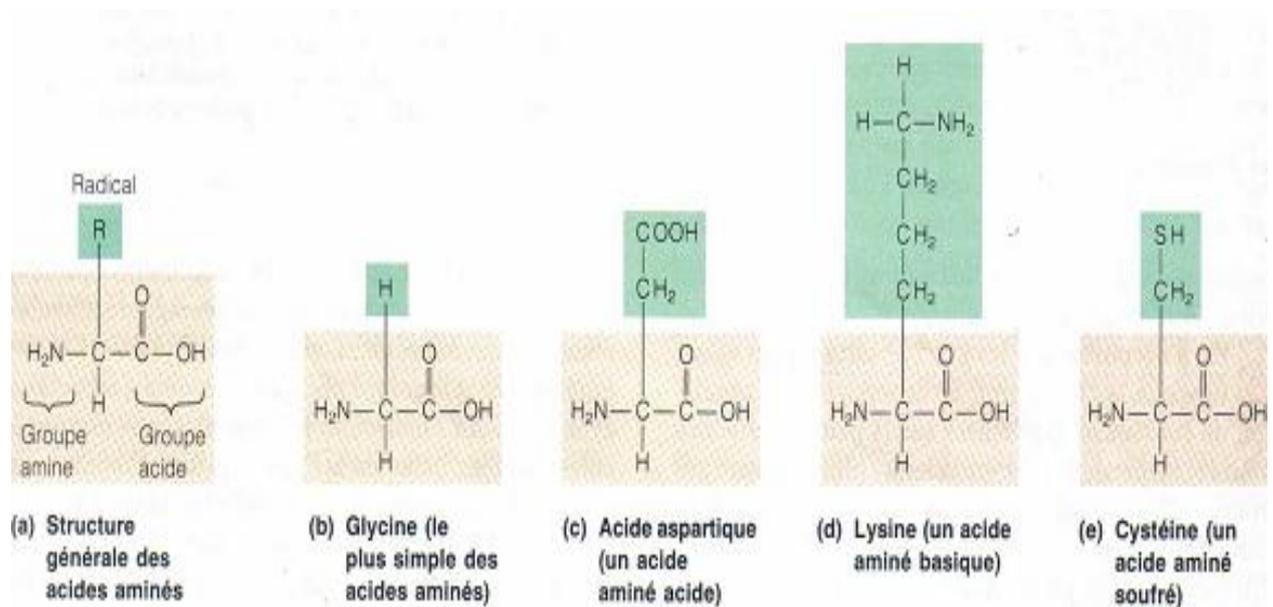
Les protéines peuvent être décrites selon quatre niveaux d'organisation structurale. Une séquence linéaire d'acides aminés, formant une chaîne polypeptidique, constitue la

structure primaire de la protéine. Cette structure qui ressemble à un chapelet de « perles » d'acides aminés, est le squelette de la molécule de protéine. Ce squelette se tord et se repli sur lui-même pour donner des niveaux d'organisation moléculaires plus complexes (structures secondaire, tertiaire et quaternaire).

a. Acides aminés et liaison peptidique :

a.1. Les acides aminés

Les constituants des protéines sont des molécules appelées **acides aminés**. Il existe 20 acides aminés importants, tous dotés de deux groupements fonctionnels: un groupe aminé (—NH_2) et un groupe acide organique (—COOH). Un acide aminé peut donc se comporter comme une base (accepteur de proton) ou comme un acide (donneur de proton). Tous les acides aminés sont identiques sauf pour leur troisième groupe, appelé *radical R*. Chaque acide aminé doit son comportement chimique particulier ainsi que son acidité ou son alcalinité relative aux particularités de l'arrangement des atomes de son groupe R.



a.2. liaison peptidique

Généralement, les protéines sont de longues chaînes d'acides aminés réunis par des liaisons formées au cours de réactions de synthèse, le groupe aminé de chaque acide aminé s'étant lié au groupe acide de l'acide aminé suivant. Cette liaison forme l'arrangement d'atomes caractéristique de la liaison peptidique (**Figure I. 19**).

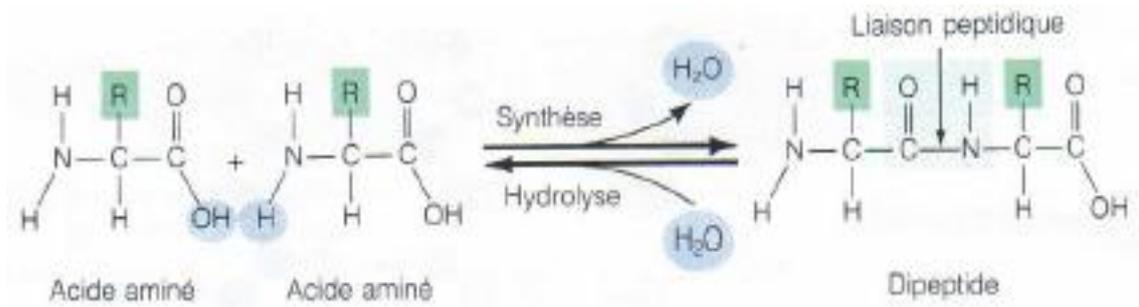


Figure I. 19 : Synthèse d'une liaison peptidique.

b. Structure primaire des protéines

La structure primaire des protéines est représentée par la séquence d'acides aminés (**Figure I.20**) qui se lient de manière à former une chaîne polypeptidique

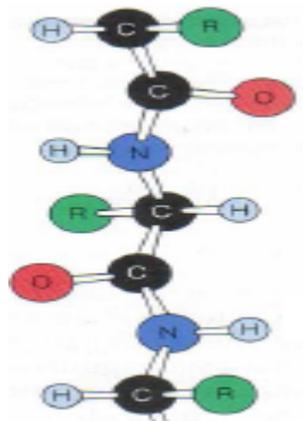


Figure I.20 : Structure primaire d'une protéine.

c. Structure tridimensionnelle des protéines

c .1. Structure secondaire

Les protéines n'existent pas sous forme de chaînes linéaires d'acides aminés : elles se tordent et se replient sur elles-mêmes. C'est leur structure secondaire. La structure secondaire la plus courante est celle de l'hélice alpha (α). Dans l'hélice alpha, la chaîne primaire s'enroule sur elle même puis est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (**Figure I. 21 b**). Le feuillet plissé bêta (β) est une autre structure secondaire, où les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante (**Figure I.21 c**). Dans ce type de structure secondaire, les liaisons hydrogène peuvent unir différentes parties d'une même chaîne qui s'est repliée sur elle-même en accordéon ou encore différentes chaînes polypeptidiques. Dans les hélices alpha, les liaisons hydrogène unissent

toujours différentes parties d'une même chaîne. Une chaîne polypeptidique peut présenter les deux types de structure secondaire.

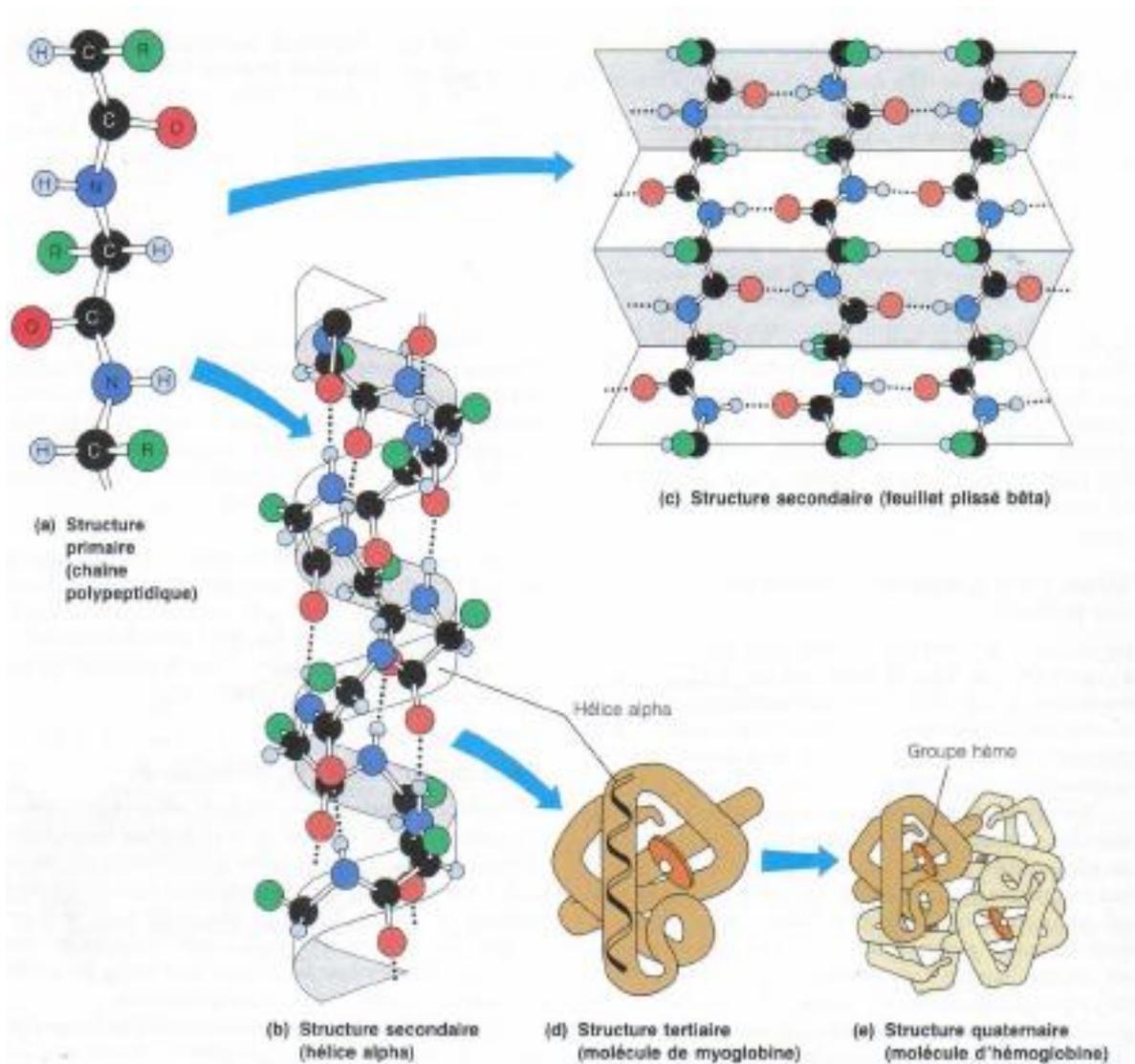


Figure I.21: Niveaux d'organisation structurale des protéines.

c.2. Structures tertiaire et quaternaire

Un grand nombre de protéines se complexifient jusqu'à la *structure tertiaire*, une structure très spécifique formée à partir de la structure secondaire (**Figure I. 21d**). Dans une structure tertiaire, des régions hélicoïdales ou plissées de la chaîne polypeptidique se replient les unes sur les autres et forment une molécule en forme de boule, ou molécule globulaire. La structure tertiaire est maintenue par des liaisons (covalentes, hydrogène ...) entre des acides aminés souvent très éloignés sur la chaîne primaire (**Figure I. 22**).

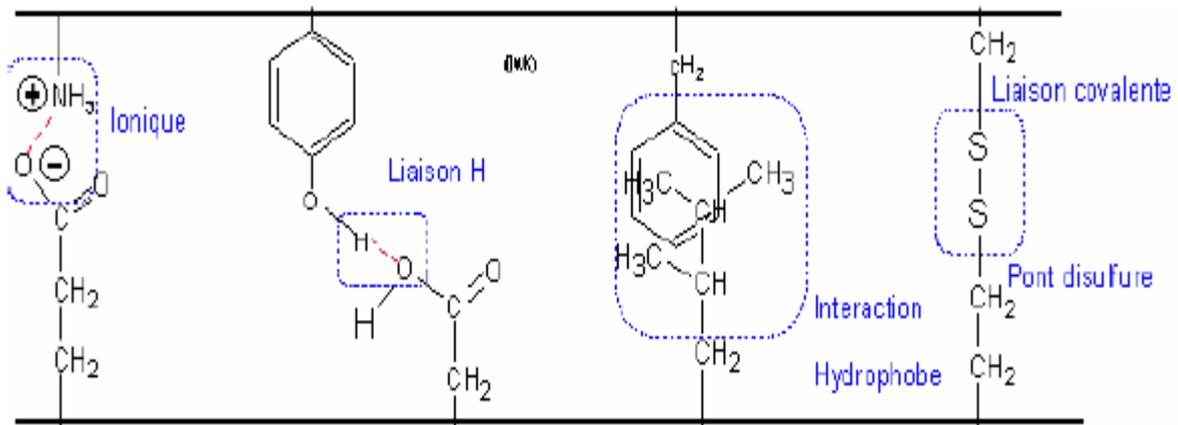


Figure I. 22 : Liaisons secondaires interatomiques dans une protéine.

La structure quaternaire correspond à l'association spécifique de plusieurs chaînes peptidiques en une unité d'ordre supérieur seule capable d'assurer complètement les fonctions biologiques. L'hémoglobine (**figure I.21 e**) possède ce niveau d'organisation structurale dans le quel deux chaînes α sont associées à deux chaînes β .

I.4.2.2. Rôles physiologiques :

La structure tridimensionnelle de la protéine lui confère ses propriétés distinctes et dicte sa fonction biologique. Habituellement, on classe les protéines en deux catégories suivant leur forme générale : protéines fibreuses et protéines globulaires.

a. Protéines fibreuses :

Les protéines fibreuses sont appelées protéines structurales car elles constituent le principal matériau de construction chez les Vertébrés. Elles sont linéaires, insolubles dans l'eau et d'une grande stabilité (support mécanique aux tissus et résistance à la traction). Les principales protéines fibreuses sont le collagène, la kératine, le fibrinogène et les protéines musculaires.

a.1. Le collagène (voir ci après).

a.2. La kératine :

La kératine, présente dans les couches supérieures de l'épiderme, dans les cheveux, les ongles, les écailles, les sabots et les plumes, s'enroule en une torsade régulière appelée «hélice alpha». Chargée de protéger l'organisme contre l'environnement extérieur, la kératine est totalement insoluble dans l'eau. Ses nombreuses liaisons disulfures en font une protéine extrêmement stable, capable de résister à l'action des enzymes protéolytiques.

a.3. Le fibrinogène :

Le fibrinogène est une protéine plasmatique sanguine responsable de la coagulation du sang. Grâce à l'action de la thrombine, le fibrinogène est converti en molécules de fibrine, une protéine insoluble, qui s'agglutine pour former un caillot protecteur contre les hémorragies.

a.4. Les protéines musculaires :

La myosine se lie à l'actine, une autre protéine musculaire, pour donner l'actomyosine. Les filaments de l'actomyosine peuvent se raccourcir et provoquer la contraction des muscles.

b. Protéines globulaires :

Contrairement aux protéines fibreuses, les protéines globulaires sont sphériques et hautement solubles. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme. Les albumines, les globulines, la caséine et les hormones protéiques sont des protéines globulaires. Les albumines et les globulines sont abondantes dans les cellules animales, le sérum sanguin, le lait et les œufs.

I.5. La matrice extracellulaire:

La matrice extracellulaire (MEC) est composée d'eau pour 65-80% du poids humide et de macromolécules comme des protéines et des glycosaminoglycanes (20-35% du poids humide). Elle est riche en cations qui équilibrent les charges négatives des protéoglycanes. La biosynthèse des constituants de la matrice extracellulaire est assurée par les cellules mésenchymateuses (fibroblastes, ostéoblastes, chondrocytes), qui sont chargées également de leur renouvellement (**Rosso *et al.*, 2004**).

Les anomalies de synthèse sont associées à de multiples pathologies affectant la majorité des tissus (fibroses, cicatrisation, vieillissement) (**Labat-Robert, 2004**). Outre sa fonction de soutien mécanique, la matrice extracellulaire permet la régulation des fonctions cellulaires. Elle peut être par conséquent à l'origine des dérives de l'homéostasie cellulaire telles que l'apoptose, la différenciation ou la transformation maligne. La matrice extracellulaire est également le site de déploiement des systèmes de défense cellulaire.

I.5.1. Composition de la matrice extracellulaire :

La matrice extracellulaire est constituée de quatre grandes classes de protéines possédant des propriétés très variées : l'élastine, les protéoglycanes, les glycoprotéines de structure et les collagènes. Chaque protéine exerce une fonction particulière et la combinaison de toutes ces protéines assure à la matrice extracellulaire des propriétés structurales

diversifiées ainsi qu'une importante capacité de régulation de l'activité cellulaire (**Bosman, 2003**). Par ailleurs, des fragments protéiques issus de la dégradation des macromolécules de la matrice extracellulaire, autrement appelés « **matricryptines** » ou encore « **matrikines** », sont également dotés d'activités régulatrices souvent différentes de celles exercées par la protéine dont ils sont issus (**Davis et al., 2000 ; Maquart et al., 2005**).

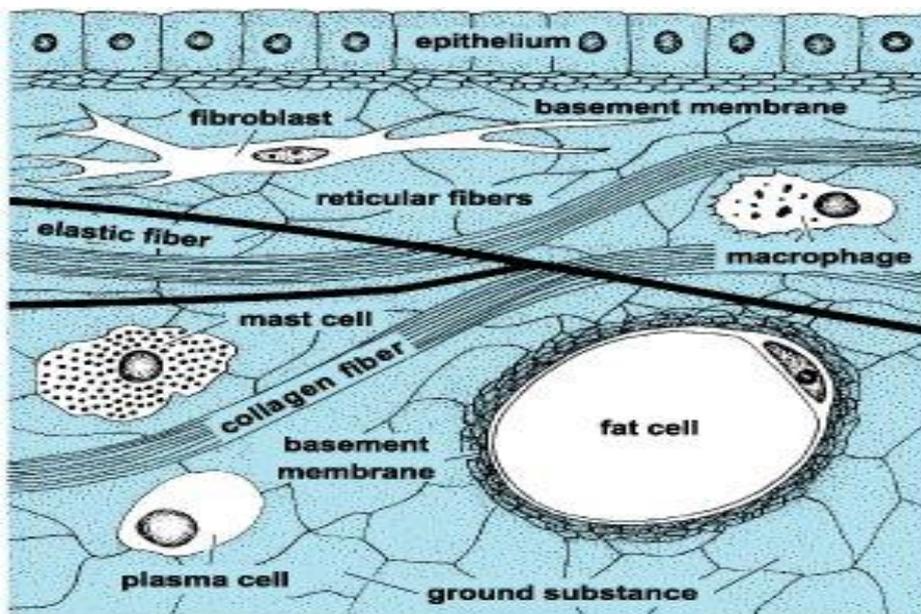


Figure I.23 : La matrice extracellulaire (**Ingber DE, 2003**).

a. L'élastine :

L'élastine est un élément de la matrice extracellulaire qui, associé à une composante microfibrillaire constituée principalement de glycoprotéines, comme les fibrillines et les « Microfibril-Associated Glycoproteins » (MAGP), forme les fibres élastiques (**Kielty et al., 2002**). Ce polymère insoluble formé à partir d'un précurseur soluble, la tropoélastine, est synthétisé par les cellules mésenchymateuses. Les fibres élastiques, composées à 95 % d'élastine, assurent les propriétés de souplesse et d'élasticité de tissus soumis à de fortes contraintes mécaniques tels que les artères, les poumons ou la peau. Par ailleurs, les peptides issus de la dégradation de l'élastine possèdent de multiples activités biologiques, comme un pouvoir chimiotactique sur les cellules phagocytaires, la régulation de la prolifération de nombreux types cellulaires ou encore la stimulation de l'angiogenèse *in vitro* (**Duca et al., 2004 ; Robinet et al., 2005**).

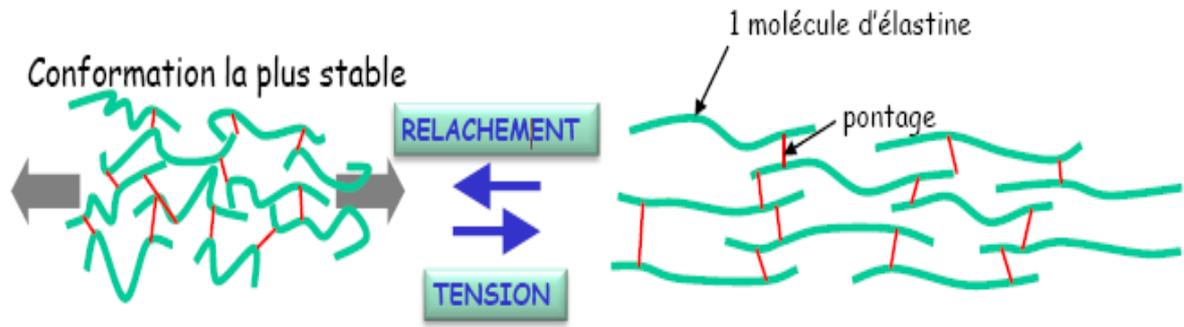


Figure I.24 : La forme de l'élastine (Kielty, 2000).

Ce sont des fibres élastiques qui assurent l'élasticité du tissu conjonctif. Elle a tendance à s'enrouler sur elle-même. Elle est liée au collagène pour éviter l'étirement et le déchirement des tissus.

b. Les protéoglycannes :

Les protéoglycannes sont des macromolécules complexes de grande taille, constituées d'une chaîne polypeptidique appelée cœur protéique sur lequel sont greffées des chaînes de glycosaminoglycannes formées de résidus osidiques plus ou moins sulfatés. Les protéoglycannes peuvent être sécrétés, comme le perlecanne et la décorine, ou membranaires comme le syndécanne. Les variations dans la composition des chaînes de glycosaminoglycannes et du cœur protéique sont à l'origine de fonctions biologiques très variées (Prydz et Dalen, 2000 ; Yoon et Halper, 2005). Plus généralement, grâce aux fonctions acides de leurs chaînes de glycosaminoglycannes, les protéoglycannes peuvent piéger de l'eau, des cations ou divers métabolites et contribuent ainsi à l'hydratation des tissus. Ils participent également à la cohésion de la matrice extracellulaire et à son organisation.

Les protéoglycannes sont par ailleurs capables de séquestrer et de relarguer séquentiellement des facteurs de croissance, agissant donc directement sur des comportements cellulaires tels que la migration, la prolifération ou la différenciation (Schlessinger *et al.*, 1995). Parmi les protéoglycannes, le fibronectine à deux chaînes liées par deux ponts disulfures. Il possède des sites liaisons particuliers :

- Deux avec le collagène
- Deux avec les protéoglycannes
- Plusieurs avec les membranes des fibroblastes : les intégrines.

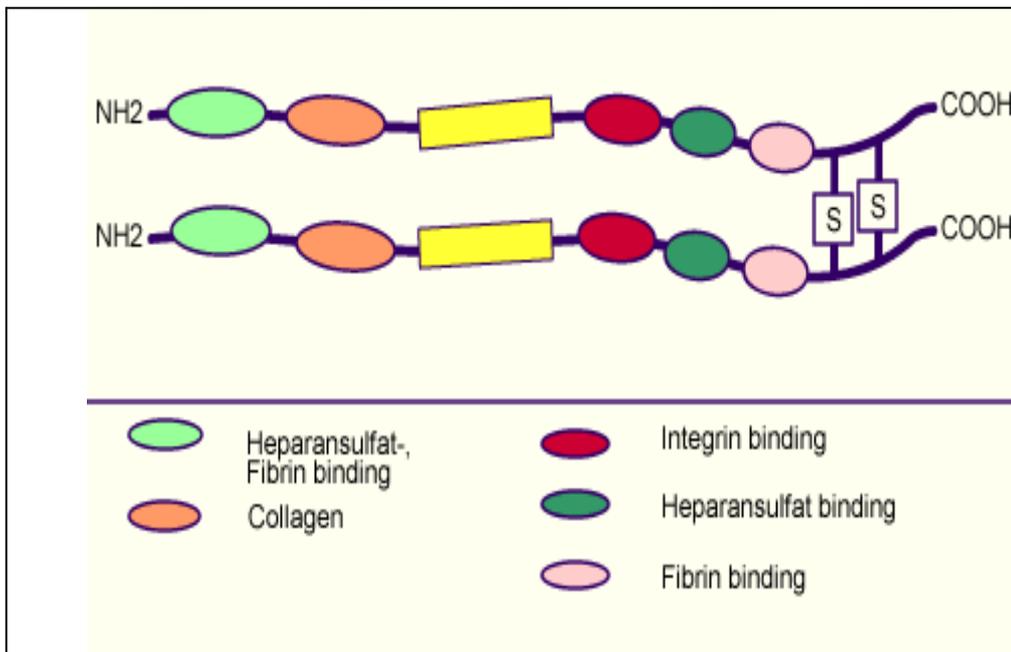


Figure I.25 : structure de la fibronectine.

c. Le collagène :

Les protéines appartenant à la famille des collagènes sont les plus abondantes de l'organisme humain (25 à 30 % des protéines totales). Selon les tissus, elles peuvent représenter jusqu'à 80 % des protéines de la matrice extracellulaire et jouent un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité structurale des tissus et organes chez l'homme (**Ricard-Blum et Ruggiero, 2005**).

Le terme de collagène est attribué à toute protéine de la matrice extracellulaire présentant au sein de sa structure un ou plusieurs **domaines en triple hélice**. Cette structure particulière est issue de l'enroulement autour d'un même axe de trois chaînes polypeptidiques appelées **chaînes α** . Ces chaînes sont constituées, dans la partie hélicoïdale, d'une succession de triplets d'acides aminés (**Gly-X-Y**)_n où X et Y sont respectivement la proline (40 % des cas) et la 4-L-transhydroxyproline (4Hyp, 10 % des cas). Ce triplet est responsable de l'organisation en triple hélice. En effet, comme, dans ce type de structure, un acide aminé se trouve régulièrement au centre de l'hélice, seul le résidu glycine, dépourvu de chaîne latérale, peut occuper cette position. La prépondérance des résidus prolines et hydroxyprolines confère à la triple hélice une rigidité caractéristique. Enfin, les groupements hydroxyles des résidus d'hydroxyproline participent à la formation de très nombreuses liaisons hydrogènes qui permettent de stabiliser l'ensemble de la structure (**Kielty et Grant, 2002**).

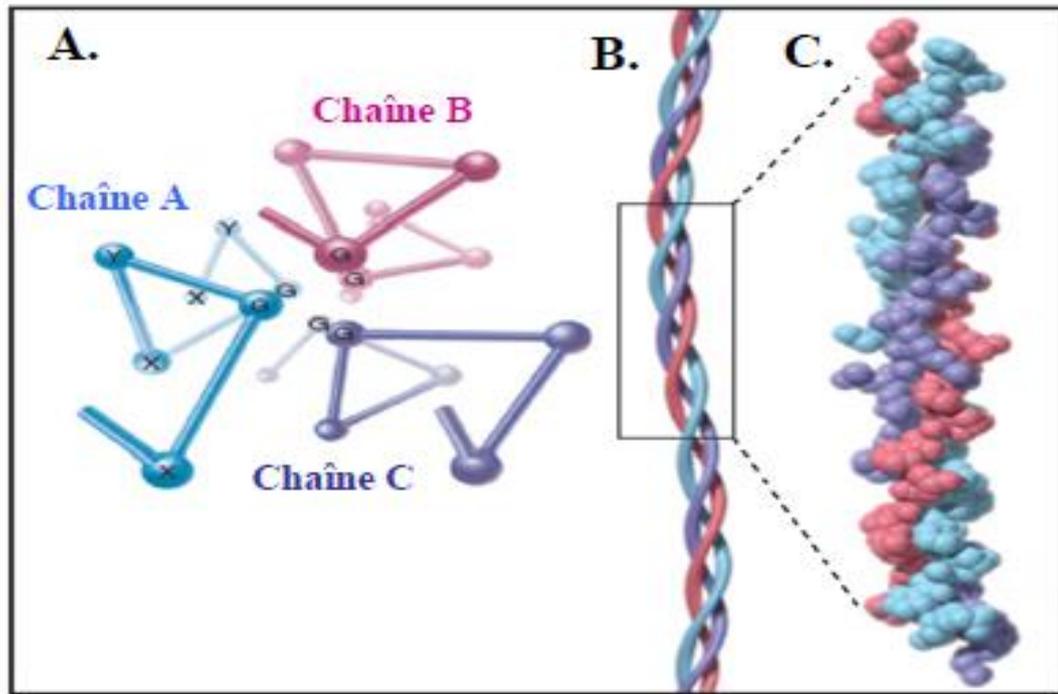


Figure I.26. La triple hélice de collagène d'après **Pollard et Earnshaw (2004)**.

- (A) : Vue axiale de trois hélices gauches de type polyproline II centrées par des molécules de glycine (G).
- (B) : Représentation schématique longitudinale d'une triple hélice de collagène.
- (C) : Modèle tridimensionnel de la structure d'une triple hélice courte de collagène.

d. Glycoprotéines :

Les glycoprotéines de structure de la matrice extracellulaire possèdent des structures et des propriétés fonctionnelles très diverses. Le point commun de ces protéines est de comporter des motifs structuraux caractéristiques qui leur confèrent différentes fonctions.

Elles sont par conséquent impliquées dans les phénomènes de migration et d'adhésion cellulaire (**Porte-Durrieu et al., 2000**). Comme pour les autres protéines de la matrice extracellulaire, plusieurs matrikines issues de cette classe de protéines matricielles ont été identifiées pour leurs activités biologiques et leur pouvoir de régulation des fonctions cellulaires (**Maquart et al., 2005**).

II.1. Matières premières utilisées :

- Gélatine en poudre de type A (peau de porc), bloom 300, (Sigma) ;
- Résorcinol (99%) (R) (S.M.CH.C) ; (1,3- dihydroxybenzène) ; pH = 5,2 ;
- Glutaraldéhyde (50%) (Aldrich);
- Nitrite de sodium (NaN_3), MM=65 (sigma);
- Acide chlorhydrique (HCl), (35-37%), MM= 36,5 ;
- hydroxyde de sodium (NaOH), MM= 40;
- Chlorure de potassium (KCl), MM=54,4 ;
- Chlorure de sodium (NaCl), MM= 58,5;
- Phosphate disodium (Na_2HPO_4), MM=126 ;
- Phosphate de potassium (KH_2PO_4) , MM= 100 ;
- Acide citrique ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_8$).

II .2. Méthodes :

II.2.1. Préparation des films à base de gélatine/ résorcine :

Pour notre étude, nous avons préparé des films à base de gélatine dont la composition est similaire à celle de la colle biologique (Gélatine – Résorcine - Glutaraldéhyde) mais les proportions sont différentes.

Les différentes formulations sont préparés à partir d'un mélange de gélatine et de résorcine de masse de 6g (voir **tableau II.1**) dans un 100 ml d'eau distillée.

Au départ, la gélatine est pesée puis versée dans un bécher contenant 100 ml d'eau distillée pendant 10 minutes à températures ambiante. Le pH mesuré est de 5,5. Après la solubilisation totale, nous y ajoutons la résorcine puis une petite quantité d'azote de sodium NaN_3 (0,1g) pour empêcher la contamination bactérienne.

Le tout est placé dans un bain marie thermostaté à une température de 48°C, pendant une demi heure, sous une douce agitation pour éviter la formation des bulles d'air. Une fois que la solution devient limpide, c'est-à-dire une solubilité totale de la gélatine et de la résorcine, on prélève un volume de 7ml puis on les versent dans des boites de pétri en polystyrène de 9,5cm de diamètre.

Le séchage se fait à l'air libre à température ambiante pendant 03 à 04 jours. Les films ainsi obtenus sont détachés de leur support hydrophobe.

Les différentes teneurs des films en (Gélatine/Résorcine) que nous avons préparés sont données dans le tableau II-1.

Tableau II.I : les différents films biopolymères préparés.

Films	Compositions
Gélatine	Films à base de gélatine pure
Gélatine / Résorcinol	Films à base de mélange (95 % gélatine, 5 % résorcine) Soit (5,7 g gélatine , 0,3 g résorcine)
Gélatine / Résorcinol	Films à base de mélange (90 % gélatine, 10 % résorcine) Soit (5,4 g gélatine , 0,6 g résorcine)
Gélatine / Résorcinol	Films à base de mélange (85 % gélatine, 15 % résorcine) Soit (5,1 g gélatine , 0,9 g résorcine)

II.2.2. Réticulation par le glutaraldéhyde (GTA):

Elle se fait directement sur les films secs déjà préparés, et non pas par addition directe du glutaraldéhyde dans la solution.

Après séchage, les films sont détachés de leurs supports. Puis ils sont posés dans des boîtes de pétri en verre afin de subir la réticulation par le glutaraldéhyde. Les concentrations de GTA sont 0,5, 1,5 et 2,5%. 20 ml de la solution aqueuse de GTA sont prélevés et versés sur les films déjà préparés. Au bout de 24 h, ils sont rincés plusieurs fois à l'eau distillée pour éliminer le GTA en excès, enfin ils sont séchés dans du papier absorbant et placé entre deux plaques en verre pour éviter tout retrait.

II.3. Caractérisation :

II.3.1. Mesure de l'épaisseur :

Les épaisseurs ont été mesurées sur un réfractomètre d'Abbé. Le tableau suivant résume les valeurs moyennes des épaisseurs des différents films.

Tableau II.2. Les épaisseurs de différents films.

Echantillon	Epaisseur (mm)
Gélatine	0,260
(G/R)(95/05)(%)	0,240
(G/R)(90/10)(%)	0,252
(G/R)(85/15)(%)	0,268
(G/R/GTA)(95/05/0.5)(%)	0,271
(G/R/GTA)(95/05/2.5)(%)	0,280

II.3.2. La spectrophotométrie infrarouge (IR-TF) :

a. Principe :

lorsque la molécule absorbe l'énergie fourni par une radiation électromagnétique infra rouge, elle passe de son état énergétique initial à une état supérieure, sachant que l'énergie interne d'une molécule est composé des énergies de translation, de rotation, de vibration et de l'énergie électronique, cette absorption se traduit par l'apparition des bandes caractéristiques de chaque composé organique à une fréquence donnée .

Les informations tirées des spectres sont de deux sortes : informations quantitatives, informations qualitatives (**Skoog, 1992**).

Le but de ces essais est d'enregistrer les spectres infrarouges et de les commenter par le biais des pics afin de suivre la réaction et voir les modifications subites.

Le balayage a été réalisé entre 400 et 4000 cm^{-1} .

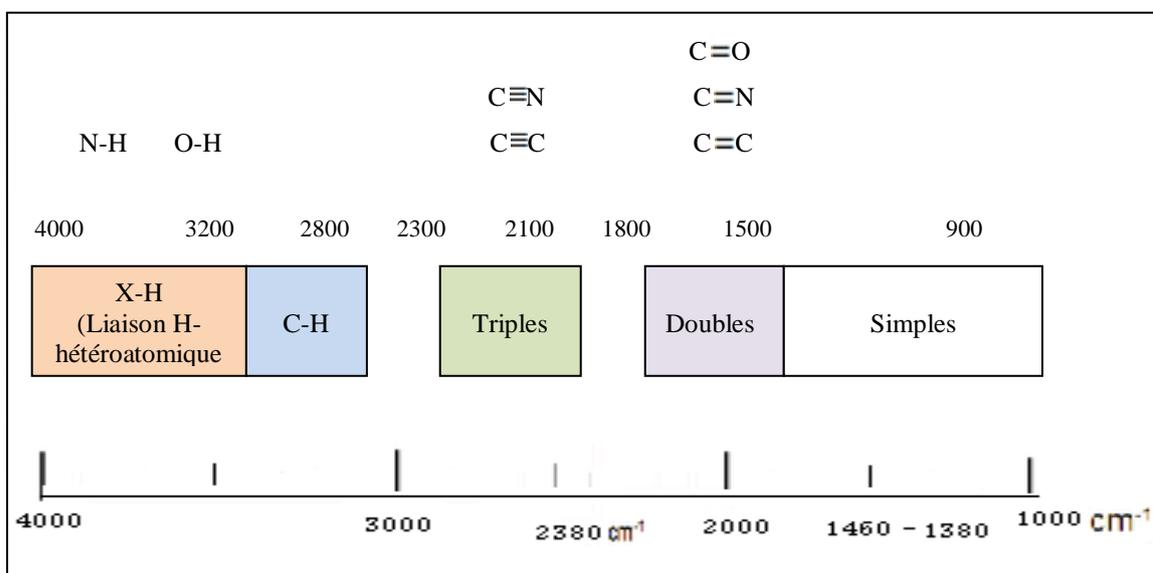


Figure II.1 : Quelques domaines d'absorption correspondant à divers types de liaisons chimiques.

b. Appareil :

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre SHIMADZU 84005. Les films sont à une concentration globale de 1% pour une meilleure lecture du spectre.

II.3.3. La spectrophotométrie UV -Vis :

a. Principe :

La spectroscopie ultraviolet visible est une technique spectrale mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine des ultraviolet (200nm-400nm), du visible, et jusqu'au proche infrarouge (750 nm- 1400nm).

Les spectres dans cette région sont dus aux transitions électroniques, et correspondent à des spectres d'émission ou d'absorption, l'absorption de rayonnement ultra violet visible par des molécules (échantillon) se traduit généralement par diverses bandes d'absorption électronique qui sont toutes constituées de nombreuses raies, chaque raie résulte de la transition d'un électron de l'état fondamentale à l'un des nombreux états énergétiques (Hesse, 1997).

Le but de ces essais est d'enregistrer les spectres UV et de les interpréter par le moyen des longueurs d'ondes afin de suivre la réaction et ainsi voir les changements s'ils ont lieu.

Ce type d'analyse est basé sur la loi de Beer-Lambert :

$$A_{\lambda} = -\log_{10} (I/I_0) = \epsilon_{\lambda} \cdot \ell \cdot C$$

A_{λ} : Absorbance ;

C : concentration ou fraction molaire ou volumique ;

ℓ : longueur du trajet de la lumière (épaisseur de cellule de l'échantillon) ;

ϵ_{λ} : coefficient d'extinction molaire (Chavanne et al., 1998) .

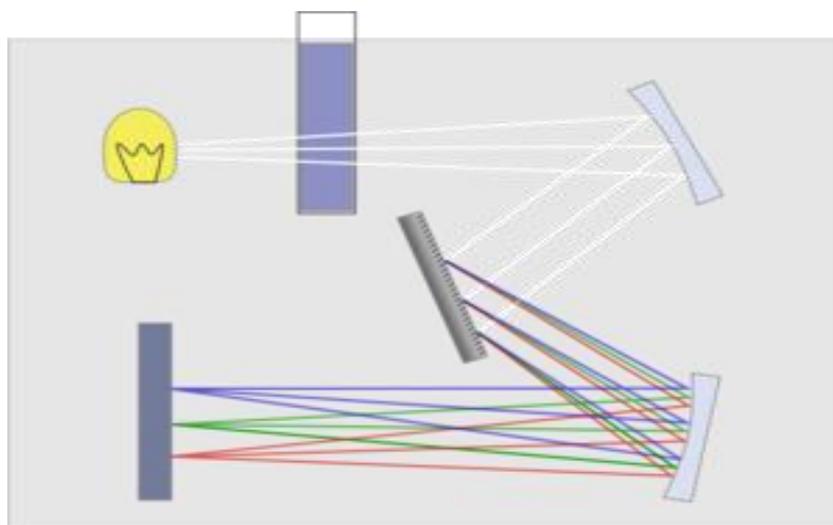


Figure II.2 : Diagramme d'un spectrophotomètre UV-visible à faisceau unique.

b. Appareil :

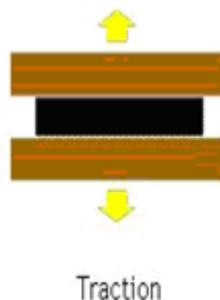
L'appareil utilisé est un spectrophotomètre UV -Vis de type SHIMADZU 800 à doubles faisceaux.

II.3.4. Essais mécaniques de traction :

a. Principe :

Les essais mécaniques sont des expériences dont le but est de caractériser les lois de comportements des matériaux (mécanique des milieux continus). La loi de comportement établit une relation entre les contraintes (pression=force/surface) et les déformations (allongement unitaire sans dimensions). Il ne faut pas confondre une déformation avec un déplacement ou une dilatation.

Les films sont coupés sous la forme d'éprouvettes rectangulaires de dimensions (50/20/~0,3) ($\ell/\ell/e$) (mm/mm/mm). L'échantillon est placé entre les deux mâchoires. Le démarrage s'effectue à une vitesse de 5mm/min jusqu'à ce que la rupture de l'échantillon soit atteinte. A ce moment, la machine s'arrête. La courbe force/ allongement s'affiche sur l'écran. Les différentes grandeurs sont déduites à partir de cette courbe.



La **figure II.3** Présente un exemple de comportement d'un matériau soumis à une contrainte de traction. On y distingue trois zones :

- la zone 1 de la courbe contrainte – élongation est linéaire et correspond à une déformation élastique. Le matériau s'allonge sous l'action de la traction et reprend sa forme et ses dimensions initiales lorsque la contrainte est interrompue. Le coefficient de proportionnalité du droit est appelé module de Young ou module d'élasticité.
- La zone 2 est appelée zone de déformation plastique. La déformation est toujours élastique, mais la variation contrainte - déformation n'est plus linéaire. Cette zone présente un maximum au-delà duquel le matériau subit une déformation irréversible. A l'arrêt de la contrainte, le matériau ne retrouve pas sa forme initiale : il existe une déformation résiduelle permanente.
- Au-delà d'une déformation critique, une contraction du matériau s'opère en un point donné jusqu'à rupture. On aborde alors la zone 3 de la courbe, dite zone de rupture. Si un matériau se casse dans son domaine élastique, c'est-à-dire sans subir de déformation

plastique avant sa rupture, il est considéré comme fragile. Par contre, il sera considéré comme ductile s'il peut subir de grandes déformations plastiques avant sa rupture.

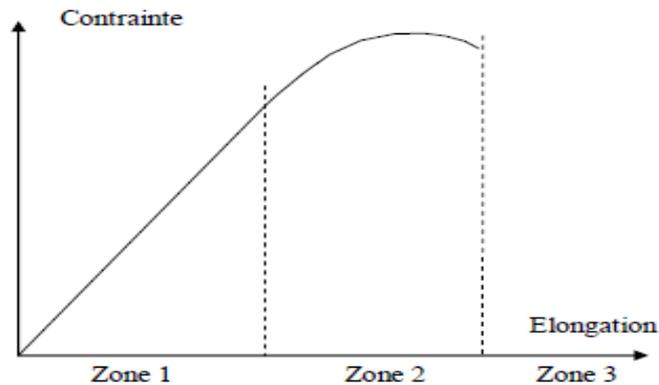


Figure II.3 : Comportement d'un matériau soumis à une contrainte mécanique.

Les différents paramètres qui peuvent être calculés à partir de cette courbe sont :

-Le module de Young E (MPa) : il correspond à la pente de la partie linéaire de la courbe contrainte – déformation pour les faibles déformations (**Krawczak, 1999**).

$$E = \sigma / \varepsilon \quad (\text{N/m}^2)$$

Avec :

E : module d'élasticité ;

σ : contrainte ((N/m^2)) ;

ε : Déformation(%).

-Contrainte à la rupture : c'est la charge à la traction supportée par l'éprouvette à l'instant de sa rupture par unité de surface. Elle est donnée par l'expression suivante :

$$\sigma_r = F/S \quad (\text{N/m}^2)$$

Avec :

F : charge de traction supportée par l'éprouvette (N) ;

S : section initiale (m^2).

-Allongement à la rupture : c'est l'augmentation de la distance entre les repères sur la partie calibrée de l'éprouvette produite par une charge de traction au moment de la rupture de l'éprouvette. Il est indiqué en pourcentage sur la forme suivante :

$$\varepsilon_r = \Delta \ell / \ell_0 \quad (\text{N/m}^2)$$

Avec:

$\Delta \ell = \ell - \ell_0$: allongement à la rupture ;

ℓ_0 : longueur initiale de l'éprouvette ;

ℓ : longueur finale de l'éprouvette.

La contrainte à la rupture σ_r et la déformation à la rupture ϵ_r sont calculées pour chaque échantillon en considérant que la section des éprouvettes ne varie pas de manière significative au cours de la mesure.

b. Appareil :

L'appareil utilisé est de type Zwick /Roell Z.0.1.

II.3.5. la radiocristallographie par diffraction des rayons X (DRX) :

a. Principe

La diffractométrie de rayons X (DRX) est une technique d'analyse fondée sur la diffraction des rayons X sur la matière. La diffraction n'ayant lieu que sur la matière cristalline et fait partie des méthodes de diffusion élastique. Cette analyse consiste à appliquer un rayonnement de la longueur d'onde des rayons X sur un échantillon. Le rayonnement pénètre dans le cristal. Il a absorption d'une partie de l'énergie et excitation des atomes avec émissions des radiations dans toutes les directions. Les radiations émises vont engendrer un faisceau cohérent qui pourra être détecté (**Samake, 2008**).

Si l'on calcule les directions dans lesquelles on a du signal, on utilise la loi de Bragg :

$$2. d.\sin(\theta) = n.\lambda$$

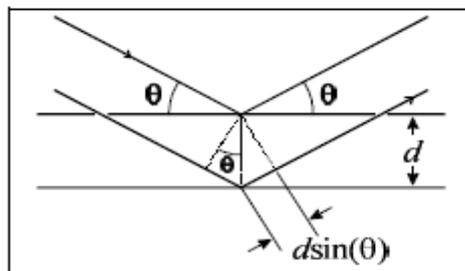
Avec :

d : la distance interréticulaire ;

θ : l'angle de la déviation ;

n : est un nombre entier appelé «ordre de diffraction» ;

λ : est la longueur d'onde des rayons X.



Cette relation permet de déterminer les équidistances des différentes familles de plans caractéristiques du matériau à analyser à partir des valeurs de l'angle d'incidence.

λ est la longueur d'onde de la raie $K_{\alpha 1}$ du cuivre ($1,5406 \times 10^{-10}$ m) (**Perglio,2008**).

b. Appareil :

L'appareil utilisé est diffractométrie RX de type **D8-ADVANCE de BRUKER-AXS**. Les rayons x sont produits par une anticathodique de cuivre alimentée sous 40KV et 40 mA. La radiation Cu ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) séparée au moyen d'un monochromateur arrière en graphite courbé. La fente de divergence et d'antidiffusion sont programmables. Le diagramme des échantillons est enregistré sur un domaine angulaire compris entre $5-60^\circ (2\theta)$ par pas de 0,02. Le temps de comptage est de 1 seconde par pas. Le goniomètre vertical $\theta-2\theta$ en goniométrie Bragg Brentano. Le détecteur est à scintillation.

II.3.6. L'analyse thermique à balayage (D.S.C.):

a. Principe :

La mesure par D.S.C. (Differential Scanning Calorimetry) est une technique utilisée pour étudier le comportement des polymères lorsqu'ils sont chauffés (transitions thermiques). La figure II.4 illustre le principe de fonctionnement de cette technique. L'analyse se fait dans un dispositif de ce type :

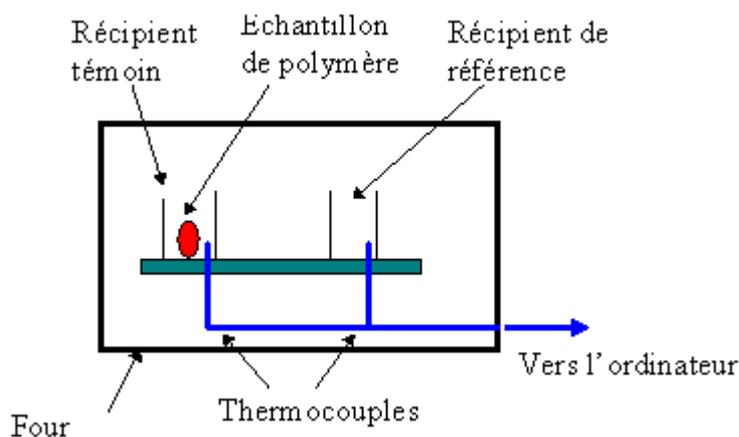
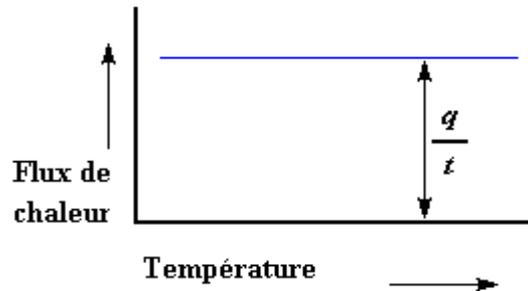


Figure II.4 : Dispositif général d'un calorimètre DSC.

Le dispositif est constitué de deux récipients : un récipient témoin ou le polymère à analyser sera déposé et un récipient de référence qui sera laissé vide. L'ordinateur tracera la différence de production de chaleur des deux récipients de chauffage. Cela signifie que la chaleur tracé est la chaleur absorbée par l'échantillon de polymère.



$$\frac{\text{Chaleur}}{\text{Temps}} = \frac{q}{t} = \text{Flux de chaleur}$$

Un simple changement de pente sans apport ou dégagement de chaleur indique le phénomène de transition vitreuse. La transition vitreuse dépassée, la mobilité des chaînes favorise ces dernières à s'organiser sous forme de cristallites. Cela se traduit par l'apparition d'un pic exothermique. Le phénomène est appelé cristallisation. Le phénomène contraire est dit fusion. Pour que l'état ordonné des chaînes passe à un état désordonné, état fondu, un apport d'énergie doit être fourni au système. L'apparition d'un pic endothermique permet de déduire la température de fusion du polymère comme le montre la **figure II. 5 (Diaham, 2007)**.

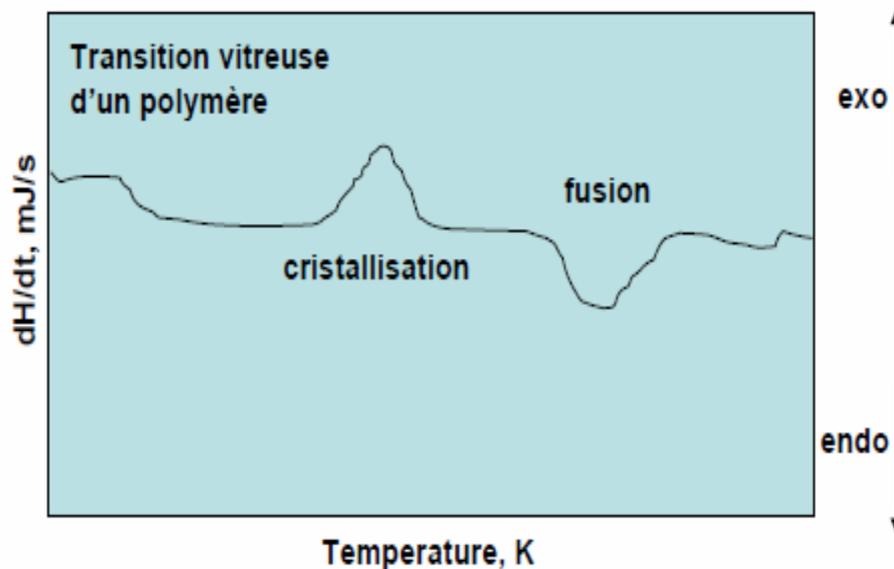


Figure II. 5 : Variation de l'enthalpie en fonction de la température.

a. Appareil :

L'appareil utilisé est de type DSC NETZ SCH (DSC 200 pc).

II.3.7. Etude de gonflement :

a. Milieux.

Ce test a été évalué dans différents milieux pseudophysiologiques et/ou *in vitro* dont les compositions sont les suivantes. Les volumes de ces milieux ont été fixés à 20 ml.

- Solution 1

Eau distillée, utilisée comme témoin par rapport aux autres milieux.

- Solution 2 à pH=7,4

Pour un litre d'une solution PBS utilisé, on dissout 8 g de NaCl, 0,2g de KCl, 1,44g de Na₂ HPO₄ et 0,24g de KH₂PO₄ dans un 800 ml d'eau distillé. Puis on complète par l'eau distillée jusqu'à 1 litre. On ajuste le pH à 7,4 avec l'acide chlorhydrique (1N) ou NaOH (1N) et enfin, on ajoute l'eau distillée à un litre (**Beljit et al., 2008**).

- Solution 3 à pH=1,2

Il est réalisé à partir de deux solutions mères dont les compositions sont les suivants :

- Solution A : chlorure de potassium 0,2M soit 7,45g KCl /0,5 litre.
- Solution B : acide chlorhydrique 0,2M soit 1,5ml HCl /0,25 litre.

Pour 100 ml de milieu pH = 1,2, on mélange 25 ml de A et 42,5 ml de B.

- Solution 4 à pH=6,8

Il est réalisé à partir de deux solutions :

- Solution C: acide citrique à 0,5 M soit 105,06 g C₆H₈O₇ /litre d'eau
- Solution D: phosphate disodique au 1/15 M soit 71,07 g de Na₂HPO₄/litre d'eau

Pour 200 ml de milieu pH = 6,8, on mélange 138,20 ml de C et 61,80 ml de D.

- Solution 5 à pH=8,6

Il est réalisé à partir de deux solutions :

- Solution E: dihydrogénophosphate de potassium à 15M soit 9,08g KH₂PO₄ /litre d'eau.
- Solution F: phosphate disodique à 15 M soit 9,47 g de Na₂HPO₄ /litre d'eau,

Pour 200 ml de milieu pH = 8,6, on mélange 189 ml de E et 11 ml de F.

b. Gonflement :

Lors de la réticulation d'un polymère, un réseau tridimensionnel est formé. L'analyse du gonflement du réseau formé nous permet d'obtenir des informations sur le taux de gonflement, la nature de la diffusion du solvant à l'intérieur des hydrogels et sur la densité de réticulation (**Pelletier-Hélène , 2005**). L'essai réalisé dans les différents milieux cités ci-dessus.

Les films de (Gélatine/Résorcine) de dimensions (20/20/0,26) (L/l/e) (mm/mm/mm) des différentes formulations pour différentes concentrations de GTA, sont soumis au test de gonflement. Un poids de 70 mg à été immergé jusqu'à 24 heures dans les cinq solutions (L'eau distillée, PBS, pH=1,2, pH=6,8 et pH=8,6) après chaque intervalle de temps, l'échantillon est retiré et épongé sur un papier filtre pour éliminer les excès de l'eau puis peser.

Les tests sont réalisés à deux températures : à T= 37°C et T amb

Le taux de gonflement "G" est calculé à partir de l'expression suivante:

$$G(\%) = (M_t - M_0) / M_0 * 100 \quad (1)$$

Où

M_t : la masse du film gonflé dans le solvant pendant un temps t ;

M_0 : la masse initiale du film (à t=0).

Le taux de gonflement dépend essentiellement de la densité de réticulation (chimique ou physique) d'une part, de la nature des interactions polymère/polymère et des interactions polymère/solvant d'autre part.

De manière simplifiée le processus de gonflement est dû à un gradient de pression osmotique, le solvant diffuse vers l'intérieur du réseau et celui-ci se met à gonfler.

Lorsque le solvant pénètre dans le réseau, les chaînes de polymères vont s'expansés, ce qui va générer une force rétractive élastique de nature entropique due aux nœuds de réticulation.

L'apparition de cette force augmente la pression à l'intérieur du réseau et lorsque cette pression devient suffisante pour contrebalancer la pression osmotique, le réseau est en équilibre avec le milieu environnant et le gel cesse de gonfler.

II.3.8. Diffusion :

Lorsqu'il existe, dans une phase, un gradient de concentration, la mobilité des molécules entraîne un flux de matière qui tend à égaliser les concentrations et à diminuer l'enthalpie libre du système.

La diffusion dans un milieu, tel qu'un polymère, dépend de plusieurs paramètres comme la température à laquelle le migrant diffuse, la masse molaire du migrant (une substance de masse molaire élevée diffusera plus lentement), la concentration du migrant dans la matrice de polymère.

Pour la détermination de la nature de la diffusion du solvant à l'intérieur des hydrogels, on s'est basé sur les résultats initiaux du gonflement. L'équation utilisée est la suivante. Le tracé de $\ln F$ en fonction du $\ln t$ permettra de déterminer K et n.

$$F = (W_t / W_e) = K t^n \quad (2)$$

Avec:

W_t, W_e : représentent la quantité du solvant absorbée par l'hydrogel au temps t (secondes) et à l'équilibre respectivement.

K : constante caractéristique d'incorporation des molécules dans le réseau polymérique ;

n : exposant de diffusion qui indique le type de mécanisme de diffusion ;

Ils existent deux types de comportement pour la diffusion moléculaire dans le polymère :

1- Le comportement Fickienne ($n = 1/2$) : qui se caractérise par des coefficients de diffusion indépendants de la concentration. Ce comportement est souvent observé dans la diffusion des gaz comme l'oxygène dans des polymères synthétiques.

2- Le comportement non-Fickienne ($1/2 < n < 1$) : qui se caractérise par des coefficients de diffusion dépendants de la concentration ou du temps. Ce comportement est observé pour la vapeur d'eau ou des vapeurs organiques dans des polymères organiques (**Sun-lee et al., 2009**).

Pour ce qui est du coefficient de diffusion, si les deux faces du film polymérique sont exposées à la même concentration C_1 , alors le rapport de la masse absorbée au temps t sur la masse absorbée à saturation peut également être exprimé de la façon suivante : (**Veyrie, 2007**).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \sqrt{\frac{Dt}{l^2}} \left(\pi^{-\frac{1}{2}} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n i \cdot \operatorname{erfc} \frac{nl}{\sqrt{Dt}} \right)$$

Avec :

D : le coefficient de diffusion en $m^2 s^{-1}$;

l : l'épaisseur du film en m ;

t : le temps d'immersion en s.

Quand t est faible, l'équation utilisée est la suivante :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \sqrt{\frac{Dt}{\pi l^2}}$$

II.3.9. Test de résidu :

Au cours du test du gonflement, la mesure du pH a été prise au cours du temps ainsi que la caractérisation du résidu par UV et par IRTF

a- acidité/ basidité :

Le pH a été mesuré au cours de temps à l'aide d'un pH-mètre de type Enlabo 740.

b- Les analyses spectrophotométries:

b.1. La spectrophotométrie UV -Vis : Le résidu restant dans des béchers après le test de gonflement est récupéré dans des fioles pour être analysé par UV.

b.2. La spectrophotométrie infrarouge (IR-TF) :

Le principe est donné précédemment. Après évaporation de l'eau de la solution, le résidu est analysé par IRTF dans le KBr anhydre sous forme de pastilles.

II.3.10. Détermination de la teneur en eau et des différents types d'eau

Dans le cas de gélatine, il existe trois types d'eau :

- 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 liaison hydrogène. Cette quantité dépend du taux d'hélicité. Elle est de 0,040-0,055g/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 (**Primalov et al., 1970**).

La teneur en eau (appelée aussi perte en eau ou humidité relative H.R.) a été déterminée par la relation établie par **Kanamori (Kanamori, 2000)**.

$$\text{H.R.(\%)} = (M_0 - M) / M_0 * 100$$

Où :

M_0 : est la masse des films préparés et séchés à la température ambiante ;

M : masse des films placés à $T = 120^\circ\text{C}$ pendant un $t = 72\text{h}$.

L'appareil utilisé est une étuve de type PROLABO, 220 V, 4-5 A avec une gamme de température de 0-220°C.

Les films préparés ont été étudiés à $T=120^\circ\text{C}$ pendant un temps variable.

III.1. Analyses par spectroscopie IR.TF :

1.Film de gélatine non réticulée additionnée à la résorcine :

La gélatine présente plusieurs bandes d'absorption qui peuvent être résumées comme suit :

Des vibrations de valence des OH et des NH apparaissant respectivement aux environs 3395 et 3317 cm^{-1} , d'une part.

D'autre part, selon une étude exhaustive menée par **Centeno et al., (Centeno et al.,2004)**, le carbonyle (C=O) de l'amide primaire est à 1655 cm^{-1} alors que l'amide secondaire impliqué dans l'étirement de C-N et C-N-H est à 1550 cm^{-1} .

Il a été reporté que la bande de l'amide primaire donne des informations importantes sur la structure secondaire des protéines.

En général, le domaine s'étendant entre 1660 et 1650 cm^{-1} est directement lié à triple hélice alors que les β -feuilletts se trouvent dans la gamme de 1640 à 1620 cm^{-1} , les β -tours absorbent à 1695 jusqu'à 1660 cm^{-1} et l'intervalle d'absorption de l'hélice α est 1650 à 1640 cm^{-1} (**Yakimet et al., 2005**).

En somme, un aperçu du spectre de la gélatine que nous avons utilisée peut être interprété de la manière suivante : (**Figure III.4**)

L'apparition des deux bandes à 1651 et 1554 cm^{-1} confirme ce qui a été décrit dans la littérature.

On indique aussi la bande à 3073.9 cm^{-1} de faible intensité qui présente les C-H_{aromatiques}. Il apparait également deux pics d'absorption d'intensités moyennes à 2943,2 et 2870,5 cm^{-1} correspondant aux C-H_{aliphatiques asymétriques et symétriques} respectivement. Par ailleurs, les vibrations de déformation de ces derniers groupements sont à 1449,2 et 1401 cm^{-1} . Les pics à 1166 et 1083 cm^{-1} sont directement attribués à la vibration d'élongation de C-O. Par ailleurs, l'amide III apparait entre 1210 et 1240 cm^{-1} .

À 670 cm^{-1} , correspond les vibrations de balancement des N-H.

En revanche, pour ce qui est de la résorcine qui présente manifestement différentes formes tautomériques, plusieurs interactions surgissent en présence d'un solvant (**Bacon et al., 2000**) :

- Des interactions de type hydrophobes (solvants apolaire / cycle aromatique de la résorcine).
- Des interactions dipolaires (solvants polaires / groupements fonctionnels de la résorcine tels que carbonyle, hydroxyle).
- Des liaisons hydrogène (solvant polaire / groupements donneurs et/ou accepteurs de ce type de liaison figurant sur la résorcine).

Nous avons aussi abordé l'effet du pH sur la réSORCINE (**Figure III.1**) puisque ce dernier est un facteur très important et dont les milieux physiologiques en dépendent fortement. La réSORCINE possède un pKa qui varie entre 9,32 à 9,81 à 25°C. Elle se comporte différemment en fonction du pH. Les différentes positions qui peuvent réagir selon le milieu son principalement la position 2 ; 4 et 6.

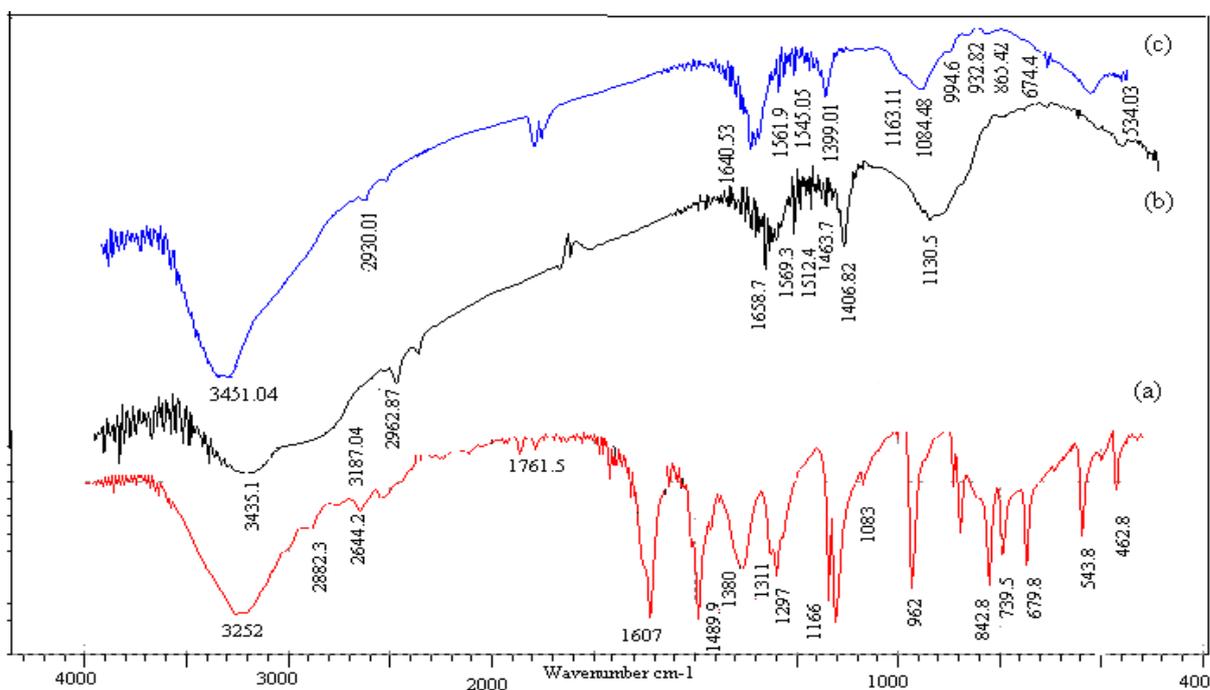
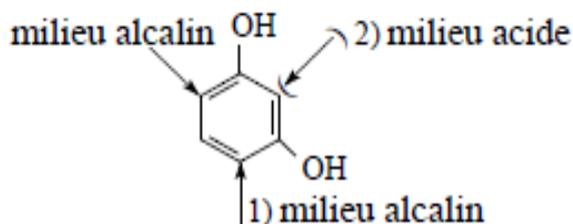


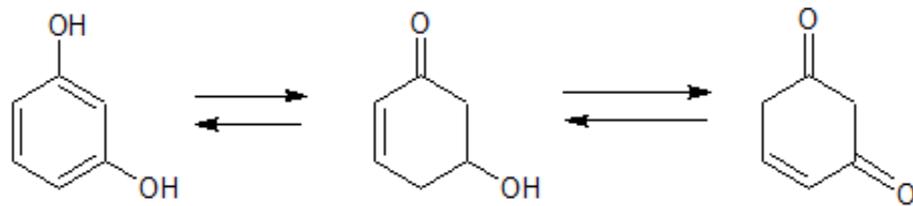
Figure III.1 : Spectres IR-TR de la réSORCINE dans un milieu neutre (a), milieu acide (pH=1,2) (b), et milieu basique (pH=8,6) (c).

La lecture du spectre infrarouge du réSORCINOL se fait comme suit :

Les énergies d'absorption sont :

- entre 3252 et 3394 cm⁻¹ présentent les vibrations de valence des groupements O-H,
- entre 2000 et 1600 cm⁻¹ celles d'un noyau aromatique 1,3-disubstitué,

- et aussi, l'apparition des bandes inférieures à 3000 cm^{-1} ($\sim 2882,3\text{ cm}^{-1}$) indique l'existence des C-H aliphatiques probablement provenant des formes tautomériques de la résorcine qui sont les suivantes :



Aussi, nous devons signaler que le spectre IRTF de la résorcine subit un changement suite à la modification du pH. Les bandes qui étaient auparavant fines et bien résolues dans le domaine inférieur à 1607 cm^{-1} ont disparu, ou se sont déplacées à des fréquences supérieures ou inférieures.

Avant d'entamer l'étude de l'action de la résorcine sur la gélatine, selon la structure de deux agents, nous pouvons avoir :

- Des interactions réversibles c'est à dire formations de liaisons des complexes de faibles énergies préalablement solubles et précipitent suite à leur mélange (**Borrelli et al., 2002**) elles sont due à :
 - La proximité des groupements OH portés par le phénol qui favorise la solidité de la liaison formée.
 - La présence de résidu de proline qui possède un hétérocycle rigide incluant le groupement amine impliqué dans la liaison peptide. Il peut participer par conséquent à la formation de « poches hydrophobes » (**Figure III.2**) . On peut de plus noter que la turbidité augmente avec le nombre de carbones dans les chaînes latérales aliphatiques des résidus, ce qui est corrélé avec l'hydrophobité des résidus acides aminés (**Oh et al ., 1980**).

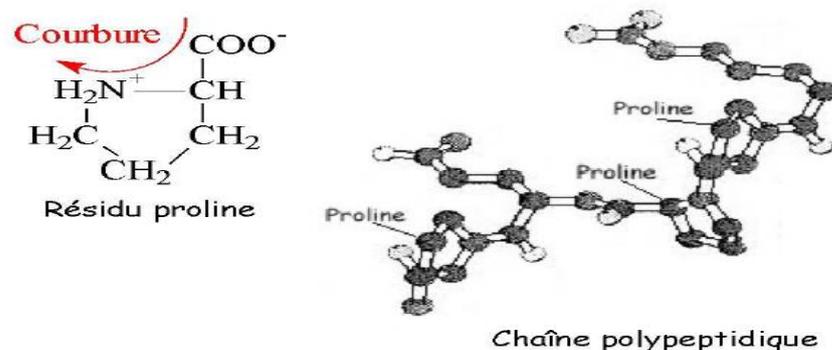


Figure III.2: Particularité du résidu proline : un hétérocycle rigide imprimant une courbure aux chaînes polypeptidiques.

- Des interactions irréversibles. Il ya formation de complexes comportant des liaisons covalentes dont la formation peut impliquer des phénomènes d'oxydation .

Ainsi que le pH du milieu peut influencer sur ces interactions :

- à pH acide ($\text{pH} \leq 3$) : on observe une rupture de la liaison intermoléculaire (interrésorcine), ce qui aboutit à la formation de carbocations très électrophiles, ceux ci- réagissent rapidement avec les groupements nucléophiles se trouvant à proximité. En absence de tels groupements, ils peuvent se produire des phénomènes de polymérisation entre les différentes molécules en présence, ce qui conduit à terme à la formation de composés de très hauts poids moléculaires qui précipitent avec le temps (**Haslam et Lilley ,1988**).
- à pH basique ou riche en agents oxydants ($\text{pH} \geq 8$) : Un schéma récapitulatif des réactions susceptibles de se produire dans différents pH (**Figure III.3**) a été proposé par **Hurell et al., (Hurell et al., 1982)** . Ces réactions peuvent se produire également avec d'autre acides aminés telle que la lysine (résidu de cystéine en particulier), impliquant dans un premier temps l'oxydation enzymatique ou non du composé phénolique en quinone puis la formation de quinonimines avec les résidu amino acides (**Rawel et al., 2002**). Des phénomènes de polymérisation se produisent ensuite.

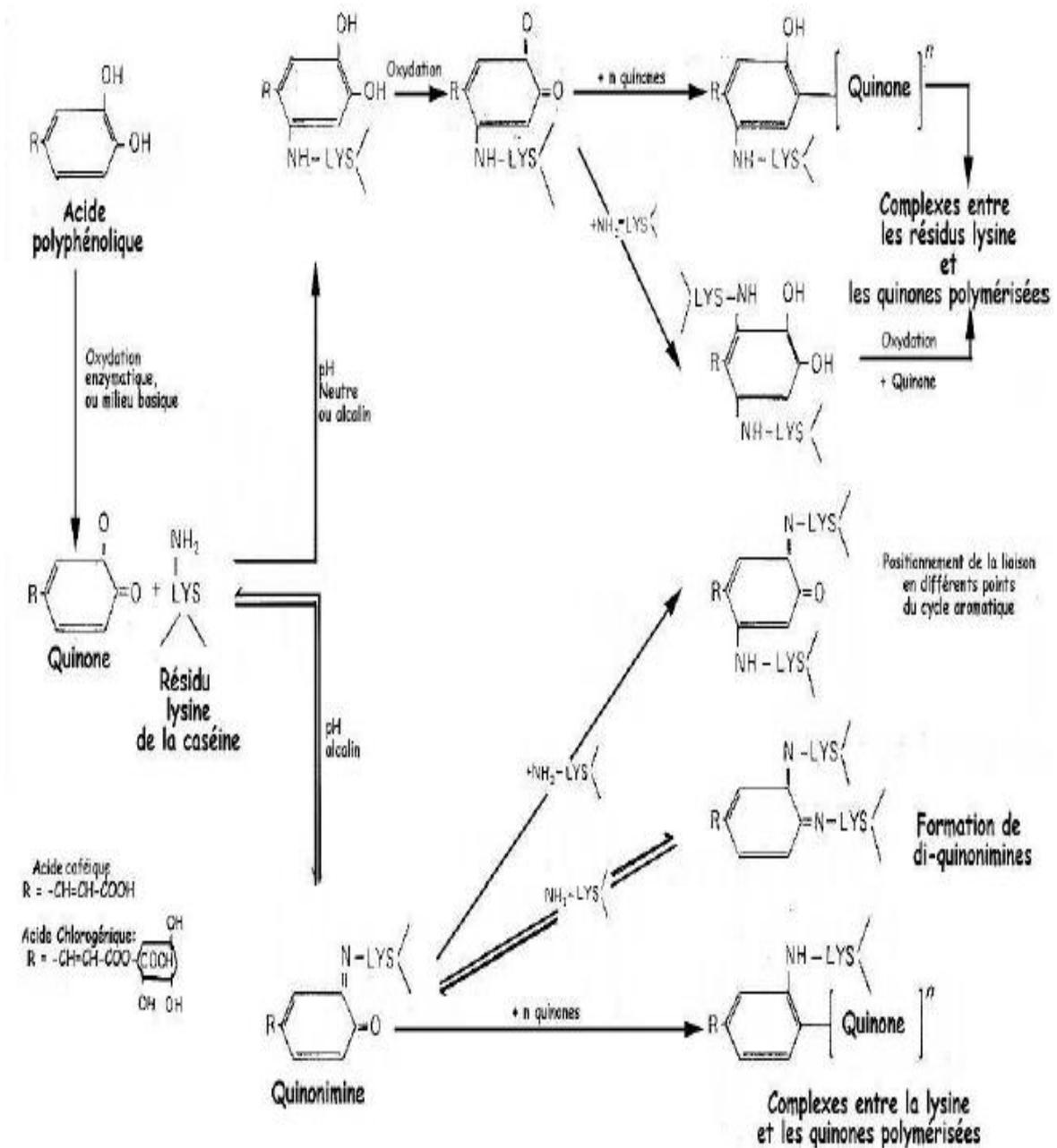


Figure III.3 : Quelques réactions susceptibles de se produire entre les résidus lysine de la caséine et la réSORCINE à pH > 7 (Hurell et al., 1982).

L'étude de l'effet de l'ajout de réSORCINE sur la gélatine dans un milieu neutre montre que le pic qui correspond la fonction O-H subit un schfting hyperchrome vers $3316,9\text{ cm}^{-1}$, avec diminution de l'intensité du pic dans la région 3082 cm^{-1} , et disparition du pic vers la région 1457 cm^{-1} (C-H). En même temps il ya l'apparition de deux pics très intenses dans le spectre G/R dans la région 1082 cm^{-1} et la région 964 cm^{-1} qui sont affiliées aux fonctions de C-O et C-H respectivement.

a. Dans un milieu aqueux :

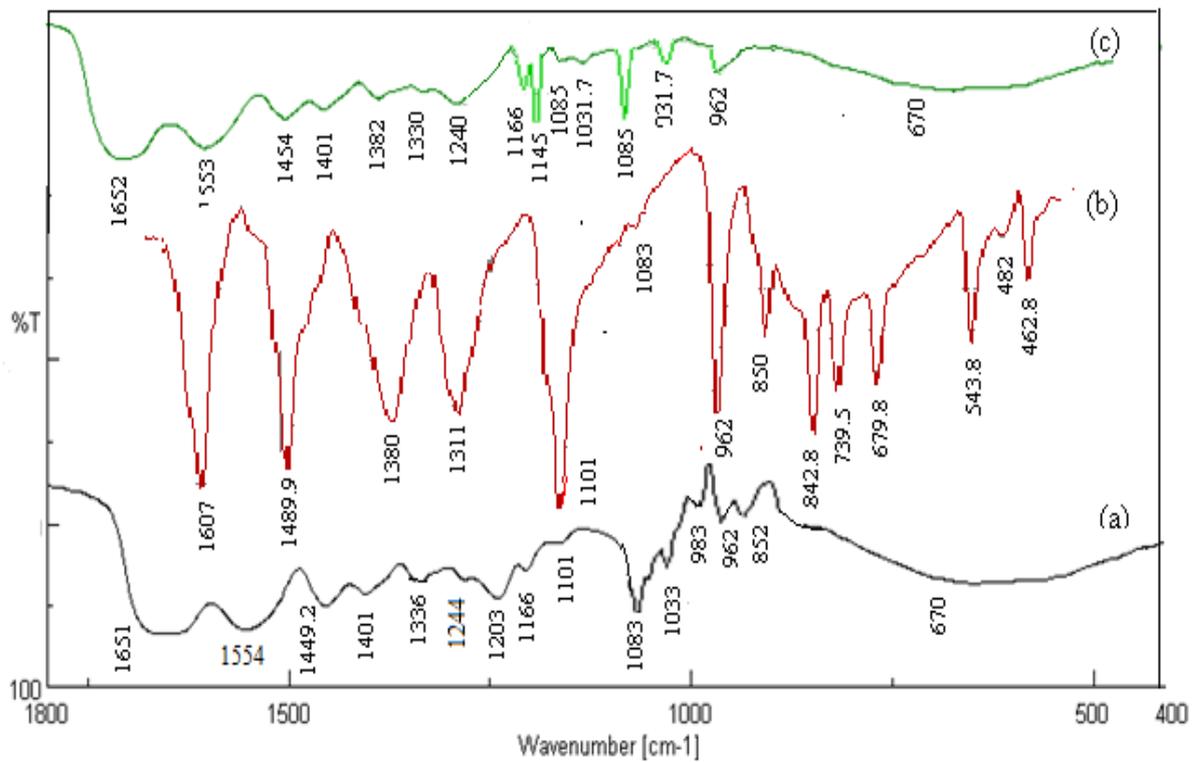
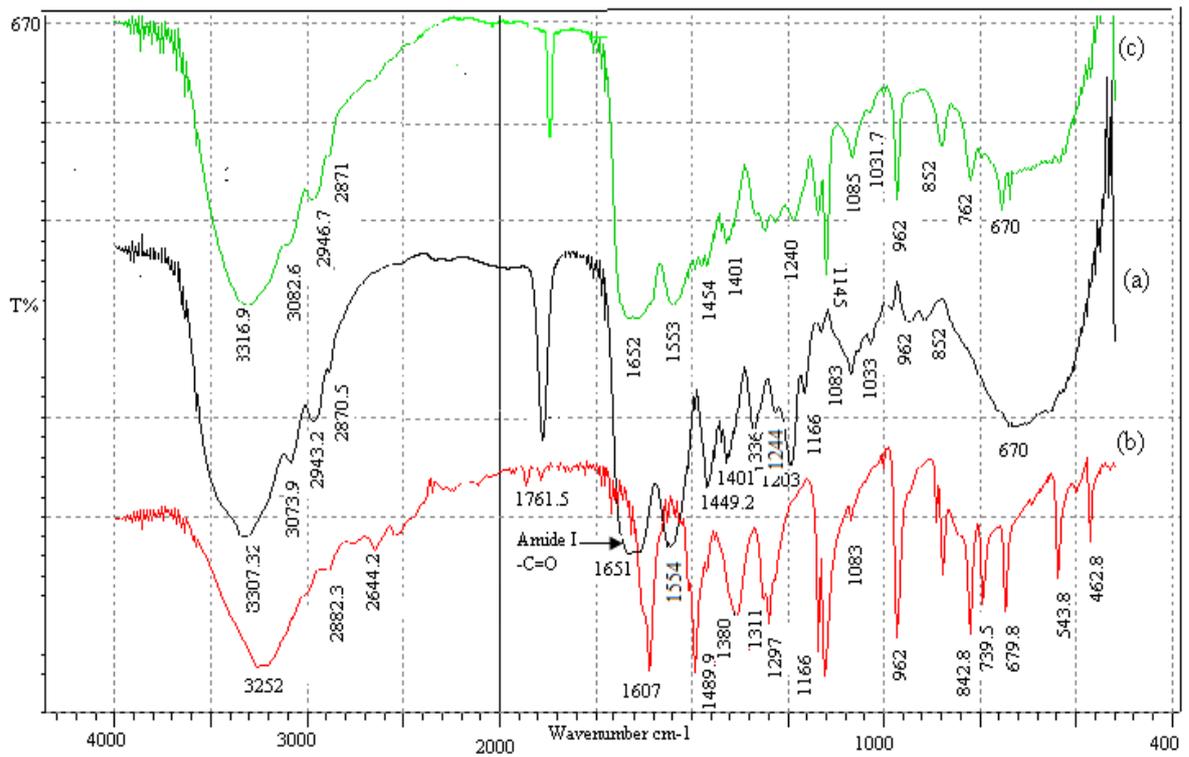


Figure III.4 : Spectres IR-TF de la Gélatine (a), la résorcine (b), et le mélange (G/R) (85/15)% (c) ; à pH neutre.

Mais dans un milieu acide, le pic qui correspond la fonction OH subit un déplacement hypsochrome vers $3317,9\text{ cm}^{-1}$. Il a une diminution des intensités des pics dans la région $1500\text{ à }400\text{ cm}^{-1}$ et l'apparition d'un nouveau pic à $848,5\text{ cm}^{-1}$ (**Figure III.5**).

b. Dans un milieu acide (pH=1,2) :

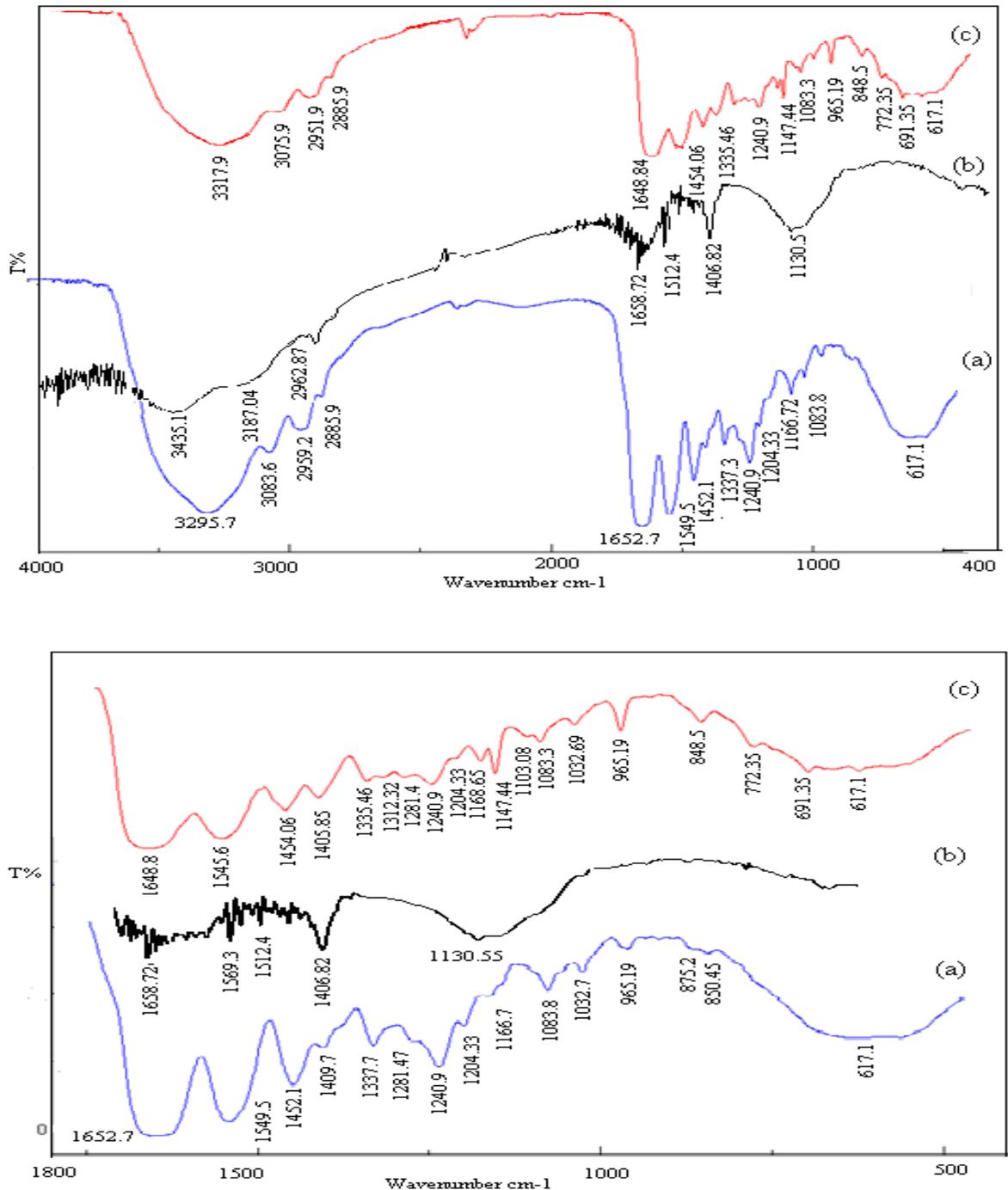


Figure III.5 : Spectres IR-TF de la Gélatine (a), la résorcine (b), et le mélange (G/R) (85/15)% (c) ; à pH acide.

b. Dans un milieu basique (pH=8,6) :

Dans un milieu basique on un léger déplacement des bandes telles 1460 à 1511 cm^{-1} , 1399 à 1404 cm^{-1} et 842,95 à 854,19 cm^{-1} avec une intensification du pic.

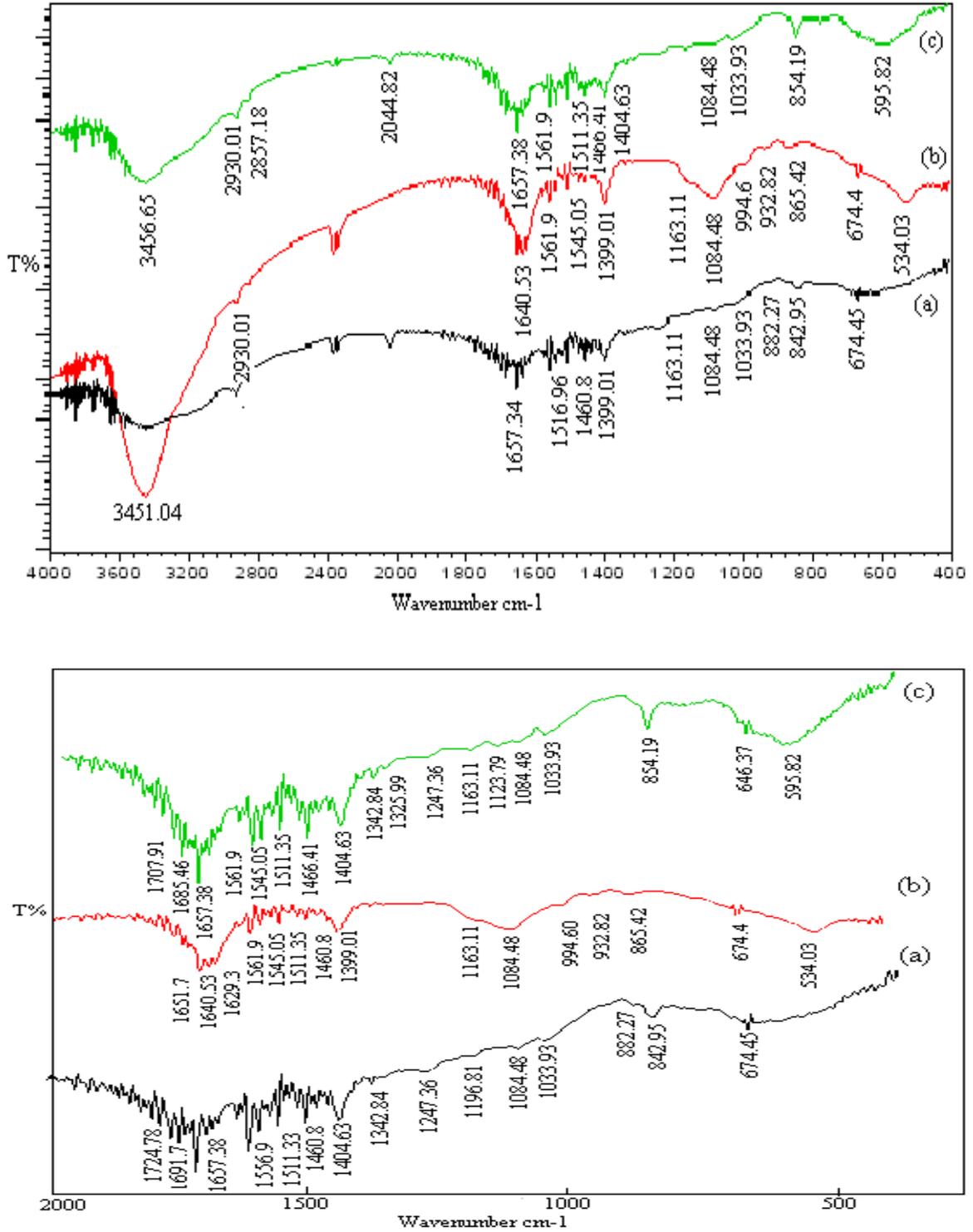


Figure III. 6 : Spectres IR-TF de la Gélatine (a), la résorcine (b), et le mélange (G/R) (85/15)% (c) ; à pH basique.

2. Films réticulés par le GTA :

Les agents de réticulation de la gélatine sont : les chlorures et les anhydrides de l'acide carboxyliques, le chlorure sulfonique, les isocyanates et les époxydes (**Farris *et al.*, 2009**).

Bien que le glutaraldéhyde présente certain toxicité, seules de faibles quantités sont utilisées (**Bigi *et al.*, 2001 ; Farris *et al.*, 2009**). Il réagit avec les protéines non pas sous forme libre, mais sous forme d'un polymère insaturé, pour donner les liaisons imines stabilisées par conjugaison. La gélatine est capable d'interagir chimiquement par certains de ces acides aminés comme la lysine, avec des composés aldéhydiques. La réactivité des fonctions amines avec les composés aldéhydiques a été étudiée pendant une longue période, d'une part pour améliorer certaines caractéristiques des films photographiques et pharmaceutiques et, d'autre part, pour cibler les applications innovantes comme les bioadhésifs et les capsules à libération contrôlée, il présente une forte réactivité (**Fraenkel-Conrat *et al.*, 1945 ; French et Edsall, 1945**) et permet de diminuer la solubilité des capsules de gélatine. La réaction chimique entre la lysine et le glutaraldéhyde aboutit dans un premier lieu à la formation d'un « hémiacétal » dont la vitesse de formation est limitée à pH acide. La perte d'une molécule d'eau aboutit à la formation d'une imine. Cette imine peut réagir à son tour avec une amine libre et former ainsi une liaison aminal qui est réversible à pH acide (**Cordes. Jencks, 1962 ; Koehler *et al.*, 1964**).

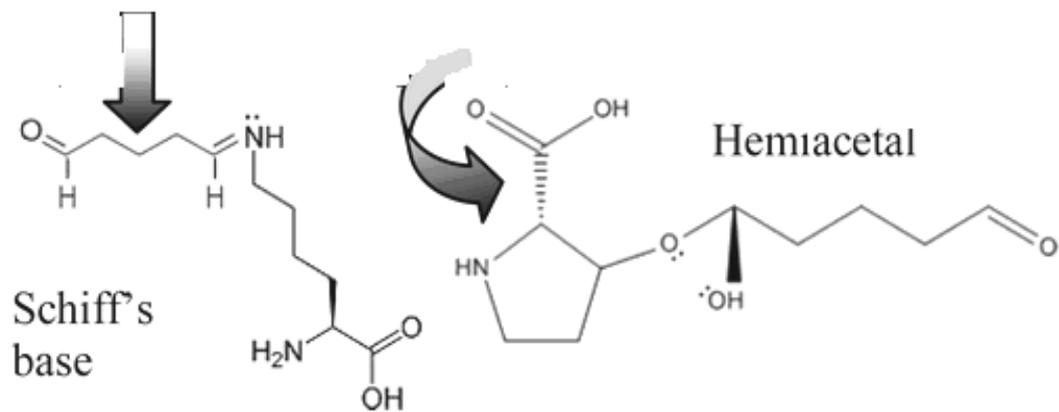
Cette réticulation est volontairement utilisée par les industriels, notamment pour fabriquer des gélules Castro-résistantes, mais elle peut apparaître parfois de façon non désirée.

Dans la littérature, on trouve que sa réactivité augmente autour d'un pH neutre en présence d'un grand nombre de résidus de la protéine et selon les formes moléculaires dans la solution aqueuse conduisant aux différents mécanismes réactionnels possibles.

Parmi les groupements les plus réactionnels de la gélatine, on cite : l'amine (NH₂), le thiol (-SH) ; le phénol et l'imidazole.

Des travaux menés par **Farris *et al.*, (Farris *et al.*, 2010)** élucident le processus de réticulation selon les différents pH et confirment que :

1. à un pH = 11, le mécanisme de la réaction entre la lysine et les groupes carbonyles du glutaraldéhyde conduit à la formation de la base de schiff
2. Il a aussi été proposé que le mécanisme réactionnel de la réticulation entre la gélatine par le glutaraldéhyde à un pH acide égale 4,5 mène à la formation d'un hémiacétal.



2.1. Gélatine réticulée :

a. Dans un milieu aqueux :

Dans notre cas La différence entre les spectres de la gélatine et de la gélatine réticulée réside dans l'augmentation en intensité du pic à 1653 cm^{-1} qui devient plus fort après la réticulation. Ce qui correspond probablement à la formation de l'imine « base de schiff ». Il est à préciser que les C-H aliphatiques asymétriques et symétriques du GTA apparaissent à 2960 et 2878 cm^{-1} respectivement alors que le C=O de l'aldéhyde du GTA est à 1716 cm^{-1} (source de base de données SDBS, voir Annexe).

Une tentative de suivre la réaction au cours du temps par IR a été réalisée, mais la quantification de différents pics n'a pas pu être exploitée dans notre cas.

a.1. Réticulation avec 0,1 % de GTA :

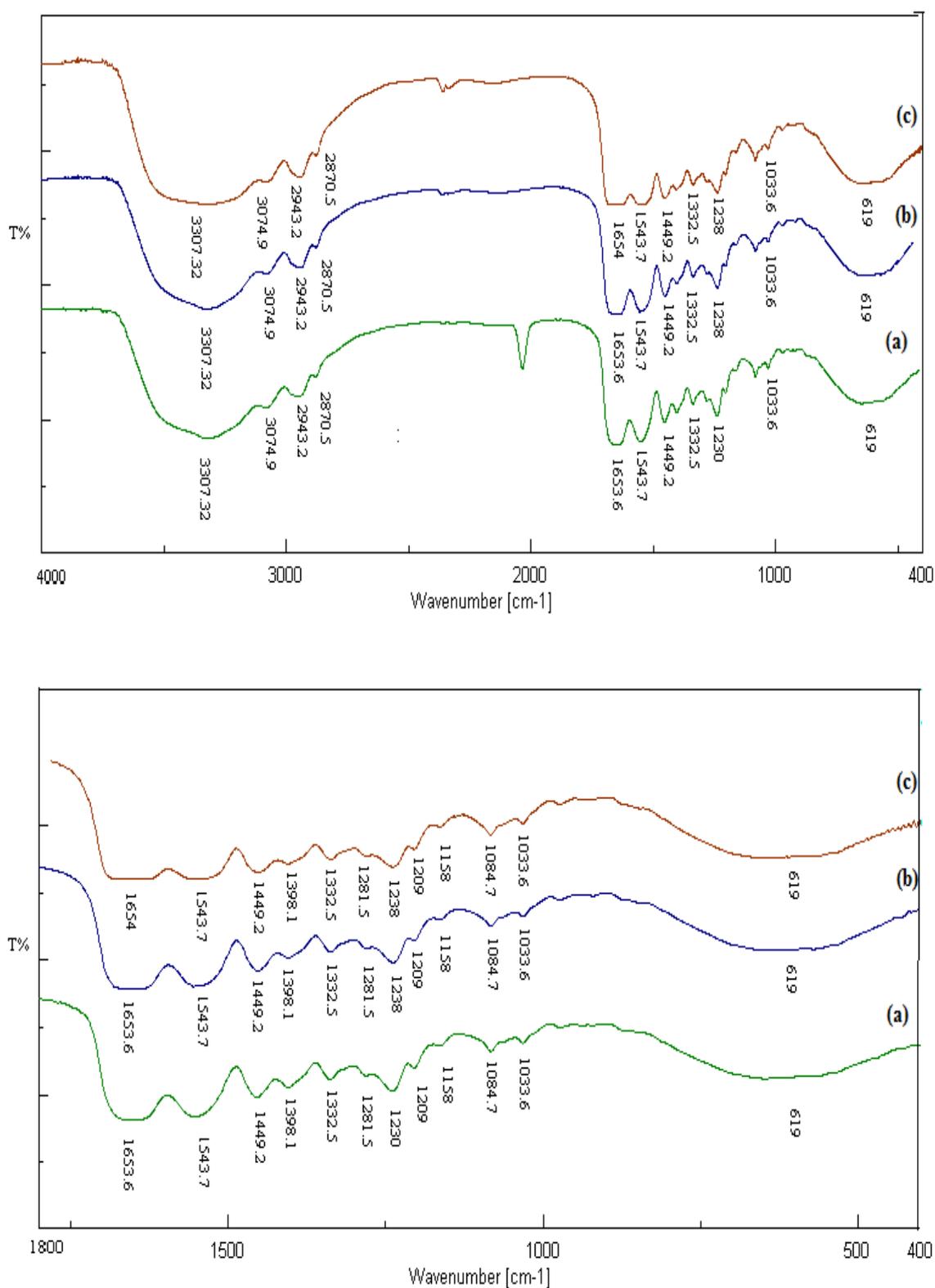


Figure III.7 : Spectres IR-TF de la gélatine (a), la gélatine réticulée à 0,1% de GTA (t=30min) (b) et gélatine réticulée à 0,1% de GTA (t=24h) (c) ; à pH neutre

a.2. Réticulation avec 2,5 % de GTA :

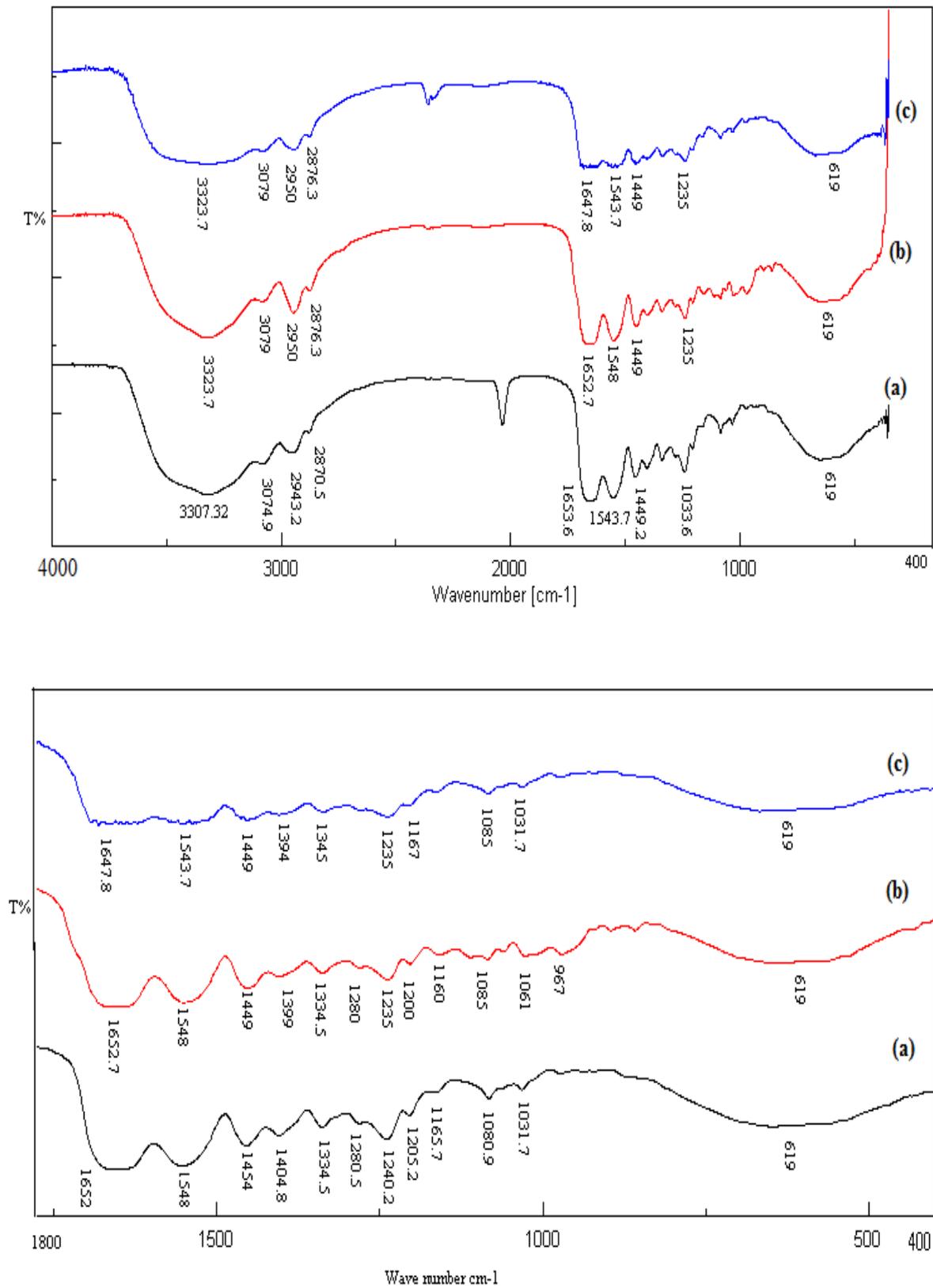


Figure III.8 : Spectres IR-TF de la gélatine (a), la gélatine réticulée à 2,5% de GTA (t=30min) (b) et gélatine réticulée à 2,5% de GTA (t=24h) (c) ; à pH neutre

b. Dans un milieu acide (pH=1,2) :

à pH acide, la protéine qui est soluble à pH neutre ou basiques devient insoluble.

b.1. Réticulation avec 0,1 % de GTA :

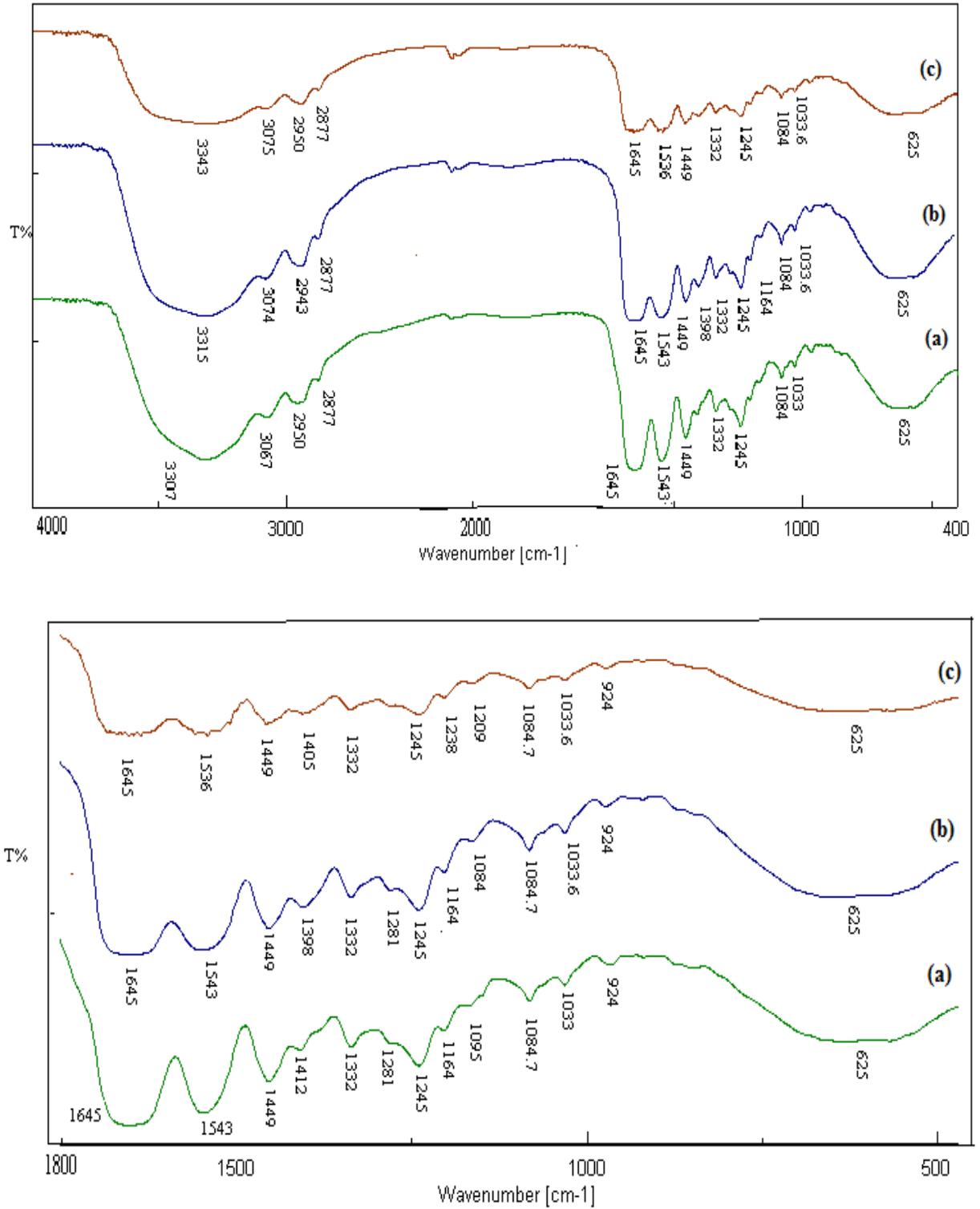


Figure III.9 : Spectres IR-TF de la Gélatine (a), Gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t=30min) (b) et Gélatine réticulée à 0.1 % de GTA (t=24h) (c) ; à pH acide

b.2. Réticulation 2,5 % de GTA :

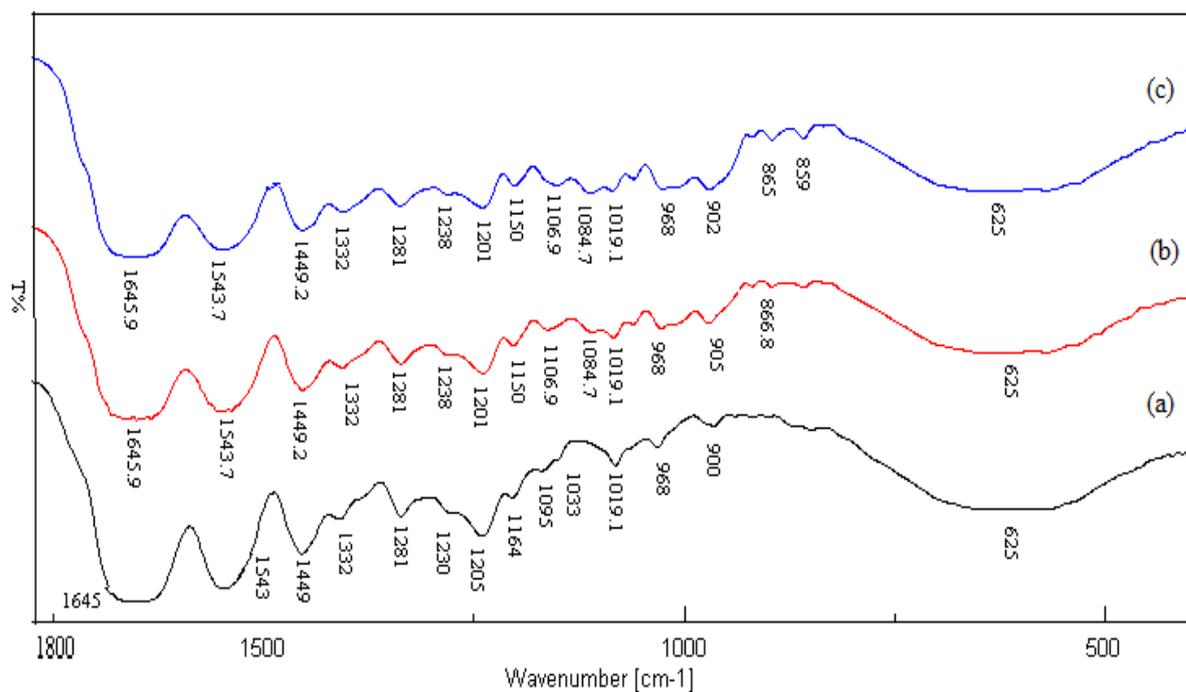
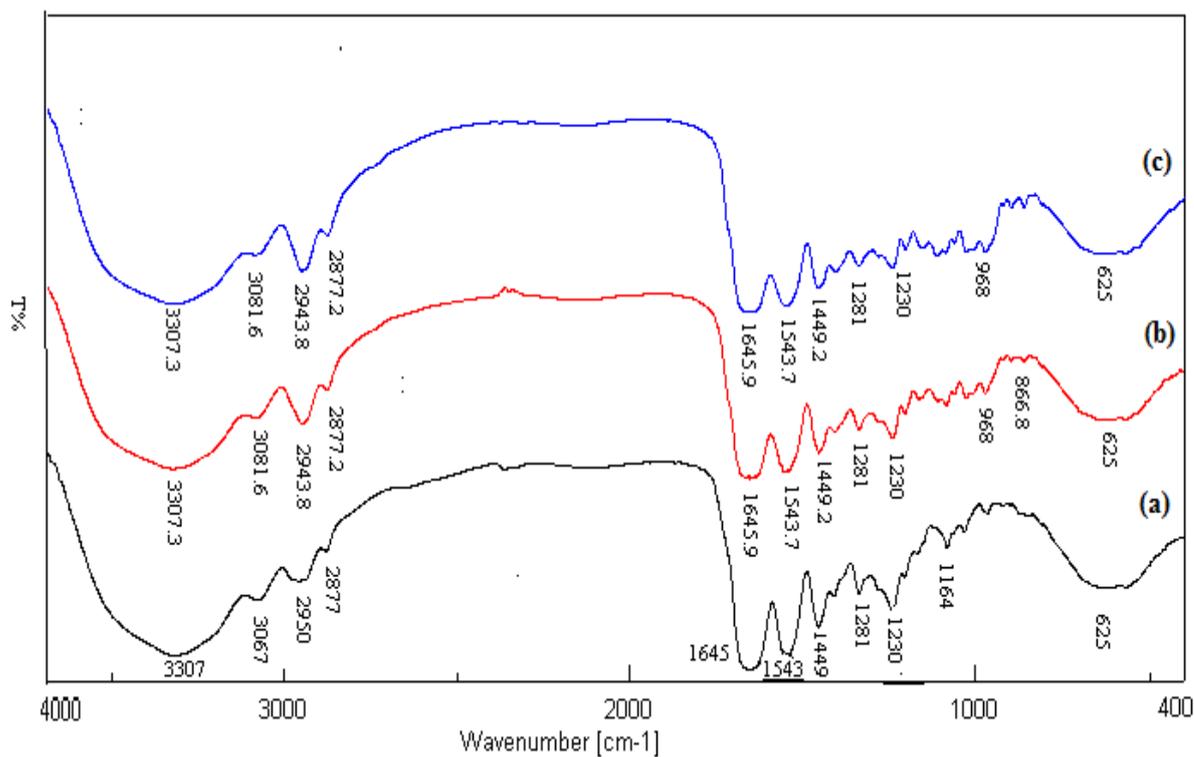


Figure III.10: Spectres IR-TF de la Gélatine (a), Gélatine réticulée à 2,5 % de GTA (t=30min) (b) et Gélatine réticulée à 2,5 % de GTA (t=24h) (c); à pH acide

La différence entre le spectre de gélatine et gélatine réticulée réside dans l'élargissement de la bande caractéristique d'amine NH_2 , du fait de la présence de plusieurs type de chaînes amine. En plus, on remarque :

- Des augmentations de l'intensité des bandes de vibration d'élongation située à 2950 et 2877cm^{-1} qui présentent la présence de groupement C-H aliphatique asymétrique et symétrique respectivement.
- Une diminution de l'intensité des pics dans la région 1645 -1543 cm^{-1} qui indiquant la vibration d'élongation de C=N du groupe imine de la base de Schiff. Cette bande confirme la formation de la réticulation entre les chaînes de gélatine par le glutaraldehyde.
- Et une diminution de l'intensité des pics à 1449, 1281 cm^{-1} « vibration de déformation de C-H », et à 1230 et 1033 cm^{-1} « vibration d'élongation du groupe C-N ».

2.2. Mélange réticulé :

Le résorcinol est un dérivé du phénol qui réagit avec le cetone pour produire un polymère insoluble avec libération de molécules d'eau (**Figure III.11**).

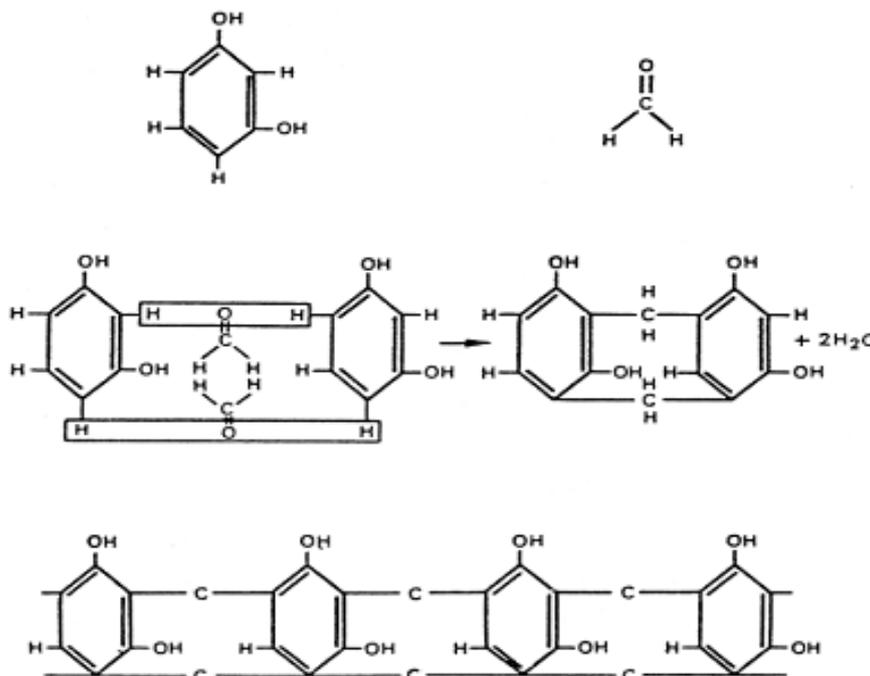


Figure III.11 : Condensation de la résorcinol et du formol, polymérisation de ce complexe en une longue chaîne (**MULOT, 1977**).

Les spectres correspondant aux mélanges de G/R réticulés sont donnés dans les figures III.12-14.

a . Dans un milieu aqueux :

a.1. réticulation avec 0,1% de GTA :

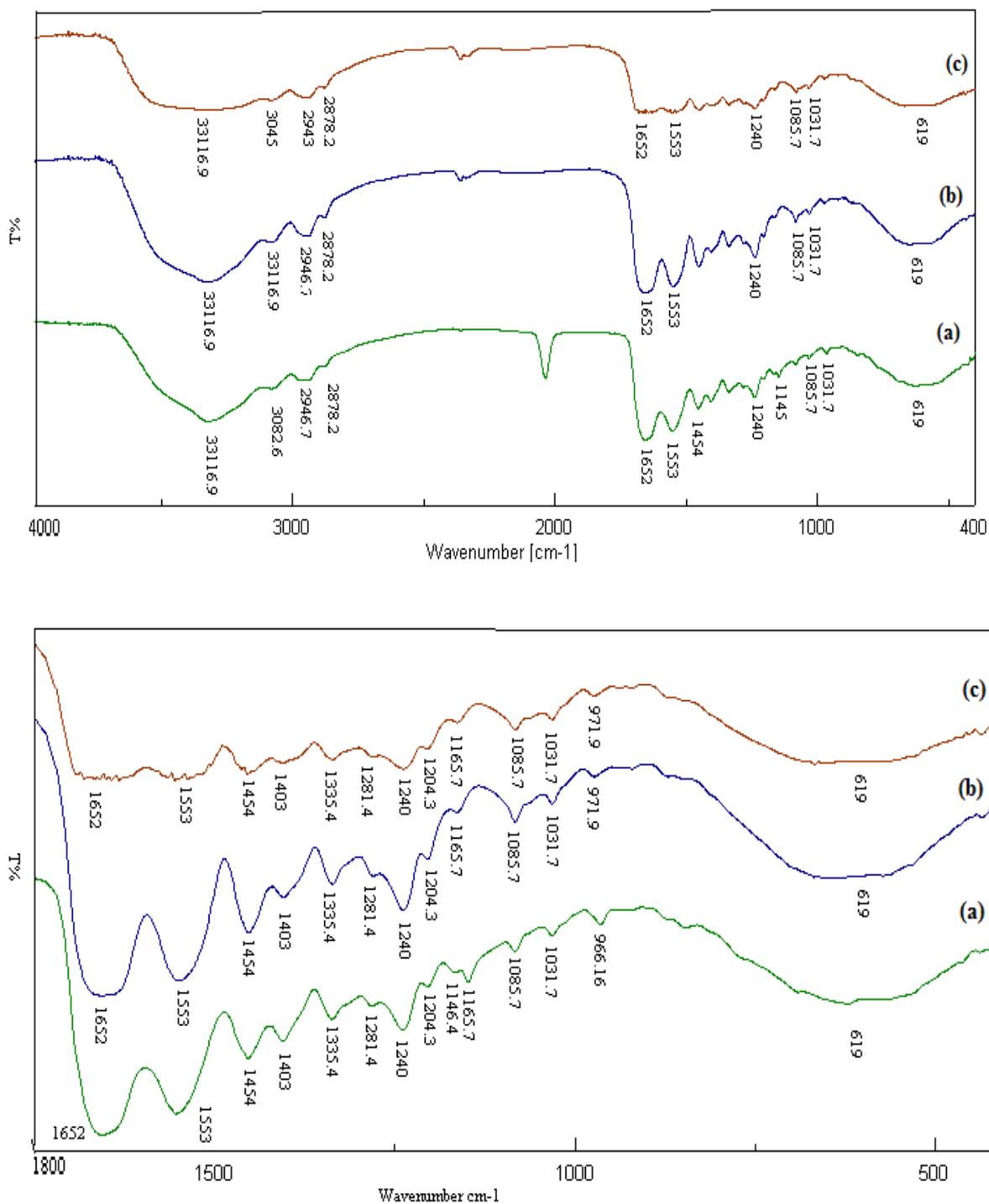


Figure III.12: Spectres IR-TF de la (G/R)(85/15)% (a), (G/R)(85/15)% réticulée à 0.1 % (t=30min) (b) et (G/R)(85/15)% réticulée à 0.1 % (t=24h) (c) ; à pH neutre.

a.2. réticulation avec 2,5 % de GTA :

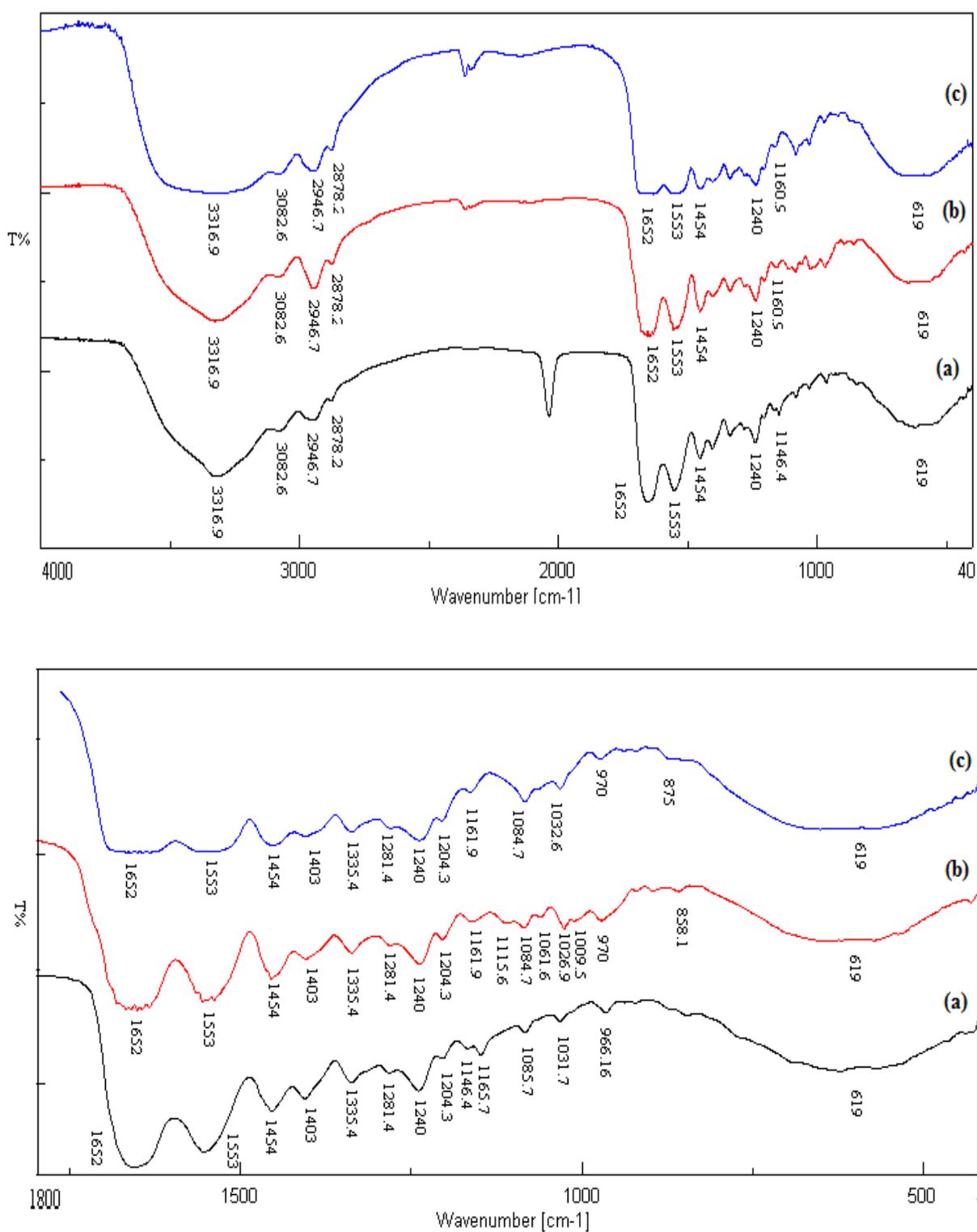


Figure III.13 : Spectres IR-TF de la (G/R)(85/15)% (a), (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=30min) (b) et (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=24h) (c) ; à pH neutre.

Le pic de C-H aliphatique qui était à 2946,7 cm^{-1} se déplace à 2878,2 cm^{-1} avec intensification. C'est une indication majeure que la réaction de réticulation, a eu lieu. Nous avons un élargissement et une diminution de l'intensité des pics dans la région 1652- 1553 cm^{-1} avec disparition du pic à 1146,4 cm^{-1} .

On observe l'apparition d'un pic dans la région 1115,6 cm^{-1} pour t =30 min alors qu'il a disparu pour t=24 h.

On remarque nettement l'effet de la réticulation surtout sur les intensités des pics et l'apparition d'autres pics. On explique ces changements par la modification chimique de la composition de la molécule mère, Ainsi l'intensification de la bande à 2946,7 cm^{-1} exprime la formation de groupe méthylène ($-\text{CH}_2-$).

b. dans un milieu acide :

b.1. réticulation 0,1 %GTA :

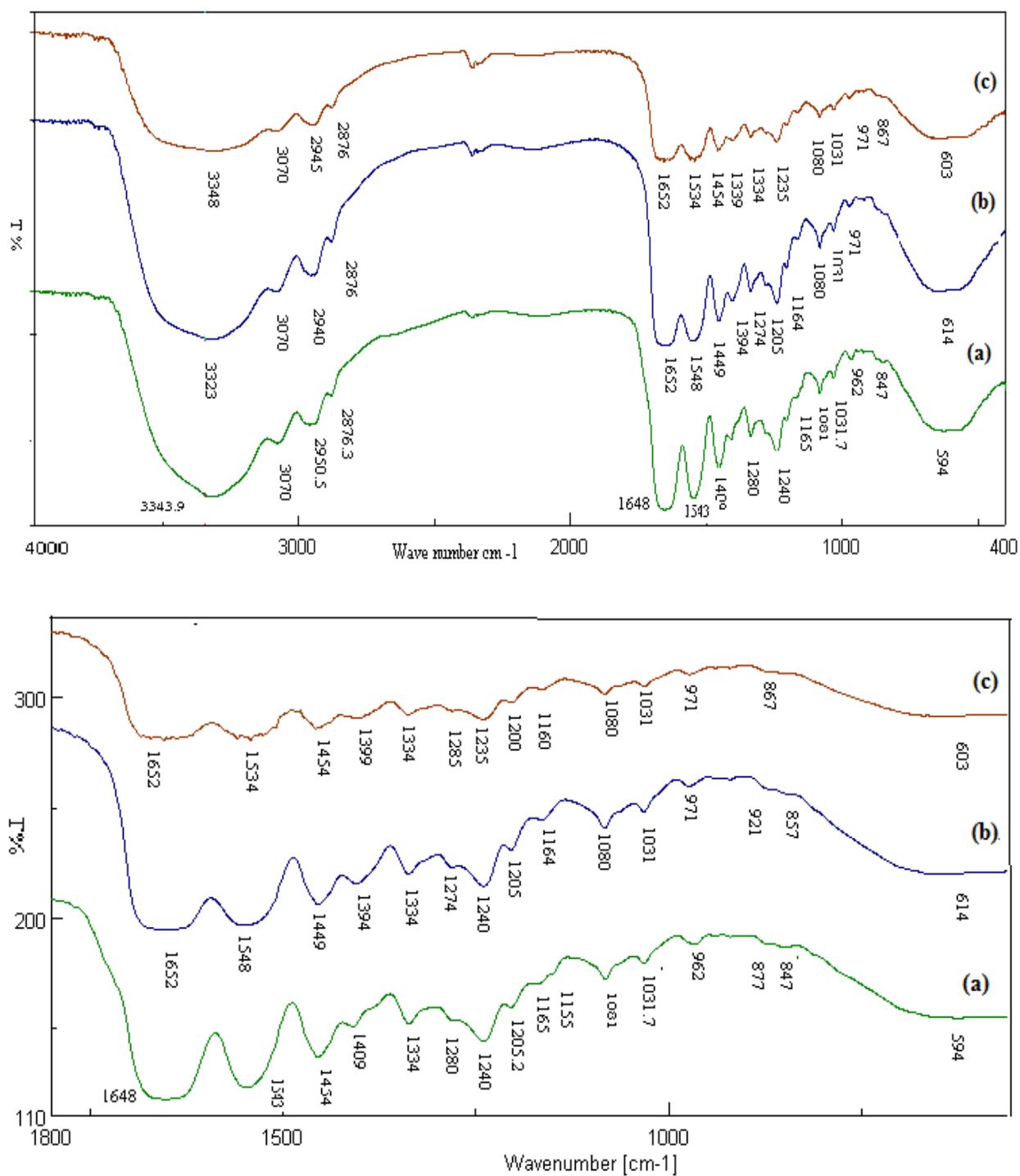


Figure III.14 : Spectres IR-TF de la (G/R)(85/15)% (a), (G/R)(85/15)% réticulée à à 0,1 % (t=30min) (b) et (G/R)(85/15)% réticulée à 0,1 % (t=24h) (c) ; à pH acide.

b.2. réticulation 2.5 %GTA :

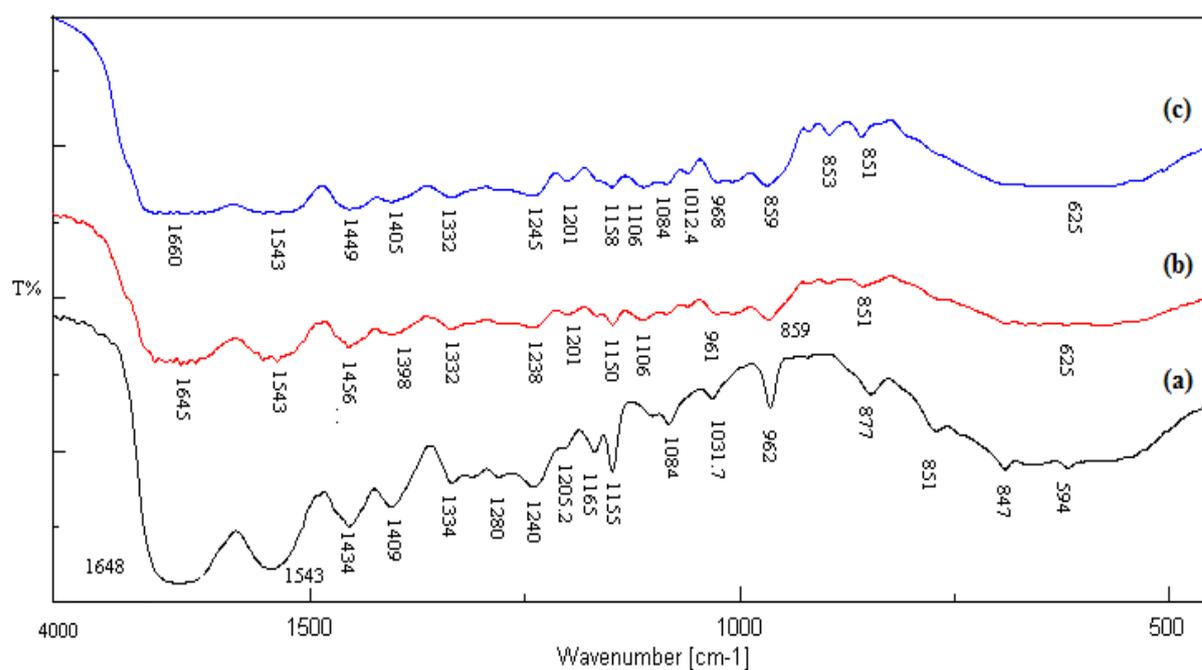
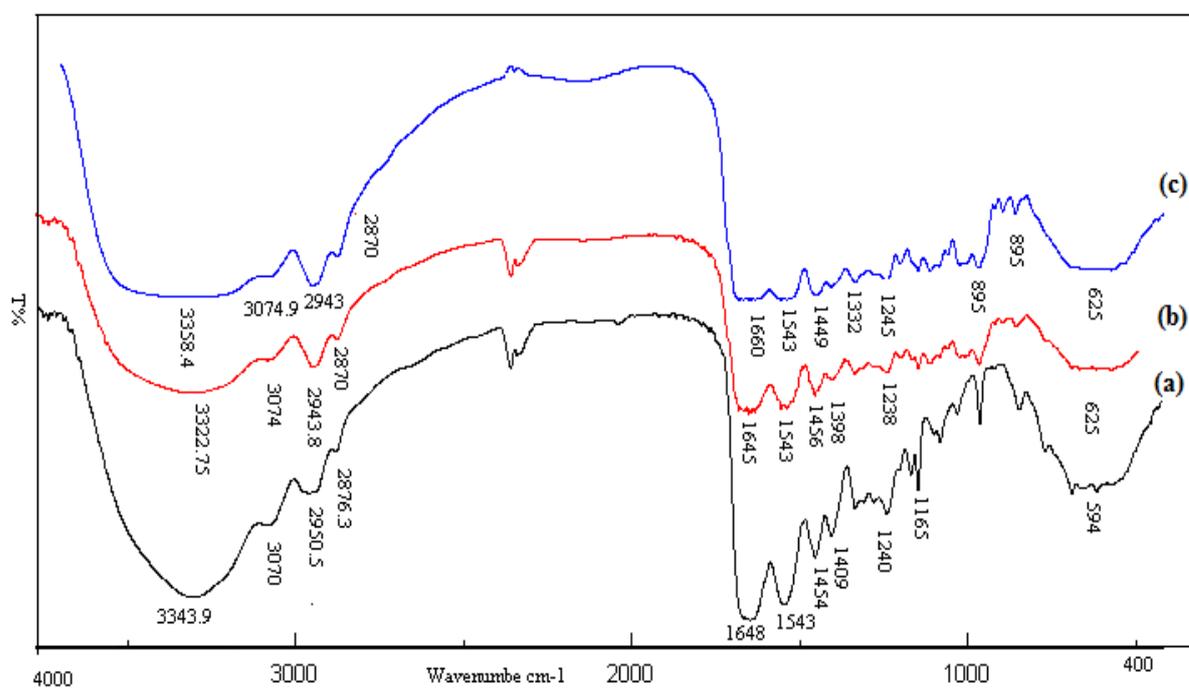


Figure III.15 : Spectres IR-TF de la (G/R)(85/15)% (a), (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=30min) (b) et (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=24h) (c) ; à pH acide.

c. Dans un milieu basique (pH=8,6) :

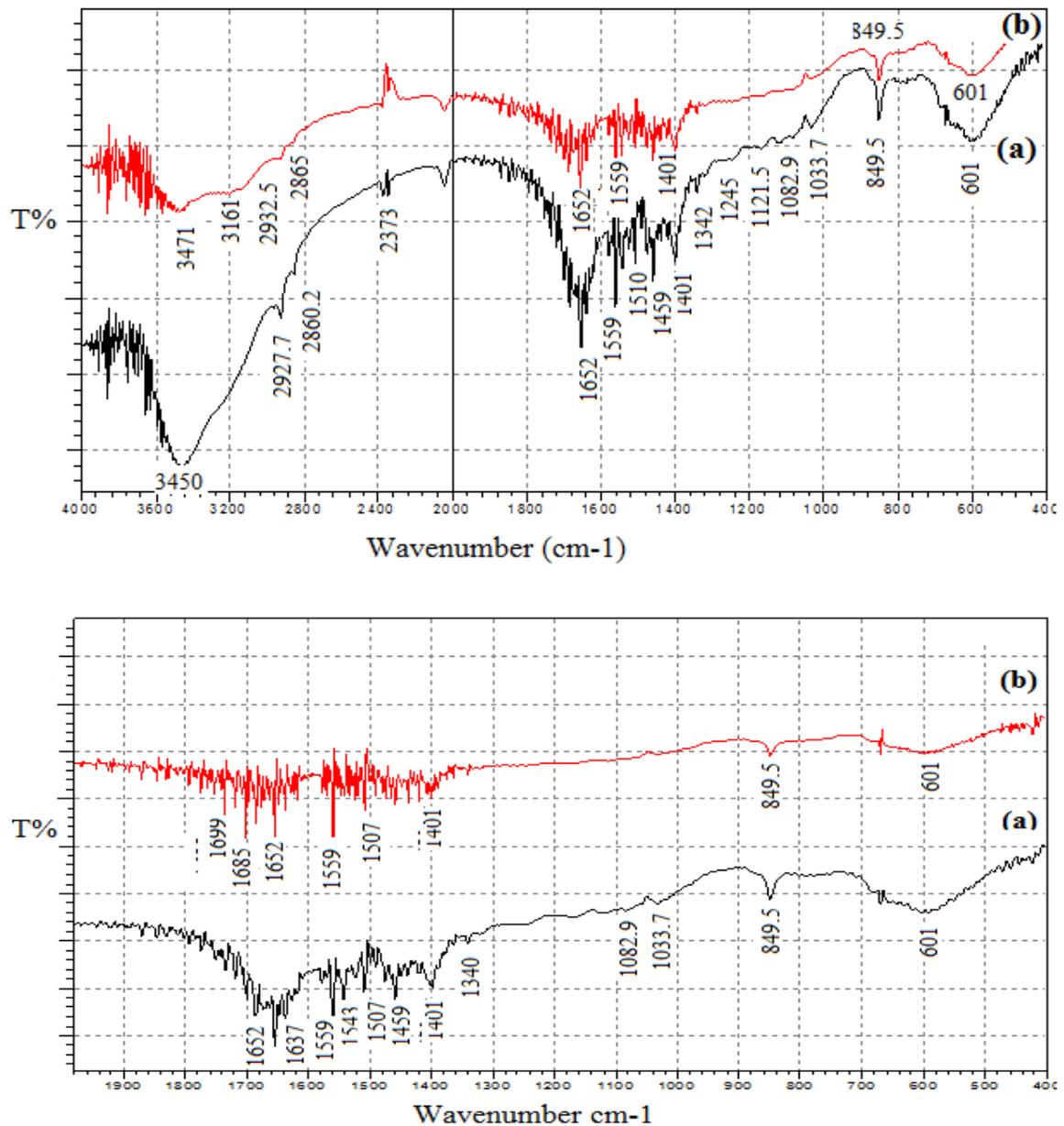
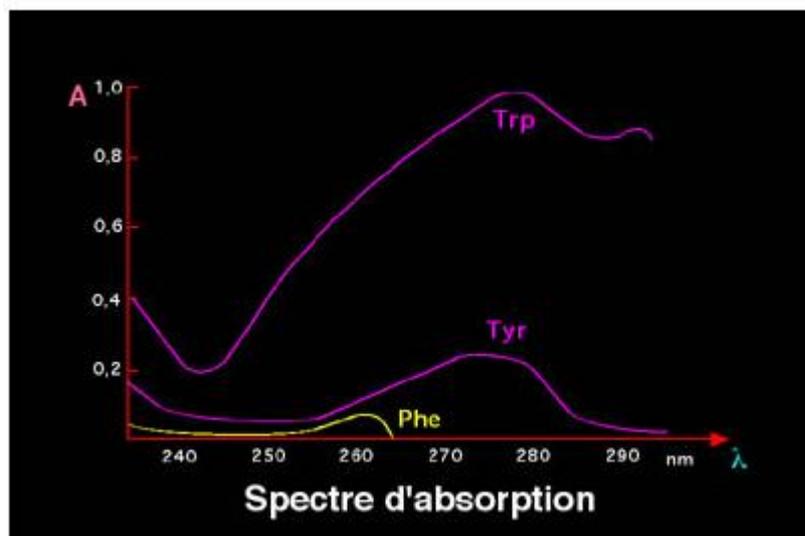


Figure III.16 : Spectres IR-TF de la (G/R)(85/15)% (a), (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=30min) (b) et (G/R)(85/15)% réticulée à 2,5 % (t=24h) (c) ; à pH basique.

III.2. Analyse par spectrophotométrie UV-VIS :

Les acides aminés absorbent dans l'ultraviolet au voisinage de 220 nm, à l'exception des trois acides aminés aromatiques (Try, Phe, Tyr) qui ont un deuxième pic d'absorption à une longueur d'onde plus élevée au voisinage de 280 nm (Holme, 1998).



L'absorption à 280 nm est due principalement aux noyaux phénols des tyrosines, parce que cet acide aminé est plus fréquent que le tryptophane, qui est pourtant beaucoup plus opaque à cette longueur d'onde. L'absorption de la lumière UV à 280 nm est caractéristique des protéines et sert à doser ces protéines lorsqu'elles sont en solution dans l'eau et qu'il n'existe pas d'autres molécules absorbant la lumière UV à cette longueur d'onde (acides nucléiques par exemple).

Il s'est avéré que, lors de ce test, la solubilité de la résorcine en fonction de pH varie. Cette solubilité est plus marquée en milieu basique qu'en milieu neutre ou acide. Aussi, nous avons des changements de couleurs de la résorcine en solution. Les solutions sont au départ, incolores dans l'eau distillée et deviennent ensuite après acidification du milieu marron clair, alors qu'en milieu basique nous avons un jaune clair qui se transforme rapidement en rouge brique.

1. Films à base de gélatine additionnée à la résorcine :

a . Avant la réticulation par le GTA :

On remarque qu'avant le changement du pH du milieu, l'ajout du résorcinol entraîne des apparitions de trois bandes d'absorption à $\lambda=252\text{nm}$, $\lambda=266\text{nm}$, $\lambda=281\text{nm}$, après acidification du milieu la disparition du bande d'absorption à 252 nm et l'intensité à 266 nm augmente. L'alcalinisation du milieu, entraîne la disparition des bandes d'absorption à 266,

281 nm, l'intensité du pic n'est pas atteinte et un déplacement bathochrome à 302 nm est observé (**Figure III.17**).

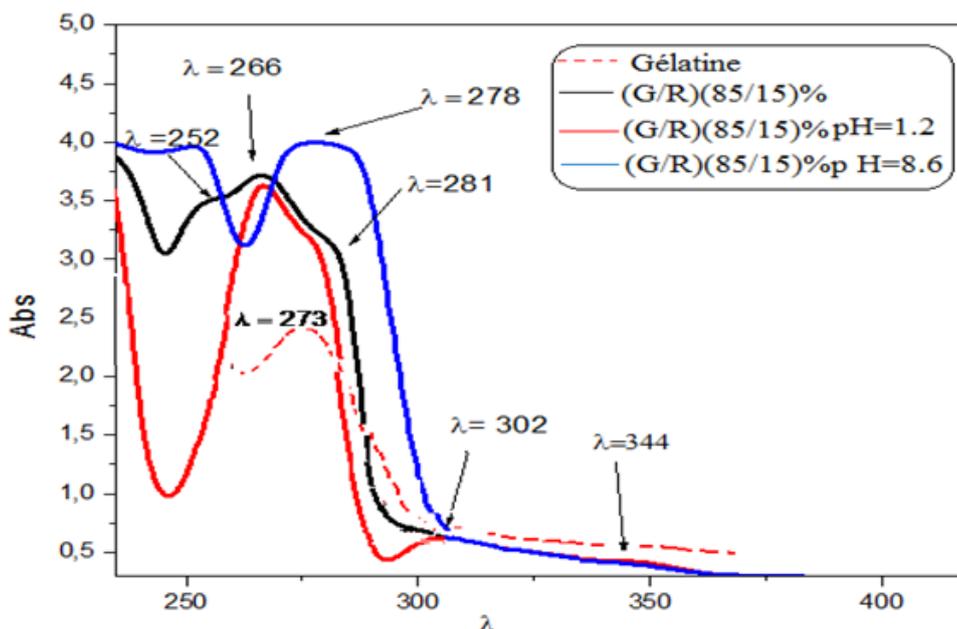


Figure III.17: Spectres d'absorption UV de la gélatine et le mélange de (G/R) (85/15)% dans différents milieux .

b. Après la réticulation par le GTA :

Etant donné que la glycine représente la plus forte teneur en acide aminé dans le cas de la gélatine (de l'ordre $\sim 27,2\%$), nous avons aussi mené notre étude sur le mélange glycine / résorcine d'une part.

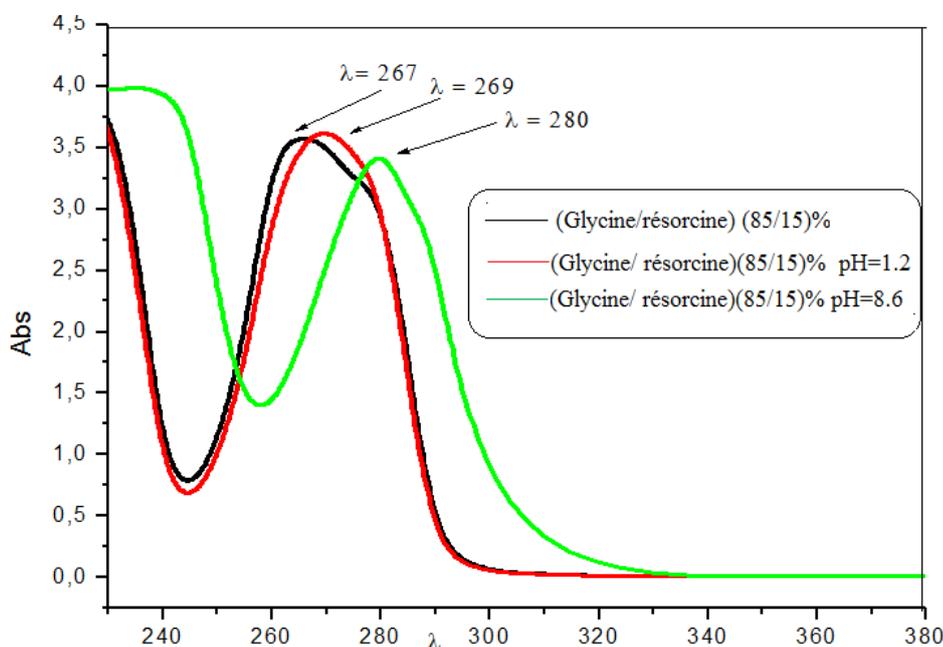
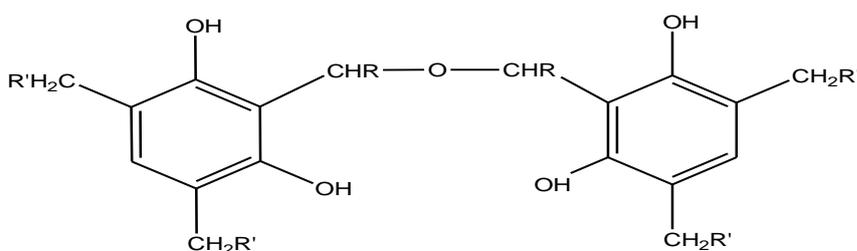


Figure III.18 : Spectres d'absorption UV de mélange de (glycine/ résorcine) dans différents milieux .

Le changement du pH du milieu, le mélange glycine+résorcine absorbe à 267 nm. Après acidification du milieu, L'intensité du pic n'est pas atteinte, seul un déplacement bathochrome de 2nm est observé. L'alcalinisation du milieu entraîne un shifting vers de plus de 13nm.

D'autre part, il faut noter que l'ajout de GTA polymérise le mélange et le solide ainsi obtenu est insoluble. Si on modifie la concentration du glutaraldéhyde, on obtient des spectres dont la longueur d'onde augmente avec la concentration du GTA (l'équivalent de 8nm), alors que pour l'intensité des pics, le phénomène est inverse (**Figure III.19**).

Le composé condensé qu'on peut proposer est la suivant :



Avec : R = chaîne liée au GTA , R' = -NH CH₂ COOH

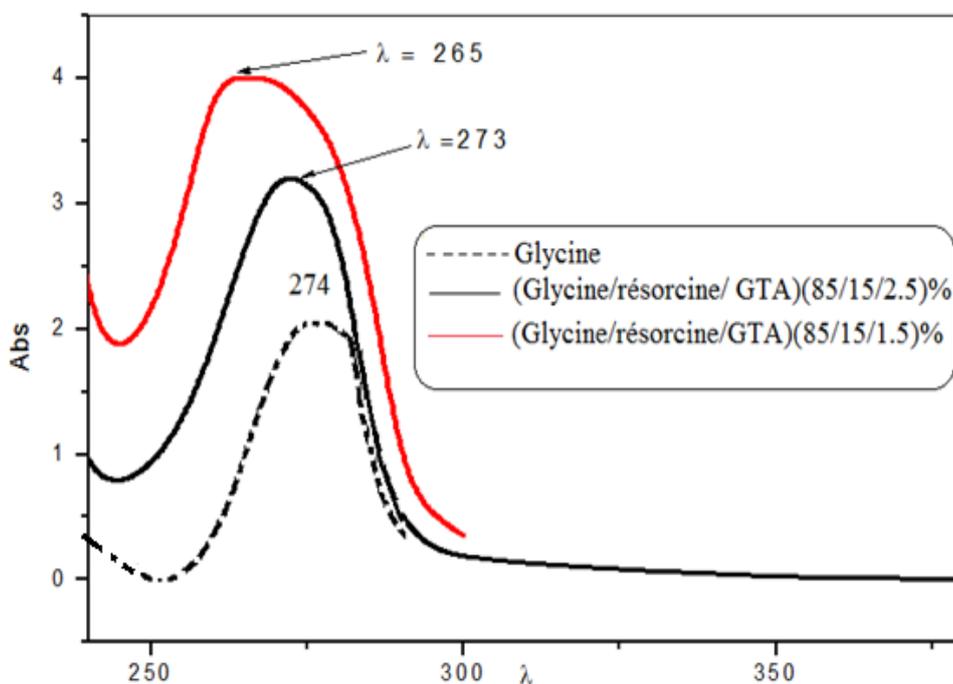


Figure III.19: Spectres d'absorption UV de la Glycine et le mélange de (Glycine /Résorcine) réticulés par le GTA.

III.3. Essais mécaniques de traction :

Les essais mécaniques de traction ont été réalisés sur des films ayant deux teneurs en eau différentes puisque cette dernière joue un rôle important dans le comportement de la gélatine, c'est un plastifiant (**Degenis, 1994**).

Cette teneur en eau a été calculée à partir d'un séjour de films à l'étuve à température 120°C d'une durée de 7 jours. L'humidité relative dans ce cas est de 15% ce qui correspond au départ de l'eau de surface.

1. Films à une teneur en eau égale à 15%

Les différents résultats sont représentés dans la **figure III.20** et le **tableau III.1**

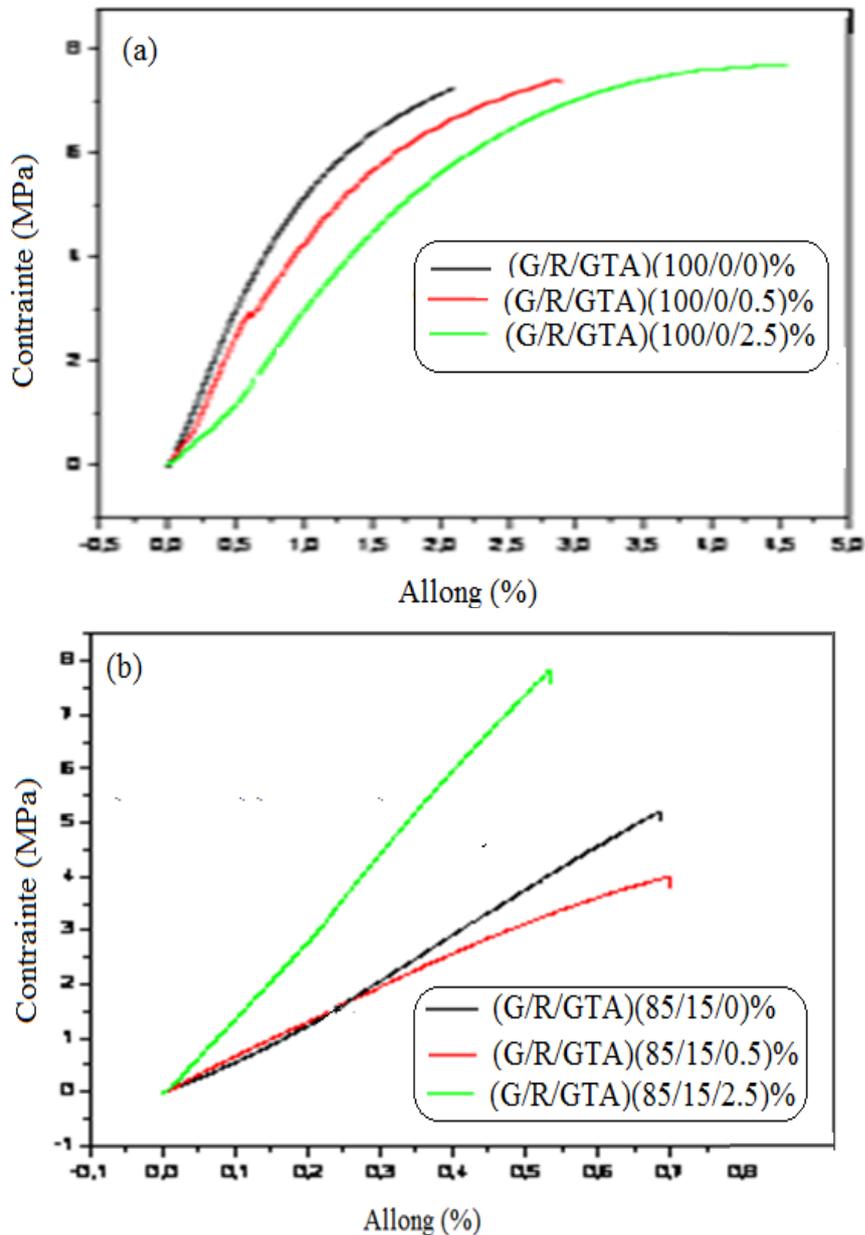


Figure III.20. Courbes contrainte –déformation des films de la gélatine (a), le mélange de (G/R) (85/15)% (b), à H.R.= 15%.

L'allure des courbes à HR =15% montre que les films de gélatine présentent des modules de Young allant de 470 Mpa jusqu'à 182 Mpa, 519 Mpa en 676 Mpa pour les films de gélatine seule et de mélange gélatine/ résorcine respectivement (**Tableau III.1**).

Sous l'action de forces de traction relativement faibles, les films subissent une déformation réversible donc le comportement est plastique sans seuil d'écoulement. Certains polymères cristallins présentent ce comportement avec une légère déformation dans le domaine plastique, ils sont caractérisés par un module faible et une déformation élevée. Par contre quand l'agent de réticulation augmente, le comportement passe vers une déformation elasto-visco-plastique. Si le degré de réticulation est plus élevé, la déformation de celle-ci entre dans phase irréversible qui peut se poursuivre jusqu'à la rupture, et cela se traduit par un module plus élevé et une déformation faible.

Une comparaison établie entre la G ; G/R ; G/R réticulé par le GTA montre que l'ajout de Résorcine n'affecte pas ou peu les caractéristiques des propriétés mécaniques de traction. Il y a seulement de légères augmentations de σ et de ϵ du mélange réticulé (**Figure III.20.b**)

Tableau III. 1. Variation des caractéristiques mécaniques (σ, ϵ, E) des films de gélatine (a), (G/R) (85/15) (%) (b) à H.R.= 15%

(a)

[GTA]	0	0,5	2,5
σ (MPa)	7,2	7,4	7,65
ϵ (%)	2,1	2,8	4,62
E (MPa)	470	267	182

(b)

[GTA]	0	0,5	2,5
σ (MPa)	5,1	3,9	7,6
ϵ (%)	0,8	0,69	0,52
E (MPa)	519	682	676

2. Films à une teneur en eau égale 65-72,5%

Pour ce cas de figure, la teneur en eau a été calculée comme suit :

$$\text{H.R.}(\%) = (M - M_0) / M * 100 (\%) + \text{H.R.}_1(\%)$$

Avec :

M : est la masse du film gonflé dans l'eau jusqu'à sa saturation.

M_0 : est la masse du film initialement préparé et séché à la température ambiante.

$H.R._1$: est l'humidité relative calculée précédemment et est égale à 15%.

Les différents résultats des caractéristiques mécaniques sont représentés dans la **Figure III.21** et le **tableau III.2**.

En présence de GTA, les σ_{max} et E augmentent, à l'opposé de l'allongement à la rupture ϵ_{max} qui diminue. Seulement, il faut noter qu'il y a quelques exceptions qui sont dues probablement au changement de structure du GTA en solution. Il faut souligner aussi que le σ_{max} ainsi que ϵ_{max} diminuent après ajout du résorcine, contrairement E qui augmente puis diminue.

Une comparaison réalisée entre la G ; G/R ; G/R réticulé par le GTA montre que l'ajout de Résorcine entraîne une diminution de la contrainte à la rupture et l'augmentation de ϵ_{max} par rapport au film de gélatine alors que le module de Young diminue après ajout de Résorcine et augmente après réticulation (**Figure III.21, Tableau III.2**).

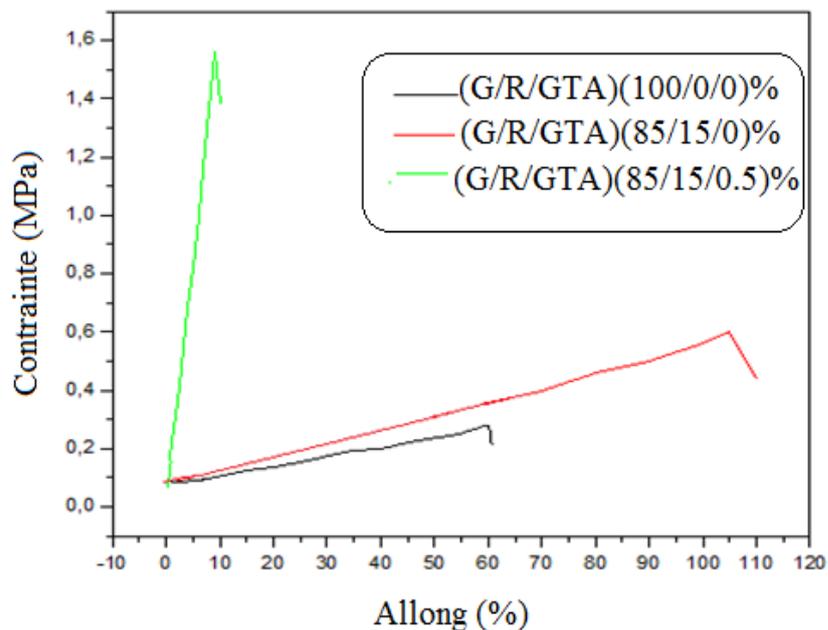


Figure III.21. Courbes contrainte –déformation des différents films à **H.R.= 65-72,5%**.

Tableau III.2. Variation des caractéristiques mécaniques (σ , ε , E) des films de gélatine, (G/R) (85/15)(%), (G/R)(85/15)(%) réticulés à **H.R.= 65-72,5%**.

	Gélatine	(G/R)(85/15) (%)	(G/R/GTA)(85/15/0.5) (%)
σ (MPa)	0,21	0,6	1,52
ε (%)	60	104	09
E (MPa)	2,86	2,12	11,22

III.4. Diffraction des rayons X :

Selon les différents travaux menés par **Miyasaka et al.**, (**Miyasaka et al.**, 1996), l'analyse par diffraction des rayons X a permis de quantifier la structure cristalline en triple hélice du collagène et notamment de la gélatine renaturée.

Il a été précisé qu'au niveau des diffractogrammes correspondants, les deux pics caractéristiques aux angles 2θ à environ 8° (avec la distance inter-réticulaire d_{101} ; $11,08 \text{ \AA}$) et à $19,86$ jusqu'à $21,5^\circ$ (d_{101} ; $4,40-4,21 \text{ \AA}$) sont directement attribués à la structure cristalline de la protéine. En outre, une étude réalisée par **Bigi et al.**, (**Bigi et al.**, 2004) a montré que le pic de diffraction qui apparait aux valeurs de 2θ égale à environ de 8° est lié directement au diamètre de la triple hélice et que son intensité est associée au taux de cette dernière.

Il a aussi été démontré que l'addition d'additifs qui sont en général, des polyols tels que le tannin (**Peña et al.**, 2010), le glycérol (**Rivero et al.**, 2009) affecte le plus souvent par une diminution l'intensité du premier pic à 8° , d'une part.

D'autre part, d'après **Yakimets et al.** (**Yakimets et al.** 2005), le premier pic de la gélatine correspond à une teneur de 13% du taux en triple hélice. Ce qui va nous servir de référence pour nos calculs.

1. Effet du résorcinol : (Figure III.22 et tableau III.3)

L'addition de résorcinol induit une baisse fixe du premier angle de diffraction qui était à $8,06^\circ$ dans le cas de la gélatine seule, à $2\theta = 7,36^\circ$ correspondant ainsi à une augmentation du diamètre inter réticulaire de la triple hélice d'une part.

D'autre part, l'intensité des pics qui sont directement liés aux taux de triple hélice baisse au fur et à mesure que la quantité de résorcinol augmente à l'exception du système (G/résorcine)(90/10)(%).

En accord avec **Langmaier *et al.*, (Langmaier *et al.*, 2008)** et **Rivero *et al.*, (Rivero *et al.*, 2009)**, ce phénomène de changement structural et de diminution de cristallinité (disparition du premier pic dans le cas du mélange (G/résorcine)(85/15)(%)) est attribué à l'interaction entre le biopolymère et le polyphénol.

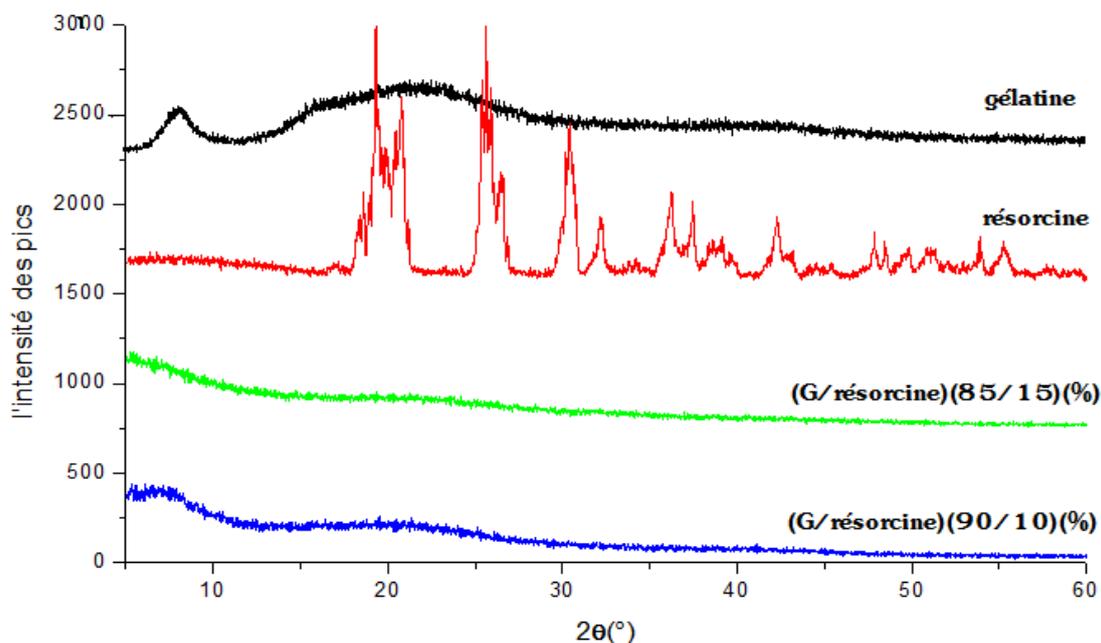


Figure III.22 : Diffractogramme des rayons X de la gélatine ; le résorcinol, (G/R) (85/15)(%) et (G/résorcine) (90/10)(%).

Tableau III.3 :Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de la gélatine, (G/R) (90/10)(%) et (G/R) (85/15)(%)

Composition	2θ (°)	d (Å°)	Teneur en triple hélice(%)
Gélatine	8,06	10,97	9,13
	22,12	4,01	-
	43,54	2,07	-
(G/résorcinol)(90/10)(%)	7,36	11,29	15,2
	20,67	4,04	-
	41,93	2,02	-
(G/résorcinol)(85/15)(%)	-	-	-
	21,55	3,87	-
	-	-	-

2. Effet du glutaraldéhyde :

a. Sur les films de gélatine : (Figure III.23 et tableau III.4)

L'ajout de l'agent de réticulation provoque la diminution de l'intensité du pic à $2\theta = 8,06^\circ$, et par conséquent, le taux de la triple hélice, sans que la valeur de 2θ ne soit atteinte.

Il a été constaté que, pour 1% de GTA, le pic a complètement disparu. Cela peut être expliqué par le fait que la structure du GTA devient de plus en plus complexe en milieu aqueux. Et d'ici, les molécules volumineuses formées vont s'incruster de telle façon que la triple hélice disparaît complètement.

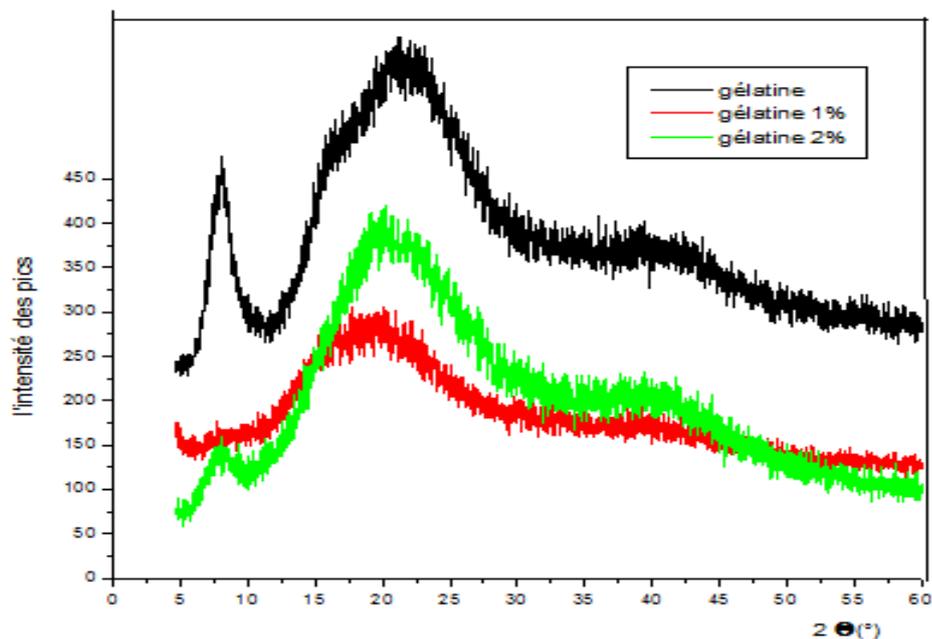


Figure III.23 : Diffractogramme des rayons X de la gélatine ; gélatine 1% et gélatine 2%

Tableau III.4 : Le diamètre inter- réticulaire et la teneur en triple hélice de la gélatine, gélatine 1% et gélatine 2%.

Composition	2θ (°)	$d_{101}(A^\circ)$	Teneur en triple hélice(%)
Gélatine	8,06	10,97	9,13
	22,12	4,01	-
	43,54	2,07	-
Gélatine réticulée à 1% de GTA	-	-	-
	19,07	4.64	-
	40,76	2.21	-
Gélatine réticulée à 2% de GTA	8,09	10,92	4,92
	20,25	4,4	-
	42,67	2,11	-

b. Sur les films de gélatine additionnée au résorcine : (Figure III.24 et tableau III.5)

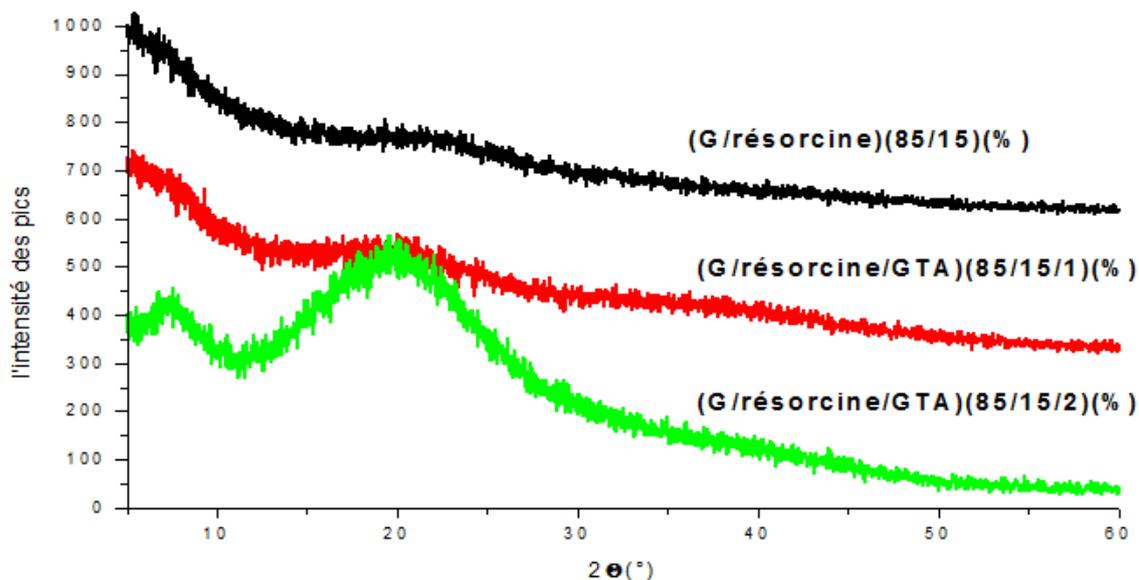


Figure III.24 : Diffractogramme des rayons X de (G/R)(85/15)(%), (G/R/GTA)(85/15/1)(%) et (G/R/GTA)(85/15/2)(%).

Tableau III.5 : Le diamètre inter-réticulaire et la teneur en triple hélice de (G/R)(85/15)(%), (G/R/GTA)(85/15/1)(%) et (G/R/GTA)(85/15/2)(%).

Composition	2θ (°)	d ₁₀₁ (Å)	Teneur en triple hélice(%)
(G/Resorcine)(85/15)(%)	-	-	-
	21,55	3,87	-
	-	-	-
(G/Resorcine)(85/15)(%)1%	8,43	9,86	11,39
	20,31	4,11	-
	38,68	2,18	-
(G/Resorcine)(85/15)(%)2%	7,46	11,14	14,21
	19,88	4,2	-
	40,51	2,09	-

Dans le cas des mélanges de gélatine/résorcine (90/10)% réticulés à 1%, les pics caractéristiques de la gélatine disparaissent en présence de pics de la résorcine. Le taux d'hélicité devient alors soit nul soit avoisinant les faibles valeurs (~ 1.3 %) (**Tableau III.6**).

Tableau III.6 : Le diamètre inter réticulaire et la teneur en triple hélice de la (G/R) (90/10)(%) et (G/R/GTA)(90/10/1)(%).

Composition	2θ (°)	$d_{101}(A^\circ)$	Teneur en triple hélice(%)
(G/Resorcine)(90/10)(%)	7,36	11,29	15,2
	20,67	4,04	-
	41,93	2,02	-
(G/Resorcine)(90/10)(%) à 1% GTA	6,8	12,22	13,47
	20,33	4,10	-
	41,39	2,05	-

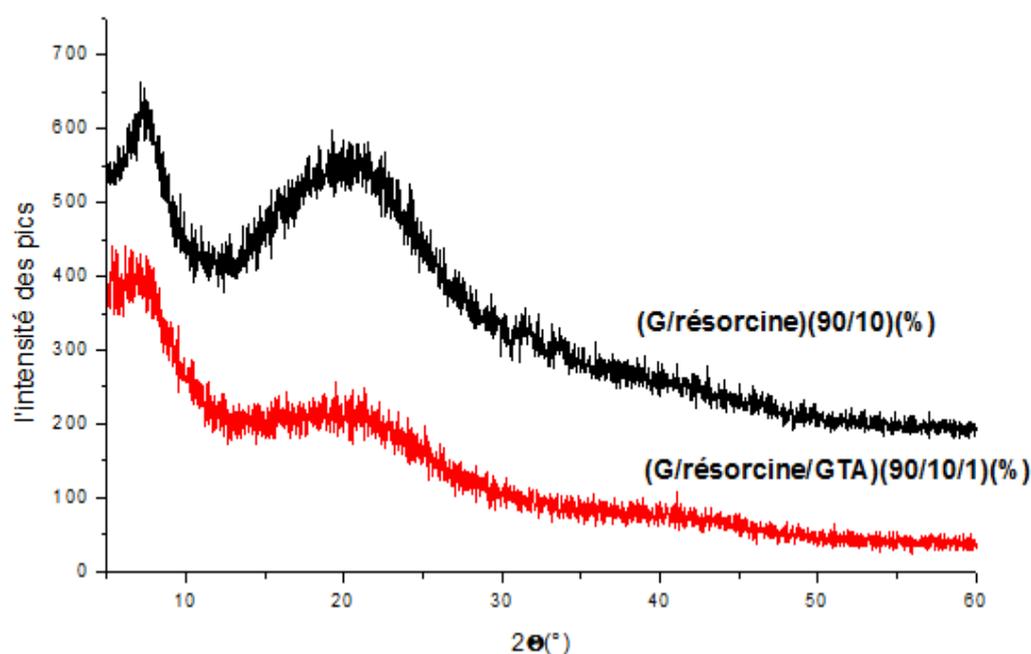


Figure III.25: Diffractogramme des rayons X de (G/R)(90/10)(%) et (G/R/GTA)(90/10/1)(%).

III.5. Etude thermique par la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) :

1. Effet de résorcine :

Les résultats trouvés par **Bigi et al.**, (**Bigi et al.**, 2001) ont montré que la température de dénaturation de gélatine augmente avec le taux de réticulation par le GTA. La T_g passe de $43C^\circ$ pour la gélatine seule à $71C^\circ$ pour la gélatine réticulée à 2.5% de GTA. Contrairement à l'enthalpie ΔH qui diminue au fur à mesure que la concentration de GTA augmente.

L'endotherme qui apparaît au cours du premier scan est attribué à la transition hélice pelote qui est une transition du premier ordre. Lorsque le film de gélatine est chauffé au-delà de cet endotherme de fusion, son comportement est assimilable à celui d'un plastique fondu. La trempe que l'on fait subir à l'échantillon à la fin du premier scan permet de figer le

matériau dans un état amorphe, expliquant la disparition de l'endotherme de fusion au cours du second scan (Marshall et Petrie, 1980 ; Slade et Levine, 1987). Il faut noter que tous les pics obtenus sont endothermiques et centrés. Ils ont été associés à la transition de la structure hélice en pelote de la gélatine. Ce qui traduit un déplacement vers une stabilité thermique (rupture exothermique des liaisons covalentes établies avec le GTA et des ponts hydrogène avec l'eau et/ou interchaines).

Selon littérature, sur les films à base de gélatine – tanin après une étude thermique par DSC il y a une diminution de ΔH en présence du tanin à cause du caractéristiques de la structure hélice de gélatine et la création d'un pont hydrogène par l'interaction entre le groupe hydroxyle de tanin et la gélatine, par contre la T_g augmente à cause de l'augmentation des mobilités des chaînes de gélatine. La stabilité hydrothermique de la gélatine traité avec un polyphénol dépend non seulement de la force des interactions polyphénols – gélatine mais aussi l'uniformité de la distribution des molécules polyphénoliques dans les fibrilles de gélatine.

La résorcinol existe sous deux formes (α , β) (Kofler, 1943), leurs points de fusion apparait sur le thermogramme à 108 et 110 °C respectivement .

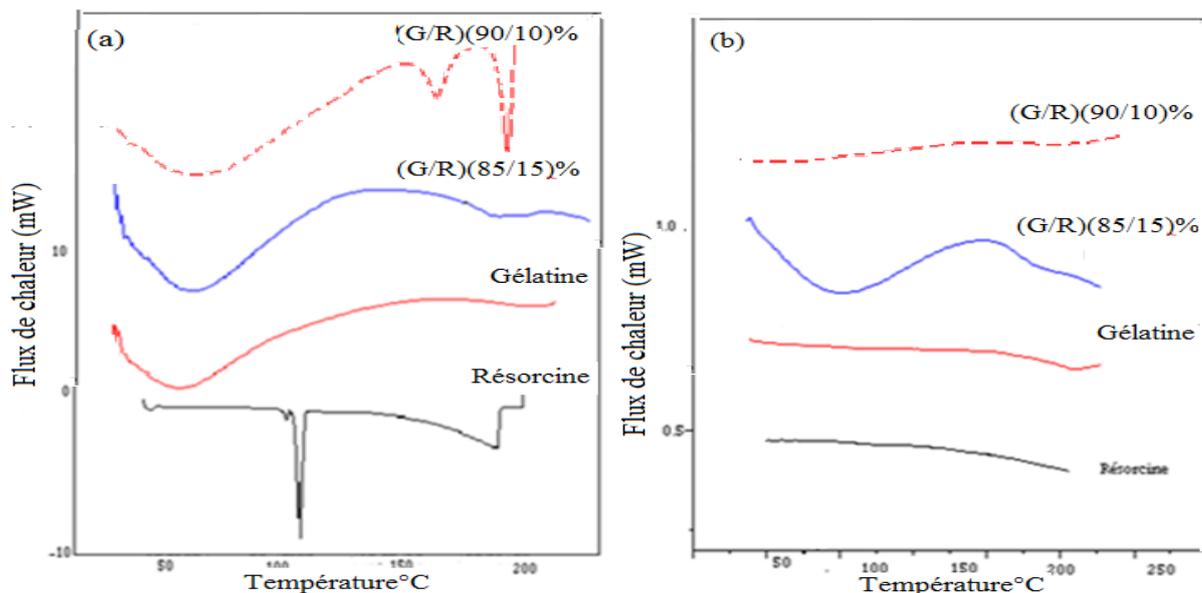


Figure III.26 : Thermogrammes de DSC de la gélatine, la résorcinol et le mélange (G/R) non réticulé ; (a): 1^{er} scan; (b): 2^{ème} scan.

Tableau III.7 : Les valeurs des Tg, Tf et ΔH de gélatine, résorcine et le mélange .

Films	Tg(C°)	Tf (C°)	ΔH (J/g)
Gélatine	45.28	59.35	12.42
Résorcine	-	α=108°C β=110°C	-
(G/R)(85/15)%	61.91	91.069	18.65
(G/R)(90/10)%	63.4	101.02	20.1

2. Effet du glutaraldéhyde :

a. Sur les films de gélatine :

Contrairement à l'enthalpie ΔH qui diminue au fur à mesure que la concentration de GTA augmente.

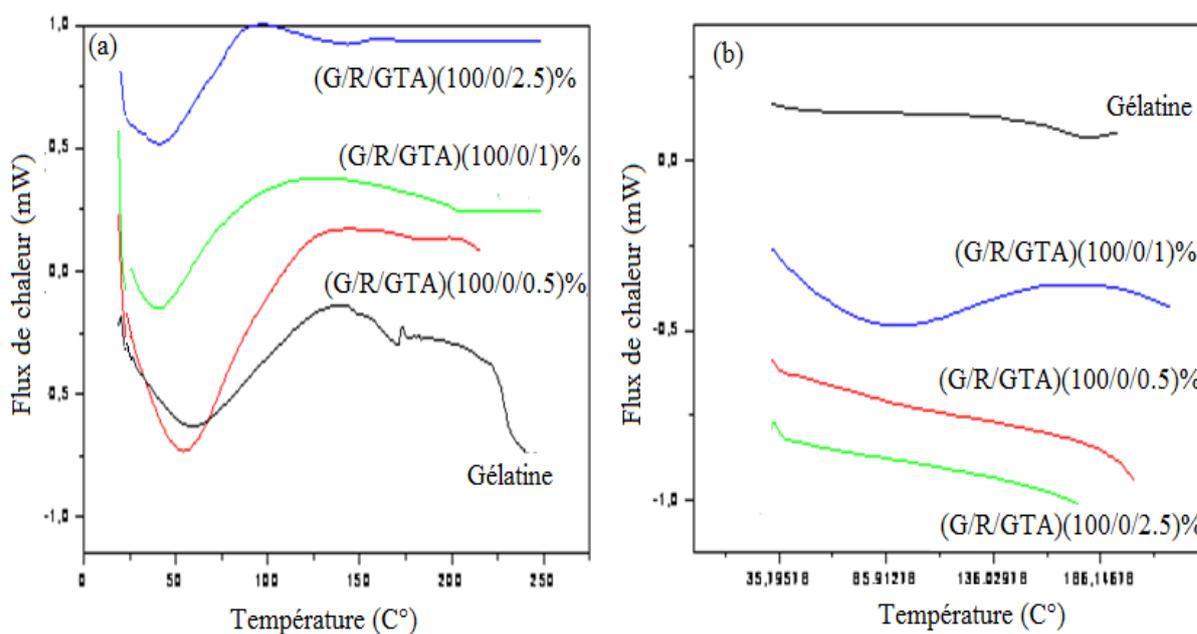


Figure III.27 : Thermogrammes de DSC de films de Gélatine réticulés

(a): 1^{er} scan ; (b): 2^{ème} scan.

Tableau III.8 : Les valeurs des Tg, Tf et ΔH de gélatine et gélatine réticulée.

Films	Tg(C°)	Tf (C°)	ΔH(J/g)
(G/GTA)(100/0)%	45,28	59,35	12,42
(G/GTA)(100/0.5)%	46,14	58,03	9,4
(G/GTA)(100/1)%	61,11	57,009	7,5
(G/GTA)(100/2.5)%	70,34	75,27	6,39

b. Sur les films de gélatine additionnée à la résorcine :

De même que pour la gélatine additionnée à la résorcine il a une diminution de T_g et l'augmentation de T_f et ΔH (voir le tableau III.3)

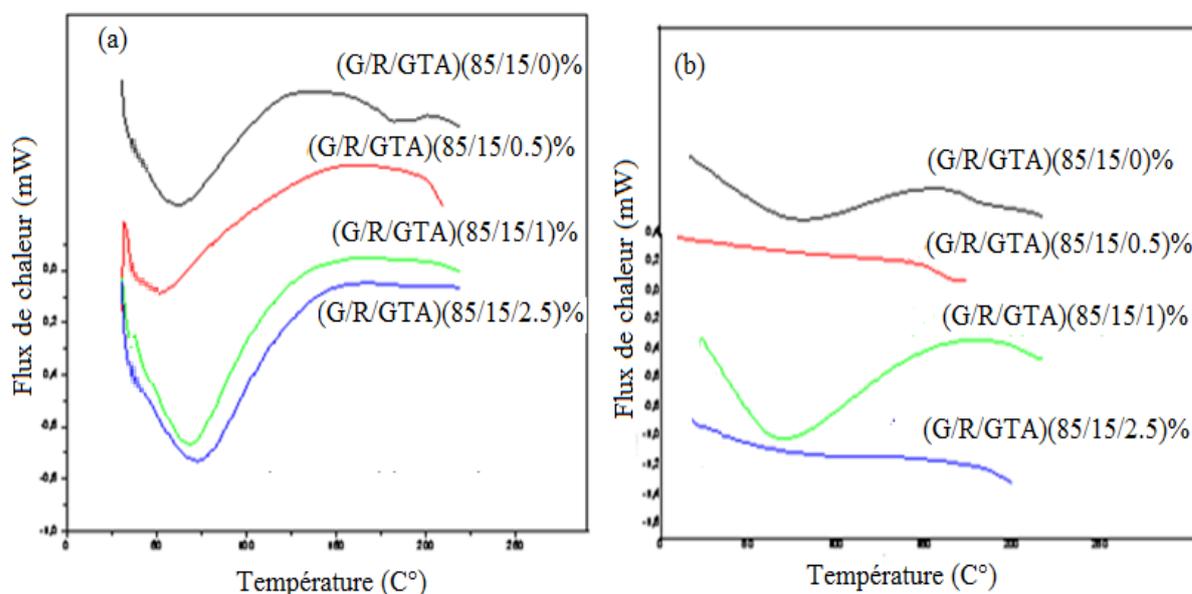


Figure III.28 : Thermogrammes de DSC de films de mélange de (G/R) (85/15)% réticulé
(a) : 1^{er} scan ; (b) : 2^{ème} scan.

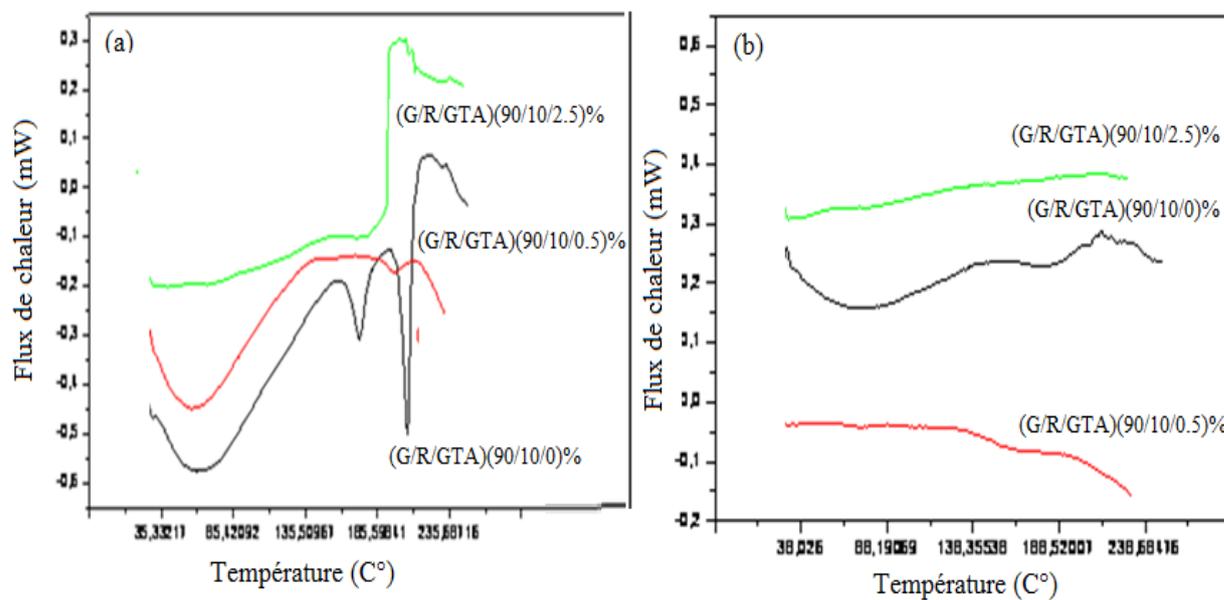


Figure III.29 : Thermogrammes de DSC de films de mélange de (G/R) (90/10)% non réticulé
(a) : 1^{er} scan ; (b) : 2^{ème} scan

Tableau III.9 : Les valeurs des Tg, Tf et ΔH d'un mélange (G/R).

Film	Tg(C°)	Tf (C°)	$\Delta H(J/g)$
(G/GTA)(100/0)%	45.28	59.35	12.42
(G/GTA)(100/0.5)%	46.14	58.03	9.4
(G/GTA)(100/1)%	61.11	57.009	7.5
(G/GTA)(100/2.5)%	70.34	75.27	6.39
(G/R/GTA)(85/15/0)%	61.91	91.06	18.65
(G/R/GTA)(85/15/0.5)%	60.48	90.52	43.027
(G/R/GTA)(85/15/1)%	56.99	86.12	32.42
(G/R/GTA)(85/15/2.5)%	55.58	60.38	4.26
(G/R/GTA)(90/10/0)%	63.4	101.02	20.1
(G/R/GTA)(90/10/0.5)%	52.81	61.95	1.38
(G/R/GTA)(90/10/2.5)%	54	62.2	7.1

Ces pics endothermiques sont dus à la rupture de la liaison hydrogène contrairement au réseau réticulé dont un pic endothermique faible ou négligeable. La diminution de l'enthalpie de transformation de l'hélice en pelote lors de l'ajout de GTA est attribuée à l'extension de la formation du réseau réticulé qui se rompt exothermiquement.

III.6. Gonflement :

En milieu aqueux, la pénétration de l'eau dans la matrice polymère peut se traduire par la plastification de la matrice ou encore le gonflement. Les molécules d'eau peuvent pénétrer dans l'édifice moléculaire du polymère, détruisant localement les interactions entre les chaînes, augmentant ainsi la mobilité. Ceci peut conduire à des réarrangements morphologiques importants en présence de contraintes mécaniques (**Figure III.30**).

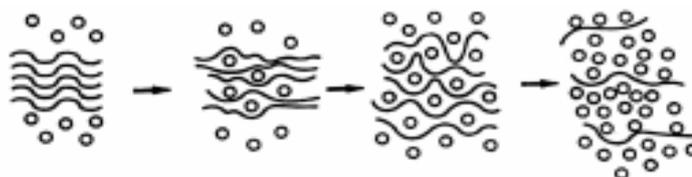


Figure III.30 : Schématisation de la pénétration d'un solvant à l'intérieur d'un système polymère.

Ce phénomène réversible apparaît lorsque les molécules d'eau absorbées brisent les liaisons secondaires entre les groupements polaires voisins et établissent des liaisons hydrogènes avec eux. Elles détruisent alors partiellement la cohésion mécanique du réseau qui

était assurée par ces liaisons secondaires et augmentent la mobilité moléculaire. Le glissement des chaînes macromoléculaires est ainsi facilité et il provoque une baisse de la température de transition vitreuse (**Fushinit T, 1997**).

Cette étude a été faite selon différents paramètres :

- en fonction de la concentration de glutaraldéhyde ;
- selon les formulations étudiées en (Gélatine/ Résorcine) ;
- en fonction de pH du milieu ; et enfin
- en faisant varier la température (à température ambiante et à $T = 37^{\circ}\text{C}$).

Tous les résultats obtenus du rapport de gonflement à l'équilibre sont données dans le (**tableau III.10**).

Tableau III.10 : Les valeurs des $R.G_{\max}$ de différentes compositions des films non réticulés et réticulés dans différents milieux à T_{amb} et $T = 37^{\circ}\text{C}$.

Composition	T_{amb}					$T = 37^{\circ}\text{C}$				
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
(G/R/GTA)(100/0/0)(%)	200	385,9	580,58	566,66	760	-	-	-	-	-
(G/R/GTA)(90/10/0)(%)	225	655,6	320,45	322,33	400	-	-	-	-	-
(G/R/GTA)(85/15/0)(%)	210	462,3	350,1	401	501	-	-	-	-	-
(G/R/GTA)(100/0/0,5)(%)	200	165,1	175,3	329,66	356,5	236	201	231	162	212
(G/R/GTA)(90/10/0,5)(%)	141,66	115	100,5	105,5	214,86	156	135	132	192	208
(G/R/GTA)(85/15/0,5)(%)	222	200	143	232	250	250	155	240	256	264
(G/R/GTA)(100/10/2,5)(%)	199,33	145	139,86	230,11	249,6	210	151	160	245	262
(G/R/GTA)(90/10/2,5)(%)	125,83	99,4	101,2	86,75	120,43	140	110	120	102	142
(G/R/GTA)(85/15/2,5)(%)	189,65	187	120	201	220	190,33	190	235	210	235

Il a été constaté :

- 1- qu'en l'absence d'agent réticulant, le biomatériau est plus gonflé et atteint un G_{\max} égal à 760 % dans le milieu 5 pour les films de gélatine.
- 2- L'ajout de résorcine à la gélatine entraîne une augmentation du taux d'absorption dans les deux milieux 1 et 2, donc la présence de résorcine favorise la prise en eau.

Mais à pH=1,2, pH=6,8 et pH =8,6 il a une diminution du taux de gonflement probablement à la présence des ions tels que le H^+ et Na^+ .

3- La réticulation, par contre, entraîne en général une diminution remarquable du G_{max} .

Les allures des différentes courbes sont les suivantes :

1. Films non réticulés :

a. Effet de la résorcine :

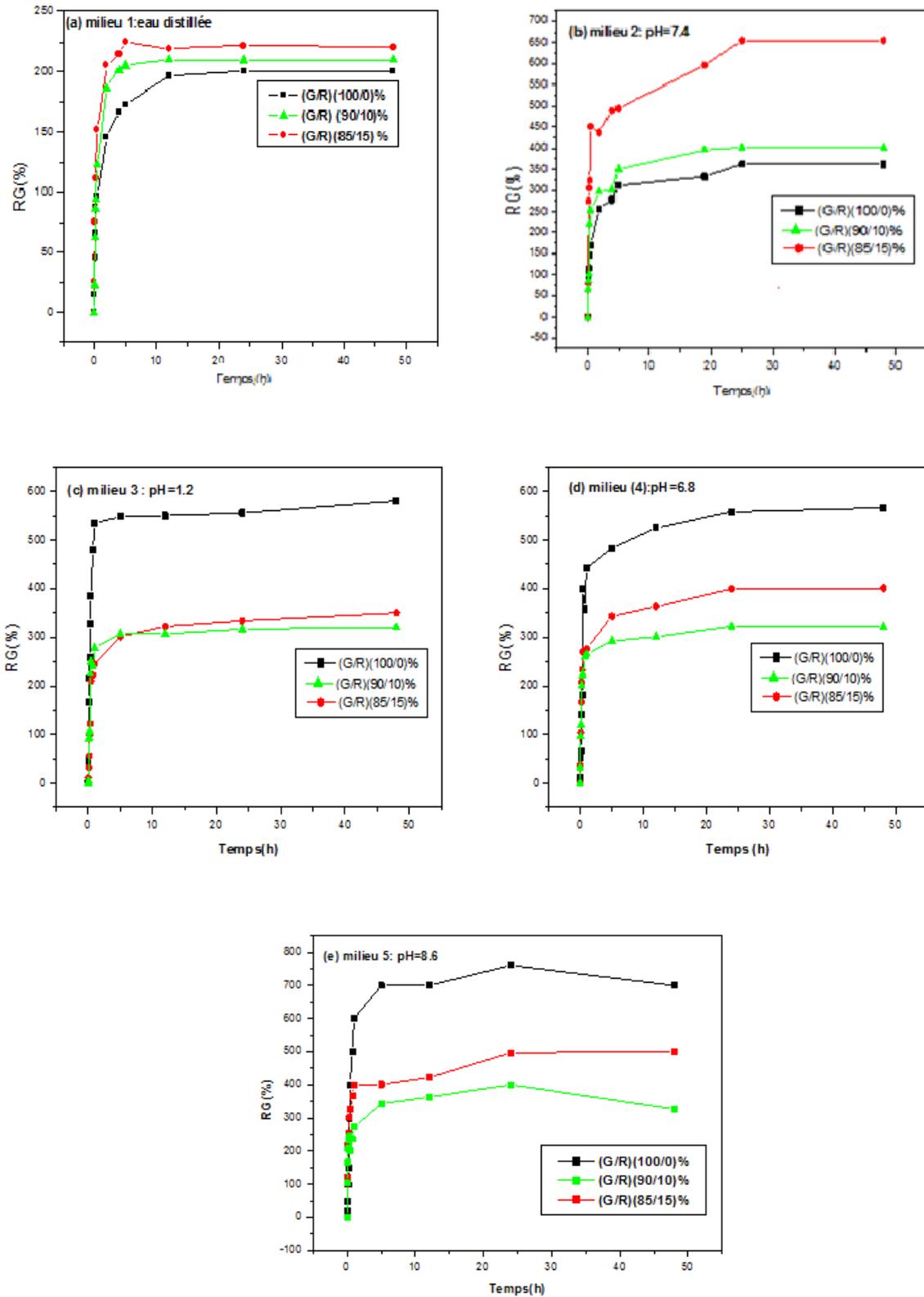


Figure III. 31 : Variation du RG des différents films non réticulés à T_{amb} en fonction du temps dans les différents milieux.

b. Effet du milieu

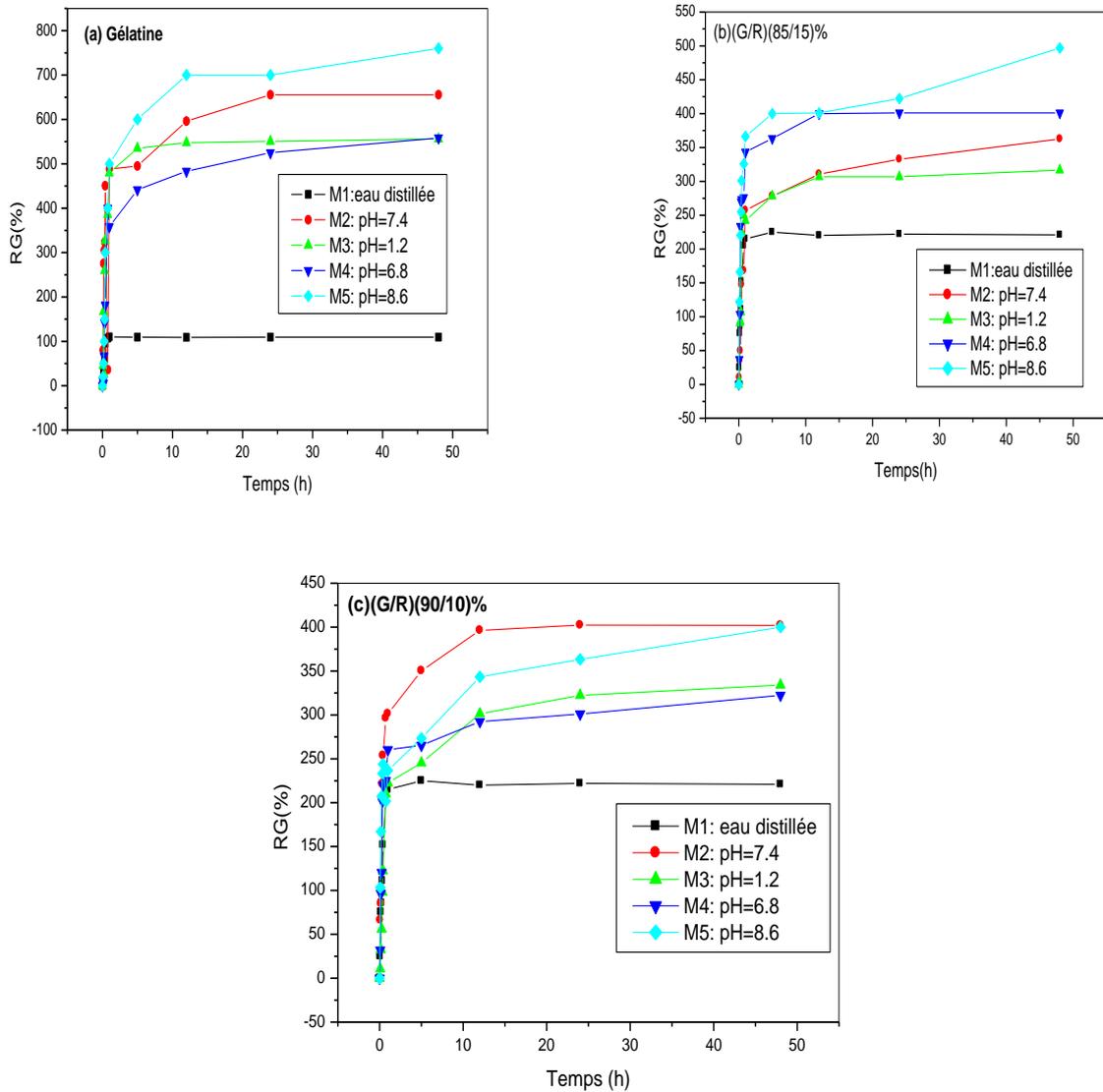


Figure III. 32 : Variation du R.G. des films non réticulés à T_{amb} en fonction du temps dans les différents milieux.

c. Effet de la température :

A température ambiante la mesure de taux de gonflement nous à été facile dans tous les milieux, mais à température $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, nous avons une solubilisation du film et cela quelque soit le milieu .

La gélatine seule et non réticulée se solubilisé au bout de 24 h alors qu'en présence de résorcine, les films conservent leur pouvoir absorbant allant jusqu'a 1 mois.

2. Films réticulés par le GTA

a. Effet de la résorcine

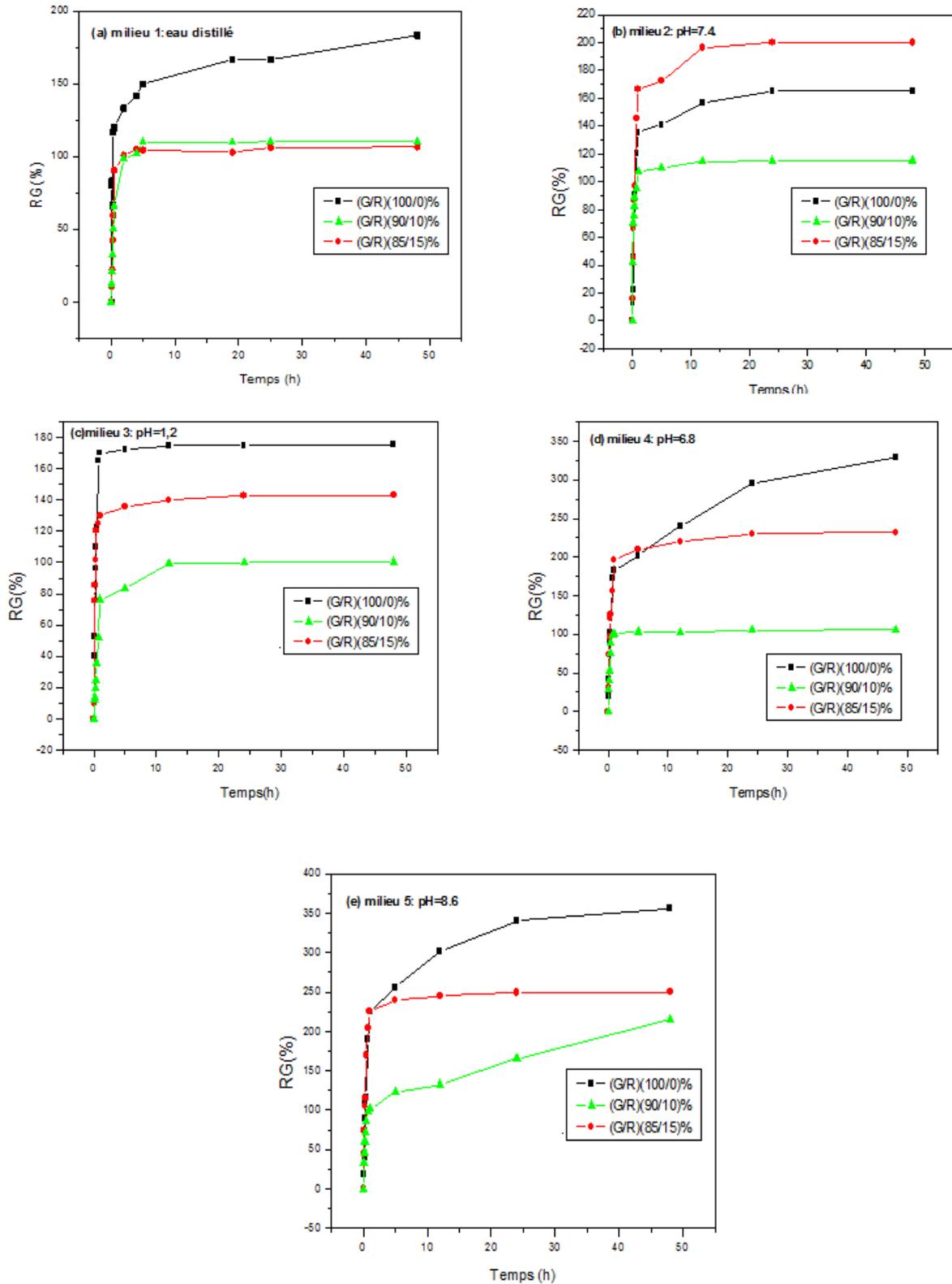


Figure III.33: Variation du R.G. des films réticulés à 0.5% de GTA à différents taux de résorcine à 25 °C dans les différents milieux.

c. Effet du milieu

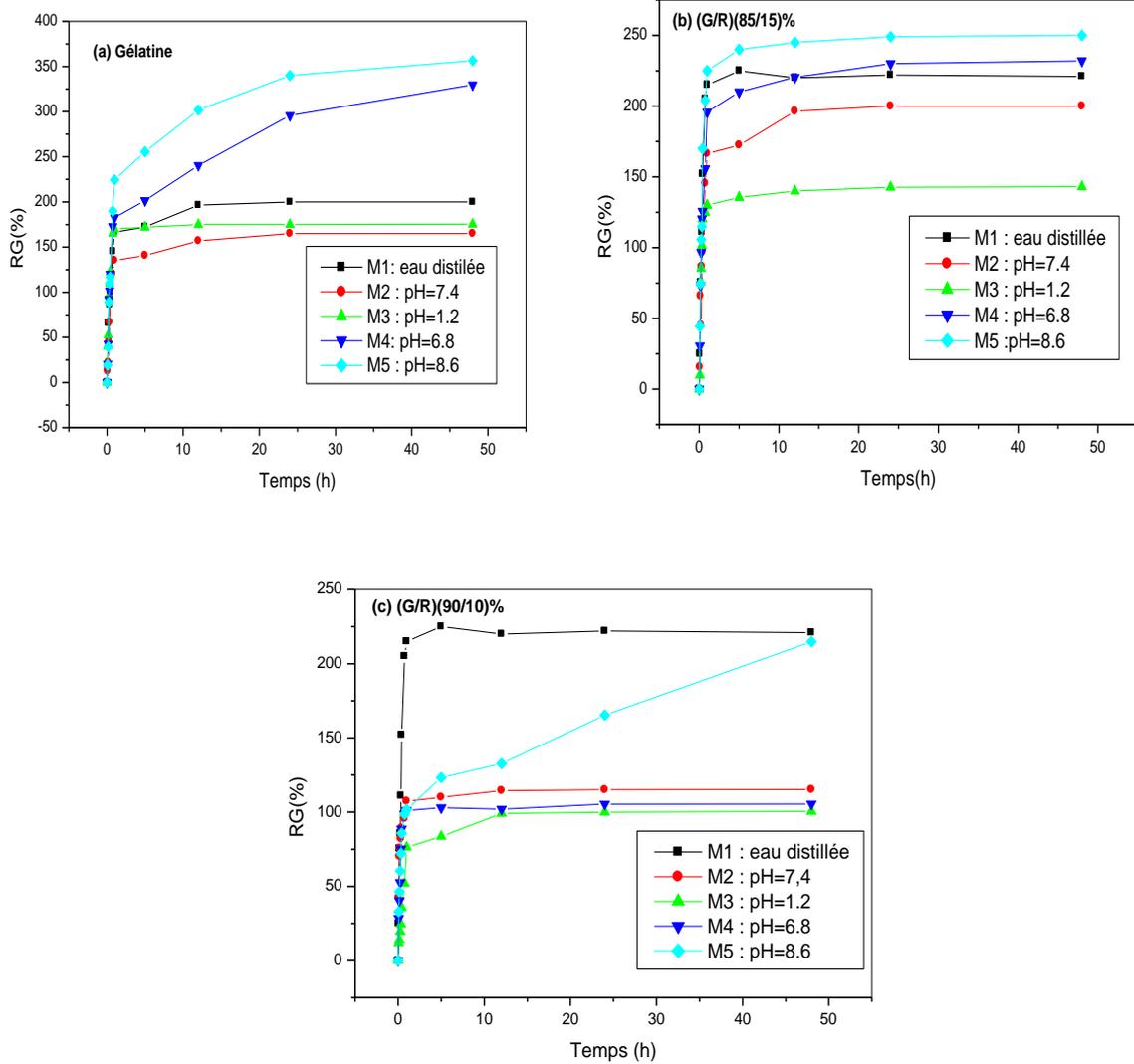


Figure III.34 : Variation du R.G. des films réticulés à 0.5% de GTA en fonction du temps dans les différents milieux.

d. Effet de la température :

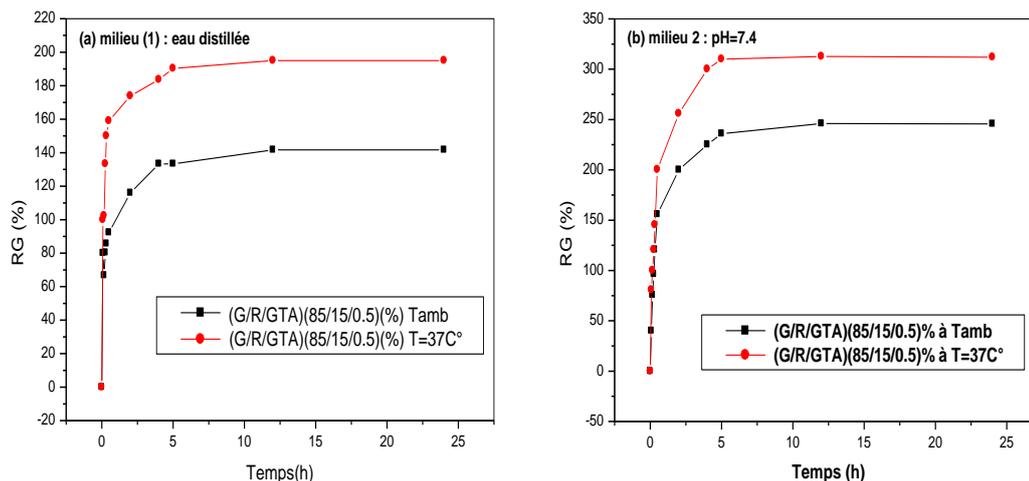


Figure III.35 : Variation du R.G. des films réticulés à 0.5% de GTA à Tamb et T=37C° en fonction du temps dans le milieu 1 et milieu 2.

III.7. Détermination du mécanisme de gonflement :

1. Diffusion des molécules d'eau :

L'hydrophile est définie comme l'affinité de l'eau avec les polymères tandis que la diffusivité est la vitesse de pénétration de l'eau dans la matrice polymérique (**Gibbs *et al.*, 1999**). Cette vitesse étant non nulle même pour les matériaux hydrophobes. C'est une fonction croissante de la polarité des groupes contenus dans un polymère et de leur concentration.

La **figure III.36** donne un classement des groupements des plus hydrophobes aux plus hydrophiles.

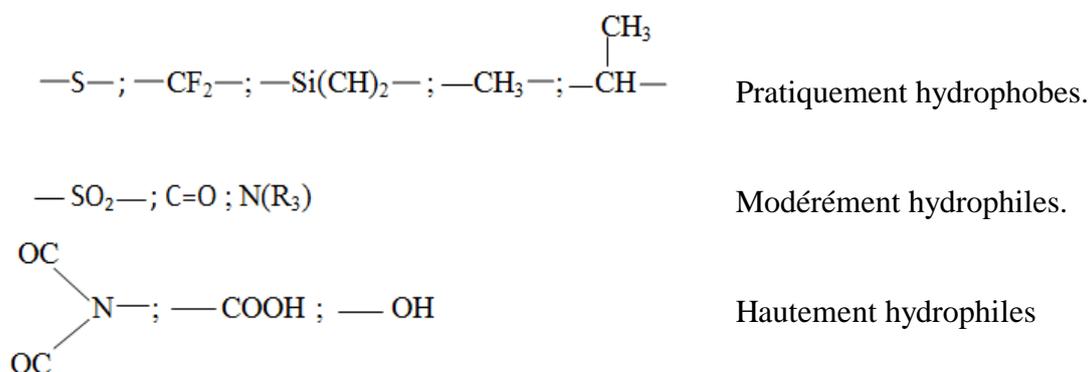


Figure III.36 : Représentation schématique des groupements hydrophobes et hydrophiles.

Dans le cas des milieux hétérogènes, le pourcentage d'eau absorbée varie linéairement en fonction de la racine carrée du temps pour des valeurs de masses inférieures à 60% de la masse à saturation M_s et le coefficient de diffusion est déterminé à partir de la relation suivante :

$$M = \frac{4M_s}{h \cdot \sqrt{\frac{D \cdot t}{\pi}}}$$

La concentration du solvant au niveau de la matrice polymérique reste nulle au centre de la matrice. Pour des valeurs de M supérieures à $0,6 M_s$, la diffusion n'est plus fickienne.

L'équation empirique simple, très utilisée pour la détermination du mécanisme de diffusion, et appelée équation de la loi de puissance est exprimée par l'équation suivante (**Martinez, 2007**).

$$F = (W_t/W_e) = (m_t - m_0)/(m_\infty - m_0) = Kt^n \quad (1)$$

Avec ;

W_t : la quantité du solvant absorbée par l'hydrogel au temps t (secondes).

W_e : la quantité du solvant absorbée par l'hydrogel à l'équilibre.

K : constante liée à la structure du réseau polymérique.

n : l'exposant diffusionnel.

Cette équation est appliquée aux états initiaux de gonflement $F \leq 0,6$ (**Kardag et al., 1995; Bartil et al., 2007**).

2. Facteurs influençant la diffusion

La diffusion dépend fortement de la taille, de la rigidité et de la forme de la molécule diffusante, aussi des facteurs externes (Température, concentration du soluté, épaisseur de la matrice, la pression...). Nous détaillons ci après l'effet de quelques uns de ces facteurs.

Selon l'équation de Fick les différents résultats sont représentés dans les figures suivantes :

a. Le pH :

a.1 . Gélatine non réticulé :

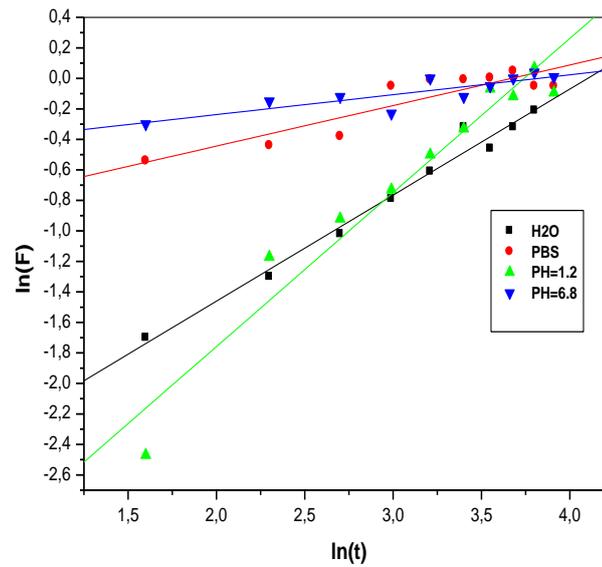
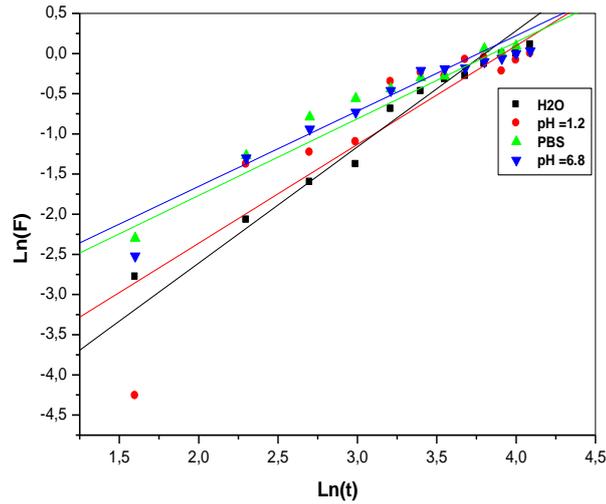


Figure III.37: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de gélatine non réticulées dans différents milieux à T ambiante.

Tableau III.11 : Les paramètres cinétiques de gélatine non réticulé dans différents milieux, à T ambiante.

composition	n	K	D (cm ² /s)	Re
Gélatine NR/l'eau distillée	0.44	0.057	1.91 10 ⁻⁶	0.9891
Gélatine NR/ PBS	0.26	0.37	1.95 10 ⁻⁶	0.9085
Gélatine NR/ pH = 1.2	0.085	0.023	1.72 10 ⁻⁶	0.9723
Gélatine NR/ pH = 6.8	0.13	0.61	1.6 10 ⁻⁶	0.8581

a.2. Mélange non réticulé :

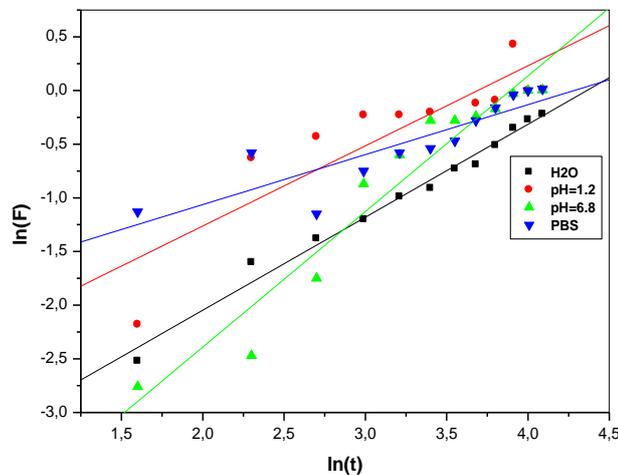


Figures III.38: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de (G/R/ GTA) (85/15/0) % dans différents milieux, à T ambiante.

Tableau III.12 : Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R) (85/15) (%) non réticulés Dans différent milieux.

composition	n	k	D (cm ² / s)	Re
(G/R) / l'eau distillée	0,84	0,0077	1,57.10 ⁻⁶	0,9945
(G/R) / PBS	0,98	0,023	1,88.10 ⁻⁶	0,9736
(G/R) / pH = 1.2	0,76	0,021	0,97.10 ⁻⁶	0,9972
(G/R) / pH = 6.8	0,93	0,030	1,91.10 ⁻⁶	0,9114

a. 3. Mélange (G/R) réticulé :

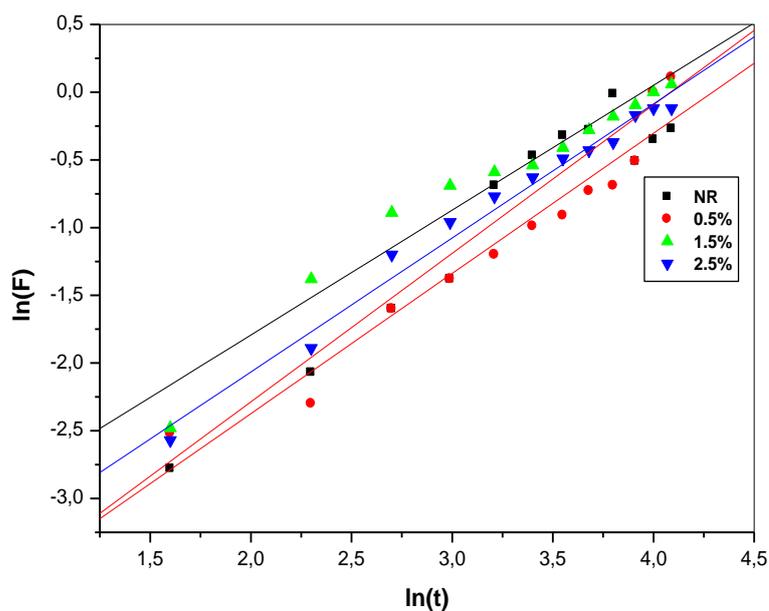


Figures III.39: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de (G/R/GTA) (85/15/0.5)% dans différents milieux, à T ambiante.

Tableau III.13 : Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA) (85/15/0.5)% dans différents milieux.

composition	n	k	D (cm ² / s)	Re
(G/R) / l'eau distillée	0,86	0,022	1,70.10 ⁻⁵	0,9944
(G/R) / PBS	0,46	0,13	1,46.10 ⁻⁶	0,8896
(G/R) / pH = 1.2	0,74	0,063	2,21 .10 ⁻⁶	0,9634
(G/R) / pH = 6.8	0,96	0,0073	2,54.10 ⁻⁶	0,8751

b. Le degré de réticulation :



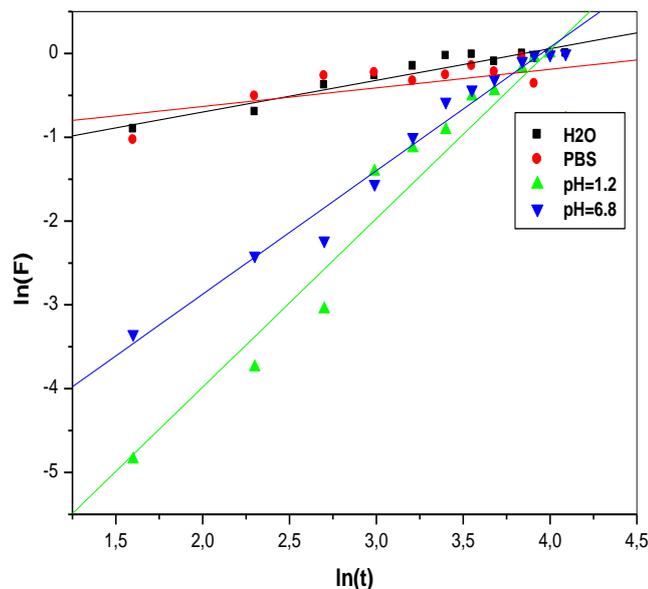
Figures III.40: graphes de ln (F) en fonction de ln (t) des films de (G/R)(85/15)% réticulés, à T ambiante.

Tableau III.14 : Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R) (85/15) %, à (T ambiante, l'eau distillé)

composition	n	k	D (cm ² / s)	Re
(G/R) NR	0,84	0,0077	1,57.10 ⁻⁶	0,9977
(G/R) 0.5 %	0,86	0,022	1,70.10 ⁻⁵	0,9975
(G/R) 1.5 %	0,92	0,026	1,82. 10 ⁻⁶	0,9623
(G/R) 2.5 %	0,98	0,017	1,91.10 ⁻⁶	0,8712

c. La température :

Mélange réticulé :



Figures III.41: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% , dans différents milieux, à $T = 37^\circ\text{C}$.

Tableau III.15 : Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA) (85/15/0.5)% Dans différents milieux, à $T=37^\circ\text{C}$

composition	n	k	D (cm ² / s)	Re
(G/R) / l'eau distillée	0,37	0,23	$2,21 \cdot 10^{-6}$	0,9844
(G/R) / PBS	0,22	0,20	$1,57 \cdot 10^{-6}$	0,8889
(G/R) / pH = 1,2	0,91	0,0003	$2,54 \cdot 10^{-6}$	0,9689
(G/R) / pH = 6,8	0,97	0,0029	$2,54 \cdot 10^{-6}$	0,9910

Le tracé de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ montre la présence des droites.

D'après les courbes précédentes, on observe dans le cas des films de gélatine non réticulées que l'exposant de diffusion n est toujours inférieur à 0.5 donc la diffusion est parfaitement fickienne et la vitesse de diffusion de l'eau est moins élevée à la vitesse de relaxation des chaînes de polymères.

En revanche pour les films de mélanges réticulés à température ambiante et dans tous les milieux l'exposant est compris entre 0.5 et 1 donc la diffusion est non fickienne et la vitesse de diffusion de l'eau est supérieure à la vitesse de relaxation des chaînes de polymères.

Les méthodes spectroscopiques infrarouges et UV-visible se sont révélées efficaces pour l'étude de l'interaction physique et chimique entre la gélatine, la résorcine et le glutaraldéhyde conduisant ainsi à des réseaux tridimensionnels.

Les propriétés mécaniques de traction à une humidité relative faible (~14%) sont non prometteurs en comparaison avec celles où les tests ont été réalisés à 67% de HR.

La radiocristallographie par diffraction des rayons X montre que le taux de triple hélice de gélatine diminue d'une manière progressive jusqu'à disparition totale lors de l'ajout de résorcine, alors qu'à cet angle de diffraction à 2θ égal à 8° , son intensité augmente suite à la réticulation par le glutaraldéhyde.

L'analyse thermique par DSC révèle que la résorcine provoque une diminution de ΔH et une augmentation de T_g . Ce changement de la température de transition vitreuse est directement attribué à la dénaturation de la gélatine c'est à dire à la transition hélice/ pelote.

L'étude de gonflement dans des milieux physiologiques montre que dans un milieu aqueux la résorcine favorise la prise en eau (taux de gonflement plus élevé), de sorte que la surface des particules de résorcine moins hydrophobes que celle de gélatine donc la résorcine joue un rôle de plastifiant ; mais dans les autres milieux, il a une diminution du taux de gonflement à cause de la présence des différents ions issus des milieux tamponnés. Ce qui mène à un recouvrement de la surface de la protéine.

Aussi il a été trouvé que le mécanisme de diffusion est directement lié à la structure macromoléculaire, à la porosité et à la température ; pour les films de gélatine non réticulée, l'exposant de diffusion n est toujours inférieur à 0,5, la diffusion est alors parfaitement fickienne et la vitesse de diffusion de l'eau est moins élevée que la vitesse de relaxation des chaînes de polymères. En revanche pour les films en G/R réticulés à température ambiante et dans tous les milieux, l'exposant est compris entre 0,5 et 1 donc la diffusion est non fickienne et la vitesse de diffusion de l'eau est supérieure à la vitesse de relaxation des chaînes de polymères, sauf à pH=6.8 et à T=37°C, la diffusion est fickienne.

Glossaire

Ciment : Le ciment (du latin *Caementum*, signifiant pierre non taillée) est une matière pulvérulente formant avec l'eau ou avec une solution saline une pâte plastique liante, capable d'agglomérer, en durcissant, des substances variées. Il désigne également, dans un sens plus large, tout matériau interposé entre deux corps durs pour les lier

Fibronectine : Terme issu du latin (fibræ : filament et nectere : unir.). Molécule associant une protéine à un sucre

Integrine : Récepteurs situés sur les membranes cellulaires présentant une structure équivalente à celle d'un hétérodimère. Elle comprend deux chaînes polypeptidiques alpha et bêta. Un hétérodimère est un dimère possédant deux sous-unités différentes. Un dimer est un polymère constitué de deux éléments appelés monomères. On parle d'homodimère si ces deux éléments sont identiques et d'hétérodimère quand ce n'est pas le cas.

Actine : est une protéine musculaire qui agit en synergie avec la myosine et qui intervient dans le processus de contraction musculaire. On trouve également de l'actine dans le cytosquelette de toutes les cellules, où elle assure une fonction voisine, servant à générer des mouvements internes

Actomyosine : est une protéine formée par l'assemblage d'actine et de myosine. Cette protéine entre en jeu dans le processus de contraction des fibres musculaires.

Protéoglycane : macromolécule complexe formée de chaînes polypeptidiques auxquelles sont attachées de longues chaînes polysaccharidiques sulfatées.

Glycosamiglycane : est un polysaccharide non ramifié composé d'unités disaccharidiques répétitives.

Fibroblaste : Cellules en forme de fusée, issues des cellules conjonctives (tissu de remplissage et de soutien rencontré fréquemment dans l'organisme et contenant des fibres élastiques et du collagène). Ces cellules ont la caractéristique d'être en voie de prolifération, de multiplication. Les fibrocytes sont les mêmes cellules arrivées à maturité.

Ostéoblaste : Cellule jeune, d'origine mésenchymateuse sécrétant la matrice osseuse constituée de collagène de type I, de protéoglycanes et de glycoprotéines (ostéopontine et ostéocalcine). Cette matrice non encore calcifiée porte le nom d'ostéoïde. Les ostéoblastes se présentent comme des cellules ayant un gros corps cellulaire à partir duquel partent de fins prolongements qui sont unis.

Chondrocyte : Seules cellules présentes dans le cartilage, les chondrocytes sont de grosses cellules rondes, qui peuvent atteindre 20 à 40 micromètres de diamètre. Elles sont pourvues d'un noyau arrondi et volumineux.

Fibrose : La fibrose est la transformation fibreuse de certains tissus à l'origine d'une augmentation du tissu conjonctif (tissu de soutien et de remplissage). Généralement, la fibrose intervient dans la dernière phase de l'inflammation chronique (s'étalant sur une longue période) comme une tuberculose pulmonaire, un abcès chronique ou la cicatrice d'une blessure, entre autres. Dans certains cas, on ne connaît pas l'origine de la fibrose.

Apoptose : L'apoptose se caractérise au niveau cellulaire par une compaction de la chromatine et par l'invagination des membranes plasmiques. Des corps apoptotiques, qui correspondent à des fragmentations de la cellule, apparaissent et peuvent être phagocytés.

Tropoélastine : protéine soluble à l'origine de l'élastine dans les tissus élastiques

Mésenchymateuse : relative au mésenchyme, tissu embryonnaire pouvant se transformer en tissu conjonctif cartilagineux, osseux, musculaire, etc.

Chimiotactiques : dit d'une cellule qui présente une réaction d'orientation à un facteur chimique de son environnement. Du latin *tactus*, toucher, exciter. Si la réponse est positive, la cellule s'oriente vers la substance chimique, si la réponse est négative, l'orientation est inverse.

Angiogénèse : Développement de nouveaux vaisseaux sanguins par bourgeonnement à partir de vaisseaux existants.

Tissu conjonctif : tissu formé de cellules appelées fibroblastes et de fibres collagènes et élastiques, que sépare une substance fondamentale. Le tissu conjonctif fibreux (tendons) est riche en fibres collagènes; le tissu conjonctif élastique (artères) est riche en fibres élastiques.

Références bibliographiques

Auger FA. ; (2000) ; « Le génie tissulaire du rêve à la réalité ». *Med Sci (Paris)* », Vol. 16- N° 31, p.324.

Bacon J. & Rhodes M. J. C. ; (2000) ; « Binding affinity of hydrolyzable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, p. 838-843.

Bartil T., Bounekhel M., Cedric C. & Jerome R. ; (2007) ; « Swelling behavior and release properties of pHsensitive hydrogels based on methacrylic derivatives », *Acta pharm*, 57, p.301-314.

Beljit S. & Lok P. ; (2008) ; «Development of sterculia gum based wound dressings for use in drug delivery» , *European Polymer Journal*, 44,p. 3222-3230.

Berand J. ; (2001) ; « Le technicien d'analyses biologiques ; Guide théorie et pratique » , 2^{ème} éd ., Tec & Doc, Paris, p.177.

Bernatchez S.F., Merkali A., Tabatabay C., Gumy R., Zhao Q. H., Anderson J.M.& Heller J ; (1993) ; « Biotolerance of semi-solid hydrophobic biodegradable poly(ortho)ester for controlled drug delivery», *J. Biomed. Mater Res*, 27, p. 677 - 681.

Bhandari R N B., Riccalton LA., Lewis AL., Fry J R., Hammond A H., Tendler S J B. & Shakesheff K M. ; (2001) ; « Liver tissue engineering: A role for co-culture systems in modifying hepatocyte function and viability ». *Tissue Engineering*, Vol.7, p . 345- 357.

Bigi A., Cojazzi G., Panzavolta S., Rubini K & Roveri N. ; (2001) ; « Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking», *Biomaterials*, 22, p. 763-768.

Bigi A., Panzavolta S. & Rubini K. ; (2004) ; « Relation ship between triple –hélix content mechanical properties of gelatin films » , *Biomaterials* , 25, p. 5675-5680

Borrelli R. C., Visconti A., Mennella C., Anese M. & Fogliano V. ; (2002) ; « Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), p. 6527-6533.

Bonduelle C. ; (2008) ; «Hétérocycles Oxygénés : Synthèse, Réactivité et Application à la préparation de polymères Biodegradables» , *Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse*.

Bosman F.T., StamenkovicI. ; (2003) ; « Functional structure and composition of the extracellular matrix » , *J. Pathol.* , 200, p . 423 - 428.

Borrelli R. C., Visconti A., Mennella C., Anese M. & Fogliano V. ; (2002) ; « Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), p. 6527-6533.

Bruneton J. ; (2009) ; « pharmacognosie –phytochimie, plantes médicinales» , 4^{ème} éd. , *Masson, Paris*, p .1288.

- Centeno A. C., Marcelo I. G., Yamazakikleps A. & Della Vedova C. O. ; **(2004)** ; « Characterisation by FTIR of the effect of lead white on some proprieties of proteinaceous binding media », *Journal of the american institute for conservation*, 43, p. 139-150.
- Chavanne M. & Jullien A. ; **(1998)** ; « Chimie organiques expirimentale », Germain Odermatt, p . 132.
- Colman D. L. , King R.N. , Andrade J. D ; **(1974)** ; « The foreign body reaction : a chronic inflammatory response» , *J. Biomed. Mater. Res.* , p. 199-211.
- Cordes E. H., Jencks W. P. ; **(1962)** ; « On the Mechanism of Schiff Base Formation and Hydrolysis1 » , *Journal of the American Chemical Society*, 84, p. 832-837.
- Davis G. E., Bayless K. J., Davis M. J. & Meininger G. A. ; **(2000)** ; « Regulation of tissue injury responses by the exposure of matricryptic sites within extracellular matrix molecules » , *Am J Pathol* , 156, p.1489 -1498.
- Degenis G. ; **(1994)** ; « Cross-Linking of gélatine capsules and its reevance to their *in vitro- in vivo* performance » , *J. of pharmaceutical science* , 7, p. 915-920.
- Diaham S. ; **(2007)** ; « Etude de comportement sous haute température de matériaux polyimides en vue de la passivation de composants de puissance à semi conducteur grand Gap » , Thèse de master de l'université paul Sabatier toulouse III.
- Drury J. L. & Mooney D. J ; **(2003)** ; « Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications » , *Biomaterials*, N° 24, p . 4337 - 4351.
- Duca L., Floquet N., Alix A. J. P., Haye B. & Debelle L. ; **(2004)** ; « Elastin as a matrikine » , *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 49, p . 235 - 244.
- Ertesvag H. & Valla S. ; **(1998)** ; « Biosynthesis and applications of alginates » , *Polymer Degradation and Stability*, 59, p . 85 - 91.
- Falcone S. J., Palmeri D. & Berg R. A ; **(2006)** ; « Biomedical applications of hyaluronic acid » , 934, p . 155 - 174.
- Farris S., Karen M.S., LinShu L. C., Luciano P. & Kit L. Y. ; **(2009)** ; « Development of polyion complex hydrogels as an alternative approach for the production of io-based polymers for food packaging applications : a review » , *Trends in Food Science & Technology*, 20, p. 316-332.
- Farris S., Jianhui S. & Qingrong H. ; **(2010)** ; « Alternative reaction mechanism for the crosslinking of gelatin with glutaraldéhyde » , *J. Agric. Food. Chem.*, 58, p. 998-1003.
- Freed L., Maquis J. & Nohria A. ; **(1993)** ; « Neocartilage Formation *In vitro* and *In vivo* Using Cells Cultured on Synthetic Biodegradable Polymers», *Journal of Biomedical Materials Research*, 27, p. 11-23.
- Fraenkel-Conrat H., Cooper M., Olcott H.S. ; **(1945)** ; « The reaction of formaldehyde with Proteins » , *Journal of the American Chemical Society*, 67, p. 950-954.

French D. & Edsall J. T. ; (1945) ; « The reaction of formaldehyde with amino acids and Proteins », *In Advances in Protein Chemistry*, 11, p. 277-335.

Fushinit T. ; (1997) ; « Gels handbook », 2^d éd, *Academic Press, New York*, 1, p. 68-142.

Gibbs B. F., Kermasha S., Alli I. & Mulligan C. N. ; (1999) ; « Encapsulation in the food industry », *International Journal of Food Science and Nutrition* , 50, p. 213-224.

Haslam E. & Lilley T. H. ; (1988) ; « Natural astringency in foodstuffs - A molecular Interpretation », *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 27 (1), p. 1-40.

Harada H. & Takahashi M. ; (2006) ; « Dependent intracellular and extracellular catabolism of hyaluronic acid hyaluronidase », *J. Biol.Chem.*

Hardouin P., Anselme K., Flautre B., Bianchi F., Bascoulergue G. & Bouxin B. ; (2000) ; «Ingénierie tissulaire et maladies du squelette», *Revue du Rhumatisme*, n°67,p : 498 à 504.

Hautwamm S. H., Schroeder G. L., Civantos F., Duncan R.C.,Gnann R., Friedrich M.G., Hellstern A. & Huland H. ; (2001) ; « Hyaluronic acid and hyaluronidase bladder carcinoma markers », *Urologie A*, 40, p. 121-126

Hench L. & Polak J. M ; (2002) ; «Third-generation biomedical materials», P.1014 - 1017.

Hesse M., Meter H. & Zeeh B. ; (1997) ; « Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique », 2^{ème} éd., *Masson, Paris*, p.1-48.

Hoffman A. S ; (2002) ; «Hydrogels for biomedical applications», *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, p . 3 - 12.

Holme D. & Peck H. ; (1998) ; « Analytical Biochemistry », 3^{ème} ed. *Longman, Essex*.

Huang S. ; (2005) ; «Biodegradable Polymers for Biomedical Applications» , *Journal of medicinal chemistry* , 48, p. 5613-5874.

Huang S. & Xiaobing F. ; (2010) ; «Review naturally derived materials – based cell and drug delivery systems in skin regeneration » , *Journal of Controlled Release*, 142, p. 149-159.

Hurrell R. F., Finot P. A. & Cuq J. L. ; (1982) ; « Protein-polyphenol reactions: I. Nutritional and metabolic consequences of the reaction between oxidized caffeic acid and the lysine residues of casein », *British Journal of Nutrition*, 47, p. 191-211.

Hutmacher D. W ; (2001) ; «Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues - state of the art and future perspectives», *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 12, p. 107 à 124.

Hu X. J. , Lui W. , Cui L. , Wang M. & Cao Y. L ; (2005) ; «Tissue engineering of nearly transparent corneal stroma» , *Tissue Engineering*, 11, p . 1710 - 1717.

Ingber D. E. ; (2003) ; « Tensegrity II.How structural net works influence cellular information processing networks», *J. Cell. Sci.* , 116, p. 1397-1408.

- Johnson H. J., Northup S. J., Seagraves P. A., Atallah M., Garvin P. J., Lin L ; **(1985)** ; « Biocompatibility test procedures for materials evaluation *in vitro* » *Objective methods of toxicity assessment, J. Biomed. Mater Res* , p. 489-508.
- Jwata H. ; **(1993)** ; « Pharmacology and chemical aspects of intra-articular injection of hyaluronate », *Clin. Orthop. Relat. Res.* , p. 285-291.
- Kanamori T. ; **(2000)** ; « Difference in solute diffusivity in crosslinked collagen gels prepared under various conditions », *Materials Science and Engineering*, 13, p. 85-89.
- Karadg E. ; & Dursun S. ; **(1995)** ; « Swilling of acrylamid – Tartaric acid Hydrogels » , *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 3, p. 218-225.
- Kielty C.M, Sherratt M.J. & Shuttleworth C.A. ;**(2000)** ; « Elastic fibres», *J Cell Sci*, 115, p. 2817 - 2828.
- Kielty C. M. & Grant M. E. ; **(2002)** ; « The collagen family : structure, assembly, and organization in the extracellular matrix. In : Connective tissue and its heritable disorders. Molecular, genetic, and medical aspects » 2nd Ed. Dir. Royce PM, Steinmann B. New York : Wiley-Liss Eds, p. 159 - 221.
- Koehler K., Sandstrom W. & Cordes E. H. ; **(1964)** ; « Concerning the Mechanism of the Hydrolysis and Aminolysis of Schiff Bases », *Journal of the American Chemical Society*, 86 (12), p. 2413-2319.
- Kofler A. ; **(1943)** ; « Über die stabilen Modifikationen organischer Stoffe, die bei der üblichen Darstellung in einer total oder partiell instabilen Form kristallisieren », 281, p.8 -22.
- Krawczak P. ; **(1999)** ; « Essais mécaniques des plastiques ; caractéristiques instantanées » technique de l'ingénieur, [AM3510].
- Labat R. ; **(2004)** ; « Role of receptors and matricrypting », *Ageing. Res. Rev.*, 3, p. 233-247
- Lafargue D. ; **(2007)** ; « Etude et élaboration de films à base polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques », *Thèse de doctorat en génie des procédés, Université de Nantes*.
- Laing P. G., Ferguso A. B., Hodge E. S ; **(1967)**; « Tissue reactions in rabbit muscle exposed to mettalic implants », *J. Biomed Mater .Res*, P. 135-149.
- Langer R., & Vacanti J. P ;**(1993)**; «Tissue Engineering», *Science*, p. 920-926.
- Langmaier F., Mokrejs P., Kolmaznik K. & Mladek M. ; **(2008)** ; « Plasticizing collagen hydrolysate with glycerol and low-molecular weight poly (ethylene glycols) », *Thermochemical Acta* , 469, p. 52-58.
- Laurent T.C. ; **(1987)** ; « Biochemistry of hyaluronan», *Acta Otolaryngol* , 442, p. 7-24.
- Lee K. Y. & Mooney D. J ; **(2001)** ; "Hydrogels for tissue engineering". *Chemical Reviews*, p. 1869-1879.

- Liu Y., Zhengshu X. & Prestwich G.D. ; (2005) ; « Biocompatibility and stability of disulfide –Crosslinked hyaluronate films », *Biomaterials*, 26, p. 4737-4746.
- MacNeil S. ; (2007) ; « Progress and opportunities for tissue-engineered skin » , p . 445, 874-880.
- Maquart F., Bellon G., Pasco S.& Monboisse JC. ; (2005) ; « Matrikines in the regulation of extracellular matrix degradation», *Biochimie* , 87, p. 353-360.
- Marshall A. S. & Petrie S. E. B. ; (1980) ; « Thérnal transitions in gelatin and aqueusgelatin solutions », *The Journal of Photographie Science*, 28, p. 128-134.
- Martinez N. ; (2007) ; Swilling Kinetic of hydrogels from methyl cellulose and poly (acrylamide) , *Journal of Revista Mexicana de ingenieria quimica* , 6, p. 337-345.
- Martinsen A., Skjak-Braek G. & Srnidsrod O. ; (1989) ; « Alginate as immobilization material: a Correlation between Chemical and physical properties of alginate gel beads », *Biotechnol. Bioeng*, 33 , p. 79-89.
- Merceron C., Vinatier C., Clouet J., Collic-Jouault S., Weiss P. & Guicheux J ; (2008); «Adipose-derived mesenchymal stem cells and biomaterials for cartilage tissue engineering », *Joint Bone Spine*, p. 75, 672-674.
- Meyer K. & Palmer J.W. ; (1934) ; « The polysaccharide of the vitreous humor », *J. Biol. Chem.*, 237, p. 629-634.
- Miyasaka A. & Ishikawa K. ; (1996) ; « Reconstitution of collagen fold structure with stretching gelatin film », *Biopolymers* , 15, p. 1505-1511.
- Mulot P. ; (1977) ; « Interet de la colle biologique en chirurgie rénale », *Thèse Medicale* , *Faculté de medecine de Créteil*.
- Niklason L. E., Gao J., Abbott W. M ; (1999) ; « Functional arteries grown *in vitro* » , p.284-489 .
- Oh H. I., Hoff J. E., Armstrong G. S. & Haff L. A. ; (1980) ; « Hydrophobic interaction in tanninprotein complexes », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, p. 394-398.
- Pellier –Héline ; (2005) ; « Polymérisation d’huile végétale en vu de leur application dans les ancrés et vernis » .
- Pena C. & Koro C. ; (2010) ; « Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tanin addition », *Biosource Technology* , 101, p. 6836-6842.
- Pollard T. D. & Earnshaw W. C. ; (2004) ; « Biologie cellulaire», *Paris : Elsevier Science Inc.*
- Porte-Durrieu M.C., Labrugere C.& Villars F. ; (2000) ; « Development of RGD peptides grafted onto silica surfaces : XPS characterization and human endothelial cell interactions » , *J Biomed Mater Res*, 46 p. 368-375.

- Primalov A. & Biofizika C. ; (1970) ; « The molécular chemistry of gelatin », *Chem. Phys. And Bio*, 67, p. 229.
- Prydz K. & Dalen K. T. ; (2000) ; « Synthesis and sorting of proteoglycans », *J. Cell. Sci.*, 113, p. 193-205.
- Potocki-Veronese G., Putaux J. L., Dupeyre D., Albenne C., Renaud Siméon M., Monsan P. & Buléon A ; (2005) ; « Amylose Synthésized *in vitro* by amylosucrase : Morphology , structure and proprietes» , *Biomacromolecules* , 6, p. 1000-1011 .
- Puppi D.& Chiellini F. ; (2010) ; « Polyméric materials for bone and cartilage repair» , *Journal of Progress in Polymer Science* ,35, p. 403-440.
- Rawel H. M., Czajka D., Rohn S. & Kroll J. ; (2002) ; « Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins » , *International Journal of Biological Macromolecules*, 30 (3-4), p. 137-150.
- Raymond C. R., Paul J. S. & Marian E. Q. ; (2009) ; « Hand books of Pharmaceutical Excipients » , 88, p. 8.
- Ricard-Blum S. & Ruggiero F. ; (2005) ; « The collagen superfamily: from the extracellular matrix to the cell membrane » , *Pathol Biol*, 53, p. 430-442.
- Richards J.& Knowles R. ; (1968) ; « Glutaraldéhyde as a protein cross linkage reagent » , *J.Mol. Biol*,37 , p. 231-233.
- Rinaudo M. ; (2002) ; « Les alginates et les carraghénanes » , *L'actualité chimique*. Novembre-décembre, p. 35-38.
- Rivero S., Garcia M. A. & Pinotti A. ; (2009) ; Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan , *Journal of Food Engineering*, 90, p. 531-539.
- Roberts S. J., Howard D., Buttery L. D. & Shakesheff K. M. ; (2008) ; « Clinical applications of musculoskeletal tissue engineering» , *British Medical Bulletin*, 86, p.7-22.
- Robinet A., Fahem A., Cauchard J. H., Huet E., Vincent L., Lorimier S., Antonicelli F., Soria C., Crepin M., Hornebeck W. & Bellon G. ; (2005) ; « Elastin-derived peptides enhance angiogenesis by promoting endothelial cell migration and tubulogenesis through upregulation of MT1-MMP» , *J. Cell. Sci.* , 118, p. 343-356.
- Rosso F., Giordano A., Barbarisi M., Barbarisi A. ; (2004) ; « From cell-ECM interactions to tissue engineering » , *J Cell Physiol* , 199 p. 174-180.
- Rutot D. & Degée P. ; (2004) ; « Biodegradation of poly (-caprolactone) / starch blends and composites in composting and culture environments : the effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer» , *Carbohydr .Res.* , 338, p. 1759-69.
- Samake D. ; (2008) ; « traitement des eaux uses de tannerie à l'aide de matériaux à base d'argile » , *Thèse de doctorat de l'université Bamako*, Grenoble.
- Saude N., Cheze-Lange H., Beunard D., Dhulster P., Guillochon D., Caze A. M., Morcellet M. & Junter G. A. ; (2002) ; « Alginate production by *Azotobacter vinelandii* in a

membrane bioreactor » *Process Biochemistry* , 38, p. 273-278.

Shalidi F. & Abuzaytoun R. ; **(2005)** ; « Chitin, chitosan and co-products : chemistry, Productions, applications, and health effects », *Adv- Food Nutr. Res*, 49, p. 93-135.

Schlessinger J., Lax I. & Lemmon M. ; **(1995)** ; « Regulation of growth factor activation by proteoglycans », *Cell* , 83, p. 357-360

Schoch T. ; **(1945)** ; « The fractionation of starch *Advanced carbohydrate Chemistry* » ,1, p. 247-277.

Skoog H.N. ; **(1980)** ; « Principes d'analyse instrumentales »,36, p.101-104.

Slade L. & Levine H. ; **(1987)** ; « Polymer – chemical properties of gelatin in foods », *In A.M. Pearson , Dutson, et A.J. Bailey . Advances in meat research collagen as a food* ,4, p. 251-266.

Spector M., Shortkroff S., Hsu H. P., Taylor ; **(1992)** ; «Synovium – like tissue from loose joint replacement prostheses» , p. 335-344.

Thomas P. A., Padmaja T. & Kulkarni M. G. ; **(1997)** ; « Polyanhydride blend microspheres: novel carriers for the controlled release of macromolecular drugs» , *J. Contr. Rel.*, 43, p. 273-281.

Tolaimate A., Desbrieres J., Rhaz M. & Alagui A. ; **(2003)** ; « Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties poly m», 44, p. 7939-7952.

Veyrie D. ; **(2007)** ; « Approche alternative de l'évaluation de l'herméticité des micro-activité - application au packaging des MEMS » , *Thèse de doctorat de l'université de Bordeaux I*.

Yakimet I., Wellner N. & Andrew C. S. ; **(2005)** ; « Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state », 46, p. 12577-12585.

Yoon J. H. & Halper J. ; **(2005)** ; « Tendon proteoglycans: biochemistry and function » , *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.*, 5, p. 22-34.

Zignani M., Merbùì A., Sintzel M. B., Bematchez S. F., Kloeti W., Heller J., Tabatabay C. & Gurny R. ; **(1997)** ; « New generation of poly(ortho esters) : synthesis, characterization, kinetics. sterilization and biocompatibility », *J. Contr. Rel* , p.48, 115-129.

Zilberman M. & Eberhart R. ; **(2006)** ; « Drug-eluting bioresorbable stents for various applications », *Annual Review of biomedical Engineering*, 8, p. 153-180.

Annexe 1 :
Spectres infrarouge.

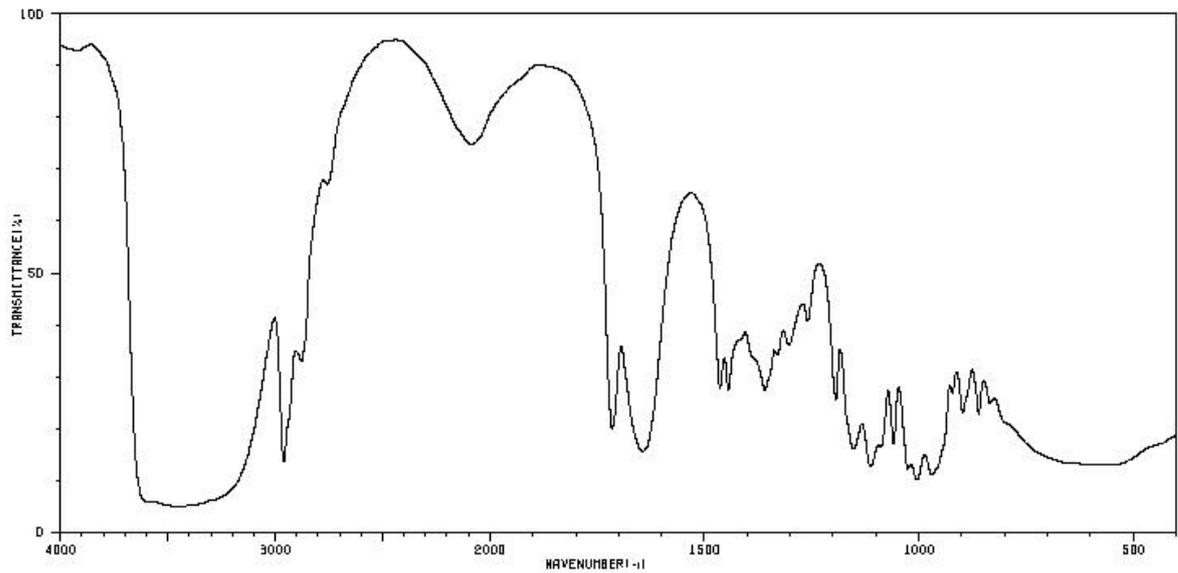


Figure A1.1 : Spectre IR-TF de glutaraldéhyde (source de base : SDBS).

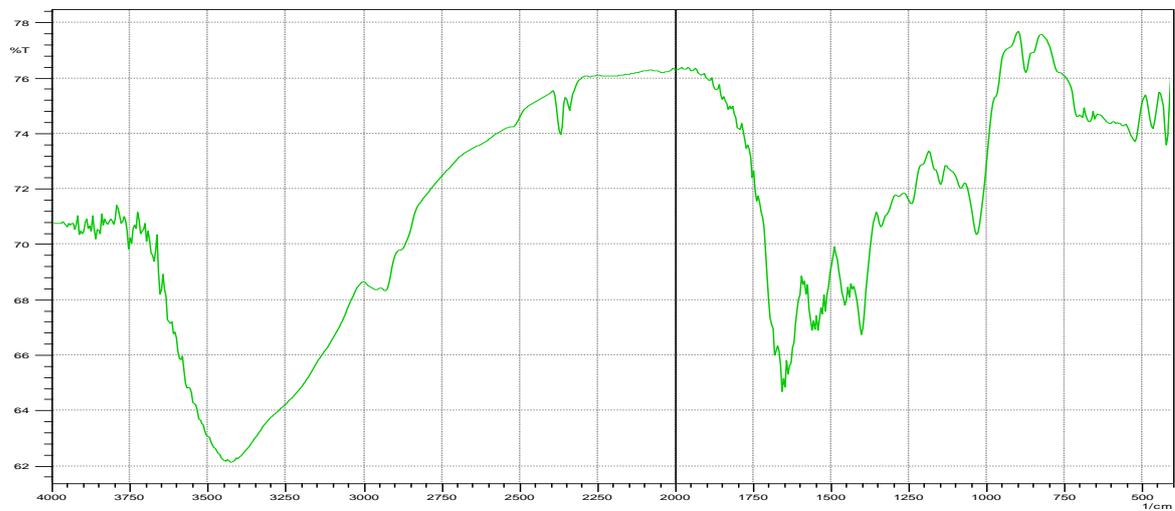


Figure A1.2 : Spectre IR-TF de résidu de (G/R/GTA) (85/15/0) %.

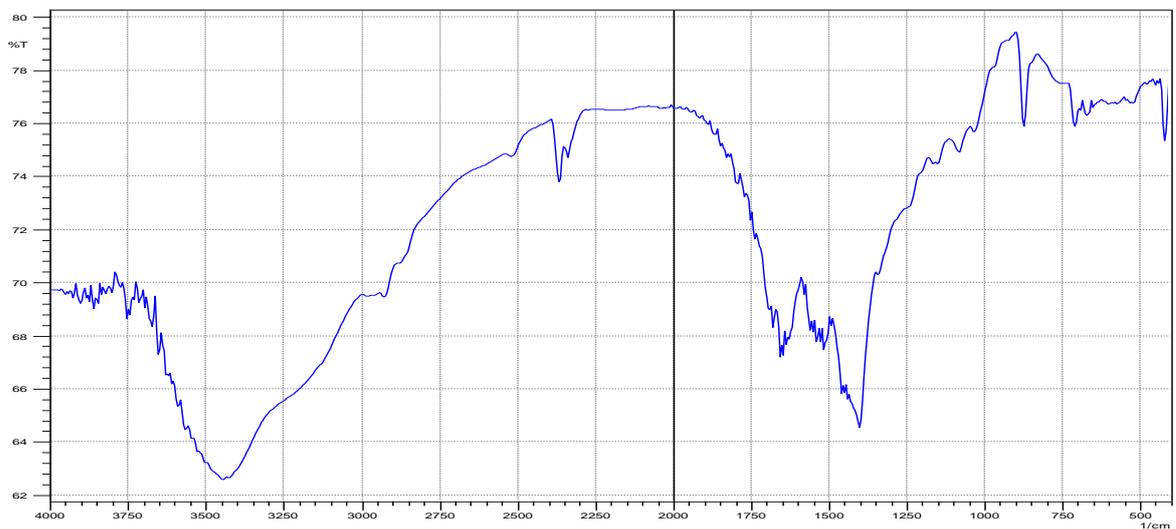


Figure A1.3 : Spectre IR-TF de résidu de (G/R/GTA) (85/15/0.5) %

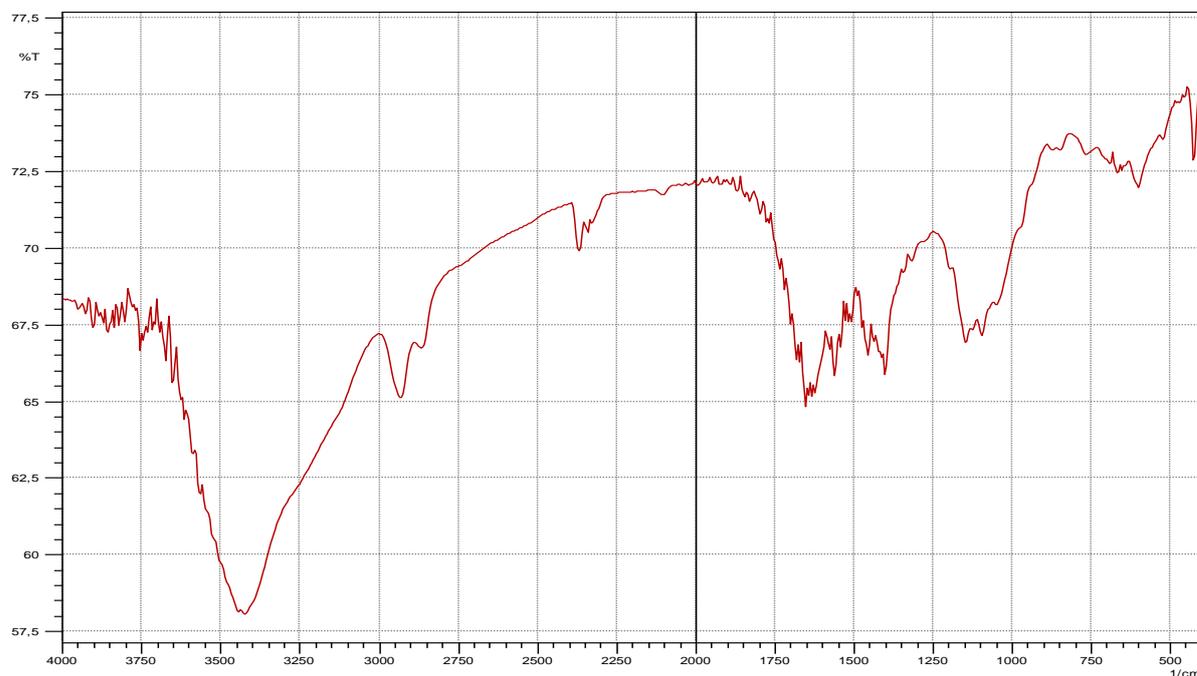


Figure A1.4 : Spectre IR-TF de résidu de (G/R/GTA) (85/15/2.5) %

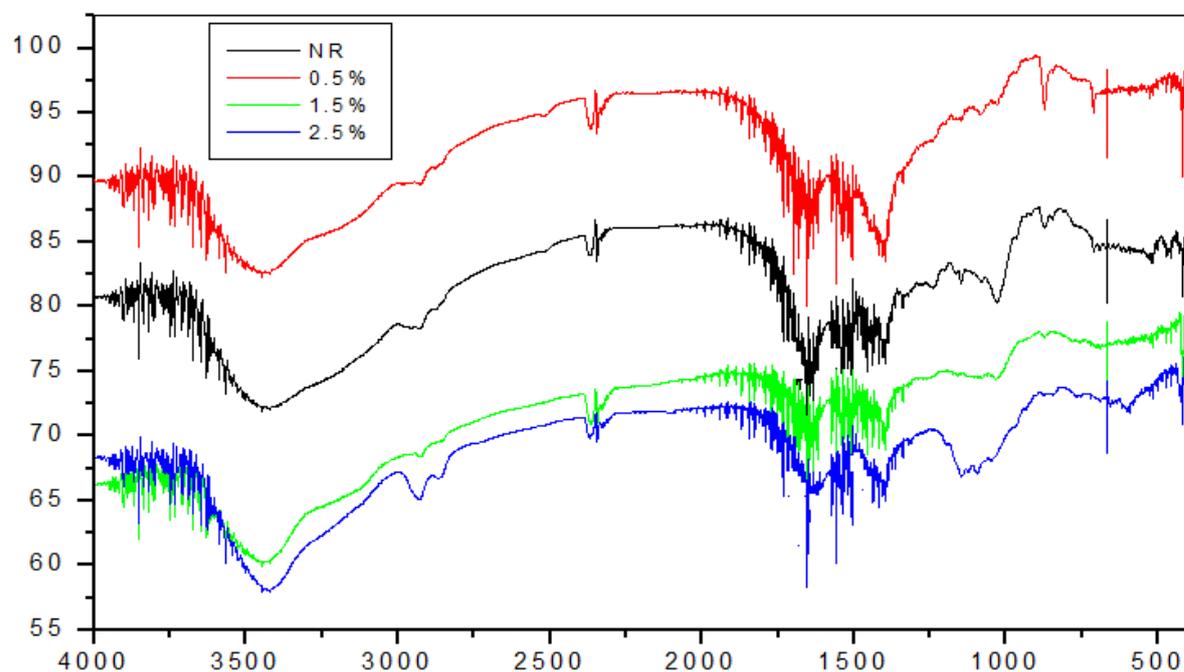


Figure A1.5 : Spectres IR-TF du résidu de (G/R) (85/15) % réticulés à différents concentrations de GTA ; à **pH neutre**.

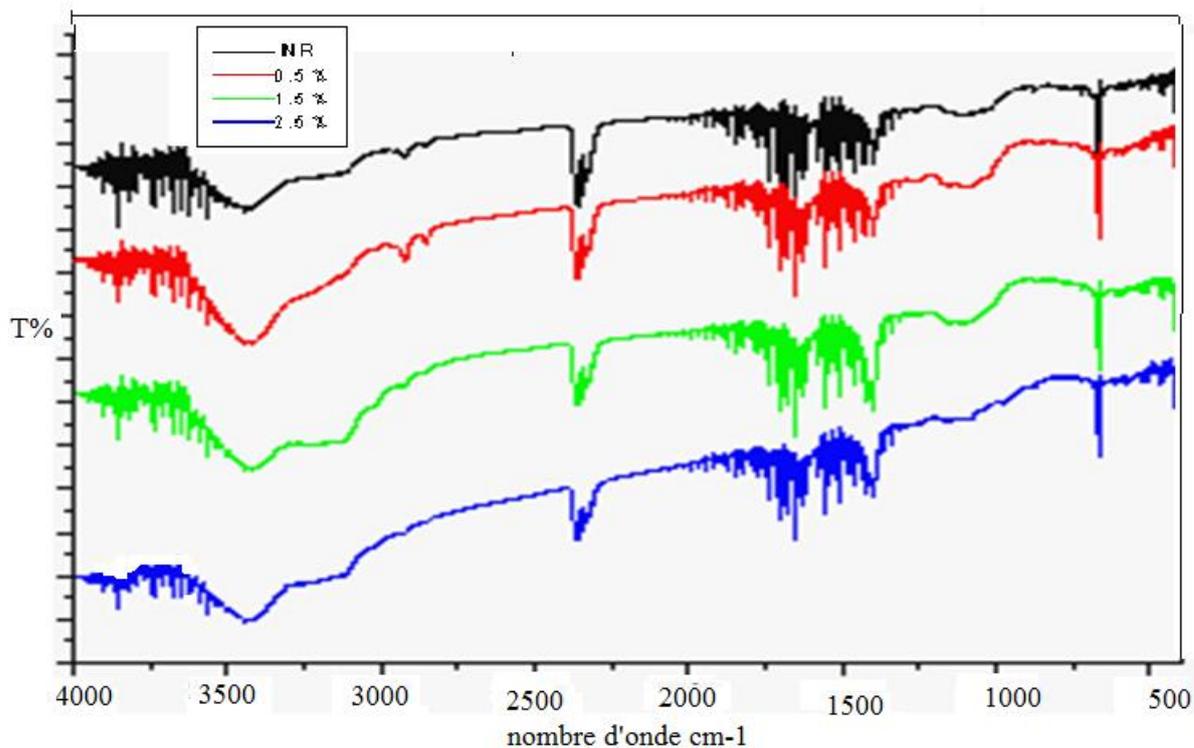


Figure A1.6 : Spectres IR-TF de résidu d'un (G/R) (85/15) % réticulés à différents concentrations de GTA. ; à **pH =1.2.**

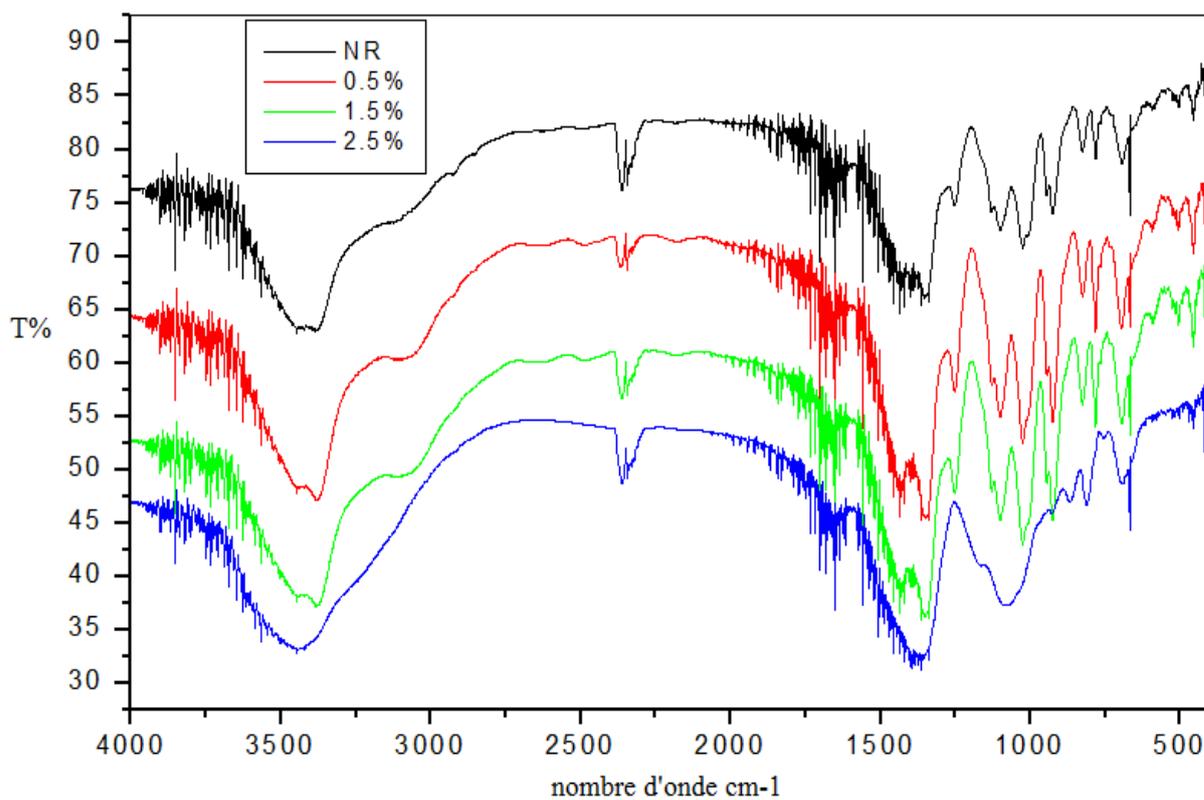


Figure A1.7 : Spectres IR-TF de résidu d'un (G/R) (85/15) % réticulés à différents concentrations de GTA. ; à **pH =8.6.**

Annexe 2 :
Spectres UV-Visible.

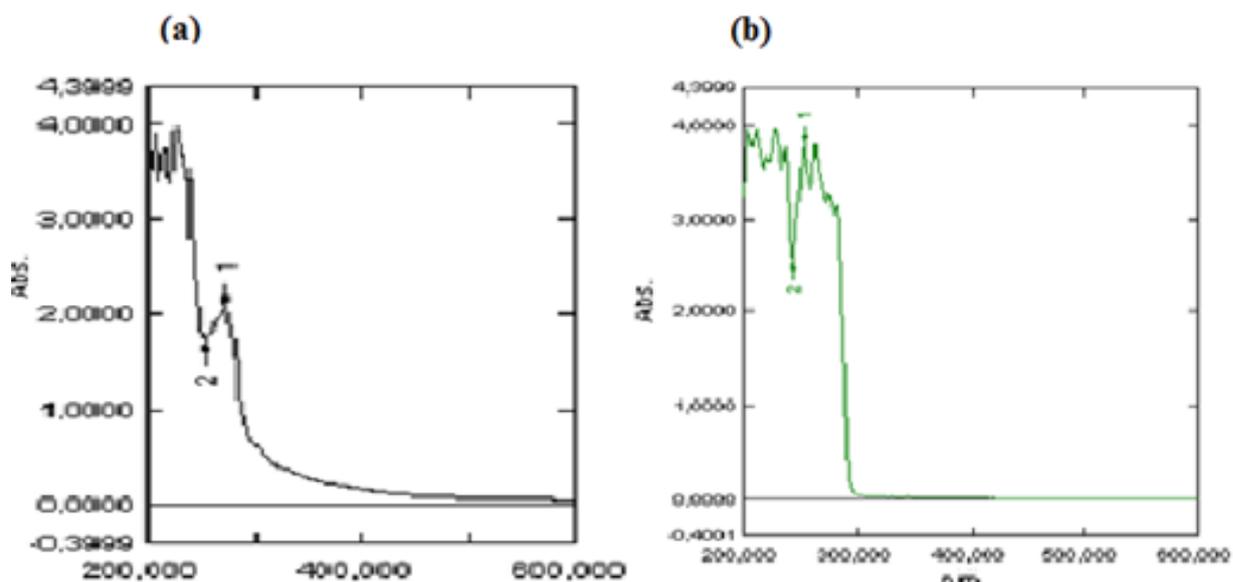


Figure A2.1 : Spectres d'absorption de la gélatine (a), la résorcine (b).

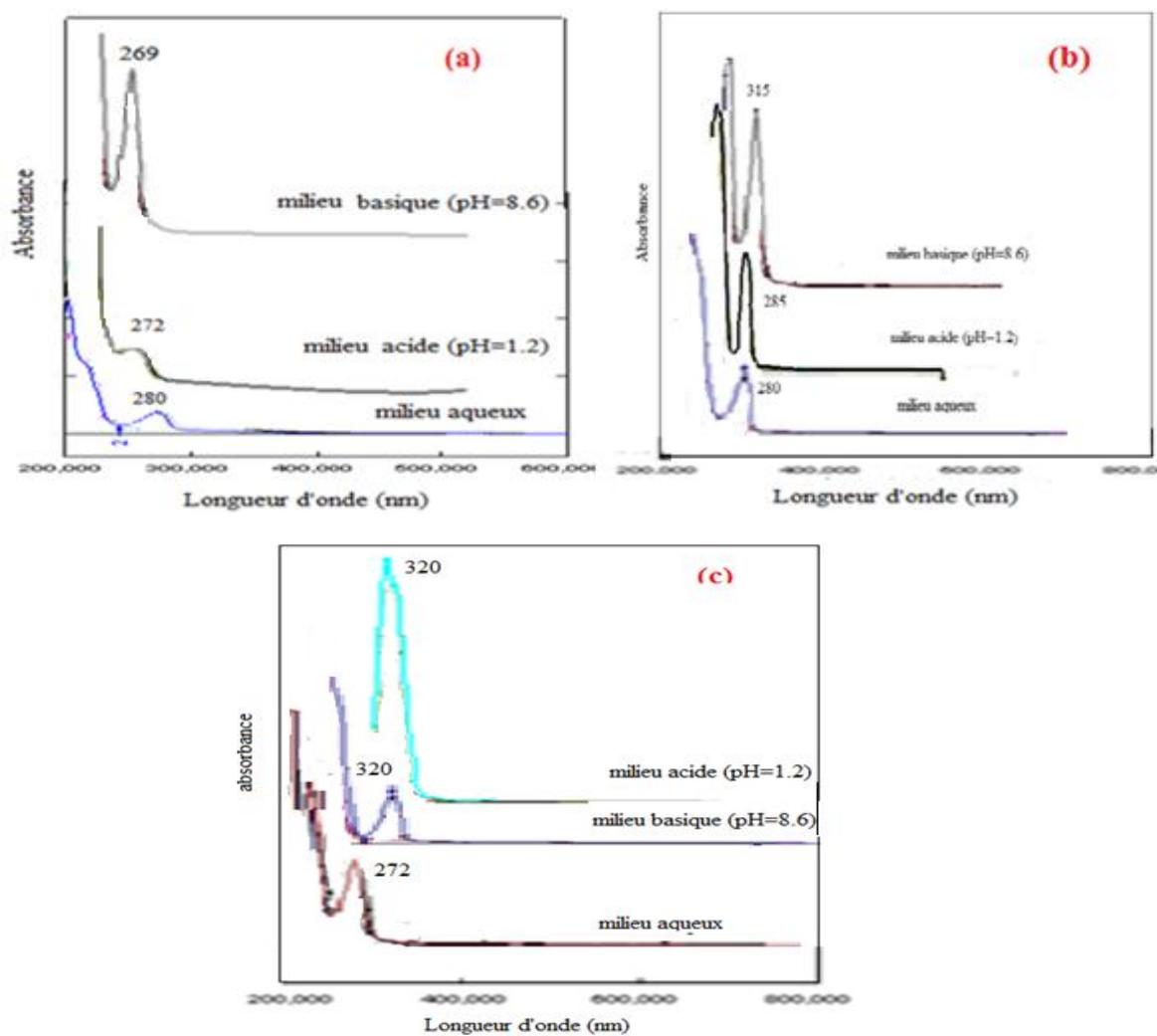


Figure A2.2 : Spectres d'absorption UV de la gélatine (a), la résorcine (b) et le mélange de (G/R)(85/15)% (c) dans différents milieux.

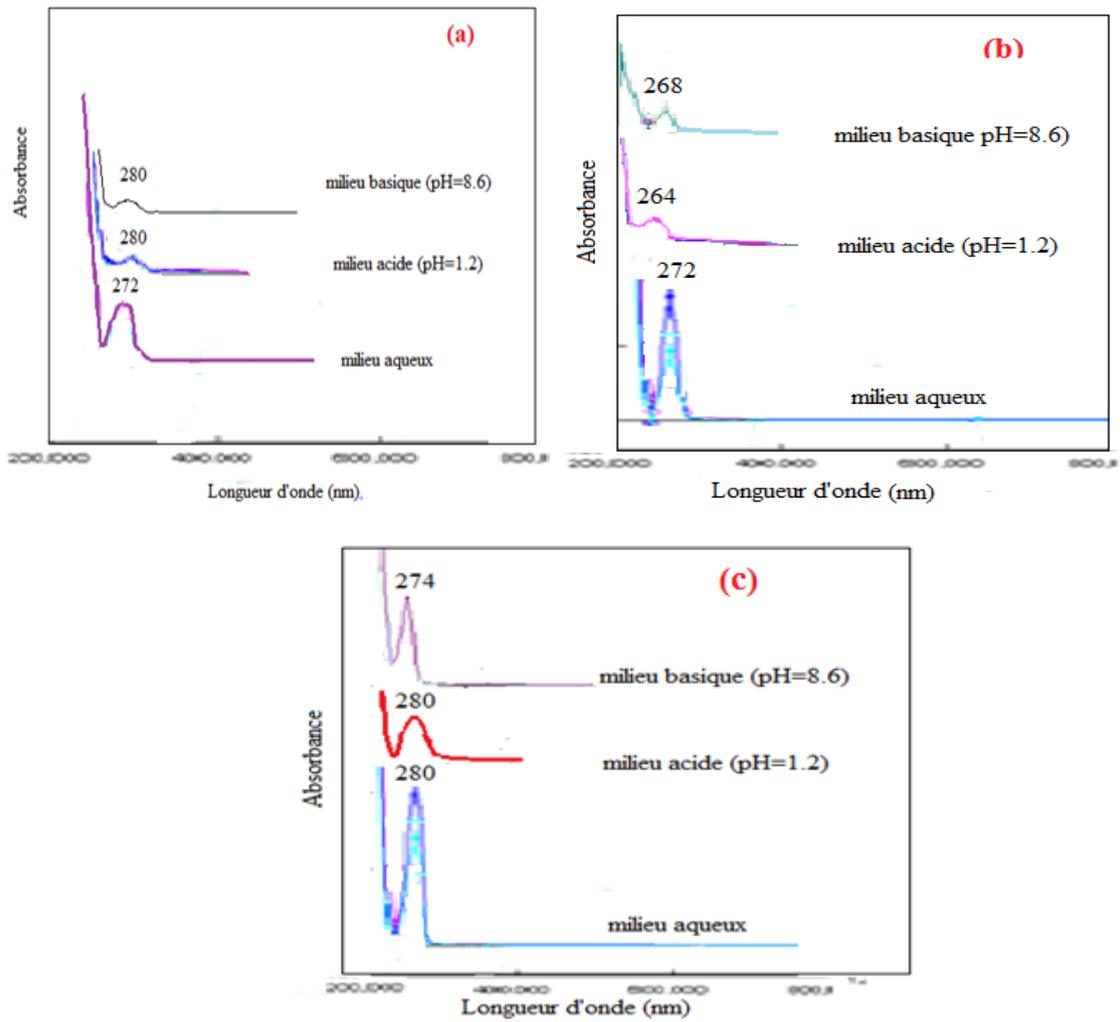


Figure A2.3 : Spectre d'absorption UV de la gélatine (a), la résorcine (b) et le mélange de (G/R)(85/15)% (c) réticulés par 0.5 % de GTA dans différents milieux.

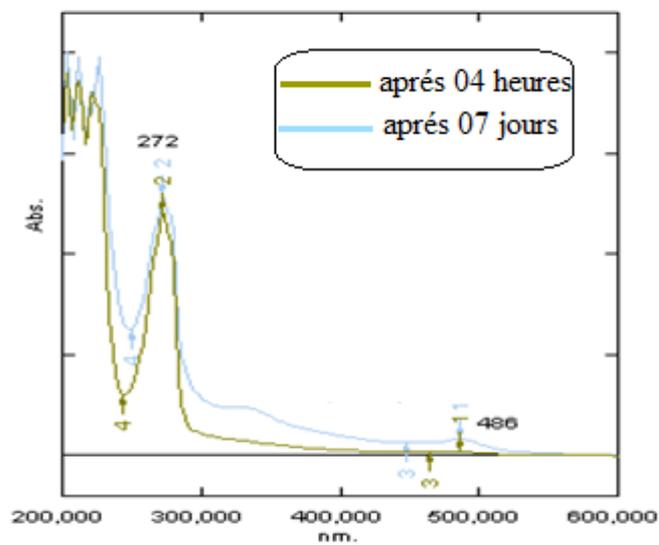


Figure A2.4 : Spectres d'absorption du résidu des films de (G/R) (85/15) % non réticulé. dans l'eau distillée.

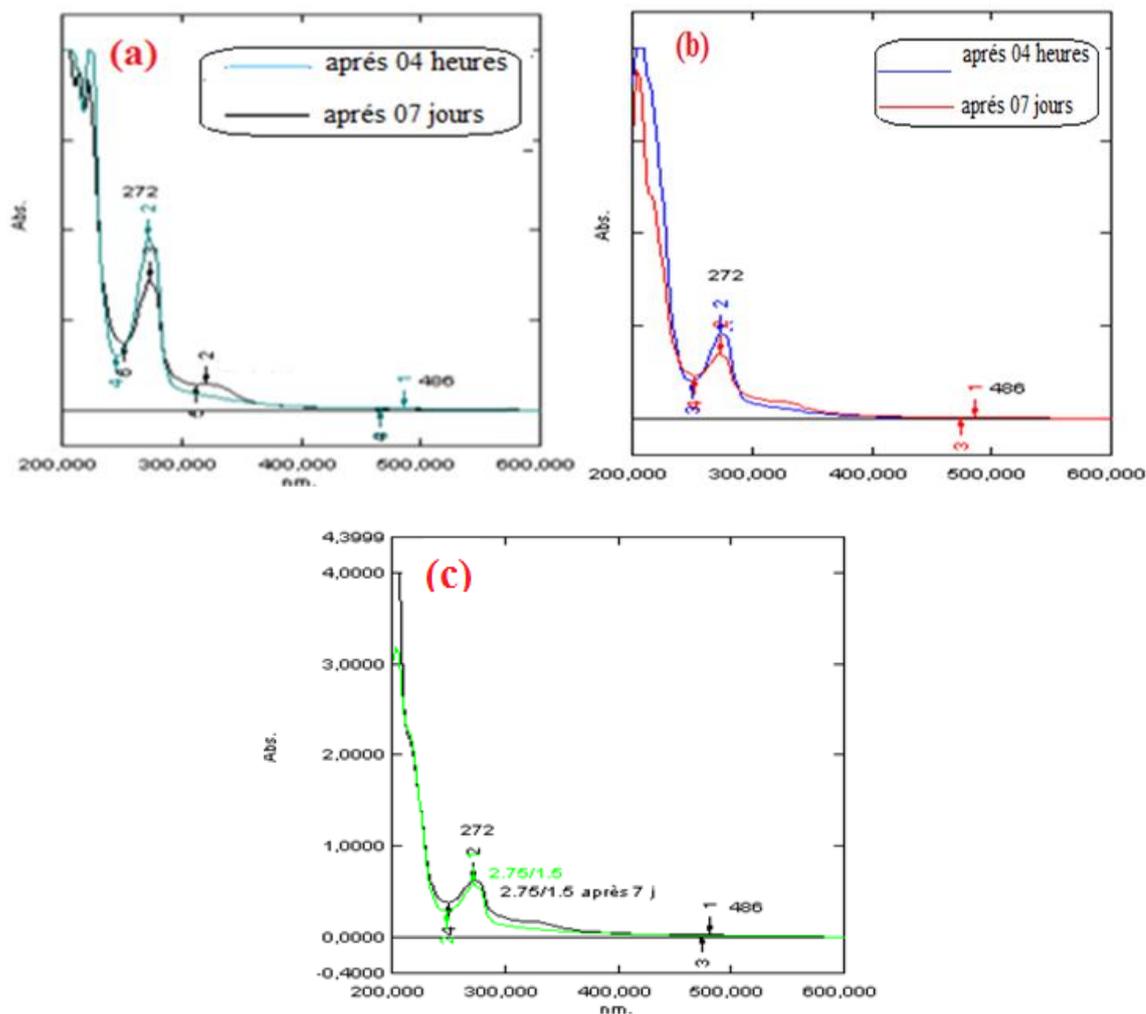


Figure A2.5 : Spectres d'absorption du résidu des films de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% (a), (G/R/GTA)(85/15/2.5)% (b) et (G/R/GTA)(85/15/1.5) % (c).

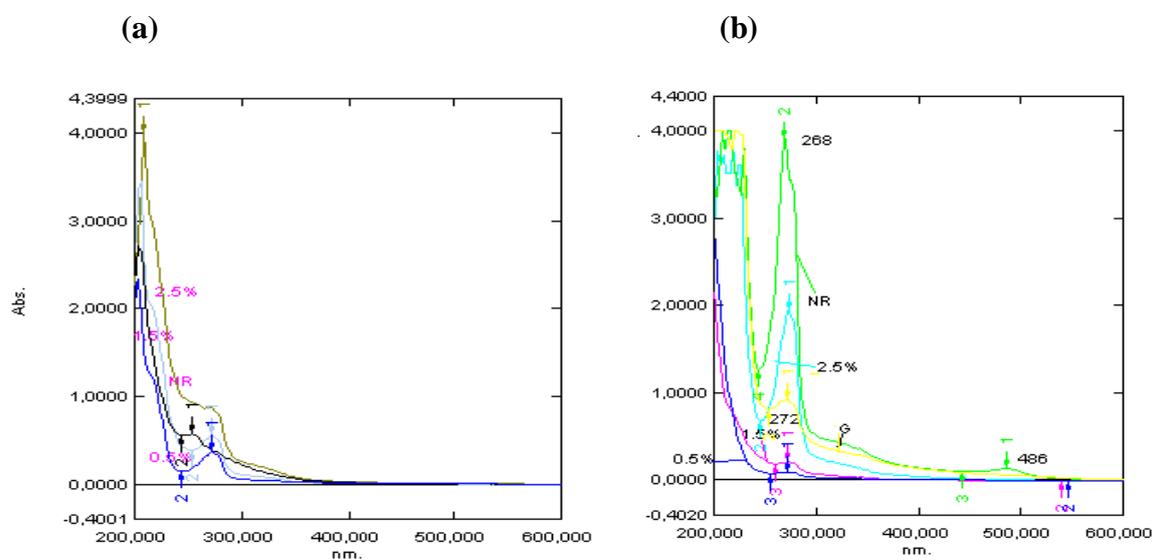


Figure A2.6 : Spectres d'absorption du résidu des film de (G/R)(85/15)% à différentes concentrations de réticulation ; à pH=1.2 (a) ; pH=7.4 (b).

Tableau A2.1 : Les valeurs du pH pour les films (G/R) à T= 25 °C **(a)** ; à T= 37°C **(b)**.
Dans l'eau distillée.

(a)

composition	t=4h					t=7 jour			
	L'eau distillé	M1 pH=1.2	M2 pH=7.4	M3 pH=6.8	M4 pH=8.6	L'eau distillé	M1 pH=1.2	M2 pH=7.4	M4 pH=8.6
(G/R/GTA)(90/10/0)%	6,55	0,79	7,33	6,66	9,1	7,15	-	-	-
(G/R/GTA)(90/10/0,5)%	7,92	0,77	7,37	6,15	9,25	6,76	-	-	-
(G/R/GTA)(90/10/1,5)%	7,72	0,75	7,88	6,68	8,95	6,72	-	-	-
(G/R/GTA)(90/10/2,5)%	7,81	0,55	7,47	6,57	9,42	6,65	-	-	-

(b)

composition	t=4h				t=7 jour				
	L'eau distillé	M1 pH=1.2	M2 pH=7.4	M3 pH=6.8	L'eau distillé	M1 pH=1.2	M2 pH=7.4	M3 pH=6.8	M4 pH=8.6
(G/R/GTA)(90/10/0)%	-	-	-	-	7,75	0,83	7,30	6,6	9,2
(G/R/GTA)(90/10/0,5)%	-	-	-	-	7,91	0,8	7,28	6,20	9,3
(G/R/GTA)(90/10/1,5)%	-	-	-	-	7,74	0,78	7,33	6,66	9,48
(G/R/GTA)(90/10/2,5)%	-	-	-	-	7,70	0,45	7,40	6,45	9,33

(-) : non mesuré.

Annexe 3 :
Courbes de traction.

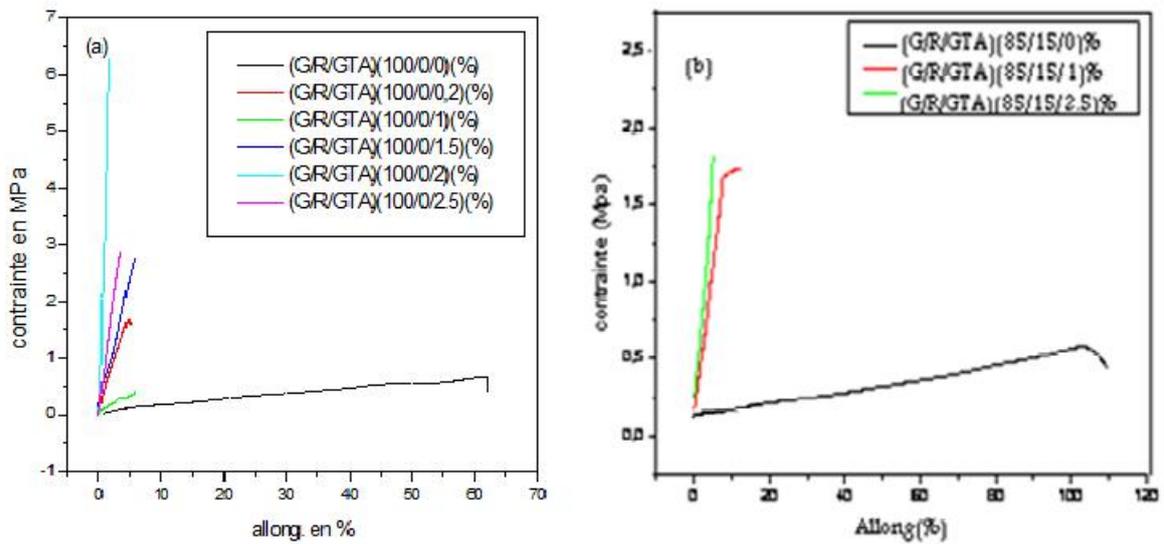


Figure A3.1 : Courbes contrainte –déformation des différents films à H.R.= 65-72,5%.

Tableau A3. 1 : Variation des caractéristiques mécaniques (σ , ϵ , E) des films de gélatine (a), (G/ R)(85/15)(%) réticulé (b) à H.R.= 65-72,5%

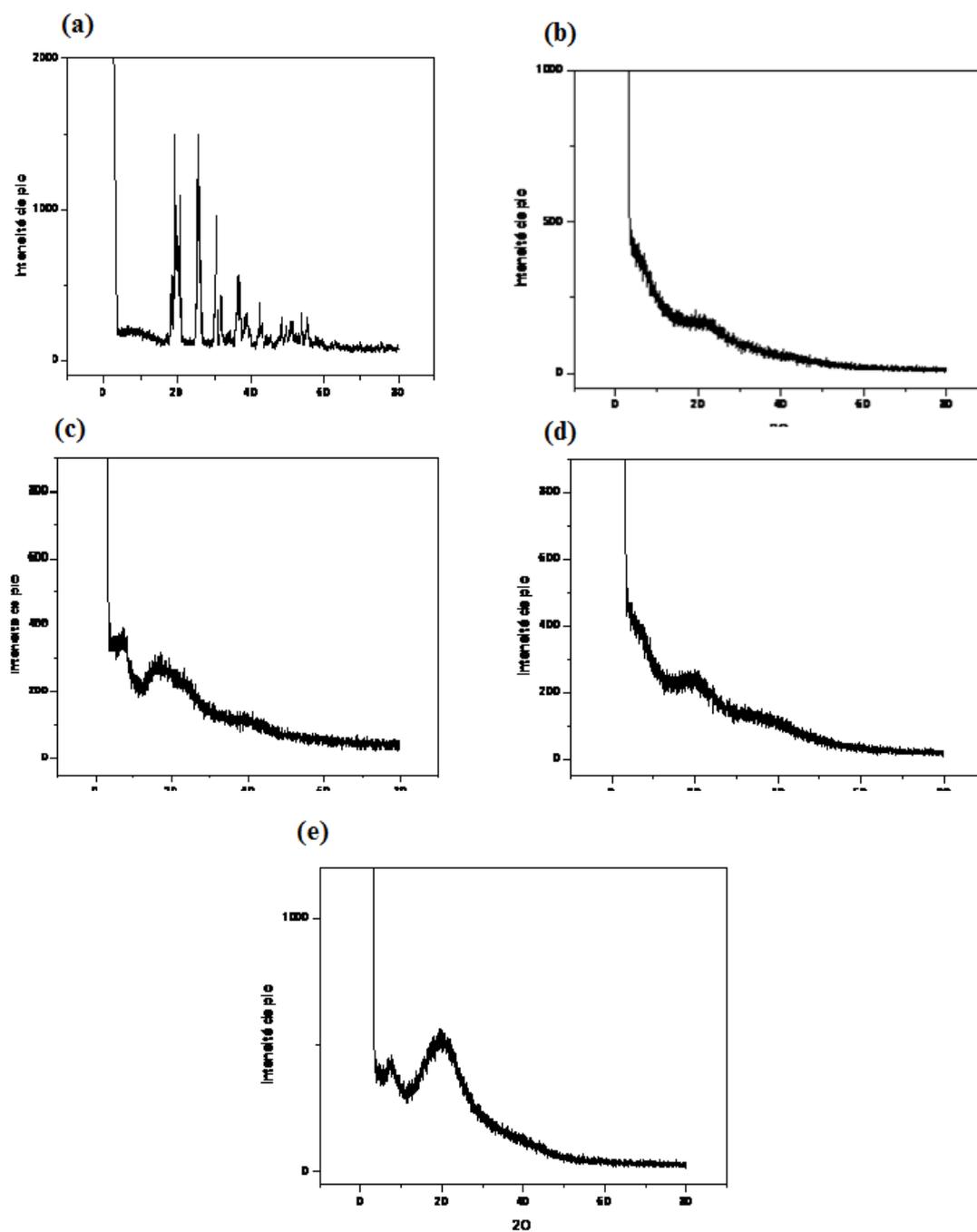
a)

[GTA]	0	0.2	1	1.5	2	2.5
σ (MPa)	0,75	1,58	0,4	2,88	6,2	2,79
ϵ (%)	54,72	5,53	5,8	6,16	1,57	4,2
E (MPa)	2,86	49,39	6,84	34,83	269,55	128,72

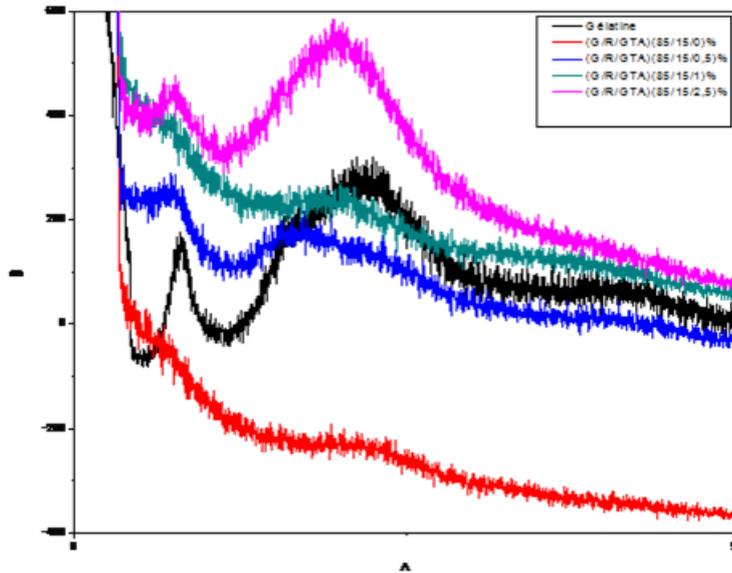
b)

[GTA]	0	0.5	2.5
σ (MPa)	0.38	0.69	0.70
ϵ (%)	107.05	54.85	21.31
E (MPa)	2.12	11.22	32.33

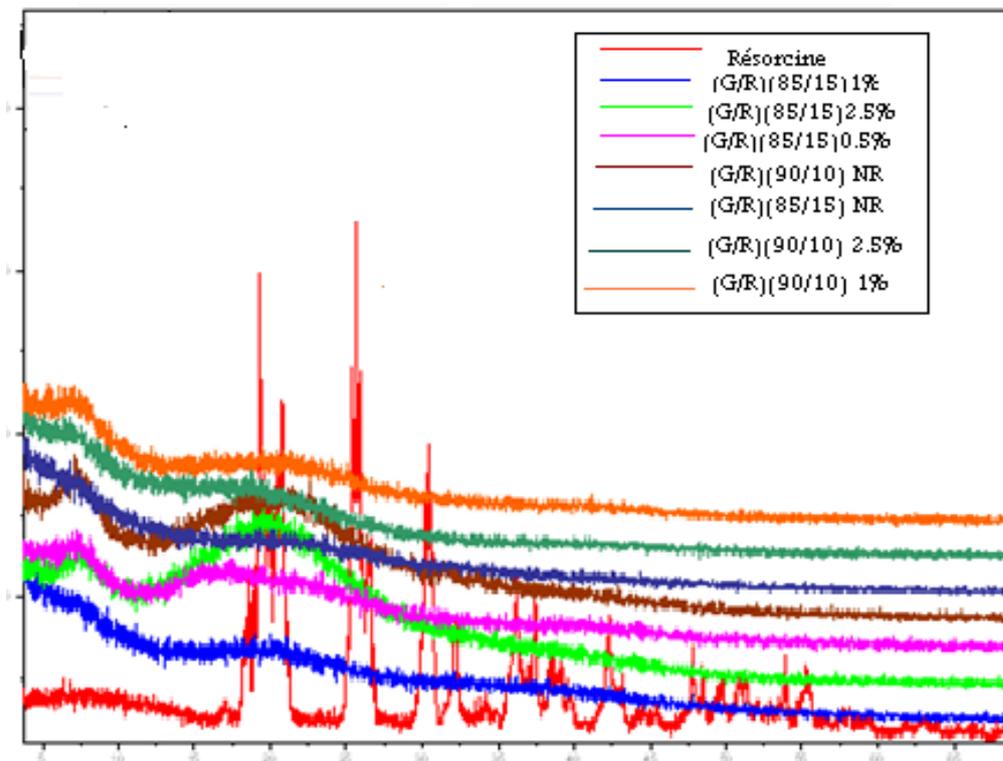
Annexe 4 :
Diffractogrammes des rayons X.



FigureA4.1 : Diagramme de diffraction des rayons X de la résorcine **(a)**,de (G/R)(85/15)% **(b)**,de (G/R/GTA)(85/15/0.5)% **(c)**, (G/R/GTA)(85/15/1)% **(d)** et (G/R/GTA) (85/15/2.5)% **(e)**



FigureA4.2 : Diagramme de diffraction des rayons X de la Gélatine et le mélange (G/R)(85/15)%.



FigureA4.3 : Diagramme de diffraction des rayons X de la résorcine , de (G/R)(85/15)% et de (G/R) (90/10)%.

Annexe 5 :
Thérmogrammes de DSC.

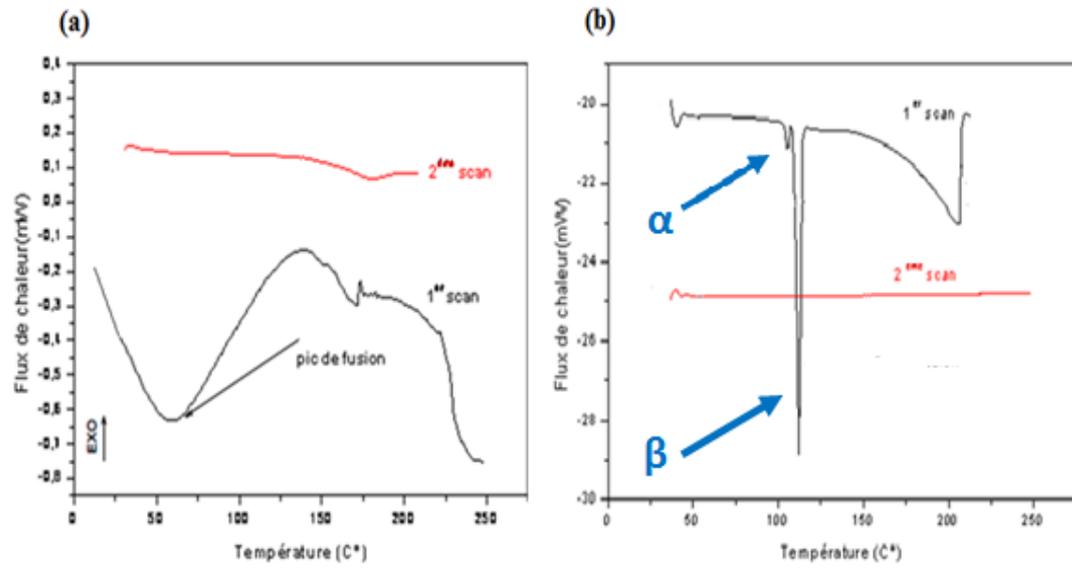
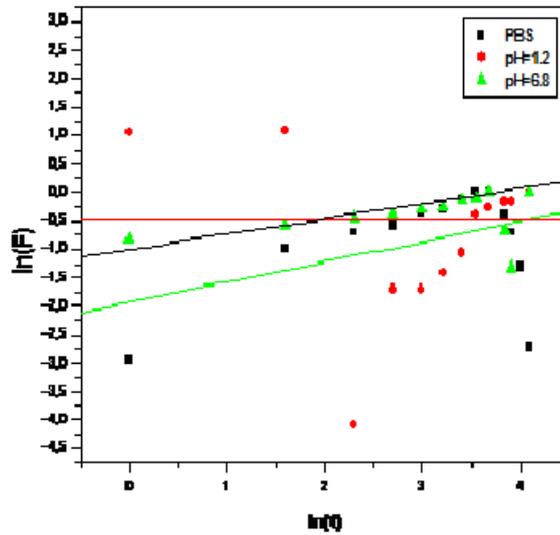


Figure A5.1 : Thermogrammes de DSC de la Gélatine (a), de la Résorcine (b).

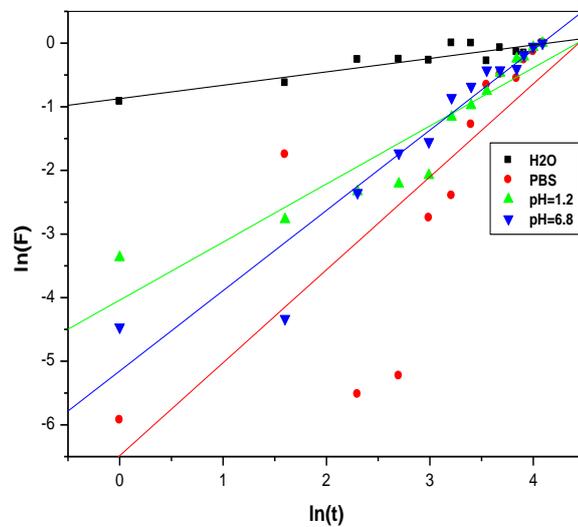
Annexe 6 :
Courbes de diffusion.



Figures A6.1: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de gélatine non réticulée à $T = 37C^\circ$.

Tableau A6.1 : Les paramètres cinétiques de gélatine non réticulée dans différents milieux à $T = 37C^\circ$.

composition	n	k	D (cm ² /s)	Re
Gélatine NR/ PBS	0.35	0.146	$3.39 \cdot 10^{-6}$	0.5
Gélatine NR/ pH = 1.2	0.49	0.61	$2.6 \cdot 10^{-6}$	0.91
Gélatine NR/ pH = 6.8	0.26	0.37	$2.2 \cdot 10^{-6}$	0.87



Figures A6.2: graphes de $\ln(F)$ en fonction de $\ln(t)$ des films de mélange (G/R)(85/15/0)%, à $T = 37C^\circ$.

Tableau A6.2 : Les paramètres cinétiques d'un mélange (G/R/GTA)(85/15/0)%
 Dans différents milieux à **T=37C°**.

composition	n	k	D (cm ² / s)	Re
(G/R) / l'eau distillée	0.21	0.41	1.13.10 ⁻⁶	0.92
(G/R) / PBS	0.46	0.0015	1.44.10 ⁻⁶	0.83
(G/R) / pH = 1.2	0.91	0.017	1.46.10 ⁻⁶	0.94
(G/R) / pH = 6.8	0.26	0.0057	1.99.10 ⁻⁶	0.97

ملخص

إن إضافة مادة الريسورسينول لمادة الجيلاتين تستعمل في هندسة الأنسجة و الجراحة خاصة في التشقق الشريان ، و هذه المادة الحيوية تخضع لتشابك كيميائي بالغلوتار ألدهيد لمنع ذوبانها.

التفاعلات الفيزيائية و الكيميائية تحققت بالأشعة تحت الحمراء (FT-IR) و الأشعة فوق البنفسجية (UV-Visible) تقنية انكسار الأشعة السينية (DRX).

تم تحديد درجتي تحول زجاجي والذوبان من خلال استعمال تقنية التفاضل المسح الحراري الكالوري متري (DSC) .

آلية الاختبارات الميكانيكية للشد بينت تأثير محتوى كل عنصر على غيره وتأثير درجة الرطوبة

عملية الانتفاخ في الأوساط الفيزيولوجية و آلية الانتشار قد حققت في مختلف الأوساط الفيزيولوجية.

الكلمات المفتاحية : الجيلاتين/ ريزورسين/غلوتار ألدهيد، الأشعة تحت الحمراء، الأشعة فوق البنفسجية ، الأشعة السينية التفاضل المسح الحر ، الاختبارات الميكانيكية ، الانتفاخ.

Résumé

La gélatine additionnée au résorcinol est sollicités en génie tissulaire et particulièrement en chirurgie pour le traitement des dissections aortiques aiguës. Le biomatériau subit néanmoins une réticulation chimique par le glutaraldéhyde pour empêcher son hydrosolubilité. Les interactions physique et chimique ont pu être mises au point par IR-TF, UV-visible et DRX. Les températures de transition vitreuse et de fusion ont été aussi déterminées par DSC. Les propriétés mécaniques de traction ont mis en évidence l'influence de chaque composant y compris celui du taux en humidité relative. L'étude du gonflement a été faite dans différents milieux physiologiques, ce qui a permis de mieux appréhender le mécanisme de diffusion.

Mots clefs : G/R/F, IRTF, UV-Vis, DSC, DRX, propriétés mécaniques, gonflement.

Summary

Gelatin added to the resorcinol being sought for tissue engineering and particularly in surgery for the treatment of acute aortic dissection. However, the biomaterial undergoes a chemical cross-linking with glutaraldehyde to prevent its hydrosolubilité. The physical and chemical interactions have been developed by FT-IR, UV-visible and XRD. The glass transition temperatures and melting were also determined by DSC. The mechanical properties of traction revealed the influence of each component including the rate of relative humidity. The study was made of the swelling in various physiological media, which helped to better understand the mechanism of diffusion.

Keywords: G / R / F, FTIR, UV-Vis, DSC, XRD, mechanical properties, swelling.