

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE NANTES
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 602
Sciences pour l'Ingénieur
Spécialité : *Génie des Procédés et Bioprocédés*

Par

Laurent CHAUNIER

Matériaux thermoplastiques à base de biopolymère pour leur impression 3D par dépôt de fil fondu

Thèse présentée et soutenue publiquement à ONIRIS-Site Géraudière, Nantes, le 6 septembre 2019

Unités de recherche : **GEPEA, UMR-CNRS-6144, St-Nazaire**
BIA, UR-INRA-1268, Nantes

Rapporteurs avant soutenance :

Mme Valérie NASSIET	Professeur, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Tarbes
Mme Sandra DOMENEK	Maître de Conférences HDR, AgroParisTech, Massy

Composition du Jury :

Président :	M. Steven LE CORRE	Professeur, Université de Nantes
Examineurs :	M. Christian CARROT Mme Lydie VIAU	Professeur, Université Jean Monnet, Saint-Etienne Chargée de Recherche HDR, CNRS, Besançon
Dir. de thèse :	M. Eric LEROY	Chargé de Recherche HDR, CNRS, St-Nazaire
Co-dir. de thèse :	M. Denis LOURDIN	Directeur de Recherche, INRA, Nantes
Co-encadrant de thèse :	M. Guy DELLA VALLE	Ingénieur de Recherche HDR, INRA, Nantes

A Virginie, Lily et Candice.

Le Maïs,

*Posséder dans un pays une plante qui prépare la terre pour le blé, nourrit les habitants
et dont les feuilles sont propres à engraisser les animaux, c'est posséder un trésor.*

In : Bonafous, M., 1833. *Traité du Maïs, ou Histoire Naturelle et Agricole
de cette céréale.* Société Royale et Centrale d'Agriculture, Paris

Remerciements

Tout d'abord je remercie les membres de mon jury de thèse, Valérie Nassiet et Sandra Domenek de m'avoir fait l'honneur de rapporter ce mémoire, ainsi que Christian Carrot, Steven Le Corre et Lydie Viau. Merci aux membres de mon comité de suivi de thèse, Jean-Yves Hascoet et Yves Grohens pour avoir contribué à l'avancement de ce travail.

Je tiens ensuite à remercier Guy Della Valle et Marc Anton qui ont permis l'aménagement de mon temps de travail à BIA, afin de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions. Merci aussi à Jack Legrand et Jérémy Pruvost de m'avoir accueilli au GEPEA.

Je remercie particulièrement mes trois encadrants, Eric Leroy, Denis Lourdin et Guy, pour leur implication permanente dans la direction de cette thèse, leur patience et leur rigueur scientifique, dont j'ai pu bénéficier tout au long de la réalisation de ce travail.

Cette thèse m'a permis d'initier et de poursuivre des collaborations avec des personnes remarquables qui m'ont accompagné dans ce projet.

Je tiens donc à remercier tout d'abord les membres de BIA sur lesquels j'ai pu compter : Roselyne, qui « veille » sur mes manip depuis le début ; Sofiane, modélisateur hors pair ; Anne-Laure, qui mettra toujours la couleur rouge à bâbord et vert à tribord sur une image (pour les terriens, ou les non-bretons, je voulais dire « gauche » et « droite », respectivement) ; Michèle, la « pro » de l'électrophorèse et de la chromatographie, qui m'a tellement appris sur ces sujets ; André, devant un extracteur Soxhlet, comme à la pêche en mer, il ne craint personne ; Didier, le « boss » des protéines ; Bruno, le roi du X... non, je ne commenterai pas ; Xavier, un vrai « spin doctor » ; David, en math il roule sa bosse ; et Patrice, capable de réaliser un super-prototype sur la base de mes gribouillis infâmes dessinés sur un coin de feuille froissée.

Je remercie également les membres du GEPEA à Carquefou, Nantes et Saint-Nazaire, notamment Sofiane et Yannick, qui trouvera toujours le moyen de mettre le thermocouple qu'il faut, là où il le faut, Sylvie, Delphine, Anthony et Estelle, qui m'a appris à déposer le plus délicatement possible une « goutte sessile ».

Je tiens aussi à remercier Benoît du LOMC, qui m'a montré à quel point au Havre on savait recevoir, ainsi que Yves-Marie et Erwan du plateau technique ComposiTIC de l'UBS-Lorient pour m'avoir fait bénéficier de leur maîtrise des procédés de fabrication additive.

Ces années de thèse m'ont aussi amené à côtoyer les doctorants de différents laboratoires, notamment au GEPEA et à BIA, avec lesquels il a toujours été sympathique de travailler et de partager nos points de vue sur la thèse. Je pense en particulier à Antoine, à l'IUT, ainsi qu'à Véronica, Imen et Mélissa, ma super-collègue de bureau, avec qui ce fût un plaisir de partager mon stock de « Cocobat-Réglisse ». Je leur souhaite à tous un très bel avenir, ainsi qu'à Kévin que j'ai eu la chance d'encadrer durant son stage de Master à l'INRA et dont le travail a été remarquable.

Enfin, je tiens à remercier mes trois « girls », Virginie, Lily et Candice, pour leur amour et leur soutien inconditionnel.

Table des matières

Introduction générale.....	5
Chapitre I : Travaux antérieurs et positionnement du sujet de thèse	9
Introduction	10
I.1. Le procédé de fabrication additive par dépôt de fil fondu (FA-DFF) : un procédé adapté à certains polymères thermoplastiques	10
I.1.1. Un procédé de fabrication additive	10
I.1.2. Du modèle CAO à la pièce imprimée en 3D.....	11
I.1.3. Principales étapes en FA-DFF et propriétés des matériaux imprimables 3D	12
I.2. Eléments retenus pour un cahier des charges matière pour le procédé FA-DFF	25
I.3. La zéine plastifiée, un biopolymère modèle pour la formulation de matériaux adaptés au procédé FA-DFF ?	25
I.3.1. L'amidon et les protéines : des biopolymères thermoplastifiables	26
I.3.2. La zéine : une protéine thermoplastifiable issue du maïs	28
I.3.3. Adéquation du comportement thermomécanique et rhéologique au cahier des charges matière en FA-DFF	33
I.4. Conclusions de l'étude bibliographique et positionnement de l'étude expérimentale	37
Chapitre II : Elaboration et méthodes de caractérisation des matériaux à base de zéine	41
Introduction	42
II.1. Matières premières et formulations	42
II.1.1. Matériaux thermoplastiques standards en FA-DFF	42
II.1.2. Zéine, plastifiants et matériaux étudiés.....	42
II.2. Etude de la transformation de la zéine à l'état fondu et comportement rhéologique.....	45
II.2.1. Extrusion et rhéométrie en ligne sur un micro-mélangeur bi-vis	45
II.2.2. Rhéométrie en régime dynamique	48
II.2.3. Essai de faisabilité en FA-DFF.....	50
II.3. Caractérisation moléculaire et structurale.....	51
II.3.1. Electrophorèse SDS-PAGE	51
II.3.2. Chromatographie Liquide à Haute performance par filtration sur gel.....	53
II.3.3. Diffraction, ou diffusion (matériau amorphe), de rayons X aux grands Angles (WAXS)	54
II.3.4. Spectroscopie RMN du solide (CP-MAS).....	55
II.4. Propriétés thermiques et thermomécaniques	57
II.4.1. Mesure des teneurs en eau et des températures de décomposition par thermogravimétrie (ATG).....	57

II.4.2. Détermination des transitions thermiques par Analyse Enthalpique Différentielle (AED).....	57
II.4.3. Mesure de la diffusivité thermique	58
II.4.4. Détermination des propriétés thermomécaniques par analyse thermomécanique dynamique (ATMD)	59
II.5. Détermination des propriétés de surface et étude de la fusion-adhésion	62
II.5.1. Mesure de l'énergie libre de surface à l'état solide (méthode de la goutte sessile).....	62
II.5.2. Etude du frittage visqueux de filaments extrudés et cinétique de fusion-adhésion	64
II.6. Comportement en milieu physiologique simulé à 37°C	68
II.6.1. Mesures thermomécaniques sur échantillons immergés.....	68
II.6.2. Test de relargages de composés actifs	69
II.7. Conclusion	70
Chapitre III : Propriétés thermo-rhéologiques et évolution de la structure moléculaire de la zéine plastifiée par le glycérol.....	71
Introduction	72
III.1. Comportement thermique et thermomécanique de la zéine plastifiée.....	72
III.1.1. Transition vitreuse et stabilité thermique	72
III.1.2. Comportement thermomécanique et propriétés thermiques	76
III.1.3. Expansion thermique.....	78
III.2. Comportement rhéologique et évolution de la structure moléculaire de la zéine plastifiée	79
III.2.1. Propriétés rhéologiques des fondus en régime établi	79
III.2.2. Comportement rhéologique en régime dynamique	81
III.2.3. Agrégation et évolution de la structure moléculaire de la zéine.....	90
III.3. Tension de surface de la zéine plastifiée	98
III.4. Conclusions : Adéquation de la zéine plastifiée par le glycérol au cahier des charges FA-DFF 101	
Chapitre IV : Comportement de la zéine plastifiée par le glycérol dans les conditions du procédé FA-DFF	103
Introduction	104
IV.1. Etape d'alimentation/extrusion	104
IV.1.1. Essai d'alimentation d'une imprimante FA-DFF standard	104
IV.1.2. Caractérisation moléculaire avant et après dépôt en FA-DFF	105
IV.2. Etape d'adhésion par soudage : Approximation du frittage visqueux isotherme	111
IV.2.1. Etat initial des filaments.....	111
IV.2.2. Essais de frittage visqueux en conditions isothermes	112
IV.2.3. Estimation du temps caractéristique de frittage visqueux.....	115
IV.2.4. Discussion	116
IV.3. Simulation du frittage visqueux en conditions de dépôt anisotherme	119

IV.3.1. Refroidissement du fondu en sortie de filière en FA-DFF	119
IV.3.2. Simulation de la coalescence	122
IV.4. Conclusions	124
Chapitre V : Etude de formulations alternatives : additifs et plastifiants fonctionnels.....	127
Introduction	128
V.1. Combinaison du glycérol avec d'autres additifs.....	128
V.1.1. Co-plastification par des acides gras	128
V.1.2. Ajout d'un composé chimique réducteur, ou dénaturant.....	133
V.2. Plastification de la zéine par des liquides ioniques	140
V.2.1. Propriétés thermomécaniques et comportements rhéologiques.....	140
V.2.2. Evolution des propriétés rhéologiques et de la structure moléculaire des matériaux	146
V.2.3. Etude de cas du relargage de [Lidocaïne][Ibuprofène] à partir d'un filament extrudé ...	151
V.3. Conclusions	155
Conclusion générale et perspectives.....	157
Communication et valorisation des résultats obtenus au cours de la thèse.....	163
Références bibliographiques.....	165
Annexes	185

Introduction générale

L'essor des technologies de Fabrication Additive (FA) a été présenté comme le début d'une nouvelle révolution industrielle. Si tel est le cas, cette famille de procédés de mise en forme permettant la réalisation de pièces à partir d'un modèle numérique en trois dimensions devra nécessairement s'adapter à un grand nombre de matières premières, et en particulier celles de demain. Parmi celles-ci, les polymères naturels constituent une opportunité : Ils sont en effet généralement comestibles et/ou biocompatibles, ce qui permet d'envisager le développement d'applications de la FA non seulement sous forme de matières plastiques biosourcées et biodégradables, mais aussi dans le secteur alimentaire ou biomédical. Néanmoins, leur mise en œuvre par les procédés de FA mis au point pour des matières plastiques répondant à un cahier des charges souvent très discriminant est aussi un défi.

C'est ce défi que propose d'aborder le présent travail, en considérant un couple procédé FA/biopolymère modèle : La zéine, une protéine du maïs actuellement disponible comme coproduit de l'amidonnerie, a été choisie pour tenter de formuler, caractériser et mettre en œuvre des bioplastiques par le procédé de Fabrication Additive par Dépôt de Fil Fondu (FA-DFF).

Parmi les procédés de FA existants adaptés aux polymères thermoplastiques, le procédé FA-DFF est l'un des plus répandu, au point qu'il est souvent associé au terme générique d'impression 3D par le grand public. Ce procédé consiste à juxtaposer et superposer des couches d'un filament de polymère thermoplastique à l'aide de la buse d'extrusion thermo-régulée de l'imprimante. La réussite du procédé d'impression dépend de différents facteurs en interaction : le comportement thermorhéologique du matériau, ses propriétés d'adhésion et le pilotage de l'imprimante (*i.e.*, les paramètres du procédé : température, vitesse de dépôt, ...). Les matériaux classiquement utilisés, tels que l'ABS (pétrosourcé) et le PLA (biosourcé), sont déposés à des températures de l'ordre de 200°C *a minima*, très supérieures à leurs températures de transition vitreuse, de l'ordre de 100°C et 60°C, respectivement. Cela permet leur écoulement dans la buse, puis leur adhésion par soudage thermoplastique à la couche précédemment déposée et leur rigidification lors du refroidissement.

Le PLA est un bio-polyester issu de la chimie verte qui s'est imposé en prototypage rapide de pièces réalisées à façon par FA-DFF, grâce à ses propriétés intrinsèques permettant sa mise en œuvre par ce procédé. Ses caractères biosourcé et biodégradable sont aussi un avantage. Dès lors, deux problématiques se posent :

- De l'éventuelle ouvrabilité d'autres polymères biosourcés par FA-DFF, en particulier les polymères naturels tels que la zéine qui nécessitent une formulation adaptée,

- Des applications potentielles qui en découlent, l'obtention à *façon* de pièces imprimées 3D fonctionnelles, notamment comestibles et biorésorbables, étant un développement récent des techniques de FA dédiées classiquement au prototypage rapide.

Ce travail de thèse a pour ambition d'apporter des réponses à ces problématiques, à partir de l'étude des interactions matériau-procédé-produit lors des phases d'écoulement, d'adhésion et de rigidification dans les conditions du procédé qui seront modélisées à l'aide de dispositifs représentatifs (*e.g.*, rhéomètre, extrudeuse et micro-mélangeur thermo-régulés) et d'optimiser en retour la formulation du matériau.

Dans le premier chapitre de ce mémoire, nous présenterons un état de l'art des connaissances des phénomènes physiques en jeu dans le procédé FA-DFF et de la thermoplastification de polymères naturels (Fig. 1). Cette étude permettra l'établissement d'un cahier des charges matière auquel nous verrons que la zéine du maïs plastifiée est susceptible de répondre.

Les travaux réalisés au cours de la thèse qui seront présentés dans les chapitres suivants nous permettront de confronter cette hypothèse de travail à l'expérience.

Après avoir présenté l'ensemble des méthodologies expérimentales mises en œuvre au chapitre II, nous commencerons par caractériser de manière détaillée une formulation modèle de zéine plastifiée par le glycérol, afin de disposer de l'ensemble des propriétés du cahier des charges matière. A l'issue du chapitre III, nous serons ainsi en mesure de les comparer à celles de polymères synthétiques (ABS et PLA) standards pour le procédé FA-DFF. L'évolution structurale de la zéine à l'état fondu, spécifique à ce type de matière première fera l'objet d'une étude particulière. Nous verrons en quoi elle constitue un facteur limitant de son ouvrabilité.

Le quatrième chapitre sera consacré à l'étude du comportement de la formulation sélectionnée (zéine plastifiée par 20% de glycérol) dans les conditions du procédé FA-DFF. Nous verrons en quoi son comportement se rapproche de celui de l'ABS, pour ce qui est de l'adhésion à chaud des couches déposées, mais nécessite une adaptation du procédé FA-DFF standard afin de permettre un dépôt à l'état fondu. Enfin, un dernier chapitre plus exploratoire sera consacré à l'étude de formulations alternatives à la plastification de la zéine par le seul glycérol, à la fois pour améliorer l'ouvrabilité du biopolymère en FA et pour formuler des matériaux adaptés à des applications biomédicales. Pour cela, parallèlement à l'étude de co-plastifiants amphiphiles et d'additifs pour modifier l'évolution structurale du biopolymère à l'état fondu, nous chercherons à évaluer l'apport de liquides ioniques comme plastifiants fonctionnels pouvant inclure des principes actifs pharmaceutiques.

Cela nous permettra de conclure ce mémoire en proposant des perspectives de mise en œuvre de la zéine en FA-DFF pour l'élaboration d'objets aux propriétés fonctionnelles inaccessibles aux polymères synthétiques standards (*e.g.*, matrices comestibles pour la libération contrôlée de principes actifs dans le domaine pharmaceutique, ou biomédical).

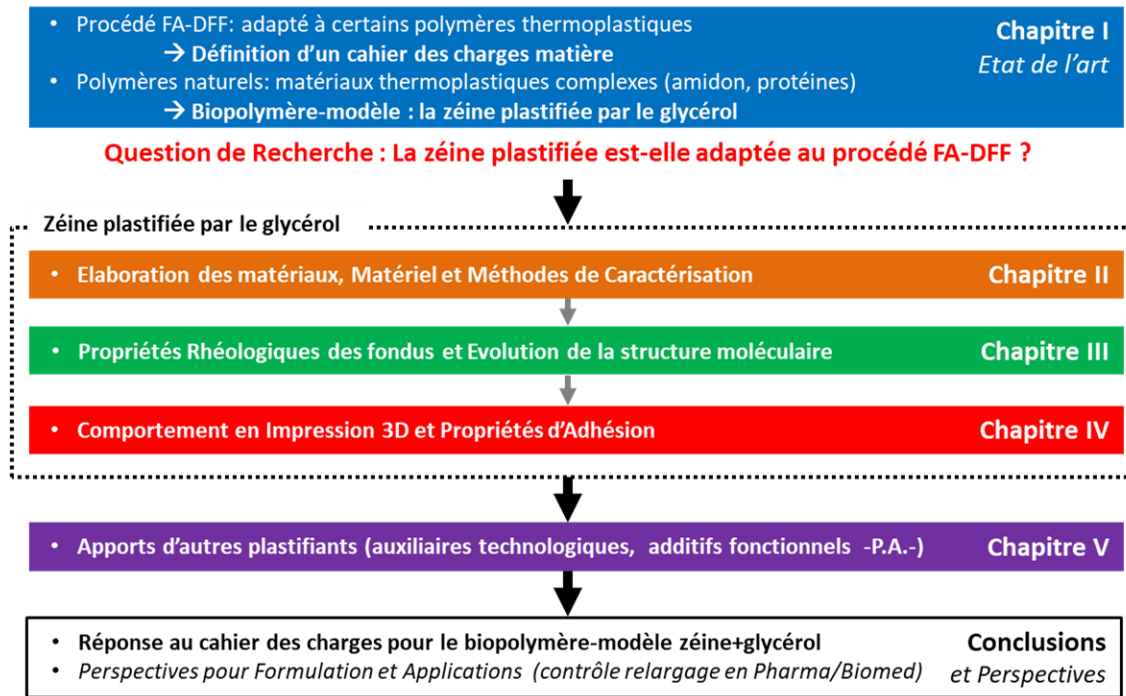


Figure 1. Représentation schématique du plan du mémoire de thèse

Chapitre I : Travaux antérieurs et positionnement du sujet de thèse

Chapitre I

Introduction

Dans ce premier chapitre, nous allons d'abord présenter un état des connaissances sur le procédé de Fabrication Additive par Dépôt de Fil Fondu (FA-DFF), en développant particulièrement les phénomènes physiques mis en jeu lors de l'impression 3D de polymères thermoplastiques. L'objectif est d'établir un « cahier des charges matière » correspondant aux spécificités du procédé. Ensuite, ce cahier des charges sera utilisé pour la sélection du biopolymère thermoplastique retenu pour l'étude expérimentale présentée dans les chapitres suivants. Nous verrons en quoi la zéine, une protéine du maïs, présente un intérêt particulier à la fois en tant que biopolymère modèle au regard du cahier des charges établi et en termes d'applications potentielles de la fabrication additive aux biopolymères. Nous présenterons une analyse détaillée de la bibliographie portant sur sa structure native, sa plastification et ses propriétés thermo-rhéologiques. Cette analyse nous permettra de définir les moyens à mettre en œuvre pour l'étude de la mise en forme de la zéine à l'état fondu et pour la caractérisation (structure et propriétés) des formulations étudiées au cours de la thèse.

I.1. Le procédé de fabrication additive par dépôt de fil fondu (FA-DFF) : un procédé adapté à certains polymères thermoplastiques

I.1.1. Un procédé de fabrication additive

La fabrication additive (FA), ou impression 3D (trois dimensions spatiales), englobe l'ensemble des technologies d'adhésion de matière pour la production d'un objet, couche-par-couche, à partir d'un modèle numérique tridimensionnel (ASTM International, 2012). A l'origine, ce concept s'oppose par son principe aux procédés de fabrication conventionnels, tels que l'usinage pour lequel la pièce finie est obtenue par soustraction de matière à partir d'un bloc initial pour les matériaux métalliques notamment (Conner *et al.*, 2014) et aux procédés de moulage par injection pour les matériaux polymères.

Les principaux procédés de FA ont été mis au point dans un objectif de prototypage rapide à partir de matières plastiques, ou de métaux, depuis les années 1980 (Yan et Gu, 1996 ; Pham et Gault, 1998). Parmi les procédés de FA de polymères, le procédé par Dépôt de Fil Fondu (procédé FA-DFF) permet le dépôt d'un matériau à l'état fondu préalablement extrudé sous la forme d'un filament thermoplastique. Comme pour d'autres techniques de fabrication sans moule, tel que la SFF, Solid Freeform Fabrication (Wang *et al.*, 2005 ; Sidambe, 2014), le matériau s'écoule au travers de la buse de l'imprimante. Il doit ensuite adhérer à la couche précédemment déposée, puis rapidement se rigidifier lors de son refroidissement. La pièce finie solide est ainsi progressivement mise en forme. Une caractéristique essentielle du « cahier des charges matière » sera donc la capacité du matériau à

être thermoplastique. Toutefois, peu de biopolymères possèdent cette propriété et relativement peu de polymères thermoplastiques sont adaptés au procédé FA-DFF. De plus en plus de matières sont formulées spécifiquement pour ce procédé, mais seuls deux thermoplastiques sont largement utilisés : l'acrylonitrile-butadiène-styrène (ABS) et le poly(acide lactique) (PLA). Nous utiliserons ces matériaux comme références pour établir notre cahier des charges matière. Le PLA s'est imposé comme un matériau d'utilisation très variée pour la formulation de filaments destinés à la FA-DFF, avec l'avantage d'être biosourcé et biodégradable (Vogel *et al.*, 2012 ; Hwang *et al.*, 2016 ; Liu *et al.*, 2019). Il s'agit donc d'un cas intéressant où un bioplastique est devenu incontournable pour une application, du fait de ses propriétés intrinsèques.

Le procédé de FA-DFF nécessite l'écoulement du fondu, il diffère nettement des autres procédés de FA qui pourraient être appliqués à des biopolymères. La plus ancienne technique de FA, la stéréolithographie (SLA, StereoLithography Apparatus), basée sur le principe de la photopolymérisation de monomères est difficile à envisager pour des polymères biosourcés (Chia et Wu, 2015). D'autres technologies, répandues dans le domaine biomédical afin d'obtenir des matériaux biofonctionnels ont été appliquées avec succès à des biopolymères : le 3D-Biplotting (Pfister *et al.*, 2004) et le 3D-Printing (Pfister *et al.*, 2004 ; Lam *et al.*, 2002). Le 3D-Biplotting est basé sur le dépôt d'un matériau comme en FA-DFF, typiquement sous forme d'une solution visqueuse, qui est déposée dans un milieu physiologique liquide à une température proche de l'ambiante. En revanche, pour le 3D-Printing (3DP) (Chia et Wu, 2015 ; Lam *et al.*, 2002), le matériau est initialement sous forme pulvérulente et un liant liquide est utilisé : une buse, similaire à celle d'une imprimante à jet d'encre, est déplacée au-dessus du lit de poudre et permet l'agrégation des particules pendant l'aspersion du liant. Pour de telles matières premières sous forme de poudres, une autre technologie de FA très répandue, applicable à des biopolymères, est le frittage laser ou « Selective Laser Sintering » (SLS) (Chia et Wu, 2015). Dans cette technique, l'agglomération des particules est obtenue par leur fusion-adhésion locale sous l'impact d'un faisceau laser. Le reste des particules non-fusionnées du lit de poudre peut être recyclé une fois, ou deux, puis doit être remplacé, ce qui conduit à une perte de matière première assez importante par comparaison avec la FA-DFF où seulement la quantité nécessaire est fondue, puis extrudée.

1.1.2. Du modèle CAO à la pièce imprimée en 3D

L'utilisation croissante de la FA-DFF est principalement due à son adaptabilité dans la conception virtuelle des pièces. L'un des avantages principaux de la FA en général est le passage rapide de la conception à la fabrication d'un objet. Le procédé paraît comme un chemin direct depuis un fichier CAO, ou une image scannée, aux pièces imprimées 3D. Il permet ainsi des applications pour des pièces mécaniques avec des structures optimisées (Belter et Dollar, 2015), mais aussi dans le domaine biomédical (Pfister *et al.*, 2004 ; Lam *et al.*, 2002), notamment pour des pièces fonctionnelles telles que des implants médicaux (Hoque *et al.*, 2011 ; Ventola, 2014). De manière générale, les

procédés de FA sont particulièrement visés pour ces applications médicales à haute valeur ajoutée, en particulier l'ingénierie tissulaire. Ils permettent d'élaborer des matrices poreuses et d'obtenir des matériaux architecturés proches des structures naturelles des tissus ciblés pour la création de dispositifs implantables et la fabrication d'orthèses et de prothèses à façon (Wegst *et al.*, 2015 ; Yeong *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2016).

Dans le secteur pharmaceutique, la FA-DFF peut aussi être intéressante pour l'obtention de médicaments avec une porosité spécifique permettant le contrôle du relargage de principes actifs : la densité est modulée par le choix des motifs de dépôt pendant le remplissage, ou par le dépôt de couches d'enrobage en surface (Khaled *et al.*, 2014 ; Kempin *et al.*, 2017). Par exemple, la densité de remplissage d'une pièce soluble fabriquée en poly(vinyl alcohol) (PVA) permet de contrôler la cinétique de relargage d'une molécule-modèle (*i.e.*, la fluorescéine) dans un milieu simulant les conditions physiologiques : la totalité de la molécule est relarguée en moins de 6 h lorsque la densité de remplissage est de 10 %, et en 10 h lorsque la densité est de 50 % (Goyanes *et al.*, 2014).

Comparé au procédé de liage de poudre (par frittage, ou dépôt de liant), le procédé de FA-DFF permet d'imprimer des pièces avec des dimensions précises, avec très peu de perte de matière première et sans post-traitement par chauffage, une fois la pièce rigide imprimée. De plus, c'est une technologie polyvalente, avec la possibilité d'applications à de nombreux matériaux pourvu qu'ils puissent être mis en œuvre à l'état fondu. Néanmoins, la polyvalence des procédés de FA-DFF repose sur deux propriétés d'importance : le contrôle de l'imprimante et le comportement du matériau durant son impression 3D.

La conversion de modèles numériques en commandes de pilotage de l'imprimante (*e.g.*, déplacement, ordre de dépôt de matière), qu'ils soient issus de fichiers de conception de pièces (CAO) ou d'images 3D (tomographie) ne sera pas discutée en détail dans ce travail. Cette opération suit la génération d'un maillage de la structure 3D à imprimer (Yan et Gu, 1996) et sa division en plans parallèles correspondant aux couches imprimées pendant la fabrication de l'objet. Le fichier de base qui donne la surface d'un objet en trois dimensions est un format standard STL (Standard Tessellation Language), mis au point initialement pour la stéréolithographie et répandu de nos jours dans la plupart des technologies d'impression 3D. Ce fichier est interprété par un logiciel-trancheur (« slicer software») du système de pilotage de l'imprimante 3D qui engendre une succession de plans de dépôt de matière (x, y), de contours (*i.e.*, le nombre d'enveloppes de la pièce et leur épaisseur), ainsi que le motif de remplissage (*e.g.*, nid d'abeille, rectilinéaire, ou concentrique), qui, une fois superposés (en suivant l'axe vertical de dépôt, z) permet de constituer la pièce finie.

1.1.3. Principales étapes en FA-DFF et propriétés des matériaux imprimables 3D

La figure I.1 montre une représentation schématique des étapes clés du procédé FA-DFF que l'on retrouve couramment sous la dénomination commerciale « FDM », Fused Deposition Modeling.

Le procédé commence par l'alimentation en filament extrudé, avec un diamètre typique $\varnothing_{\text{filament}}$ de 1,7 ou 3 mm, selon le modèle d'imprimante 3D.

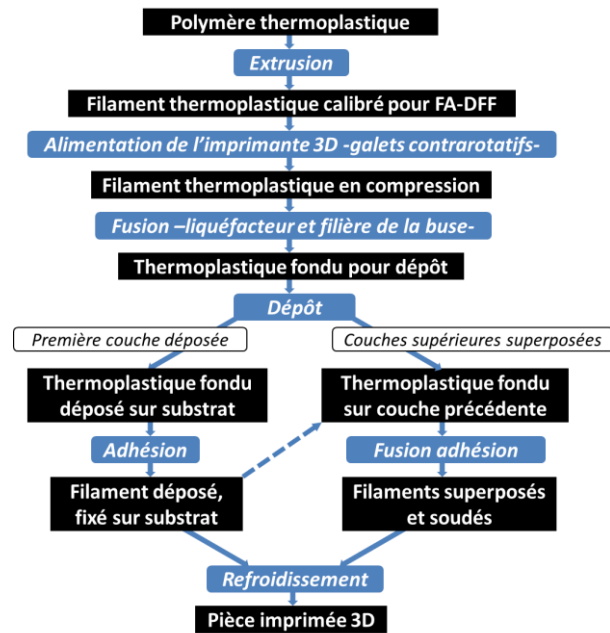
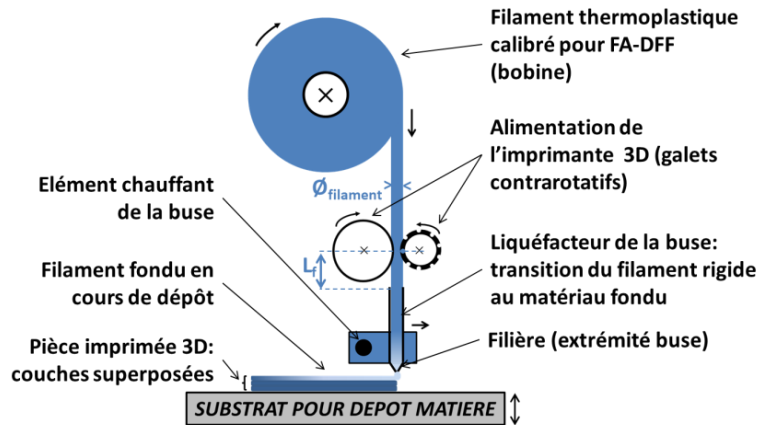


Figure I.1. Représentation schématique des étapes du procédé d'impression 3D par extrusion de matière sous forme de filament fondu (FA-DFD) pour un matériau polymère thermoplastique et son extrusion préalable en filament (**Matériau** et **Etape du procédé**)

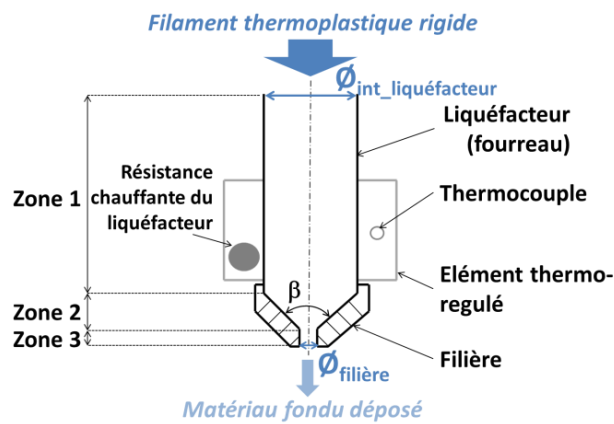
Le filament est en général stocké sous forme d'une bobine d'une vingtaine de cm de diamètre, déroulée sous l'action mécanique du système de pilotage de la zone d'alimentation constitué de deux galets contrarotatifs, cannelés ou moletés pour une meilleure accroche sur le filament thermoplastique à l'entrée de la buse de dépôt (Fig. I.2-a).

Le filament rigide présente un diamètre constant, similaire à celui de l'entrée de la buse dans la partie initiale du fourreau du liquéfacteur ($\varnothing_{\text{int_liquéfacteur}}$, [m]). Il agit comme un piston pour pousser le matériau fondu au travers de la filière de la buse. Le diamètre de cet orifice détermine partiellement la résolution d'impression et influence la pression nécessaire pour l'extrusion du filament fondu qui est la première étape-clé du procédé.

a-



b-



c-

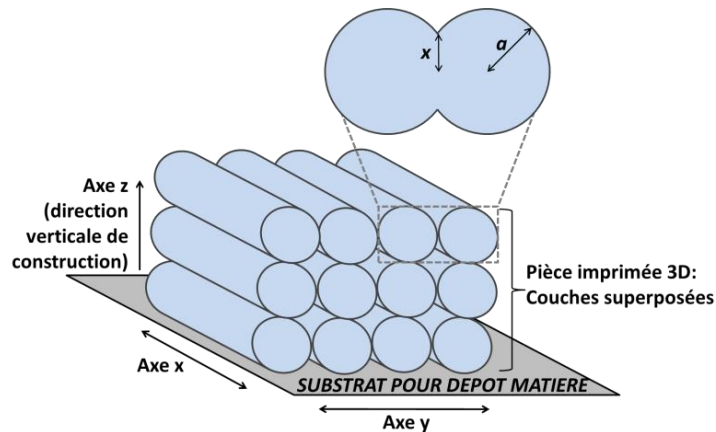


Figure I.2. Représentation schématique d’une imprimante 3D par extrusion de filament de matière fondue (FA-DFF) (a-). Focus sur la buse de l’imprimante, avec le liquéfacteur et la filière (avec un angle convergent β , à partir du diamètre interne du liquéfacteur, $\phi_{int_liquéfacteur}$, au plus fin de la filière, $\phi_{filière}$) (b-). Matériau déposé selon les trois dimensions (représentés par les axes x, y et z) sous forme cylindrique idéale (rayon, a) et détail du soudage par fusion-adhésion (demi longueur de la zone soudée, x). Adapté de : Turner *et al.*, 2014 ; Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008 (c-)

1.1.3.1. Ecoulement du matériau au travers de la filière

Le liquéfacteur est un fourreau équipé d'une résistance chauffante dans sa partie terminale permettant la fusion de la matière, juste en amont de la filière (Fig. I.2-b). Le matériau doit être à l'état fondu en entrant dans la partie convergente de cette filière (Turner *et al.*, 2014). L'angle β de la filière de la buse dans cette partie convergente est en général proche de 90° . La partie terminale de la filière est un tube court avec un diamètre constant $\varnothing_{\text{filière}}$ ($\varnothing_{\text{filière}} \leq 1$ mm) et de longueur l ($l < 1$ mm).

Pour un débit volumique standard $Q = 2.10^{-9} \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$, avec $\varnothing_{\text{filière}} = 5.10^{-4}$ m, la vitesse de dépôt linéaire est $V_{\text{dépôt}} = 1.10^{-2} \text{ m.s}^{-1}$; ainsi, la vitesse apparente de cisaillement $\dot{\gamma}$ dans la filière est de l'ordre de 160 s^{-1} . Il est important de retenir cet ordre de grandeur du fait de la dépendance de la viscosité des polymères thermoplastiques à la vitesse de cisaillement, variant typiquement de 100 à 200 s^{-1} en FA-DFF en régime établi (Venkataram *et al.*, 2000 ; Turner *et al.*, 2014). Pour un régime établi en conditions isothermes, la perte de charge doit être calculée dans 3 zones de la filière (#1, cylindrique avec un diamètre important : l'intérieur du fourreau du liquéfacteur $\varnothing_{\text{int_liquéfacteur}} \approx \varnothing_{\text{filament}}$; #2, conique ou convergent ; #3, cylindrique avec un petit diamètre -la filière de la buse, en aval- pour le dépôt des filaments; Fig. I.2-b et -c). Néanmoins, il est supposé que la partie terminale de la buse avec le plus petit diamètre (*i.e.*, la filière), entraîne la plus grande perte de charge, approximativement 85 % de la perte de charge totale (Venkataram *et al.*, 2000 ; Turner *et al.*, 2014). Cette perte de charge ΔP [Pa] peut être calculée en adaptant la relation de Hagen-Poiseuille et en prenant la viscosité η [Pa.s], tel que mentionné plus haut :

$$\Delta P = \frac{8.\eta.Q.l}{\pi.r^4} \quad (\text{Eq. I.1.1})$$

avec Q le débit volumique de la matière [$\text{m}^3.\text{s}^{-1}$] et l [m] la longueur de la partie capillaire terminale de la filière avec un rayon constant, r [m]. Pour des matériaux standards en FA-DFF, l'ordre de grandeur de ΔP est approximativement de 1 à 10 MPa (*e.g.*, dans le cas de poly(ϵ -caprolactone) fondu, la perte de charge varie de 1 à 4 MPa quand le rayon terminal de la filière décroît de 0,2 mm à 0,125 mm) (Turner *et al.*, 2014 ; Venkataram *et al.*, 2000).

La viscosité du fondu pour une gamme de vitesses de cisaillement de 100 à 200 s^{-1} est ainsi le premier des critères qui doit être considéré pour notre cahier des charges matière du procédé FA-DFF. Pour les polymères thermoplastiques actuellement les plus utilisés, les valeurs de viscosité à la température d'extrusion sont typiquement de l'ordre de 0,1 à 1 kPa.s, telles que rapportées à 190°C et 230°C pour le PLA et l'ABS, respectivement (Hwang *et al.*, 2016 ; Kar *et al.*, 2014).

Afin d'avoir accès à cette caractéristique de la matière, il sera nécessaire de caractériser son comportement rhéologique : Les polymères thermoplastiques fondus présentent typiquement un comportement rhéofluidifiant. La variation de leur viscosité, η [Pa.s], avec la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ [s^{-1}] est classiquement exprimée par la loi puissance :

$$\eta = K.\dot{\gamma}^{n-1} \quad (\text{Eq. I.1.2})$$

avec K le coefficient de consistance [$\text{Pa}\cdot\text{s}^n$] et n l'indice d'écoulement [-], avec $0 < n < 1$ pour un matériau pseudo-plastique comme un thermoplastique fondu.

En toute rigueur, cette modélisation de la viscosité à la température de la buse devrait être complétée :

- Par une modélisation de sa thermodépendance : A cause de l'écoulement non isotherme du matériau dans le fourreau du liquéfacteur et la filière, il est important de définir la dépendance de la viscosité à la température, qui est prise en compte pour, $T \gg T_g$, par la relation de type Arrhenius :

$$K = K_0 \cdot \exp \left[E_a / R \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right] \quad (\text{Eq. I.1.3})$$

avec E_a l'énergie d'activation [$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$], R la constante des gaz parfaits ($8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) et T_0 une température de référence arbitraire, telle que la température d'impression donnée en consigne pour la filière (*i.e.*, $T_0 = T_{\text{impression}}$).

- Par une caractérisation de la viscoélasticité : Cette dernière est en effet importante pour l'optimisation de l'impression. A la sortie de la buse, un gonflement en aval immédiat de la filière peut apparaître, à cause de la relaxation du matériau dont l'énergie élastique est spontanément libérée, ou recouvrance des déformations élastiques. Ce gonflement en sortie de filière, déterminé par le ratio entre le diamètre maximal du filament en sortie de buse divisé par le diamètre de l'orifice de la filière peut varier typiquement entre 1,05 et 1,3 (Turner *et al.*, 2014 ; Turner et Gold, 2015). Ce phénomène implique une diminution de la résolution d'impression et peut nuire à l'orientation de fibres dans les composites à base de polymères (Heller *et al.*, 2016).

1.1.3.2. Mécanisme d'alimentation de la buse

1.1.3.2.1. Critère mécanique de stabilité

Les galets contrarotatifs entraînent le filament thermoplastique rigide vers le fourreau du liquéfacteur de la buse de dépôt de l'imprimante 3D où il est chauffé à la température d'impression et forcé à s'écouler à l'état fondu dans la section à diamètre réduit de la filière (Fig. I.2-a). Les galets exercent une tension sur la bobine de filament de réserve. La bobine se déroule et le filament avance entre les galets, avec un écartement, e_{galets} , légèrement inférieur à $\varnothing_{\text{filament}}$ pour assurer l'accroche mécanique. La force (F , [N]) nécessaire pour extruder le matériau peut être déterminée par la perte de charge au niveau de la filière (ΔP , [Pa]) calculée précédemment par la relation (Eq. I.1.1):

$$F = \Delta P \cdot \pi \cdot \left(\frac{\varnothing_{\text{filament}}}{2} \right)^2 \quad (\text{Eq. I.1.4})$$

La force de compression exercée sur le filament thermoplastique par les galets est transmise par le matériau rigide jusqu'à l'entrée du liquéfacteur. Elle ne doit pas dépasser une valeur critique au-delà de laquelle le filament rigide peut présenter un risque significatif de rupture par flambage, comme dans le cas du dépôt de matériaux à l'état fondu. En effet, si σ_{cr} est la contrainte maximale de flambage, un critère de flambage a été suggéré avec $\Delta P > \sigma_{\text{cr}}/1,1$ (Rangarajan *et al.*, 2000). En

première approximation, $\sigma_{cr} = \sigma_E$, avec σ_E la contrainte de flambage [Pa] définie par le critère d'Euler pour une poutre élastique fixée à ses extrémités :

$$\sigma_{cr} = \sigma_E = \frac{F_c}{\pi \left(\frac{\varnothing_{\text{filament}}}{2} \right)^2} = \frac{\pi^2 \cdot E \cdot \left(\frac{\varnothing_{\text{filament}}}{2} \right)^2}{4 \cdot L_f^2} \quad (\text{Eq. I.1.5})$$

avec F_c [N] la force critique de flambage et E le module élastique du matériau à l'ambiante [Pa]. L_f [m] est la distance entre l'axe des galets contrarotatifs et l'entrée du liquéfacteur (Fig. I.2-a).

Les équations précédentes permettent d'évaluer les limites du système d'alimentation d'une imprimante 3D par FA-DFF. Elles suggèrent aussi un critère d'imprimabilité d'un matériau à partir de ses propriétés rhéologiques où aucun flambage n'est attendu (Venkataram *et al.*, 2000), à partir des relations (Eq. I.1.1) et (Eq. I.1.5):

$$\frac{E}{\eta} > \frac{8 \cdot Q \cdot l \left(\frac{L_f}{\frac{\varnothing_{\text{filament}}}{2}} \right)^2}{\pi^3 \cdot r^4} \quad (\text{Eq. I.1.6})$$

avec Q , le débit volumique de la matière [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$] et l [m] la longueur de la partie capillaire terminale de la filière à rayon constant, r [m].

Pour $Q = 2 \cdot 10^{-9} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, $l = 1 \text{ mm}$, $L_f = 50 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{filament}} = 3 \text{ mm}$ et $\varnothing_{\text{filière}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ m}$ (*i.e.*, $r = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ m}$), le terme de droite de l'équation précédente (Eq. I.1.6) vaut approximativement $1,5 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$.

En termes de cahier des charges matière, il apparaît que le module E du matériau à la température d'alimentation du filament, typiquement de l'ordre de 25 à 30 °C et le rapport E/η constituent le second critère-clé pour la FA-DFF : Si la viscosité du fondu doit être faible (premier critère discuté plus haut), il est aussi nécessaire que le matériau soit suffisamment rigide avant la transition solide-fondu en amont de la buse de dépôt. Si l'on prend à nouveau comme matériaux de référence le PLA (module $E \approx 3,5 \text{ GPa}$ à 25 °C ; Tableau I.1) et l'ABS (module $E \approx 2,3 \text{ GPa}$ à 25°C) et leurs viscosités à leurs conditions d'extrusion en FA-DFF (0,1 à 1 kPa.s à 190 °C pour le PLA et à 230 °C pour l'ABS, respectivement), les valeurs des E/η sont de l'ordre de $2,3 \cdot 10^6$ à $3,5 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$. Ces valeurs sont bien supérieures à $0,5 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$, valeur théorique minimale pour des matériaux utilisables en FA-DFF (Venkataram *et al.*, 2000 ; Turner *et al.*, 2014).

I.1.3.2.2. Importance de la transition solide-fondu

En pratique, il faut tenir compte de la cinétique du procédé FA-DFF : La transition solide-fondu doit donc se faire dans un intervalle de température suffisamment étroit afin de permettre des débits d'alimentation raisonnablement élevés. A l'entrée du fourreau du liquéfacteur, le matériau est rigide à température ambiante et descend comme un piston à une vitesse linéaire constante d'alimentation ($V_{\text{alimentation}}$, [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$]) pour des conditions stables d'impression:

$$V_{\text{alimentation}} = \frac{Q}{\pi \left(\frac{\varnothing_{\text{filament}}}{2} \right)^2} \quad (\text{Eq. I.1.7})$$

A une température constante $T_{impression}$, aux parois de la buse, le flux thermique peut être écrit comme suit (Turner *et al.*, 2014):

$$q = \rho \cdot Q \cdot C_p \cdot (T_o - T_i) + (dH)_m \quad (\text{Eq. I.1.8})$$

avec q le flux thermique dans le liquéfacteur [W, ou $J \cdot s^{-1}$]; T_i et T_o , les températures à l'entrée (ambiante) et à la sortie du liquéfacteur de la buse [$^{\circ}C$], respectivement ; $L_{liquéfacteur}$ [m] est la longueur du liquéfacteur et ρ est la densité du matériau [$kg \cdot m^{-3}$]. C_p [$J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$] est la capacité thermique massique isobare du matériau et $(dH)_m$ [$J \cdot s^{-1}$] est l'enthalpie de fusion du matériau (dans le cas d'un polymère semi-cristallin).

A cause de la longueur réduite du fourreau du liquéfacteur (typiquement de l'ordre de 30 mm), zone dans laquelle doit avoir lieu la fusion (pour un polymère semi-cristallin, ou le franchissement de la transition vitreuse pour un matériau amorphe), **la transition de l'état solide à un fluide visqueux doit se produire sur une plage de température réduite. Cette caractéristique importante pour le cahier des charges matière est difficile à relier de manière directe à une propriété du matériau. En première approche, nous proposons de l'évaluer en considérant le rapport du module élastique du matériau en dessous et au-dessus de sa température de transition, $E_{matériau\ vitreux}$ et $E_{matériau\ caoutchoutique}$, considérés respectivement, à $T_g - 20\ ^{\circ}C$ ($> T_i$, Eq. I.1.8) et $T_g + 20\ ^{\circ}C$ ($< T_o$, Eq. I.1.8).** Dans le cas d'une transition vitreuse pour un matériau amorphe standard en FA-DFF tel que l'ABS : $E_{matériau\ vitreux}/E_{matériau\ caoutchoutique} \approx 1.10^3$ (Fig. I.3 ; Weng *et al.*, 2016).

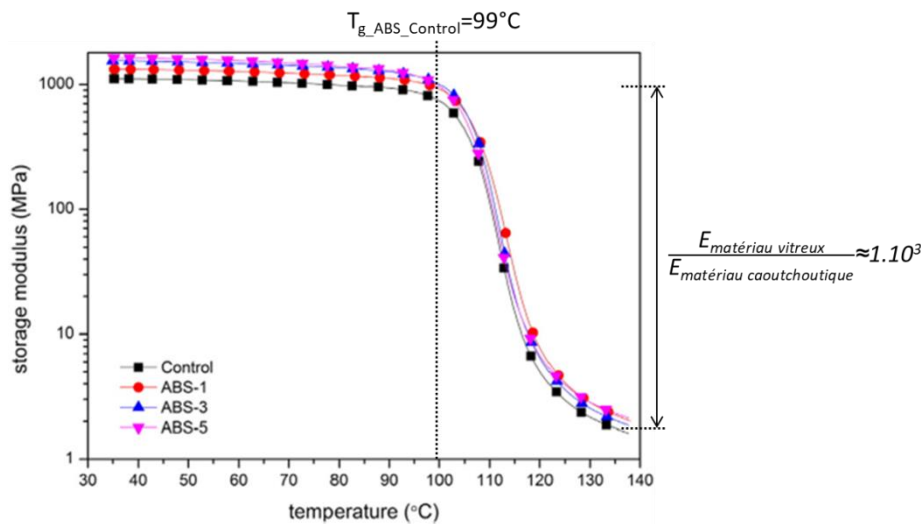


Figure I.3. Evolutions des modules de stockage de matériaux composites ABS/montmorillonite déterminées par analyse mécanique dynamique (chauffage à $5\ ^{\circ}C/min$) et positionnement de la température de transition vitreuse de l'ABS pur (noté « control ») mesurée à $T_g = 99^{\circ}C$ par analyse enthalpique différentielle (d'après Weng *et al.*, 2016). Illustration de la chute de module liée au franchissement de la transition vitreuse : $E_{matériau\ vitreux}/E_{matériau\ caoutchoutique} \approx 1.10^3$

Tableau I.1. Propriétés thermomécaniques de polymères thermoplastiques utilisés en fabrication additive par extrusion de matière (FA-DFF) à leurs températures respectives d'impression $T_{impression}$ (d'après ^aBelter et Dollar, 2015, ^bMelnikova *et al.*, 2014, ^cSmith et Dean, 2013 et ^ddonnées du fabricant) et de ^ebiopolymères naturels, tels que des protéines (d'après ^eXia *et al.*, 2011 ; ^fChen *et al.*, 2012, ^gLawton, 2004, ^hCorradini *et al.*, 2006, ⁱReddy *et al.*, 2013, ^jGillgren et Stading, 2008, ^kZhang *et al.*, 2001 et ^lRouilly *et al.*, 2006) et des amidons (^mLourdin *et al.*, 1995 et ⁿBizot *et al.*, 1997)

Matériau	T_g (°C)	T_m [°C]	$T_{impression}$ [°C]	Propriétés mécaniques en tension		
				σ_{max} [MPa]	E [GPa]	$\epsilon_{rupture}$ [%]
ABS-P430 ^{a,d} (Stratasys, Inc.)	108	<i>Amorphe</i>	220-300	37	2,3	3
PLA-3052D ^{b,d} (NatureworksLLC™)	60	145-160	190-230	62	3,5	6
PA-12 ^d (Stratasys, Inc.)	41	180	260-280	46	1,7	10
Polycarbonate ^{c,d}	145	155	250-300	68	2,2	100
*Protéines d'orge+20%glycérol (HR=65%) ^e	57	<i>Amorphe</i>	-	75	1,8	90
*Gluten+15%glycérol (HR=65%) ^f	-	166 ^{**}	-	7	0,05	118
*Gliadines+15%glycérol (HR=65%) ^f	-	140 ^{**}	-	2	0,03	46
*Gluténines+15%glycérol (HR=65%) ^f	-	140 ^{**}	-	4	0,09	30
*Zéine (HR=50%; TE=7,5%,mt) ^g	80	<i>Amorphe</i>	-	34	1,8	< 5
*Zéine+30%acide oléique (HR=50%; TE=4,5%,mt) ^g	40	<i>Amorphe</i>	-	18	0,9	< 5
*Zéine+22%glycérol (HR=52-54%; TE=8,5%,mt) ^h	60	<i>Amorphe</i>	-	12	1,1	≈ 2
*Zéine+40%glycérol (HR=52-54%) ^h	60	<i>Amorphe</i>	-	8	0,7	< 2
*Protéines d'arachide (HR=65%) ⁱ	-	145 ^{**}	-	8	0,15	63
*Protéines de sorgho (Kafirines) (HR=65%) ^j	40	-	-	≈ 9	-	≈ 5
*Protéines de soja+30%glycérol (HR=50%; TE=7,7%,mt) ^k	≈ 25	-	-	9	0,25	9
*Protéines de tournesol (41%glycérol) (HR=60%) ^l	< $T_{ambient}$	-	-	18	< 0,01	73
*Amidon: 100% Amylose (TE=11%,mt) ^{m,n}	115	<i>Amorphe</i>	-	68	1,1	6
*Amidon: 100% Amylopectine (HR=57%; TE=11%,mt) ^{m,n}	105	<i>Amorphe</i>	-	38	0,95	4
*Amidon >40% Amylose+20%glycérol (HR=57%) ^{m,n}	> $T_{ambient}$	<i>Amorphe</i>	-	25	0,5	5

^{**} donnée comme température de fusion, mais étant probablement une température de dénaturation. T_g est la température de transition vitreuse; T_m , la température de fusion; σ_{max} , la contrainte maximale; E, le module élastique; $\epsilon_{rupture}$, la déformation à la rupture déterminés en conditions ambiantes standards. HR est l'humidité relative [%] pendant le stockage des échantillons à température ambiante. TE est la teneur en eau par rapport à la masse humide totale de l'échantillon (mt)

I.1.3.3. Dépôt et adhésion du polymère thermoplastique à l'état fondu

Cette phase du procédé FA-DFF joue un rôle clé dans la cohésion de la pièce imprimée. A la sortie de la filière de la buse, la première couche est en effet déposée sur un substrat solide horizontal (*i.e.*, plateau de dépôt de l'imprimante 3D), la couche suivante est thermosoudée à la précédente et ainsi de suite. Ce soudage est obtenu par l'interdiffusion des chaînes polymères à l'interface entre 2 couches. Néanmoins, le filament déposé présentant une section elliptique, ce processus entraîne la présence de vides entre les couches. Les propriétés mécaniques du produit fini dépendent donc aussi de la surface de contact entre les deux filaments lors du soudage, du nombre de vides résultant et de leur taille, qui définissent aussi la qualité de surface de la pièce (Boschetto *et al.*, 2016 ; Abbott *et al.*, 2018).

I.1.3.3.1. Un phénomène fortement non isotherme

Il est particulièrement difficile de modéliser l'ensemble des phénomènes mis en jeu lors du procédé réel, notamment du fait du refroidissement très rapide subi par le matériau extrudé. Des mesures récentes en thermographie infrarouge montrent que dès la sortie de la buse le filament thermoplastique refroidit à une vitesse de l'ordre de $100 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ pour un polymère synthétique standard et reste au-dessus de sa température de transition vitreuse pendant environ 1 à 2 s, selon la température de l'environnement de dépôt de l'imprimante 3D (Seppala et Migler , 2016). Dans des conditions aussi non isothermes, une modélisation précise du mécanisme d'étalement/adhésion par soudage est difficilement envisageable. On peut néanmoins distinguer 2 étapes : l'étalement du filament et le soudage thermoplastique, que nous aborderons ensuite.

Les temps de refroidissement sont globalement en accord avec ceux prédits lors de travaux plus anciens à l'aide du modèle décrit ci-après (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008). Les hypothèses du modèle sont les suivantes : (i) la température est uniforme dans la section du filament déposé ; (ii) le filament déposé a une longueur semi-infinie selon l'axe x de dépôt de matière fondue ($x = 0$ à la sortie de la buse, et $x = \infty$ pour l'extrémité du filament où $T = T_{\text{environnement}}$ de l'imprimante ; représentation schématique des axes de dépôt sur la figure I.2-c); (iii) la masse de matériau sur laquelle le volume fondu est déposé est plus importante que celle du filament et (iv) la chaleur est transférée par convection (coefficient assumé constant). Sur la base de ces hypothèses, le profil en température le long de l'axe du filament pendant le dépôt à une vitesse linéaire constante $V_{\text{dépôt}}$ [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$] peut être écrit sous la forme suivante (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008) :

$$\rho \cdot C_p \cdot A \cdot V_{\text{dépôt}} \cdot \frac{\partial T}{\partial x} = A \cdot \frac{\partial(\lambda \cdot \frac{\partial T}{\partial x})}{\partial x} - h \cdot P \cdot (T_{\text{impression}} - T_{\infty}) \quad (\text{Eq. I.1.9})$$

Une solution analytique à cette équation (avec les conditions limites $T=T_0$, la température d'impression $T_{\text{impression}} = T_0$ pour $x = 0$ à la sortie de la buse, et $T = T_{\infty}$ la température de l'environnement d'impression de l'imprimante pour $x = \infty$) peut être trouvée :

$$T = T_{\infty} + (T_{\text{impression}} - T_{\infty}) \cdot e^{-mx} \quad (\text{Eq. I.1.10})$$

avec $m = \frac{\sqrt{1+4.\alpha.\beta-1}}{2.\alpha}$, $x = V_{\text{dépôt}}.t$, $\alpha = \frac{\lambda}{\rho.C_p.V_{\text{dépôt}}}$, $\beta = \frac{h.P}{\rho.C_p.A.V_{\text{dépôt}}}$ et avec P, la longueur du périmètre [m] du filament déposé, λ la conductivité thermique [$\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$] et h le coefficient de transfert thermique qui inclut la convection avec l'air et depuis le matériau support pour le dépôt de matière fondue ($50 \leq h \leq 150 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$).

On voit ici que **la connaissance des propriétés thermophysiques (notamment λ , C_p) du polymère mis en œuvre est nécessaire à la modélisation du procédé FA-DFF. Toutefois, ces caractéristiques ne rentrent *a priori* pas dans le cahier des charges matière que nous cherchons à établir.** Il est important de noter que la conductivité thermique des polymères évolue très peu avec la température. Pour un polymère synthétique amorphe standard en FA-DFF, l'ABS, les valeurs sont de l'ordre de $\lambda = 0,2 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ à la température ambiante et augmentent faiblement jusqu'à des valeurs de l'ordre de $0,24 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ à 150°C (Dawson *et al.*, 2000). Le même ordre de grandeur des conductivités thermiques, et surtout de leur faible augmentation avec la température, sont obtenus pour d'autres polymères synthétiques amorphes, tels que le polystyrène (dos Santos *et al.*, 2013). Au-dessus de la température de transition vitreuse de tels polymères amorphes, une faible diminution de la conductivité thermique peut alors être enregistrée, la conductivité thermique revenant alors à des valeurs plus proches de celles mesurées à l'ambiante, par exemple pour le PMMA de $0,20 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ (à 20°C) à $0,22 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ (à 150°C), en passant par des valeurs de l'ordre de $0,26 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ à 90°C , juste en-dessous de sa transition vitreuse, à $T_{g_PMMA} \approx 112^\circ\text{C}$ (dos Santos *et al.*, 2013). Pour un polymère semi-cristallin, tel que le PLA, la valeur typiquement retenue est de $\lambda = 0,21 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ pour des conditions classiques de dépôt à l'état fondu (Bakrani Balani *et al.*, 2018).

Toutefois, **une autre propriété thermophysique, le coefficient d'expansion thermique CTE [K^{-1}], peut être considérée comme importante pour un cahier des charges matière.** En effet, les changements dimensionnels liés aux importantes variations de température lors de la mise en œuvre des matériaux par FA-DFF peuvent avoir une influence sur l'étalement des filaments déposés et peuvent aussi être à considérer pour évaluer les critères d'imprimabilité d'un matériau thermoplastique (Wei *et al.*, 2015). Les coefficients d'expansion thermique, liés à la dilatation des matériaux et correspondant à leur variation dimensionnelle principale sont reportés dans la littérature pour deux polymères standards en FA-DFF, avec des valeurs de l'ordre de 6.10^{-5} à 9.10^{-5} K^{-1} pour le PLA ou pour des mélanges avec des composés caoutchoutiques dans lesquels il est majoritaire à au moins 80% m/m (Jiang *et al.*, 2013) et de 6 à $10.10^{-5} \text{ K}^{-1}$ pour l'ABS seul, ou sous forme de composites avec des particules de graphène dans lesquels il est majoritaire à plus de 92 % m/m (Wei *et al.*, 2015 ; Weng *et al.*, 2016).

1.1.3.3.2. L'étape d'étalement du filament extrudé

La vitesse linéaire de dépôt, $V_{\text{dépôt}}$ [m.s^{-1}], est supposée constante à la sortie de la filière :

$$V_{\text{dépôt}} = Q/A \quad (\text{Eq. I.1.11})$$

avec Q le débit volumique de matériau [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$] et A , l'aire de la section du filament déposé [m^2] qui peut être considérée comme une ellipse à cause de l'affaissement du matériau fondu :

$$A = \pi \cdot a_e \cdot b_e \quad (\text{Eq. I.1.12})$$

avec a_e [m] et b_e [m] les demi-largeurs de l'ellipse selon les axes principal et mineur, respectivement.

Dans le cas d'un dépôt stable, la distance entre la sortie de la buse et la surface de dépôt (h , [m]) doit être moins importante que le diamètre apparent du fil déposé, ce qui donne la relation suivante :

$$V_{\text{dépôt}} < \frac{Q \cdot \pi}{h^2} \quad (\text{Eq. I.1.13})$$

En pratique, les valeurs de $V_{\text{dépôt}}$ se situent dans un intervalle entre 5 et 50 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ (Turner *et al.*, 2014). L'étalement dépend de la viscosité du polymère fondu, η [Pa.s], et de la tension de surface Γ [$\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$] entre le fondu et la surface de dépôt. Cet équilibre peut être pris en compte par un nombre capillaire défini par la relation suivante :

$$Ca = \eta \cdot V_{\text{dépôt}} / \Gamma \quad (\text{Eq. I.1.14})$$

Pour une température constante, plus la valeur du nombre capillaire (Ca) est élevée, moins le matériau est susceptible de s'étaler. **En termes de cahier des charges matière, afin de permettre des vitesses de dépôt élevées, le ratio η/Γ , entre la viscosité du polymère fondu et sa tension de surface, doit être faible.** En toute rigueur, il s'agit de la viscosité élongationnelle du matériau. Néanmoins, cette propriété étant difficile à mesurer, nous utiliserons la viscosité en cisaillement en première approximation. Dans le cas de l'ABS, la valeur de Γ à 230 °C est de l'ordre de 30 $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008) et dans le cas du PLA, la tension de surface est de l'ordre de 28 $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$ à 180°C, une température très proche de celle de son dépôt en FA-DFF (Dil *et al.*, 2016). **Pour des viscosités comprises entre 0,1 et 1 $\text{kPa} \cdot \text{s}$ (à des vitesses de cisaillement de l'ordre de 100 à 200 s^{-1}), ces valeurs conduisent à un rapport η/Γ compris entre $3,5 \cdot 10^3$ à $3,6 \cdot 10^4 \text{ s} \cdot \text{m}^{-1}$.** Néanmoins, étant donné la rapidité du refroidissement, il serait nécessaire de connaître la valeur de η/Γ à des températures plus faibles que la température d'extrusion (jusqu'à $T \approx T_g + 100$ °C pour un standard amorphe tel que l'ABS ; Bellehumeur *et al.*, 2004).

1.1.3.3.3. L'étape de soudage et l'approximation du frittage

Comme indiqué plus haut, le soudage thermoplastique fait intervenir l'interdiffusion des chaînes polymères à l'interface entre deux couches de filaments. Pour un polymère amorphe standard, à $T > T_g$, la diffusion des macromolécules est liée à la théorie de la reptation. Le degré de fusion-adhésion, D , croît avec le temps de contact à température constante, t , selon la relation suivante: $D \propto t^{1/4}$. Le temps de reptation des chaînes augmente avec la masse moléculaire moyenne du polymère considéré (\overline{M}_w) : $t_{\text{reptation}} \propto \overline{M}_w^{-3}$ (Butler *et al.*, 1998). Des modèles plus élaborés impliquent l'étirement et l'orientation du polymère en utilisant une équation constitutive pertinente et, sur cette base, McIlroy et Olmsted (2016 et 2017) ont récemment montré qu'il serait nécessaire de prendre en compte l'effet

de l'écoulement sur la densité d'enchevêtrement, qui modifie le temps de reptation. Mais, du fait de cette complexité, **certains auteurs ont proposé de considérer en première approximation un mécanisme de fusion-adhésion par frittage visqueux (« viscous sintering »).** Bien qu'éloigné de la réalité du procédé FA-DFF, cette hypothèse permet l'estimation du ratio η/Γ nécessaire au cahier des charges matière.

La figure I.4 ci-dessous représente les différentes étapes conduisant à la coalescence de deux filaments de thermoplastique représentés en coupe :

- La mise en contact des macromolécules à l'interface (étape 1-, Fig. I.4),
- L'obtention d'un équilibre d'adsorption avec la création (étape 2), puis le développement d'un front de fusion (3) avec l'interdiffusion des chaînes à l'interface,
- La poursuite éventuelle de l'étape (3) pour des temps longs, jusqu'à randomisation des chaînes polymériques (4).

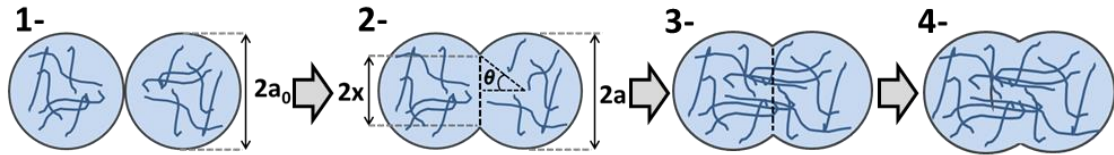


Figure I.4. Représentation schématique des étapes de fusion-adhésion d'un polymère amorphe à $T > T_g$: mise en contact intime des deux éléments (1-), apparition d'un front de fusion (2-), diffusion moléculaires à l'interface (3-) et randomisation aux temps longs (4-)

L'évolution de l'angle θ intervenant au cours de l'étape 2 (Fig. I.4) est due au phénomène de frittage visqueux. Sa modélisation permet d'accéder au ratio η/Γ , pour une vitesse de cisaillement quasi-nulle dans ce cas : Le modèle classique de Frenkel-Eshelby (Frenkel, 1945 ; Eshelby, 1949), établi pour des particules sphériques pour un écoulement visqueux de type Newtonien sous l'action de la tension de surface entre deux particules sphériques identiques de rayon initial a_0 [m], a été modifié pour tenir compte du changement de rayon (Bellehumeur *et al.*, 2004) :

$$\frac{d\theta}{dt} = \left(\frac{a_0 \cdot \eta}{\Gamma}\right)^{-1} \cdot \frac{2 \cdot \frac{5}{3} \cdot \cos\theta \cdot \sin\theta \cdot (2 - \cos\theta)^{\frac{1}{3}}}{(1 - \cos\theta) \cdot (1 + \cos\theta)^{\frac{1}{3}}} \quad (\text{Eq. I.1.15})$$

$$\text{avec } \theta = \sin^{-1}\left(\frac{x}{a}\right) \quad (\text{Eq. I.1.16})$$

La cinétique de coalescence est ainsi gouvernée par le temps caractéristique de frittage visqueux, $t_{vs} = \left(\frac{a_0 \cdot \eta}{\Gamma}\right)$ [s]. La tension de surface du polymère fondu, Γ [$\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$], agit comme une force motrice, alors que sa viscosité, η [$\text{Pa} \cdot \text{s}$], est une force limitant la fusion-adhésion.

Ce modèle initialement développé pour l'étude du frittage de particules de polymères sphériques typiquement utilisées en rotomoulage (*e.g.*, HDPE et LLDPE) a été appliqué au suivi de la coalescence de tranches de filaments d'ABS destinés au procédé FA-DFF (Bellehumeur *et al.*, 2004). Dans les 2 cas, les mesures expérimentales ont été réalisées à l'aide d'un microscope optique équipé avec une platine chauffante, les particules sphériques ou les tranches de filament étant placées entre deux lames de verre.

Dans le cas des filaments d'ABS, l'ajustement du temps caractéristique du modèle ($t_{vs} \approx 40$ s à 240 °C) a permis une prédiction de l'évolution de θ . Connaissant la viscosité du matériau et le rayon des tranches de filament, les auteurs en ont déduit la tension de surface du polymère fondu $\Gamma = 29$ mN.m⁻¹ à 240 °C. (Bellehumeur *et al.*, 2004).

Cette approche est néanmoins critiquable sur 2 points :

- Du point de vue expérimental, le fait que les tranches de filaments soient placées entre deux lames de verre est de nature à modifier la cinétique de coalescence et son observation. Plus récemment, un dispositif expérimental a été proposé pour l'étude du frittage de filaments de polymères thermoplastiques semi-cristallins dédiés à la FA-DFF (Bakrani Balani *et al.*, 2017) : Deux filaments sont placés dans un four transparent permettant le suivi de leur coalescence au cours de rampes en température contrôlées. Dans ce cas, l'acquisition d'images (1 image/5s) a permis la mesure directe de l'angle de fusion-adhésion en fonction du temps. Ces expériences ont permis de valider les prédictions selon le modèle (Eq.I.1.15) pour le PLA, et le PEEK à de plus hautes températures.

- Du point de vue théorique, l'application de l'Eq.I.1.15 pour modéliser l'adhésion entre deux filaments fondus à base de polymère est questionnable car cette équation est supposée décrire une cinétique de frittage de particules sphériques, et non pas de filaments cylindriques. A notre connaissance, le seul modèle pour une telle prédiction efficace de la cinétique de fusion-adhésion entre deux cylindres identiques a été proposé par Hopper (Hopper, 1984 et 1993-a). Ce modèle ne peut pas être exprimé par une équation différentielle seule. Il est basé sur la description géométrique des sections transversales de deux cylindres par une ellipse inversée de surface constante. L'auteur donne la solution numérique sous la forme d'un tableau de valeurs de :

$$\left(\frac{\Gamma \cdot t}{\mu \cdot a_0} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right) = \left(\frac{t}{t_{vs2}} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right) \text{ vs. } \left(\frac{x}{a_0} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right) \quad (\text{Eq. I.1.17})$$

Le facteur $\frac{1}{\sqrt{2}}$ vient de l'obtention d'un cylindre de rayon $a_f = \sqrt{2} \cdot a_0$ après coalescence complète des deux filaments initiaux (Hopper, 1984 et 1993-b). Comparées aux prédictions du modèle basé sur des particules sphériques, celles issues du modèle de Hopper établit pour des cylindres donnent des résultats similaires au début de la coalescence, jusqu'à $x/a_0 = 0,8$. Mais des écarts notables, d'environ 10% du ratio x/a_0 , apparaissent en fin de cinétique, avec un ratio final $x/a_0 = 1,41$ pour le modèle de Hopper et $x/a_0 = 1,26$ en appliquant la relation Eq.I.1.15 (Pokluda *et al.*, 1997). Les deux approches doivent donc être appliquées et comparées pour l'évaluation fine du temps caractéristique de frittage visqueux d'un thermoplastique.

I.2. Eléments retenus pour un cahier des charges matière pour le procédé FA-DFF

L'étude des étapes principales du procédé FA-DFF nous a permis de mettre en évidence l'importance des propriétés suivantes pour l'établissement d'un cahier des charges matière minimal (non exhaustif) :

- 1) **Le comportement rhéologique** du matériau à l'état fondu occupe une place centrale :
 - a. Le matériau doit avoir un comportement thermoplastique lui permettant de s'écouler.
 - b. **La viscosité η à la température d'impression**, pour des vitesses de cisaillement de l'ordre de 100 à 200 s^{-1} typiques du procédé, constitue un premier paramètre clé.
 - c. **Le rapport E/η (E étant le module à 20°C)** est un second paramètre à prendre en compte pour garantir la stabilité de l'alimentation matière.
 - d. **Le rapport η/Γ (Γ étant la tension de surface du matériau fondu)** est le troisième paramètre, intervenant à vitesse de cisaillement élevée ($\dot{\gamma}=100-200s^{-1}$) et dans la cinétique d'étalement ($\dot{\gamma}$ proche de 0 s^{-1} , accessible alors par l'étude du frittage visqueux entre deux filaments).
- 2) **Le comportement thermique et thermomécanique** est aussi très important
 - a. **La température de transition vitreuse T_g** doit être supérieure à la température ambiante de manière à avoir un comportement solide.
 - b. **Le module à température ambiante E_{solide}** doit typiquement être proche de celui d'un polymère vitreux ($E_{solide} \approx E_{matériau\ vitreux} \approx 1\text{ GPa}$).
 - c. **La transition solide-fondu** doit intervenir sur une gamme de température limitée. Le critère suivant a été proposé : $E_{matériau\ vitreux}/E_{matériau\ caoutchoutique} \approx 1.10^3$, avec $\Delta T_{caoutchoutique-vitreux} \approx 30 - 40\text{ °C}$.
 - d. **La stabilité thermique à la température d'extrusion** n'a pas été discutée, mais celle-ci doit bien sûr être inférieure à la température de dégradation ($T_{impression} < T_{décomposition}$)
 - e. **Le coefficient d'expansion thermique** est aussi un paramètre important pour la précision dimensionnelle des pièces imprimées.

Pour différentes propriétés, des valeurs pouvant servir de référence ont pu être établies en considérant deux matériaux thermoplastiques principalement utilisés en FA-DFF : l'ABS et le PLA (Tableau I.1).

I.3. La zéine plastifiée, un biopolymère modèle pour la formulation de matériaux adaptés au procédé FA-DFF ?

Parmi les différentes familles de polymères biosourcés (Fig. I.5), le PLA s'est imposé comme un matériau de choix pour le procédé FA-DFF, ce qui nous invite à considérer quels autres biopolymères pourraient être utilisés pour la formulation de filaments thermoplastiques imprimables.

D'autres bio-polyesters, tels que les polyhydroxyalkanoates (PHA) issus de fermentations (Bugnicourt *et al.*, 2014 ; Soroudi et Jacobowicz, 2013 ; Yates et Barlow, 2013), des dérivés de la cellulose (Zhang *et al.*, 2017 ; Dai *et al.*, 2019), ou d'autres polymères naturels comme les protéines ou l'amidon peuvent être transformés comme des matériaux thermoplastiques en les formulant avec des plastifiants adéquats. Ces derniers peuvent présenter l'avantage d'être comestibles et/ou biocompatibles et directement disponibles depuis des sources végétales ou animales. Dans ce cas, les champs d'application de la FA-DFF pourraient être considérablement étendus aux secteurs agroalimentaire, pharmaceutique ou biomédical (Corradini *et al.*, 2014 ; Goyanes *et al.*, 2014 ; Godoi *et al.*, 2016). Pour ces secteurs, les structures des pièces obtenues par FA-DFF pourraient créer de nouvelles opportunités pour des aliments réalisés à façon, ou des matrices et des implants conçus par ingénierie inverse (Giannitelli *et al.*, 2014 ; Wegst *et al.*, 2015).

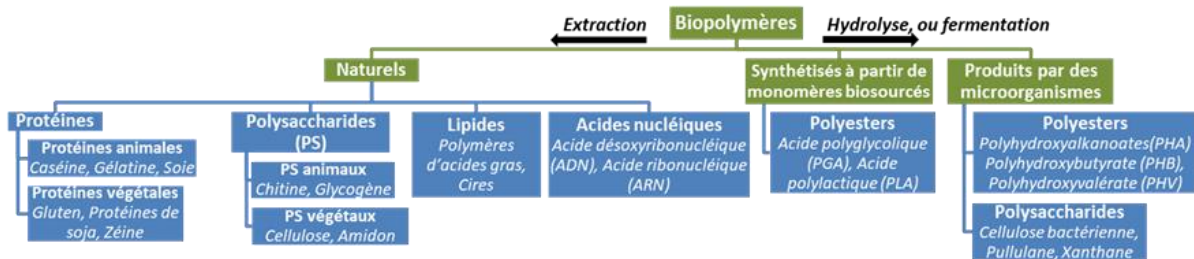


Figure I.5. Représentation schématique des principaux biopolymères et de leur production

1.3.1. L'amidon et les protéines : des biopolymères thermoplastifiables

Même si de nombreux types de biopolymères naturels (*i.e.*, polymères produits à partir d'organismes vivants) peuvent être trouvés, relativement peu sont transformables à l'état fondu, condition première nécessaire pour envisager leur mis en œuvre par FA-DFF. Deux familles de biopolymères, disponibles en grande quantité à partir de ressources végétales présentent ces propriétés : les amidons (Lourdin *et al.*, 1995 ; Barron *et al.*, 2002 ; Chanvrier *et al.*, 2005) et les protéines (Reddy et Yang, 2013 ; Verbeek et van den Berg, 2010). Néanmoins, l'aptitude à une première transformation à l'état fondu (*i.e.*, filage par extrusion), n'est pas une condition suffisante pour l'imprimabilité par FA-DFF et il est aussi important de considérer plus précisément les éléments du cahier des charges évoqués précédemment en adéquation avec les différentes étapes du procédé.

Dans le cas des amidons, la fusion peut seulement être obtenue en présence d'eau, agissant comme plastifiant pour les unités-monomères glycosidiques hautement hydrophiles, avec des fonctions chimiques hydroxyles formant des liaisons hydrogène.

Si l'effet de l'eau sur le comportement rhéologique pendant la production des filaments par extrusion est bien connu et maîtrisé, les problèmes de séchage au niveau de la buse ne permettent pas d'envisager la mise en forme de l'amidon par FA-DFF. L'emploi d'autres plastifiants, tels que le glycérol, ne permet pas à ce jour de surmonter cet obstacle. L'effet de l'eau semble être moins critique dans le cas des protéines, de par leur caractère amphiphile, intrinsèque à leurs unités monomères

(acides aminés). En effet, les protéines peuvent être plastifiées par des composés polaires ou amphiphiles (Hernandez-Izquierdo et Krochta, 2008 ; Du *et al.*, 2016-a), limitant ainsi le rôle de la teneur en eau dans les procédés de transformation par voie fondue (Pommet *et al.*, 2003).

L'ajout de composés plastifiants aux biopolymères naturels influence fortement leur rigidité à l'état solide et la rapidité de la transition solide-fondu des matériaux thermoplastiques mis au point. Selon le type de composés ajoutés et leur teneur nécessaire à la transformation des biopolymères à l'état fondu, les matériaux obtenus peuvent présenter un comportement caoutchoutique ou ductile après refroidissement à température ambiante.

Dans le cas de l'amidon, par exemple, l'addition de glycérol comme auxiliaire technologique améliore la mise en œuvre des fondus (qui reste cependant moins aisée que celle de protéines telle que la zéine à proportion pondérale équivalente de plastifiant ; Corradini *et al.*, 2007), mais cela conduit à une modification significative des propriétés mécaniques à l'ambiante. En effet, l'amidon plastifié par l'eau est à l'état vitreux à 25 °C pour 50% d'humidité relative (HR) et présente ainsi un module élastique élevé à température ambiante, supérieur à 0,5 GPa (Tableau I.1) (Lourdin *et al.*, 1995 ; Rindlav-Westling *et al.*, 1998). En revanche, l'amidon avec 23% de glycérol est à l'état caoutchoutique à température ambiante et son module élastique est de l'ordre de 10 MPa (Lourdin *et al.*, 1997) en fonction de l'origine botanique de l'amidon (Follain *et al.*, 2005). L'amidon sera dans ce cas transformable à l'état fondu, mais pas assez rigide pour le mécanisme d'alimentation en FA-DFF.

Dans le cas des protéines, différentes tendances peuvent être observées. Par exemple, les isolats de protéines de soja présentent des propriétés mécaniques insuffisantes une fois formulées pour obtenir un écoulement en extrusion sans altération (à $T < 160$ °C), avec l'addition de glycérol (30%). Ceci conduit à une température de transition vitreuse proche de la température ambiante, à environ 25°C, ne permettant pas un maintien mécanique d'une pièce potentiellement imprimée (Zhang *et al.*, 2001) (Tableau I.1). Les isolats de protéines de tournesol ont aussi la capacité d'être extrudés à des températures comprises entre 85 °C et 160 °C, mais en raison de la quantité importante de plastifiants qui doit être ajoutée pour obtenir un écoulement stable, les propriétés mécaniques obtenues sont très faibles et la température de transition vitreuse largement inférieure à la température ambiante ($T_g \approx -40$ °C) (Rouilly *et al.*, 2006). Les protéines de blé, telles que le gluten, les gluténines et gliadines, ou les protéines d'arachides, ont des températures de mise en œuvre à l'état fondu relativement élevées et de faibles propriétés mécaniques, notamment en termes de rigidité, une fois plastifiées (Chen *et al.*, 2012 ; Reddy *et al.*, 2013 ; Bengoechea *et al.*, 2007) (Tableau I.1).

D'autres protéines, moins étudiées pourraient être des candidats pertinents du fait de leur thermoplasticité, telles que les protéines de sorgho (kafirines), plastifiées par des composés amphiphiles tels que l'acide laurique ou le poly(éthylène glycol) -PEG400- (Gillgren et Stading, 2008 ; Di Maio *et al.*, 2010), ou les protéines d'orge (Xia *et al.*, 2011 ; Reddy et Yang, 2013). Mais les données disponibles dans la littérature, notamment sur les propriétés rhéologiques de ces protéines plastifiées, sont très limitées.

I.3.2. La zéine : une protéine thermoplastifiable issue du maïs

La zéine est un biopolymère qui combine plusieurs propriétés intéressantes : il est comestible, transformable à l'état fondu et moins sensible à l'eau que l'amidon ou la plupart de ses dérivés, particulièrement après traitement thermomécanique (Corradini *et al.*, 2014 ; Lawton, 2002). C'est une protéine de stockage extraite du maïs (*Zea mays* L.), coproduit de la production d'amidon et de bioéthanol faisant partie de la famille des prolamines (Holding, 2014). Elle est utilisée pour différentes applications, par exemple en tant que film barrière à l'eau pour des produits alimentaires des comprimés pharmaceutiques et pour la production de plastiques dégradables ou de matrices résorbables utilisées pour la croissance cellulaire (Corradini *et al.*, 2014 ; Lawton, 2002). Elle est reconnue par la « Food and Drug Administration » (ou FDA, US) comme « Generally Recognized as Safe » dénommée catégorie « GRAS » (FDA -US-, 2014) et utilisée comme agent texturant pour des pains sans gluten (Erickson *et al.*, 2014). C'est une ressource abondante, puisqu'elle représente 3 à 5 % de la masse sèche des grains, pour une teneur en protéines totale d'environ 9 à 12 %, dont la récolte annuelle mondiale dépasse 800 millions de tonnes (Anderson et Lamsal, 2011 ; Shukla et Cheryan 2001).

A l'état natif, la zéine est stockée sous forme de corpuscules protéiques sphériques d'un diamètre de l'ordre de 1 μm dans l'endosperme des grains de maïs. Ces corpuscules sont répartis de façon compacte dans l'albumen, entre les grains semi-cristallins d'amidon de plus grande taille (de 5 à 35 μm de diamètre) auxquels ils peuvent s'associer intrinsèquement ou superficiellement (Mu-Forster et Wasserman, 1998). La région périphérique vitreuse de l'endosperme des grains de maïs contient plus de zéine que la région farineuse centrale où les corpuscules protéiques sont plus petits et moins denses (Holding, 2014 ; Gayral *et al.*, 2015), Figure I.6.

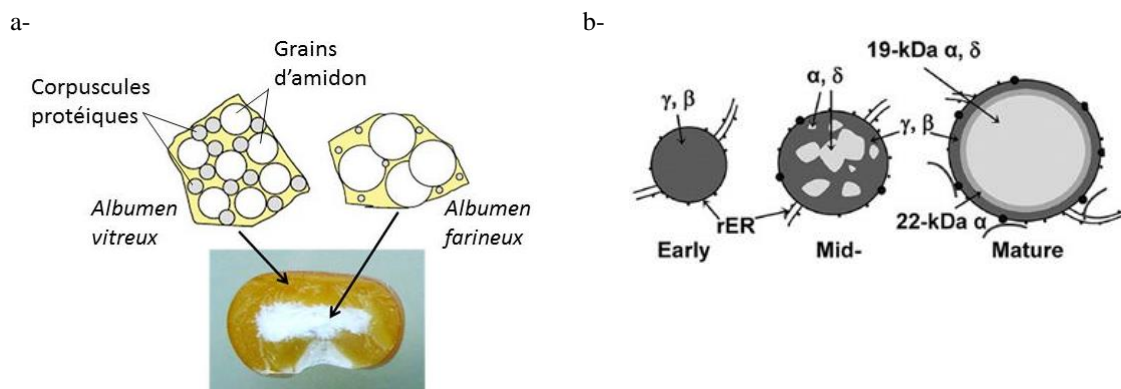


Figure I.6. Coupe transversale d'un grain de maïs de type sauvage (« wild type ») et schéma de constitution avec taille relative et abondance des grains d'amidon (sphères blanches) et des corpuscules de zéine (sphères grises) des parties vitreuses et farineuses (d'après Holding, 2014) (a-). Evolution de la distribution en zéine dans les corpuscules protéiques au cours de la maturation (de l'ordre de 100 à 120 jours après semis pour atteindre l'état mature). Points noirs représentant les ribosomes, rER=réticulum endoplasmique rugueux (d'après Shewry et Halford, 2002 ; Holding, 2014) (b-).

La zéine est synthétisée de façon compacte dans l'albumen par les ribosomes. Les corpuscules protéiques sont retenus par la membrane du réticulum endoplasmique rugueux et l'accrétion de couches fines de zéine contribue à la croissance des corpuscules protéiques.

1.3.2.1. Structure et variabilité de la zéine

Il existe quatre groupes de zéines que l'on retrouve dans la zéine commerciale, par ordre décroissant de prépondérance les zéines- α (71 à 85 % de la zéine totale), solubles en milieu hydroalcoolique et sans agent réducteur, les - γ (10 à 20 % de la zéine totale), les - β (1 à 5 %) et les zéines- δ (1 à 5 %) très solubles en milieu hydroalcoolique en présence d'un agent réducteur (Landry, 1979 ; Wilson, 1991 ; Anderson et Lamsal, 2011).

La caractérisation des zéines est basée ensuite sur leurs masses moléculaires déterminées après migration en conditions dénaturantes par SDS-PAGE (*i.e.*, électrophorèse sur gel en polyacrylamide en présence d'un tensioactif, le dodécylsulfate de sodium « SDS »), les zéines- α donnant deux bandes, l'une à 19 kDa (Z19, avec 210 à 220 résidus -acides aminés-) et l'autre à 22 kDa (Z22, avec 240 à 250 acides aminés) (Fig. I.7) ; les zéines- β , des bandes à 17 kDa et 18 kDa ; les zéines- γ à 16, 27 et 48 kDa (dimère de protéines de masses moléculaires plus faibles), et les zéines- δ à 10 kDa (Dombrink-Kurtzman et Bietz, 1993 ; Shewry et Halford, 2002 ; Anderson et Lamsal, 2011).

Les zéines- α sont confinées majoritairement au centre des corpuscules protéiques, comme les - δ que l'on retrouve en plus petites quantités, et les zéines- β et - γ sont présentes en périphérie (Fig. I.6 et I.7). Les corpuscules sont destinés à servir de réserve d'azote et de carbone pour le développement de la plante, lors de la germination du grain.

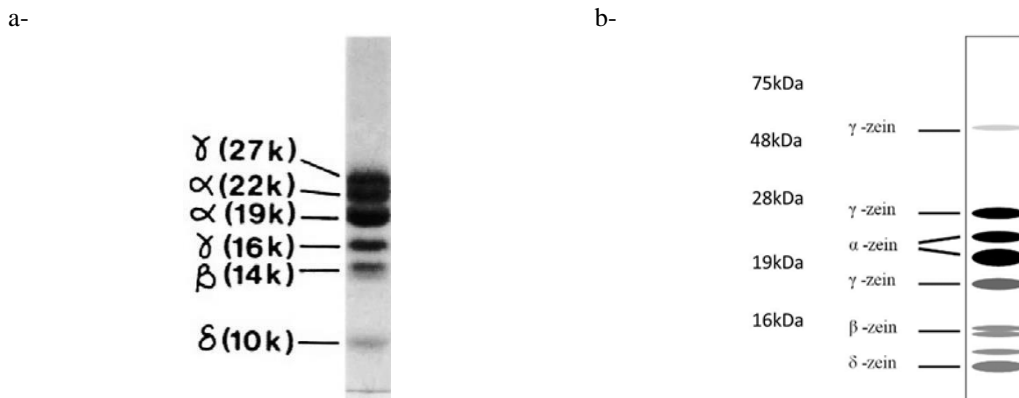


Figure I.7. Electrophorèse SDS-PAGE de zéines d'endosperme de maïs (a) (d'après Shewry et Halford, 2002) et schéma résumant les travaux antérieurs publiés après SDS-PAGE (b) (d'après Anderson et Lamsal, 2011)

La zéine commerciale brute se présente sous la forme d'une poudre amorphe de couleur jaune (Tableau I.2). Elle regroupe en réalité une famille de protéines faisant partie de la classe des prolamines, que l'on retrouve comme la plus importante classe de protéines de réserve dans de nombreuses céréales, dont le maïs (Holding, 2014). Les zéines commerciales contiennent aussi de

petites fractions non protéiques (< 5%), des acides gras (*e.g.* acide oléique) et des pigments (*e.g.* xanthophylles, tels que la lutéine) responsables de la couleur jaune orangée de la zéine.

Tableau I.2. Propriétés générales de la zéine (d'après ^aMagoshi *et al.*, 1992; ^bShukla et Cheryan, 2001 ; ^cSelling, 2010; ^dCorradini *et al.*, 2014; ^eShi et Dumont, 2014; ^fMadeka et Kokini, 1996)

Propriété	Valeur, ou état
Forme physique usuelle à l'état pur	Poudre amorphe de couleur blanche, ou crème ^{a,b,d}
Forme physique usuelle à l'état brut	Poudre amorphe jaune, car liée à la lutéine, une xanthophylle ^{a,b,d}
Densité	1,25 ^b
Température de dégradation	T _{décomposition} : 265 - 340 °C, principale à 280°C pour la zéine- α ^{a,c}
Température de transition vitreuse	T _g = 139 °C pour la zéine commerciale anhydre pure ^f
Masse moléculaire	21 - 25 kDa (pour la zéine- α , composante majoritaire des zéines) ^{a,d}
Degré de polymérisation	210 - 245 ^{a,d}
Point isolélectrique	pH 6,2 ^{a,d} ; 6,4 ^c
Volume moléculaire spécifique partiel	0,771 ^{a,d}

La zéine commerciale représente en fait un ensemble de protéines peu chargées. Leurs séquences en acides aminés (structures primaires) présentent à la fois des domaines hydrophobes et hydrophiles, avec notamment des résidus glutamine. La caractérisation moléculaire des zéines a principalement porté sur les zéines- α , les composantes majoritaires des protéines de réserve des grains de maïs dont l'utilisation est répandue comme on l'a vu précédemment. Les zéines- α présentent une séquence en acides aminés donnant une structure unique, avec relativement peu d'acides aminés essentiels et une proportion importante en acides aminés non polaires (> 50 %) (Tableau I.3 et Annexe 1). L'acide glutamique, ou sous forme glutamine, est aussi bien représenté (de l'ordre de 20 % des résidus acides aminés) dans la structure primaire de la zéine.

Tableau I.3. Composition en acides aminés de la zéine [% par rapport à la masse de zéine] (d'après ^aShukla et Cheryan, 2001; ^bHernandez-Izquier et Krochta, 2008 et Shi et Dumont, 2014)

^{a,b,c} Classe	^{a,b,c} Acide aminé	^{a,b} Masse moléculaire	^a Zéine native (d'après Mossé, 1961)	^a Zéine commerciale (d'après Pomes, 1971)
Apolaires	Glycine (G)	75	0,0	0,7
	Alanine (A)	89	10,52	8,3
	Valine* (V)	117	3,98	3,1
	Leucine* (L)	131	21,1	19,3
	Isoleucine* (I)	131	5	6,2
	Phénylalanine* (F)	165	7,3	6,8
	Tryptophane* (W)	204	0,16	-
	Proline (P)	115	10,53	9,0
Polaires non-ionisables, ou faibles	Sérine (S)	105	7,05	5,7
	Thréonine (T)	119	3,45	2,7
	Tyrosine* (Y)	181	5,25	5,1
Soufrés	Méthionine* (M)	149	2,41	2,0
	Cystéine (C)	121	0,83	0,8
Basiques	Lysine* (K)	146	0	-
	Arginine (R)	174	4,71	1,8
	Histidine (H)	155	1,32	1,1
Acides	Acide Aspartique (D)	133	4,61	-
	sous forme Asparagine (N)	132	-	4,5
	Acide Glutamique (E)	147	26,9	1,5
	sous forme Glutamine (Q)	146	-	21,4

*acides aminés essentiels (ne pouvant être amenés que par l'alimentation)

1.3.2.2. Les plastifiants de la zéine

La zéine commerciale constitue un groupe de polymères amphiphiles qui peut être thermoplastifié après mélange avec des plastifiants et, à l'état fondu, elle présente un comportement rhéofluidifiant (Madeka et Kokini, 1992). Ainsi, la zéine plastifiée, additionnée de paracétamol comme principe actif (PA), a récemment été étudiée pour obtenir des gélules par extrusion-moulage afin de contrôler le relargage du PA (Bouman *et al.*, 2015). La zéine peut aussi être filée à chaud, en un filament thermoplastique obtenu par cuisson-extrusion, et sa structure moléculaire particulière la rend plastifiable par des composés chimiques variés (*e.g.*, polaire, ou polaire-apolaire) tels que le glycérol ou des acides gras (Tableau I.4).

Tableau I.4. Composés plastifiants de la zéine et températures de transition vitreuse de matériaux à base de zéine pour une teneur massique en plastifiant ajoutée par rapport à la masse de zéine sèche (d'après ^aLawton, 2004; ^bCorradini *et al.*, 2006; ^cDi Maio *et al.*, 2010; ^dNedi *et al.*, 2012 ; ^eSelling et Utt, 2013 et ^fMadeka et Kokini, 1996)

Type de plastifiant	Nom	Formule chimique	Masse molaire [g.mol ⁻¹]	T _g [°C] (teneur massique)
Polaire	Eau ^{a,b,f}	H ₂ O	18	-10 (20%) ^f
	Glycérol ^{a,b}	CH ₂ OH-CHOH-CH ₂ OH	92	60 (20%) ^a
	Acide lactique ^c	CH ₃ CH(OH)COOH	90	-
Amphiphile	Triéthylène glycol (TEG) ^{a,e}	H(OCH ₂ CH ₂) ₃ OH	150	60 (20%) ^a
	Poly(éthylène glycol) (PEG400) ^{c,d}	H(OCH ₂ CH ₂) ₈ OH	400	55 (27%) ^d
<i>dont acides gras</i>	Acide laurique ^c	H(CH ₂) ₁₁ COOH	200	-
	Acide stéarique ^c	H(CH ₂) ₁₇ COOH	284	-
	Acide oléique ^a	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	282	110 (20%) ^a

La zéine commerciale, extraite des grains de maïs, a une teneur en eau de l'ordre de 5% (masse humide totale) et une température de transition vitreuse reportée à T_g = 88°C. Elle est principalement composée de zéine- α , soluble en milieu hydroalcoolique et ainsi séparée de la fraction amylacée des grains après fractionnement mécanique (Holding, 2014 ; Anderson et Lamsal, 2011). Elle possède un domaine N-terminal (35-36 résidus acides aminés) et 9 ou 10 unités répétées en hélices- α (pour la zéine « Z19 », $\overline{M}_w = 19\text{kDa}$ et pour la zéine « Z22 », $\overline{M}_w = 22\text{kDa}$). Ces hélices sont composées d'environ 20 acides aminés chacun. Elle possède un domaine C-terminal, composé de 10, pour la zéine « Z19 », à 29 acides aminés, pour la zéine « Z22 ». Un modèle de structure prismatique (13 x 3 x 1.2 nm³) a été reporté présenté pour la zéine « Z22 » (Fig. I.8), avec de possibles empilements en dimères et jusqu'en tétramères (Matsushima *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2005 ; Lai *et al.*, 1999).

Les faces verticales de ce prisme lui confèrent des propriétés hydrophobes (en bleu sur la figure I.8), alors que les boucles entre les unités répétées, riches en résidus glutamine, présentent des propriétés hydrophiles. Cette structure conduit à des propriétés d'auto-assemblage de ce biopolymère en solution (Wang et Padua, 2012 ; Zhang *et al.*, 2015), ainsi qu'à des interactions avec des plastifiants variés. Ces derniers peuvent présenter soit des structures polaires, tel que dans le cas de l'eau ou du glycérol ajoutés en relativement faibles quantités, typiquement < 40% (Madeka et Kokini, 1996 ;

Corradini *et al.*, 2006 ; Gillgren *et al.*, 2009), ou amphiphiles dans le cas d'acides gras, de triéthylène glycol ou poly(éthylène glycol) (Di Maio *et al.*, 2010 ; Nedi *et al.*, 2012 ; Selling et Utt, 2013 ; Lai *et al.*, 1999). Les deux fractions de la zéine- α , Z19 et Z22, présentent une structure primaire riche en résidus apolaires (> 50 %, principalement la leucine, la proline et l'alanine) ; la glutamine est la plus importante des résidus polaires représentant au total de l'ordre de 30 % des acides aminés de la structure primaire de la zéine, selon les travaux de Shewry et Halford (2002) et la représentation schématique d'Anderson et Lamsal (2011).

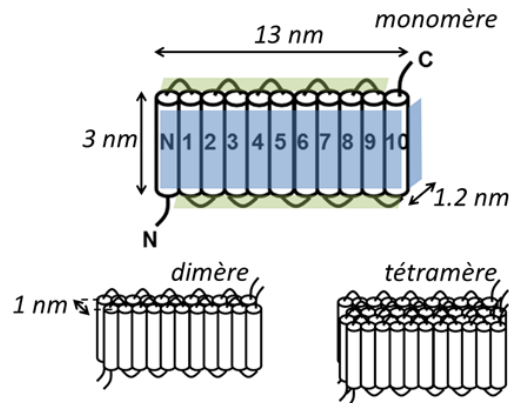


Figure I.8. Structure prismatique de la zéine (zéine- α , Z22), présentée comme un « monomère », avec des hélices- α antiparallèles en unités répétées. Faces hydrophobes en bleu, boucles hydrophiles reliant les hélices- α en vert. Empilement possible en dimères et jusqu'à des tétramères par interactions hydrophobes. Adapté de : Corradini *et al.*, 2014 ; Matsushima *et al.*, 1997 et Wang *et al.*, 2005

Des travaux récents ont aussi permis de tester l'apport de liquides ioniques pour la plastification de la zéine (Leroy *et al.*, 2012). Les liquides ioniques sont des sels composés d'un cation organique (*e.g.*, imidazolium) et d'un anion organique (*e.g.*, acétate, $[\text{CH}_3\text{COO}^-]$), ou inorganique (*e.g.*, chlorure, $[\text{Cl}^-]$). Comme l'ensemble des sels, ce sont des composés ioniques sans charge nette, mais ils présentent un point de fusion inférieur à 100 °C et même en général inférieur à la température ambiante, ce qui en fait des solvants de choix. Ce sont de bons candidats pour la dissolution de la zéine, car leurs volumes moléculaires et leurs polarités (bien plus basse que celle de l'eau en général) sont faibles et ce ne sont pas de bons accepteurs de liaison hydrogène.

Parmi eux, le [1-butyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] ($[\text{BMIM}][\text{Cl}^-]$) a été proposé comme solvant de l'amidon et de la zéine à 80 °C, pour des concentrations n'excédant pas 10 % en biopolymère (Biswas *et al.*, 2006). Des essais plus récents ont permis de dissoudre environ 2 fois plus de zéine à 60 °C dans le $[\text{BMIM}][\text{Cl}^-]$ que dans une solution aqueuse d'éthanol à 70v% (Tomlinson *et al.*, 2014). La faible tension de vapeur des liquides ioniques en fait des plastifiants non volatils intéressants pour la mise en œuvre des polymères à l'état fondu. Le $[\text{BMIM}][\text{Cl}^-]$ a été utilisé pour la plastification de l'amidon, de la zéine commerciale et de composites thermoplastifiés à base de ces deux biopolymères (Leroy *et al.*, 2012). Pour une teneur en plastifiant de 20 %, la transition vitreuse est abaissée à 53°C pour la zéine avec le $[\text{BMIM}][\text{Cl}^-]$ ($T_E \approx 9$ %, mt), alors qu'elle est de 76 °C pour

la zéine plastifiée par le glycérol ($TE \approx 10\%$,mt). **Un intérêt possible de ce type de solvant-plastifiant est de pouvoir combiner différents anions et cations afin de réaliser des plastifiants fonctionnels. Dans le cas de la zéine, on pense notamment à la réalisation de plastifiants liquides ioniques contenant des ions actifs pharmaceutiques.**

Les applications des liquides ioniques dans le domaine pharmaceutique est un enjeu majeur pour l'avenir, notamment en bénéficiant d'un système ion/contre-ion permettant un effet double *e.g.* anti-bactérien et anti-inflammatoire (Shamshina, 2015 ; Hussan *et al.*, 2016). Un double intérêt peut donc être visé dans le cas de la plastification de la zéine par des liquides ioniques étant aussi des principes actifs utilisés dans l'industrie pharmaceutique, ou dans le domaine biomédical: (i) bénéficier de l'effet plastifiant des liquides ioniques pour la mise en œuvre de la zéine à l'état fondu et (ii) contrôler leur relargage par la structure de la pièce imprimée 3D à base de ce biopolymère comestible (Goyanes *et al.*, 2014 ; Goole *et al.*, 2016 ; Kempin *et al.*, 2017). La zéine est particulièrement intéressante comme biopolymère modèle pour ce type d'applications, car déjà utilisée en galénique et étudiée pour de nombreuses applications dans le domaine biomédical (Li *et al.*, 2013 ; Corradini *et al.*, 2014).

1.3.3. Adéquation du comportement thermomécanique et rhéologique au cahier des charges matière en FA-DFF

1.3.3.1. Comportement thermomécanique

Plastifiée par addition de 22% de glycérol, ses propriétés thermomécaniques sont du même ordre de celles requises pour l'obtention de pièces rigides, son module élastique étant élevé (≈ 1 GPa) et sa température de transition vitreuse supérieure à l'ambiante ($T_g \approx 60$ °C) et bien inférieure à sa température de dégradation (Tableaux I.1 et I.2 ; Corradini *et al.*, 2006).

Dans le cas des polymères utilisés comme standards en FA-DFF, leurs structures chimiques très différentes conduisent à des événements thermiques variés. Par exemple, le PLA a une transition vitreuse à environ 50 °C, un exotherme à 91 °C dû à sa cristallisation et des transitions endothermiques entre 130 et 150 °C dues à la fusion de leurs domaines cristallins, selon le ratio PDLA/PLLA (Zhu *et al.*, 2017). L'ABS a une structure amorphe vitreuse dans les conditions ambiantes. Il présente une large transition vitreuse entre 85 °C et jusqu'à environ 120 °C (Weng *et al.*, 2016). Ces matériaux standards en FA-DFF ont donc des comportements thermomécaniques différents, mais ils ont en commun une relaxation mécanique qui donne un module élevé dans les conditions ambiantes et un modulé très faible à haute température (rapport des modules vitreux et caoutchoutique de l'ordre 1.10^3 tel que détaillé plus haut), rendant alors possible leur écoulement.

Une telle chute de rigidité est obtenue pour la zéine à partir de 10 % de glycérol, avec une diminution importante de la température de relaxation mécanique principale par l'ajout de ce composé plastifiant polaire, de $T_\alpha = 89$ °C pour 10 % de glycérol, à $T_\alpha = 58$ °C, pour 22% de glycérol (Fig. I.9 ; Corradini *et al.*, 2006). Les matériaux à base de zéine contenant 30 % ou plus de glycérol ont une

rigidité plus faible dans les conditions ambiantes que ceux contenant 15 à 22% de glycérol, mais des valeurs proches et faibles rapidement obtenues à haute température au-delà de leur transition vitreuse ($E' < 1$ MPa). Par ailleurs, à partir d'une teneur de 30 %, une exsudation du glycérol est constatée par Corradini et ses collaborateurs et les températures de relaxations mécaniques principales des matériaux deviennent constantes à cause de la saturation des sites de plastification de la zéine par le glycérol. Ainsi, des matériaux à base de zéine avec une teneur de l'ordre de 15 à 25% de glycérol seraient les plus pertinents pour l'impression 3D par dépôt de matière à l'état fondu avec des rapports entre le module vitreux et caoutchoutique du même ordre que pour un polymère amorphe standard, tel que l'ABS, et un écoulement à haute température.

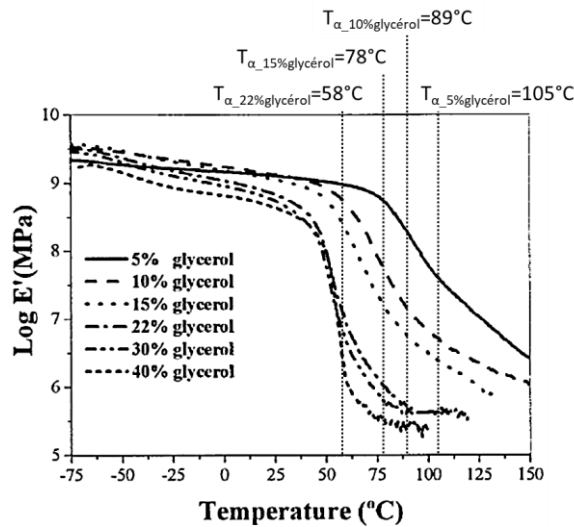


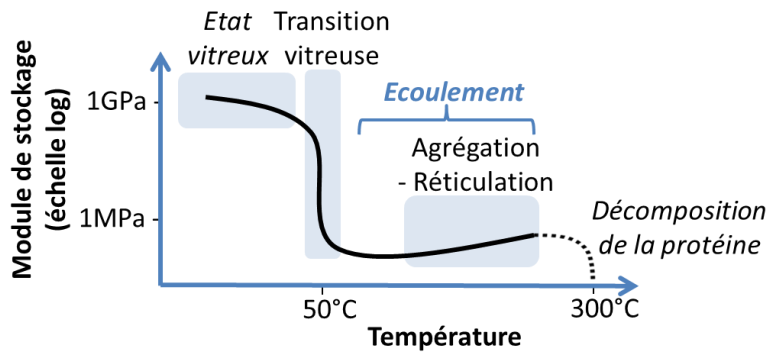
Figure I.9. Evolutions des modules de stockage de matériaux à base de zéine plastifiée par le glycérol déterminées par analyse mécanique dynamique (chauffage à $3^\circ\text{C}/\text{min}$) et positionnement des températures des relaxations mécaniques principales des matériaux (T_{α}), liées au franchissement de leurs transitions vitreuses (d'après Corradini *et al.*, 2006)

I.3.3.2. Comportement rhéologique et stabilité

Le comportement rhéologique de la zéine fondue, de l'amidon (ou leurs mélanges), ainsi que celui de la farine de maïs est caractérisé par des viscosités bien plus faibles pour la zéine seule (Madeka et Kokini, 1992 ; Corradini *et al.*, 2007). Selon le plastifiant et la teneur en eau, la viscosité des fondus η est comprise entre 0,1 et 1 kPa.s pour $120 \leq T \leq 160^\circ\text{C}$. Ces valeurs conduisent à un ratio E/η supérieur à $0,5 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$, proche de valeurs typiques pour des polymères thermoplastiques utilisés en FA-DFF (Venkataram *et al.*, 2000 ; Turner *et al.*, 2014). Néanmoins, la caractérisation moléculaire de matériaux à base de zéine a mis en évidence une réticulation thermique pendant l'extrusion, réalisée jusqu'à sept fois consécutivement pour vérifier le caractère recyclable de tels matériaux (Selling et Utt, 2013). Cette réticulation vient de l'oxydation thermique des groupements sulfhydriles des résidus cystéines (-SH) en ponts disulfure (S-S) ; elle conduit à une rigidification du matériau tel que représenté schématiquement pour une composition contenant 25 % de plastifiant polaire (représentation schématique sur la figure I.10-a, d'après Madeka et Kokini, 1996 et Corradini *et al.*, 2006).

La structure réticulée du biopolymère, mélangé avec un plastifiant polaire (*e.g.*, 20% glycérol), puis extrudé peut ainsi conduire à un matériau mécaniquement consolidé (Fig. I.10-b, d'après Verbeek et van den Berg, 2010). Par ailleurs, des traitements thermomécaniques par extrusion ou en mélangeur ont été réalisés entre 120 et 130°C avec des farines de maïs (Chanvrier *et al.*, 2006 ; Jbilou *et al.*, 2012) et de 120 à 160 °C avec de la zéine seule ou en composite avec l'amidon (Chanvrier *et al.*, 2005 ; Corradini *et al.*, 2006 ; Corradini *et al.*, 2007 ; Leroy *et al.*, 2012). Sa thermostabilité est relativement importante, sa décomposition thermique apparaissant principalement à 280-300°C (Selling, 2010) (Fig. I.10-a et b). De plus, en dépit de différentes structures et mécanismes de relaxation mécanique par rapport aux polymères standards en FA-DFF, la diminution de la résistance mécanique à chaud rend possible la détermination de températures d'impression pour la zéine thermoplastifiée à $T_{\text{impression}} > 120 \text{ }^\circ\text{C}$ ($T_{\text{impression}} > 190 \text{ }^\circ\text{C}$ pour le PLA et $T_{\text{impression}} > 220 \text{ }^\circ\text{C}$ pour l'ABS). Ces valeurs sont supérieures à la température de relaxation propre à chaque polymère, *i.e.*, supérieures à la T_g pour des polymères amorphes tels que la zéine plastifiée et l'ABS, et supérieures à T_g et T_m , la température de fusion pour un semi-cristallin tel que le PLA. Ces propriétés renforcent donc le choix de cette protéine plastifiée par le glycérol comme modèle pour l'étude de sa transformation comme un biopolymère thermoplastique dans le cas de la FA-DFF.

a-



b-

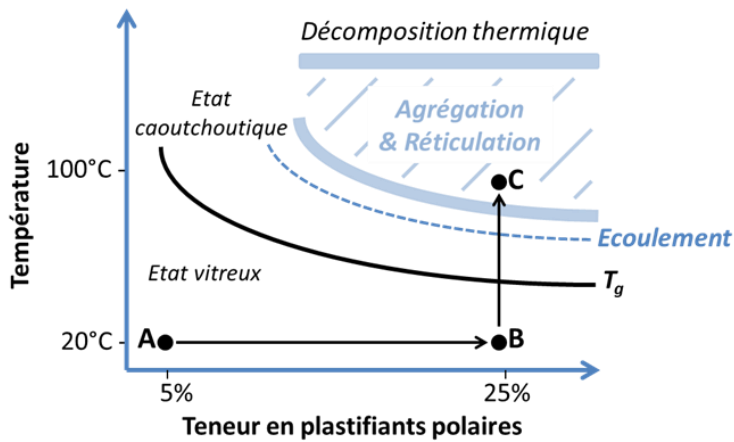


Figure I.10. Représentation schématique de l'évolution du module de stockage de la zéine thermoplastifiée avec des plastifiants polaires tels que: l'eau, avec une teneur en eau initiale d'approximativement 5 % par rapport à la masse de zéine, et le glycérol ajouté (20% de la masse de zéine initiale) (a-). Diagramme d'état fonctionnel avec le point « A » comme étant la zéine à l'état pulvérulent initial; le point « B », la composition après formulation (zéine+plastifiant); et le point « C », le matériau porté à haute température pendant un traitement thermomécanique (e.g. extrusion) (b-). Adapté de : Madeka et Kokini, 1996 ; Corradini *et al.*, 2006 et Verbeek et van den Berg, 2010

I.4. Conclusions de l'étude bibliographique et positionnement de l'étude expérimentale

Cet état de l'art sur le procédé de Fabrication Additive par dépôt de fil fondu (FA-DFD) nous a permis dans un premier temps d'établir **un cahier des charges matière minimal pour la formulation d'un matériau thermoplastique adapté au procédé**. Les différentes propriétés du matériau à considérer sont listées dans le tableau I.5 ci-dessous. **Les gammes de valeurs à cibler pour chacune de ces propriétés, ou combinaisons de propriétés, ont été choisies en prenant comme référence les deux polymères les plus couramment mis en œuvre par FA-DFD (ABS et PLA)**. Les propriétés rhéologiques, en particulier la viscosité, et thermomécaniques sont apparues comme des paramètres importants. Néanmoins des propriétés plus rarement caractérisées, comme la tension de surface à l'état fondu, interviennent aussi.

Nous avons ensuite recherché quels biopolymères pouvaient répondre à ce cahier des charges et mis en évidence l'intérêt des zéines, des protéines du maïs thermoplastifiables par différents plastifiants. **Nous avons donc choisi la zéine commerciale plastifiée par le glycérol comme biopolymère modèle pour l'étude expérimentale** qui sera présentée dans les chapitres suivants. Les données disponibles dans la littérature, récapitulées dans le tableau I.5, sur la zéine plastifiée par le glycérol à une teneur de 15 à 22 % en masse suggèrent que ses propriétés thermomécaniques et rhéologiques se rapprochent du cahier des charges établi pour le procédé FA-DFD.

Après avoir présenté les matériaux et les techniques expérimentales utilisés au chapitre II, **une étude poussée des propriétés thermomécaniques et rhéologiques sera menée au chapitre III** (Fig. I.11). Nous nous intéresserons notamment à l'évolution de la structure moléculaire de la zéine à l'état fondu et à son impact sur le comportement rhéologique, qui constitue un défi pour sa mise en œuvre du fait de ses propriétés d'agrégation. Cette étude permettra d'évaluer les propriétés manquantes dans le tableau I.5.

Le chapitre IV sera ensuite consacré à l'étude du comportement de la zéine plastifiée par le glycérol dans des conditions proches du procédé FA-DFD. Nous nous intéresserons d'une part à l'alimentation/extrusion sur une machine d'impression 3D de la zéine et d'autre part à l'adhésion à chaud entre deux filaments.

Enfin **le chapitre V, sera consacré à l'exploration de formulations alternatives à la zéine plastifiée par le glycérol, à la fois pour optimiser les propriétés nécessaires à la mise en œuvre de la zéine et pour le développement d'applications pharmaceutiques ou biomédicales**. En effet, des pièces fonctionnelles imprimées à façon à base de zéine auraient un fort potentiel en tirant partie de sa comestibilité, biodégradabilité et de sa biocompatibilité, notamment pour des applications concernant le contrôle du relargage de principes actifs.

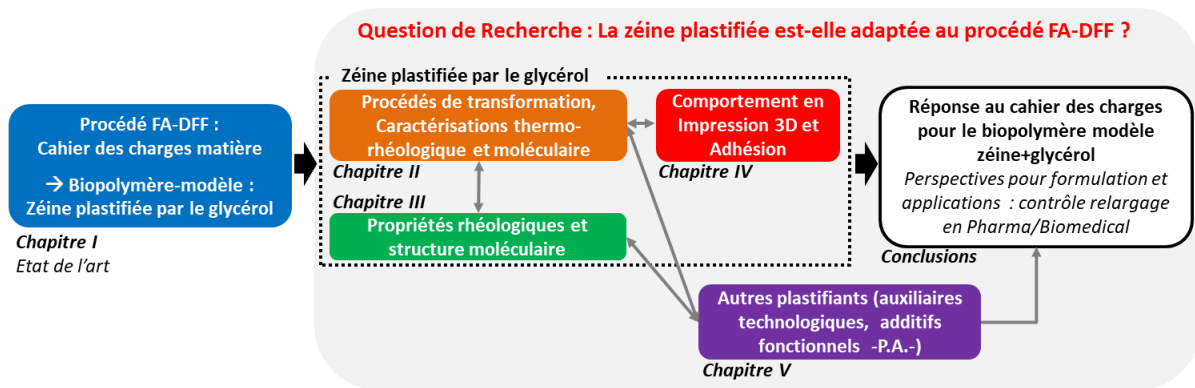


Figure I.11. Représentation schématique de la démarche suivie en regard du plan du manuscrit de thèse

Tableau I.5. Critères thermomécaniques et rhéologiques à l'état fondu d'un polymère thermoplastique amorphe standard en FA-DFF selon les zones caractéristiques d'une imprimante 3D (^aWeng *et al.*, 2016 ; ^bTurner *et al.*, 2014 ; ^cVenkataram *et al.*, 2000 ; ^dKar *et al.*, 2014 ; ^eBellehumeur *et al.*, 2004 ; ^fSun *et al.*, 2008 ; ^gJiang *et al.*, 2013 ; ^hWei *et al.*, 2015 ; ⁱWeng *et al.*, 2016 ; ^jDawson *et al.*, 2000 ; ^kdos Santos *et al.*, 2013 ; ^ldonnées du fabricant); correspondance avec les matériaux à base de zéine plastifiée par le glycérol (^mMagoshi *et al.*, 1992 ; ⁿSelling, 2010; ^oMadeka et Kokini, 1996 ; ^pCorradini *et al.*, 2006) et critères à déterminer pour le matériau-modèle à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol (Z20Gly)

Matériau	Zone d'alimentation de la buse et après obtention d'une pièce imprimée rigide par FA-DFF				Dépôt du filament		Fusion-adhésion		
	$T_{\text{ambient}} < T_g$ et $T_g < T_{\text{décomposition}}$	$E_{\text{vitreux}}/E_{\text{caoutchoutique}} \approx 1.10^3$	$\Delta T_{\text{caoutchoutique-vitreux}} \approx 30-40 \text{ }^\circ\text{C}$	$E \approx 1 \text{ GPa}$	$E/\eta \text{ [s}^{-1}\text{]}$ (η à $\dot{\gamma}=100-200\text{s}^{-1}$)	$\eta/\Gamma \text{ [s.m}^{-1}\text{]}$ (η à $\dot{\gamma}=100-200\text{s}^{-1}$)	CTE [K ⁻¹]	λ [W.m ⁻¹ .K ⁻¹]	$t_{vs} = \left(\frac{r}{\eta a_0}\right)^{-1} \text{ [s]}$
Thermoplastique standard en FA-DFF (valeurs pour amorphe : ABS)	● ($T_g=94-110^\circ\text{C}^{\text{a,e,l}}$)	● (ratio $\approx 1.10^3$ ^a)	● ($\Delta T \approx 40^\circ\text{C}^{\text{a}}$)	● ($E=2,3\text{GPa}^{\text{l}}$)	$> 0,5.10^6$ ^{b,c} ($E/\eta > 2,3.10^6$)	$3,5.10^3 - 3,6.10^4$	$6 - 10.10^{-5} \text{K}^{-1}$ ^{g,h,i}	$0,20-0,26$ ^{j,k}	de 41s (240°C) à 92s (220°C) ^{e,f}
Zéine plastifiée par < 15% glycérol	● ^{m-p}	○ ^p	○ ^p	● ^p	-	-	-	-	-
Zéine plastifiée par 15-22% glycérol	● ^{m-p}	● ^p	● ^p	● ^p	▲	▲	▲	▲	▲
Zéine plastifiée par > 22% glycérol	● ^{m-p} (exsudation glycérol à partir 30% m/m) ^p	● ^p	● ^p	○ ^p	-	-	-	-	-

* Correspondance au critère : « ● ». Absence de correspondance au critère : « ○ ». A déterminer pour le matériau-modèle Z20Gly: « ▲ »

Chapitre II : Elaboration et méthodes de caractérisation des matériaux à base de zéine

Chapitre II

Introduction

Dans ce deuxième chapitre, nous aborderons la méthodologie expérimentale mise en œuvre pour l'élaboration et la caractérisation des formulations à base de zéine.

Nous décrirons tout d'abord les matières premières et les formulations à base de zéine élaborées pour l'étude, puis les dispositifs mis en œuvre pour leur transformation et la détermination de leurs propriétés rhéologiques à l'état fondu. Les moyens de caractérisation moléculaire permettant d'évaluer l'effet de traitements thermomécaniques sur la zéine plastifiée seront ensuite détaillés, ainsi que les matériels et méthodes de mesure des propriétés thermiques et thermomécaniques des matériaux obtenus.

Enfin, un dispositif expérimental dédié à l'évaluation des propriétés de fusion-adhésion de filaments extrudés, réalisé au cours de cette thèse, ainsi que la caractérisation du comportement de matériaux à base de zéine en milieu physiologique simulé seront décrits en fin de ce chapitre.

II.1. Matières premières et formulations

II.1.1. Matériaux thermoplastiques standards en FA-DFF

Deux polymères de référence en fabrication additive ont été utilisés : l'acrylonitrile-butadiène-styrène (ABS, amorphe) et le poly(acide lactique) (PLA, semi-cristallin). Ils proviennent d'un fournisseur dédié à l'impression 3D (eMotion Tech, F-31 Toulouse) et sont livrés sous forme de bobines de 1 kg de filament calibré pour la FA-DFF ($\varnothing_{\text{filament}} = 3 \text{ mm}$).

II.1.2. Zéine, plastifiants et matériaux étudiés

II.1.2.1. Zéine commerciale brute

La zéine commerciale brute (Ref. Z3625) provient du fournisseur Sigma-Aldrich (F-38, Saint-Quentin Fallavier). Il s'agit d'un produit pulvérulent de couleur jaune-orangé présentant une masse volumique de $0,33 \text{ kg.L}^{-1}$ (Tableau II.1 ; densité de la zéine dense *en bulk* : 1,25, d'après Shukla et Cheryan, 2001). Sa teneur en eau est de l'ordre de 4 à 5 % et en protéines de l'ordre de 85 à 90 % de la masse sèche, ce qui correspond aux valeurs moyennes de la littérature pour la zéine commerciale (Gillgren *et al.*, 2009 ; Selling, 2010).

Tableau II.1. Caractéristiques de la zéine commerciale

Nom	Référence	Masse volumique* [kg.L^{-1}]	Teneur en eau [% , ms]	Teneur en protéines** [% , ms]
Zéine commerciale brute	Z3625 - Sigma-Aldrich	$0,33 \pm 0,03$	$4,4 \pm 0,1$ (soit 4,2 % <i>mt</i>)	85 ± 1

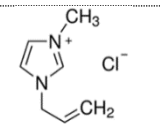
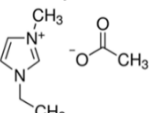
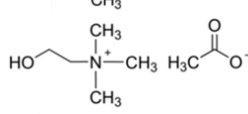
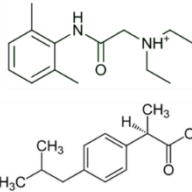
*Déterminée après remplissage d'une éprouvette graduée tarée de 200ml, agitation légère et pesée

**Évaluée par la méthode Kjeldahl (Nx5,7)

II.1.2.2. Plastifiants et additifs pour la formulation des matériaux à base de zéine

Le glycérol, ainsi que les autres plastifiants et additifs ont été achetés au même fournisseur (*i.e.*, acide oléique, acide laurique, sulfite de sodium et Sodium Dodécyl Sulfate -SDS-), à l'exception des liquide ioniques. Ces derniers ont été soit achetés auprès de la société Solvionic (F-31, Toulouse) ([1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] et [1-Ethyl-3-Méthylimidazolium][Acétate]), soit ont été synthétisés dans le cadre de travaux antérieurs au laboratoire ([Cholinium][Acétate] ; les détails de sa synthèse ont été rapportés dans la littérature : Colomines *et al.*, 2016), soit nous ont été fournis par le laboratoire UTINAM -UMR CNRS-Université Besançon- ([Lidocaïnum][Ibuprofénate] ; *cf.* détails de sa synthèse rapportés dans la littérature : Jouannin *et al.*, 2014). Les composés plastifiants utilisés au cours de cette thèse sont donc de natures et de propriétés variées (Tableau II.2).

Tableau II.2. Composés plastifiants utilisés dans le cadre de cette thèse

Nom -Code-	Type de Plastifiant/Additif	Formule chimique, ou Structure moléculaire (liquides ioniques)	Masse molaire [g.mol ⁻¹]
Eau	Plastifiant polaire	H ₂ O	18
Glycérol -Gly-	Plastifiant polaire	CH ₂ OH-CHOH-CH ₂ OH	92
Acide laurique -Lau-	Plastifiant hydrophobe	H(CH ₂) ₁₁ COOH	200
Acide oléique -Ole-	Plastifiant hydrophobe	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	282
Sulfite de Sodium -Sulfite-	Additif réducteur	Na ₂ SO ₃	126
Sodium Dodécyl Sulfate -SDS-	Additif tensio-actif	NaC ₁₂ H ₂₅ SO ₄	288
[1-Allyl-3-Méthylimidazolium] [Chlorure] -AMIM-	Liquide ionique		159
[1-Ethyl-3-Méthylimidazolium] [Acétate] -EMIM-	Liquide ionique		170
[Cholinium][Acétate] -ACH-	Liquide ionique		163
[Lidocaïnum][Ibuprofénate] -LID-	Liquide ionique		440

Les lipides et en particulier les acides gras libres étant des plastifiants de la zéine (Lai *et al.*, 1999 ; Lawton, 2004 ; Di Maio, *et al.* 2010 et Xu *et al.*, 2012), il est utile pour ce travail de disposer d'un lot de zéine délipidée pour en évaluer l'impact. La cartouche d'un extracteur Soxhlet est remplie avec 214 g de zéine commerciale (*cf.* Annexe 2), ce qui donne après extraction une masse de l'ordre

de 8 g de lipides (et de composés proches tels que les pigments de type caroténoïdes-lutéine) (cf. Annexe 3) et environ 190 à 200 g de zéine délipidée (Fig. II.1).

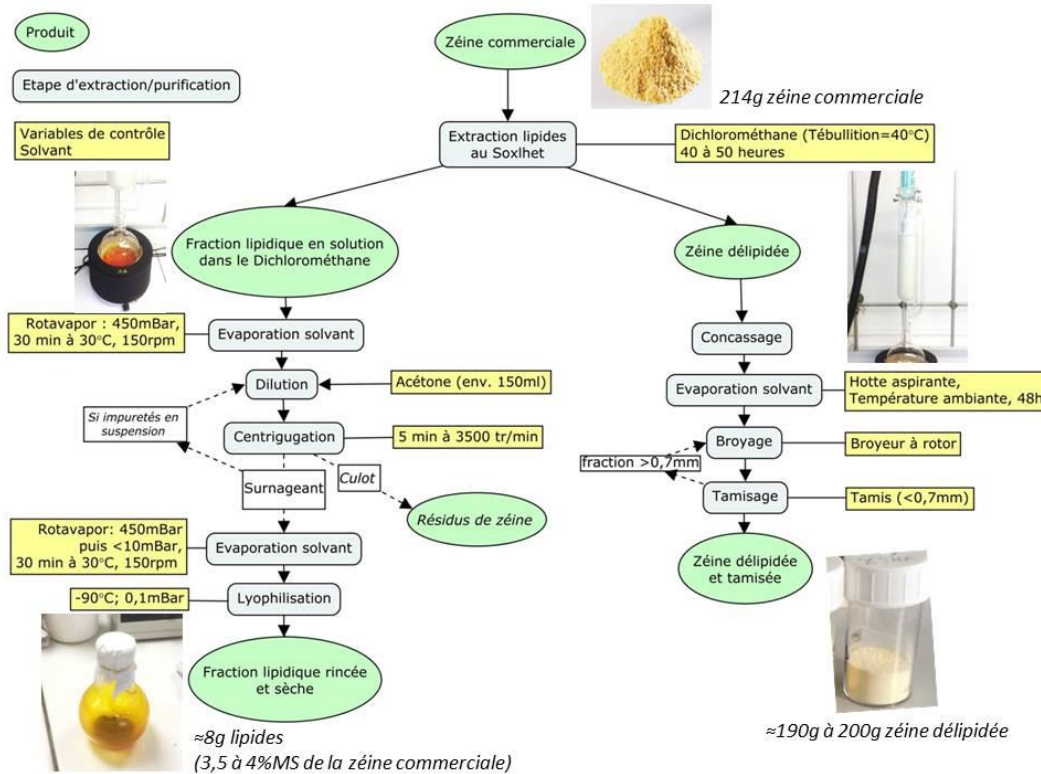


Figure II.1. Schéma représentant les étapes de la délipidation de la zéine commerciale brutes et les fractions obtenues

Pour les mélanges, les composés plastifiants sont ajoutés à la zéine et mélangés pendant environ 2 min à température ambiante, pour les différentes teneurs massiques testées par rapport à la masse de zéine introduite dans le pétrin-mélangeur (De'longhi Kenwood; F-92, Clichy) (Tableau II.3). Ils seront ensuite caractérisés après avoir été mis en œuvre par différents procédés, ou à différents stades de transformation (Tableau II.4).

Tableau II.3. Compositions des matériaux à base de zéine commerciale brute, ou délipidée, avec les masses en glycérol, acides gras (acide oléique et acide laurique), composé réducteur (sulfite de sodium), agent dénaturant (tensio-actif : SDS), ou liquides ioniques, ajoutées pour 100g de zéine

Dénomination de la composition (état pulvérulent)	Zéine [g]	Glycérol [g]	Acide gras [g]	Composé réducteur [g]	Composé dénaturant [g]	Liquide ionique [g]
Z, zéine commerciale brute	100	-	-	-	-	-
ZDelip, zéine délipidée*	100	-	-	-	-	-
Z20Gly	100	20	-	-	-	-
Z30Gly	100	30	-	-	-	-
Z20Gly1Sulfite	100	20	-	1	-	-
Z20Gly2,5SDS	100	20	-	-	2,5	-
Z20Gly2,5SDS1Sulfite	100	20	-	1	2,5	-
Z20Gly20Lau	100	20	20	-	-	-
Z20Gly20Ole	100	20	20	-	-	-
Z20LiquideIonique	100	-	-	-	-	20

*après délipidation de la zéine commerciale pulvérulente à l'extracteur Soxhlet

Tableau II.4. Dénomination des matériaux à base de zéine plastifiée selon le procédé de transformation, ou l'étape considérée pendant leur caractérisation

Suffixe dans la dénomination du matériau	Procédé de transformation
« _EMV »	Extrusion en extrudeuse Mono-Vis (130°C, $\varnothing_{\text{filament_extrudé}} \approx 3\text{mm}$)
« _EMV_FA »	Extrusion en extrudeuse Mono-Vis puis passage dans la buse de dépôt d'une imprimante 3D FA-DFE (130°C, $\varnothing_{\text{buse}} = 0,5\text{mm}$)
« _EBV »	Extrusion directe (sans recirculation) en micro-mélangeur Bi-Vis ($\varnothing_{\text{filament_extrudé}} = 2\text{mm}$)
« _EBV_Xmin »*	Extrusion après recirculation en micro-mélangeur Bi-Vis pendant X minutes
« _PTM »	Pastille thermomoulée à 130°C pendant 10min ($\varnothing_{\text{pastille}} = 16\text{ mm}$, $e_{\text{pastille}} = 3\text{ mm}$)

* e.g. « Z20Gly_EBV_10min » : matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol obtenu par extrusion après recirculation en micro-mélangeur bi-vis pendant 10 minutes

II.2. Etude de la transformation de la zéine à l'état fondu et comportement rhéologique

II.2.1. Extrusion et rheométrie en ligne sur un micro-mélangeur bi-vis

Un micro-mélangeur bi-vis instrumenté (Haake Minilab micro-compounder, Thermo Scientific GmbH, Karlsruhe-DE) est utilisé pour étudier la thermoplastification de la zéine préalablement mélangée aux plastifiants sous forme de poudre. Cet appareil permet à la fois d'extruder le matériau thermoplastique sous forme de filaments cylindriques et d'étudier son comportement rhéologique en écoulement. Il est équipé de deux vis de 12 cm de longueur, fonctionnant en mode co-rotatif. Le volume utile est de 7 cm³. L'ensemble est confiné dans un bâti métallique thermo-régulé. Une électrovanne permet la recirculation du fondu dans un canal équipé de deux capteurs de pression (notés « P1 » et « P2 » ; Fig. II.2) distants de 64 mm permettant d'évaluer la perte de charge. Le micro-mélangeur peut fonctionner sans recirculation, pour une simple mise en forme de la matière comme par une extrudeuse, sans recirculation de matière (dans ce cas le temps de séjour est faible, de l'ordre de 60 s pour une vitesse de rotation des vis de 50 rpm).

Il est également possible de contrôler le temps de séjour du produit par recirculation, on peut ainsi obtenir un traitement thermomécanique (température et cisaillement) proche de celui d'une extrudeuse. Les variations du couple du moteur et la chute de pression dans le canal de recirculation sont enregistrées continûment. En actionnant l'électrovanne, une fois atteint le temps de traitement voulu, on peut obtenir l'extrusion du fondu, s'écoulant alors au travers de la filière du micro-mélangeur à section rectangulaire (4 x 1 mm²) ou circulaire ($\varnothing_{\text{filière}} = 2\text{ mm}$). Le micro-mélangeur est réglé à la température voulue (ici T=130°C), pour une vitesse de rotation de vis à 50 rpm.

Le produit pulvérulent est introduit à l'aide d'un piston, à raison de 2 à 3 g, pour atteindre une masse de l'ordre de 7 à 8 g afin de remplir l'ensemble du volume utile lors des essais en recirculation.

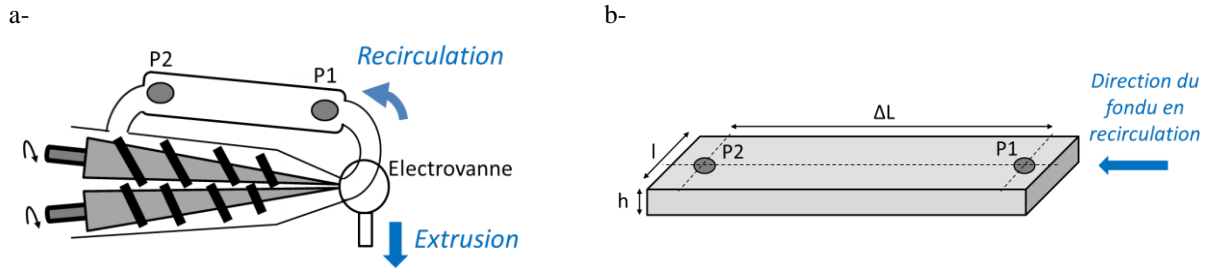


Figure II.2. Schéma du micro-mélangeur bi-vis : zone de recirculation, électrovanne et extrusion par la filière (a) ; canal de recirculation ($l=10\text{mm}$, $h=1,5\text{mm}$) et capteurs de pression P1 et P2 distants de $\Delta L=64\text{mm}$ (b)

Une fois la zone de recirculation atteinte (environ 2 minutes), la rotation des vis est maintenue pendant le temps souhaité (en général de l'ordre de 1 à 20 min), puis le fondu est extrudé.

L'énergie mécanique spécifique (EMS, J.g^{-1}) est déterminée par intégration du couple moteur (C , N.m) mesuré pendant le temps de traitement thermomécanique du matériau (moyenné sur 30 s dans le cas d'extrusion sans recirculation de matière):

$$\text{EMS} = \int_0^t \frac{C \cdot 2\pi \cdot n \cdot dt}{m \cdot 60} \quad (\text{Eq. II.2.1})$$

avec n : la vitesse de rotation des vis (réglée entre 1 et 360 tr.min^{-1})

t : le temps de séjour [s]

m : la masse de matière introduite [g]

La viscosité apparente peut être déterminée en évaluant le débit volumique de matière dans la zone de recirculation, Q [m^3/s], présumé proportionnel à la vitesse de rotation des vis, n [rpm] (Yousfi *et al.*, 2014). La viscosité apparente est évaluée en calculant le rapport de la contrainte de cisaillement, τ [Pa], sur la vitesse apparente de cisaillement dans la zone de recirculation, $\dot{\gamma}$ [s^{-1}], à partir des relations suivantes :

$$\tau = \frac{h \cdot l \cdot \Delta P}{2 \cdot (h+l) \cdot \Delta L} \quad (\text{Eq. II.2.2})$$

avec h : hauteur du canal de recirculation ($1,5 \cdot 10^{-3} \text{ m}$)

l : largeur du canal de recirculation ($1 \cdot 10^{-2} \text{ m}$)

ΔL : distance entre les capteurs de pression P1 et P2 ($6,4 \cdot 10^{-2} \text{ m}$)

ΔP : chute de pression le long de la zone de recirculation de longueur ΔL , moyennée sur les 30 dernières secondes pour un temps de recirculation donné.

La relation précédente peut être simplifiée, la hauteur du capillaire ($h = 1,5 \text{ mm}$) étant faible par rapport à sa largeur ($l = 10 \text{ mm}$). On obtient ainsi l'expression de la contrainte en cisaillement à la paroi du capillaire de recirculation :

$$\tau = \frac{h \cdot \Delta P}{2 \cdot \Delta L} \quad (\text{Eq. II.2.3})$$

La relation de Hagen-Poiseuille doit être modifiée, en tenant compte de la section rectangulaire du capillaire, pour obtenir la vitesse de cisaillement apparente, $\dot{\gamma}_a [s^{-1}]$:

$$\dot{\gamma}_a = \frac{6}{w.h^2} \cdot Q = C_1 \cdot C_2 \cdot n/60 \quad (\text{Eq. II.2.4})$$

Deux constantes de calibration permettent de relier vitesse de rotation des vis et débit volumique de matière : $C_1=0,035.8.10^{-7}$, déterminée à partir de la relation entre Q et n établie par mesure sur du polystyrène en mode co-rotatif, et $C_2 = \frac{6}{w.h^2} = 2,6.10^8$. La viscosité apparente peut alors être déterminée par la relation suivante :

$$\eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}_a} \quad (\text{Eq. II.2.5})$$

Lors du fonctionnement en recirculation, une fois le volume utile rempli, on enregistre le couple et la perte de charge dans le canal de recirculation (Fig. II.2 et II.3).

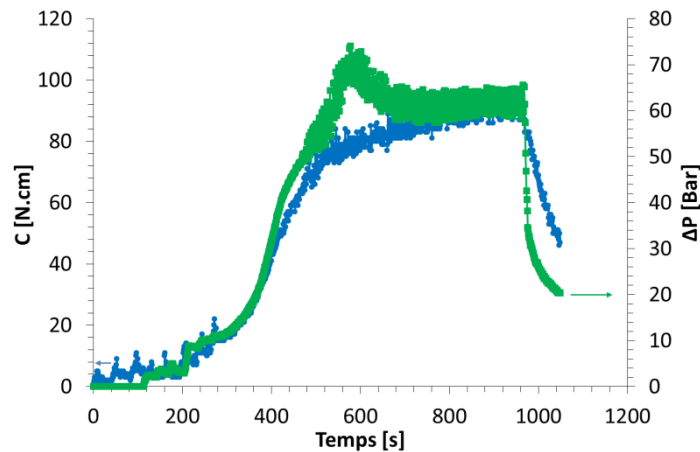


Figure II.3. Suivi du couple, C (-●-, [N.cm]) et de la perte de charge ΔP (-■-, [Bar]) dans le canal de recirculation du micro-mélangeur (composition Z20Gly, $n=50\text{rpm}$, $T=130^\circ\text{C}$)

Durant l'introduction de la matière pulvérulente le couple augmente progressivement jusqu'à atteindre environ 20 N.cm et une perte de charge de l'ordre de $\Delta P = 10$ Bar est enregistrée dans la zone de recirculation, alors remplie de matériau à l'état fondu après 300 à 350 s (Fig. II.3). Ensuite, la phase de recirculation est réalisée pendant 10 minutes. Le couple atteint peu à peu un plateau et la matière fondue est extrudée par action de l'électrovanne qui oriente le flux de matériau fondu vers la filière. Le micro-mélangeur peut ensuite être ouvert et l'on peut récupérer une éprouvette contenue dans le canal de recirculation, ainsi que le jonc extrudé par la filière.

II.2.2. Rhéométrie en régime dynamique

Principe :

Un rhéomètre rotatif est utilisé pour appliquer un cisaillement oscillatoire de faible amplitude à l'échantillon confiné dans la cellule de mesure (*i.e.*, plateaux parallèles) équipée d'un système de régulation en température. Une déformation sinusoïdale est imposée et le rhéomètre enregistre en retour la réponse en contrainte du matériau. Sa viscosité et son comportement viscoélastique décrit notamment par le module de conservation, G' [Pa], en phase avec la déformation et le module de perte, G'' [Pa], peuvent alors être mesurés et leurs évolutions suivies en fonction de la température.

Mode opératoire et calculs de la viscosité et des modules de conservation et de perte :

Les propriétés rhéologiques sont déterminées en mode dynamique à l'aide d'un rhéomètre rotatif HAAKE MARS III (Thermo Scientific GmbH, Karlsruhe-DE) à déformation contrôlée, en géométrie plan-plan. Des disques lisses coaxiaux en aluminium de 20 mm de diamètre sont utilisés. Le disque supérieur est mobile et le disque inférieur est fixe (Fig. II.4). La mise en contact du plateau supérieur avec l'échantillon est effectuée initialement avec une force normale statique $F_N = 5$ N (l'épaisseur du lit d'échantillon pulvérulent est alors de l'ordre de 1,5 mm).

Une force normale statique est ensuite appliquée pendant l'essai à $F_N = 0,5$ N. La fréquence de sollicitation est de $\nu_0 = 1,667$ Hz (soit une fréquence angulaire, ou pulsation, correspondante $\omega_0 = 10,47$ rad.s⁻¹), avec une déformation $\gamma_0 = 0,7$ %, dans le domaine viscoélastique linéaire des fondus, comme déterminée lors d'essais préliminaires.

Un dispositif de chauffage par effet Peltier permet de réguler la température pendant la mesure et d'obtenir des fondus dans l'entrefer entre les plateaux du rhéomètre. Les propriétés rhéologiques des échantillons extrudés sans recirculation dans le micro-mélangeur sont caractérisées après découpe de morceaux placés entre les deux plateaux du rhéomètre, préchauffés à 130 °C pour obtenir une fusion rapide des matériaux (< 20 s). Des échantillons pulvérulents sont aussi caractérisés après préchauffage du rhéomètre à 130°C. Pour ces deux cas de figure, la même force normale est appliquée pendant la mesure ($F_N = 0,5$ N).

Le caractère viscoélastique des polymères thermoplastiques fondus se reflète par la réponse à une déformation oscillatoire, qui résulte de la somme d'une composante élastique, lorsque la contrainte est proportionnelle à la déformation, et d'une composante dissipative, ou visqueuse, lorsque la contrainte est proportionnelle à la vitesse de cisaillement.

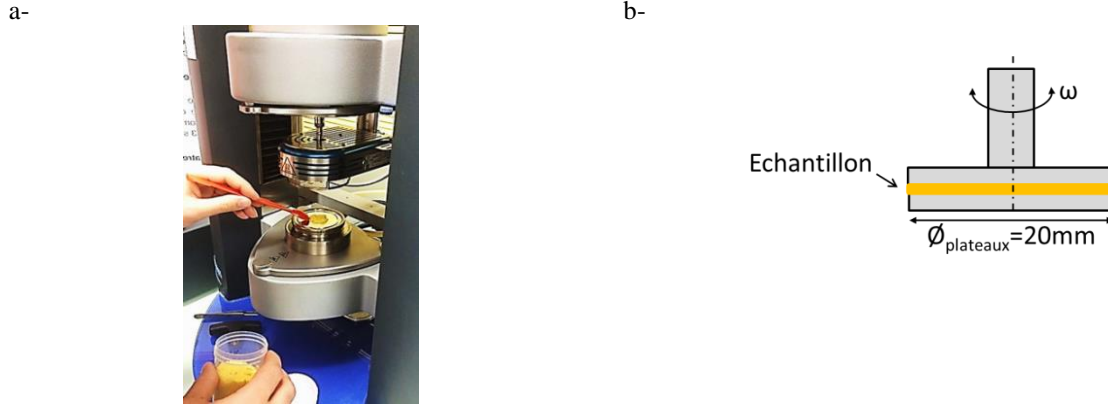


Figure II.4. Rhéologie dynamique: illustration du dispositif expérimental et du dépôt de matière pulvérulente (zéine commerciale brute) sur le plateau inférieur (a-) et schéma de la cellule du rhéomètre en géométrie plan-plan (b-)

Une déformation sinusoïdale, γ [-], est appliquée :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \sin(\omega \cdot t) \quad (\text{Eq. II.2.6})$$

$$\text{ou, en notation complexe, } \gamma^*(t) = \gamma_0 \cdot e^{i \cdot \omega \cdot t} \quad (\text{Eq. II.2.7})$$

La réponse en contrainte, σ [Pa], dans le domaine linéaire (aux faibles déformations), s'écrit alors :

$$\sigma(t) = \sigma_0 \cdot \sin(\omega \cdot t + \delta) \quad (\text{Eq. II.2.8})$$

$$\text{ou, en notation complexe, } \sigma^*(t) = \sigma_0 \cdot e^{i \cdot (\omega \cdot t + \delta)} \quad (\text{Eq. II.2.9})$$

avec δ , le déphasage ou angle de perte (-), $\tan(\delta)$ est appelé « facteur d'amortissement ».

Le module de cisaillement complexe, G^* [Pa], est défini par la relation suivante :

$$G^* = \frac{\sigma^*}{\gamma^*} = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cdot e^{i \cdot \delta} = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cdot (\cos \delta + i \cdot \sin \delta) = G' + i \cdot G'' \quad (\text{Eq. II.2.10})$$

$$\text{avec } \tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (\text{Eq. II.2.11})$$

Le module de conservation, ou de stockage (dit « élastique »), G' [Pa], est en phase avec la déformation :

$$G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cdot \cos(\delta) \quad (\text{Eq. II.2.12})$$

Le module de perte, ou dissipatif (partie imaginaire de G^*), G'' [Pa], caractérise la composante visqueuse:

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cdot \sin(\delta) \quad (\text{Eq. II.2.13})$$

La viscosité mesurée en régime dynamique oscillatoire est une viscosité complexe, η^* [Pa.s], dont le module peut être exprimé par la relation suivante :

$$\eta^* = |\eta' - i.\eta''| = \left| \frac{G''}{\omega} - i. \left(\frac{G'}{\omega} \right) \right| \quad (\text{Eq. II.2.14})$$

La viscosité dynamique, η' [Pa.s], est la part d'énergie dissipée :

$$\eta' = \frac{G''}{\omega} \quad (\text{Eq. II.2.15})$$

La viscosité imaginaire, η'' [Pa.s], mesure l'élasticité ou la part d'énergie stockée (elle est liée au module élastique de cisaillement) :

$$\eta'' = \frac{G'}{\omega} \quad (\text{Eq. II.2.16})$$

II.2.3. Essai de faisabilité en FA-DFE

II.2.3.1. Elaboration de filaments par extrusion mono-vis

Après mélange de la zéine pulvérulente avec le glycérol, tel que décrit précédemment, la zéine plastifiée par le glycérol est utilisée comme matériau de base pour les premiers essais de faisabilité en FA-DFE. Les compositions sont extrudées avec une extrudeuse mono-vis Scamia (F-91, Crosne) équipée d'une filière permettant d'obtenir des filaments de 3 mm de diamètre. L'extrusion est réalisée pour une vitesse de rotation de vis de 20 rpm donnant un débit proche de 2 g.min^{-1} (Fig. II.5).

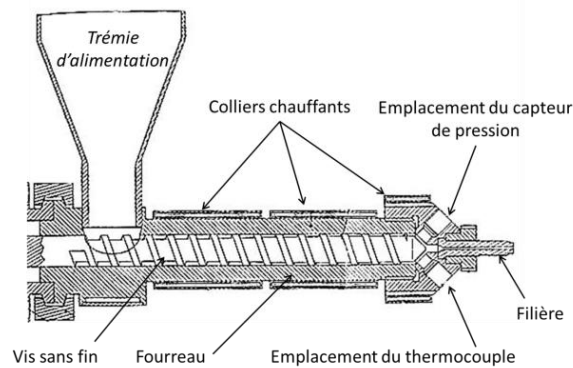


Figure II.5. Schéma d'illustration de l'extrudeuse mono-vis ($L/\varnothing_{\text{vis}} = 10$, avec $\varnothing_{\text{vis}} = 20 \text{ mm}$)

II.2.3.2 Essai d'impression des filaments extrudés sur machine FA-DFE standard

Les essais de faisabilité d'impression 3D sont réalisés avec une imprimante ORDBot-Hadron (eMotion Tech, F-31 Toulouse) dont la buse est équipée d'une filière de 0,5 mm de diamètre, réglée à $T = T_{\text{impression}} = 130 \text{ °C}$. Dans sa configuration standard, cette imprimante permet le dépôt de filaments thermoplastiques ($\varnothing_{\text{filament}} = 3 \text{ mm}$) en PLA ($T_{\text{impression}} = 180 \text{ à } 210 \text{ °C}$), ou ABS ($T_{\text{impression}} = 230 \text{ à } 260 \text{ °C}$) achetés chez le même fabricant (Fig. II.6).

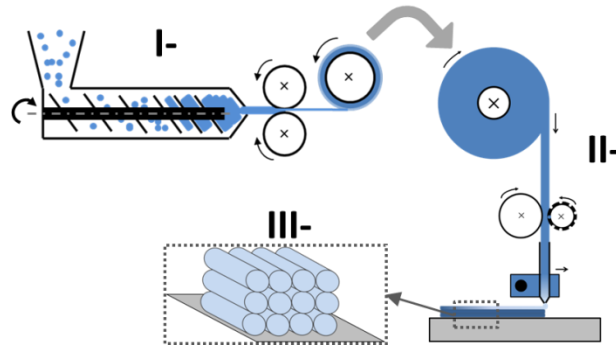


Figure II.6. Schéma d'illustration : extrusion d'un filament calibré en polymère thermoplastique (I-) servant de matière première à l'imprimante 3D FA-DFF (II-) pour le dépôt cohésif de filament fondu (III-)

Le modèle numérique 3D de la pièce à imprimer par superposition de couches de filaments déposées est une pastille cylindrique ($\varnothing_{\text{pastille}} = 20 \text{ mm}$, $h_{\text{pastille}} = 3 \text{ mm}$). Il est conçu avec le logiciel de Conception Assistée par Ordinateur (CAO), libre de droits, 123D-Design (Autodesk). L'imprimante 3D est pilotée par des logiciels également libres de droit (Repetier Host et Slicer), pour obtenir les trajectoires de déplacement de la buse de l'imprimante et la régulation de la température à 130°C , à partir du modèle numérique de la pièce à imprimer.

II.3. Caractérisation moléculaire et structurale

II.3.1. Electrophorèse SDS-PAGE

Principe :

Les masses moléculaires de la zéine commerciale brute, ou après traitement thermomécanique, sont déterminées par électrophorèse sur gel en polyacrylamide, en conditions dénaturantes dues à la présence de SDS en solution (SDS-PAGE : « Sodium Dodécyl Sulfate - Poly Acrylamide Gel Electrophoresis »). Des marqueurs de masses moléculaires sont aussi déposés sur le gel pour servir de référence en fin de migration.

Mode opératoire :

Les échantillons sous forme pulvérulente (poudres à l'état natif, ou après cryobroyage pour les matériaux extrudés) sont soumis à un traitement thermique en présence de SDS, un détergent de formule chimique brute semi-développée $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-O-SO}_3^-$, qui dénature les protéines et leur confère une charge négative. Les solutions sont portées à ébullition pendant 3 min. Au cours de ce traitement, des interactions hydrophobes s'installent entre le SDS et les protéines qui deviennent des polyanions étirés. La mobilité électrophorétique est alors proportionnelle au log de la masse moléculaire pour une protéine considérée.

La séparation se fait sous l'effet d'un champ électrique ; elle est suivie d'une coloration au bleu de Coomassie-G. Un marqueur de mobilité (bleu de bromophénol) est utilisé pour suivre la migration et l'arrêter au bas du gel.

Les protéines sont solubilisées à une concentration de 2 mg/mL dans un tampon Tris/HCl 50 mM à pH 6,8 contenant 2 % de SDS, 10 % de glycérol et 0,01 % de bleu de bromophénol. Elles sont ensuite déposées sur les gels de migration (Fig. II.7-a). Les dépôts (5 µL) sont réalisés dans des puits sur les gels de polyacrylamide $[-CH_2-CH(-CONH_2)-]_n$, formés à partir d'acrylamide à 12 % (acrylamide/bisacrylamide : 29/1) pour le gel de séparation (« running gel ») et de densité plus faible pour le gel de concentration (5 %), ou « stacking gel » (Atto Corp., Tokyo, JP ; Fig. II.7-b).

Le tampon de migration contient, pour un volume de 3 litres complété avec de l'eau distillée: 9 g de Tris (25 mM), 3g de SDS (0,1 %), 43,2g de glycine (192 mM), ajusté à pH = 8,3. Il est placé dans deux bacs disposés l'un dans la partie supérieure reliée à la cathode (chargée négativement), et l'autre dans la partie inférieure reliée à l'anode (chargée positivement), vers laquelle vont migrer les protéines.

Un agent réducteur, le β-mercaptoéthanol (HS-CH₂-CH₂OH), peut être ajouté à hauteur de 3 % avant le traitement thermique des échantillons, pour assurer la réduction des ponts disulfure éventuellement créés lors d'un traitement thermomécanique.

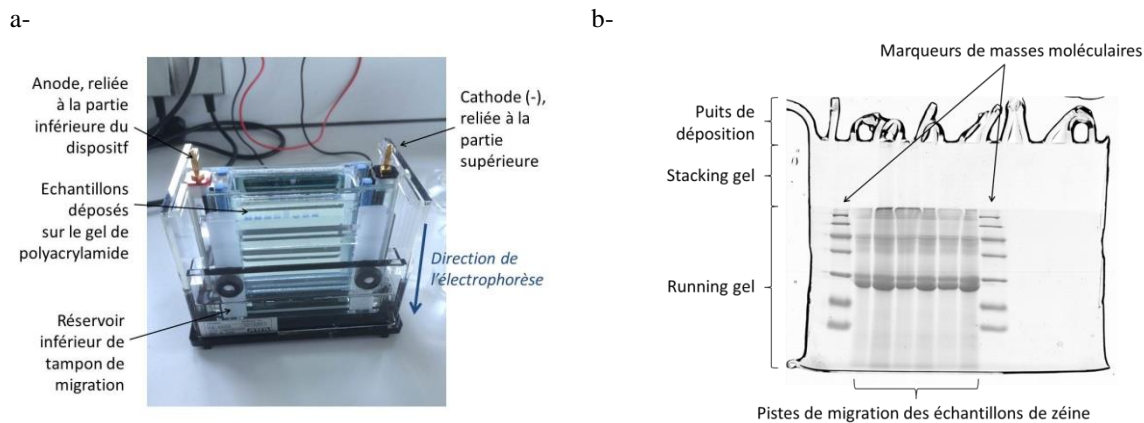


Figure II.7. Illustration du dispositif d'électrophorèse verticale avec détail du gel de face, suite au dépôt des échantillons sur le gel de concentration (coloration bleue due au bleu de bromophénol) (a-). Image scannée d'un électrophorégramme de zéines avec marqueurs de masses moléculaires (b-)

Une solution contenant des marqueurs de masse moléculaire est aussi déposée sur les gels pour servir de référence et suit une migration dans les mêmes conditions (Euromedex, F-67 Souffelweyersheim). Par exemple celle présentée sur la figure II.7-b donne des 7 bandes à : 14,4 kDa (Lysozyme); 18,4 kDa (β-lactoglobuline); 25,0 kDa (RNase Bsp981 Ribonucléase); 35,0 kDa (Lactate Déshydrogénase); 45,0 kDa (Ovalbumine); 66,2 kDa (Albumine de Sérum Bovin) et 116,0 kDa (β-galactosidase). Un générateur de courant continu délivre une intensité de 10 mA par gel pour le gel de concentration et 20 mA par gel pour le gel de séparation (Bio-Rad, Power PAC 200, Hercules, CAN), afin d'assurer la migration des protéines déposées et leur séparation selon leur masse moléculaire.

Une fois la migration effectuée pendant 1 h (gel de concentration), puis encore environ 1h (gel de séparation), une coloration au bleu de Coomassie-G colloïdal est réalisée. Ce composé se lie spécifiquement aux acides aminés aromatiques et basiques, tels que l'arginine, des protéines.

Les gels sont placés dans de l'eau osmosée, chauffés 30 sec au four à micro-ondes puis agités 5 min (3 fois). La solution de colorant (60 mg/L, diluée dans une solution de HCl 37% à 3 mL/L) est mise au contact des gels, puis chauffée (10 secondes au four à micro-ondes) et laissée sous agitation douce pendant 12 h. Une fois rincés, les gels sont scannés à plat pour obtenir une image des électrophorégrammes (Fig. II.7-b). Ils sont ensuite séchés sous vides et peuvent ainsi être conservés sur une longue période.

II.3.2. Chromatographie Liquide à Haute performance par filtration sur gel

Principe :

La chromatographie d'exclusion stérique haute performance (HPSEC) réalisée par filtration sur gel (GFC) est une technique permettant la séparation de molécules dissoutes selon leur taille, par élution sur une colonne contenant un gel de silice microporeux.

Mode opératoire :

L'élution est réalisée à un débit constant à température ambiante, $Q_{\text{éluant}} = 0,6 \text{ mL/min}$ ($P = 20 \text{ Bar}$) sur une colonne de gel de silice Biosep Sec S4000: 15 kDa à 1500 kDa -native- et 15 kDa à 500 Da -0,5% SDS-; $L_{\text{colonne}} = 300 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{colonne}} = 7,80 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{pores}} = 500 \text{ \AA}$ (Phenomenex, F-78 Le Pecq). Le montage est réalisé avec une pré-colonne en amont (type KJO-4282, du même fabricant). Des marqueurs de masse moléculaire sont soumis à la même élution: 43 kDa (Ovalbumine : 15,6 min); 66 kDa (Albumine de Sérum Bovin: 15,0 min); 232 kDa (catalase: 14,5 min); 440 kDa (ferritine: 9,5 min); 669 kDa (thyroglobuline: 10 min, *volume exclu*) et 2000 kDa (bleu dextran : 9,3 min, *volume exclu*).

La dissolution des échantillons, préalablement à l'injection sur la colonne ($V_{\text{injecté}} = 25 \text{ \mu L}$), est réalisée pour une concentration en protéine de 2 mg/mL dans un tampon Phosphate (Na_2HPO_4 à 1 M et 1 % de SDS, équilibré à pH6,8 et préalablement filtré $\varnothing_{\text{pore_filtre}} = 45 \text{ \mu m}$). Une agitation forte est nécessaire pour la dissolution des échantillons, dans un tampon à une concentration au moins égale à 1 % en SDS, notamment pour ceux ayant subi un traitement thermomécanique (en raison de la présence d'agrégats en solution). Pour ces échantillons, deux étapes de 4 minutes, chacune en bain à ultrasons, sont nécessaires pour une bonne solubilisation.

L'élution est réalisée ensuite avec un éluant similaire, mais à une concentration en SDS de 0,1 %. Pour les essais en conditions réductrices, du dithiothréitol (DTT) est ajouté à la solution de protéine à hauteur de 1 %: 2 μL (DTT, 1M) ajoutés à 200 μl de solution de protéine.

A la sortie de la colonne, un détecteur (Dual λ Absorbance Detector Ref.2487, Waters SAS, F-78 Guyancourt) permet de suivre l'élution à 214 nm, caractéristique de la liaison peptidique. Le traitement des chromatogrammes est réalisé avec le logiciel Empower-2 (Waters SAS, F-78 Guyancourt).

II.3.3. Diffraction, ou diffusion (matériau amorphe), de rayons X aux grands Angles (WAXS)

Principe :

La diffractométrie de rayons X aux grands angles (WAXS, Wide Angle X-ray Scattering) est une technique d'analyse basée sur l'évaluation de la diffraction des rayons X par la matière engendrant des interférences d'autant plus marquées que la matière est ordonnée (notamment cristalline). Pour les matériaux non cristallins, on parle de diffusion de rayons X.

Mode opératoire :

La zéine commerciale brute, ou après transformation thermomécanique, présente une structure amorphe qui peut être caractérisée par diffraction ou diffusion (matériaux amorphe) de rayons X. Un diffractomètre Bruker D8 X-ray (Madison, WI, US) équipé d'un détecteur 2D GADDS -General Area Detector Diffraction System- est utilisé pour la caractérisation structurale de poudres et de filaments thermoplastiques à base de zéine.

La source de rayons-X est une anode en cuivre. Elle est soumise à un bombardement d'électrons accélérés depuis la cathode (différence de potentiel de 40kV pour une intensité de 40 mA) produisant un rayonnement-X par fluorescence. Les raies Cu-K_{α1} ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$) et Cu-K_{α2} ($\lambda = 1,5444 \text{ \AA}$) sont sélectionnées et parallélisées par des miroirs de Gobel, puis seule la raie K_{α1} est retenue suite à la suppression numérique de la raie K_{α2} à la réception du signal. Le faisceau est orienté *via* un collimateur vers l'échantillon. Pour l'obtention d'un spectre (diffractogramme), l'intensité diffractée est repérée par l'angle 2θ qui sépare la direction du faisceau incident et la direction de faisceau d'émission par l'échantillon. Suivant la position du détecteur (écran 2D), une partie du signal réémis est enregistré pendant 10 minutes. Les échantillons sous forme de filaments extrudés sont placés selon l'axe vertical du détecteur et les poudres sont contenues dans des tubes en quartz placés verticalement entre le collimateur et le détecteur.

Les spectres sont normalisés en intensité sur l'ensemble du domaine considéré en 2θ (de 3 à 30°), de façon à annuler l'effet de différences pouvant être dues à des irrégularités dans la géométrie (*e.g.* variations d'épaisseur, ou diamètre) des échantillons disposés sur le banc de diffraction :

$$I_{normalisée} = \frac{I_{2\theta}}{\int_3^{30} I_{2\theta} \cdot d\theta} \quad (\text{Eq. II.3.1})$$

La distance entre deux plans diffractant est déterminée par application de la loi de Bragg :

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \quad (\text{Eq. II.3.2})$$

avec n : l'ordre de diffraction [nombre entier]

λ : la longueur d'onde des rayons-X [\AA], ici la raie Cu-K_{α1} ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$)

d : la distance entre deux plans diffractant [\AA]

θ : l'angle de diffraction [$^\circ$]

Pour le montage standard utilisé, le détecteur est placé à 10,05 cm de l'échantillon à un angle de 25° par rapport au faisceau incident. Ceci correspond à un domaine en 2θ de 3° et 30° , pour des distances $d = 29 \text{ \AA}$ et $2,9 \text{ \AA}$, respectivement. Un deuxième montage est réalisé, en faisceau direct, avec un four disposé sur le banc de mesure. L'écran du détecteur 2D est alors placé à 8,6 cm de l'échantillon et centré sur l'axe du faisceau incident. L'orientation des plans diffractants, ou de diffusion (matériau amorphe), est déterminée comme précédemment par une intégration azimutale du signal (pour ϕ de 0 à 360°) et entre 3° et 30° en 2θ , correspondant à des distances $d = 29 \text{ \AA}$ et $2,9 \text{ \AA}$, respectivement.

Le four est équipé de deux fenêtres en quartz ($\varnothing_{\text{fenêtres}} = 4 \text{ mm}$; Fig. II.8). Il permet le suivi de la structure moléculaire d'un échantillon initialement pulvérulent à température ambiante (mélange de zéine commerciale avec 20% de glycérol) dont l'état fondu est obtenu au cours d'un chauffage de 20 à 130°C à une vitesse de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Ensuite l'échantillon est maintenu à température constante, à $T=130^\circ\text{C}$, pendant 50 minutes. L'acquisition des spectres est réalisée pour ce dispositif lors de paliers de 3 minutes réalisés tous les $10 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant l'étape de chauffage, puis toutes les 10 minutes pendant le plateau final à température constante.

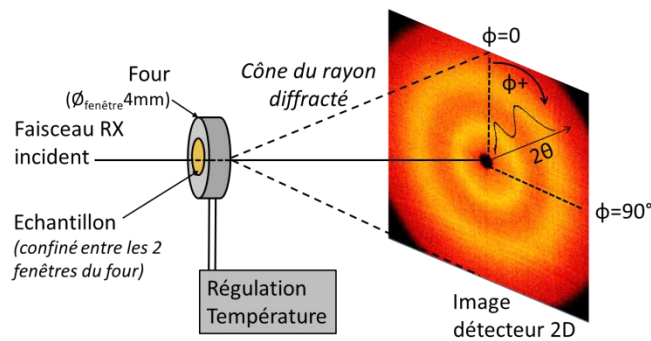


Figure II.8. Schéma du montage avec un four disposé sur le banc de diffraction, ou diffusion (matériau amorphe), de rayons-X

II.3.4. Spectroscopie RMN du solide (CP-MAS)

Principe :

Certains noyaux atomiques sont sensibles aux effets d'un champ magnétique. Ils ont un spin non nul (moment angulaire intrinsèque, selon le nombre de protons et de neutrons) et possèdent donc un moment magnétique qui permet leur étude par RMN (e.g. ^1H , ^{15}N , ^{13}C , ^{16}O). Lorsque l'on soumet un échantillon à un champ magnétique B_0 , tous les noyaux possédant des propriétés magnétiques vont tourner à leur fréquence propre parallèlement au champ magnétique \vec{B}_0 (Fig. II.9-a). Bien que les moments magnétiques des noyaux ne soient pas tous orientés dans la direction du champ (agitation thermique), la magnétisation globale de l'échantillon est parallèle à \vec{B}_0 .

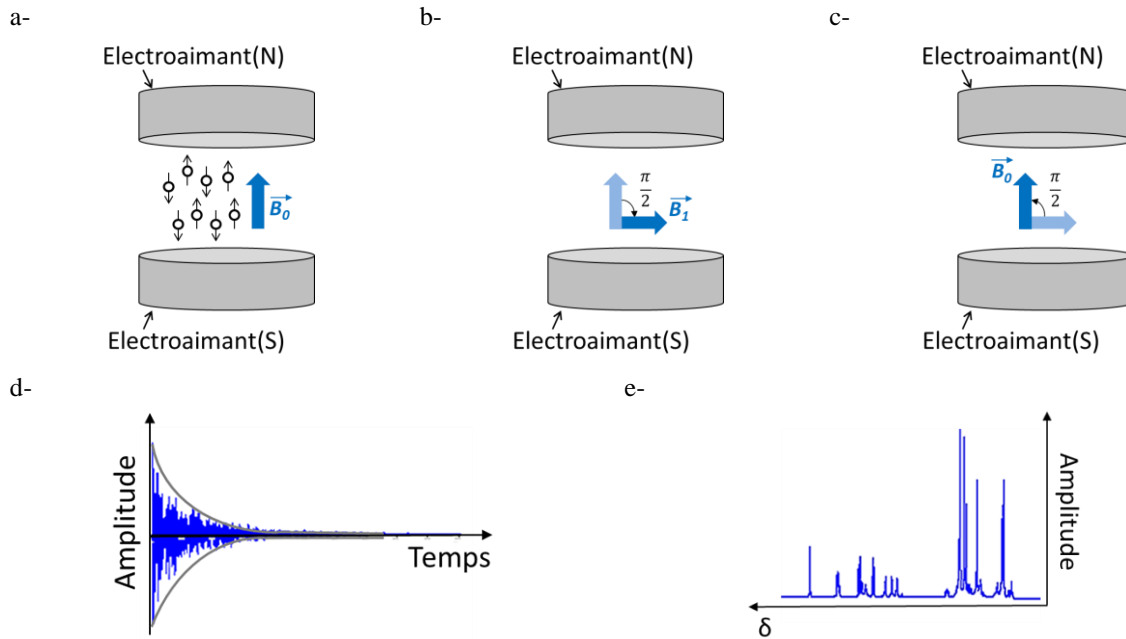


Figure II.9. Représentation schématique du principe de fonctionnement de la spectroscopie RMN. Spins au repos dans le champ magnétique B_0 (a-); Impulsion (champs B_1 orthogonal à B_0) et passage des spins à l'état « excités » (b-) puis Relaxation (retour à l'équilibre des spins) (c-). Décroissance du signal temporel émis lors de la relaxation (d-) et après transformation dans le domaine spectral (par transformée de Fourier), exprimé en ppm (e-)

Une expérience RMN de base se compose d'une période d'excitation constituée par une impulsion radiofréquence \vec{B}_1 dont la fréquence est proche des fréquences de résonance de l'échantillon et dont l'amplitude et la durée sont calibrées de manière à produire une bascule de l'aimantation dans le plan transversal (rotation de 90° de l'aimantation ; Fig. II.9-b), puis d'une période de retour à l'équilibre (Fig. II.9-c). Le retour à l'équilibre génère une induction électromagnétique qui est enregistrée et produit un signal typique sous forme de sinusoides décroissantes (Fig. II.9-d). On obtient une superposition de tous les signaux des noyaux qui ont été excités par le champ magnétique. Une transformée de Fourier permet de passer du domaine temporel au domaine fréquentiel et ainsi d'obtenir un spectre résolu selon les fréquences de résonance. Les spectroscopies RMN du proton (^1H ; 1 proton, spin $1/2$, abondance 99,99 % environ) et du carbone (^{13}C ; 7 neutrons, 6 protons, spin $1/2$, abondance 1,1 % environ) sont réalisées à température ambiante dans le cadre de cette étude.

Chaque noyau possède un environnement qui lui est propre, avec une densité électronique autour qui dépend de sa position dans le polymère considéré (*e.g.* protéine), de ses voisins et de sa nature. Sa fréquence de résonance est exprimée par un déplacement chimique, δ , donné par rapport à une molécule de référence (*e.g.* le tétraméthylsilane, ou TMS, pour la RMN du liquide, avec $\delta(^{13}\text{C TMS})=0,0\text{ppm}$; la glycine pour la RMN du solide, comme dans notre cas présent, avec $\delta(^{13}\text{COOH, ou carbonyle})=176,03\text{ppm}$) (Fig. II.9-e). Il est exprimé en ppm (parties par million) selon la relation suivante:

$$\delta = \frac{f_{\text{observée}} - f_{\text{référence}}}{f_{\text{référence}}} \cdot 1.10^6 \quad (\text{Eq. II.3.3})$$

Mode opératoire :

Les échantillons solides (*e.g.* poudres, extrudés) sont placés dans un rotor positionné à l'angle magique $\theta = 54,74^\circ$ (technique MAS, pour « Magic Angle Spinning ») afin d'obtenir des spectres correspondant à la moyenne isotrope des interactions (fréquence de résonance du carbone (^{13}C) est $\nu=100,61\text{MHz}$). Les acquisitions de spectres sont réalisées avec une séquence de polarisation croisée (pour « CP ») $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ utilisant un temps de contact de 1,5 ms et un temps de recyclage de 10 s. Le rotor est en rotation à 9 kHz à température ambiante (Spectromètre RMN Ultrashield-400, Bruker, F-77 Champs-sur-Marne).

II.4. Propriétés thermiques et thermomécaniques

II.4.1. Mesure des teneurs en eau et des températures de décomposition par thermogravimétrie (ATG)

Principe :

La teneur en eau et la dégradation thermique des échantillons sont mesurées par Analyse Thermo Gravimétrique (ATG). Cette technique d'analyse thermique en atmosphère contrôlée grâce à un balayage d'Azote permet de suivre la masse d'un échantillon placé sur une nacelle de pesée, à une température fixée, ou suivant une cinétique de chauffage.

Mode opératoire :

Le suivi de la dégradation des échantillons se fait par une cinétique de chauffage de la température ambiante à $800\text{ }^\circ\text{C}$, à une vitesse de chauffage de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, avec un appareil de type ATG (TGA-2050, TA Instruments, Division de Waters SAS, F-78 Guyancourt). La détermination de la teneur en eau est réalisée à partir de la température ambiante, puis après le maintien de l'échantillon à $100\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 2 heures. Dans les deux cas, on réalise une prise d'échantillon représentant une masse de 10 à 20 mg.

II.4.2. Détermination des transitions thermiques par Analyse Enthalpique Différentielle (AED)

Principe :

L'analyse enthalpique différentielle (AED) est basée sur la mesure des échanges énergétiques entre un échantillon et son environnement (four), lorsque la température de l'ensemble est soumise à une variation linéaire (Fig. II.10-a). Dans le cas d'une transition de phase du premier ordre, une certaine quantité d'énergie est soit absorbée (phénomène endothermique ; *e.g.*, fusion ; Fig. II.10-b) soit dégagée (phénomène exothermique ; *e.g.*, cristallisation, oxydation) par l'échantillon. Une transition du second ordre comme une transition vitreuse induit une simple discontinuité de la capacité calorifique mesurée.

Mode opératoire :

L'appareil utilisé est une DSC-Q100, (TA Instruments, Division de Waters SAS). La mesure est une différence de potentiel captée par des thermocouples et convertie en énergie par un étalonnage réalisé sur la fusion d'un composé connu (indium). Le signal émis par un creuset vide, placé dans le

même four que l'échantillon, est soustrait du signal émis par le creuset contenant l'échantillon ce qui permet d'annuler tout effet dû au creuset. Pour la mesure fine de la chaleur spécifique d'un échantillon placé dans un creuset, C_p [$J \cdot g^{-1} \cdot K^{-1}$], une ligne de base est préalablement obtenue avec le même creuset vide, puis déduite du signal obtenu avec l'échantillon à l'intérieur. Dans le cas de la zéine, et comme pour la majorité des biopolymères, l'échantillon est placé dans un creuset étanche en aluminium afin de maintenir la teneur en eau constante. La vitesse de chauffage est fixée à $3 \text{ } ^\circ\text{C}/\text{min}$ pour une prise d'essai d'environ 10 mg. Deux cycles de chauffage sont réalisés pour la mesure d'une transition vitreuse, de façon à effacer les effets éventuels de l'histoire thermique de l'échantillon. La température de transition vitreuse T_g est déterminée à la moitié de la variation de la capacité calorifique durant la transition considérée.

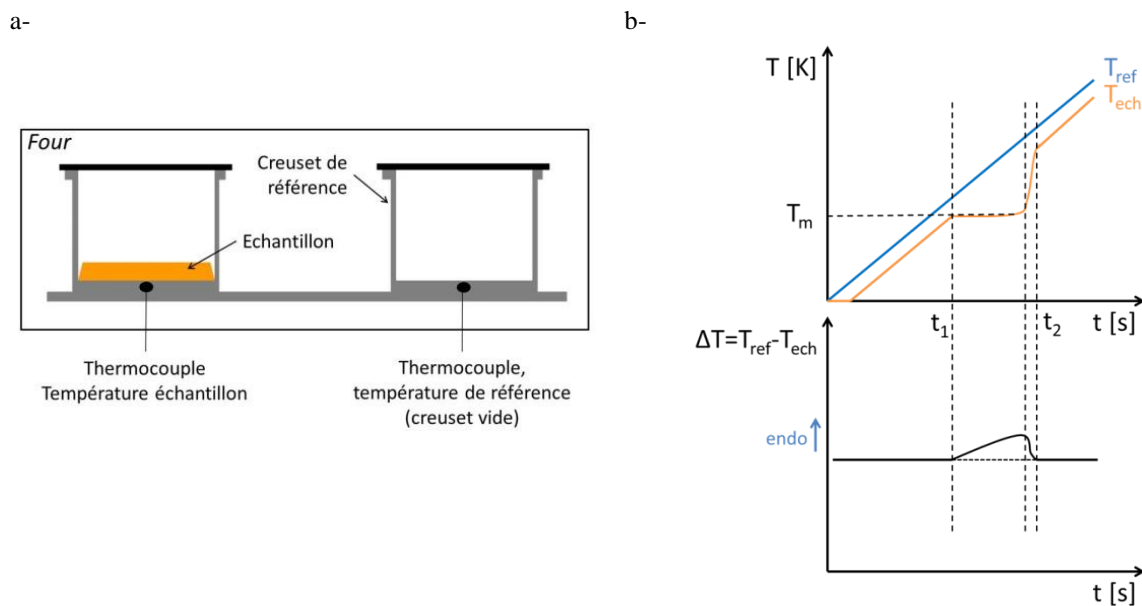


Figure II.10. Schéma de présentation des creusets (avec échantillon et de référence) placés dans le four d'un appareil d'analyse enthalpique différentielle (AED) (a-). Exemple de suivi des températures entre la référence et un échantillon, lors d'un phénomène endothermique de fusion (à T_m , la température de fusion du matériau caractérisé) (b-)

II.4.3. Mesure de la diffusivité thermique

Principe :

La diffusivité thermique, D [$m^2 \cdot s^{-1}$] caractérise la capacité d'un matériau continu à transmettre un signal de température d'un point à un autre de ce matériau. Elle dépend de la capacité du matériau à conduire la chaleur (conductivité thermique) et de sa capacité à accumuler la chaleur (capacité thermique) :

$$D = \frac{\lambda}{\rho \cdot C_p} \quad (\text{Eq. II.4.1})$$

avec λ [$W \cdot m^{-1} \cdot K^{-1}$] la conductivité thermique du matériau, ρ [$kg \cdot m^{-3}$], sa masse volumique et C_p [$J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$], sa capacité thermique massique.

Mode opératoire :

Les propriétés thermiques sont déterminées avec un analyseur à source plane en régime transitoire HotDisk® (Thermal Constants Analyser TPS-2500S, logiciel v.5.9.5; Thermo Concept, F-33 Mérignac) sur des pastilles thermomoulées, de façon à obtenir un matériau à surface lisse ($\varnothing_{\text{pastille}} = 16 \text{ mm}$, épaisseur $e_{\text{pastille}} = 3 \text{ mm}$).

Une sonde en Kapton Ref. Hot disk 5501 ($\varnothing_{\text{sonde}} = 6,4 \text{ mm}$) est insérée entre 2 pastilles d'échantillons lors du montage de la cellule (Fig. II.11). Elle permet le chauffage de plusieurs degrés de l'échantillon ($P = 0,02 \text{ W}$, $t = 10 \text{ s}$) avec enregistrement de l'élévation de sa température, à l'aide d'un pont de Wheatstone monté sur la sonde (ISO 22007-2:2008). La sonde est à la fois source de chaleur et capteur de température.

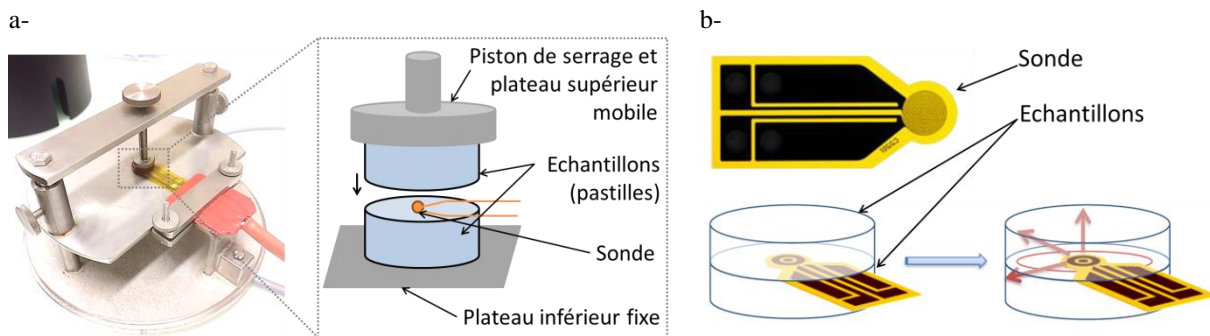


Figure II.11. Montage de deux pastilles thermomoulées à base de zéine ($\varnothing_{\text{pastille}} = 16 \text{ mm}$) dans une cellule de mesure des constantes thermiques (source plane -plateau chauffant-, régime transitoire) (a-). Représentation schématique du placement de la sonde et de la source de chaleur lors de son fonctionnement (b-)

II.4.4. Détermination des propriétés thermomécaniques par analyse thermomécanique dynamique (ATMD)

II.4.4.1. Transitions thermomécaniques

Principe :

L'analyse thermomécanique dynamique (ATMD) consiste à imposer une sollicitation mécanique sinusoïdale d'amplitude très faible par rapport aux dimensions de l'échantillon et à enregistrer la réponse viscoélastique du matériau soumis par ailleurs à un chauffage contrôlé. Le principe est similaire à celui de la rhéologie dynamique, selon un mode de déformation distinct. Les propriétés mécaniques de matériaux viscoélastiques peuvent varier en fonction des transitions thermiques qu'ils subissent. L'ATMD permet d'évaluer la viscoélasticité d'un polymère thermoplastique et d'en mesurer le module de stockage, E' [Pa], correspondant à l'énergie élastique restituée par le matériau, le module de perte, E'' [Pa], correspondant à l'énergie dissipée sous forme de frottements visqueux entre les chaînes polymériques et le facteur d'amortissement, $\tan(\delta) = E'' / E'$ [-].

Mode opératoire, calculs des modules et du coefficient d'amortissement :

Le matériel utilisé est une DMA-50N (O1dB, Metravib, F-59 Lyon). L'échantillon est placé dans une cellule de charge (e.g. entre deux mors de traction pour un filament avec $L_{\text{filament}} = 20 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{filament}} = 2 \text{ mm}$, entrefer-initial-mors = 10 mm ; Fig. II.12-a). L'échantillon est alors enduit de graisse

à base silicone pour limiter sa déshydratation et il subit une sollicitation mécanique sinusoïdale imposée, $\nu = 1$ Hz, de faible amplitude, $\varepsilon = 0,1$ %. La réponse en contrainte, σ [Pa], du matériau soumis simultanément à cette sollicitation dynamique et à une cinétique de chauffage à 3 °C/min est enregistrée.

Cette réponse en contrainte présente la même période que la sollicitation imposée par l'appareil de mesure :

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \cdot \cos(\omega \cdot t) \quad (\text{Eq. II.4.2})$$

avec ε_0 , l'amplitude de la déformation imposée et ω , la pulsation de déformation.

On peut alors exprimer la réponse en contrainte par la relation suivante :

$$\sigma(t) = \sigma_0 \cdot \cos(\omega \cdot t + \delta) \quad (\text{Eq. II.4.3})$$

avec δ appelé « l'angle de perte » et représentant le déphasage de la contrainte par rapport à la déformation (Fig. II.12-b).

La contrainte peut être décomposée en une composante en phase avec la déformation et une seconde, en opposition de phase avec la déformation:

$$\sigma(t) = \sigma_0 \cdot \cos(\varphi) \cdot \sin(\omega \cdot t) + \sigma_0 \cdot \sin \varphi \cdot \cos(\omega \cdot t) \quad (\text{Eq. II.4.4})$$

Deux modules dynamiques peuvent être définis :

$$E' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \cdot \cos(\delta) = E_0 \cdot \cos(\delta) \quad (\text{Eq. II.4.5})$$

et
$$E'' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \cdot \sin(\delta) = E_0 \cdot \sin(\delta) \quad (\text{Eq. II.4.6})$$

En associant leurs formes réelles et imaginaires, on obtient le module complexe :

$$E^* = E' + i \cdot E'' \quad (\text{Eq. II.4.7})$$

Le coefficient d'amortissement, ou facteur de perte visqueuse, $\tan \delta$, est alors directement associé aux propriétés viscoélastiques du matériau (Fig. II.12-b), avec :

$$\tan \delta = \frac{E''}{E'} \quad (\text{Eq. II.4.8})$$

avec $\tan \delta < 1$ pour un comportement plutôt solide (élastique) et > 1 pour un liquide (visqueux).

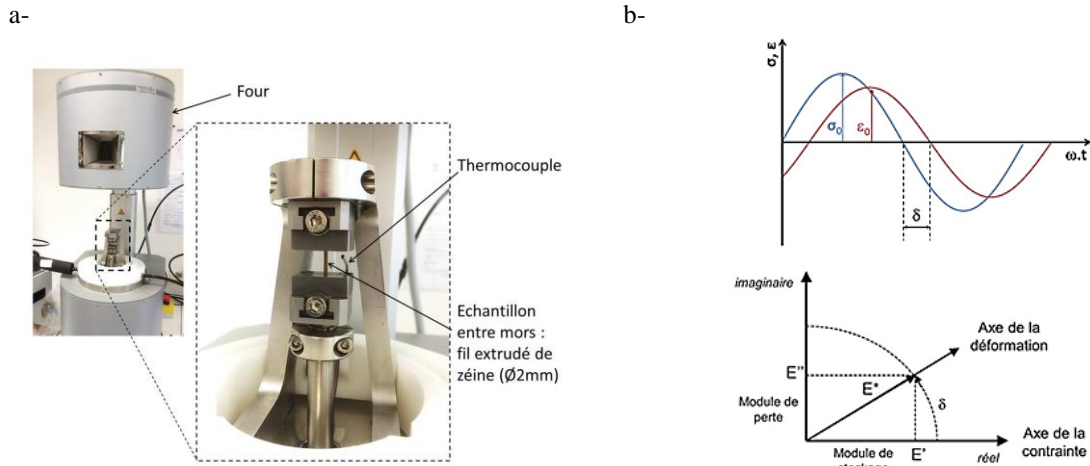


Figure II.12. Images de la cellule de charge de l'ATMD avec l'échantillon (ici un filament extrudé à base de zéine) placé entre deux mors de traction séparés d'un entrefer de 10 mm, ainsi que le four (a-). Représentation schématique du déphasage contrainte-déformation en ATMD (b-)

II.4.4.2. Evaluation du coefficient d'expansion thermique par ATMD en mode ATM

Principe :

Le chauffage ou le refroidissement de matériaux solides entraîne un changement dimensionnel dû à leur expansion thermique. L'Analyse Thermomécanique Dynamique (ATMD) peut être utilisée en mode statique (mode « ATM », Analyse ThermoMécanique), dans le cas présent pour la mesure de la variation dimensionnelle d'une pièce soumise à un chauffage.

Mode opératoire :

L'équipement utilisé est une DMA-50N (O1dB, Metravib, F-59 Lyon) présentée précédemment sur la figure II.13-a. Pour les mesures en mode ATM en tension, une pièce cylindrique (*i.e.* filament extrudé rigide à l'ambiante) est disposée verticalement selon l'axe de sa longueur et enduite de graisse à base silicone, hydrophobe, pour limiter sa déshydratation ($L_{\text{filament}} = 20 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{filament}} \approx 2 \text{ mm}$; Fig. II.13-a). Une force statique nulle est appliquée en consigne, sans balayage en fréquence. L'échantillon placé verticalement entre les deux mors de traction est alors soumis à une élévation de température, typiquement depuis la température ambiante jusqu'à $180 \text{ }^\circ\text{C}$, à une vitesse fixée à $2 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

La variation dimensionnelle principale (ΔL , [m], positive dans le cas d'une dilation) est enregistrée et rapportée à la longueur initiale de l'échantillon (L_0 [m], mesurée avant la montée en température, ΔT [s]):

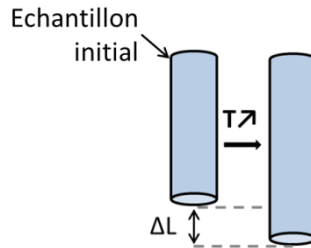
$$\frac{\Delta(L)}{L_0} = \alpha \cdot \Delta T \quad (\text{Eq. II.4.9})$$

avec α , coefficient d'expansion thermique (CTE) linéaire du matériau, [K^{-1}].

Les mêmes essais ont été réalisés entre deux plateaux parallèles de compression ($\varnothing_{\text{plateau}} = 40 \text{ mm}$ installé sur une DMA-50N, modèle O1dB -Metravib, F59 Lyon-) de façon à suivre l'expansion thermique de pastilles thermomoulées, après avoir atteint $110 \text{ }^\circ\text{C}$ en 20 minutes en moule étanche

($\varnothing_{\text{pastille}} = 16 \text{ mm}$, épaisseur $e_{\text{pastille}} = 3 \text{ mm}$, Fig. II.13-b). La variation dimensionnelle est alors mesurée sur l'épaisseur de l'éprouvette.

a-



b-

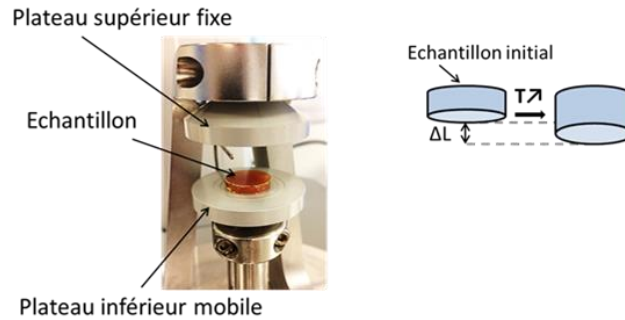


Figure II.13. Représentation schématique de l'accroissement dimensionnel pour la mesure du coefficient d'expansion thermique en tension d'un filament extrudé à base de zéine ($\varnothing_{\text{filament}}=2\text{mm}$) (a-) et en compression sur une pastille thermomoulée ($\varnothing_{\text{pastille}}=16\text{mm}$; avec le four ouvert pour l'image d'illustration) (b-)

II.5. Détermination des propriétés de surface et étude de la fusion-adhésion

II.5.1. Mesure de l'énergie libre de surface à l'état solide (méthode de la goutte sessile)

Principe :

Le mouillage d'un liquide sur un solide peut être caractérisé en terme d'énergie par le biais de deux paramètres (Dupré, 1869): la tension de surface à l'interface liquide/vapeur du liquide, notée γ_{LV} ($[\text{J.m}^{-2}]$, ou $[\text{N.m}^{-1}]$), et l'angle de contact à l'équilibre θ_e de la goutte stabilisée sur le solide, formée par le liquide L déposé sur le substrat solide, S. Les énergies de surface à l'interface solide/vapeur, γ_{SV} , et l'énergie interfaciale entre le liquide et le solide, γ_{SL} , peuvent être représentées au niveau du point commun aux trois phases liquide/solide/vapeur à l'extrémité du dépôt (appelé ligne « triple » ; Fig. II.14-a). Le mouillage est défini par le coefficient d'étalement S_{SL} $[\text{J.m}^{-2}]$ introduit par Marangoni (1871), puis repris dans plusieurs travaux (Wu, 1982; Bonn, 2009).

Le coefficient d'étalement, également appelé « énergie d'étalement », correspond à l'énergie à fournir à un liquide pour limiter son expansion sur une surface. Il représente le phénomène d'adsorption d'un fluide sur un solide et il est uniquement lié à des forces secondaires de type van der Waals, sans interdiffusion dans ce cas.

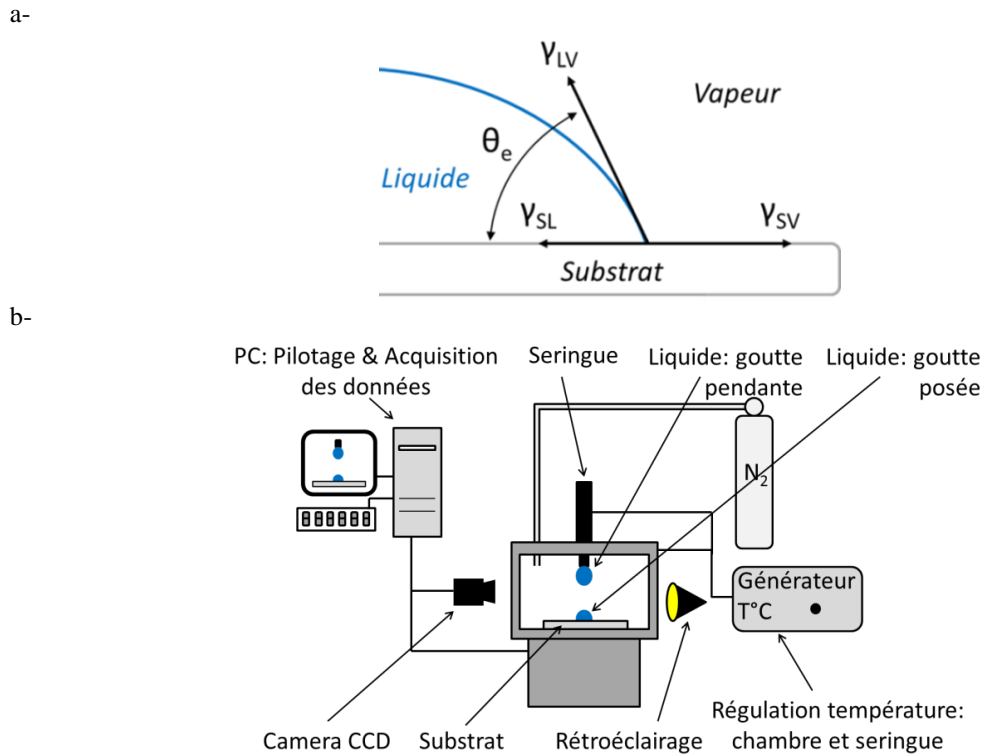


Figure II.14. Représentation schématique de la ligne triple d'une goutte de liquide déposée à la surface d'un substrat solide (a-). Représentation des mesures réalisées à partir d'une goutte d'un liquide de tension de surface connue à la surface d'un substrat solide à caractériser au DSA-30 (b-)

Le coefficient d'étalement S_{SL} ne s'applique que lorsque la goutte de liquide (L) déposée sur le substrat (S) se stabilise, environ 100 ms après le dépôt de la goutte. Il s'exprime selon un équilibre entre les énergies de surface γ_{LV} , et γ_{SL} , au niveau de la ligne triple:

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cdot \cos(\theta_e) \quad (\text{Eq. II.5.1})$$

$$\text{et } S_{SL} = \gamma_{SV} - (\gamma_{SL} + \gamma_{LV}) \quad (\text{Eq. II.5.2})$$

Soit, en appliquant la relation de Young (1805):

$$S_{SL} = \gamma_{LV} \cdot (\cos\theta_e - 1) \quad (\text{Eq. II.5.3})$$

avec θ_e l'angle de contact à l'équilibre en régime statique, $S_{SL} < 0$ dans le cas d'un mouillage partiel.

Lorsque le fluide s'étale complètement sur le substrat solide, l'angle de contact à l'équilibre, θ_e , est nul, de même que le coefficient d'étalement S_{SL} . Dans le cas contraire, plus S_{SL} s'éloigne de 0 dans les valeurs négatives, moins l'étalement est important.

L'énergie de cohésion se définit comme l'énergie, ou le travail, à fournir pour rompre des liaisons ou séparer les molécules d'une même phase. Hansen et Skaarup (1967) puis Hobin (1972) ont démontré que l'énergie de cohésion W_c [$\text{mJ} \cdot \text{m}^{-2}$] peut se définir comme l'énergie libre nécessaire pour créer deux unités d'aire à l'interface liquide/vapeur, ce qui se traduit par :

$$W_c = 2 \cdot \gamma_{LV} \quad (\text{Eq. II.5.4})$$

Pour un liquide donné, γ_{LV} est directement lié à la cohésion interatomique et intermoléculaire.

La mouillabilité d'une surface solide peut être déterminée pour un liquide donné par la mesure de l'angle de contact (θ_e , [°]) formé par une goutte du liquide et la surface du substrat solide au niveau de la ligne triple (Fig. II.14-a). Chaque tension interfaciale (liquide-solide, solide-vapeur et liquide-vapeur), γ [N.m^{-1}] (ou [J.m^{-2}]), est définie par l'énergie libre à l'interface (ΔG_i , [J]) par unité de surface (Δa , [m^2]) :

$$\gamma = \Delta G_i / \Delta a \quad (\text{Eq. II.5.5})$$

Les composantes, polaire « p », attribuable aux capacités à créer des liaisons hydrogène, et dispersive « d », apolaire, attribuable aux forces de van der Waals des énergies libres d'interface, sont additives. On retrouve les relations suivantes (Owens et Wendt, 1969; Awaja, 2009) :

$$\gamma = \gamma^d + \gamma^p \quad (\text{Eq. II.5.6})$$

et

$$\gamma_{SL} = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - 2 \cdot [\sqrt{\gamma_{LV}^d \cdot \gamma_{SV}^d} + \sqrt{\gamma_{LV}^p \cdot \gamma_{SV}^p}] \quad (\text{Eq. II.5.7})$$

Ce qui donne l'expression suivante avec la mesure d'angle de contact à l'équilibre :

$$(1 + \cos(\theta_e)) \cdot \gamma_{LV} = 2 \cdot [\sqrt{\gamma_{LV}^d \cdot \gamma_{SV}^d} + \sqrt{\gamma_{LV}^p \cdot \gamma_{SV}^p}] \quad (\text{Eq. II.5.8, d'après Eq. II.5.1 et Eq. II.5.7})$$

Mode opératoire :

Un tensiomètre Kruss® de type DSA-30 (Drop Shape Analysis; KRÜSS GmbH, Hamburg, DE ; Fig. II.14-b) est utilisé pour les mesures d'angle de contact à température ambiante. Le diamètre de l'aiguille est choisi selon la viscosité et la tension de surface du liquide à déposer afin d'obtenir des gouttes pour différents liquides ($V_{\text{goutte}} = 1 \mu\text{L}$); il est de 0,5 mm ou 0,69 mm (au minimum 2 liquides doivent être utilisés pour déterminer les différentes composantes de la tension de surface). La valeur du diamètre externe de l'aiguille détermine le facteur de grossissement optique du système d'acquisition d'images par une caméra numérique CCD équipée d'un objectif optique et reliée à un ordinateur.

Un rétroéclairage permet d'enregistrer des séquences d'images contrastées lors du dépôt sur un substrat solide, la mesure débute à 100 ms. Le traitement des données consiste à calculer l'angle de contact droite et gauche de chaque goutte; il est réalisé ensuite sur ordinateur à l'aide du logiciel d'acquisition et de traitement d'images du constructeur (DSA-v1.92.1.1).

II.5.2. Etude du frittage visqueux de filaments extrudés et cinétique de fusion-adhésion

Un dispositif expérimental inspiré de travaux récents a été mis au point pour l'observation du frittage visqueux de 2 filaments (Bakrani Balani *et al.*, 2017). Ce dispositif est couplé à un système d'acquisition et d'analyse d'image permettant le suivi de la cinétique de coalescence.

Principe :

Le temps caractéristique de coalescence visqueuse de polymère thermoplastique est un paramètre important pour évaluer leur potentielle utilisation dans les procédés de thermosoudage, de rotomoulage et de fabrication additive à l'état fondu. L'évaluation des cinétiques de fusion-adhésion entre filaments de zéine plastifiée est donc déterminante pour caractériser son aptitude à l'étalement et son ouvrabilité en FA-DFF. Un dispositif expérimental a donc été conçu au cours de cette thèse pour suivre la coalescence visqueuse de filaments cylindriques extrudés en conditions isothermes. Il s'agit d'un four instrumenté régulé en température et couplé avec un système d'acquisition d'images pour suivre la forme de la section des filaments pendant leur fusion-adhésion. L'évolution de l'angle de fusion-adhésion et de l'indice de convexité peut être calculée pour évaluer la dépendance à la température du temps caractéristique de coalescence visqueuse et la qualité finale de la fusion-adhésion.

Dispositif expérimental mis au point :

Le schéma global du dispositif (Fig. II.15) est similaire à celui décrit dans la littérature (Bakrani Balani *et al.*, 2017) : 2 filaments extrudés sont mis en contact dans un four transparent, leur coalescence est ensuite suivie par acquisition d'images. Néanmoins notre système diffère par les dimensions réduites du four permettant de limiter l'inertie, par son domaine de température d'utilisation adapté à la zéine et par le système d'acquisition d'image dont la fréquence est supérieure.

Un four aux dimensions internes : 20 x 10 x 50 mm³ (*équiv.* volume utile : largeur x hauteur x profondeur) a été réalisé pour suivre la fusion-adhésion de deux filaments extrudés adjacents (Fig. II.15-a). Il s'agit d'une cavité usinée dans un bloc parallélépipédique d'aluminium dont la façade est constituée d'une vitre transparente en verre, et le fond est équipé de 3 ampoules LED ($\varnothing_{LED} = 3.6$ mm, 6500 K, 39 lm; OSRAM Opto Semiconductors, Regensburg, DE) montées en série pour le rétro-éclairage des filaments cylindriques.

Une caméra de type C-MOS (EXO model, SVS-Vistek GmbH; Seefeld, DE) équipée avec une extension optique de 20mm et une lentille de grossissement (Computar modèle 5.6-32 C macroX10; CBC, Cary, NC, US) a été placée devant la fenêtre d'observation en façade du four (Fig. II.15-b). Cette caméra permet l'acquisition à 1 prise d'image par seconde.

Les images des sections de cylindres sont codées sur 8 bits (256 niveaux de gris, en Tagged Image Format files : ".TIF"). La résolution a été déterminée au début de chaque séquence avec un Vernier, avec une valeur moyenne de l'ordre de 150 longueurs de côtés de pixel par mm (soit de l'ordre de 6 à 8 μm par longueur de côté de pixel, selon le grossissement optique).

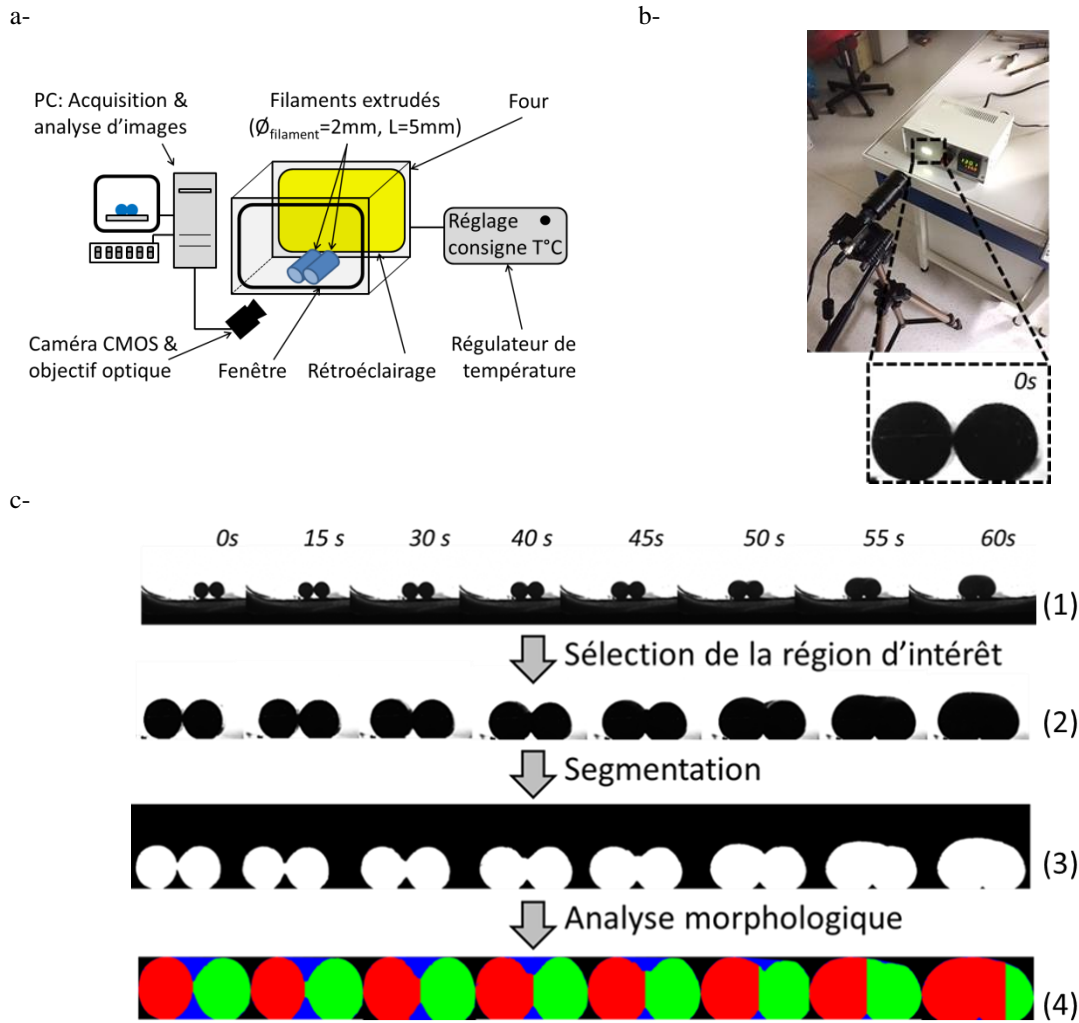


Figure II.15. Schéma du dispositif expérimental mis en place pour le suivi de la fusion-adhésion de filaments extrudés (a-). Présentation du four (volume utile : $20 \times 10 \times 50 \text{ mm}^3$) et de la caméra (capteur de type CMOS, $1 \text{ image} \cdot \text{s}^{-1}$) (b-). Etapes successives de traitement illustrées pour une sélection d'images acquises pendant 60 s au cours d'une séquence typique de fusion-adhésion en four instrumenté à 130°C entre deux filaments extrudés à base de zéine (c-): (1) Acquisition d'images en 256 niveaux de gris ; (2) Images après sélection de la région d'intérêt ; (3) Images binaires obtenues après segmentation par seuillage ; (4) Images prétraitées prêtes pour l'analyse morphologique avec reconnaissance automatique de chacune des deux sections de filaments

Une grande attention a été portée au contrôle thermique et au suivi de la température : le four est équipé d'un régulateur de température (Model 1/16 DIN avec PID, $48 \times 48 \times 100 \text{ mm}^3$; RKC Instrument Inc.; Tokyo, JP) et de 4 résistances électriques chauffantes ($\varnothing_{\text{résistance}} = 6.5 \text{ mm}$ et $L_{\text{résistance}} = 40 \text{ mm}$, $P = 30 \text{ W}$ chacune; RS Pro Components SAS, Beauvais, FR) insérées à chacun des 4 angles du four. Le thermocouple de régulation (type T) a été placé au milieu de la partie horizontale supérieure du four, juste au contact avec la surface du métal. Un second thermocouple (type K) a été placé au milieu de la cavité pour mesurer la température ambiante à l'intérieur du four (T_{four} , $[\text{C}]$).

Mode opératoire pour l'acquisition des images :

La procédure expérimentale se décompose en trois parties :

i) fixer la température de consigne (T_{set} , [°C]) sur le contrôleur de température, entre 80 et 140°C. Dans cet intervalle 7 min sont nécessaires pour atteindre et stabiliser la valeur $T_{four} = T_{set} \pm 0,1^\circ\text{C}$ dans la cavité du four,

ii) introduire les filaments après ouverture, puis fermer la fenêtre transparente du four. Après cette séquence ouverture/fermeture, la température dans la cavité décroît légèrement, mais le système se stabilise à $T_{four} \approx T_{set}$ après environ 10 à 20 s,

iii) lancer l'acquisition d'images.

Pour chaque température fixée, T_{set} , les essais expérimentaux ont été effectués trois fois. De façon à suivre précisément la température des filaments, une quatrième série d'expériences a été menée, pour laquelle un thermocouple fin (type K, $\varnothing_{thermocouple} \approx 0,4$ mm) est placé à l'intérieur d'un filament, selon la direction d'extrusion, pour mesurer la température à cœur du matériau ($T_{filament}$, [°C]). Le filament est percé préalablement à sa demi-longueur pour insérer l'extrémité du thermocouple.

Traitement des images :

A la différence du dispositif décrit dans la littérature, pour lequel l'exploitation des images pour le suivi de la cinétique de coalescence semble manuelle et limitée à l'évaluation de l'angle θ en fonction du temps (Bakrani Balani *et al.*, 2017), nous avons souhaité développer un système d'analyse morphologique semi-automatique facilitant l'obtention d'un nombre important de valeurs de θ , complété par un descripteur morphologique supplémentaire (indice de convexité défini plus bas)

Dans les images initiales, la section des deux filaments et leur front de fusion-adhésion apparaît sombre sur un arrière-plan brillant (Fig. II.15-b). Un exemple de leur évolution est montré sur la figure II.15-c pendant une séquence acquise dans le four instrumenté à une température fixée $T_{set} = 130$ °C. Les étapes successives d'analyse d'image incluent : (i) la sélection de la région d'intérêt dans l'image initiale ; (ii) la segmentation de l'image par application d'un seuil avec le logiciel ImageJ (logiciel libre de droits; National Institute for Health, US), pour obtenir une image binaire avec un seul objet blanc (valeur pixel : 1) sur un arrière-plan noir (valeur pixel : 0) ; (iii) l'analyse morphologique (Matlab; The MathWorks Inc., Natick, MA, US).

Les descripteurs morphologiques suivants ont notamment été définis pour calculer l'angle de fusion-adhésion $\theta(t)$ et représenter son évolution (*cf.* Chapitre I, Fig. I.4):

- la longueur verticale minimale, L_{Min} , égale à $2.x$ (Fig. II.16), correspondant à la longueur du front de fusion-adhésion,

- les deux longueurs verticales maximum, L_{MaxL} et L_{MaxR} , pour les zones situées à gauche et à droite, respectivement (Fig. II.16). Leur valeur moyenne, L_{Max} , est utilisée pour calculer le rayon équivalent des filaments par la relation:

$$a = \frac{L_{Max}}{2} = \frac{(L_{MaxL} + L_{MaxR})}{4} \quad (\text{Eq. II.5.9})$$

L'application de l'Eq. I.1.16 (*cf.* Chapitre I) donne l'angle de fusion adhésion, θ :

$$\theta = \sin^{-1} \left(\frac{x}{a} \right) = \sin^{-1} \left(\frac{L_{Min}}{L_{Max}} \right) \quad (\text{Eq. II.5.10})$$

Des descripteurs morphologiques supplémentaires ont été définis pour calculer l'indice de convexité du système, I_{Convex} :

- les surfaces gauche (S_L) et droite (S_R) des deux cylindres
- l'aire convexe, S_{Conv} , correspondant à l'objet entier des images segmentées. Elle inclut S_L et S_R , et les concavités entre filaments.

L'indice de convexité, I_{Convex} [-], est défini par la relation:

$$I_{convex} = \frac{(S_L + S_R)}{S_{convex}} \quad (\text{Eq. II.5.11})$$

I_{convex} atteint la valeur 1 si la fusion adhésion conduit à une coalescence complète des filaments, sans concavité résiduelle (Legland *et al.*, 2013).

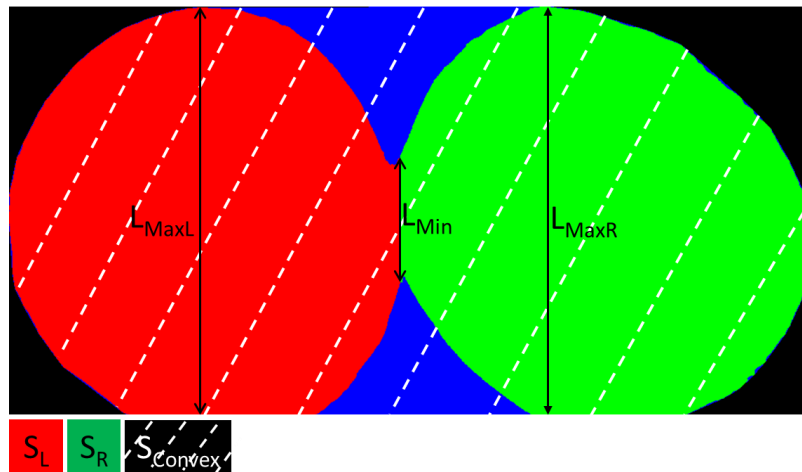


Figure II.16. Représentation schématique des descripteurs morphologiques évalués lors du traitement d'images d'une séquence de fusion adhésion. La zone hachurée a pour aire S_{Convex}

II.6. Comportement en milieu physiologique simulé à 37°C

Afin d'évaluer l'intérêt pour des applications dans le domaine biomédical d'une matrice extrudée à base d'un biopolymère-modèle, tel que la zéine plastifiée par un principe actif (P.A. = liquide ionique [Lidocaïnum][Ibuprofénate]), le suivi de ses propriétés mécaniques dynamiques et de ses capacités de relargage du P.A. en conditions physiologiques simulées est réalisé.

II.6.1. Mesures thermomécaniques sur échantillons immergés

Principe de l'analyse mécanique dynamique avec immersion de l'échantillon :

De la même façon qu'au paragraphe précédent, l'analyse mécanique dynamique (AMD) consiste à imposer une sollicitation mécanique sinusoïdale d'amplitude très faible et à enregistrer la réponse viscoélastique du matériau. Ici l'échantillon est immergé en milieu physiologique simulé à 37°C en tampon phosphate salin à pH 7,4 (« PBS », Phosphate Buffered Saline).

Mode opératoire :

L'échantillon (un filament extrudé) est placé verticalement entre deux mors de traction d'un appareil d'Analyse Mécanique Dynamique (AMD ; ATMD MK IV, Rheometric Scientific, Piscataway, NJ, USA). $L_{\text{filament}} = 20 \text{ mm}$, $\varnothing_{\text{filament}} = 2 \text{ mm}$ et l'entrefer initial entre les mors est de 5 mm. L'ensemble (mors et échantillon fixé) est immergé dans 300 ml de tampon PBS placés un ballon à double enveloppe thermo-régulé par circulation d'eau à 37°C (Fig. II.17 ; *N.B. le suivi du relargage d'un principe actif depuis un filament extrudé identique est réalisé dans les mêmes conditions opératoires à l'UTINAM -UMR CNRS-Université Besançon- cf. paragraphe ci-dessous*). La déformation est fixée à $\varepsilon = 0,01 \%$ initialement (le matériau étant vitreux, une force statique trop importante, $F > 5 \text{ N}$, étant obtenue pour des déformations supérieures), puis $\varepsilon = 0,1\%$ (après 2 heures d'immersion environ) et enfin $\varepsilon = 0,5 \%$ après environ 12 h d'immersion, de façon à avoir une force statique minimale supérieure à 5mN (l'échantillon ayant franchi sa transition vitreuse, par sorption d'eau du tampon PBS). Malgré des variations très importantes de propriétés mécaniques, on peut ainsi suivre l'évolution du matériau immergé sur une assez longue période de plusieurs jours en réalisant une mesure par minute des modules E' et E'' et du facteur d'amortissement $\tan\delta$.

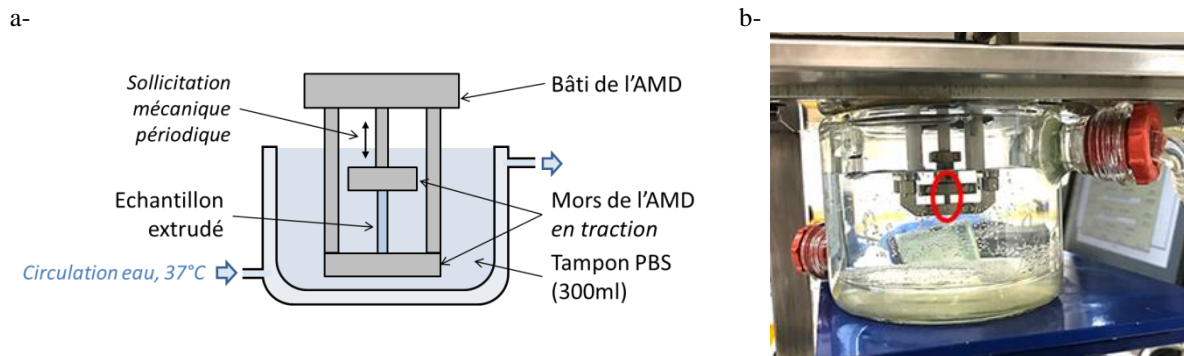


Figure II.17. Cellule de charge de l'appareil d'Analyse Mécanique Dynamique (AMD) inversée et immergée en conditions physiologiques simulées (37 °C, tampon PBS ; a-) avec l'échantillon fixé entre les deux mors de traction de l'AMD (un filament extrudé, $\varnothing_{\text{filament}} = 2 \text{ mm}$, entouré en rouge sur l'image ; b-)

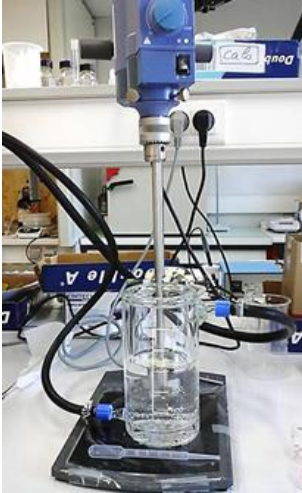
II.6.2. Test de relargages de composés actifs

Une collaboration a été initiée avec l'UTINAM -UMR CNRS-Université Besançon- pour le suivi du relargage en milieu physiologique simulé (PBS, pH 7,4, 37 °C) d'un principe actif ([Lidocaïne][Ibuprofénate]) depuis un filament extrudé à base de zéine.

L'échantillon est immergé dans un bécher maintenu sous une agitation permanente (50rpm). Aux intervalles de temps donnés, un aliquote de 2 mL de milieu est réalisé et remplacé immédiatement par 2 mL de PBS frais (Fig. II.18-a).

Les prélèvements sont analysés par spectroscopie UV-Visible à $\lambda_{\text{max}} = 225 \text{ nm}$ (absorbance maximale pour l'anion et le cation ; Jouannin et al., 2014). Les concentrations sont déterminées grâce à une courbe d'étalonnage de [Lidocaïne][Ibuprofénate] dans le PBS (Fig.II.18-b).

a-



b-

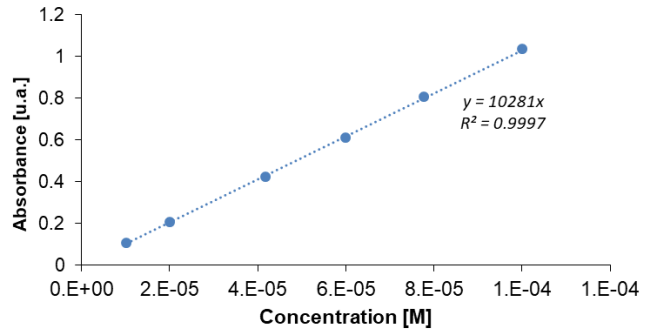


Figure II.18. Montage expérimental pour le suivi de la libération du liquide ionique [Lidocaïnum][Ibuprofénate] immergé dans de tampon PBS à 37°C (a-). Courbe de calibration : variation de l'absorbance en fonction de la concentration en de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] dans le PBS ($\lambda=225\text{nm}$) (b-)

II.7. Conclusion

Dans ce deuxième chapitre nous avons détaillé l'ensemble des formulations à base de zéine et des méthodologies qui ont été mises en œuvre au cours de l'étude expérimentale dont nous allons présenter les résultats dans les chapitres qui suivent.

Pour rappel, les chapitres III et IV concerneront les formulations contenant uniquement de la zéine commerciale et du glycérol. Les autres formulations seront étudiées au chapitre V.

Chapitre III : Propriétés thermo-rhéologiques et évolution de la structure moléculaire de la zéine plastifiée par le glycérol

Chapitre III

Introduction

L'étude bibliographique présentée au chapitre I nous a conduits à utiliser le glycérol pour plastifier la zéine, afin de tenter de formuler un matériau biopolymère modèle pour le procédé FA-DFF. L'objectif de ce chapitre sera d'affiner la formulation (taux de glycérol) et de la caractériser de manière à pouvoir confronter ses propriétés au cahier des charges matière établi.

Nous commencerons par étudier le comportement thermique et thermomécanique des matériaux. Ces premières caractérisations nous permettront d'accéder d'une part aux températures de transition vitreuse et aux valeurs de modules élastiques en dessous et au-dessus de la relaxation thermomécanique associée, importantes pour le cahier des charges, et d'autre part aux propriétés thermophysiques (capacité calorifique et conductivité thermique, notamment) nécessaires à la modélisation du procédé.

Nous étudierons ensuite en détail le comportement de la zéine plastifiée à l'état fondu en fonction de la température et du temps. L'étude de la littérature a en effet montré que la zéine subit une agrégation aux températures de mise en œuvre à l'état fondu. Il nous a donc semblé important de comprendre ce phénomène susceptible de modifier fortement le comportement thermoplastique des matériaux et leur adéquation au cahier des charges nécessaire à leur ouvrabilité.

L'évolution du comportement rhéologique sera étudiée à la fois par des mesures de viscosité apparente à l'aide d'un micro-mélangeur bi-vis permettant l'extrusion de filaments et en rhéométrie rotationnelle classique en géométrie plan-plan. Dans chaque cas, l'évolution de la rhéologie avec le temps sera mise en relation avec l'évolution de la structure macromoléculaire de la zéine, par la caractérisation d'échantillons par électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE, notamment) et chromatographie. Enfin, nous nous intéresserons à la tension de surface du matériau, une propriété importante pour le procédé FA-DFF.

III.1. Comportement thermique et thermomécanique de la zéine plastifiée

III.1.1. Transition vitreuse et stabilité thermique

La température de transition vitreuse de la zéine déterminée par analyse enthalpique différentielle est de l'ordre de $T_g = 85 \text{ °C}$ (Fig. III.1). La capacité thermique massique à l'état vitreux est de l'ordre de $C_p = 1,5 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ (valeur à $T = 40 \text{ °C}$). L'augmentation de la capacité thermique massique due à la transition vitreuse est de l'ordre de $\Delta C_p \approx 0,7 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$, conduisant à une valeur à l'état caoutchoutique $C_p = 2,2 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$ (valeur à $T = 130 \text{ °C}$).

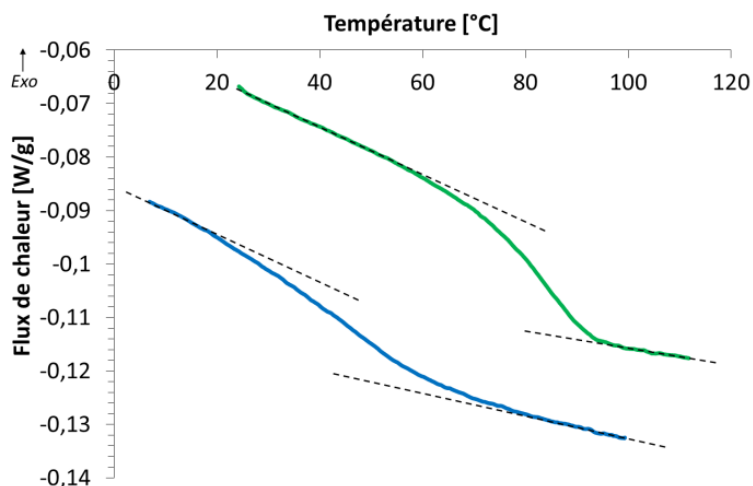


Figure III.1. Détermination par AED des transitions vitreuses de la zéine commerciale brute (—) et avec 20% de glycérol comme plastifiant, Z20Gly (—)

La figure III.2 montre l'influence de l'eau et des impuretés lipidiques sur la transition vitreuse : Ces mesures ont été effectuées sur des échantillons placés à l'équilibre sur des solutions salines saturées donnant diverses humidités relatives à 20 °C (LiCl : HR = 11,1% ; MgCl₂ : HR = 33,0% ; NaBr : HR = 59,1% ; NaCl : HR = 75,4%). On observe une baisse significative de la température de transition vitreuse avec la teneur en eau.

Après délipidation à l'extracteur Soxhlet (*cf.* Annexe 2), l'évolution des T_g est aussi présentée pour la zéine délipidée sur la figure III.2. Elles sont légèrement supérieures à celles mesurées sur la zéine commerciale brute pour des teneurs en eau équivalentes, les lipides ayant un effet plastifiant sur cette protéine dont la structure primaire est composée en grande partie d'acides aminés hydrophobes (Lawton, 2002 ; *cf.* Chapitre I). *N.B. La plastification de la zéine par des composés amphiphiles hydrophobes sera abordée en détail dans le Chapitre V.*

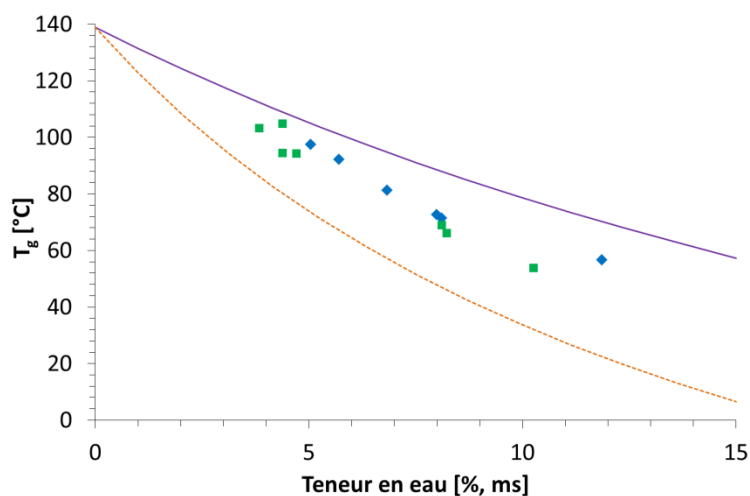


Figure III.2. Températures de transition vitreuse de la zéine commerciale brute (■) et délipidée (ZDelip ; ◆) mesurées par AED pour différentes teneurs en eau. Représentation des valeurs publiées pour la zéine pure par Madeka et Kokini (1996) : modèles de Gordon-Taylor (---) et Couchman-Karas (—)

Des modèles phénoménologiques ont été développés pour déterminer la température de transition vitreuse d'un mélange polymère-plastifiant (tel que l'eau pour la zéine) par l'équation de Gordon et Taylor (1952) :

$$T_g \cdot (w_1 + k \cdot w_2) = w_1 \cdot T_{g1} + k \cdot w_2 \cdot T_{g2} \quad (\text{Eq. III.1})$$

avec :

- k : constante, facteur empirique relatif aux liaisons hydrogènes plastifiant-polymère. Une valeur de 6,24 peut être retenue pour la zéine d'après Madeka et Kokini (1996) et Wang *et al.* (2003).
- w_1 et w_2 : fraction massique du solide et de l'eau (plastifiant), respectivement.

Cette équation est appliquée soit pour prédire l'influence du contenu en eau sur la T_g , soit pour estimer la T_g de mélanges binaires de polymères (Roos, 1995).

Un modèle a aussi été développé sur la base des théories thermodynamiques par Couchman et Karasz (1978) :

$$T_g = \frac{w_1 \cdot \Delta C_{p1} \cdot T_{g1} + w_2 \cdot \Delta C_{p2} \cdot T_{g2}}{w_1 \cdot \Delta C_{p1} + w_2 \cdot \Delta C_{p2}} \quad (\text{Eq. III.2})$$

avec :

- w_n : fraction massique en composés 1 ($n=1$), ou 2 ($n=2$) tels que $w_1 + w_2 = 1$
- ΔC_p : variation de capacité calorifique lors de la transition vitreuse d'un composé.

Le mélange est supposé uni-phasique et sa transition vitreuse est déterminée par AED avec les mesures des ΔC_p et T_g du polymère et du plastifiant, respectivement. Quand le plastifiant est l'eau, les valeurs couramment utilisées sont $T_{g2} = 134 \text{ K}$ et $\Delta C_{p2} = 1,94 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ (Sugisaki *et al.*, 1968).

Le modèle de Couchman-Karasz (relation Eq. III.2) permet donc de calculer la T_g de la zéine plastifiée par l'eau en utilisant les valeurs publiées par Madeka et Kokini (Madeka et Kokini, 1996) pour la zéine pure anhydre : $T_{g\text{-zéine_pure_anhydre}} = 412 \text{ K}$ et $\Delta C_p = 0,7 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$. Des tendances similaires sont retrouvées pour les valeurs expérimentales et celles calculées à partir des données publiées (Fig. III.2).

Il faut souligner que les courbes présentées sur la figure III.2 ne sont pas un ajustement de nos données expérimentales, mais un calcul établi à partir des données de la littérature pour la zéine (dans le cas du modèle de Couchman-Karasz) et le facteur k (dans le cas du modèle de Gordon-Taylor). Les écarts assez importants sont expliqués par les variations de matières et de systèmes de mesures entre les différents laboratoires.

Comme l'eau, le glycérol permet d'abaisser la température de transition vitreuse de la zéine : de $85 \text{ }^\circ\text{C}$ (zéine commerciale brute) à $42 \text{ }^\circ\text{C}$ pour 20% de glycérol ajouté (Fig. III.1), avec l'avantage d'être beaucoup moins volatile (Corradini *et al.*, 2006). Nous l'avons donc choisi comme plastifiant

modèle pour notre étude, notamment sur la base des travaux de Corradini et ses collaborateurs comme détaillé au chapitre I de ce mémoire (Corradini *et al.*, 2006 et 2007).

La figure III.3 permet de comparer le comportement thermogravimétrique de la zéine commerciale brute et plastifiée par le glycérol. Dans les deux cas, on observe une première perte de masse, de l'ordre de 4 à 5 %, jusqu'à 90 à 100 °C, due à la perte d'eau structurale de la zéine au début de la cinétique de chauffage.

La zéine commerciale ne subit ensuite plus de perte de masse significative avant 230°C, correspondant à sa décomposition thermique. Des résultats similaires ont été obtenus sur d'autres lots de zéine commerciale et présentés dans la littérature (Selling, 2010 ; Di Maio, 2010).

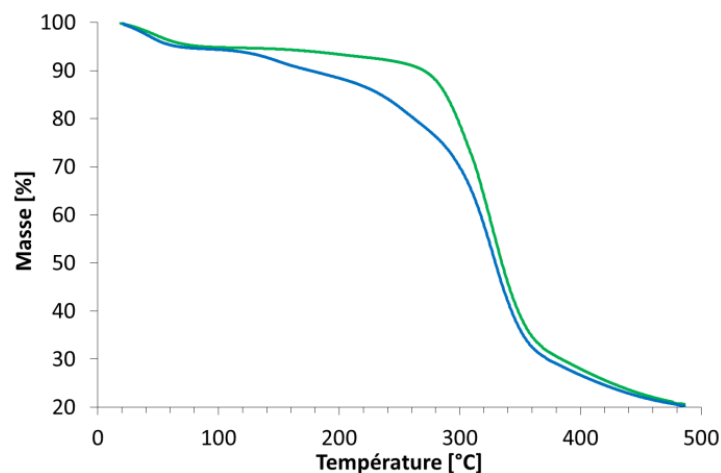


Figure III.3. Suivi par thermogravimétrie de la zéine commerciale brute (—) et avec 20% de glycérol comme plastifiant, Z20Gly (—)

L'ajout de 20% de glycérol conduit à un comportement différent du fait de l'évaporation du glycérol à partir de 130 °C. Il faudra donc éviter de mettre en œuvre le matériau à l'état fondu à des températures supérieures. Toutefois, pour des temps de séjour courts, certains auteurs ont utilisé des températures pouvant aller jusqu'à 145 °C (Selling et Utt, 2013). En considérant une température de mise en œuvre de 130°C, le matériau se situera à $130 - 42 \approx 90$ °C au-dessus de T_g .

En comparaison, l'ABS est typiquement mis en œuvre à 220-240°C en FA-DFF pour une température de transition vitreuse de l'ordre de 110°C, donc environ 110 à 130°C au-dessus de T_g .

Quant au PLA, dont la T_g est de l'ordre 50-70°C mais qui présente une fusion à 175°C, il est typiquement mis en œuvre à 190°C ($T_g + 130$ °C). Par conséquent, la volatilité du glycérol, même si elle est plus faible que celle de l'eau, apparaît comme un facteur limitant pour se rapprocher des conditions de mise en œuvre des matériaux de référence en FA-DFF. Dans le chapitre V, nous étudierons d'autres plastifiants moins volatils.

III.1.2. Comportement thermomécanique et propriétés thermiques

L'ajout de 20% de glycérol à la zéine permet d'abaisser sa température de transition vitreuse et d'obtenir une relaxation mécanique principale du matériau extrudé, liée à T_g , à $T_{\alpha_Z20Gly_EBV}$ de l'ordre de 55 °C au pic du facteur d'amortissement, $\tan\delta$, Fig. III.4 (avec $T_{g_Z20Gly} \approx 42$ °C en AED, Fig. III.1). Si l'on considère le cahier des charges établi précédemment (*cf.* Chapitre I), on peut comparer ses propriétés thermomécaniques, notamment les modules vitreux et caoutchoutiques, à celles de l'ABS et du PLA (Fig. III.4). Par ailleurs, ces trois matériaux ont été caractérisés par calorimétrie, de façon à évaluer les transitions thermiques en jeu lors de leur chauffage et l'évolution de leurs capacités calorifiques respectives (second chauffage à 3°C/min pour éliminer les effets du vieillissement physique ; Fig. III.5).

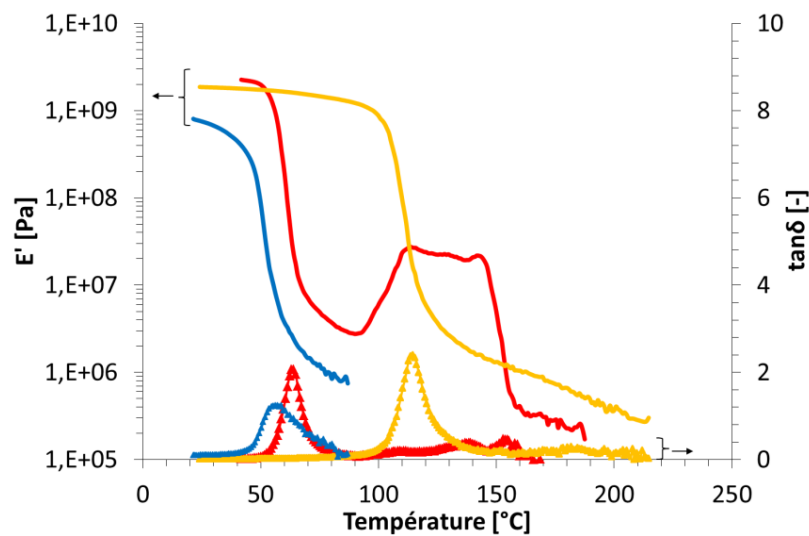


Figure III.4. Propriétés thermomécaniques d'un filament extrudé en mélangeur bi-vis à 130°C à base de zéine plastifiée Z20Gly_EBV, d'un filament d'ABS et de PLA. Notations : Z20Gly_EBV (—); ABS (—) et PLA(—); modules de stockage (E' , [Pa]) présentés en traits pleins et facteurs d'amortissement ($\tan\delta$, [-]) avec des symboles « triangles »

Le matériau extrudé à base de zéine plastifiée Z20Gly_EBV a un module élastique élevé à l'ambiante, $E' \approx 1$ GPa à 20°C, diminuant au-dessus de sa température de relaxation mécanique principale jusqu'à son écoulement entre les mors de l'ATMD pour de très faibles modules, à $E' < 1$ MPa au-delà de 80°C. La capacité thermique massique de la zéine plastifiée par 20% de glycérol, Z20Gly, est évaluée par AED et son évolution est typique de celle d'un polymère amorphe, avec une augmentation du C_p de $1,48.10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ (à 20°C) à $2,20.10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ (à 130°C) (Fig. III.5). *N.B.* Pour ce matériau thermomoulé sous forme d'une pastille lisse, Z20Gly_PTM, une mesure complémentaire du C_p a été réalisée avec le système HotDisk® (dispositif de mesure des constantes thermiques de matériaux). La valeur obtenue est $1,9.106$ J.m⁻³.K⁻¹, soit $C_p \approx 1,5.10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ (pour une densité de 1,25 ; Shukla et Cheryan, 2001), similaire aux valeurs obtenues en AED.

Le PLA présente une première relaxation mécanique à 50 - 55 °C, où son module élastique diminue de $E' \approx 2,3$ GPa à 3 MPa (Fig. III.4), liée au franchissement de sa transition vitreuse à cette température visible en calorimétrie (Fig. III.5). Le PLA présente alors un ΔC_p de l'ordre de $0,5 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹, avec une augmentation du C_p de $0,9 \cdot 10^3$ à $1,4 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ au franchissement de sa transition vitreuse à $T_g \approx 55$ °C. Un ΔC_p du même ordre de grandeur est reporté dans la littérature pour un PLLA pur, au franchissement de sa T_g à environ 65 °C (Zhu *et al.*, 2017). Vers 90°C, il présente une augmentation du module élastique jusqu'à $E' = 25$ MPa, due à un phénomène de cristallisation confirmé par AED. Ensuite, une diminution importante du module élastique ($E' < 0,5$ MPa) se produit à 150 - 160°C, due à la fusion des domaines cristallins dans ce matériau. Sa température de dépôt en FA-DFF est nécessairement supérieure à ces valeurs et elle se situe en général entre 190 et 210 °C.

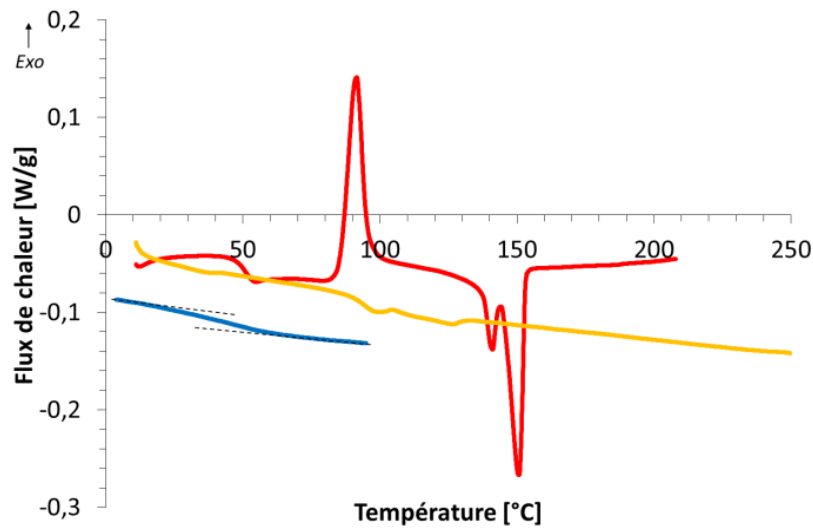


Figure III.5. Caractérisation par Analyse Enthalpique Différentielle du matériau à base de zéine plastifiée par l'ajout de 20% glycérol, Z20Gly, et de filaments d'ABS et de PLA pour la FA-DFF (2^{ème} chauffage à 3°C.min⁻¹). Notations : Z20Gly (—) ; ABS (—) et PLA (—).

L'ABS a un comportement thermomécanique très différent du PLA, avec une relaxation mécanique principale liée au passage de sa transition vitreuse entre 100 et 120 °C. C'est un polymère biphasé amorphe présentant une large transition vitreuse (de 95 à 120°C environ en AED). Cette amplitude en température est aussi reportée dans la littérature, avec une T_g centrée à 99 °C (Weng *et al.*, 2016). On mesure une augmentation de la capacité thermique massique de $C_p \approx 1 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ à l'ambiante, jusqu'à $C_p \approx 2,6 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ à 200 °C. On note qu'une valeur moyenne globale de capacité thermique massique est prise en première approximation à $C_p = 2,08 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ dans des travaux portant sur la modélisation des transferts thermiques lors de l'impression 3D de l'ABS (Bellehumeur *et al.*, 2004). Pour le même type de recherches, d'autres auteurs prennent une valeur constante moyenne à $C_p = 1,85 \cdot 10^3$ J.kg⁻¹.K⁻¹ pour l'ABS, sans mesure directe (Hofstaetter *et al.*, 2015). On constate donc que l'ordre de grandeur des valeurs communément présentées dans la littérature correspond à une valeur moyenne telle qu'on peut la déterminer par nos mesures en AED sur une très large gamme de température (de 20 °C à 200 - 250 °C environ). Le module élastique de

l'ABS (et sa viscosité) reste plus important que celui du PLA jusqu'à plus de 200°C et son impression 3D par FA-DFF est réalisée généralement à des températures supérieures à 220 °C.

En complément de l'évaluation de sa capacité thermique massique, la conductivité thermique du matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol est mesurée à $\lambda_{Z20Gly_PTM,20^\circ C} = 0,26 \pm 0,01 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, pour une diffusivité évaluée à $D_{Z20Gly_PTM,20^\circ C} = 1,34.10^{-7} \pm 0,08.10^{-7} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$, avec le système HotDisk®. Ces propriétés évoluant peu avec la température pour les polymères amorphes (Dawson *et al.*, 2000; dos Santos *et al.*, 2013), on peut raisonnablement estimer la conductivité thermique du matériau à base de zéine plastifiée dans une gamme comprise entre 0,25 à 0,3 $\text{W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, lors de sa mise en œuvre à l'état fondu, typiquement à T de l'ordre de 130 °C.

Par ailleurs, la diffusivité thermique des polymères diminuant avec la température, notamment du fait de l'augmentation de leur capacité thermique massique, les valeurs restent dans la gamme de $D = 0,5 \text{ à } 1.10^{-7} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ pour une température de l'ordre de 150 °C (avec des diffusivités mesurées à l'ambiante de l'ordre de $1,5.10^{-7} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$). Ceci semble un ordre de grandeur convenable pour le matériau à base de zéine plastifiée, dont la diffusivité thermique à l'ambiante est mesurée à une valeur proche de $1,3.10^{-7} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$.

III.1.3. Expansion thermique

Le coefficient d'expansion thermique, noté « CTE », quantifie la dilatation d'un matériau en fonction de la température à pression constante. Il a été déterminé directement sur les filaments extrudés, Z20Gly_EBV, au cours de leur chauffage après fixation aux mors d'une ATMD utilisée en mode ATM -*déformation statique*- (Fig. III.6-a). Ce type de mesure est limité aux températures inférieures à T_g (Wei *et al.*, 2015), aussi bien pour les polymères amorphes, comme la zéine et l'ABS, que pour le PLA semi-cristallin (Hughes *et al.*, 2012).

Les données enregistrées en dessous de la température de transition vitreuse permettent d'établir un CTE_{Z20Gly_EBV} de l'ordre de 6,1 à $6,6.10^{-5} \text{ K}^{-1}$ (soit de 61 à 66 $\mu\text{m.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$) pour le matériau à base de zéine plastifiée, sur la base des dilatations thermiques exprimées en déformation (Fig. III.6-b). Ce résultat est légèrement inférieur à ceux obtenus pour le PLA ($\text{CTE}_{\text{PLA}} \approx 8,4.10^{-5} \text{ K}^{-1}$) et l'ABS ($\text{CTE}_{\text{ABS}} \approx 9,7.10^{-5} \text{ K}^{-1}$), mais l'ordre de grandeur est le même dans cette gamme de température. Ces mesures sont en accord avec les données disponibles dans la littérature pour ces polymères synthétiques : De 6.10^{-5} à 9.10^{-5} K^{-1} pour le PLA, ou des mélanges où il est majoritaire à au moins 80% m/m ; Jiang *et al.*, 2013) et $9.8.10^{-5} \text{ K}^{-1}$ pour l'ABS (Weng *et al.*, 2016). A notre connaissance aucune valeur n'est disponible dans la littérature pour les matériaux à base de zéine.

Pour améliorer le contact avec le matériau à l'approche de sa température de transition vitreuse, des essais sont réalisés sur des pastilles thermomoulées lisses à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol, Z20Gly_PTM, placées entre deux plateaux de compression en ATMD utilisée en mode ATM (Fig. III.6-c). Les valeurs mesurées pour des températures inférieures à T_g sont similaires à celles obtenues sur des filaments extrudés ($\text{CTE}_{Z20Gly_PTM} \approx 6.10^{-5} \text{ K}^{-1}$), puis divergent très fortement

au franchissement de la transition vitreuse dont la valeur est confirmée à $T_g \approx 45^\circ\text{C}$ par cette méthode (intersection des tangentes ; Fig. III.6-c), proche de celle déterminée précédemment en calorimétrie (AED).

Bien que délicat à déterminer pour un polymère amorphe, le coefficient d'expansion thermique du matériau vitreux à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol est du même ordre de grandeur que celui de polymères synthétiques standards en FA-DFF (amorphe tel que ABS, ou semi-cristallin tel que le PLA), avec des valeurs de CTE de l'ordre de 6.10^{-5} à 7.10^{-5} K^{-1} .

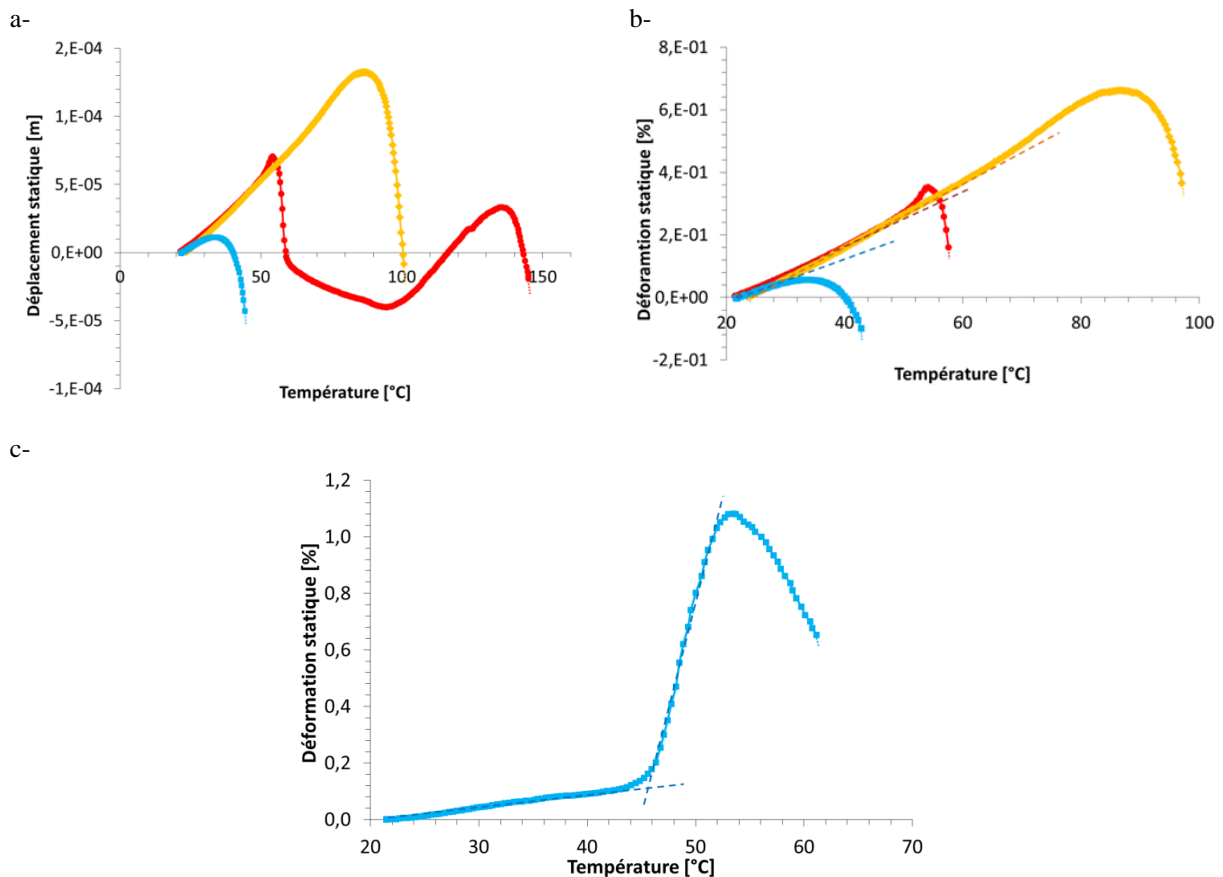


Figure III.6. Suivi de la dilatation thermique de filaments ($\varnothing_{\text{filament}} \approx 2\text{mm}$, $L_{\text{filament}} \approx 20\text{mm}$; ATMD en mode ATM) de zéine plastifiée par 20% de glycérol, Z20Gly_EBV, et des polymères standards en FA-DFF : ABS et PLA (mesure déplacement, a-) et (déformation, b-). Notations: Z20Gly_EBV (-■-), PLA (-●-) et ABS (-◆-) (a- et b-). Suivi de la dilatation thermique d'une pastille lisse de zéine plastifiée, Z20Gly_PTМ, après stockage en conditions standardisées (HR=59%, 20°C ; -■-) (c-). Tangentes en pointillés (---) pour le calcul des CTE.

III.2. Comportement rhéologique et évolution de la structure moléculaire de la zéine plastifiée

III.2.1. Propriétés rhéologiques des fondus en régime établi

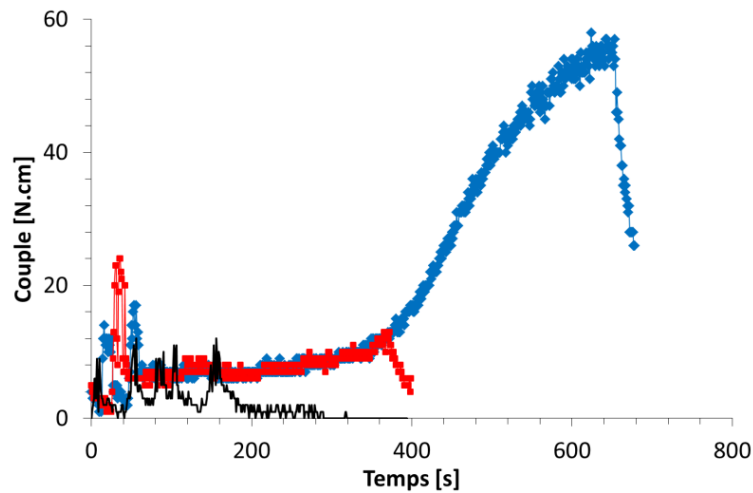
Le comportement rhéologique en régime établi des fondus de zéine plastifiée par 20% de glycérol, Z20Gly a été caractérisé. Le couple et la viscosité apparente augmentent de façon continue pendant la transformation en micro-mélangeur bi-vis (Fig. III.7). L'évolution de la consistance des fondus (viscosité ou couple seul dans le cas de l'extrusion sans recirculation) est similaire à celle décrite par Sessa *et al.* (2006) pour la zéine plastifiée par le triéthylène glycol. Le couple augmente

d'abord doucement jusqu'à environ 5 min de recirculation. Il augmente ensuite plus rapidement et atteint des valeurs importantes après 10 min de recirculation, proches de 50 N.cm.

En complément d'études précédentes en mélangeur statique (Sessa *et al.*, 2006 ; Di Maio *et al.*, 2010) qui ont seulement présenté l'évolution du couple, il est possible dans le cas présent d'obtenir celle de la viscosité apparente (à $\dot{\gamma}_a = 6 \text{ s}^{-1}$) et des valeurs d'énergie mécanique spécifique (EMS).

Pour les échantillons extrudés après 5 min de recirculation ($\text{EMS} \approx 30 \text{ J.g}^{-1}$), la viscosité apparente est de $\eta_a \approx 2 \text{ kPa.s}$ (Fig. III.7-b). Elle augmente jusqu'à 6,5 kPa.s après 10 min ($\text{EMS} \approx 87 \text{ J.g}^{-1}$).

a-



b-

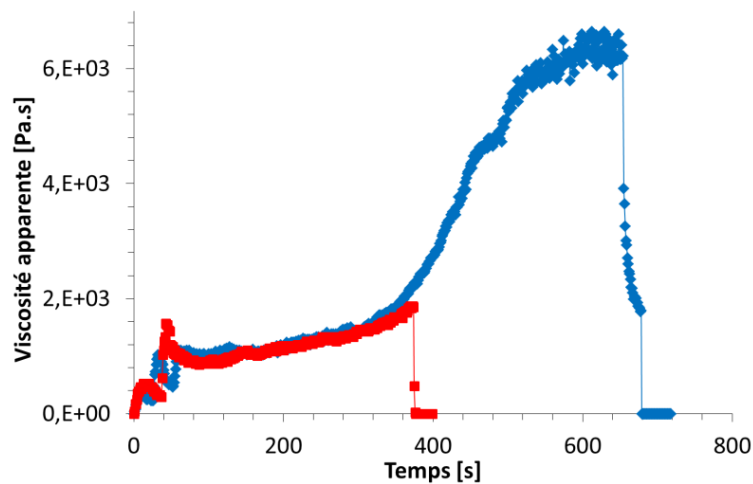


Figure III.7. Comportement rhéologique en écoulement dans le micro-mélangeur bi-vis à 130°C. Evolutions du couple moteur (a-) et de la viscosité apparente pendant la recirculation dans la zone capillaire (b-). Notations: Z20Gly en recirculation 10 min à 130°C (-♦-), Z20Gly en recirculation 5 min à 130°C (-■-) et Z20Gly sans recirculation à 130°C (—, évolution du couple seulement car extrusion directe dans ce cas)

La viscosité apparente pour des temps de séjour très courts (moins de 1 min) ne peut pas être évaluée à cause de l'extrusion permanente du fondu ne recirculant donc pas dans la zone capillaire où la perte de charge est mesurée. Néanmoins, la consistance du fondu peut être qualitativement évaluée en traçant l'évolution du couple moteur. Elle correspond à la courbe noire (Fig. III.7-a), parfois

d'aspect discontinu, dû à l'alimentation permanente du micro-mélangeur pour obtenir un écoulement continu en sortie de filière. Le couple est très faible, inférieur à 1 N.cm, suggérant une viscosité initiale très faible. Une forte augmentation de la viscosité du matériau est obtenue pour des temps de recirculation les plus longs (typiquement supérieurs à 5 min), tel que reporté par Sessa *et al.* (2006). Ces auteurs attribuent cette augmentation à l'évolution structurale de la protéine par un phénomène d'agrégation thermique impliquant des réticulations non-covalentes et des réticulations chimiques (oxydation thermique SH en S-S).

III.2.2. Comportement rhéologique en régime dynamique

III.2.2.1. Evolution du comportement rhéologique en conditions isotherme

La viscosité du fondu à base de zéine plastifiée par le glycérol augmentant avec le temps de séjour en régime établi, il est intéressant d'évaluer son comportement viscoélastique et son évolution à haute température, pour une meilleure compréhension de sa mise en œuvre.

Nous avons donc mis en œuvre des expériences dans lesquelles la composition Z20Gly initialement sous forme pulvérulente est introduite dans un rhéomètre plan-plan à 20°C, puis chauffée de 20°C jusqu'à une température isotherme comprise entre 120 et 150 °C (pour plus de détails se référer au chapitre II). Un exemple des résultats obtenus pour une température de plateau isotherme de 130°C, à fréquence constante ($\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$) et de suivi de l'état macroscopique du matériau sont présentés sur la figure III.8. Pour chaque température de plateau isotherme, le même scénario est observé :

- Initialement, la zéine pulvérulente présente le comportement d'un solide divisé, avec $G' \approx 50$ kPa, supérieur à $G'' \approx 20$ kPa

- Pendant le chauffage (20°C.min⁻¹), G'' augmente en même temps que le fondu apparaît dans l'entrefer de la cellule du rhéomètre, jusqu'à des valeurs supérieures à celles de G' pour une température de l'ordre de 80 °C (étape II-, Fig. III.8). A partir de ce stade, la zéine qui était initialement à l'état de poudre devient un matériau cohésif. Lors d'un refroidissement à la température ambiante, il peut être maintenu à l'aide d'une pince (encart dans l'image présentée à l'étape II- sur le schéma, Fig. III.8)

- Quand le plateau final en température est atteint (étape III-, Fig. III.8), seule la partie centrale de l'échantillon est fondue. Les modules ($G'' > G'$) et la viscosité commencent à décroître

- Quand le matériau est fondu intégralement (étape IV-, Fig. III.8), un minimum de viscosité est observé, ainsi qu'un pic maximal du facteur d'amortissement, $\tan\delta$. Les modules ($G'' > G'$) commencent alors à croître, ainsi que la viscosité dynamique η^* . G' croît plus rapidement que G'' . Lors du premier essai réalisé jusqu'à ce stade, le fondu obtenu à 130 °C a été soumis à un balayage en déformation, de façon à en déterminer la valeur à fixer dans le domaine viscoélastique linéaire pour l'ensemble des essais en rhéomètre oscillatoire : $\gamma_0 = 0,7$ % (Fig. III.9).

- Finalement, un point de croisement des modules ($G' = G''$) est atteint (étape V-, Fig. III.8), puis G' devient supérieur à G'' , suggérant un phénomène de gélification.

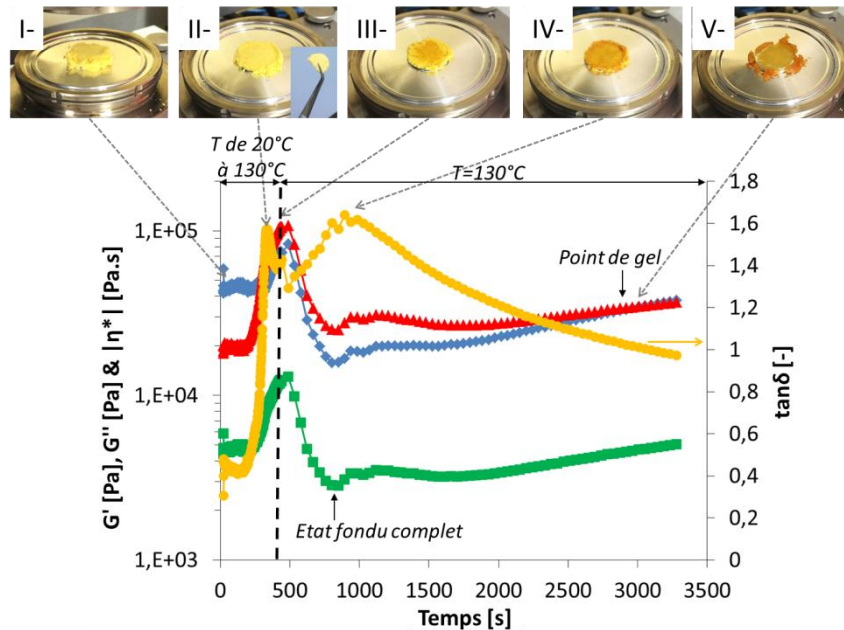


Figure III.8. Evolution de l'aspect d'une composition initiale pulvérulente Z20Gly et aux différents temps pour l'obtention d'un fondu en rhéométrie dynamique (géométrie plan-plan) : initialement (étape I-), à $\tan\delta=1$ ($G''>G'$ pendant chauffage, étape II-), au début du plateau à 130°C (III-), à l'obtention complète du fondu (viscosité minimale, IV-) et après 40min à 130°C (V-). Evolution de la température et des propriétés rhéologiques pour la composition Z20Gly pendant le chauffage à $20^\circ\text{C}/\text{min}$, puis au plateau à 130°C (dont le début est signalé par la ligne verticale en pointillés noirs). Notations: G' [Pa] (\blacklozenge), G'' [Pa] (\blacktriangle), $\tan\delta$ [-] (\bullet) et $|\eta^*|$ [Pa.s] (\blacksquare).

Des échantillons ont été collectés à chaque étape (I- à V-, Fig. III.8) pour leur caractérisation, notamment moléculaire. La température de transition vitreuse a été vérifiée à des valeurs stables suggérant une composition restant constante pendant la caractérisation au rhéomètre chauffé à des températures élevées pour cet essai : $T_g = 41,3^\circ\text{C}$ pour l'étape II ; $41,5^\circ\text{C}$ pour l'étape III ; $41,4^\circ\text{C}$ pour l'étape IV et enfin $41,9^\circ\text{C}$ pour l'étape V.

Ces résultats obtenus en AED montrent que l'augmentation de viscosité après l'étape IV- peut être attribuée à un phénomène de réticulation, sans séchage du matériau. Cette interprétation est en accord avec les observations précédemment faites lors d'extrusions en micro-mélangeur avec recirculation de matière.

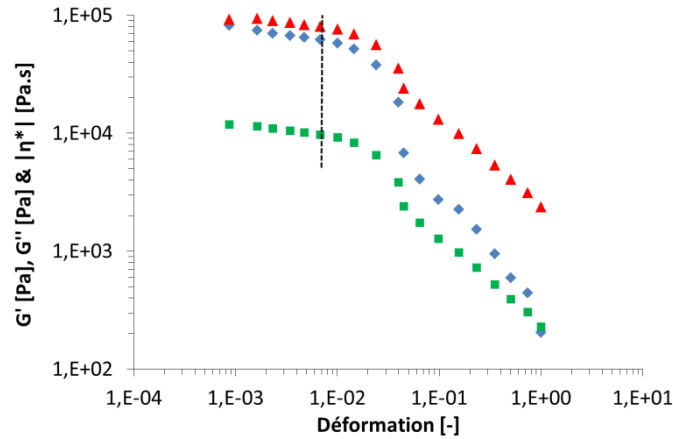


Figure III.9. Z20Gly à l'obtention de l'état fondu complet dans la cellule plan-plan, après 5 min à $T = 130\text{ °C}$, soumis à un balayage en déformation pour la détermination du choix de γ_0 (fixée à $\gamma_0 = 0,7\%$, dans le domaine viscoélastique linéaire et notée en pointillés noirs). Notations : $|\eta^*|$ ([Pa.s], ■), G' ([Pa], ◆) et G'' ([Pa], ▲)

L'intersection des évolutions de G' et G'' à l'étape V indique la formation d'un réseau, comme un phénomène de gélification, même si cette notion est généralement typique de gels obtenus sur des systèmes solvatés, ce qui n'est pas le cas pour la zéine plastifiée, mais en accord avec la littérature sur la gélification de polymères, on fera référence à ce phénomène dans la suite du manuscrit.

Le temps pour obtenir l'intersection de G' et G'' lors d'un plateau isotherme ($t_{\text{étape V}} - t_{\text{étape IV}}$) diminue avec la température, montrant ainsi une activation thermique (Tableau III.1). Le temps pour obtenir l'intersection des courbes de G' et G'' a été décrit comme ne représentant pas exactement le temps de gel (Winter, 1987). Un critère plus précis est le temps d'intersection des courbes obtenues pour l'évolution des facteurs d'amortissement, $\tan\delta$, à différentes fréquences. Des balayages en fréquence réalisés à 130 °C ont été utilisés pour représenter l'évolution de ces courbes pour différentes fréquences, avec une intersection à $\tan\delta \approx 1$ pour des valeurs entre 1800 et 2400 s (Fig. III.10).

Tableau III.1. Viscosité minimale à l'obtention de l'état fondu complet (étape IV-, Fig. III.8 pour $T=130\text{ °C}$), temps de gel et viscosité au point de gel (étape V-, Fig. III.8 pour $T=130\text{ °C}$) pour la composition plastifiée Z20Gly à différentes températures. 2 essais réalisés par température, à $\omega_0 = 10,47\text{ rad.s}^{-1}$.

Température au plateau [°C]	Viscosité minimale [Pa.s] (étape IV-, Fig. III.8)	Temps de gel à température constante [s]	Viscosité au point de gel [Pa.s] (étape V-, Fig. III.8)
120°C	13857	4968	22260
120°C	14910	6622	16029
130°C	2839	2210	4903
130°C	2904	2264	5043
140°C	1292	2012	3460
140°C	2080	1976	3785
150°C	439	1688	4557
150°C	658	1761	3968

Le temps moyen d'intersection des courbes de G' et G'' , de l'ordre de 2250 s à $\omega = 10,47\text{ rad.s}^{-1}$ pour $T=130\text{ °C}$ est proche du milieu de cette fenêtre. Ainsi, en prenant le temps de croisement de G' et G'' on peut obtenir une estimation raisonnable du temps de gel.

Il est alors possible d'évaluer l'énergie d'activation du phénomène de réticulation thermique selon une loi d'Arrhenius (Fig. III.11). On constate que l'évolution du $\log(t_{gel})$ avec $(1/T)$ suit une ligne droite pour les trois températures les plus élevées (130, 140 et 150 °C). L'énergie d'activation, E_a , peut ainsi être évaluée par la relation suivante:

$$t_{gel} = A. \exp\left(\frac{E_a}{R.T}\right) \quad (\text{Eq. III.3})$$

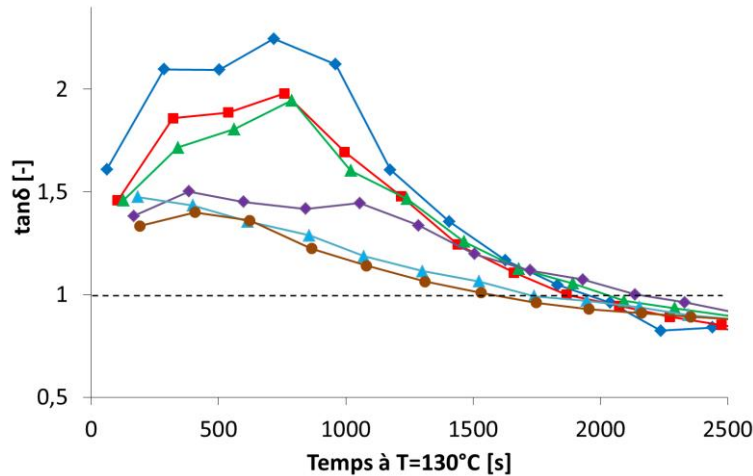


Figure III.10. Evolution des facteurs d'amortissement, $\tan\delta$, pour Z20Gly pendant le plateau à $T=130^\circ\text{C}$: à $0,628 \text{ rad.s}^{-1}$ (-◆-), $0,922 \text{ rad.s}^{-1}$ (-■-), $1,354 \text{ rad.s}^{-1}$ (-▲-), $6,280 \text{ rad.s}^{-1}$ (-◆-), $62,832 \text{ rad.s}^{-1}$ (-▲-) et $291,640 \text{ rad.s}^{-1}$ (-●-)

La valeur estimée de $E_a = 18 \text{ kJ.mol}^{-1}$ obtenue par l'ajustement des résultats paraît relativement faible par rapport à des matériaux à base de gluten plastifiés par du glycérol, qui montrent des énergies d'activation de gélification proches de 100 kJ.mol^{-1} (Redl *et al.*, 1999 ; Jerez *et al.*, 2007). Le fait que les points à 120°C ne s'alignent pas sur la tendance d'Arrhenius pourrait être attribué à une moindre contribution des ponts disulfure dans le phénomène de gélification. En effet, Selling (2010) a montré que la contribution des réticulations de type disulfure dans l'accroissement de la masse moléculaire de la zéine plastifiée à l'état fondu n'est significative qu'au-dessus de 120°C . Ceci pourrait expliquer l'accélération que l'on constate aussi aux plus hautes températures. La température affecte aussi la viscosité dynamique, surtout à son minimum (étape IV-, Fig. III.8), comme montré par la décroissance de plus de 14 kPa.s à 120°C à moins de 1 kPa.s à 150°C .

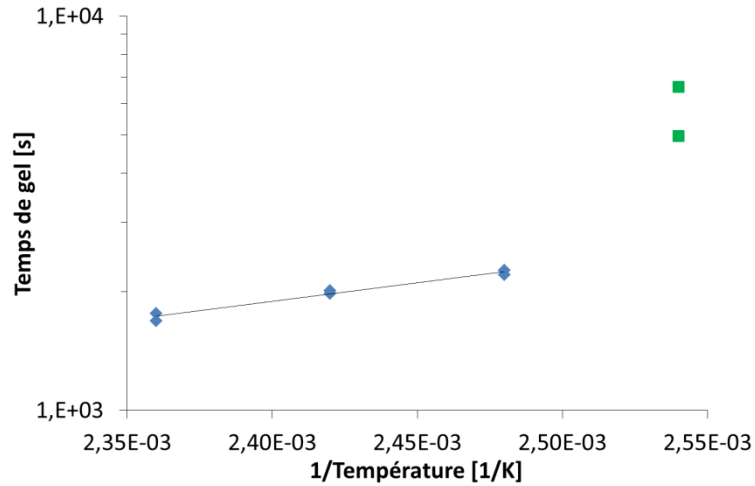


Figure III.11. Evolution du temps de gel pour la composition plastifiée Z20Gly à l'état fondu. En-dessous de la température de réticulation (à 120°C, ■) et au-dessus (à 130°C, 140°C et 150°C, ◆)

III.2.2.2. Comportement rhéologique pour les temps de séjour courts

Les dépendances en fréquence de G' , G'' et η^* , à l'obtention de l'état fondu complet (minimum de viscosité mesurée ; étape IV-, Fig. III.8) à 130°C sont présentées sur la figure III.12. On observe un comportement rhéofluidifiant, avec une diminution de la viscosité complexe avec la fréquence angulaire:

$$\eta^* = K. \omega^{n-1} \quad (\text{Eq. III.4})$$

avec K , l'indice de consistance [Pa.s^n] et n , l'indice d'écoulement (avec $0 < n < 1$, pour un comportement rhéofluidifiant). On a ici: $\eta_{Z20Gly}^* = 7.10^3 \omega^{-0.46}$ (Fig. III.12. et Tableau III.2).

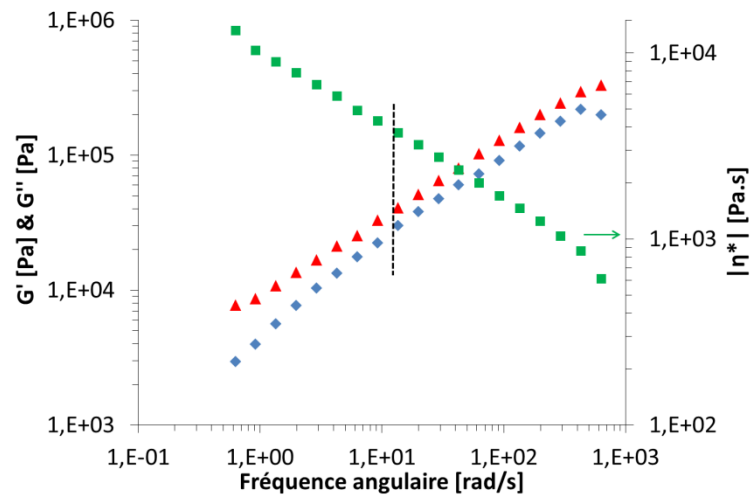


Figure III.12. Z20Gly à l'état fondu, après 5 min à 130°C: balayage en fréquence (déformation à $\gamma_0=0,7\%$ et fréquence angulaire à $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$ illustrée en pointillés noirs, telle que fixée pour les essais à fréquence constante). Notations : $|\eta^*|$ ([Pa.s], ■), G' ([Pa], ◆) et G'' ([Pa], ▲)

Tableau III.2. Propriétés rhéologiques déterminées sur les fondus à base de zéine plastifiée par le glycérol (initialement à l'état pulvérulent) à 130°C au minimum de viscosité mesurée (obtention complète de l'état fondu dans le rhéomètre). Avec : $\eta^* = K \cdot \omega^{n-1}$, $G' = L \cdot \omega^m$ et $G'' = P \cdot \omega^r$

Matériau	K [Pa.s ⁿ]	n	L [Pa.s ^m]	m	P [Pa.s ^r]	r
Z20Gly	6997	0,54	3921	0,58	5722	0,54
Z30Gly	225	0,79	106	0,76	199	0,79

De façon à évaluer l'ouvrabilité de la zéine, il est intéressant de comparer la viscosité dynamique des fondus à celles obtenues pour l'ABS et le PLA (Fig. III.13).

Les lois de comportement rhéofluidifiant sont tracées pour ces deux polymères ($\eta_{ABS}^* = 5.3 \cdot 10^3 \omega^{-0.35}$ et $\eta_{PLA}^* = 1.3 \cdot 10^3 \omega^{-0.20}$) d'après les données de la littérature à leur température d'impression, 230 et 190°C, respectivement (Kar *et al.*, 2014 ; Hwang *et al.*, 2016), dans l'hypothèse de l'application de la loi empirique de Cox-Merz. Les fondus à base de zéine plastifiée Z20Gly à 130°C présentent une viscosité de l'ordre de 0,5 à 1 kPa.s, assez proche de celles des polymères standards dans une gamme de vitesses de cisaillement adaptée à la FA-DFE, de l'ordre de 100 à 200 s⁻¹ en régime établi (Venkataram *et al.*, 2000 ; Turner *et al.*, 2014).

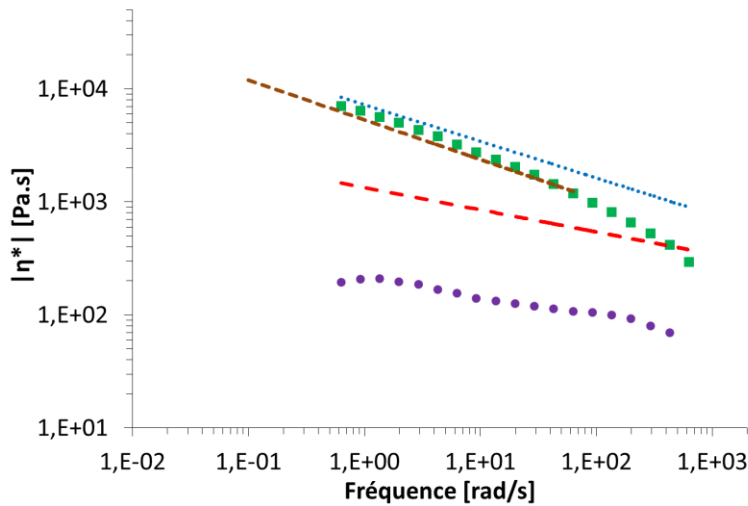


Figure III.13. Evolutions des modules des viscosités complexes mesurés en rhéométrie dynamique à l'obtention des fondus: Z20Gly à 130°C (■), Z30Gly à 130°C (●) et données de la littérature pour deux polymères standards en FA-DFE : PLLA à 190°C (--- ; Hwang *et al.*, 2016) et ABS à 230°C (--- ; Kar *et al.*, 2014), ainsi qu'un ABS-«Heat Resistant» à 270°C (... ; Saadat *et al.*, 2010)

L'ajout de plastifiant polaire (Z30Gly) permet de diminuer la viscosité dans cette plage de fréquences, mais les matériaux obtenus présentent une exsudation du plastifiant une fois retirés de la cellule de mesure du rhéomètre pouvant expliquer l'aspect irrégulier de la courbe (Fig. III.13). Par ailleurs, une composition avec seulement 10% de glycérol ne permet pas l'obtention de fondu dans le rhéomètre.

Le module conservatif, G' , est inférieur au module dissipatif, G'' . Tous deux suivent une loi puissance (Fig. III.12 et Tableau III.2) :

$$G' = L \cdot \omega^m \quad \text{et} \quad G'' = P \cdot \omega^r \quad (\text{Eq. III.5}) \text{ et } (\text{Eq. III.6})$$

avec $L \approx 3.9 \cdot 10^3 \text{ Pa} \cdot \text{s}^m$ et $P > 5.7 \cdot 10^3 \text{ Pa} \cdot \text{s}^r$ à 130°C . Les exposants m et r sont très proches avec des valeurs de l'ordre de 0,55.

Le comportement de la zéine plastifiée par 20% de glycérol semble donc différent de celui d'un polymère fondu enchevêtré, pour lequel on observe généralement une relation de type $m \approx 2.r$ (comportement Maxwellien typique d'un polymère fondu enchevêtré non réticulé; Al-Hadithi *et al.*, 1992). Ce résultat suggère que la zéine plastifiée par le glycérol se comporte initialement comme un polymère non-enchevêtré à l'état fondu, avant que la réticulation ne conduise à un point de gel pour de longs temps de séjour.

III.2.2.3. Influence du traitement thermomécanique sur la cinétique de réticulation

Nous venons de voir que les mesures effectuées en rhéométrie dynamique permettent d'observer un temps de gel de l'ordre de 2200 secondes à 130°C .

En comparaison, les essais en micro-mélangeur bi-vis montraient une augmentation très rapide de la viscosité apparente (Fig. III.7) avec des valeurs très élevées après seulement 600 s en recirculation. Nous avons donc procédé à des mesures complémentaires en rhéométrie dynamique avec un protocole différent. Deux échantillons de zéine plastifiée par 20% de glycérol sont introduits directement dans le rhéomètre préchauffé à 130°C et caractérisés à fréquence constante (Fig. III.14) :

- Pour le premier échantillon, il s'agit du produit initial pulvérulent Z20GLy, le matériau fondu apparaît instantanément, avec $G'' > G'$, puis le minimum de viscosité est atteint après 300s, indiquant un état fondu complet. La viscosité augmente alors jusqu'à un point de gel au croisement de $G'-G''$ après environ 2000 s. Ce temps de gel est proche de celui observé avec le protocole précédent, bien que légèrement inférieur.

- Pour le deuxième échantillon, Z20Gly_EBV, ayant préalablement subi une extrusion au micro-mélangeur bi-vis sans recirculation (donc un court traitement thermomécanique), on observe d'abord un état fondu obtenu très rapidement (probablement grâce à une répartition plus homogène du glycérol dans ce matériau extrudé). Il présente alors une viscosité très faible, inférieure à 0,5 kPa.s pendant les 30 premières secondes, puis jusqu'à des valeurs de l'ordre de 1 kPa.s entre 30 s et 1min. L'augmentation de la viscosité et la gélification du matériau est beaucoup plus rapide. Le croisement des courbes G' et G'' est observé après seulement 400 à 500 s. Cela montre que la cinétique de gélification de la zéine plastifiée est très sensible aux conditions de transformation thermomécanique.

A la même température, $T = 130^\circ\text{C}$, le cisaillement au cours de l'extrusion accélère de façon significative la gélification. Cela peut être attribué à un mélange plus efficace de la zéine et du plastifiant, augmentant la mobilité moléculaire et accélérant la dénaturation des protéines, augmentant ainsi leur réactivité à chaud pour des réticulations de types non-covalentes et covalentes, tel que décrit pour des bioplastiques à base de protéines (Bier *et al.*, 2014).

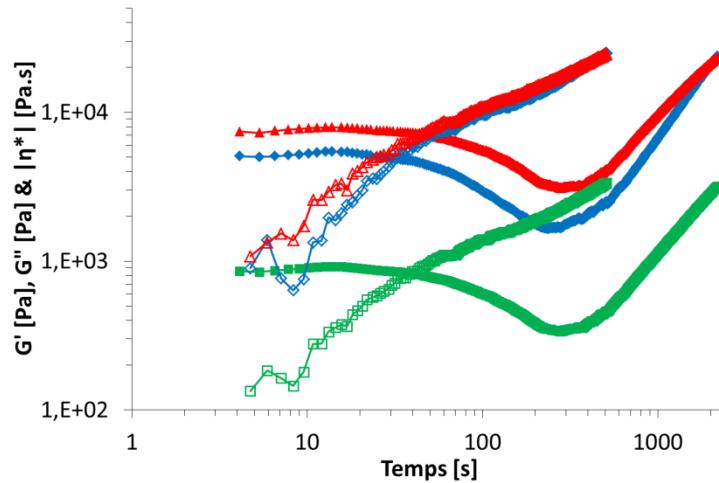


Figure III.14. Evolution des propriétés rhéologiques d'échantillons à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol en rhéomètre préchauffé à $T = 130^{\circ}\text{C}$ (\diamond - G' [Pa], \blacktriangle - G'' [Pa] et \blacksquare - $|\eta^*|$ [Pa.s]). Déformation fixée à $\gamma_0=0,7\%$ et fréquence angulaire à $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$. Symboles pleins pour les échantillons pulvérulents Z20Gly ; symboles vides pour les échantillons après extrusion sans recirculation en micro-mélangeur, Z20Gly_EBV

Ces résultats sont confirmés par la caractérisation du comportement rhéologique d'échantillons extrudés après différents temps de recirculation en micro-mélangeur à 130°C , puis placé en rhéomètre oscillatoire préchauffé à la même température:

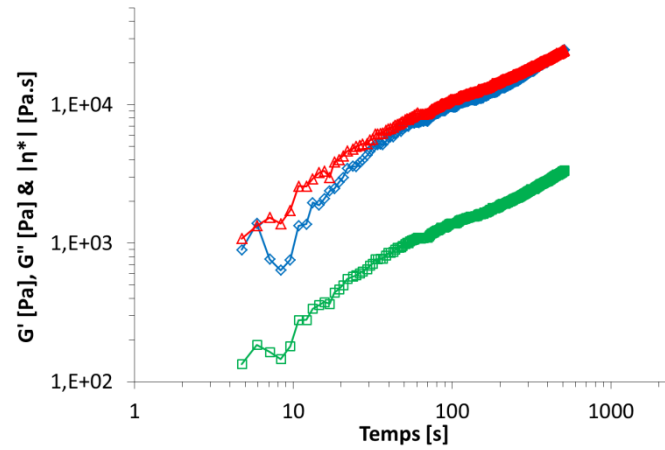
- après extrusion directe (échantillon Z20Gly_EBV, tel que sur la figure précédente pour comparaison au produit pulvérulent, Fig. III.14) ici reporté seul où l'on constate que le fondu est obtenu rapidement ($G'' > G'$ initialement), puis la réticulation apparaît après environ 400 à 500 s (croisement $G'-G''$, Fig. III.15-a),

- après 5 min de recirculation (échantillon Z20Gly_EBV_5min), avec un module G' initialement proche de G'' (de 3 à 4.10^3 Pa), mais évoluant à des valeurs supérieures, sans l'obtention d'un réel état fondu (Fig. III.15-b),

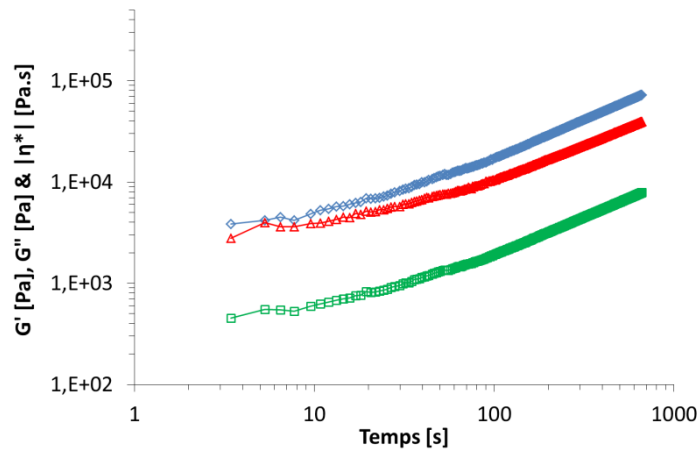
- après 10 min de recirculation (échantillon Z20Gly_EBV_10min), où une structure réticulée donne des valeurs de G' ($\approx 2,5.10^5 \text{ Pa}$) très supérieur à G'' (Fig. III.15-c).

Cette étude de l'évolution du comportement rhéologique de la zéine plastifiée montre que contrairement aux thermoplastiques de référence (PLA et ABS), sa fenêtre de mise en œuvre sera limitée par une agrégation pouvant aller jusqu'à la gélification. Nous allons maintenant étudier plus en détail ce mécanisme.

a-



b-



c-

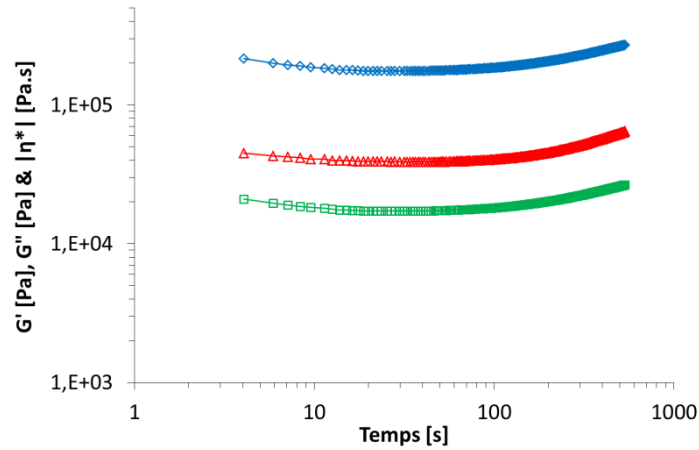


Figure III.15. Propriétés rhéologiques de matériaux extrudés en micro-mélangeur bi-vis à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol, pour différents temps de séjour à 130°C, dont le comportement rhéologique est évalué en rhéomètre préchauffé à 130°C : échantillon après extrusion directe, Z20Gly_EBV (a-) ; après 5 min de recirculation, Z20Gly_EBV_5min (b-) et après 10 min de recirculation, Z20Gly_EBV_10min (c-). Déformation fixée à $\gamma_0 = 0,7\%$ et fréquence angulaire à $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$. Notations : G' ([Pa], \diamond), G'' ([Pa], \triangle) et $|\eta^*|$ ([Pa.s], \square)

III.2.3. Agrégation et évolution de la structure moléculaire de la zéine

III.2.3.1. Structure prismatique de la protéine

Comme nous l'avons évoqué au chapitre I, les macromolécules de zéine- α de type « Z22 », ($\overline{M}_w = 22\text{kDa}$) s'organisent selon une structure prismatique de dimensions $13 \times 3 \times 1.2 \text{ nm}^3$.

Cette structure proposée dans la littérature (Matsushima *et al.*, 1997) peut être mise en évidence par diffraction des rayons-X aux grands angles (WAXS) : Pour la zéine commerciale brute sous forme pulvérulente, on observe des épaulements à deux distances typiques caractéristiques de la zéine, à $4,5\text{\AA}$ et $9,5 \text{ \AA}$ (Fig. III.16-a) qui correspondent respectivement aux squelettes en hélices- α de la zéine et aux arrangements inter-hélices intervenant dans la structure prismatique qui se maintiennent dans le matériau (Wang *et al.*, 2005 ; Oliviero *et al.*, 2010), pour une structure globalement amorphe retrouvée après extrusion (sans pic marqué sur les diffractogrammes).

Cette structure n'est pas modifiée lors d'une extrusion sous forme de filaments après ajout de 20% de glycérol (Z20Gly_EBV, Fig. III.16-a). Ce résultat est confirmé pendant le suivi réalisé à partir du même matériau initial, Z20Gly depuis l'état pulvérulent, jusqu'à l'obtention d'un fondu puis son maintien jusqu'au point de gel à 130°C ($t=50 \text{ min}$ à 130°C dans le cas présent) en cellule chauffante adaptée sur le banc de diffraction des rayons X aux grands angles (WAXS) (Fig. III.16-b).

La zéine, même plastifiée, n'est donc pas un polymère thermoplastique classique. Cette stabilité de la structure prismatique pourrait expliquer le comportement rhéologique de type polymère non enchevêtré observé pour des temps de séjour courts. Par ailleurs, cela suggère que le mécanisme d'agrégation fait intervenir des interactions covalentes ou non-covalentes entre les faces de deux prismes.

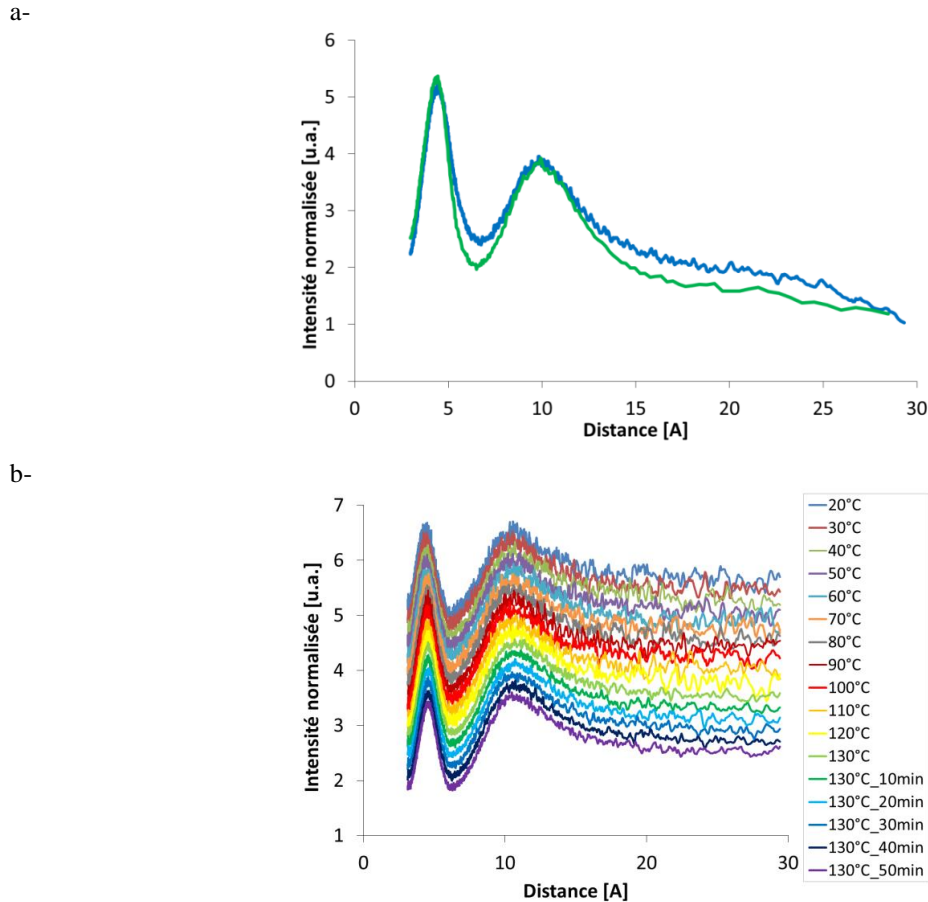


Figure III.16. Résultats obtenus en diffraction des rayons X aux grands angles (WAXS) pour le mélange pulvérulent de zéine commerciale brute avec 20% de glycérol comme plastifiant (Z20Gly) et après extrusion directe en micro-mélangeur bi-vis à 130°C (Z20Gly_EBV, $\varnothing_{\text{filament}} \approx 2\text{mm}$). Notations : Z20Gly (—) et Z20Gly_EBV (—) (a-). Z20Gly suivi depuis l'état initial pulvérulent, jusqu'à l'obtention de l'état fondu et maintien jusqu'au point de gel à 130°C - $t_{130^\circ\text{C}}=50\text{min}$ - en cellule chauffante montée sur le banc de diffraction de rayons X aux grands angles (WAXS) (b-)

III.2.3.2. Tests de solubilités

La zéine commerciale brute et le mélange Z20Gly pulvérulent sont solubles dans une solution éthanol/eau (70/30 vol.) (cf. Annexe 5). Par contre, les échantillons collectés après des temps de séjours importants à l'état fondu (après 10 min de recirculation dans le micro-mélangeur), ou après le croisement $G'-G''$ dans le rhéomètre oscillatoire (étape V-, Fig. III.8) ne sont pas solubles dans la solution aqueuse d'éthanol, à cause de la formation de réticulations dans le matériau.

Pour réaliser la caractérisation des masses moléculaires par électrophorèse (SDS-PAGE) et chromatographie (HPSEC), les échantillons ont été solubilisés dans un tampon contenant du SDS. Cette solubilité très supérieure des échantillons transformés en présence d'un tensio-actif tel que le SDS, alors qu'ils sont insolubles dans une solution aqueuse d'éthanol, permet de penser que des liaisons non-covalentes participent à la formation d'un réseau à haute température et jouent un rôle significatif dans le phénomène de gélification de la zéine plastifiée.

Cela pourrait expliquer l'accélération de la gélification au cours de l'extrusion, en conduisant à une dénaturation importante des protéines et favorisant l'agrégation non-covalente.

III.2.3.3. Détermination des masses moléculaires

Pour confirmer les mécanismes d'agrégation de la zéine plastifiée, des électrophorèses SDS-PAGE ont été réalisées en conditions normales et en présence d'un composé réducteur (Fig. III.17-a et -b, respectivement).

Le mélange initial pulvérulent Z20Gly présente deux « monomères » typiques des bandes de zéine- α avec une masse moléculaire comprise entre 20 et 25 kDa comprenant de nombreux variants génétiques (pics entre 22 et 38 min d'élution en HPLC en phase inversée, tel que décrit par Dombrink-Kurtzman et Bietz, 1993) (Fig. III.18 ; cf. Annexe 4). Leurs « dimères » à environ 45 kDa, ou même des « tétramères » sont aussi observables sur les électrophorégrammes.

Comme attendu pour la zéine commerciale, des traces de zéines- γ ($\overline{M}_w = 50, 27$ et 16 kDa), - β ($\overline{M}_w = 15$ et 17 kDa) et - δ ($\overline{M}_w = 10$ kDa) peuvent être observées. Néanmoins, bien que ces autres types de zéines soient minoritaires, ils peuvent contenir jusqu'à 7,4 % de cystéine (pour les zéines de type γ), ce qui peut jouer un rôle dans la formation de réticulations de type ponts disulfure.

Pour des temps de séjour faibles, les masses moléculaires évoluent peu avec une très faible bande sur la partie supérieure du gel correspondant au matériau au minimum de viscosité en rhéomètre oscillatoire (Fig. III.17-a ; de la piste « C » à « E », correspondant à l'échantillon prélevé à l'étape IV- au minimum de viscosité, Fig. III.8). Néanmoins, l'échantillon collecté au croisement G'-G'' (étape V-, Fig. III.8), sur la piste « F », montre une large bande de très hautes masses moléculaires ($\overline{M}_w > 120$ kDa).

Quand un composé réducteur est ajouté aux solutions avant leur dépôt sur les gels d'électrophorèse SDS-PAGE, ces bandes disparaissent (Fig. III.17-b). Ces résultats montrent qu'en dépit d'une très faible teneur en cystéine dans la zéine commerciale (essentiellement constituée de zéine- α), la formation de liaisons S-S a un rôle non négligeable dans la réticulation du matériau, avec la formation d'agrégats covalents de très hautes masses moléculaires (Tableau III.3).

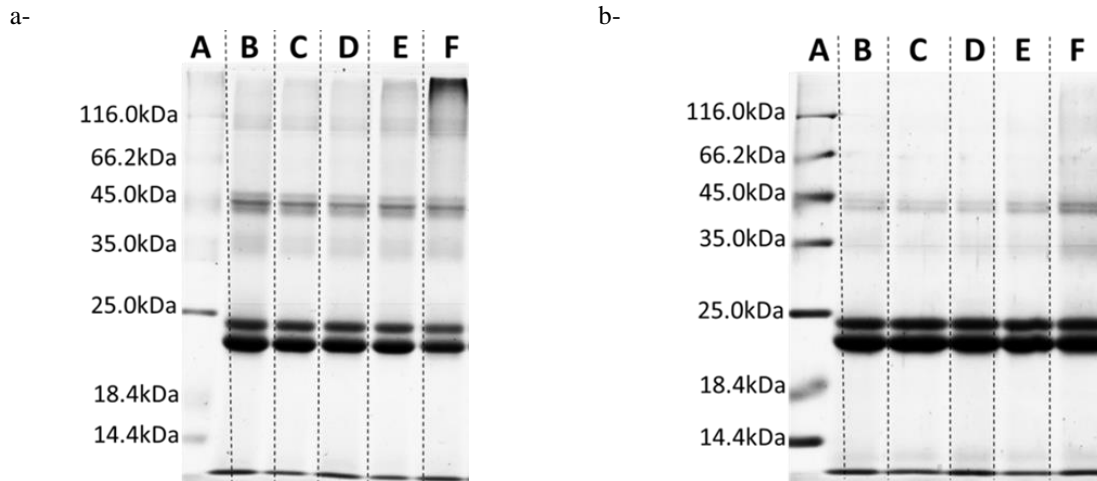


Figure III.17. Electrophorégramme obtenu en SDS-PAGE en conditions normales, sans agent réducteur (a-) :

Piste A : Marqueurs de masses moléculaires,

B : Mélange pulvérulent initial, Z20Gly (étape I-, Fig.III.8),

C : Z20Gly pendant le chauffage, au début de l'obtention d'un fondu à $G'' > G'$ en rhéométrie dynamique (à $T \approx 80^\circ\text{C}$; étape II-, Fig.III.8),

D : Z20Gly à $t=0\text{s}$ au plateau en température en rhéométrie dynamique ($T=130^\circ\text{C}$; étape III-, Fig.III.8),

E : Z20Gly à l'obtention du fondu (viscosité minimale) au plateau en température ($T=130^\circ\text{C}$; étape IV-, Fig.III.8),

F : Z20Gly au point de gel, après 40min à $T=130^\circ\text{C}$ (croisement $G'-G''$; étape V-, Fig.III.8).

Electrophorégramme obtenu en SDS-PAGE en conditions réductrices, avec 3 % β -mercaptoéthanol ajoutés aux solutions avant dépôt sur gel (b-) :

Piste A : Marqueur de masses moléculaires,

B : Mélange pulvérulent initial, Z20Gly (étape I-, Fig.III.8),

C : Z20Gly pendant le chauffage, au début de l'obtention d'un fondu à $G'' > G'$ en rhéométrie dynamique (à $T \approx 80^\circ\text{C}$; étape II-, Fig.III.8),

D : Z20Gly à $t=0\text{s}$ au plateau en température en rhéométrie dynamique ($T=130^\circ\text{C}$; étape III-, Fig.III.8),

E : Z20Gly à l'obtention du fondu (viscosité minimale) au plateau en température ($T=130^\circ\text{C}$; étape IV-, Fig.III.8),

F : Z20Gly au point de gel, après 40min à $T=130^\circ\text{C}$ (croisement $G'-G''$; étape V-, Fig.III.8)

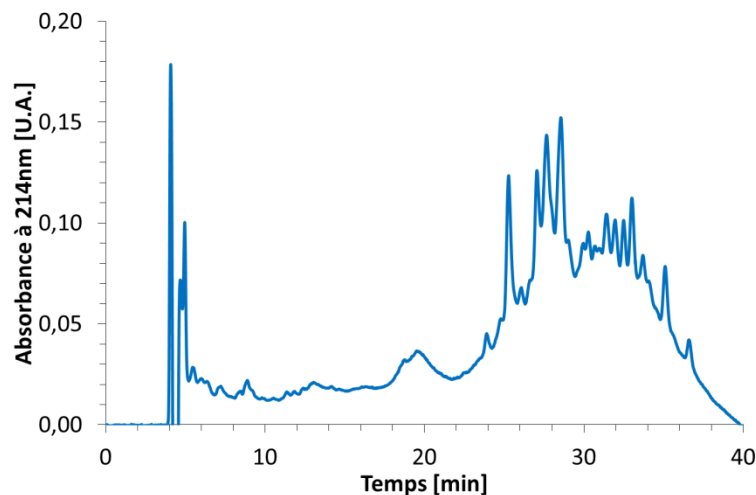


Figure III.18. Zéine commerciale brute caractérisée en HPLC en phase inversée

Les changements structuraux de la zéine peuvent être évalués plus précisément par chromatographie (HPSEC) en conditions normales et réductrices (Fig. III.19-a et -b, respectivement) pour l'échantillon Z20Gly initial à l'état pulvérulent (étape I-, Fig. III.8) et pour des fondus prélevés aux étapes IV- et V- (Fig. III.8).

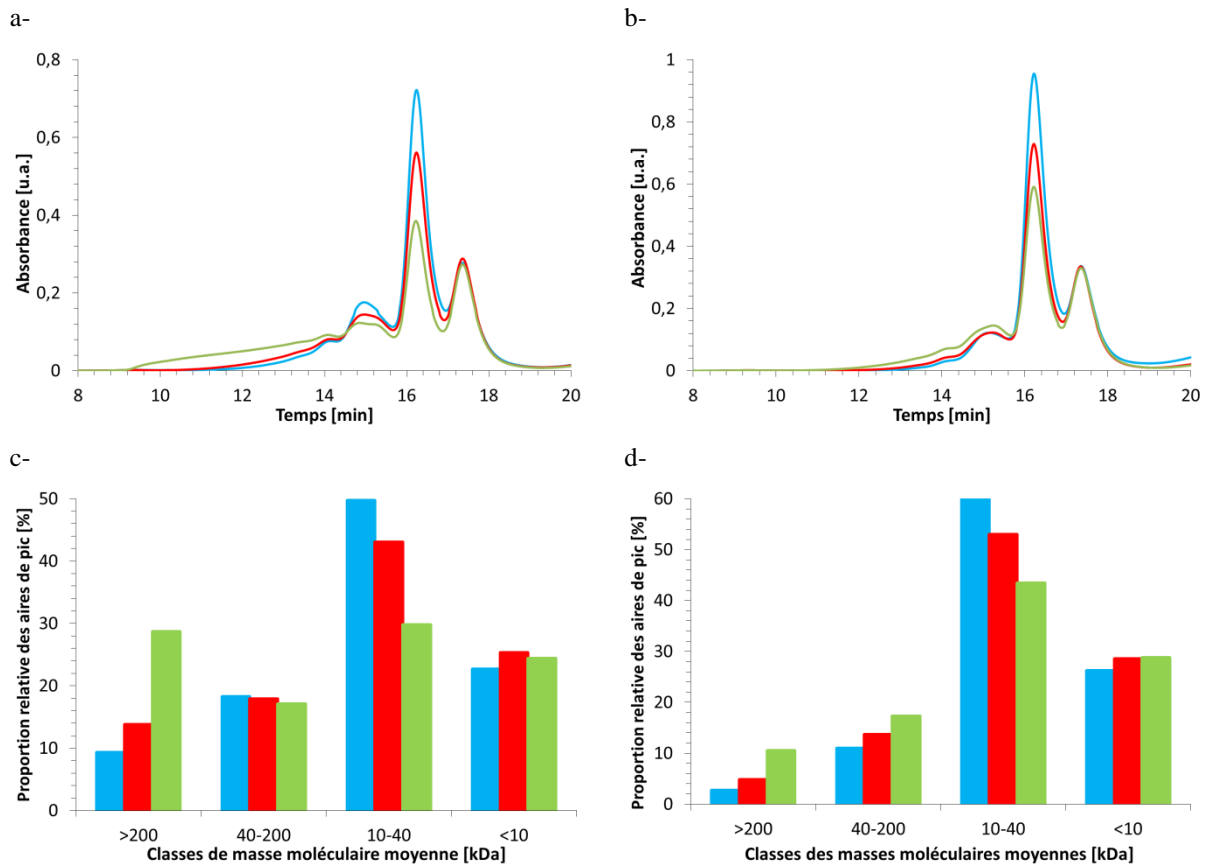


Figure III.19. Résultats obtenus en HPSEC (gel filtration). Eluogrammes en conditions normales (a-) et réductrices (+1% DTT en solution, b-) : mélange Z20Gly initial pulvérulent (étape I-, Fig.III.8; —); à l'obtention complète du fondu au plateau en température en rhéométrie dynamique (viscosité minimale, étape IV-, Fig.III.8; —); au point de gel après 40 min à T=130°C (étape V-, Fig.III.8; —). Représentation des aires de pic relatives à différents temps de rétention caractéristiques (<14,5 min; 15,1 min; 16,2 min et 17,4 min) correspondant aux classes de masse moléculaires décroissantes (>200kDa; 40-200kDa; 10-40kDa et <10kDa, respectivement) en conditions normales (c-) et réductrices (d-)

Quatre zones peuvent être définies sur les chromatogrammes : (i) de 0 à 14,5 min de temps de rétention, (ii) au pic centré à 15,1 min, (iii) au pic centré à 16,2 min et (iv) à 17,4 min. L'attribution des classes de masses moléculaires pour chaque temps de rétention se fait par comparaison aux électrophorégrammes obtenus en SDS-PAGE (Fig. III.19) et les standards élués dans des conditions similaires. Leur proportion respective est évaluée pour chaque chromatogramme en conditions normale et réductrices (Fig. III.19-c et -d, respectivement ; Tableau III.3) :

- La fraction $\overline{M}_w > 200$ kDa correspond aux agrégats réticulés avec de hautes masses moléculaires. Ces agrégats sont essentiellement obtenus après un temps de séjour important, jusqu'à un point de gel dans le rhéomètre à 130°C

- La fraction $40 \leq \overline{M}_w \leq 200$ kDa qui représente 15 à 20% de l'ensemble des molécules des chromatogrammes, correspondant principalement aux agrégats de deux zéines- α que l'on retrouve dans la zéine commerciale initiale (« dimères », équivalent à des masses moléculaires moyennes \overline{M}_w de 40 à 45 kDa, piste « B » Fig. III.17) et aussi quelques rares agrégats de quatre zéines- α (« tétramères », équivalent à des masses moléculaires moyennes \overline{M}_w de l'ordre de 100 kDa)

- La fraction $10 \leq \overline{M}_w \leq 40$ kDa qui correspond à des proportions importantes de zéines- α , avec principalement des masses moléculaires moyennes \overline{M}_w entre 20 et 25 kDa, retrouvées dans les zéines non-transformées. Cette fraction représente environ 50 à 60 % de l'ensemble des molécules en conditions réductrices ou non en HPSEC pour la zéine brute (Fig. III.19-c et -d) et dans les échantillons collectés pendant les essais rhéologiques à 130°C (pistes « E » et « F » ; Fig. III.17)

- La fraction $\overline{M}_w < 10$ kDa (au bas des gels de SDS-PAGE, Fig. III.17), représentant les molécules aux plus petites masses moléculaires. Ces bandes peuvent correspondre à différentes protéines résiduelles, ainsi que des zéines- δ ou même certains pigments (Anderson et Lamsal, 2011).

La zéine commerciale brute est principalement composée de « monomères » de zéines- α . La quantité de ces molécules de faibles masses moléculaires décroît avec le temps de séjour à l'état fondu à 130°C, alors qu'une proportion croissante d'agrégats protéiques est observée. Au minimum de viscosité (étape IV-, Fig. III.8), la quantité d'agrégats est de 14% par rapport à l'ensemble des molécules représentées sur le chromatogramme. Cette proportion augmente jusqu'à 30% au point de gel (croisement $G'-G''$; étape V-, Fig. III.8), Fig III.19-c.

Pour les échantillons collectés au point de gel, l'ajout de DTT avant HPSEC diminue d'environ 10,5 % la quantité d'agrégats de hautes masses moléculaires, grâce à la réduction des ponts disulfure. Ce résultat indique que ce sont ces liaisons qui maintiennent une large proportion d'agrégats dans le matériau au point de gel. Néanmoins, quelques agrégats restent non sensibles à la présence d'agent dénaturant (SDS) ou de composé réducteur (DTT). C'est généralement le cas pour des temps de séjour importants dans le rhéomètre à 130°C, jusqu'au point de gel après 40 min. Une large trainée est observable en SDS-PAGE, typique de molécules couvrant une large gamme de masses moléculaires, même après ajout de β -mercaptoéthanol (piste « F », Fig. III.17-b). Ce résultat suggère que certaines liaisons dans les agrégats ne semblent pas accessibles aux composés dénaturant ou réducteur, ou que les réticulations de type ponts disulfure ne sont pas les seuls types de liaisons covalentes intermoléculaires formées durant la transformation de la zéine à l'état fondu conduisant à la gélification.

Tableau III.3. Synthèse des résultats obtenus pour la zéine plastifiée par 20% glycérol initialement à l'état pulvérulent, Z20Gly : Température de transition vitreuse, propriétés rhéologiques et caractérisation moléculaire. Depuis le mélange (zéine+glycérol), jusqu'à l'obtention du point de gel des fondus à T=130 °C en rhéomètre oscillatoire (régime dynamique à $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$) : T_g, déterminée par AED (deuxième chauffage à 3°C.min⁻¹) et évolution structurale caractérisée par électrophorèse (SDS-PAGE) et chromatographie (HPSEC par filtration sur gel) en conditions normales et réductrices (proportions moyennes calculées pour chaque classe de masses moléculaires)

Etape en rhéomètre oscillatoire	T _g [°C]	η^* [kPa.s]	tan δ [-]	Caractérisation moléculaire		
				SDS-PAGE* -conditions normales-	HPSEC -conditions normales-	HPSEC -conditions réductrices-
Mélange pulvérulent initial : Z20Gly (étape I-, Fig.III.8)	41,9	-	-	Absence de réticulation	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 9,3 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 18,3 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 49,7 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 22,7 %	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 2,7 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 11,0 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 60,1 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 26,2 %
Pendant le chauffage, à l'apparition de l'état fondu (G'' > G' à T ≈ 80°C ; étape II-, Fig.III.8)	41,3	6,2	= 1	Absence de réticulation	-	-
Au début du plateau à T=130°C (étape III-, Fig.III.8)	41,5	13,0	> 1 (1,3)	Absence de réticulation	-	-
A l'obtention complète du fondu (viscosité minimale) pendant le plateau en température à T=130°C (étape IV-, Fig.III.8)	41,4	2,9	> 1 (1,6)	Faibles traces aux hautes masses moléculaires	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 13,8 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 17,9 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 43,1 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 25,2 %	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 4,8 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 13,7 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 53,0 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 28,5 %
Au point de gel, après 40 min à T=130°C (croisement G'-G'' ; étape V-, Fig.III.8)	41,9	5,0	= 1	Réticulation	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 28,7 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 17,1 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 29,8 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 24,4 %	$\overline{M}_w > 200\text{kDa}$: 10,5 % 40 ≤ \overline{M}_w ≤ 200kDa: 17,3 % 10 ≤ \overline{M}_w ≤ 40kDa: 43,4 % $\overline{M}_w < 10\text{kDa}$: 28,8 %

*N.B. : Quel que soit le stade de caractérisation par SDS-PAGE du matériau, aucune réticulation (bande aux très hautes masses moléculaires) n'est visible en conditions réductrices après ajout de β -mercaptoéthanol aux solutions déposées sur les gels

La figure III.20 montre les différents types de réactions dans les protéines pouvant conduire à une réticulation par des liaisons covalentes (Stadtman et Levine, 2003). Dans le cas de la zéine, des ponts peuvent potentiellement apparaître entre des résidus tyrosine (Corradini *et al.*, 2014), ou par déamidation des résidus glutamine notamment. Ceci a été reporté pour la zéine en solution dans des mélanges éthanol/eau, avec la viscosité dynamique en cisaillement diminuant suite à une déamidation sans oligomérisation, ni polymérisation (Zhang *et al.*, 2011). Nous avons cherché, en vain, à mettre en évidence ces types de liaisons covalentes dans nos échantillons ou de réticulations entre chaînes latérales des acides aminés présents dans la structure primaire de la zéine. Ces investigations sont présentées dans les Annexes 6, 7 et 8.

Cette absence d'évidence de réticulation covalente autre que les ponts disulfures (dont la quantité est limitée du fait de la faible teneur en résidus cystéine de la zéine), suggère que la réticulation du matériau est principalement due à la formation d'agrégats non-covalents. Ces agrégats non-covalents, souvent réversibles, sont maintenus par des liaisons de faibles énergies de type interactions de Van der Waals (interactions électrostatiques entre multipôles, $E_{interaction}=2-15$ kJ/mol), liaisons hydrogène (électronégativité dipôle-dipôle, $E_{interaction}=10-40$ kJ/mol) et interactions hydrophobes (entre molécules non polaires, peu polarisables, $E_{interaction}=20-30$ kJ/mol) (Mahler *et al.*, 2009). Ils peuvent donc facilement être « activés » lors d'un traitement thermomécanique, conduisant à la dénaturation de la structure des protéines. Cela expliquerait la diminution du temps de gel pour les échantillons extrudés (Fig. III.14 et Fig. III.15).

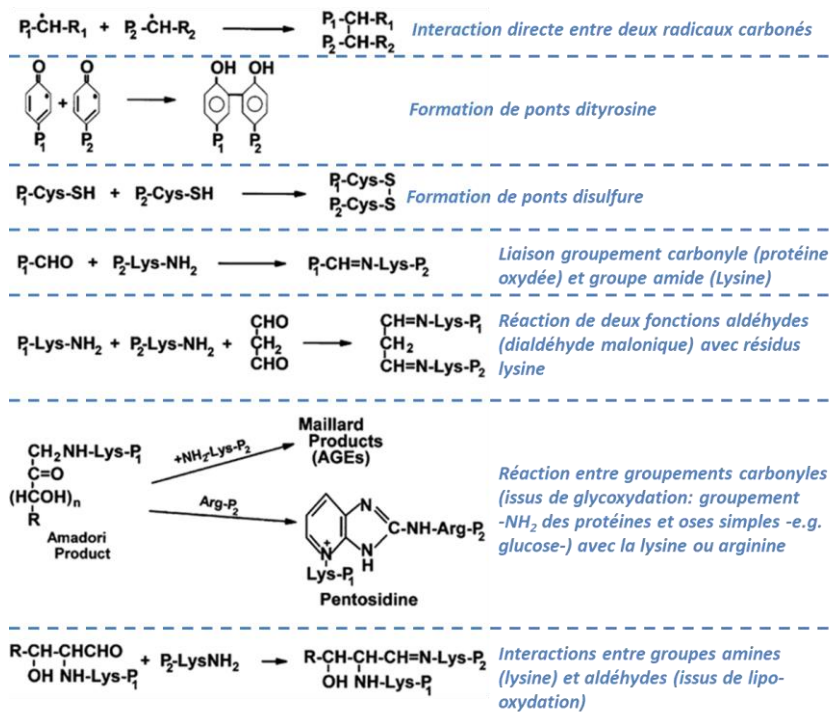


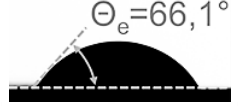
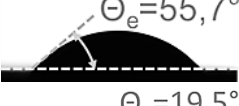

Figure III.20. Réticulations possibles par liaisons covalentes entre protéines, ou acides aminés, d'une même protéine (d'après Stadtman et Levine, 2003)

III.3. Tension de surface de la zéine plastifiée

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre I, la tension de surface à l'état fondu est une propriété importante dans le procédé FA-DFF. En principe, des mesures sont possibles par la méthode de la goutte pendante (Cazaux *et al.*, 2015), mais cela nécessite que le matériau ne présente pas d'évolution en fonction du temps de séjour à l'état fondu. Dans le cas de la zéine, nous venons de voir que la structure macromoléculaire est très sensible au temps de séjour. Pour cette raison, nous avons choisi de procéder à des mesures d'énergie libre de surface à l'état solide, puis à l'extrapolation d'une valeur de tension de surface à l'état fondu.

Les énergies libres de surface sont relativement faibles dans le cas des polymères, typiquement inférieures à 45 mJ.m^{-2} , ou exprimées en $[\text{mN.m}^{-1}]$ dans l'hypothèse de l'équivalence avec une tension de surface (Owens et Wendt, 1969) et leurs tensions de surface à l'état fondu évoluent relativement peu avec la température (Sun *et al.*, 2008 ; Du *et al.*, 2016-b). Des mesures sont réalisées à la température ambiante sur des pastilles d'un matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol, Z20Gly_PTM. La méthode de la goutte posée sur des pastilles thermomoulées lisses est utilisée, pour 3 liquides présentant des tensions de surface et des composantes polaires et dispersives différentes (Tableau III.4).

Tableau III.4. Caractéristiques des liquides utilisés pour les mesures d'énergie libre de surface du matériau solide (gouttes sessiles déposées à température ambiante). Exemple d'images après dépôt des liquides sur des pastilles thermomoulées lisses à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol (Z20Gly_PTM) et détermination des angles de contact à l'équilibre, θ_e [°].

Liquide déposé	Tension de surface γ_{LV} [mN.m^{-1}]	Composante dispersive γ_{LV}^d [mN.m^{-1}]	Composante Polaire γ_{LV}^p [mN.m^{-1}]	Densité [-]	Goutte sessile et détermination de l'angle de contact, θ_e [°]
Eau	72,8	26,0	46,8	0,998	 $\theta_e = 66,1^\circ$
Ethylène glycol	47,7	26,4	21,3	1,109	 $\theta_e = 55,7^\circ$
Ethanol	22,1	17,5	4,6	0,789	 $\theta_e = 19,5^\circ$

Les résultats obtenus sur le matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol montrent une évolution de l'angle de contact avec la tension de surface des liquides proche de celle de mesures reportées dans la littérature sur des matériaux issus de résines à base de zéine plastifiée par des sucres (Fig. III.21 ; Ghanbarzadeh *et al.*, 2007). La tension de surface critique d'un liquide peut être extrapolée, $\gamma_{LVc} = 13,3 \text{ mN.m}^{-1}$, en deçà de laquelle l'étalement sera total sur la surface solide du matériau (Tableau III.5). Elle est proche de celle reportée pour la zéine plastifiée par du glucose et du galactose, à $\gamma_{LVc} = 11$ et 13 mN.m^{-1} , respectivement (Ghanbarzadeh *et al.*, 2007).

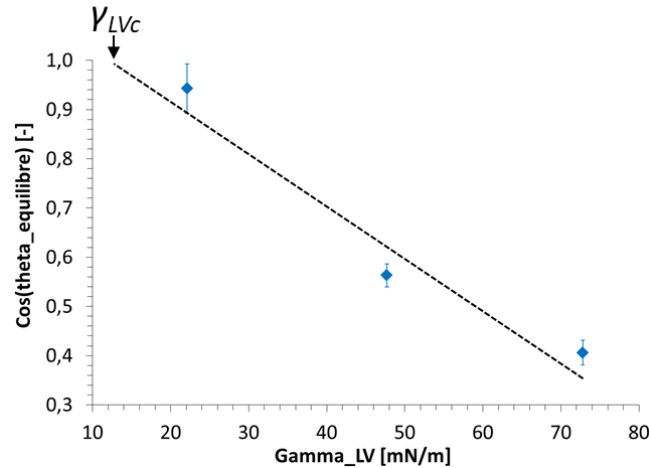


Figure III.21. Suivi de l'angle de contact à l'équilibre, θ_e , de gouttes déposées sur une pastille thermomoulée de zéine plastifiée (Z20Gly_PTM ; $\varnothing_{\text{pastille}}=16\text{mm}$) : Représentation de l'évolution de $\cos(\theta_e)$ [-] en fonction de la tension de surface du liquide déposé : $\gamma_{LV_{\text{eau}}} = 72,8 \text{ mN.m}^{-1}$; $\gamma_{LV_{\text{éthylène_glycol}}} = 47,7 \text{ mN.m}^{-1}$ et $\gamma_{LV_{\text{éthanol}}} = 22,1 \text{ mN.m}^{-1}$. Extrapolation à la tension de surface critique d'un liquide présentant un étalement complet : $\gamma_{LVc} = 13,3 \text{ mN.m}^{-1}$

L'énergie libre de surface de la zéine plastifiée à l'état solide (assumée équivalente à une tension de surface) est de $\gamma_{SV} = 39,2 \pm 1,6 \text{ mN.m}^{-1}$ à l'ambiante (avec une composante dispersive à $\gamma_{SV}^d = 4,2 \pm 0,4 \text{ mN.m}^{-1}$ et polaire à $\gamma_{SV}^p = 35,0 \pm 1,2 \text{ mN.m}^{-1}$). Cette tension de surface est comparable à celles du PLA: $\gamma_{SV} = 43 \text{ mN.m}^{-1}$ (Biresaw & Carriere, 2002) et de l'ABS : 42 mN.m^{-1} (Du *et al.*, 2016-b).

Tableau III.5. Résultats des mesures de tensions de surface de la zéine plastifiée par 20% de glycérol à l'état solide à température ambiante (déterminées sur pastilles thermomoulées, Z20Gly_PTM)

Tension de surface critique d'un liquide déposé sur cette surface solide, γ_{LVc} [mN.m ⁻¹]	Tension de surface du solide γ_{SV} [mN.m ⁻¹]	Composante dispersive du solide γ_{SV}^d [mN.m ⁻¹]	Composante polaire du solide γ_{SV}^p [mN.m ⁻¹]
13,3	$39,2 \pm 1,6$	$4,2 \pm 0,4$	$35,0 \pm 1,2$

La tension de surface des polymères diminue faiblement et de façon quasi-linéaire avec la température, depuis l'état solide à l'ambiante, jusqu'à l'obtention d'un fondu (franchissement T_g , ou T_m) et au-delà pour des températures supérieures (Fig. III.22). Pour des polymères synthétiques tels que le polyéthylène (PE), le polystyrène (PS) et le polypropylène (PP), elle diminue avec la température de l'ordre de $d\gamma/dT = -0,04$ à $-0,05 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, en suivant la loi d'Eötvös, depuis l'ambiante (Kwok *et al.*, 1998). Pour le PS fondu à 190°C , par exemple, on retrouve des valeurs de l'ordre de $\Gamma_{\text{fondu}}=25$ à 26 mN.m^{-1} (Kwok *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 2010), pour des valeurs à l'ambiante reportées de l'ordre de 35 mN.m^{-1} . Des évolutions similaires, $d\gamma/dT \approx -0,05 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, avaient précédemment été reportées dans la littérature pour ces polymères synthétiques (amorphes -*e.g.*, PS; Wu, 1970-, ou semi-cristallins -*e.g.*, PE; Wu, 1969 -).

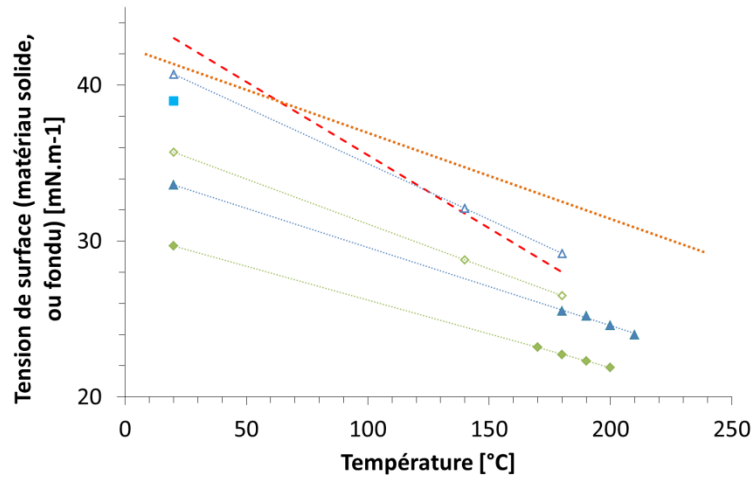


Figure III.22. Evolution de la tension de surface de matériaux à l'état solide (assumé équivalente à leur énergie libre de surface) ou fondu. Notations: PE (...◆...; d'après Kwok *et al.*, 1998), PS (...▲..., d'après Kwok *et al.*, 1998 et Yang *et al.*, 2010), PE (...◇...; d'après Wu, 1969), PS (...△..., d'après Wu, 1970), PLA (---, d'après Biresaw et Carriere, 2002 et Dil *et al.*, 2016), ABS (...▲..., d'après Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008 et Du *et al.*, 2016-b) et zéine+20% glycérol (Z20Gly_PTM, ■)

Dans le cas du PLA, des valeurs ont été reportées à haute température à $\Gamma_{\text{fondu}} = 28 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, pour $T = 180 \text{ }^{\circ}\text{C}$, proche de la température d'impression 3D en FA-DFF (Dil *et al.*, 2016). Cela représente une évolution de l'ordre de $d\gamma/dT = -0,09 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ depuis l'ambiante ($\gamma_{SV_PLA} \approx 43 \text{ mN.m}^{-1}$ à $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$; Biresaw et Carriere, 2002). Pour l'ABS, les valeurs reportées sont de l'ordre de $\Gamma_{\text{fondu}} = 29 \text{ mN.m}^{-1}$ à $240 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008), pour une valeur de l'ordre de 42 mN.m^{-1} à l'ambiante (Du *et al.*, 2016-b). Ceci représente une évolution de la tension de surface depuis l'ambiante de l'ordre de $d\gamma/dT = -0,06 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$. En appliquant une estimation de la tension de surface aux matériaux à base de zéine plastifiée sur la base des mesures réalisées à l'ambiante et des travaux présentés dans la littérature pour les polymères synthétiques ($d\gamma/dT = -0,05 \text{ mN.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ en première approximation), on obtient une valeur de la tension de surface estimée à $\gamma_{SV_130^{\circ}\text{C}} = \Gamma_{\text{zéine_plastifiée}} \approx 34 \text{ mN.m}^{-1}$ à 130°C .

III.4. Conclusions : Adéquation de la zéine plastifiée par le glycérol au cahier des charges FA-DFE

Cette étude des formulations à base de zéine commerciale et de glycérol nous a conduit à sélectionner **un taux de glycérol de 20%, de manière à obtenir un matériau à la fois suffisamment rigide à température ambiante et fluide à une température de mise en œuvre de 130 °C**, inférieure à la température d'évaporation du plastifiant. Les caractérisations réalisées sur la zéine plastifiée par 20% de glycérol permettent de montrer que **pour des temps de séjour courts à l'état fondu, ce matériau présente des caractéristiques proches de celles de l'ABS et du PLA** au regard du cahier des charges matière établi au chapitre I. L'ensemble des critères semble être vérifié d'après le Tableau III.6 ci-dessous.

Néanmoins, du fait de **l'agrégation des macromolécules de zéine**, l'augmentation de la viscosité à l'état fondu dans le temps est de nature à modifier l'ensemble des critères où cette grandeur intervient. De plus, la réticulation du matériau conduisant à un comportement de gel empêchant l'écoulement peut intervenir pour des temps de séjour inférieurs à 5 minutes à 130 °C.

A notre connaissance, il n'existe pas de données sur le temps de séjour à la température d'impression dans le procédé FA-DFE, car celui-ci dépend *a priori* fortement des conditions de dépôt de matière. Pour cette raison nous avons choisi de consacrer le chapitre IV à **l'étude du comportement de la zéine plastifiée par le glycérol dans les conditions du procédé, afin de valider ou non la compatibilité du matériau avec la FA-DFE**.

L'étude de l'évolution des masses moléculaires montre que **la formation de ponts disulfure** par les résidus cystéine, pourtant peu présents dans la zéine (moins de 1%), joue un rôle important dans la cinétique d'agrégation. Il semble aussi que **l'agrégation non-covalente** ait un rôle déterminant. Cela a pour effet de rendre le **temps de gel sensible au traitement thermomécanique** du matériau. Par ailleurs, cela nous permet de faire l'hypothèse que **la nature du plastifiant, ou l'ajout d'additifs, sont susceptibles de modifier cette agrégation**. Pour cette raison, nous étudierons l'influence d'autres plastifiants que le glycérol au chapitre V.

Tableau III.6. Comparaison des principales propriétés thermo-physiques et rhéologiques de la zéine plastifiée par 20% glycérol et de polymères thermoplastiques standards en FA-DFF -sur la base de résultats présentés dans ce Chapitre III, ou cf. Chapitre I pour certains critères et propriétés définies pour les polymères standards-

Propriété	Z20Gly	ABS	PLA*
Température de transition vitreuse, T_g [°C]	42	95 - 120	55 ($T_m \approx 150^\circ\text{C}$)
Température de mise en œuvre à l'état fondu [°C]	80 - 130 (état fondu dense)	<u>220 - 300</u> (FA-DFF)	<u>190 - 230</u> (FA-DFF)
Ecart par rapport à T_g [°C]	40 - 90	> 100	> 130
Temps maximal de mise en œuvre à l'état fondu [s]	400** - 2000*** ** à 130°C, après extrusion directe en micro-mélangeur *** à 130°C, à partir du produit pulvérulent	infini	infini
Module vitreux [GPa]	0,9	1,9	2,3
Température minimale pour $E' < 1\text{MPa}$ [°C]	80	165	155
$\Delta T_{E' < 1\text{MPa} - T_g}$ [°C]	40	45 - 70	100
Viscosité, η , à l'état fondu [kPa.s]	0,5 - 1 (à 130°C)	<u>0,1 - 1</u>	<u>0,1 - 1</u>
Rapport E/η [s^{-1}] -Critère : $E/\eta > 0,5 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ -	$0,9 \cdot 10^6 - 1,8 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^6$ - $1,9 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^6$ - $2,3 \cdot 10^7$
Tension de surface (fondu), Γ [$\text{N} \cdot \text{m}^{-1}$]	0,034 (estimée à 130°C)	<u>0,029</u>	<u>0,028</u>
Rapport η/Γ [$\text{s} \cdot \text{m}^{-1}$]	$1,5 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^3$ - $3,5 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^3$ - $3,6 \cdot 10^4$
Conductivité thermique, λ [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]	0,25 - 0,30 (estimée à 130°C)	<u>0,20 - 0,26</u>	<u>0,21</u>
Coefficient d'expansion thermique, CTE [K^{-1}]	$6 \cdot 10^{-5} - 7 \cdot 10^{-5}$	<u>$6 \cdot 10^{-5} - 10 \cdot 10^{-5}$</u>	<u>$6 \cdot 10^{-5} - 9 \cdot 10^{-5} \text{ K}^{-1}$</u>

* Le PLA présente des propriétés thermomécaniques liées à sa transition vitreuse mais aussi aux phénomènes de cristallisation et de fusion, pour ce polymère semi-cristallin. Les valeurs sont présentées à titre indicatif dans ce cas, la comparaison de la zéine plastifiée se faisant essentiellement avec le thermoplastique standard amorphe : l'ABS.

Chapitre IV : Comportement de la zéine plastifiée par le glycérol dans les conditions du procédé FA-DFE

Chapitre IV

Introduction

Dans ce chapitre, nous étudions le comportement de la zéine plastifiée dans les conditions du procédé FA-DFF. Le chapitre précédent ayant mis en évidence l'augmentation de la viscosité à l'état fondu avec le temps de séjour à la température de mise en forme, nous avons choisi de considérer deux étapes clef du procédé potentiellement impactées par cette propriété :

- l'alimentation/extrusion : comme nous l'avons vu au chapitre I, la capacité du matériau à alimenter le liquéfacteur et à être extrudé puis déposé couche-par-couche dépend essentiellement de son caractère thermoplastique, de sa viscosité η et du rapport E/η , E étant le module à l'état vitreux

- l'adhésion par soudage du matériau extrudé à la couche préalablement déposée. Comme nous l'avons vu aussi au Chapitre I, ce processus se produit dans des conditions fortement anisothermes, dans le procédé FA-DFF, du fait du refroidissement rapide de la matière à la sortie de la buse. A l'instar d'autres auteurs (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008 ; Bakrani Balani *et al.*, 2017), nous avons décidé d'aborder ce problème par l'approximation du frittage visqueux isotherme de deux filaments. Bien que nous éloignant des conditions réelles du procédé FA-DFF, cette approximation va nous permettre d'accéder au temps caractéristique de frittage visqueux, proportionnel au rapport η/Γ où Γ est la tension de surface, dans le domaine de températures subies par la matière dans le procédé. La connaissance de ce rapport nous permettra ensuite de simuler le phénomène pour des conditions non isothermes plus proches du procédé réel.

IV.1. Etape d'alimentation/extrusion

IV.1.1. Essai d'alimentation d'une imprimante FA-DFF standard

Les imprimantes FA-DFF actuellement les plus répandues fonctionnent selon le principe décrit au chapitre I. Nous avons choisi des conditions aussi proches que possible du procédé réel : des filaments de zéine plastifiée par 20% glycérol ayant un diamètre proche de 3 mm ont préalablement été obtenus à l'aide d'une extrudeuse mono-vis à 130°C (échantillon : Z20Gly_EMV ; EMS = 300 J.g⁻¹ ; débit matière fondue $Q = 2 \text{ g.min}^{-1}$). Cette configuration, typique de la préparation des filaments destinés à l'impression 3D, implique que le temps de séjour du matériau à l'état fondu dans l'extrudeuse soit non négligeable, ici environ 240 s. Dans le cas de la zéine, ce temps de séjour peut entraîner un début d'agréation en amont du procédé FA-DFF.

Les filaments extrudés viennent alimenter l'imprimante 3D, comme détaillé sur la figure IV.1. Pour une température du liquéfacteur fixée à 130°C, un fondu a pu être obtenu et déposé rapidement à partir du filament, au travers de la buse de l'imprimante 3D équipée d'une filière de 0,5 mm de diamètre et pour une vitesse de sortie de l'ordre de 10 mm.s⁻¹.

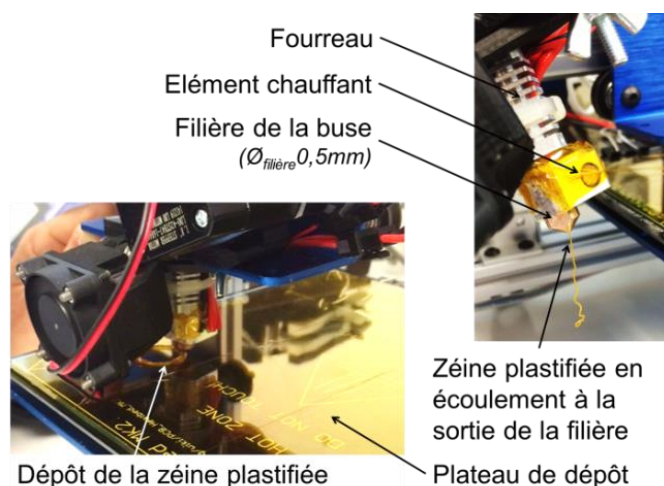


Figure IV.1. Essai de faisabilité de l'impression 3D FA-DFE de la zéine plastifiée par 20% glycérol en extrudeuse mono-vis à 130 °C, Z20Gly_EMV ($\text{\O}_{\text{filament}} \approx 3\text{mm}$) : écoulement et dépôt en sortie de buse à 130°C ($\text{\O}_{\text{filière}}=0,5\text{mm}$) et obtention du contour d'une pastille circulaire ($\text{\O}_{\text{pastille}}=20\text{mm}$)

Lorsque le dépôt a lieu en continu, l'alimentation et l'écoulement sont stables. Un programme de déplacement de la buse décrivant un cercle permet de réaliser un anneau de 20 mm de diamètre avec 2 couches superposées (contour d'une pastille, $\text{\O}_{\text{pastille}}=20\text{mm}$). L'objet obtenu est cohésif et possède des dimensions conformes au modèle. Nous avons ensuite pu caractériser l'état d'agrégation en entrée et en sortie de la buse.

Lorsque le dépôt est discontinu, ou que l'on arrête l'impression pendant quelques minutes, la matière stagne dans le fourreau du liquéfacteur, il devient impossible de l'extruder. La filière est colmatée par la matière solidifiée. Ce problème limite fortement la fenêtre d'ouvrabilité avec ce type de machine standard.

IV.1.2. Caractérisation moléculaire avant et après dépôt en FA-DFE

IV.1.2.1. SDS-PAGE

Des échantillons prélevés en amont (filaments extrudés en extrudeuse mono-vis, Z20Gly_EMV, $\text{\O}_{\text{filament}} \approx 3\text{mm}$), et après écoulement au travers de la filière de la buse de l'imprimante FA-DFE ont été caractérisés par SDS-PAGE avec des marqueurs de masses moléculaires, en l'absence d'agent réducteur et en conditions réductrices (Fig. IV.2-a et -b, respectivement).

Pour la zéine commerciale utilisée comme référence, on retrouve les caractéristiques précédemment observées (*cf.* Chapitre III, §III.2.3.3) : en conditions normales, sans agent réducteur, deux bandes sont obtenues entre 20 et 25kDa, caractéristiques de la zéine commerciale brute (piste B) composée majoritairement de zéines- α (Z19 et Z22). Des bandes sont visibles entre 35 et 45 kDa, certainement dues à des « dimères », puis des bandes de plus hautes masses moléculaires correspondant très probablement aux « tétramères ».

Pour les filaments extrudés en extrudeuse mono-vis à 130 °C (piste C), puis après passage au travers de la filière de l'imprimante 3D à la même température (piste D), on observe les mêmes bandes que la zéine brute dont ils sont issus (*i.e.*, « monomères » de zéine- α , « dimères » et « tétramères »), mais avec une proportion très importante de molécules aux plus hautes masses, ne rentrant pas dans le gel de séparation, indiquant la présence d'agrégats. Ces bandes sont absentes pour la zéine commerciale brute, non soumise à un traitement thermomécanique (piste B). Comme pour les échantillons prélevés lors des essais rhéologiques dynamiques (*cf.* Chapitre III, §III.2.3.3), les molécules de plus hautes masses formées dès l'étape d'extrusion de la zéine, et retrouvées après FA-DFF, sont en partie le résultat de l'oxydation thermique de groupements sulfhydriles -SH en ponts disulfure S-S (Madeka et Kokini, 1996 ; Selling, 2010 ; Selling et Utt, 2013). En effet, l'électrophorèse SDS-PAGE en conditions réductrices montre la disparition de ces molécules de masse élevée pour les pistes C et D (> 200 kDa, Fig. IV.2-b). Toutefois, comme discuté précédemment (*cf.* Chapitre III, §III.2.3.3), ces réticulations S-S ne sont pas possibles en très grande proportion, car la teneur en cystéine est relativement faible dans le cas des zéines- α (de l'ordre de 1 % de leur structure primaire). Elles pourraient aussi être dues à la présence en très faible quantité de zéines plus riches en cystéine, comme les zéines- δ (Anderson et Lamsal, 2011).

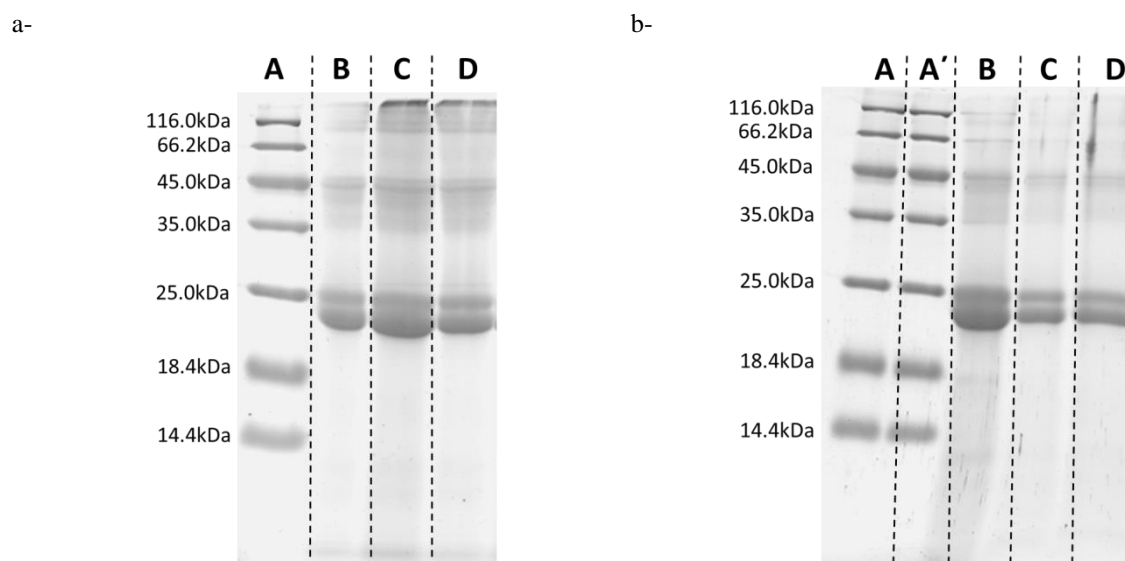


Figure IV.2. Electrophorégramme obtenu en SDS-PAGE en conditions normales, sans agent réducteur (a-) :
 Piste A : Marqueurs de masses moléculaires,
 B : Zéine commerciale brute,
 C : Filament à base de zéine plastifiée en extrudeuse mono-vis à 130°C, Z20Gly_EMV
 D : Filament à base de zéine plastifiée après passage au travers de la filière de la buse en FA-DFF à 130°C, Z20Gly_EMV_FA
 Electrophorégramme obtenu en SDS-PAGE en conditions réductrices, avec 3 % β -mercaptoéthanol ajoutés aux solutions avant dépôt sur gel (b-) :
 A et A' : Marqueurs de masses moléculaires,
 B : Zéine commerciale brute,
 C : Filament à base de zéine plastifiée en extrudeuse mono-vis à 130°C, Z20Gly_EMV
 D : Filament à base de zéine plastifiée après passage au travers de la filière de la buse en FA-DFF à 130°C, Z20Gly_EMV_FA

IV.1.2.2. HPLC en phase inversée

Les chromatogrammes obtenus par HPLC en phase inversée (*cf.* Annexe 4) sur le mélange pulvérulent montrent que la zéine commerciale avec ajout de 20% glycérol est composée majoritairement de zéines- α , avec des variants génétiques typiques illustrés par l'ensemble de pics obtenus entre 22 et 35 minutes d'élution (Fig. IV.3-a). Cet ensemble de pics est identique à celui obtenu précédemment avec la zéine commerciale brute seule (*cf.* Chapitre III, §III.2.3.3), et similaire à celui présenté dans la littérature (Dombrink-Kurtzman et Bietz, 1993).

L'ajout de glycérol a seulement un effet de dilution, comme le montrent sur les chromatogrammes les absorbances en sortie de colonne de chromatographie globalement plus faibles, après ajout de ce plastifiant, par rapport aux résultats présentés sur la zéine commerciale brute seule au chapitre III. Les pics à 20 minutes d'élution sont probablement dus à des résidus en faible quantité de type zéine- β , ou zéine- γ . Des résultats similaires sont obtenus en conditions réductrices, les α -zéines très majoritaires étant peu sensibles aux réducteurs (Fig. IV.3-b). Les chromatogrammes obtenus sur les filaments après extrusion en extrudeuse mono-vis à 130°C et après passage au travers de la filière de la buse de l'imprimante 3D à la même température, présentés sur la figure IV.3-a, sont très proches les uns des autres. En conditions réductrices, les chromatogrammes obtenus (i), pour le mélange pulvérulent initial avant tout traitement thermomécanique, (ii) après extrusion en mono-vis et (iii), après dépôt en sortie de la filière de la buse se superposent quasiment tous les trois, l'agent réducteur ayant éliminé les molécules de plus hautes masses moléculaires (Fig. IV.3-b). Les profils obtenus après les traitements thermomécaniques ayant généré des ponts disulfure dans la structure moléculaire de la protéine sont alors proches de ceux de la composition initiale.

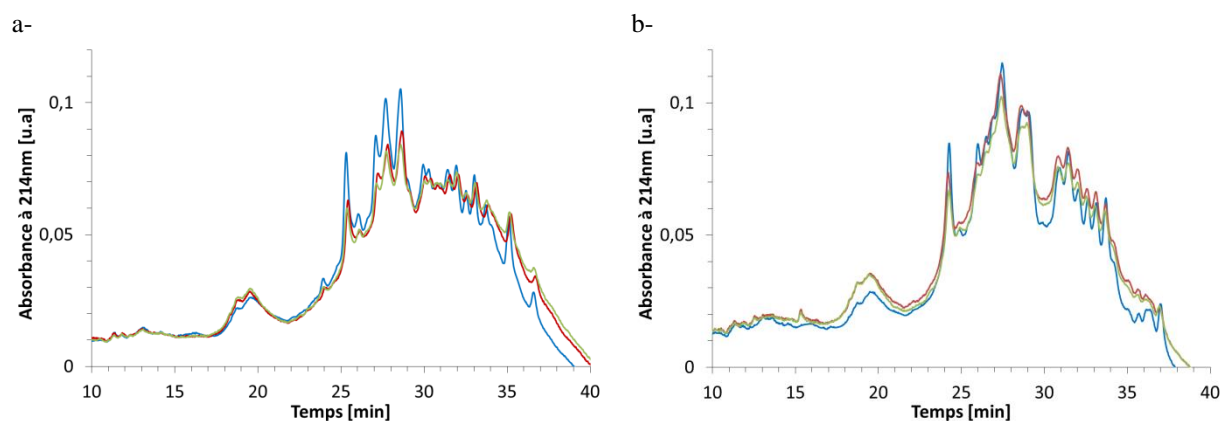


Figure IV.3. Chromatogrammes obtenus par HPLC en phase inversée (détection à 214 nm), en conditions normales, sans agent réducteur : zéine commerciale brute (—), plastifiée en extrudeuse mono-vis à 130°C sous forme de filament après ajout de 20% glycérol (Z20Gly_EMV, —) et après passage dans la filière de la buse de l'imprimante 3D FA-DFF à 130°C (Z20Gly_EMV_FA, —) (a-). Chromatogrammes obtenus en HPLC en phase inversée (détection à 214nm), en conditions réductrices (ajout 3% β -mercaptoéthanol aux solutions avant caractérisation), pour les mêmes échantillons (b-)

IV.1.2.3. Conclusion : Utiliser un procédé alternatif d'alimentation

La caractérisation de l'évolution moléculaire de la zéine au cours des différentes étapes de sa mise en œuvre par FA-DFF montre que l'étape de filage en extrudeuse mono-vis à 130 °C, nécessaire pour obtenir un filament dont le calibre correspond à l'entrée du fourreau de la buse de dépôt de l'imprimante 3D, induit l'apparition d'agrégats de masse moléculaire très importante ($\overline{M}_w > 200$ kDa). Cette fraction a été précédemment mise en évidence au cours du suivi de l'évolution des propriétés rhéologiques des fondus, pour des temps de séjour les plus élevés, jusqu'au point de gel (cf. Chapitre III, §III.2.3.3).

L'alimentation d'une machine FA-DFF classique avec un filament de zéine plastifiée pré-extrudée est donc, dès le départ, problématique. Les essais montrent qu'une alimentation en continu, donc sans temps de séjour supplémentaire significatif à 130°C, reste possible. Par contre, en cas d'extrusion discontinue, donc avec stagnation de la matière dans le liquéfacteur, l'ouvrabilité des filaments présentant une agrégation déjà importante, est fortement limitée par une agrégation thermique *de novo* dans la buse de dépôt, conduisant au colmatage rapide de la filière.

Par conséquent, malgré l'adéquation de la zéine plastifiée par le glycérol au cahier des charges matière pour des temps de séjour courts à l'état fondu, **son agrégation paraît rédhitoire pour le procédé FA-DFF standard**. Ce constat nous a conduits à rechercher des procédés alternatifs d'alimentation permettant une extrusion directe de la zéine plastifiée par le glycérol, par la machine FA-DFF, **sans passer par une étape préliminaire de mise en forme de filaments**.

Plusieurs machines FA-DFF permettant une alimentation de la matière sous forme de granulés sont apparues au cours des dernières années. Certaines sont commerciales, mais très peu répandues (*e.g.* Arburg Freeformer ; Arburg GmbH, Lossburg, DE), et la plupart sont des prototypes. Nous avons donc fait appel aux compétences du plateau technique CompositIC-IRDL de l'Université de Bretagne Sud, qui développe différents procédés pour l'impression 3D de matières sous forme de granulés. Pour cela, nous avons d'abord fait réaliser la mise en forme de granulés compactés (mini-comprimés pharmaceutiques réalisés par les laboratoires Servier, Suresnes, F-92), obtenus directement par compression du mélange pulvérulent Z20Gly en moules calibrés ($\varnothing_{\text{granulé}} = 2,5$ mm, $L_{\text{granulé}} = 2$ mm, $\text{Densité}_{\text{granulé}} = 0,7 - 0,8$). Après différents essais réalisés par l'équipe de CompositIC, cette matière a pu être mise en œuvre par l'un des prototypes de machine FA-DFF. Comme le montre la figure IV.4, la buse de dépôt de l'imprimante 3D ($\varnothing_{\text{filière}} = 1$ mm) est alimentée par une extrudeuse mono-vis miniature ($\varnothing_{\text{vis}} = 8$ mm ; $L_{\text{vis}} = 42$ mm ; Fig. IV.4-a), elle-même alimentée en granulés de zéine.

Une photo prise lors de l'impression de disques de diamètre 20 mm constitués de 8 couches de filament, permet d'observer la taille réduite du système de dépôt. Toutefois, ce prototype étant en cours de mise au point à CompositIC, nous ne pouvons présenter ici en détail la machine. Néanmoins,

les réglages utilisés pour l'impression des pastilles de zéine plastifiée (Fig. IV.5), sans problème de colmatage, méritent quelques commentaires:

- la température de la filière d'extrusion est fixée à $T_{\text{filière}} = 145 \text{ °C}$. Cela permet d'avoir des niveaux de viscosité encore plus faibles que ceux mesurés à 130 °C au chapitre III, mais un état partiellement expansé des filaments en sortie de buse. Néanmoins, il serait nécessaire de pouvoir procéder à des mesures *in situ* pour connaître la température réelle de la matière extrudée,
- la vitesse linéaire de dépôt (déplacement de la buse dans le plan) est $V_{\text{dépôt}} = 2 \text{ mm.s}^{-1}$. Cette valeur est relativement faible par rapport à une vitesse de dépôt classiquement utilisée en FA-DFF que nous avons prise en compte au chapitre I, $V_{\text{dépôt}} \approx 10 \text{ mm.s}^{-1}$,
- enfin, la température de régulation du plateau a été fixée à $T_{\text{plateau}} = 100 \text{ °C}$, sensiblement au-dessus de transition solide-fondu, proche de $T = 80 \text{ °C}$ (cf. chapitre III, §III.2.2.1), pour une bonne adhésion avec le plateau horizontal en verre de l'imprimante 3D et du fait de pertes thermiques importantes pour ce dispositif ouvert. Le dispositif étant ouvert, il est difficile d'évaluer la température de l'air au voisinage de la matière extrudée. Néanmoins, celle-ci est probablement supérieure à la température de transition vitreuse de la zéine plastifiée ($T_g = 42 \text{ °C}$), contrairement au procédé FA-DFF classique.

Pour ces différentes raisons, il est nécessaire de revoir le cahier des charges établi au chapitre I pour un procédé FA-DFF classique. Dans le cadre de la thèse, nous prenons en compte ces nouveaux paramètres du procédé pour **simuler le refroidissement de la matière extrudée au cours de son adhésion à chaud** sur la couche précédente.

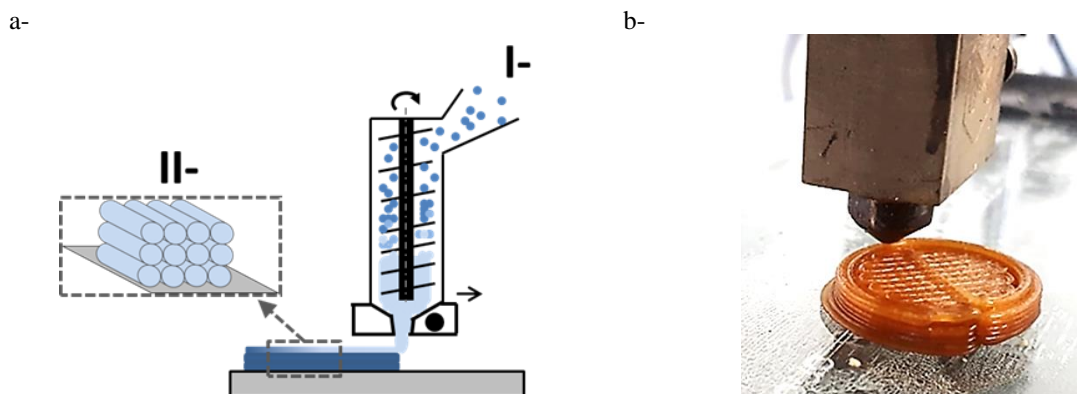


Figure IV.4. Schéma d'illustration de l'imprimante 3D FA-DFF par extrusion-dépôt et impression 3D de la zéine thermoplastique (mélange Z20Gly directement introduit dans l'extrudeuse miniature de l'imprimante 3D): extrusion (I-) simultanée au dépôt de fondu (II-) (a-). Zéine à l'état fondu en sortie de filière ($\varnothing_{\text{filière}} = 1 \text{ mm}$; $T_{\text{plateau}} = 100 \text{ °C}$, $T_{\text{impression}} = 145 \text{ °C}$, $V_{\text{dépôt}} = 2 \text{ mm.s}^{-1}$) et obtention d'une pièce imprimée cohésive par l'adhésion des filaments juxtaposés et superposés (Modèle : $\varnothing_{\text{pastille_modèle}} = 20 \text{ mm}$, $h_{\text{pastille_modèle}} = 4,8 \text{ mm}$ -soit 8 couches de filament superposées, avec un pas de déplacement vertical de $0,6 \text{ mm}$ entre deux couches déposées-; b-)

Le modèle numérique 3D de la pièce à imprimer est similaire à celui du modèle testé avec l'imprimante 3D FA-DFF classique présentée plus haut : des pastilles circulaires, avec $\varnothing_{\text{pastille_modèle}} = 20 \text{ mm}$ et $h_{\text{pastille_modèle}} = 4,8 \text{ mm}$, sont composées de 8 couches de 0,6 mm d'épaisseur chacune. Cette épaisseur correspond au pas de déplacement vertical entre deux couches superposées (axe z du dépôt de matière).

Les pastilles imprimées 3D présentent des dimensions conformes au modèle selon les axes x et y d'impression 3D: $\varnothing_{\text{pastille_imprimée3D}} = 20,0 \pm 0,3 \text{ mm}$ (Fig. IV.5). En revanche, un écart est constaté avec la valeur attendue selon l'axe z du modèle : $e_{\text{pastille_imprimée3D}} \approx 4,5 \pm 0,2 \text{ mm}$, au lieu de 4,8 mm attendue. Cet écart est dû probablement à une viscosité plus faible et donc un écoulement un peu plus important du matériau qu'en conditions optimales, qui seraient plus proches de 120 à 130°C, alors qu'ici $T_{\text{impression}} = 145 \text{ °C}$ pour assurer l'obtention du fondu dans l'extrudeuse mono-vis miniature en amont de la filière.

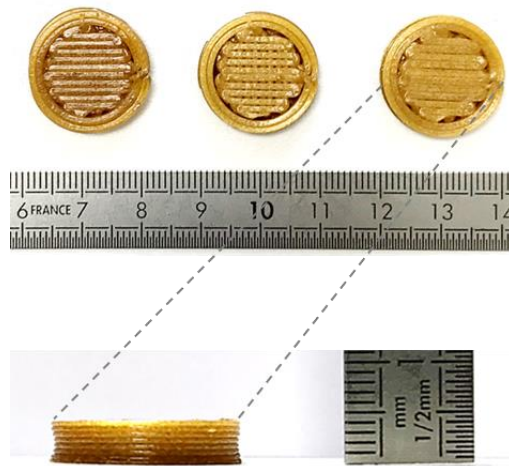


Figure IV.5. Pastilles imprimées 3D en FA-DFF par extrusion-dépôt de zéine plastifiée par 20% glycérol - Z20Gly- et évaluation de leurs dimensions : $\varnothing_{\text{pastille_imprimée3D}}=20\pm0,3\text{mm}$ et $h_{\text{pastille_imprimée3D}}=4,5\pm0,2 \text{ mm}$.

IV.2. Etape d'adhésion par soudage : Approximation du frittage visqueux isotherme

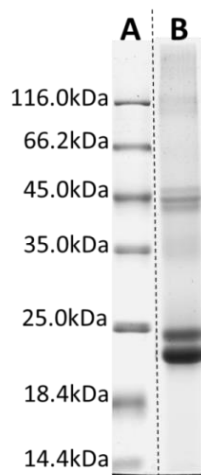
IV.2.1. Etat initial des filaments

Afin de nous rapprocher des conditions d'une alimentation/extrusion continue, nous avons choisi d'utiliser des filaments calibrés de diamètre faible, mais suffisant pour que des thermocouples fins ($\varnothing_{\text{thermocouple_type-K}} \approx 0,4 \text{ mm}$) puissent être insérés au centre des filaments. Les filaments doivent en outre avoir subi un temps de séjour le plus faible possible, pour limiter l'agrégation thermique de la zéine. Pour le matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol sur le micro-mélangeur bi-vis ($T_{\text{extrusion}} = 130 \text{ }^\circ\text{C}$), noté Z20Gly_EBV, ces filaments obtenus lors de l'étude présentée au chapitre III ont un diamètre $\varnothing_{\text{filament}} = 2 \text{ mm}$. Pour une extrusion directe, sans recirculation, le temps de séjour est typiquement de 60 s. L'étude rhéologique (*cf.* Chapitre III, §III.2.2.3) indique que ces filaments ont une viscosité initiale de l'ordre de 200 Pa.s à 130°C et un temps de gel de l'ordre de 500 s.

Leur structure initiale n'est pas réticulée. En effet, pour des fractions de masses moléculaires supérieures à 200 kDa, aucun agrégat n'est visible sur les électrophorégrammes (Fig. IV.6). Seules les fractions majoritaires de zéines- α , à 20 - 25 kDa (dénommées « monomères de zéine- α » ; *cf.* Chapitre III, §III.2.3.3) et à 40 - 45 kDa (« dimères ») sont visibles, accompagnées de légère trace aussi vers 100 kDa (« tétramères ») (Fig. IV.6-a).

L'ajout d'un composé réducteur n'a pas d'impact majeur sur les bandes ainsi obtenues, en raison de l'absence d'agrégats issus d'oxydations thermiques -SH en S-S (Fig. IV.6-b). L'obtention d'une structure non-réticulée, après un traitement thermomécanique de filage de courte durée à 130°C, suggère qu'il est possible d'obtenir *de novo* des fondus à partir de ces filaments placés à haute température, à partir de 80°C.

a-



b-

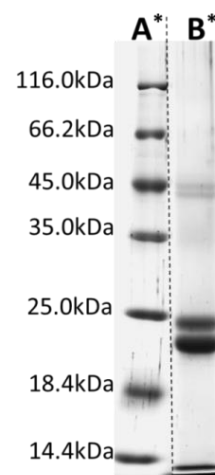


Figure IV.6. Electrophorégrammes obtenus en SDS-PAGE pour des filaments extrudés sans recirculation en micro-mélangeur bi-vis à 130°C, Z20Gly_EBV. En conditions normales (*i.e.*, sans agent réducteur, a-) et en présence de 3% β -mercaptoéthanol ajouté aux solutions avant dépôt sur gel (b-)

IV.2.2. Essais de frittage visqueux en conditions isothermes

Un dispositif expérimental inspiré des travaux de Bakrani Balani *et al.* (2017) a été utilisé pour étudier la cinétique de frittage visqueux de deux filaments à différentes températures de consigne ($T_{\text{set}} = 80, 100, 120, 125, 130$ et 140 °C). Le dimensionnement spécifique du four, permet d'effectuer des mesures en conditions quasi-isothermes.

Une évolution typique de la température du four et des filaments au début des expériences de frittage est montrée sur la figure IV.7. A $t=0$, la fenêtre transparente du four est fermée et l'acquisition de la température (et de l'image) commence.

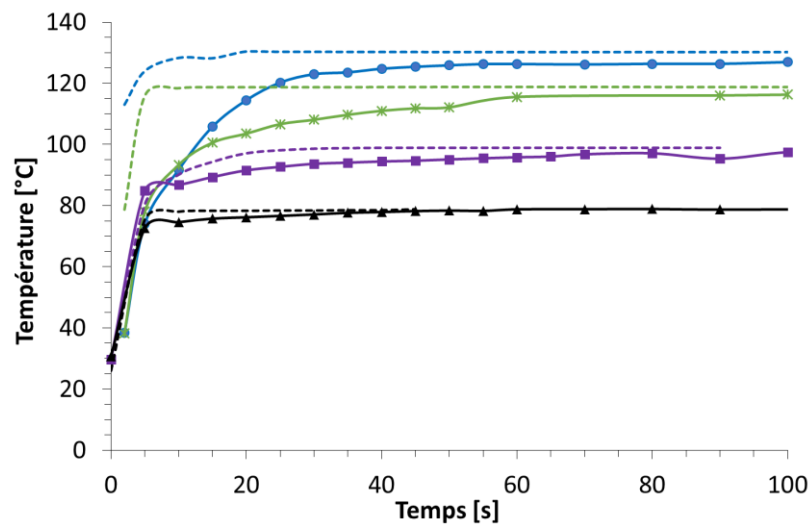
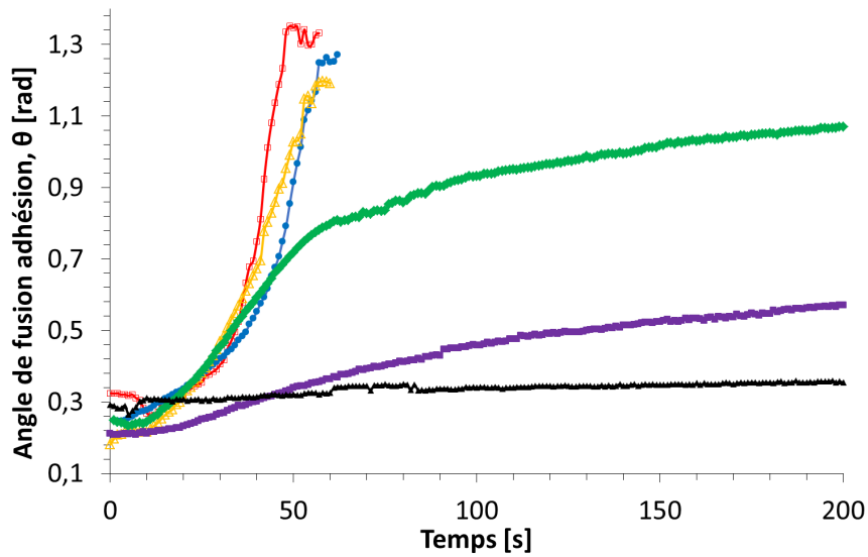


Figure IV.7. Evolutions des températures dans le four (T_{four} , en lignes pointillées sans marqueur) et à cœur des filaments extrudés Z20Gly_EBV, pour $T_{\text{set}} = 80$ °C (-▲-), 100 °C (-■-), 120 °C (-*-) et 130 °C (-●-)

Le temps nécessaire pour que la température dans le four, T_{four} , revienne à la température donnée en consigne (T_{set}) est d'environ 10 à 20s. Le temps nécessaire pour que chaque filament atteigne cette température à cœur est supérieur et, dans la suite, nous supposons que le filament atteint une valeur de température stable lorsque $(T_{\text{four}} - T_{\text{filament}}) < 5$ °C, soit 30 à 35s après fermeture de la vitre en façade du four, une fois les filaments déposés. Typiquement, ce temps est de 35 s à 130 °C. Cette valeur est légèrement supérieure à celles rapportées dans le cas d'essais en thermomicroscopie à 190 °C sur des particules de différents polymères thermoplastiques ($\varnothing \approx 0,5$ mm) placées entre lames de verre pour le suivi de leur frittage visqueux (pour application au rotomoulage de pièces ; Bellehumeur *et al.*, 1996).

Comme nous l'avons décrit au chapitre II, les images de la section des filaments sont acquises toutes les secondes. L'analyse morphologique semi-automatique de ces images permet d'accéder à l'évolution de deux descripteurs morphologiques : l'angle de fusion-adhésion θ et l'indice de convexité I_{convex} (cf. Chapitre I, §I.1.3.3.3 et Chapitre II, §II.5.2). Les courbes obtenues pour les différentes températures de frittage sont représentées sur la figure IV.8.

a-



b-

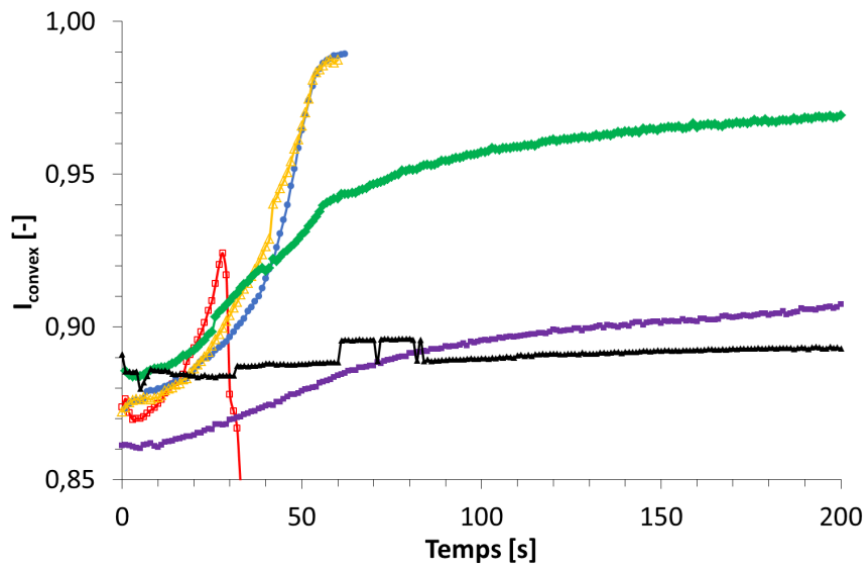


Figure IV.8. Evolutions de l'angle de fusion-adhésion, θ [rad], (a-) et de l'indice de convexité, I_{convex} [-], (b-) pendant la coalescence de deux filaments extrudés à base de zéine, Z20Gly_EBV, à différentes températures. Résultats obtenus pour $T_{\text{set}} = 80^{\circ}\text{C}$ (-▲-), 100°C (-■-), 120°C (-◆-), 125°C (-△-), 130°C (-●-) et 140°C (-□-)

De façon à comparer les vitesses de fusion-adhésion à différentes températures, les pentes $d\theta/dt$ [$\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$] ont été évaluées à $t = 35\text{s}$ (Tableau IV.1). Cette valeur de temps a été choisie sur la base des mesures de température pour vérifier des conditions isothermes stables (Fig. IV.7).

Les valeurs maximales (finales) de l'indice de convexité ($I_{\text{convex_final}}$) sont aussi rapportées dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1. Caractéristiques de fusion-adhésion de filaments à base de zéine, Z20Gly_EBV (valeur moyenne \pm écart-type, pour trois essais répétés en conditions identiques pour chaque température): angle final de fusion-adhésion ; indice de convexité final ; valeurs des angles de fusion-adhésion et des vitesses à 35s ; temps caractéristiques estimés de frittage visqueux, t_{vs1} (d'après Pokluda *et al.*, 1997) et t_{vs2} (d'après Hopper, 1984)

T_{set}	Angle final de fusion-adhésion, θ_{final}	Indice de convexité final, I_{convex_final}	θ à t=35s	$d\theta/dt$ à t=35s	t_{vs1} (Pokluda-Bellehumeur)	t_{vs2} (Hopper)	Ratio t_{vs1}/t_{vs2}
[°C]	[rad]	[-]	[rad]	[10 ⁻⁴ rad.s ⁻¹]	[s]	[s]	[-]
80	0,39 \pm 0,02	0,900 \pm 0,011	0,31 \pm 0,07	3,0 \pm 0,8	5233 \pm 1460	3492 \pm 974	1,5
100	0,73 \pm 0,14	0,917 \pm 0,025	0,29 \pm 0,03	28 \pm 10,4	599 \pm 222	380 \pm 141	1,6
120	1,10 \pm 0,10	0,972 \pm 0,001	0,54 \pm 0,21	108 \pm 53,5	77 \pm 38	82 \pm 41	0,9
125	1,19 \pm 0,05	0,987 \pm 0,001	0,57 \pm 0,05	294 \pm 84,9	27 \pm 8	30 \pm 9	0,9
130	1,27 \pm 0,01	0,989 \pm 0,003	0,48 \pm 0,04	364 \pm 46,2	26 \pm 3	25 \pm 3	1,0
140	1,33 \pm 0,27*	-	0,52 \pm 0,11	625 \pm 404,6	14 \pm 9	14 \pm 9	1,0

*Les valeurs élevées d'écart-type en fin de coalescence à 140°C sont dues à la vaporisation du plastifiant créant des bulles dans les filaments

Trois comportements différents peuvent être décrits :

- pour les températures les plus faibles (80 °C et 100 °C), les cinétiques sont très lentes ($d\theta/dt$ est de 3.10^{-4} rad.s⁻¹ et 28.10^{-4} rad.s⁻¹, respectivement) et la coalescence est loin d'être complète même pour des temps longs : l'indice de convexité final, proche de 0,9, est atteint après plus de 800s (en dehors de l'intervalle représenté). Cela signifie que les concavités résiduelles entre les filaments représentent 10% de la section transversale, avec des angles de fusion-adhésion restant faibles ($\theta_{final} < 0,4$ et $0,8$ rad, respectivement),

- pour les températures les plus élevées (140 °C), la coalescence paraît très rapide ($d\theta/dt > 0,06$ rad.s⁻¹). Cependant, la courbe de l'indice de convexité (Fig. IV.8-b) s'affaisse soudainement à environ 30s. Cette chute reflète une expansion du matériau due à la formation de bulles à cause de la vaporisation du plastifiant. Les variations induites dans les dimensions des filaments conduisent à une courbe irrégulière de l'angle de fusion-adhésion (Fig. IV.8-a). Il doit aussi être noté que les valeurs tracées sont des moyennes et que les écarts-types sont grands dans ce cas (Tableau IV.1),

- pour les températures intermédiaires, dans l'intervalle [120, 130°C], les valeurs maximales (finales) de l'indice de convexité sont proches, entre 0,972 et 0,987, ce qui indique une coalescence quasi-parfaite, sans concavité résiduelle et avec un angle final de fusion-adhésion élevé ($\theta_{final} > 1$ rad, Fig. IV.8 et Tableau IV.1). Le temps nécessaire pour atteindre l'état final décroît avec la température, alors que la valeur de vitesse de coalescence est multipliée par 3 (de 0.011 à 0.036 rad.s⁻¹).

En outre, ces résultats illustrent l'intérêt de l'indice de convexité obtenu à partir de l'analyse morphologique des images de fusion-adhésion, comme un indicateur sensible de la dépendance à la température du frittage visqueux. L'indice de convexité permet de détecter des problèmes d'expansion survenant à haute température et de concavité résiduelle à faible température.

A 125-130 °C, le temps nécessaire pour atteindre un indice de convexité proche de l'unité est de l'ordre de 60 s. Cette valeur est très inférieure au temps de gélification mesuré au chapitre III pour ces filaments à cette température (400 à 500 s ; cf. Chapitre III, §III.2.2.3).

IV.2.3. Estimation du temps caractéristique de frittage visqueux

Les valeurs de θ et $d\theta/dt$, à $t = 35$ s dans le Tableau IV.1, peuvent être utilisées pour évaluer le temps caractéristique de frittage visqueux, t_{vs1} , simplement en utilisant la relation de Pokluda *et al.* (1997), présentée au chapitre I, et que nous rappelons ci-dessous :

$$\frac{d\theta}{dt} = \left(\frac{a_0 \cdot \eta}{\Gamma}\right)^{-1} \cdot \frac{2^{-\frac{5}{3}} \cdot \cos\theta \cdot \sin\theta \cdot (2 - \cos\theta)^{\frac{1}{3}}}{(1 - \cos\theta) \cdot (1 + \cos\theta)^{\frac{1}{3}}} \quad (\text{cf. Chapitre I, Eq. I.1.15}).$$

avec a_0 [m], le rayon initial des filaments ; Γ [N.m⁻¹], la tension de surface du polymère fondu et η [Pa.s], sa viscosité. Toutefois, comme nous l'avons vu au chapitre I, cette équation n'est, en principe, valide que pour des particules sphériques. Le frittage visqueux de filaments est décrit plus spécifiquement par le modèle de Hopper (1984). L'application de ce modèle est plus complexe du fait qu'il n'est pas explicitement décrit par une équation simple. Toutefois, les résultats de la solution numérique présentée par Hopper, sous forme de tableau de valeurs représentant les variations de $\left(\frac{r \cdot t}{\eta \cdot a_0} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right) = \left(\frac{t}{t_{vs2}} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right)$ en fonction de $\left(\frac{x}{a_0} \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right) \approx \left(\sin\theta \cdot \frac{1}{\sqrt{2}}\right)$, permettent de tracer une courbe maîtresse (Fig. IV.9).

Sur cette courbe maîtresse, la variation de $(d\theta / d(t/t_{vs2}))$ est représentée en fonction de θ , ce qui permet une seconde évaluation du temps caractéristique de frittage visqueux t_{vs2} . Pour chaque température, en prenant la valeur de θ à $t = 35$ s, t_{vs2} est obtenu, après avoir reporté nos données expérimentales sur la courbe maîtresse, par la relation suivante :

$$\left(\frac{d\theta}{d\left(\frac{t}{t_{vs2}}\right)}\right) = t_{vs2} \cdot \left(\frac{d\theta}{dt}\right) \quad (\text{Eq. IV.1})$$

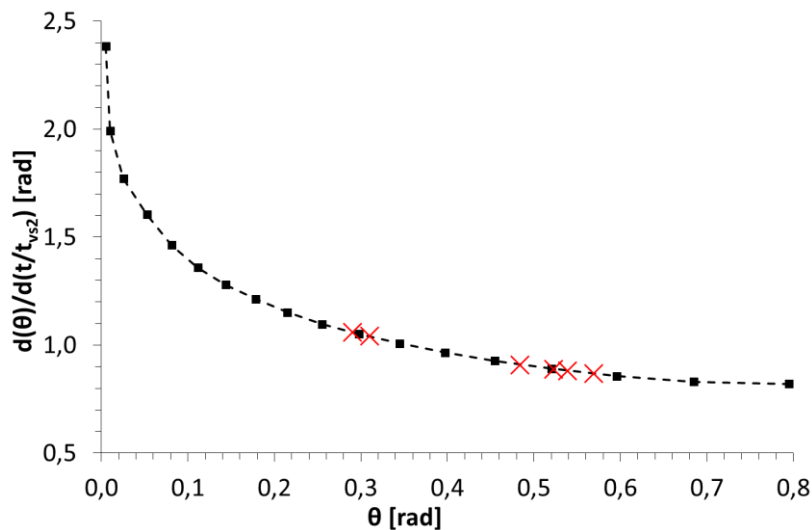


Figure IV.9. Courbe maîtresse pour le modèle de Hopper (-■-) et points expérimentaux obtenus pour des filaments de zéine plastifiée par 20% glycérol, Z20Gly_EBV, reportés sur le graphe (×)

Pour chaque température, les valeurs du temps caractéristique de frittage visqueux, estimées à l'aide des deux méthodes, t_{vs1} et t_{vs2} , sont présentées dans le Tableau IV.1 et sur la figure IV.10. Les valeurs sont très proches, excepté pour les températures les plus faibles (80-100 °C), le modèle développé pour des particules sphériques est donc une approximation raisonnable de la coalescence de filaments cylindriques (ratio $t_{vs1}/t_{vs2} \approx 1$, Tableau IV.1).

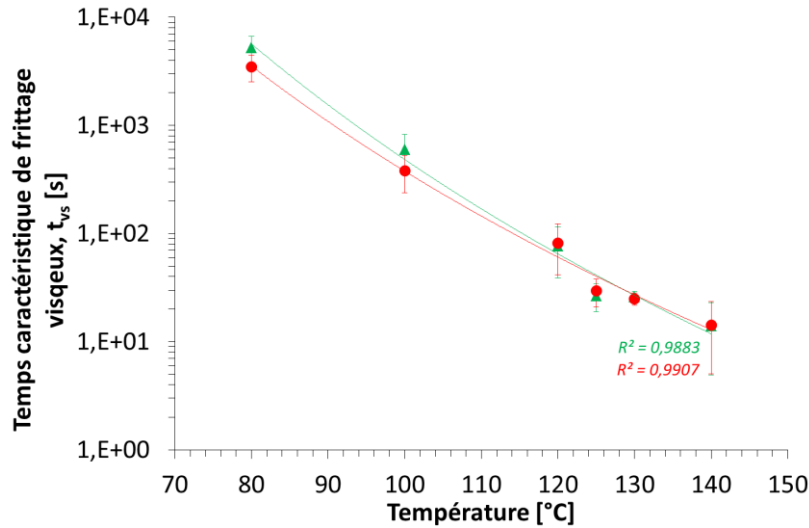


Figure IV.10. Evolution des temps caractéristiques de frittage visqueux avec la température, t_{vs1} et t_{vs2} [s], déterminés pour des filaments de zéine plastifiée par 20% glycérol, Z20Gly_EBV, à partir de deux modèles : Pokluda (▲) et Hopper (●), respectivement (Tableau IV.1) et ajustement par lois puissance (de type Eq.IV.2)

IV.2.4. Discussion

Les valeurs de temps caractéristiques de frittage visqueux sont reportées en utilisant le modèle de Hopper, t_{vs2} , pour construire un diagramme de synthèse présenté sur la figure IV.11 pour la zéine plastifiée par 20% glycérol. Ces valeurs peuvent être comparées à celles de l'ABS à sa température de mise en œuvre par FA-DFF, à $T = 240$ °C (Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008). En prenant les valeurs rapportées pour ces travaux : $|\eta^*|_{ABS_240^\circ C} = 5100$ Pa.s, $\Gamma_{ABS_240^\circ C} = 29$ mN.m⁻¹ et $2.a_{0_ABS_240^\circ C} = 0,47$ mm, on obtient $t_{vs_ABS_240^\circ C} \approx 41$ s. Cette valeur est très proche de celles estimées ici pour les temps caractéristiques de frittage visqueux de la zéine plastifiée entre 120 et 130 °C. Elle permet de définir une fenêtre de dépôt optimal de ce biopolymère.

L'estimation du temps caractéristique et son évolution avec la température (Fig. IV.10) permet de modéliser le ratio η/Γ par une équation de la forme d'une loi puissance:

$$t_{vs} = a_0 \cdot \eta / \Gamma = a_0 \cdot (c \cdot T^d) \quad \text{Eq. IV.2}$$

avec T , la température [K] et $a_0 = 1 \cdot 10^{-3}$ m pour les filaments de zéine. Les paramètres sont $c = 2 \cdot 10^{107}$ et $d = -39,5$ pour le modèle de Pokluda-Bellehumeur et $c = 7 \cdot 10^{97}$ et $d = -35,87$ pour le modèle de Hopper. Cela permet d'estimer le temps caractéristique de frittage visqueux à une valeur de l'ordre de $t_{vs} \approx 25$ s à 130 °C.

Ce résultat peut être vérifié en prenant : i) la valeur du module de viscosité complexe $|\eta^*| \approx 800$ Pa.s, telle que déterminée en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130 °C pour $\nu = 1,67$ Hz, à partir

de filament Z20_EBV fondus (cf. Chapitre III, §III.2.2.3) après 35 s dans le rhéomètre (*i.e.*, temps identique au temps de détermination des propriétés de frittage visqueux ; Tableau IV.1) et ii) la tension de surface extrapolée à 34 mN.m⁻¹ depuis les mesures d'énergie libre de surface à l'ambiante (cf. Chapitre III, §III.3). On retrouve alors une valeur de temps caractéristique très proche pour T = 130°C, à $t_{vs} = a_0 \cdot \eta / \Gamma \approx 24$ s.

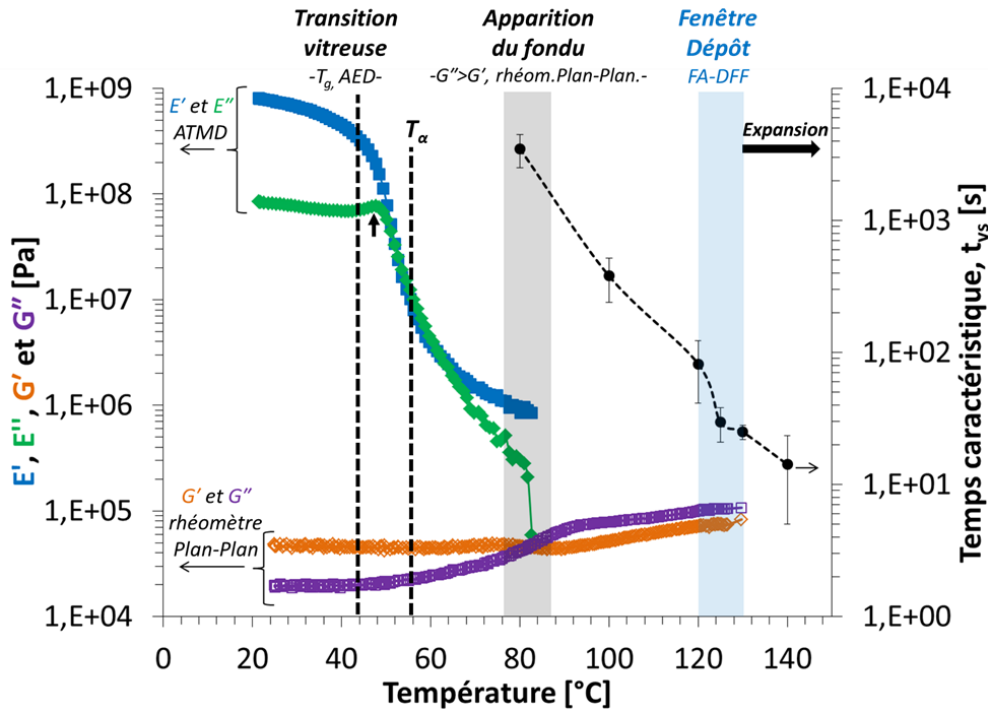


Figure IV.11. Définition de la fenêtre d'ouvrabilité de la zéine plastifiée par 20% glycérol en FA-DFF par un diagramme de synthèse des propriétés thermo-rhéologiques du matériau. Evolutions des propriétés thermomécaniques d'un filament extrudé, Z20Gly_EBV, évaluées par ATMD (E', -■-, module de stockage [Pa]; E'', -◇-, module de perte [Pa]; T_α [-], température de la relaxation mécanique principale au pic du facteur d'amortissement tanδ et pic du module de perte, E'', indiqué par une flèche verticale noire), des propriétés rhéologiques déterminées en rhéomètre oscillatoire plan-plan à partir du matériau pulvérulent à l'ambiante, Z20Gly (G', -◇-, module conservatif [Pa] et G'', -□-, module dissipatif [Pa]) et du temps caractéristique de frittage visqueux de filaments, Z20Gly_EBV, déterminé à partir du modèle de Hopper (Hopper, 1984) (t_{vs} [s], -●-, avec $t_{vs} = \left(\frac{a \cdot \mu}{\Gamma}\right)$)

Comme précisé en introduction de ce chapitre, l'ouvrabilité de la zéine plastifiée par le glycérol, pour son dépôt en FA-DFF, a été d'abord attribuée à des propriétés rhéologiques à 120 - 130 °C similaires à celles de l'ABS à 230 - 270 °C. Les temps caractéristiques de frittage visqueux sont aussi proches, ainsi que les valeurs de tension de surface de ces deux polymères à l'état fondu.

Le diagramme de synthèse peut être complété pour la zéine, en reprenant les principaux résultats des différentes caractérisations thermo-rhéologiques réalisées au cours de ces travaux (Fig. IV.11). La relaxation mécanique associée à la transition vitreuse du filament de zéine plastifiée, Z20Gly_EBV, mesurée en ATMD, survient à la température T_α ≈ 55 °C, au pic de tanδ. En-deçà de cette température, le matériau à l'état vitreux présente un module de stockage E' élevé, proche de 1 GPa à l'ambiante. Ce module décroît avec la température, en prenant des valeurs proches de celles de

E'' , qui montre un maximum à $T_{pic_E''} \approx 45 \text{ °C}$ (proche de la température de transition vitreuse déterminée en analyse enthalpique différentielle : $T_g \approx 42 \text{ °C}$). Au-delà de 75 à 80 °C, les mesures de modules sont impossibles à cause du fluage, entre les mors de l'ATMD, du matériau qui a alors atteint son état fondu fluide.

Il est intéressant de noter que le matériau commence à s'écouler dans la même gamme de température que sous cisaillement à environ 75 - 80 °C, à l'instar du comportement de la zéine à l'état pulvérulent, Z20Gly, plastifiée en rhéomètre oscillatoire, présenté précédemment (*cf.* Chapitre III, §III.2.2.1 ; $G'' > G'$ à partir de 80°C, représenté sur la Fig. IV.11). Les filaments obtenus par filage après un traitement thermomécanique de courte durée en micro-mélangeur bi-vis à 130°C, Z20Gly_EBV, non réticulés, atteignent l'état fondu à une température identique.

L'absence d'agrégation thermique de la zéine dans ce cas est la raison majeure de ce comportement. Par ailleurs, pour des températures comprises entre 80 et 120°C, inférieures à la fenêtre de dépôt optimale, mais supérieures à l'obtention d'un fondu, la coalescence est possible, mais lente, avec des temps caractéristiques de frittage visqueux supérieurs à 100 s. Ces valeurs sont très supérieures à celle de standards en FA-DFF à leur température de mise en œuvre, notamment l'ABS 240°C ($t_{vs_ABS_240^\circ C} \approx 41 \text{ s}$).

Pour de plus hautes températures, supérieures à la fenêtre optimale de dépôt entre 120 et 130°C définie précédemment, l'expansion du matériau attribuable à l'évaporation du plastifiant entraîne la fusion-adhésion du matériau fondu à l'état expansé et non plus dense. Ce comportement, s'il n'est pas souhaité *a priori* pour viser une porosité déterminée par le motif de remplissage de la pièce imprimée 3D, permet toutefois le dépôt d'un matériau expansé, ce qui peut être intéressant pour élaborer des matrices à porosité très élevée, comme celles alimentaires fragiles conduisant à des textures croustillantes.

IV.3. Simulation du frittage visqueux en conditions de dépôt anisotherme

Dans ce qui précède, nous avons étudié la coalescence de deux filaments dans des conditions de chauffage pour atteindre un état quasi-isotherme. Pour nous rapprocher des conditions réelles de la mise en œuvre en FA-DFF, il faudrait étudier le refroidissement en sortie de buse alimentée par une extrudeuse miniature (*idem* Fig. IV.4-a), ce qui paraît hors de portée actuellement, nous avons donc choisi d'appliquer un modèle pour simuler ces conditions.

IV.3.1. Refroidissement du fondu en sortie de filière en FA-DFF

L'évolution de la température du filament en sortie de la buse de l'imprimante 3D peut être estimée en reprenant le modèle présenté dans le chapitre I, Eq. I.1.10 (d'après Bellehumeur *et al.*, 2004 ; Sun *et al.*, 2008) que nous rappelons ici :

$$T = T_{\infty} + (T_{\text{impression}} - T_{\infty}) \cdot e^{-mx} \quad (\text{cf. Chapitre I, Eq. I.1.10})$$

avec $m = \frac{\sqrt{1+4\alpha\beta}-1}{2\alpha}$, $x = V_{\text{dépôt}} \cdot t$, $\alpha = \frac{\lambda}{\rho \cdot C_p \cdot V_{\text{dépôt}}}$, $\beta = \frac{h \cdot P}{\rho \cdot C_p \cdot A \cdot V_{\text{dépôt}}}$ et avec P, la longueur du périmètre [m] du filament déposé, λ la conductivité thermique [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$], et h [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$] le coefficient de transfert thermique qui inclut la convection du dépôt de matière fondue avec l'air et le matériau support.

Dans cette solution analytique de l'équation de la chaleur, l'évolution de la température T du filament en fonction du temps après sa sortie de la filière, t, dépend fortement de la température initiale d'extrusion, $T_{\text{impression}} = T_0$, de la température de l'environnement d'impression de l'imprimante, T_{∞} (qui est atteinte pour $x = \infty$) et de la vitesse linéaire de dépôt, $V_{\text{dépôt}}$. Pour la zéine plastifiée, la valeur de $V_{\text{dépôt}}$ est fixée à $2.10^{-3} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, valeur utilisée lors des essais en FA-DFF par extrusion-dépôt précédemment présentés dans ce chapitre et dont les paramètres pris pour le modèle sont décrits dans le Tableau IV.2.

Tableau IV.2. Paramètres du modèle pour l'estimation de la température du filament fondu en sortie de buse de dépôt de matière, et leurs valeurs pour la zéine plastifiée par 20% glycérol et pour un thermoplastique standard amorphe, l'ABS (d'après Sun *et al.*, 2008)

Paramètre	Abréviation [unité]	Z20Gly	ABS
Conductivité thermique	λ [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]	0,26	0,177
Coefficient de transfert thermique	h [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$]	10 - 150	10 - 150
Capacité thermique massique	C_p [$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]	1850	2080
Masse volumique	ρ [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$]	1250	1050
Diamètre du filament déposé	$\varnothing_{\text{filament}}$ [m]	$1 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-4}$
Périmètre de la section de filament déposé	P [m]	$3,14 \cdot 10^{-3}$	$0,94 \cdot 10^{-3}$
Surface de la section de filament déposé	A [m^2]	$7,9 \cdot 10^{-7}$	$0,71 \cdot 10^{-7}$
Température d'environnement de l'imprimante 3D	T_{∞} [$^{\circ}\text{C}$]	20	70
Température du fondu en sortie de la buse	T_0 [$^{\circ}\text{C}$]	145	245

Les évolutions de la température calculée sont présentées sur la figure IV.12. La figure IV.12-a est une reproduction des travaux de la littérature pour l'ABS (Sun *et al.*, 2008 ; Bellehumeur *et al.*, 2004). Comme ces auteurs, nous présentons plusieurs simulations pour différentes valeurs du

paramètre h , variant de 10 à 150 $\text{W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$. Pour $h = 140 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$, typique en FA-DFF (Sun *et al.*, 2008), la vitesse de refroidissement initiale est de l'ordre de $100 \text{ }^\circ\text{C.s}^{-1}$ et la transition vitreuse du matériau est franchie environ 2 secondes après sa sortie de la filière. Ces valeurs correspondent aux mesures expérimentales de la littérature (Sun *et al.*, 2008 ; Seppala et Migler, 2016).

Pour cette valeur du coefficient de transfert thermique, $h = 140 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$, le filament de zéine plastifiée franchit la transition vitreuse après 7,5 secondes, dans les conditions de dépôt simulées identiques à celles de l'expérience (Fig. IV.12-b et Fig. IV.4). L'influence de h est similaire à celle retrouvée pour le standard amorphe (*i.e.*, l'ABS) lors du refroidissement des filaments fondus en sortie de filière (Fig. IV.12-a et -b).

Par ailleurs, l'influence de la température d'environnement du dépôt des filaments fondus peut être évaluée, pour une valeur constante du coefficient $h = 140 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$. A une température d'environnement élevée, telle que $T_\infty = 80 \text{ }^\circ\text{C}$ (*i.e.*, la température d'apparition du fondu en ATMD et en rhéométrie dynamique), le matériau se maintiendrait indéfiniment au-dessus de sa transition vitreuse ($T_g = 42 \text{ }^\circ\text{C}$; Fig. IV.12-c). L'intervalle de temps disponible pour la coalescence par frittage visqueux entre filaments est donc théoriquement infini dans ce cas, et l'adhésion au substrat de dépôt de l'imprimante 3D (*i.e.*, plaque en verre horizontale) serait assurée par un étalement important du fondu de la première couche déposée au contact du support de la pièce pendant son impression.

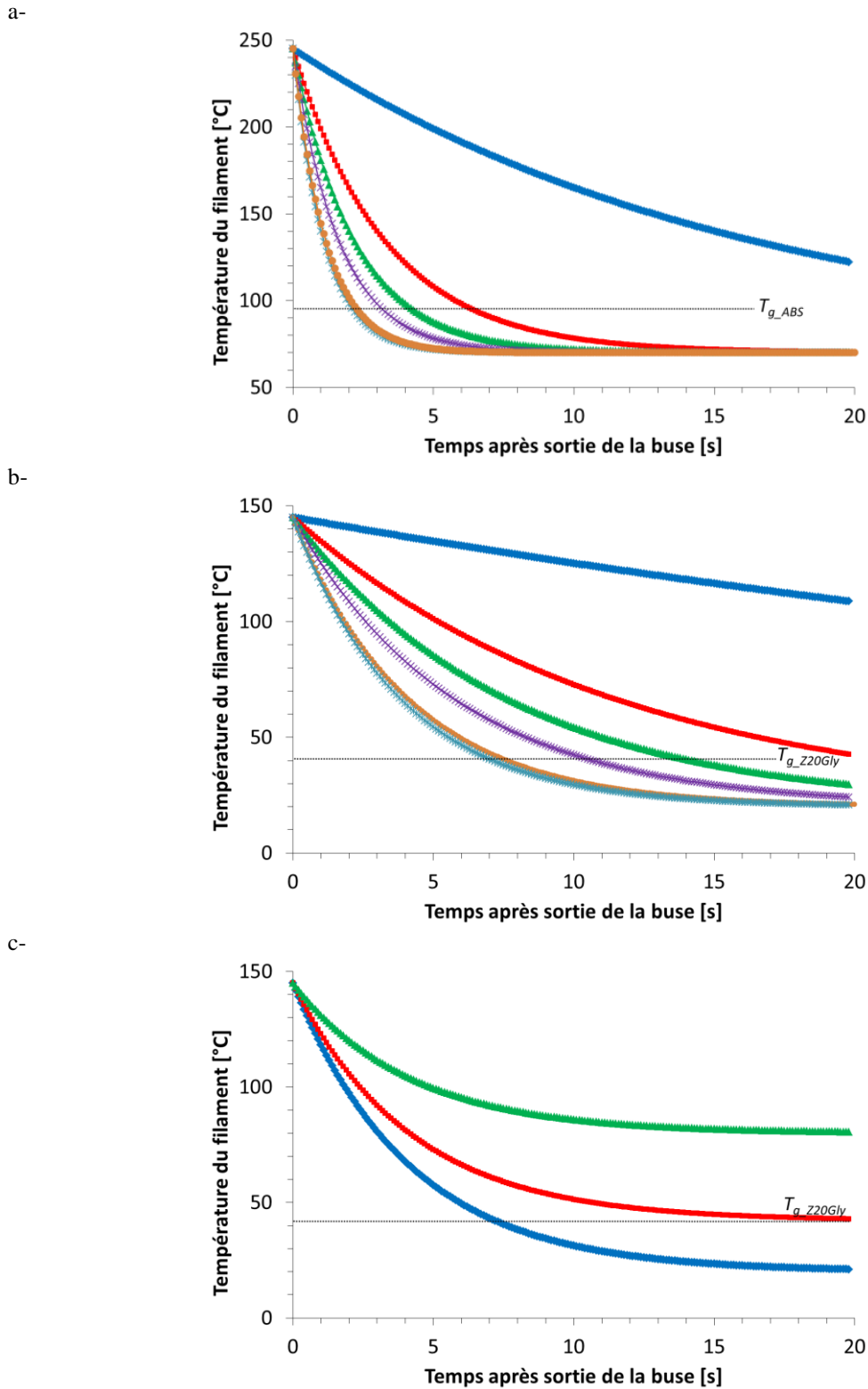


Figure IV.12. Evolutions de la température estimée d'un filament d'ABS (a-) et de zéine plastifiée par 20% glycérol en sortie de filière de l'imprimante 3D, pour différentes valeurs du coefficient de transfert thermique (b-) et différentes valeurs de la température d'environnement T_∞ (c-). Conditions de dépôt simulées pour l'ABS : $T_\infty = 70^\circ\text{C}$, $T_0 = 245^\circ\text{C}$ et $\phi_{\text{filière}} = 0,3 \text{ mm}$ (a-) et pour la zéine plastifiée : $T_\infty = 20^\circ\text{C}$, $T_0 = 145^\circ\text{C}$ et $\phi_{\text{filière}} = 1 \text{ mm}$ (b). Notations pour (a-) et (b-) : $h = 10$ (-♦-), 50 (-■-), 75 (-▲-), 100 (-X-), 140 (-●-) et $150 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$ (-*-). Conditions de dépôt simulées pour la zéine plastifiée avec $h=140 \text{ W.m}^{-2}.\text{K}^{-1}$: $T_0 = 145^\circ\text{C}$, $\phi_{\text{filière}} = 1 \text{ mm}$ pour $T_\infty = 20^\circ\text{C}$ (-♦-), 42°C (T_g , -■-) et 80°C ($T_{\text{apparition_fondu}}$, -▲-), (c-)

IV.3.2. Simulation de la coalescence

Il est possible de calculer l'évolution du frittage visqueux entre 2 filaments à l'aide de l'équation Eq. I.1.15, rappelée au §IV.2.3. Pour cela, nous considérons une évolution de la température uniforme sur la section du filament issue de la simulation du refroidissement du filament extrudé présentée au paragraphe précédent (Sun *et al.*, 2008 ; Turner *et al.*, 2014).

Nous reproduisons ce calcul dans le cas de l'ABS sur la figure IV.13-a. L'intégration de l'équation différentielle I.1.15 nécessite de connaître la valeur de la température à chaque instant t . L'évolution de cette température est obtenue comme précédemment, d'après les profils présentés sur la figure IV.12, par l'application de l'équation Eq. I.1.10. Par ailleurs, il est nécessaire de connaître la valeur du temps caractéristique de frittage visqueux à chaque température ($t_{vs}=a_0\eta/\Gamma$). Pour cela, nous avons utilisé les valeurs de viscosité décroissantes avec la température, T [K], selon la relation : $\eta_{ABS} = 5,1.10^3 \exp[-0,056*(T-503)]$, fournie par Sun *et al.* (2008). La simulation conduit à une valeur maximale de $x/a = 14$ % (Fig. IV.13-a, soit $\theta = \sin^{-1}(x/a) = 0,14$), telle que rapportée par Sun *et al.* (2008).

La même procédure, basée sur l'équation I.1.15 (Pokluda *et al.*, 1997), est utilisée pour simuler l'évolution du taux de coalescence x/a dans le cas de la zéine plastifiée mise en œuvre par le procédé FA-DFF alternatif par extrusion-dépôt à 145°C pour deux température d'environnement : $T_\infty = 20$ °C et $T_\infty = 80$ °C, la température d'apparition de l'état fondu déterminée en rhéométrie (figures IV.13-b et -c). Dans chacun des cas, nous avons utilisé les lois d'évolution du temps caractéristique de t_{vs} en fonction de la température, identifiées précédemment dans ce chapitre (équation IV.2).

Ce modèle (Pokluda-Bellehumeur, Eq.I.1.15) appliqué aux filaments de zéine plastifiée pour $T_\infty = 20$ °C donne un taux de coalescence de l'ordre de $x/a_{final} = 28$ % (Fig. IV.13-b ; soit $\theta \approx 0,284$ rad), ce qui est en accord avec l'évolution des profils de température présentés au paragraphe précédent, où le temps de séjour estimé au-dessus de la transition vitreuse en sortie de buse pour la zéine thermoplastifiée est bien supérieur à celui de l'ABS, pour leurs conditions respectives de dépôt, d'où un taux de coalescence final supérieur pour la zéine.

En utilisant les temps caractéristiques de frittage visqueux issus de l'application du modèle de Hopper appliqué aux filaments à base de zéine (Tableau IV.1), pour les deux températures d'environnement testées : $T_\infty = 20$ °C (Fig. IV.13-b) et $T_\infty = 80$ °C (Fig. IV.13-c), une coalescence supérieure est estimée dans les deux cas en comparaison avec celui de Pokluda-Bellehumeur (Eq. I.1.15). Un taux de l'ordre de $x/a_{final} = 36,8$ % ($\theta \approx 0,38$ rad) est obtenu pour $T_\infty = 20$ °C (Fig. IV.13-b) et 41,7 % (soit $\theta \approx 0,43$ rad) pour $T_\infty = 80$ °C (Fig. IV.13-c), 5 s après la sortie de la buse. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus avec le modèle de Hopper qui donne un ratio η/Γ plus faible que pour le modèle de Pokluda-Bellehumeur (Fig. IV.10 et Tableau IV.1). Quelles que soient les conditions simulées, un taux de coalescence supérieur est effectivement obtenu dans le cas de l'application du modèle de Hopper pour les filaments de zéine plastifiée, par rapport au modèle de Pokluda-Bellehumeur (Fig. IV.13-b et -c).

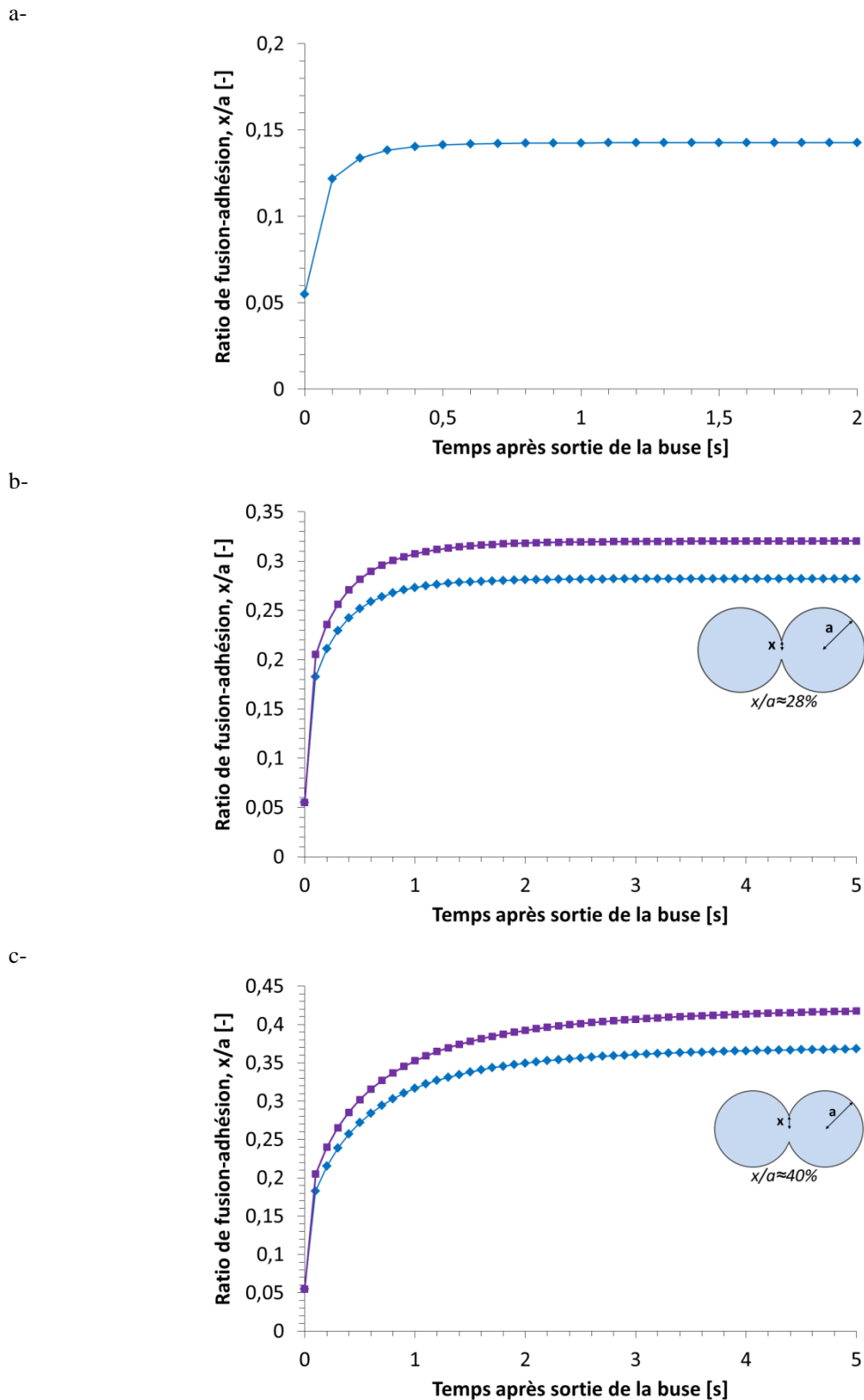


Figure IV.13. Evolutions simulées de la fusion-adhésion par frittage visqueux (ratio x/a) pour des filaments d'ABS (modèle de frittage visqueux : Pohluda-Bellehumeur ; $x/a_{\text{final}} \approx 14\%$, tel que rapporté par Sun *et al.* (2008), a-) et de zéine plastifiée par 20% glycérol, en sortie de filière d'une imprimante 3D FA-DFE (modèles de frittage visqueux : Pohluda-Bellehumeur -♦- et Hopper -■-; encarts : Représentations schématiques du frittage visqueux pour $x/a_{\text{final}} \approx 28\%$ et $x/a_{\text{final}} \approx 40\%$, en b- et c-, respectivement). Conditions de dépôt pour l'ABS : $T_{\infty} = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_0 = 270\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $h = 140\text{ W.m}^{-2}\text{.K}^{-1}$ (a-) ; pour la zéine plastifiée : $T_{\infty} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_0 = 145\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $h = 140\text{ W.m}^{-2}\text{.K}^{-1}$ (b-) et $T_{\infty} = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_0 = 145\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $h = 140\text{ W.m}^{-2}\text{.K}^{-1}$ (c-).

Les simulations montrent l'importance du refroidissement des fondus en sortie de buse sur le taux de coalescence des filaments déposés, ainsi que l'influence de la température de l'environnement du dépôt de matière.

IV.4. Conclusions

Ce chapitre nous a permis de montrer qu'il était possible de mettre en œuvre la zéine, plastifiée par 20% de glycérol, par un procédé FA-DFF. Néanmoins, **la mise en œuvre du matériau a nécessité l'utilisation d'une machine prototype dont le système d'alimentation est modifié par rapport au procédé FA-DFF standard alimenté par un filament pré-extrudé.**

En effet, l'étude du comportement de filaments à base de zéine dans les conditions du procédé FA-DFF standard a confirmé les résultats obtenus au chapitre III : pour des temps de séjour faibles, à 130°C (alimentation continue), **le matériau peut alimenter la machine d'impression 3D sous forme de filament extrudé.** Cependant, **l'agrégation de la zéine rend le processus d'alimentation instable du fait de l'augmentation de viscosité,** voire de la gélification du matériau, dès que le temps de séjour augmente.

Une solution possible à ce problème intrinsèque à la zéine est d'utiliser un système d'alimentation alternatif par extrusion directe de granulés. **Des essais préliminaires sur ce type de machine prototype montrent l'ouvrabilité de la zéine thermoplastifiée. Des pièces cohésives, mécaniquement stables après dépôt à l'état fondu, ont pu être obtenues.**

Afin d'étudier plus précisément le frittage visqueux de deux filaments en conditions quasi-isothermes, représentatif des phénomènes survenant lors du dépôt, nous avons par ailleurs développé un dispositif expérimental spécifique. Couplé à une méthode d'acquisition et d'analyse morphologique d'image, celui-ci nous a permis de déterminer le temps caractéristique de frittage visqueux, t_{vs} , à différentes températures en prenant en compte deux modèles (*i.e.*, Pohluda-Bellehumeur et Hopper) :

- à 130°C, la valeur de t_{vs} obtenue pour la zéine plastifiée dépend peu du choix du modèle. Elle est proche de celle de l'ABS à sa température d'impression 3D. Par ailleurs, **connaissant la viscosité, nous avons pu en déduire une valeur de temps caractéristique de frittage visqueux à partir de l'extrapolation de la valeur de tension de surface à chaud** estimée au chapitre III depuis des mesures faites à 20°C sur la zéine solide.

- pour les températures plus faibles, t_{vs} augmente fortement. On observe une différence plus marquée suivant le modèle utilisé. **Pour les températures les plus faibles, il semble nécessaire de prendre en compte la géométrie cylindrique avec le modèle de Hopper, l'approximation de la coalescence de particules sphériques n'étant plus satisfaisante.**

Une loi d'évolution de t_{vs} avec la température a pu être établie et utilisée pour simuler le frittage visqueux non-isotherme dans les conditions proches du procédé réel, en prenant en compte le

refroidissement plus ou moins rapide de la matière extrudée, en fonction des paramètres du procédé. **Dans le cas du procédé FA-DFF d'extrusion-dépôt ayant permis l'impression de la zéine plastifiée, un taux de coalescence satisfaisant est prédit par les simulations.**

En effet, dans les conditions d'impression 3D testées pour ce matériau et reproduites lors des simulations, l'adhésion entre les couches est particulièrement favorisée par une vitesse faible de dépôt de matière, un diamètre relativement élevé de filament fondu déposé et une température de transition vitreuse faible. **Ces conditions induisent un long temps de séjour à une température suffisamment élevée pour améliorer la coalescence entre filaments.**

Chapitre V : Etude de formulations alternatives : additifs et plastifiants fonctionnels

Chapitre V

Introduction

L'ensemble des travaux présentés dans les chapitres précédents a été centré sur une formulation « modèle » de zéine plastifiée par 20% de glycérol. Hors, comme nous l'avons vu, ce système présente certains défauts au regard du procédé FA-DFF. Tout d'abord, la volatilité du glycérol limite la température de mise en œuvre (au-delà de 130 °C, des bulles ont été observées lors des essais de frittage visqueux). Parallèlement, à la température de mise en œuvre de 130 °C, choisie car permettant l'obtention des niveaux de viscosité requis par le cahier des charges, l'agrégation de la zéine s'est révélée trop rapide pour permettre sa mise en œuvre par un procédé FA-DFF classique.

Dans ce dernier chapitre, nous étudierons deux stratégies de formulation pour essayer de remédier à ces problèmes et améliorer l'ouvrabilité de la zéine à l'état fondu :

- La première stratégie consiste à additiver la formulation de base zéine/glycérol : D'une part, nous étudierons l'influence de plastifiants hydrophobes (*i.e.*, acides gras) en essayant de tirer parti du caractère amphiphile de la structure prismatique de la zéine. D'autre part, nous étudierons l'influence d'un additif dénaturant de la zéine (*i.e.*, SDS), pour limiter son agrégation thermique par des interactions physiques non-covalentes. Enfin, l'influence d'un additif réducteur (*i.e.*, sulfite de sodium), permettant de limiter les réticulations covalentes par ponts disulfures, sera étudiée.

- La deuxième stratégie, plus exploratoire, consistera à étudier l'utilisation de liquides ioniques (LI), comme plastifiants fonctionnels, permettant à la fois de modifier le comportement rhéologique et l'agrégation, ainsi que d'apporter des fonctionnalités nouvelles au matériau final. Nous nous intéresserons en particulier à un liquide ionique contenant un principe actif pharmaceutique et à son relargage en milieu physiologique.

V.1. Combinaison du glycérol avec d'autres additifs

V.1.1. Co-plastification par des acides gras

Comme nous l'avons vu au chapitre III, la structure prismatique de la zéine semble stable au cours de sa mise en œuvre à l'état fondu en présence de glycérol. Hors, cette structure fait de chaque molécule de zéine un objet amphiphile. Par ailleurs, tel que présenté au chapitre I, les faces supérieure et inférieure du prisme sont de nature hydrophile et susceptibles d'interagir avec le glycérol. Les faces verticales du prisme sont quant à elles hydrophobes. Nous avons donc pensé à utiliser un co-plastifiant hydrophobe pouvant interagir avec ces faces et potentiellement limiter les possibilités d'agrégation entre les molécules par interactions hydrophobes.

L'étude de la plastification de la zéine par des plastifiants hydrophobes, seuls ou en combinaison avec le glycérol fait l'objet de plusieurs travaux dans la littérature. En présence d'acide oléique, une structure stratifiée a été observée en microscopie MEB et confirmée par des mesures en

diffraction des rayons-X (Lai *et al.*, 1999). Cette structure est due à des interactions non-covalentes avec la zéine qui lui confèreraient une plus grande mobilité moléculaire, en raison de la présence d'acide oléique sous forme de couche entre lamelles de zéine (Fig. V.1-a, d'après Lai *et al.*, 1999).

En présence de glycérol, un modèle de structure moléculaire de la zéine plastifiée par le glycérol et l'acide oléique a été proposé (Xu *et al.*, 2012). Nous le reproduisons sur la figure V.1-b. Chaque prisme/molécule de zéine est entouré de molécules de glycérol hydrophile et d'acide oléique (hydrophobe). Nous avons choisi d'étudier l'impact de ce type de structure sur le comportement rhéologique et l'agrégation. La substitution de l'acide oléique par l'acide laurique a aussi été étudiée, car elle présenterait l'avantage d'être à l'état solide à température ambiante, ce qui permettrait de garantir le maintien mécanique d'une pièce élaborée à partir de zéine et cet acide gras.

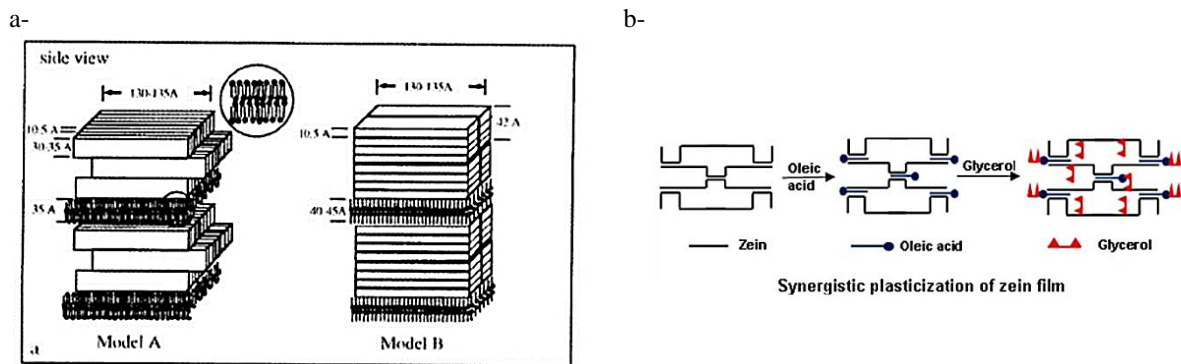


Figure V.1. Représentations schématiques : deux modèles possibles de structures lamellaires obtenus par la plastification de la zéine- α par l'acide oléique (d'après Lai *et al.*, 1999) (a-) et effet synergique de la plastification par l'acide oléique et le glycérol pour des films castés (d'après Xu *et al.*, 2012) (b-)

V.1.1.1. Influence sur le comportement rhéologique

Des formulations de zéine pulvérulente contenant 20% glycérol combiné à 20% d'acide oléique (Z20Gly20Ole) ou 20% d'acide laurique (Z20Gly20Lau), ont été introduites entre les plateaux du rhéomètre plan/plan à 20°C puis chauffées jusqu'à 130 °C (fréquence constante, $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$). Il est ensuite maintenu à cette température et soumis à un balayage en fréquence. La figure V.2 montre l'évolution des modules G' et G'' lors du chauffage, ainsi que du module de la viscosité complexe.

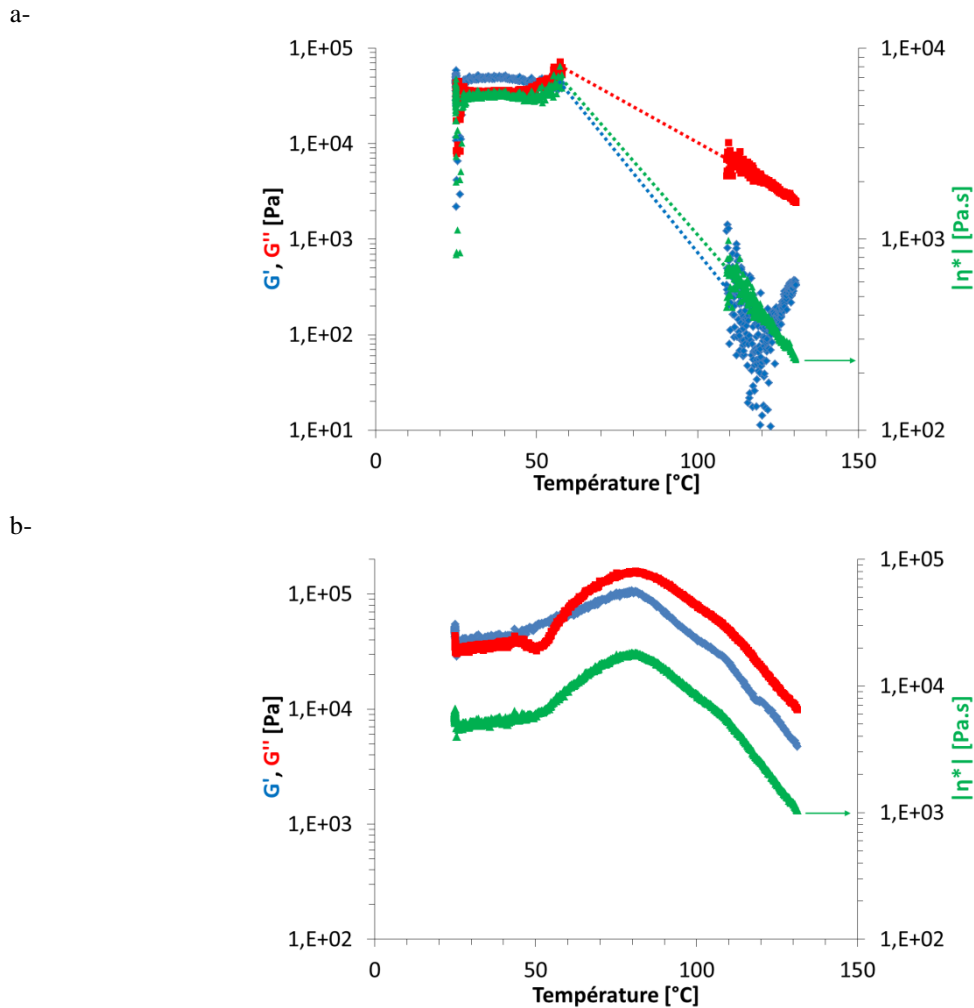


Figure V.2. Evolutions du module de viscosité complexe $|\eta^*|$, des modules de stockage G' et de perte G'' pour des compositions à base de zéine pendant leur chauffage (Z20Gly20Ole, a-, *perte de contact avec l'échantillon en pointillés sur la figure* ; Z20Gly20Lau, b-). Fréquence constante, $\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$. Notations : $|\eta^*|$ (-▲-, [Pa.s]), G' (-◆-, [Pa]), G'' (-■-, [Pa])

Lorsque l'acide oléique est utilisé en combinaison avec le glycérol (Z20Gly20Ole, Fig. V.2-a), il n'a pas été possible d'obtenir des courbes continues. Nous avons attribué ce problème à un phénomène d'exsudation important des plastifiants, qui entraîne une perte de contact avec la cellule de mesure à partir de 50 °C et jusqu'à 110 °C. La viscosité atteinte à 130 °C est très faible, de l'ordre de 0,2 à 0,3 kPa.s à 130 °C, bien inférieure à celle obtenue, de l'ordre de 3 kPa.s à 130 °C lorsque seul le glycérol est utilisé comme plastifiant.

Le matériau contenant de l'acide laurique, Z20Gly20Lau, présente une viscosité plus importante par rapport à celui contenant de l'acide oléique, avec des valeurs de l'ordre de 0,8 à 0,9 kPa.s à 130 °C (Fig. V.2-b). Ces différences de niveaux de viscosité sont confirmées par les mesures multifréquences à 130 °C aux temps de séjour courts (Fig. V.3). Les viscosités suivent des lois puissances (Tableau V.1), ainsi que les modules. Le module G'' est supérieur au module G' , comme pour la formulation de référence contenant uniquement du glycérol étudiée au chapitre III. Par ailleurs,

on observe des exposants m et r très proches pour les modules, ce qui suggère ici aussi un comportement de type polymère fondu non enchevêtré.

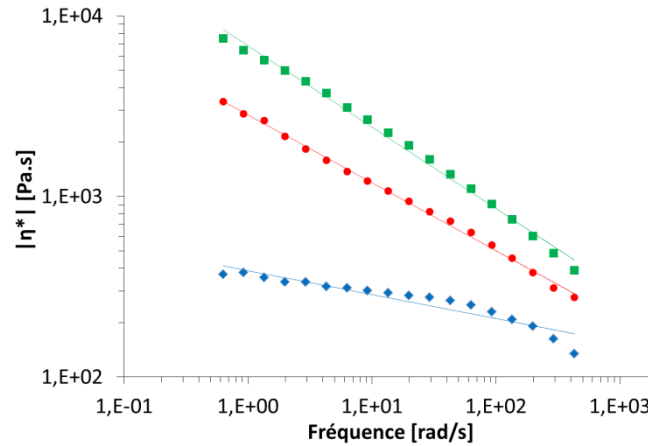


Figure V.3. Evolutions des modules des viscosités complexes $|\eta^*|$ des matériaux, à l’obtention complète de l’état fondu dans le rhéomètre à 130°C. Notations: Z20Gly (-■-), Z20Gly20Ole (-◆-) et Z20Gly20Lau (-●-)

Les évolutions des G' et G'' sont relativement proches pour ces deux matériaux fondus, avec un module de perte plus élevé que le module de stockage aux basses fréquences ($L > P$ pour chaque type de fondu, Tableau V.1), ce qui est typique d’un matériau polymérique fondu fluide ($G'' > G'$). Toutefois, comme dans le cas du fondu à base de zéine plastifiée uniquement par le glycérol (*cf.* Chapitre III, §III.2.2.3), le comportement de la zéine plastifiée en complément de ce plastifiant polaire par des acides gras semble donc différent de celui d’un polymère fondu enchevêtré, pour lequel on observe généralement une relation de type $m \approx 2.r$ (Al-Hadithi *et al.*, 1992).

Tableau V.1. Propriétés rhéologiques déterminées sur les fondus à base de zéine à 130°C à l’obtention complète du fondu dans le rhéomètre à partir du produit. Avec: $\eta^* = K. \omega^{n-1}$, $G' = L. \omega^m$ et $G'' = P. \omega^r$

Matériau	K [Pa.s ⁿ]	n	L [Pa.s ^m]	m	P [Pa.s ^r]	r
Z20Gly20Ole	397	0,86	110	0,94	412	0,82
Z20Gly20Lau	2774	0,61	1447	0,66	2320	0,61

Les figures V.4-a et -b permettent d’observer l’évolution de la tangente de l’angle de perte ($\tan\delta$) à différentes fréquences. Pour la formulation combinant le glycérol et l’acide oléique, on observe une diminution jusqu’à des valeurs proches de 1 après environ 40 min. Toutefois, on n’observe pas de croisement clair des courbes de $\tan \delta$, permettant de définir un point de gel comme pour la formulation de référence Z20Gly. Pour la formulation contenant de l’acide laurique, la diminution de $\tan\delta$ est plus lente et sa valeur reste supérieure à 1, excepté pour la fréquence la plus élevée. Cela suggérerait un ralentissement de l’agrégation pour ce plastifiant combiné au glycérol, mais l’augmentation très importante de la viscosité (Fig. V.4-c et -d), liée à l’exsudation massive des plastifiants pour ce type de formulations limite fortement l’intérêt de la co-plastification.

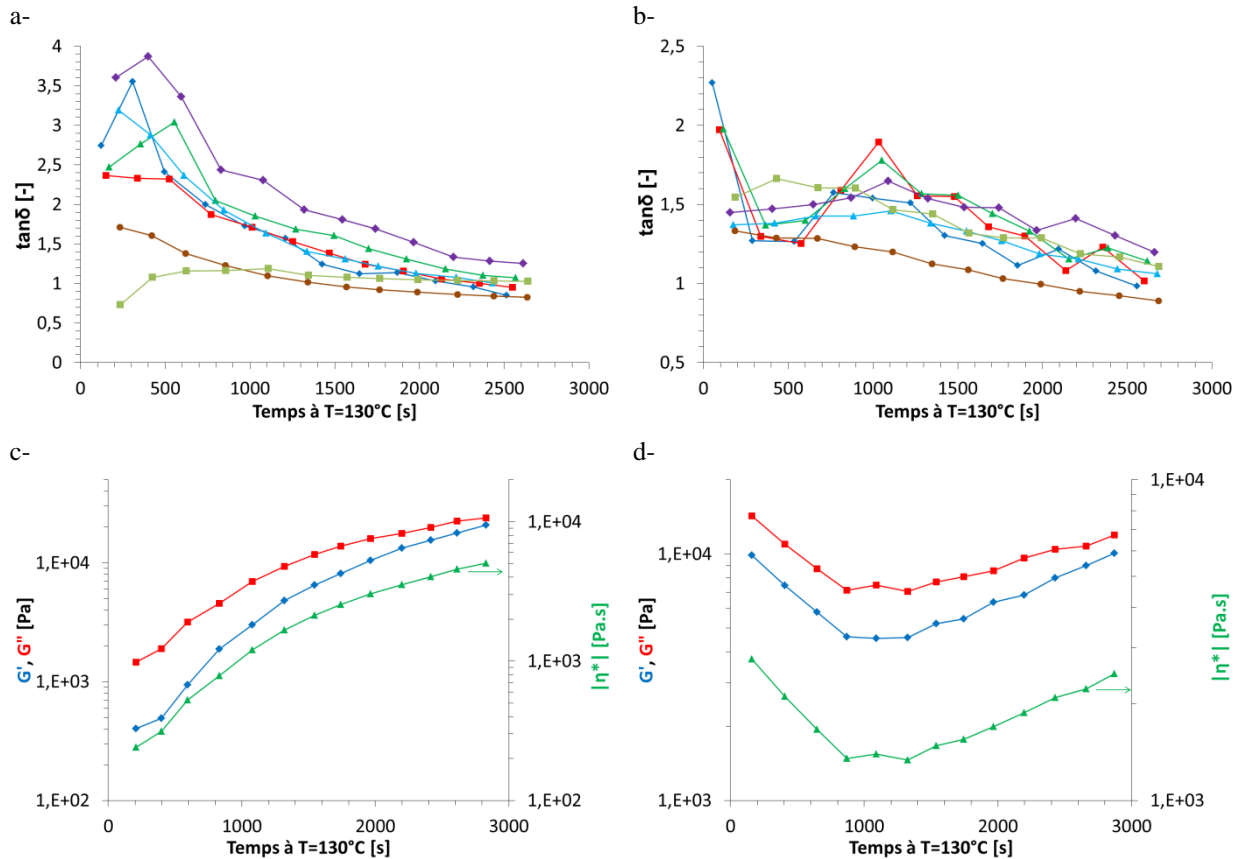


Figure V.4. Evolutions des facteurs d'amortissement, $\tan\delta$, pendant le plateau à $T=130^{\circ}\text{C}$: à $0,628\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacklozenge), $0,922\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacksquare), $1,354\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacktriangle), $6,280\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacklozenge), $62,832\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacktriangleleft), $291,640\text{ rad.s}^{-1}$ (\bullet) et $628,319\text{ rad.s}^{-1}$ (\blacksquare). Résultats obtenus pour des compositions à base de zéine plastifiée par 20% glycérol et 20% acide gras (acide oléique, ou acide laurique) : Z20Gly20Ole (a-) et Z20Gly20Lau (b-). Evolutions pour une fréquence constante ($6,280\text{ rad.s}^{-1}$) pendant le plateau à $T=130^{\circ}\text{C}$: des modules G' et G'' , ainsi que du module de viscosité complexe : Z20Gly20Ole (c-) et Z20Gly20Lau (d-)

V.1.1.2. Evolution de la structure moléculaire des matériaux fondus

Après 40 minutes à 130°C , l'analyse en SDS-PAGE des deux formulations de zéine co-plastifiées par le glycérol et un acide gras montre la présence de bandes de hautes masses moléculaires sur les électrophorogrammes ($> 116\text{ kDa}$ sur les pistes B et C, Fig.V.5-a). Ceci suggère une réticulation par création de ponts disulfure survenue pendant la mesure en rhéologie dynamique. Les bandes typiques de « monomères » de zéines- α sont obtenues sur les gels, entre 20 et 25 kDa , celles de « dimères » vers 45 kDa et traces de « tétramères » vers 100 kDa (cf. Chapitre III, §III.2.3.3).

Dans les deux cas, l'ajout d'un composé réducteur (β -mercaptoéthanol) entraîne une disparition de ces bandes sur les électrophorogrammes (pistes C et D, Fig.V.5-b), que l'on peut interpréter par la réduction des liaisons S-S en groupements sulfhydriles.

Comme pour la formulation de référence, Z20Gly, l'accroissement des viscosités des fondus contenant les acides gras lors de leur séjour à haute température s'explique donc par l'agrégation thermique de la zéine, notamment par des réticulations covalentes de type ponts disulfure.

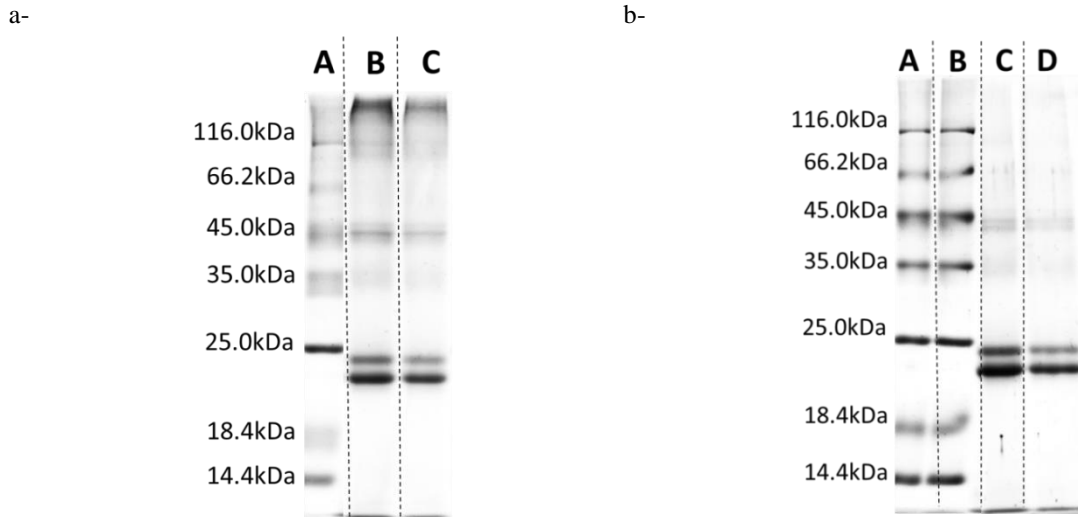


Figure V.5. Electrophorégrammes obtenus en SDS-PAGE, en conditions normales, sans ajout de composé chimique réducteur (a-) :

Piste A : Marqueurs de masses moléculaires,

B : Z20Gly20Ole après 40 min en rhéomètre oscillatoire à T=130°C (*idem* temps gel Z20Gly, cf. Chapitre III),

C : Z20Gly20Lau après 40 min en rhéomètre oscillatoire à T=130°C.

Résultats obtenus en SDS-PAGE en conditions réductrices, avec 3% de β-mercaptoéthanol (b-) :

A : Marqueurs de masses moléculaires,

B : Marqueurs de masses moléculaires-répétition/vérification dépôt et migration (*idem* piste A),

C : Z20Gly20Ole après 40 min en rhéomètre oscillatoire à T=130°C,

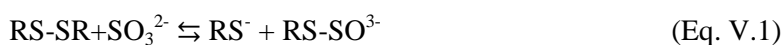
D : Z20Gly20Lau après 40 minutes en rhéomètre oscillatoire à T=130°C.

Il apparait donc clairement que la combinaison des deux types de plastifiants, amphiphile (acides gras) et polaire (glycérol) ne permet pas de supprimer l'agrégation de la zéine et l'apparition du phénomène de gélification. Par ailleurs, nous avons observé un phénomène d'exsudation, probablement dû au taux de plastifiant global de 40 % utilisé.

V.1.2. Ajout d'un composé chimique réducteur, ou dénaturant

D'après les résultats obtenus au chapitre III, l'agrégation de la zéine fait intervenir :

- d'une part, des liaisons covalentes avec la formation de ponts disulfure (S-S). Afin de limiter cette réaction nous avons ajouté à la formulation Z20Gly du sulfite de sodium. Une approche similaire a été décrite dans la littérature pour bénéficier de l'effet réducteur seul du sulfite de sodium et ainsi limiter la réticulation de la kératine lors de traitements thermomécaniques (Barone *et al.*, 2006). La quantité de sulfite de sodium ajoutée (1%) est ici environ 2 fois la quantité nécessaire pour réduire les liaisons S-S possibles à partir des résidus cystéine de la structure primaire de la zéine, qui représentent environ 0,8 à 1 % des acides aminés de la séquence des zéines-α (Shukla et Cheryan, 2001). La cystéine et l'ion cystéine-S-sulfonate sont formés par réaction des sulfites avec la cystéine (radical noté « R ») :



- d'autre part, des interactions non-covalentes. Pour les limiter, nous avons ajouté un tensio-actif (SDS). Cette approche est décrite dans la littérature, en particulier dans le cas de la zéine (Sessa *et al.*, 2006).

V.1.2.1. Comportement rhéologique en micro-mélangeur bi-vis et structure moléculaire des extrudés obtenus

L'évolution des viscosités apparentes déterminées lors d'essais en recirculation dans le micro-mélangeur bi-vis à 130 °C montre un effet retard lors de l'ajout de SDS et de sulfite (Fig. V.6) sur l'augmentation de la viscosité des fondus. L'agrégation thermique est donc retardée, mais pas arrêtée. Des résultats équivalents ont été obtenus dans le cas du SDS seul ajouté à la zéine lors d'essais en mélangeurs internes (Sessa *et al.*, 2006).

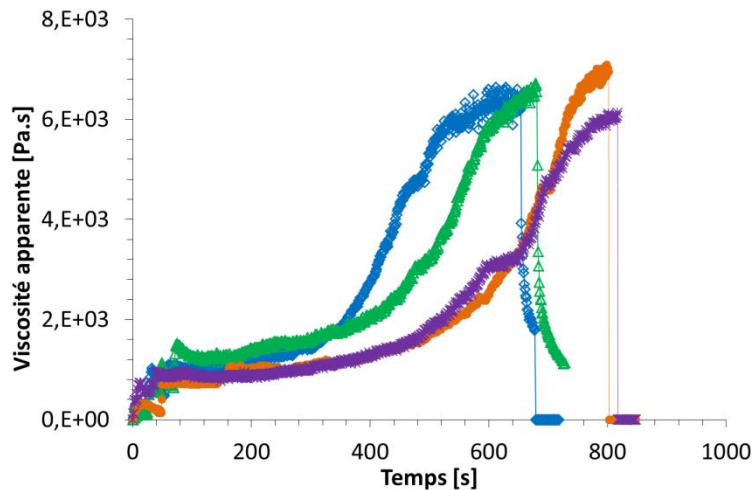


Figure V.6. Evolution de la viscosité apparente de fondus en micro-mélangeur bi-vis à 130°C pour des compositions à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol -Z20Gly-, en présence d'un tensio-actif (SDS) ou d'un agent réducteur (Sulfite). Notations : Z20Gly(-◇-), Z20Gly1Sulfite(-△-), Z20Gly2,5SDS (-●-) et Z20Gly2,5SDS1Sulfite(-*-)

Une caractérisation par électrophorèse SDS-PAGE est réalisée pour suivre l'évolution structurale après différents traitements thermomécaniques. Une extrusion pour un temps court (de l'ordre de 1 min) à 130 °C donne un matériau ne présentant pas d'évolution structurale (absence de bandes aux hautes masses moléculaires, piste B, Fig. V.7-a). Les bandes typiques de « monomères » de zéines- α sont obtenues entre 20 et 25kDa, de « dimères » vers 45 kDa et de faibles traces de « tétramères » vers 100 kDa (*cf.* Chapitre III, §III.2.3.3). Mais, après 5 ou 10 minutes de recirculation en micro-mélangeur à 130°C, des structures réticulées (bandes aux hautes masses moléculaires, > 120 kDa) apparaissent avec une intensité croissante avec le temps (pistes C et D, Fig. V.7-a ; Tableau V.2).

En présence de réducteur (sulfite de sodium) pour des temps de recirculation longs (> 10 min), les électrophorégrammes ne mettent pas de réticulation en évidence, alors que les propriétés rhéologiques évoluent vers une viscosité apparente importante au cours de la recirculation (piste E, Fig. V.7-a).

L'ajout d'un tensio-actif seul (SDS) ne limite pas l'agrégation de façon aussi importante que l'ajout du composé réducteur, avec l'apparition de bandes de hautes masses moléculaires sur le gel (piste F, Fig. V.7-a). L'ajout combiné du tensio-actif et du réducteur, conduisant à une augmentation retardée de viscosité apparente en micro-mélangeur bi-vis, donne un matériau non réticulé sans bande aux hautes masses moléculaires (piste G, Fig. V.7-a).

A 120°C, comme à 130 °C, sans recirculation, la structure de la zéine plastifiée par 20% de glycérol ne présente pas de réticulation pour des temps courts d'extrusion, en accord avec les résultats obtenus en rhéologie dynamique au chapitre III : le temps de gel est lié à la température d'obtention de la zéine plastifiée par le glycérol (piste H, Fig. V.7-a).

Pour l'ensemble de ces matériaux l'ajout de β -mercaptoéthanol lors de l'analyse SDS-PAGE entraîne la suppression des bandes de plus hautes masses moléculaires par l'effet de la réduction chimique entraînant la rupture des agrégats protéiques (Fig. V.7-b). Même si elles sont en nombre réduit pour la zéine, par rapport à d'autres protéines végétales, les liaisons de type ponts disulfure générées pendant le traitement thermomécanique sont donc importantes pour le maintien des structures réticulées. Elles constituent très probablement la principale cause de l'augmentation de viscosité observée et donc la limite la plus forte à la mise en œuvre de la zéine à l'état fondu.

Un tableau récapitulatif présente les résultats obtenus concernant les matériaux à base de zéine, leurs propriétés rhéologiques en écoulement et leur évolution structurale à l'état fondu (Tableau V.2).

Tableau V.2. Structure et propriétés rhéologiques en écoulement de matériaux à base de zéine: température de transition vitreuse, T_g , déterminée par AED ($3^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) ; propriétés déterminées en micro-mélangeur bi-vis à 130°C (50rpm, $\dot{\gamma}=6\text{s}^{-1}$): $\text{EMS}_{10\text{min}}$, l'EMS mesurée après 10min de recirculation et η_{appMax} , la viscosité apparente en fin de recirculation (au plateau atteint à viscosité maximale); évolutions structurales déterminées par SDS-PAGE en conditions normales : sur les filaments extrudés sans recirculation dans le micro-mélangeur et après recirculation jusqu'au plateau à viscosité maximale (η_{appMax})

Matériau et température d'extrusion en micro-mélangeur bi-vis	T_g [°C]	$\text{EMS}_{10\text{min}}$ [J.g ⁻¹]	η_{appMax} [kPa.s]	Evolution structurale sans recirculation	Evolution structurale après recirculation*
Z20Gly 130°C	42	87 (± 6)	6,4 ($\pm 0,4$)	Absence	Traces aux hautes masses moléculaires : réticulation
Z20Gly 120°C sans recirculation	42	-	-	Absence	-
Z20Gly1Sulfite 130°C	41	97 (± 5)	6,7 ($\pm 0,1$)	-	Absence
Z20Gly2,5SDS 130°C	42	78 (± 5)	7,5 ($\pm 0,3$)	-	Traces aux hautes masses moléculaires : réticulation
Z20Gly2,5SDS1Sulfite 130°C	42	73 (± 4)	6,3 ($\pm 0,2$)	-	Absence

*N.B. : Quel que soit le matériau extrudé, son temps ou sa température de traitement thermomécanique, aucune réticulation n'est visible par SDS-PAGE en conditions réductrices

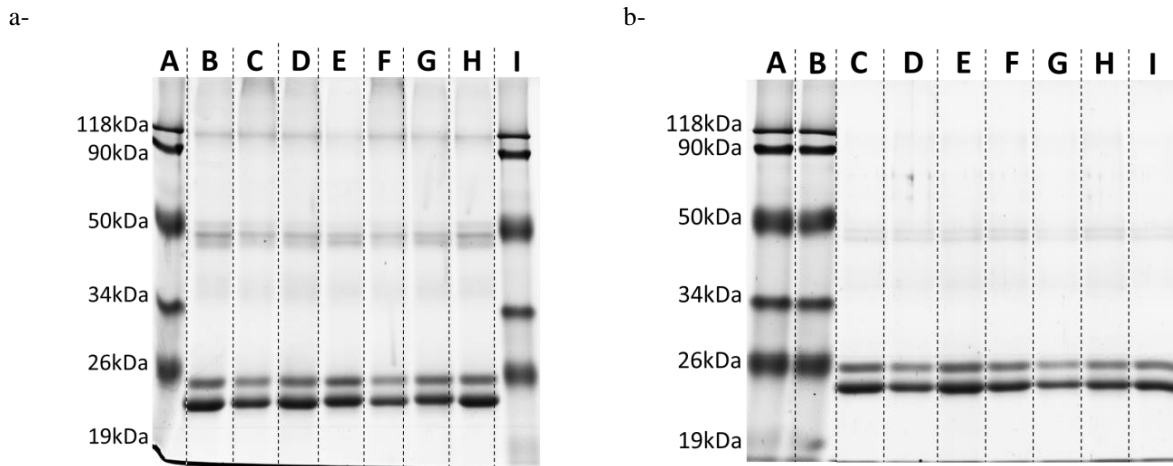


Figure V.7. Caractérisation par SDS-PAGE de matériaux extrudés en micro-mélangeur bi-vis à base de zéine plastifiée par le glycérol, en présence d'un tensio-actif (SDS) ou d'un composé réducteur (Sulfite).

Electrophorèse en conditions normales (a-)

- A : Marqueur de masses moléculaires,
- B : Z20Gly_EBV à 130°C,
- C : Z20Gly_EBV_10min à 130°C,
- D : Z20Gly_EBV_5min à 130°C,
- E : Z20Gly1Sulfite_EBV_12min à 130°C,
- F : Z20Gly2,5SDS_EBV_13min à 130°C,
- G : Z20Gly2,5SDS1Sulfite_EBV_14min à 130°C,
- H : Z20Gly_EBV à 120°C,
- I : Marqueur de masses moléculaires (*idem* marqueurs déposés sur la piste A).

Electrophorèse en conditions réductrices, avec ajout de 3% de β -mercaptoéthanol (b-) :

- A : Marqueur de masses moléculaires,
- B : Marqueur de masses moléculaires (*idem* marqueurs déposés sur la piste A),
- C : Z20Gly_EBV à 130°C,
- D : Z20Gly_EBV_10min à 130°C,
- E : Z20Gly_EBV_5min à 130°C,
- F : Z20Gly1Sulfite_EBV_12min à 130°C,
- G : Z20Gly2,5SDS_EBV_13min à 130°C,
- H : Z20Gly2,5SDS1Sulfite_EBV_14min à 130°C,
- I : Z20Gly_EBV à 120°C.

V.1.2.2. Comportement viscoélastique des fondus et agrégation thermique

Les propriétés des fondus de l'ensemble des matériaux à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol ont été mesurées par rhéométrie oscillatoire. L'ajout de SDS donne une viscosité très faible à 130°C (de l'ordre de 1 kPa.s ; Z20Gly2,5SDS, Fig. V.8-a) et le point de gel apparaît plus tardivement qu'avec le glycérol seul ($\tan\delta = 1$ après $t_{130^\circ\text{C}} \approx 3000\text{s}$; Fig. V.8-b). Par l'ajout de sulfite de sodium à cette composition, des viscosités faibles sont aussi obtenues, mais avec un point de gel apparaissant pour des temps plus courts (1500 s à 2000 s après le début du plateau à $T = 130^\circ\text{C}$; Z20Gly2,5SDS1Sulfite, Fig.V.8-b). Le sulfite de sodium ajouté seul à la zéine plastifiée par le glycérol (Z20Gly1Sulfite) donne un temps de gel intermédiaire ($\tan\delta = 1$ après $t_{130^\circ\text{C}} \approx 2000\text{-}2500\text{s}$; Fig. V.8-b). Il semble donc que lors des mesures en rhéomètre oscillatoire, en l'absence de cisaillement important tel que c'était le cas en micro-mélangeur bi-vis, l'accessibilité des sulfites aux protéines agrégées soit empêchée.

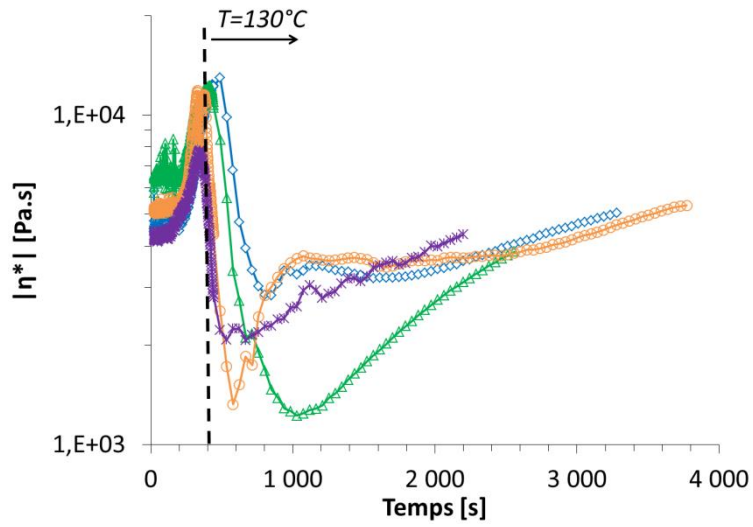
Ces résultats sont confirmés lors de balayages en fréquence, où les temps les plus longs pour l'obtention d'un point de gel sont mesurés pour la composition avec le tensio-actif seulement ajouté à la zéine plastifiée ($t_{\tan\delta=1} \approx 2600$ s ; Z20Gly2,5SDS, Fig. V.9-a). L'effet d'affaiblissement sur la viscosité des fondus est aussi le plus remarquable avec K augmentant de $2007 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{0.64}$ à l'obtention des fondus jusqu'à $9698 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{0.51}$ au point de gel (Fig.V.9-d et Tableau V.3).

Un temps de gel intermédiaire est obtenu pour le sulfite de sodium ajouté seul ($t_{\tan\delta=1} \approx 1500$ - 2000 s ; Z20Gly1Sulfite, Fig. 9-b) et apparemment faible, mais plus difficile à déterminer, pour la composition où SDS et sulfite sont ajoutés (Fig. 9-c).

Pour l'ensemble des matériaux testés, on mesure des évolutions parallèles des modules de stockage, G' , et de perte, G'' , avec des exposants m et r proches dès l'obtention de l'état fondu à 130°C puis aux temps plus longs, à leurs points de gel respectifs (Tableau V.3). Ce résultat est semblable à ceux obtenus avec le glycérol comme plastifiant seul (*cf.* Chapitre III, §III.2.2). Ils sont typiques d'un comportement viscoélastique d'un polymère partiellement agrégé-réticulé à l'état fondu, comme dans le cas de la plastification de la zéine avec l'eau seule (Madeka et Kokini, 1996).

De la même façon qu'avec Z20Gly (*cf.* Chapitre III, §III.2.2), on ne retrouve pas une pente 2 fois plus importante pour l'évolution du G' par rapport à celle du G'' en fonction de la fréquence ($m \approx 2.r$; Tableau V.3), tel que ce serait le cas pour un polymère non réticulé (comportement Maxwellien d'un polymère fondu enchevêtré non réticulé; Al-Hadithi *et al.*, 1992 ; Madeka et Kokini, 1996).

a-



b-

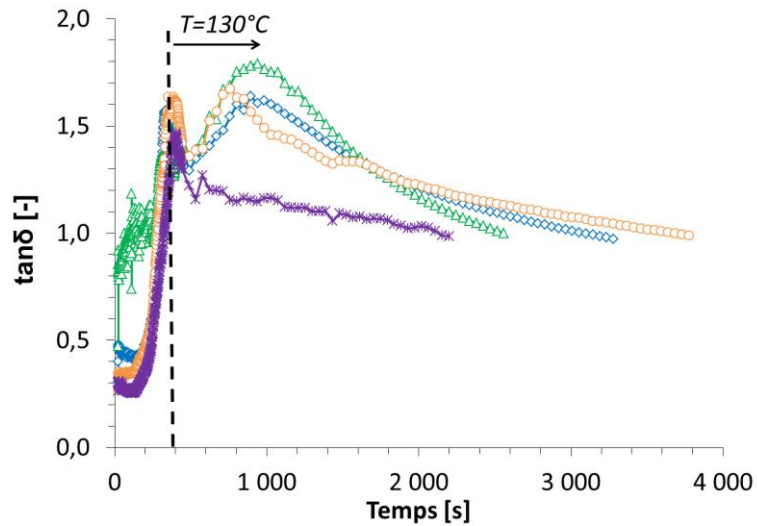


Figure V.8. Evolution à fréquence constante ($\omega_0 = 10,47 \text{ rad.s}^{-1}$) lors du maintien à 130°C de la viscosité (a-) et du facteur d'amortissement (b-) de compositions à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol -Z20Gly-, en présence d'un tensio-actif (SDS), ou d'un agent réducteur (Sulfite). Notations : Z20Gly (-◇-), Z20Gly1Sulfite (-△-), Z20Gly2,5SDS (-○-) et Z20Gly2,5SDS1Sulfite (-*-)

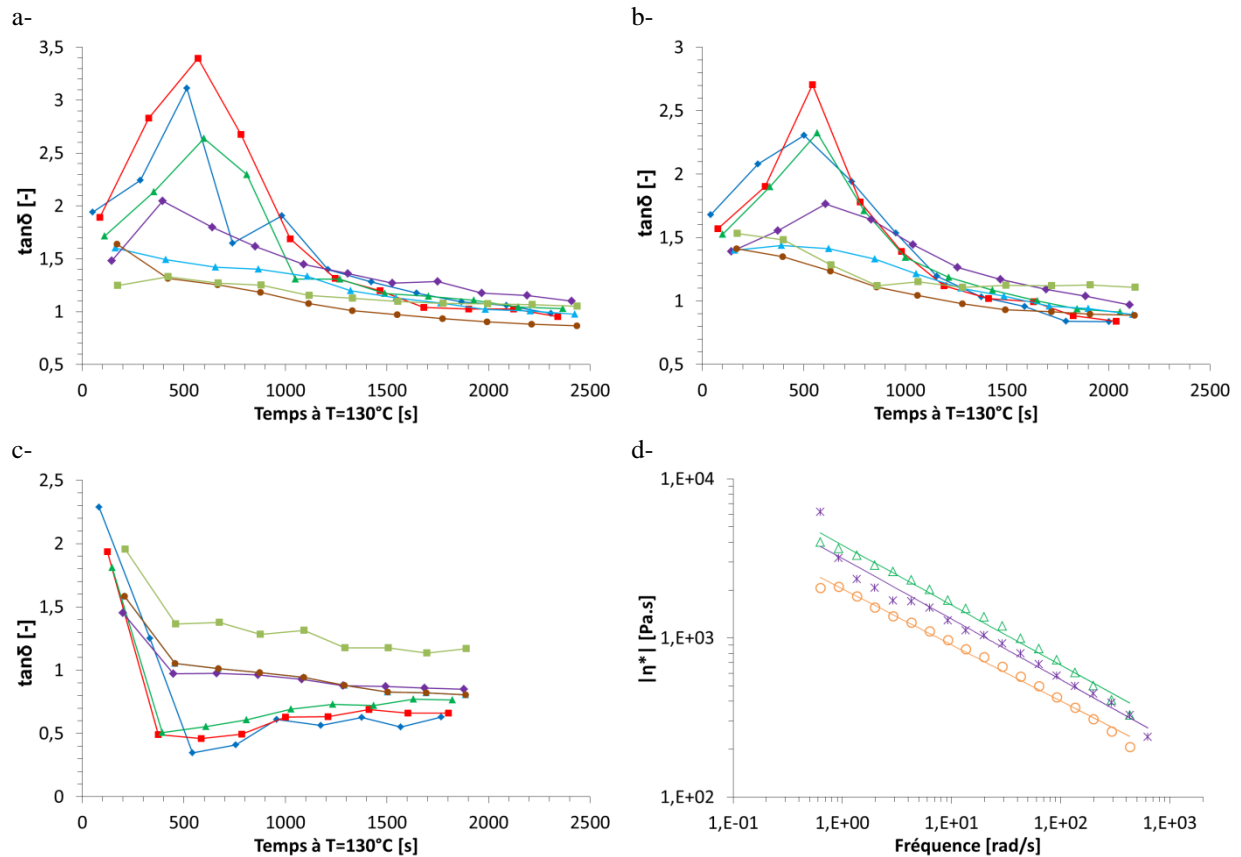


Figure V.9. Evolutions des facteurs d'amortissement, $\tan\delta$, pendant le plateau à T=130°C: à 0,628 rad.s⁻¹ (-◆-), 0,922 rad.s⁻¹ (-■-), 1,354 rad.s⁻¹ (-▲-), 6,280 rad.s⁻¹ (-◆-), 62,832 rad.s⁻¹ (-▲-) et 628,319 rad.s⁻¹ (-■-). Résultats obtenus pour des compositions à base de zéine plastifiée par 20% glycérol en présence d'un tensio-actif (Z20Gly2,5SDS, a-), d'un composé réducteur (Z20Gly1Sulfite, b-) et des deux (Z20Gly2,5SDS1Sulfite, c-). Evolutions des modules des viscosités complexes $|\eta^*|$ en rhéologie dynamique à l'obtention complète des fondus dans le rhéomètre à 130°C (d-). Notations : Z20Gly1Sulfite (-▲-), Z20Gly2,5SDS (-○-) et Z20Gly2,5SDS1Sulfite (-*-)

Tableau V.3. Propriétés rhéologiques déterminées sur les fondus à base de zéine à 130°C plastifiée par le glycérol avec un composé réducteur et/ou un tensio-actif : au minimum de viscosité à l'obtention complète du fondu dans le rhéomètre à partir du produit pulvérulent (*) et au point de gel à T=130°C (**). Avec: $\eta^* = K \cdot \omega^{n-1}$, $G' = L \cdot \omega^m$ et $G'' = P \cdot \omega^r$

Matériau	K [Pa.s ⁿ]	n	L [Pa.s ^m]	m	P [Pa.s ^r]	r
Z20Gly1Sulfite*	3646	0,62	1827	0,67	3198	0,59
Z20Gly1Sulfite**	22658	0,44	17929	0,43	13905	0,45
Z20Gly2,5SDS*	2007	0,64	891	0,70	1832	0,61
Z20Gly2,5SDS**	9698	0,51	7091	0,51	6760	0,51
Z20Gly2,5SDS1sulfite*	3207	0,61	1701	0,64	2630	0,62
Z20Gly2,5SDS1sulfite**	12289	0,46	11900	0,41	6508	0,52

Un agent dénaturant tensio-actif, tel que le SDS, pourrait donc être envisagé comme auxiliaire technologique favorisant l'ouvrabilité de la zéine en ralentissant son agrégation. Par contre, l'ajout de sulfite ne semble avoir un effet supplémentaire à celui du SDS qu'en écoulement, lors de l'extrusion

de la zéine. Leur effet n'est que partiel sur l'agrégation thermique sans champs de cisaillement important, tel qu'en rhéomètre oscillatoire. La synergie escomptée entre agent dénaturant et composé réducteur n'est pas obtenue, probablement du fait de l'absence d'accessibilité aux sites réactionnels, tel que cela a été rapporté dans la littérature lors de la thermoplastification de la kératine en présence de sulfite de sodium comme additif réducteur (Barone *et al.*, 2006 ; Shi et Dumont, 2014).

V.2. Plastification de la zéine par des liquides ioniques

Comme nous l'indiquions au chapitre I, la plastification de la zéine par des liquides ioniques a très peu été étudiée. Seule sa plastification par un liquide ionique commercial [1-butyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] a été étudiée dans notre laboratoire avec la mise en évidence d'un effet plastifiant plus marqué qu'avec le glycérol. Par ailleurs, l'intérêt de ce type de plastifiant est d'être très peu volatil, comparé au glycérol.

Nous avons souhaité tester différentes combinaisons d'ions avec :

- Deux liquides ioniques commerciaux à base de cations imidazolium : [1-Allyl-3-Méthylimidazolium][Chlorure]) et [1-Ethyl-3-Méthylimidazolium][Acétate]. Le choix de comparer l'impact des ions chlorure et acétate vient du fait que l'acide acétique est connu pour être un solvant très efficace de la zéine, limitant son agrégation (Li *et al.*, 2012 ; Hu *et al.*, 2013)

- Deux liquides ioniques synthétisés à façon : Un liquide ionique produit au laboratoire [Cholinium][Acétate], combinant des anions acétates à un cation moins toxique que les imidazolium. Les ions cholinium sont en effet issus du chlorure de choline, un nutriment essentiel de la classe des vitamines B. L'autre liquide ionique nous a été fourni par le laboratoire UTINAM : [Lidocaïnum][Ibuprofénate] (liquide ionique avec un effet thérapeutique double, la lidocaïne étant un anesthésique local et l'ibuprofène un anti-inflammatoire non stéroïdien ; Wang *et al.*, 2014). Ce liquide ionique pharmaceutique a déjà été utilisé pour plastifier des polymères tels que le PLLA (Jouannin *et al.*, 2014). Ce travail avait montré une grande affinité du plastifiant ionique avec la matrice polymère et un effet sur le relargage de ces composés lorsque le matériau était placé en conditions physiologiques. Nous étudierons donc à la fois son influence sur le comportement de la zéine à l'état fondu, puis son relargage.

V.2.1. Propriétés thermomécaniques et comportements rhéologiques

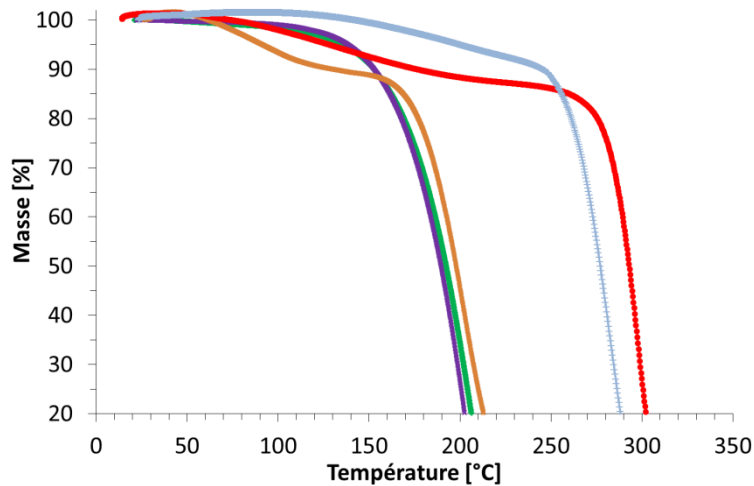
V.2.1.1. Stabilité thermique et extrusion en micro-mélangeur

Comme indiqué plus haut, un des avantages potentiels des liquides ioniques sur le glycérol est d'être très peu volatil, ce qui permettrait d'augmenter la température maximale de mise en œuvre de la zéine plastifiée. Toutefois, il est aussi nécessaire de prendre en compte la stabilité thermique.

La caractérisation par thermogravimétrie des liquides ioniques seuls met en évidence plusieurs pertes de masse (Fig. V.10-a). Les liquides ioniques contenant des ions acétates, fortement hydrophiles, présentent une première perte de masse vers 100 °C due à la présence d'eau.

Les pertes de masse intervenant à des températures supérieures correspondent à la dégradation thermique. Les liquides ioniques commerciaux à base d'ion imidazolium sont les plus stables avec des températures de décomposition supérieures à 250°C. Le [Cholinium][Acétate] et le [Lidocaïnum][Ibuprofénate] sont beaucoup plus thermosensibles, avec une dégradation vers 150-200°C. Cette gamme de température correspond à l'évaporation du glycérol (Fig. V.10-a). Ces deux liquides ioniques ne permettront donc pas d'augmenter la température de mise en œuvre de la zéine. Néanmoins, un traitement thermomécanique de courte durée (*i.e.*, extrusion sans recirculation en micro-mélangeur) peut être envisagé, le mélange avec le biopolymère pouvant aussi jouer un effet protecteur en température (Fig. V.10-b).

a-



b-

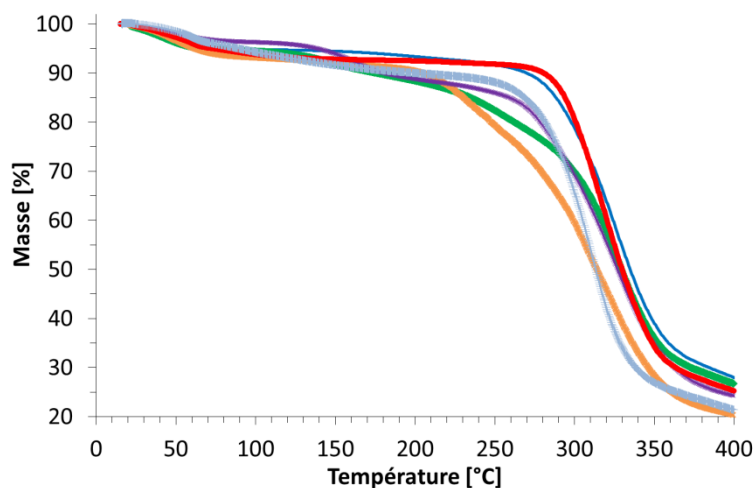


Figure V.10. Suivi par thermogravimétrie des liquides ioniques et du glycérol seuls (a-) et des mélanges à base de zéine plastifiés par l'ajout de 20% de ces mêmes composés (b-). Notations : Glycérol (◇-), [Lidocaïnum][Ibuprofénate] (-x-), [Cholinium][Acétate] (-*-), [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] (-●-), [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] (-+-) et zéine commerciale brute seule (—, présentée en b- seulement)

L'extrusion directe de filaments à base de zéine en présence de liquides ioniques (20%) donne des valeurs de couple basses ne dépassant pas la limite inférieure détectable de l'ordre de 1 à 2 N.cm et assez similaires de celles mesurées avec le glycérol (*cf.* Chapitre III, §III.2.1). Mais, lors de la recirculation des fondus dans micro-mélangeur à 130°C, on peut comparer l'effet fluidifiant qui décroît depuis celui de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] (montée plus rapide de la viscosité apparente qu'avec le glycérol, à 9 kPa.s en moins de 5 min), puis de [1-Allyl-3-méthylimidazolium] [Chlorure] et de [Cholinium][Acétate] et enfin de [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] qui limite au mieux l'augmentation de viscosité des fondus (Fig.V.11). L'agrégation thermique de la protéine se produit plus tard dans ce cas qu'avec la zéine plastifiée par le glycérol (≈ 10 min à 130°C ; *cf.* Chapitre III, §III.2.1).

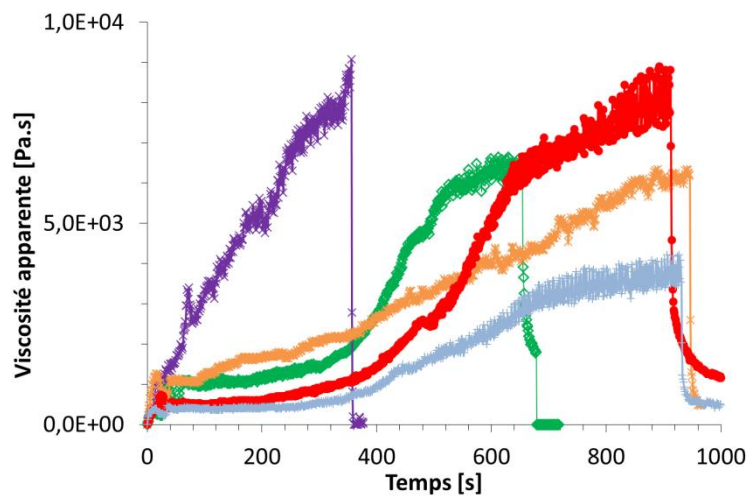


Figure V.11. Evolutions de la viscosité apparente pendant la recirculation en micro-mélangeur bi-vis (50 rpm, 130 °C) pour l'obtention de filaments extrudés ($\varnothing_{\text{filament}}=2\text{mm}$) à base de zéine avec 20% de plastifiant ajouté. Notations selon le plastifiant : Glycérol (-◇-), [Lidocaïnum][Ibuprofénate] (-x-), [Cholinium][Acétate] (-*-), [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] (-●-) et [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] (-+-)

V.2.1.2. Structure moléculaire

Les résultats obtenus en diffraction des rayons-X aux grands angles (WAXS) montrent un caractère semi-cristallin du liquide ionique [Cholinium][Acétate] (Fig. V.12-a). Ce liquide ionique présente en effet une température de fusion de 50°C (Colomines *et al.*, 2016). Une fois mélangé à 20% de la masse de zéine pulvérulente, puis extrudé, on retrouve essentiellement les deux distances typiques, à 4,5Å et 9,5 Å d'après la loi de Bragg, correspondant respectivement aux squelettes en hélices- α de la zéine et aux arrangements inter-hélices pour une structure globalement amorphe retrouvée après extrusion (Fig. V.12-b) (Wang *et al.*, 2005 ; Oliviero *et al.*, 2010). La structure cristalline de l'acétate de choline n'est alors plus visible sur les diffractogrammes des extrudés. L'ensemble de ces matériaux à base de zéine plastifiée par les liquides ioniques présente donc une organisation amorphe.

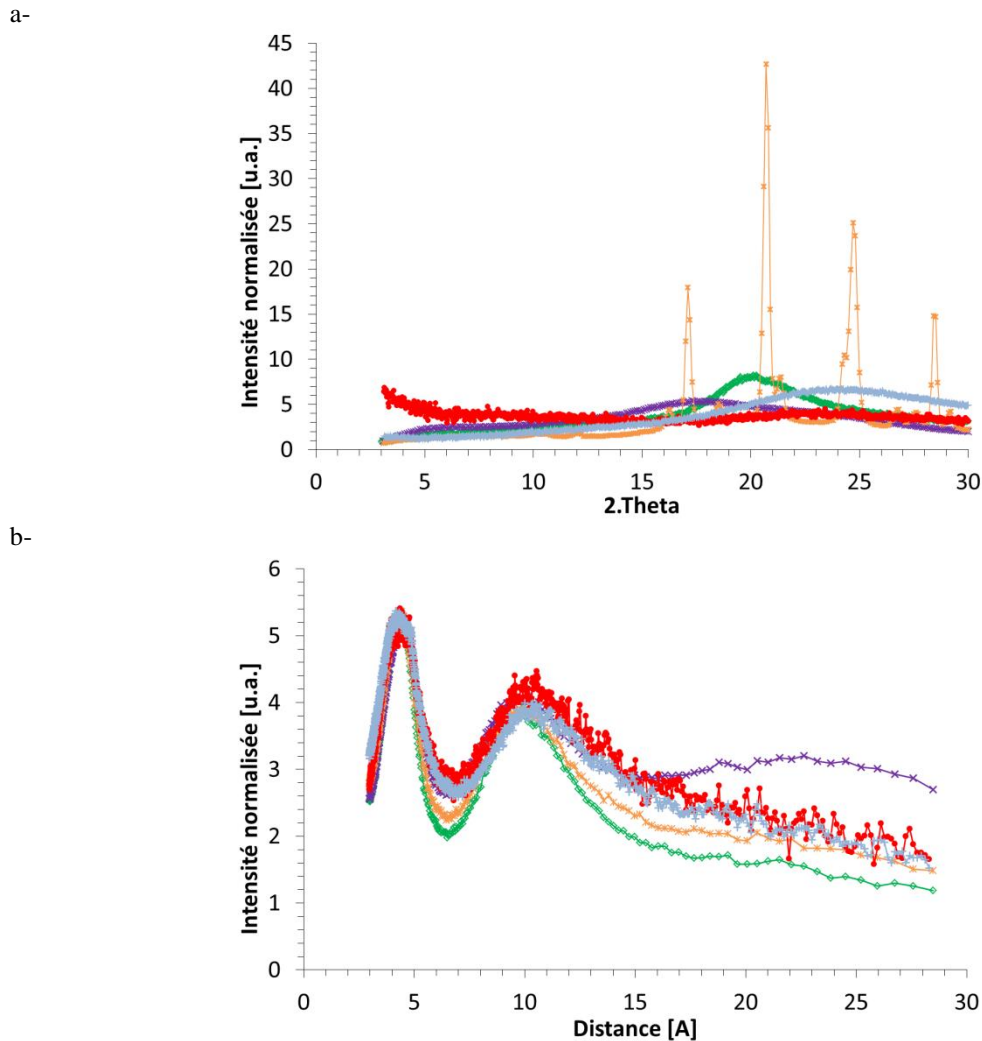


Figure V.12. Diffractogrammes en rayons X aux grand angles (WAXS) : glycérol seul et les liquides ioniques seuls exprimés en angle (2θ) (a-) et en distance pour les filaments extrudés à base de zéine avec 20% de ces plastifiants ajoutés (b-). Notations : Glycérol (-◇-), [Lidocaïnium][Ibuprofénate] (-x-), [Cholinium][Acétate] (-*-), [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] (-●-) et [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] (-+-)

V.2.1.3. Propriétés thermiques et thermomécaniques

Les propriétés thermomécaniques des filaments extrudés à 130°C sans recirculation avec le micro-mélangeur bi-vis sont présentées avec celles du matériau à base de zéine plastifiée par 20% de glycérol (Fig.V.13). L'ensemble des matériaux a été stocké à humidité contrôlée HR = 59 % à 20 °C avant ces essais. Leurs teneurs en eau sont différentes selon le plastifiant ajouté, ainsi que leurs températures de relaxation mécanique principale, T_{α} , déterminée en ATMD et de transition vitreuse, T_g (Fig.V.13), en AED (Tableau V.4).

Tableau V.4. Propriétés thermomécaniques de filaments extrudés à base de zéine (en micro-mélangeur bi-vis, à 130°C, sans recirculation de matière) et pour la zéine commerciale brute, après stockage à 20°C en humidité contrôlée HR=59%

Matériau	Teneur en eau [% , mt]	T _g [°C]	T _α [°C]
Zéine commerciale brute	4,2	85	-
Z20Gly_EBV	6,6	42	55
Z20ACH_EBV	11,1	42	63
Z20LID_EBV	3,0	56	80
Z20AMIM_EBV	6,1	15	49
Z20EMIM_EBV	7,5	12	44

Les évolutions du module élastique et du facteur d'amortissement, $\tan\delta$, des matériaux sont liées au plastifiant, liquide ionique ou glycérol et à leur hygroscopicité (Tableau V.4). Pour la zéine extrudée avec 20% glycérol, le module élastique est de l'ordre de $E' = 1$ GPa à l'ambiante, puis $E' < 1$ MPa à $T = T_{\alpha} + 50^{\circ}\text{C}$). Un résultat est proche dans le cas de [Cholinium][Acétate] ajouté, mais sa thermostabilité peut remettre en cause son utilisation et son hygroscopicité importante peut expliquer un module et une T_{α} faibles comme c'est le cas. Le matériau à base de zéine plastifiée par [Lidocaïne][Ibuprofénate] présente un module E' supérieur, du fait d'une très faible hygroscopicité et d'un pouvoir moindre de ce LI pour plastifier la zéine, tel que mesuré par l'évolution de viscosité en recirculation. Sa relaxation mécanique principale a aussi lieu à des températures plus élevées, de l'ordre de $T_{\alpha} \approx 80^{\circ}\text{C}$. Pour les matériaux à base de zéine plastifiée par [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] et [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate], leur effet plastifiant évalué en recirculation (Fig.V.11 ; surtout pour le dernier) et leur forte hygroscopicité conduisent à des modules plus faibles (E' de l'ordre de 0,5 GPa à l'ambiante) et des relaxations mécaniques principales à des températures plus faibles, de l'ordre de $T_{\alpha} \approx 45^{\circ}\text{C}$ (Fig. V.13). Ces matériaux très plastifiés par les liquides ioniques qu'ils contiennent sont souples à l'ambiante, contrairement à l'ensemble des matériaux présentés dans cette étude.

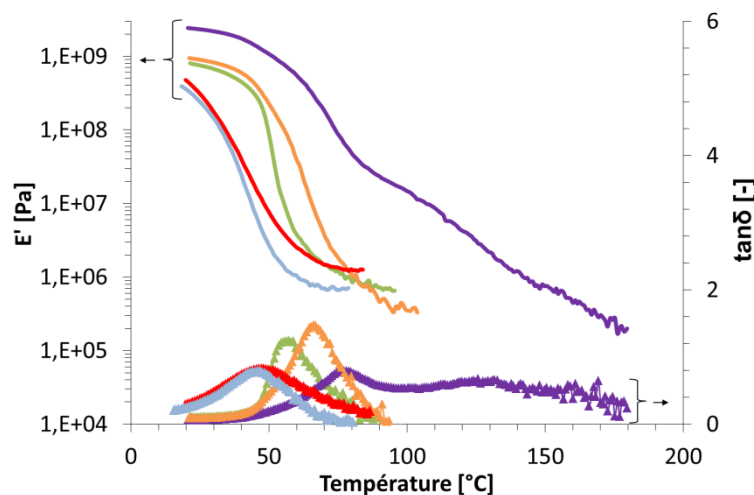
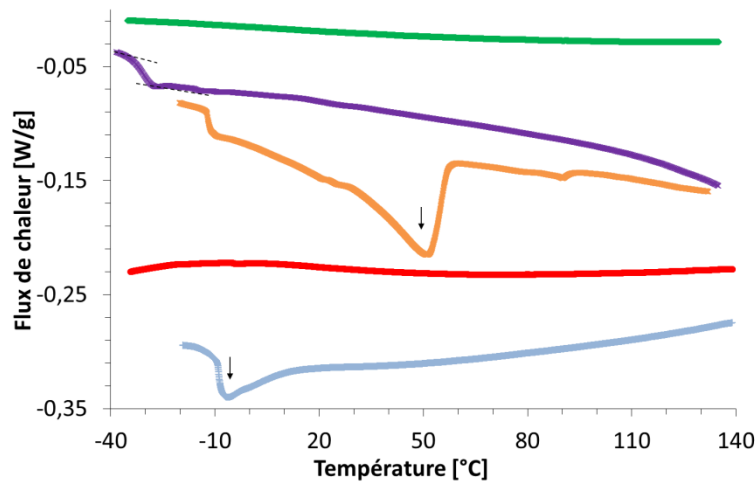


Figure V.13. Résultats obtenus en Analyse Thermo-Mécanique Dynamique (3°C/min) pour les filaments extrudés à base de zéine avec 20% de plastifiant ajouté. Modules de stockage (E' , [Pa]) présentés en traits pleins et facteurs d'amortissement ($\tan\delta$, [-]) avec des symboles « triangles ». Notations : Z20Gly_EBV (—), Z20LID_EBV (—), Z20ACH_EBV (—), Z20AMIM_EBV (—) et Z20EMIM_EBV (—)

Le liquide ionique [Lid][Ibu] présente une transition vitreuse seule (Fig.V.14-a). Elle est évaluée à $T_{g_{[Lid][Ibu]}} \approx -30\text{ }^{\circ}\text{C}$, ce qui est proche de celle présentée dans la littérature (Jouannin *et al.*, 2014). Il est bien liquide à température ambiante, contrairement au [Cholinium][Acétate] qui est semi-cristallin (endotherme à $T_m \approx 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, visible sur Fig. V.14-a). Une fois mélangé à la zéine, la température de transition vitreuse est inférieure à celle de cette protéine commerciale brute ($T_{g_{Zéine_Brute}} \approx 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ après stockage à HR = 59%, 20°C ; Fig. V.14-b), montrant l'effet plastifiant de ces composés comme celui du glycérol ($T_{g_{Z20Gly}} \approx 42\text{ }^{\circ}\text{C}$), avec $T_{g_{Z20ACH}} \approx 41,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour 20% de [Cholinium][Acétate] ajouté à la zéine et $T_{g_{Z20LID}} \approx 56,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour 20% de [Lidocaïnium][Ibuprofénate].

a-



b-

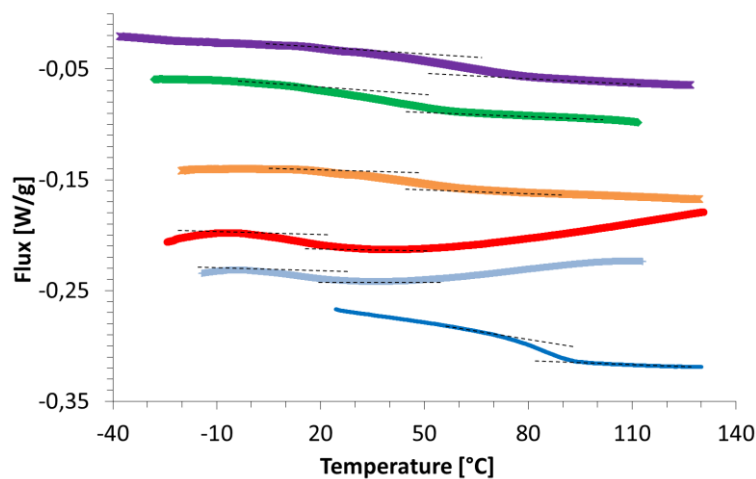


Figure V.14. Résultats obtenus en Analyse Enthalpique Différentielle (AED, $3^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) avec les liquides ioniques seuls (a-) et des mélanges à base de zéine plastifiés par l'ajout de 20% de ces composés. Notations en fonction des plastifiants: Glycérol (-◇-), [Lidocaïnium][Ibuprofénate] (-x-), [Cholinium][Acétate] (-*-), [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] (-●-) et [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] (-+-) et zéine commerciale brute seule (—, présentée en b- seulement). Tangentes en pointillés (---) pour la détermination des transitions vitreuses et flèches verticales (↓) pour les fusions

Les transitions vitreuses de zéine plastifiée par 20% de [1-Allyl-3-méthylimidazolium][Chlorure] (amorphe sur l'ensemble de la gamme de température suivie en AED)

ou de [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] (semi-cristallin, avec $T_m \approx -8^\circ\text{C}$, visible sur Fig. V.14-a) sont de l'ordre de $T_g = 15$ et 12°C , respectivement.

Ces résultats semblent en accord avec ceux obtenus en ATMD concernant le classement des températures de relaxation mécanique principale liées à la transition vitreuse de ces matériaux (Tableau V.4).

V.2.2. Evolution des propriétés rhéologiques et de la structure moléculaire des matériaux

V.2.2.1. Viscoélasticité des fondus

Le comportement viscoélastique des filaments extrudés à base de zéine plastifiée par des liquides ioniques est étudié dans le cas de celui qui est le plus efficace comme plastifiant, le [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] et pour les deux présentant un effet thérapeutique potentiel, le [Lidocaïne][Ibuprofénate] et le [Cholinium][Acétate].

Le comportement viscoélastique de la zéine plastifiée en micro-mélangeur ($t_{\text{séjour}} \approx 1$ min à 130°C) par [1-Ethyl-3-méthylimidazolium][Acétate] est caractérisé à 130°C dans le rhéomètre oscillatoire. La viscosité augmente avec le temps à haute température mais à des valeurs beaucoup plus faibles (200 Pa.s, pour $t < 2$ min) que lorsqu'il s'agit du glycérol (*cf.* Chapitre III, §III.2.2) et des évolutions parallèles des modules G' et G'' sont observées (sans croisement, contrairement au glycérol après quelques minutes à 130°C) (Fig.V.15).

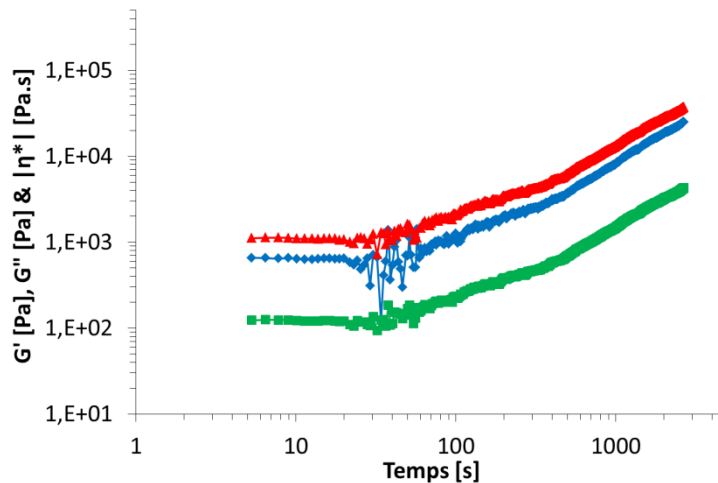
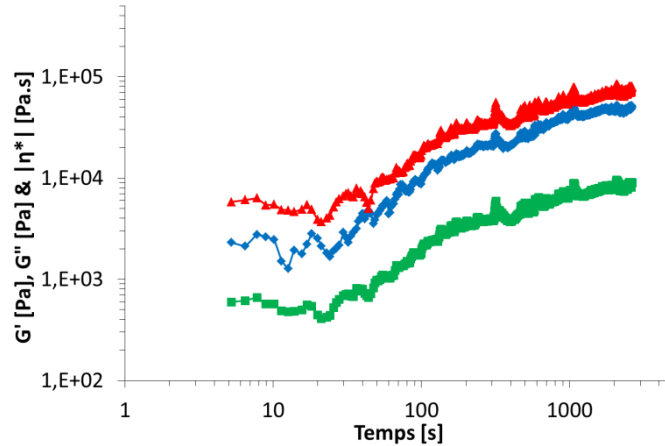


Figure V.15. Propriétés rhéologiques du matériau extrudé à 130°C sous forme de filament Z20EMIM_EBV ($\varnothing \approx 2\text{mm}$), caractérisé en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C . Mesure à fréquence constante, $\nu = 1,6\text{Hz}$. Notations : G' (-♦-, [Pa]), G'' (-▲-, [Pa]) et $|\eta^*|$ (-■-, [Pa.s])

Le même essai de caractérisation du comportement viscoélastique des fondus à base de zéine, après leur plastification en micro-mélangeur à 130°C et obtention de filaments extrudés, est réalisé dans le cas de l'ajout des liquides ioniques d'intérêt thérapeutique. Ils ne présentent pas d'évolution vers un croisement des modules G' et G'' , tel que cela est obtenu avec le matériau plastifié par le glycérol (*cf.* Chapitre III, §III.2.2), mais leur viscosité est plus élevée et augmente avec le temps de séjour à 130°C ($> 1\text{kPa.s}$ après 2 min ; Fig. V.16).

Les liquides ioniques limiteraient donc l'apparition du point de gel au sein des fondus, même pour des temps de séjour élevés, mais leur viscosité reste élevée par rapport à celle de la zéine plastifiée dans les mêmes conditions avec le glycérol. Une complémentarité d'utilisation de ce plastifiant polaire et de liquides ioniques pourrait être envisagée sur la base de ces résultats.

a-



b-

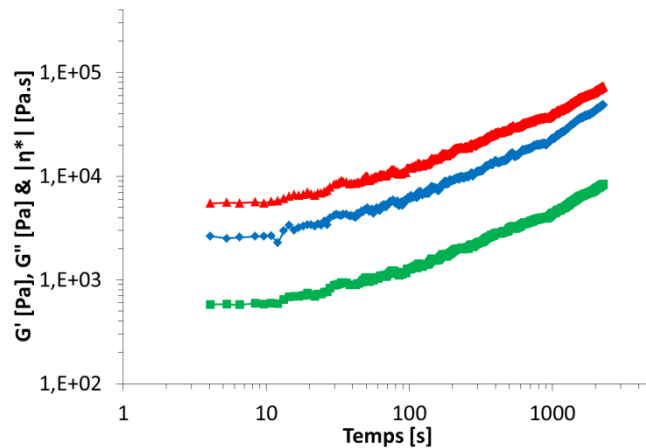


Figure V.16. Propriétés rhéologiques des matériaux extrudés à 130°C sous forme de filament ($\varnothing \approx 2\text{mm}$): Z20LID_EBV (a-) et Z20ACH_EBV (b-), placés en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C. Mesure à fréquence constante, $\nu = 1,6\text{Hz}$. Notations : G' (-♦-, [Pa]), G'' (-▲-, [Pa]) et $|\eta^*|$ (-■-, [Pa.s])

V.2.2.2. Structure moléculaire

Il est important de déterminer la structure moléculaire des matériaux à base de zéine plastifiée par les liquides ioniques d'intérêt thérapeutique, [Lidocaïnum][Ibuprofénate] et [Cholinium][Acétate] (Fig. V.17). Après extrusion directe en micro-mélangeur bi-vis, ces matériaux ne présentent pas une importante réticulation, mais des traces sont visibles pour des masses moléculaires élevées (> 120 kDa) pour [Cholinium][acétate] (Fig.V.17 -a, piste B) et une absence de réticulation pour [Lidocaïnum][Ibuprofénate] (Fig. V.17-a, piste D ; Tableau V.5).

Dans le cas de [Cholinium][acétate], on constate l'apparition d'une très légère bande proche de 19 - 20 kDa visible aux temps longs (15 min recirculation ; Fig.V.17 -a, piste C), absente dans le cas de la plastification de la zéine par [Lidocaïnum][Ibuprofénate] dont la réticulation se traduit par

l'apparition rapide de traces aux plus hautes masses moléculaires lors des recirculations (Fig. V.17-a, piste E).

Pour l'ensemble des pistes, des bandes typiques de la zéine commerciale sont retrouvées, notamment vers 20 - 25 kDa (« monomères » de zéines- α), 45 kDa (« dimères ») et 100 kDa environ (« tétramères »).

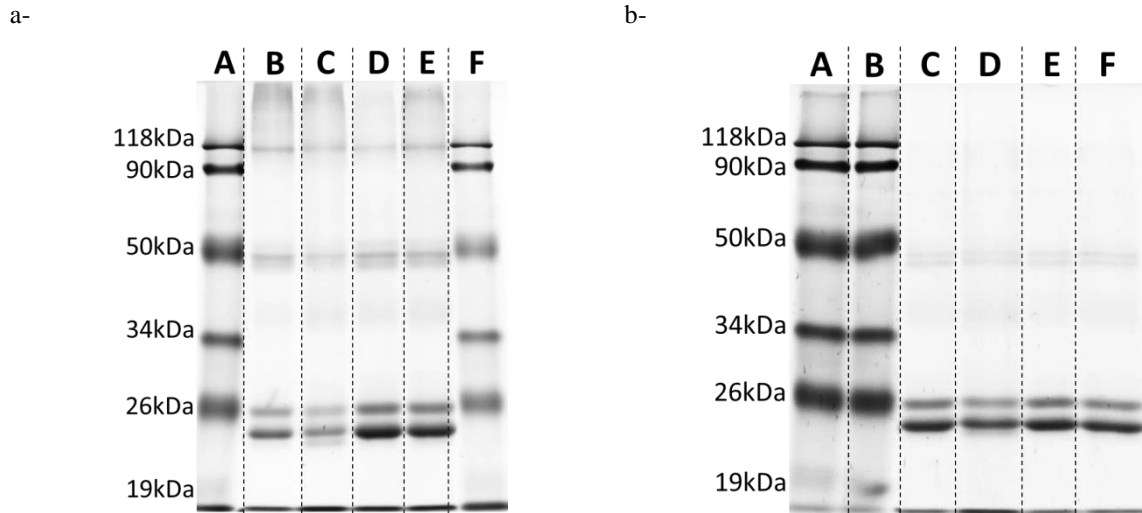


Figure V.17. Electrophorégrammes obtenus en SDS-PAGE pour les matériaux extrudés à base de zéine plastifiée par des liquides ioniques d'intérêt thérapeutique pour différentes conditions de traitement thermomécanique en micro-mélangeur bi-vis à 130°C. Electrophorèse en conditions normales, sans agent réducteur ajouté aux solutions déposées sur le gel (a-)

A : Marqueurs de masses moléculaires,
 B : Z20ACH_EBV,
 C : Z20ACH_EBV_15min,
 D : Z20LID_EBV,
 E : Z20LID_EBV_5min,
 F : Marqueurs de masses moléculaires.

Electrophorèse en conditions réductrices, avec ajout de 3% de β -mercaptoéthanol aux solutions avant leur dépôt sur le gel (b-) :

A : Marqueurs de masses moléculaires,
 B : Marqueurs de masses moléculaires (répétition pour vérification migration),
 C : Z20ACH_EBV,
 D : Z20ACH_EBV_15min,
 E : Z20LID_EBV,
 F : Z20LID_EBV_5min.

L'ajout d'un composé réducteur aux solutions avant leur dépôt sur le gel de polyacrylamide entraîne la disparition complète des traces visibles aux hautes masses moléculaires, mettant ainsi en évidence une oxydation thermique pendant l'extrusion, ici peu marquée (Fig. V.17-b).

Tableau V.5. Structure et propriétés de matériaux extrudés à base de zéine plastifiée par des liquides ioniques, notamment d'intérêt thérapeutique (ACH et LID): température de transition vitreuse déterminée par AED ($3^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) ; propriétés déterminées en micro-mélangeur bi-vis à 130°C (50rpm, $\dot{\gamma}=6\text{s}^{-1}$): $\text{EMS}_{10\text{min}}$, l'EMS mesurée après 10min de recirculation et η_{appMax} , la viscosité apparente en fin de recirculation (au plateau atteint à viscosité maximale) ; évolutions structurales déterminées par SDS-PAGE en conditions normales : sur les filaments extrudés sans recirculation dans le micro-mélangeur et après recirculation jusqu'au plateau à viscosité maximale (η_{appMax})

Matériau extrudé en micro-mélangeur bi-vis à 130°C	T_g [$^{\circ}\text{C}$]	$\text{EMS}_{10\text{min}}$ [$\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$]	η_{appMax} [$\text{kPa}\cdot\text{s}$]	Evolution structurale sans recirculation	Evolution structurale après recirculation*
Z20ACH	42	82 (± 4)	6,0 ($\pm 0,2$) (blocage à 15 min recirculation)	Faibles traces aux hautes masses moléculaires	- Très faibles traces aux hautes masses moléculaires - Bande présente vers 19-20kDa
Z20LID	56	(blocage après 5 min recirculation)	8,3 ($\pm 0,8$) (blocage à 5 min recirculation)	Absence	Très faibles traces aux hautes masses moléculaires
Z20AMIM	12	36 (± 3)	7,9 ($\pm 0,9$)	-	Traces aux hautes masses moléculaires
Z20EMIM	15	24 (± 1)	3,7 ($\pm 0,3$)	Traces aux hautes masses moléculaires	- Traces aux hautes masses moléculaires - Bande présente vers 19-20kDa

*N.B. : Quel que soit le matériau extrudé à base de zéine, son temps ou sa température de traitement thermomécanique, aucune réticulation n'est visible par SDS-PAGE en conditions réductrices, après ajout de 2-Mercaptoéthanol aux solutions déposées sur les gels

Dans le cas du liquide ionique [1-Allyl-3-Méthylimidazolium][Chlorure], l'évaluation des masses moléculaires par électrophorèse SDS-PAGE donne un profil avec quelques bandes majoritaires, typiques de la zéine commerciale, notamment 20 et 25 kDa (« monomères » de zéines- α) et 45 kDa (« dimères ») et l'apparition de traces aux plus hautes masses moléculaires dues à l'agrégation thermique de la protéine. Ceci conduit à des viscosités de fondus très élevées, n'en faisant pas un plastifiant d'intérêt pour la zéine (Fig. V.18-a piste B, Fig. V.11 et Tableau V.5).

Par contre, la plastification par [EMIM][Acétate] donne des résultats bien différents. En effet, la viscosité des fondus est faible et augmente peu (Fig. V.11). On peut constater par électrophorèse qu'un long temps de séjour en recirculation dans le micro-mélangeur bi-vis semble donner une structure présentant des traces d'intensité plus faibles aux plus hautes masses moléculaires avec une bande apparaissant aux faibles valeurs de masse moléculaire, de l'ordre de 19 - 20 kDa (Fig. V.18-a pistes C surtout et D). Un résultat équivalent, avec une bande à 19 - 20 kDa, est obtenu sur un échantillon de filament extrudé en micro-mélangeur puis fondu dans le rhéomètre oscillatoire (Fig. V.18-a, piste E). Pour les matériaux plastifiés par [Lidocaïnum][Ibuprofénate] et [Cholinium][acétate], cette bande apparaît seulement pour le second L.I., en présence d'anions acétate (Fig. V.18-a pistes F et G). D'autre part, l'acide acétique est présenté dans la littérature comme un solvant très efficace de la

zéine, notamment par sa protonation conduisant à de la répulsion électrostatique et une meilleure solubilisation des « monomères » de zéine que dans une solution aqueuse d'éthanol (Li *et al.*, 2012). Par ailleurs, l'ajout d'un composé réducteur aux solutions avant leur dépôt sur gel entraîne la disparition des traces visibles aux hautes masses moléculaires, mettant ainsi en évidence une oxydation thermique de la zéine pendant l'extrusion pour les temps longs (Fig. V.18-b). Les matériaux à base de zéine plastifiée en présence d'anion acétate donnant des viscosités évoluant le moins rapidement à chaud (Fig. V.11, Tableau V.5), il pourrait limiter leur agrégation thermique même si des réticulations de type ponts disulfure apparaissent, et ainsi favoriser leur mise en œuvre à l'état fondu.

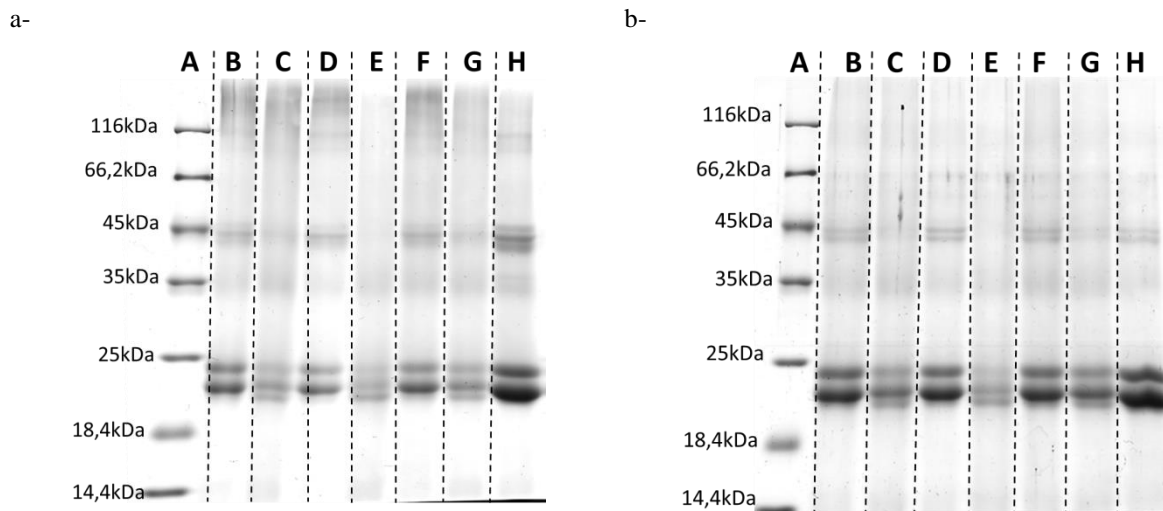


Figure V.18. Electrophorégrammes obtenus en SDS-PAGE pour les matériaux à base de zéine plastifiée par des liquides ioniques pour différentes conditions de traitement thermomécanique pour le filage à chaud en micro-mélangeur bi-vis à 130°C, suivi pour certains échantillons d'une caractérisation en rhéomètre oscillatoire à 130°C. Electrophorèse en conditions normales, sans agent réducteur ajouté aux solutions déposées sur le gel (a-)

A : Marqueurs de masses moléculaires,

B : Z20AMIM_EBV_15min (130°C),

C : Z20EMIM_EBV_15min (130°C),

D : Z20EMIM_EBV (130°C),

E : Z20EMIM_EBV (130°C) et après caractérisation pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

F : Z20LID_EBV (130°C) et après suivi pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

G : Z20ACH_EBV (130°C) et après suivi pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

H : Zéine commerciale brute.

Electrophorèse en conditions réductrices, avec ajout de 3% de β -mercaptoéthanol aux solutions avant leur dépôt sur le gel (b-) :

A : Marqueurs de masses moléculaires,

B : Z20AMIM_EBV_15min (130°C),

C : Z20EMIM_EBV_15 min (130°C),

D : Z20EMIM_EBV (130°C),

E : Z20EMIM_EBV (130°C) et après caractérisation pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

F : Z20LID_EBV (130°C) et après suivi pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

G : Z20ACH_EBV (130°C) et après suivi pendant 3h à 130°C en rhéomètre oscillatoire préchauffé à 130°C

H : Zéine commerciale brute.

V.2.3. Etude de cas du relargage de [Lidocaïne][Ibuprofénate] à partir d'un filament extrudé

V.2.3.1. Intégrité de la matrice et du liquide ionique après extrusion

Même si des résultats rapportés dans la littérature montrent sa thermostabilité (Bica *et al.*, 2012 ; Ramukutty et Ramachandran, 2012), les résultats obtenus en thermogravimétrie suggèrent la possibilité d'une dégradation thermique du [Lidocaïne][Ibuprofénate] au cours de l'extrusion des filaments de zéine à 130°C.

De façon à garantir son effet thérapeutique une fois libéré depuis la matrice de zéine, il est donc nécessaire de vérifier que la structure des ions du liquide ionique n'a pas été modifiée par la mise en œuvre. Les spectres obtenus en RMN montrent que pour la zéine seule on retrouve les massifs de pics aux déplacements chimiques typiques présentés dans la littérature en ^1H - ^{13}C CPMAS pour la zéine (Fig. V.19) : 175ppm (carbones des groupes carbonyles), 100-160ppm (chaînes latérales aromatiques), 45-70 (carbones alpha) et 15-45 (chaînes latérales aliphatiques) (Forato *et al.*, 2000 & 2004). On ne retrouve pas d'effet significatif du procédé sur la structure de cette protéine extrudée à 130 °C avec 20% de glycérol, de la même façon que lorsque le TEG est utilisé comme plastifiant de cette protéine pour son extrusion à des températures similaires (Selling et Utt, 2013). Le glycérol engendre des pics à 64 et 72 ppm sur les spectres, ils sont à des déplacements chimiques typiques de ce plastifiant (Kongjao *et al.*, 2010). Dans le cas de la zéine extrudée plastifiée par 20% de [Lidocaïne][Ibuprofénate] ajouté, des pics apparaissent à des déplacements chimiques qui semblent comparables à ceux publiés sur le PLA en présence de ce même liquide ionique en ^1H - ^{13}C CPMAS (Jouannin *et al.*, 2014). Ils semblent attribuables au liquide ionique seul, en particulier à 130 - 135 ppm (moins visibles à 45 ppm et 9 - 10 ppm, typiques aussi de ce liquide ionique ; Jouannin *et al.*, 2014), qui ne paraît pas affecté par le traitement thermomécanique d'extrusion, tel que les résultats obtenus en thermogravimétrie le laissent présager.

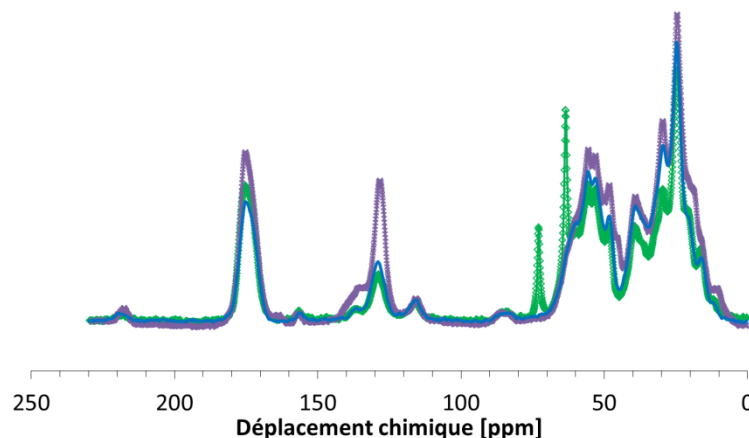


Figure V.19. Spectres obtenus en RMN-Solide (^1H - ^{13}C CPMAS) pour la zéine commerciale brute (—) et deux matériaux extrudés en micro-mélangeur bi-vis -sans recirculation de matière, à 130°C- à base de zéine avec 20% de plastifiant : Z20GLY_EBV (-◇-) et Z20LID_EBV (-x-)

V.2.3.2. Comportement en milieu physiologique simulé : propriétés mécaniques et relargage du liquide ionique

Deux types d'expériences ont été réalisés pour caractériser le comportement des échantillons à base de zéine et de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] lorsqu'ils sont immergés en milieu physiologique simulé à 37°C : Un suivi des propriétés mécaniques (effectué au laboratoire) et une étude du relargage du liquide ionique (travaux effectués par le laboratoire UTINAM ; cf. Chapitre II pour le détail des protocoles opératoires).

Dans le but de cibler une application dans le domaine pharmaceutique ou biomédical, il est important de suivre les propriétés mécaniques de l'échantillon extrudé Z20LID_EBV en immersion en conditions physiologiques simulées (en PBS à 37°C), similaires à celles du suivi du relargage du liquide ionique. La rigidité du matériau ($E' \approx 2 \text{ GPa}$ initialement, à sec à température ambiante) diminue fortement après quelques heures d'immersion, avec $E' \approx 1.10^7 \text{ Pa}$ et $\tan\delta > 1$ après environ 1 heure (Fig. V.20).

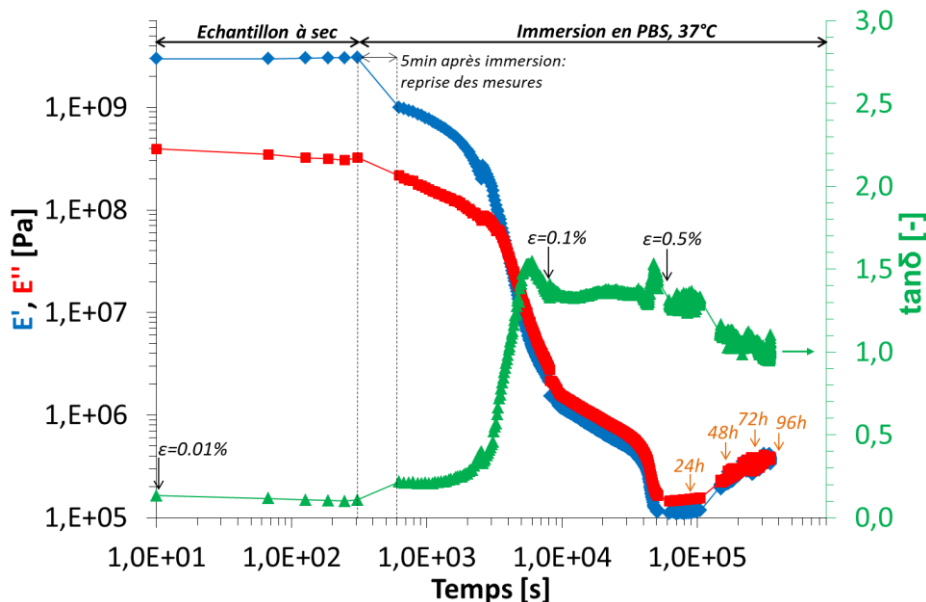


Figure V.20. Résultats obtenus en analyse mécanique dynamique inversée, pour l'échantillon Z20LID_EBV sous forme d'un filament ($\varnothing_{\text{filament}}=2\text{mm}$) immergé dans le PBS à 37°C (conditions physiologiques simulées). Notations : E' (-♦-, [Pa]), E'' (-■-, [Pa]) et $\tan\delta$, le facteur d'amortissement (-▲-, [-])

Ensuite, l'échantillon garde sa forme de cylindre et ses propriétés mécaniques se maintiennent jusqu'à plus de 4 jours ($E' \approx 0,5\text{MPa}$). Finalement le glissement avec les mors de serrage de l'éprouvette immergée engendre une perte de contact après cette durée, mais l'échantillon reste sous forme cylindrique.

Pour le suivi du relargage du liquide ionique, des aliquotes du bain sont analysés par spectroscopie UV-Visible à $\lambda = 225 \text{ nm}$ (Jouannin *et al.*, 2014). Les concentrations sont déterminées grâce à une courbe d'étalonnage préalablement établie pour le [Lidocaïnum][Ibuprofénate] dans le tampon PBS.

Toutes les expériences ont été dupliquées et les conversions représentées sur le graphique sont une moyenne des deux expériences et l'écart type résultant qui l'encadre pour chaque matériau testé (Fig.V.21).

Les cinétiques de relargage de la formulation contenant 20% de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] sont représentées sur la figure V.21 avant et après extrusion sous forme de filament en micro-mélangeur bi-vis à 130 °C ($\varnothing_{\text{filament}} = 2\text{mm}$). La composition Z20LID pulvérulente présente une libération quasiment instantanée du principe actif : 90 % de la quantité initiale libérée en 15 min (Fig. V.21). Le relargage est beaucoup plus lent à partir du filament extrudé à base de ce même mélange, Z20LID_EBV. Dans ce cas, plus d'une semaine est nécessaire pour une libération de 90 % du principe actif et 10 jours pour plus de 97 % de relargage (Fig. V.21). Les interactions entre ce liquide ionique et la zéine semblent donc faire des filaments extrudés un système intéressant pour cibler son relargage progressif, sans pic initial tel qu'on peut le constater sur les suivis de relargage.

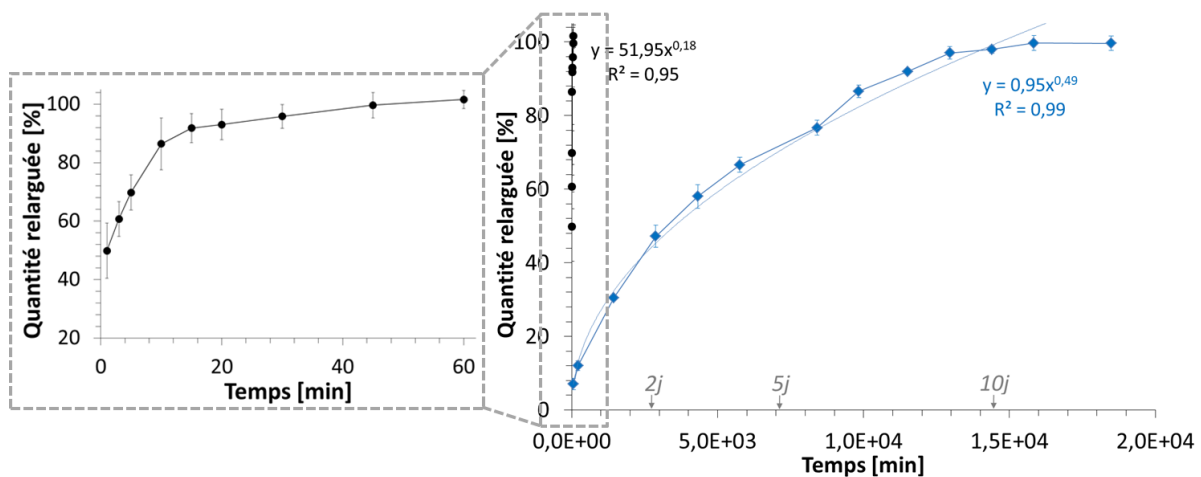


Figure V.21. Suivi du relargage de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] à partir : du mélange pulvérulent de la zéine commerciale brute avec 20% LID ajouté (Z20LID, -●-) et du filament extrudé depuis ce mélange ($\varnothing_{\text{filament}}=2\text{mm}$; Z20LID_EBV, -◆-)

En première approximation, les cinétiques de libération ont été analysées en utilisant le modèle de diffusion de Peppas et Brannon-Peppas (Peppas et Brannon-Peppas, 1994) :

$$\frac{M_t}{M_0} = K \cdot t^n \quad (\text{Eq. V.2})$$

avec : M_t [mg], la quantité de [Lidocaïnum][Ibuprofénate] libérée à l'instant t ; M_0 est la quantité initiale [mg] (de l'ordre de 10 à 15mg, correspondant à des filaments de 50 à 70 mg en moyenne selon la composition et la longueur, de l'ordre de quelques mm) ; K , la constante de vitesse et n [-], un exposant lié au mécanisme de diffusion. Selon les tracés (Fig.V.21), les paramètres cinétiques obtenus sont les suivants, $n_{\text{Z20LID}} = 0,18$ et $n_{\text{Z20LID_EBV}} = 0,49$.

Pour des échantillons cylindriques, ce qui est le cas ici pour les échantillons issus de l'extrusion, une valeur théorique de l'exposant $n = 0,45$ peut être attribuée à un régime de diffusion de Fick concernant la libération du liquide ionique dans le milieu. Par contre, dans le cas des échantillons pulvérulents, la valeur de n ($n_{Z20LID} = 0,18$) ne peut être expliquée par ce régime et la libération est quasiment instantanée dans ce cas (90% L.I. libéré en 15 min). Une approche similaire avait été appliquée dans le cas de relargage de principe actif depuis des filaments extrudés, ou de gélules obtenues par injection-moulage, à base de zéine présentant différents facteurs de forme et dans le cas de paracétamol comme principe actif (Bouman *et al.*, 2015 & 2016). D'autres travaux portant sur la libération de LID incorporé dans des matrices en PLA avaient montrés un régime de diffusion plus complexe. En effet, différentes étapes (dont une partie en ordre zéro) avaient été mises en évidence dans le cas de la libération de 20% LID à partir de membranes en PLA (Jouannin *et al.*, 2014).

Un modèle plus précis tenant compte de la géométrie cylindrique de l'échantillon permet de déterminer le coefficient de diffusion apparent du liquide ionique depuis le filament extrudé à base de zéine vers le PBS (Peppas et Brannon-Peppas, 1994) :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4}{a^2 \cdot \alpha_n^2} \cdot \exp(-D \cdot \alpha_n^2 \cdot t) \quad (\text{Eq. V.3})$$

avec α_n les racines positives de $J_0(a \cdot \alpha_n) = 0$ et J_0 la fonction de Bessel de premier type et d'ordre zéro ($a \cdot \alpha_n$ sont les zéros de cette fonction).

Le coefficient de diffusion peut être déterminé pour une conversion jusqu'à 60% ($M_t/M_0=0,58$ dans ce cas, après 72 heures d'immersion des filaments extrudés dans le PBS à 37°C) à $D = 3,1 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Des travaux réalisés avec le paracétamol comme principe actif inclus dans des matrices extrudées à base de zéine donnent des valeurs de D de l'ordre de $5 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ en conditions acides, simulant l'estomac (pH=1) (Bouman *et al.*, 2015). A pH neutre, la libération du paracétamol est alors seulement environ deux fois plus lente. Dans ces conditions, la diffusion beaucoup moins rapide mesurée dans notre cas montre donc une affinité importante entre la zéine et [Lidocaïne][Ibuprofène] qui pourrait en faire un système matrice extrudée-principe actif intéressant pour envisager un relargage différé depuis une matrice comestible résorbable.

V.3. Conclusions

Cette étude de formulations alternatives n'a pas permis d'identifier de solution totalement satisfaisante au problème de l'agrégation de la zéine :

- **La co-plastification de la zéine par le glycérol et des acides gras permet de diminuer la viscosité initiale, mais n'empêche pas l'agrégation**, bien que la présence d'une gélification ne soit plus clairement observée en rhéométrie. Des problèmes d'exsudation ont par ailleurs été constatés pour ces matériaux.

- L'ajout d'**un composé tensio-actif, ou réducteur, ralentit l'agrégation de la zéine lors de traitements thermomécaniques, sans l'empêcher complètement**. Un déficit d'accessibilité de ces composés aux sites réactionnels de la protéine en est probablement la cause. Leur intérêt dans la mise en œuvre de la zéine à l'état fondu a cependant été montré, même s'il n'est que partiel.

- **Les liquides ioniques présentent un effet plastifiant de la zéine et semblent prévenir son agrégation thermique, particulièrement dans le cas d'anions acétates dans leur composition**. Par ailleurs, même si sa contribution à la diminution de la viscosité des fondus reste bien inférieure à celle du glycérol, **le liquide ionique d'intérêt thérapeutique [Lidocaïnum][Ibuprofénate] permet l'obtention de filaments à partir de la zéine** par traitement thermomécanique. Son utilisation peut donc être envisagée dans une matrice à base de ce biopolymère, probablement en complément d'un plastifiant non-volatil, comme le glycérol. Ce type de liquide ionique offrirait **un double intérêt: favoriser la mise en œuvre de la zéine à l'état fondu et obtenir le contrôle de son relargage** par la maîtrise de la structure d'une pièce imprimée 3D à *façon* à base de ce biopolymère (*i.e.*, porosité ciblée).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

Nous nous sommes intéressés à la mise en œuvre d'un polymère naturel en fabrication additive. Le couple (procédé, biopolymère modèle) choisi pour aborder ce sujet a permis de mettre au point et de développer une méthodologie complète d'étude de l'ouvrabilité d'un matériau thermoplastique par le procédé de Fabrication Additive par Dépôt de Fil Fondu (FA-DFF).

Cette méthodologie a consisté à : i) définir un cahier des charges matière spécifique au procédé (Chapitre I) ; ii) effectuer les caractérisations nécessaires pour vérifier la conformité ou non du matériau à ce cahier des charges (Chapitre III) ; et iii) étudier le comportement du matériau dans les conditions du procédé (Chapitre IV).

Son application à la zéine, une protéine de maïs faisant partie des rares polymères naturels pouvant être mis en œuvre à l'état fondu, a permis de **mettre en évidence les verrous pour sa mise en œuvre en FA-DFF et de proposer des pistes d'adaptation du procédé** (Chapitre IV) **et/ou de formulation du matériau** (Chapitre V) qui conduisent à son ouvrabilité.

Le procédé FA-DFF, dans lequel la matière thermoplastique alimente la buse d'impression sous la forme de filaments préalablement extrudés, est l'un des plus répandus. L'analyse de la littérature abondante décrivant les différentes étapes du procédé nous a permis d'**établir un cahier des charges matière précis** à partir des propriétés des deux polymères thermoplastiques les plus utilisés en FA-DFF, l'acrylonitrile-butadiène-styrène (ABS) et le poly(acide lactique) (PLA) : **transition solide-fondu rapide, rapports $E_{\text{vitreux}}/\eta_{\text{fondu}}$ élevé et $\eta_{\text{fondu}}/\Gamma_{\text{fondu}}$ faible**. Parmi les différents biopolymères disponibles, nous avons ensuite **choisi la zéine, car ses propriétés thermomécaniques en présence de glycérol** semblaient répondre, au moins en partie, à ce **cahier des charges**. Néanmoins, les propriétés d'agrégation de la zéine à l'état fondu décrites dans la littérature, suggéraient une différence probable de son comportement rhéologique par rapport aux thermoplastiques de référence.

Nous avons donc complété les caractérisations des propriétés thermiques, thermomécaniques, rhéologiques, structurales et de tension de surface de la zéine plastifiée par le glycérol, par une étude poussée de leur évolution en fonction du temps de séjour à l'état fondu. Nous avons ainsi établi que **l'augmentation de la viscosité se poursuivait jusqu'à la gélification et qu'elle était imputable à une augmentation progressive des masses moléculaires**. L'analyse de la structure macromoléculaire a montré que **le réseau formé engage des liaisons physiques non-covalentes et des réticulations chimiques** par oxydation thermique des groupements sulfhydryles, -SH, en ponts disulfure, S-S. La proportion, même faible, de résidus cystéine dans la séquence en acides aminés semble donc jouer un rôle important dans la gélification de la zéine. **Ce phénomène**, à la base de l'évolution des propriétés rhéologiques vers un point de gel, survenant après 40 min à 130 °C, **vient donc limiter l'ouvrabilité**

de la protéine à l'état fondu. Toutefois, **lorsque le temps de séjour à l'état fondu est limité à quelques minutes,** nous montrons que la **thermoplastification de la zéine par le glycérol conduit à un matériau répondant au cahier des charges du procédé FA-DFF** (cf. Chapitre III).

Pour un taux de 20% en masse de glycérol, ses propriétés thermomécaniques sont proches de celles des polymères standards, avec l'avantage de températures de mise en œuvre moins élevées. Le module de stockage à température ambiante, E' , est de l'ordre de 1 GPa. Il diminue de plus de 3 décades au franchissement de la relaxation mécanique principale, liée à la transition vitreuse ($T_g \approx 42$ °C). L'écoulement de la zéine plastifiée est possible au-delà de 80 °C et les fondus présentent un comportement rhéofluidifiant dans l'intervalle de température de 120 à 150 °C. Cependant, l'évaporation du glycérol limite la température de mise en œuvre à environ 130°C. A cette température, pour un temps de séjour de l'ordre de la minute, la viscosité est de l'ordre de 0,6 à 0,8 kPa.s pour des vitesses de cisaillement typiques en FA-DFF. Ces valeurs sont proches de celles de l'ABS et du PLA, à leurs températures de mise en œuvre en fabrication additive. L'ajout de plastifiant, et les faibles temps de séjour à haute température constituent donc une formulation et des paramètres opératoires adaptés à la mise en œuvre de la zéine à l'état fondu. **Les propriétés thermomécaniques des matériaux à base de zéine plastifiée et leur comportement rhéologique à l'état fondu se rapprochent du cahier des charges du procédé FA-DFF.** Nous avons donc étudié le comportement de la formulation zéine avec 20% en masse de glycérol au plus près des conditions du procédé FA-DFF, afin de valider cette hypothèse. Pour cela nous avons considéré deux étapes clés du procédé susceptibles d'être impactées par l'augmentation de viscosité avec le temps de séjour :

- **l'étape d'alimentation/extrusion de la matière,** pour laquelle nous avons montré que **l'agrégation de la zéine rend instable son alimentation par des filaments pré-extrudés** : la filière se colmate rapidement lorsque le dépôt n'est pas effectué en continu. Néanmoins, une variante du procédé FA-DFF apparue récemment permet de surmonter ce problème. Dans cette technologie, la buse de dépôt est **précédée par une extrudeuse miniature,** ce qui permet l'alimentation de la machine par des granulés de matière n'ayant subi aucun traitement à l'état fondu. Des essais menés sur le plateau technique CompositIC de Lorient avec notre formulation zéine/glycérol montrent son ouvrabilité grâce à cette adaptation du procédé

- **l'étape d'adhésion d'une couche déposée sur l'autre par soudage à chaud,** qui a été abordée par **l'approximation du frittage visqueux.** Un dispositif expérimental spécifique, couplé à **une méthode d'acquisition et d'analyse morphologique d'image** a été mis au point afin d'accéder **au temps caractéristique de frittage visqueux** de la zéine plastifiée. Celui-ci diminue avec la température depuis l'apparition du fondu à environ 80 °C, jusqu'à 140 °C où la fusion-adhésion du matériau est constatée, mais aussi son expansion suite à la vaporisation du glycérol. **Entre 120 et 130 °C, le matériau reste dense, avec un temps caractéristique proche de celui d'un polymère synthétique amorphe standard en FA-DFF, l'ABS, à sa température de mise en œuvre.** La mesure des variations de ce temps caractéristique en fonction de la température a par ailleurs permis

de simuler le frittage visqueux dans les conditions réelles du procédé FA-DFF où la matière extrudée subit un refroidissement rapide. Enfin, la tension de surface à l'état fondu peut être estimée par extrapolation de mesures à température ambiante sur un matériau solide.

Enfin, nous avons exploré l'effet d'additifs sur le comportement de la zéine en nous basant sur sa structure primaire particulière qui contient plus de 50 % de sites non polaires et plus de 25 % de sites polaires. L'étude de la thermoplastification de la zéine a ainsi été étendue à d'autres composés que le glycérol, **pour améliorer sa mise en œuvre à l'état fondu et cibler des applications dans le domaine pharmaceutique ou biomédical, en utilisant le plastifiant comme principe actif.** Ainsi, des composés plastifiants de type polaires et amphiphiles (*e.g.*, acides gras) présentent une complémentarité dans leurs actions plastifiantes de la zéine, notamment en conduisant à de faibles viscosités des fondus. Toutefois, l'intérêt de ces additifs est limité car ils conduisent à des matériaux instables qui exsudent le plastifiant au cours du stockage et de leur manipulation. L'ajout d'un composé tensio-actif dénaturant des protéines (*i.e.*, SDS), ou réducteur (*i.e.*, sulfite de sodium), ralentit l'agrégation thermique de la zéine lors de sa mise en œuvre à l'état fondu, sans la stopper. L'accessibilité réduite de ces composés aux sites réactionnels de la protéine est probablement à l'origine de cet effet limité sur sa réactivité. **Enfin, la zéine peut être plastifiée par des liquides ioniques** qui semblent limiter son agrégation thermique, notamment en présence d'anions acétate. Par ailleurs, l'emploi de **certains liquides ioniques d'intérêt thérapeutique, tel que [Lidocaïnum][Ibuprofénate]** permet d'entrevoir la maîtrise **de leur relargage depuis une matrice à base de zéine imprimées 3D à la porosité souhaitée.**

En conclusion, ce travail a apporté des éléments de réponse au défi de la mise œuvre des polymères naturels par les procédés de fabrication additive conçus pour les matériaux polymères thermoplastiques traditionnels. **Une méthodologie a été mise au point et appliquée avec succès à la zéine plastifiée.** Le dépôt de ce matériau à l'état fondu en fabrication additive a pu être mené à bien par une détermination précise de sa **fenêtre d'ouvrabilité** et une modification du système d'alimentation matière du procédé FA-DFF. La formulation avec d'autres plastifiants et additifs ouvre des perspectives de mise en œuvre d'objets fonctionnels pour le domaine biomédical.

Perspectives

Plusieurs axes de recherche se dégagent de ces travaux :

- une meilleure compréhension des mécanismes de fusion-adhésion entre filaments extrudés à base de zéine requerrait la caractérisation de la coalescence des fondus en 3D, sa modélisation, ainsi que l'intégration de l'apparition de structures expansées aux températures les plus élevées. Celle-ci pourrait être effectuée par **expérimentations couplées associant le chauffage de filaments en four instrumenté et l'acquisition rapide de leurs images en tomographie aux rayons X obtenues en rayonnement synchrotron** pour bénéficier de la résolution nécessaire pour ces dynamiques élevées,

- les mécanismes d'agrégation thermique associés au passage du comportement d'un polymère fondu fluide à un point de gel et à la modulation de la viscosité par **l'ajout de composés dénaturants, réducteurs, ou de liquides ioniques** devraient être déterminés plus précisément. En effet, la structure moléculaire de la zéine a été ici caractérisée depuis l'état pulvérulent jusqu'à l'apparition du fondu dans un four disposé sur un banc de diffraction des rayons X aux grands angles. Son comportement viscoélastique à l'état fondu a été déterminé en rhéomètre oscillatoire équipé d'une cellule à effet Peltier. Il serait donc intéressant de coupler ces deux types d'expérimentation, **par l'utilisation d'un dispositif rhéophysique afin d'accéder à une information structurale, tout en caractérisant les propriétés rhéologiques de la zéine plastifiée**. L'étude de la diffusion des rayons X dans ce matériau amorphe aux grands angles et surtout aux petits angles permettrait d'appréhender les structures de plus grosse taille (*i.e.*, agrégats),

- pour maîtriser le relargage d'un principe actif depuis une matrice imprimée 3D à base de zéine, l'ensemble de ces travaux pourrait être appliqué à la conception par modélisation numérique et la réalisation d'objets à structure poreuse ciblée. A cette fin, **le procédé FA-DFD modifié par extrusion-dépôt** pourrait être optimisé pour des compositions à base de zéine **incluant des principes actifs**. Cette démarche pourrait s'articuler selon deux volets : i) une étude expérimentale du procédé et de l'influence de ses paramètres opératoires (*e.g.*, vitesse de dépôt, diamètre et température de buse) et ii) l'étude couplée des phénomènes thermiques, rhéologiques et d'adhésion impliqués lors du dépôt des fondus. Elle combinerait des mesures *in-situ* des températures de matière en différents points et leur modélisation numérique par la méthode des éléments finis, afin d'obtenir, après confrontation des résultats expérimentaux et calculés, un outil de simulation réaliste.

A plus long terme, **la démarche suivie au cours de cette thèse pourrait être étendue à d'autres biopolymères**, par exemple déposés à l'état liquide, puis gélifiant pour assurer le maintien mécanique de la pièce imprimée 3D. Par ailleurs, **le contrôle du dépôt de matériaux comestibles en fabrication additive permettrait de mieux maîtriser la texture d'aliments réalisés à façon, pour optimiser leur aptitude à la mastication**.

Communication et valorisation des résultats obtenus au cours de la thèse

Quatre articles issus de ce travail ont été publiés dans des revues scientifiques internationales à comité de lecture:

Chaunier, L., Della Valle, G., Lourdin, D., Réguerre, A.-L., Cochet, K. and Leroy, E. 2019. Viscous sintering kinetics of biopolymer filaments extruded for 3D printing. *Polymer Testing*, 77 (105873); <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.04.020>

Chaunier, L., Guessasma, S., Belhabib, S., Della Valle, G., Lourdin, D. and Leroy, E. 2018. Fused deposition modeling of plant biopolymers: opportunities & challenges. *Additive Manufacturing*, 20, 220-233; <https://doi.org/10.1016/j.addma.2018.03.016>

De Vries, H., Mikolajczak, M., Salmon, J.M., Abecassis, J., Chaunier, L., Guessasma, S., Lourdin, D., Belhabib, S., Leroy, E. and Trystram, G. 2018. Engineering food processes at small scale, challenges and perspectives. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 46, 122-130; <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.009>

Chaunier, L., Della Valle, G., Dalgalarondo, M., Marion, D., Lourdin, D. and Leroy, E. 2017. Rheology and structural changes of plasticized zeins in the molten state. *Rheologica Acta*, 56(11), 941-953; <https://doi.org/10.1007/s00397-017-1045-9>

Quatre articles de conférences ont été publiés par l'American Institute of Physics (AIP), suite à des communications orales réalisées lors de congrès internationaux avec publication des actes :

Chaunier, L., Duchemin, B., Couallier, E., Della Valle, G., Lourdin, D., Reguerre, A.-L. and Leroy, E. Fusion-Bonding Behavior of Plasticized Corn Proteins Filaments for Fused Deposition Modeling Process. *Annual Conference of the Polymer processing Society, PPS-34*. Taipei, Mai 2018. *AIP Conference Proceedings 2065, 030055 (2019)*; <https://doi.org/10.1063/1.5088313>

Chaunier, L., Dalgalarondo, M., Della Valle, G., Lourdin, D., Marion, D. and Leroy, E. Rheological properties of the thermoplasticized zein regarding its printability by Fused Deposition Modeling. *Annual Conference of the European Scientific Association For Material Forming, ESAFORM-20*. Dublin, Avril 2017. *AIP Conference Proceedings 1914, 190003 (2017)*; <https://doi.org/10.1063/1.5008028>

Chaunier, L., Leroy, E., Della Valle, G., Dalgalarondo, M., Bakan, B., Marion, D., Madec, B. and Lourdin, D. 3D Printing Of Maize Protein By Fused Deposition Modeling. *Annual Conference of the Polymer processing Society, PPS-32*. Lyon, Juillet 2016. *AIP Conference Proceedings 1914, 190003 (2017)*; <https://doi.org/10.1063/1.5016792>

Chaunier, L., Leroy, E., Della Valle, G., Lourdin, D. Plasticized Protein For 3D Printing By Fused Deposition Modeling. *Annual Conference of the European Scientific Association For Material Forming, ESAFORM-19*. Nantes, Avril 2016. *AIP Conference Proceedings 1769, 190001 (2016)*; <https://doi.org/10.1063/1.4963611>

Un article a été publié dans une revue scientifique française :

Chaunier, L., Della Valle, G., Lourdin, D., Dalgarrondo, M., Marion, D., Leroy, E. 2018. Propriétés rhéologiques et modifications structurales de protéines de maïs plastifiées en vue de leur impression 3D par dépôt de fil fondu. *Rhéologie*, 33, 1-7

Une communication orale et deux communications par affiche ont été réalisées lors de congrès internationaux sans publication d'acte :

Chaunier, L., Leroy, E., Della Valle, G., Dalgarrondo, M., Bakan, B., Marion, D., Madec, B. and Lourdin, D. 3D Printing of maize protein by Fused Deposition Modeling. Affiche. *Annual meeting of the American Association of Cereal Chemists -AACC-*, San Diego, CA, US, 8-11 Octobre 2017

Chaunier, L., Leroy, E., Della Valle, G., Marion, D., Dalgarrondo, M., Lourdin, D. Thermoplasticized zein and its rheological properties at the molten state for 3D printing by Fused Deposition Modeling. Communication orale. *International Conference of Biobased Materials and Composites. ICBMC*. Nantes, Mars 2017

Chaunier, L., Leroy, E., Della Valle, G., Dalgarrondo, M., Bakan, B., Marion, D., Madec, B. and Lourdin, D. 3D-Printing of maize protein by FDM. Affiche. *International Congress on Rheology, ICR*. Kyoto (JP), Aout 2016

Quatre communications orales ont été réalisées lors de congrès français :

Chaunier, L., Della Valle, G., Lourdin, D., et Leroy, E. Détermination des propriétés de fusion-adhésion de filaments extrudés à base de protéines de maïs. *Congrès annuel du Groupe Français de Rhéologie*. Brest, 29-31 Octobre 2018

Chaunier, L., Della Valle, G., Leroy, E., Lourdin, D., Viau, L. Melt processed zein plasticized by pharmaceutically active ionic liquid for controlled delivery. *Journées Scientifiques du GDR-LIPS (Liquides Ioniques PolymèreS)*. Lyon, Octobre 2018

Chaunier, L., Guessasma, S. Fabrication additive en Agroalimentaire. *Colloque Alliance Allenvi (Alliance Nationale de Recherche pour l'Environnement): Nouvelles attentes des consommateurs/nouveaux systèmes alimentaires*. Paris, 20 Décembre 2017

Chaunier, L., Della Valle, G., Lourdin, D., Dalgarrondo, M., Marion, D., Leroy, E. Propriétés rhéologiques et modifications structurales de protéines de maïs plastifiées en vue de leur impression 3D par dépôt de fil fondu. *Congrès annuel du Groupe Français de Rhéologie*. Nice, Octobre 2017

Références bibliographiques

- Abbott, A. C., Tandon, G. P., Bradford, R. L., Koerner, H., & Baur, J. W. (2018). Process-structure-property effects on ABS bond strength in fused filament fabrication. *Additive Manufacturing*, *19*, 29-38.
- Al-Hadithi, T. S. R., Barnes, H. A., & Walters, K. (1992). The relationship between the linear (oscillatory) and nonlinear (steady-state) flow properties of a serie of polymers and colloidal systems. *Colloid and Polymer Science*, *270(1)*, 40-46.
- Aliheidari, N., Tripuraneni, R., Ameli, A., & Nadimpalli, S. (2017). Fracture resistance measurement of fused deposition modeling 3D printed polymers. *Polymer Testing*, *60*, 94-101.
- Anderson, T. J., & Lamsal, B. P. (2011). Zein Extraction from Corn, Corn Products, and Coproducts and Modifications for Various Applications: A Review. *Cereal Chemistry*, *88(2)*, 159-173.
- Asakawa, A., Kohara, M., Sasaki, C., Asada, C., & Nakamura, Y. (2015). Comparison of choline acetate ionic liquid pretreatment with various pretreatments for enhancing the enzymatic saccharification of sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, *71*, 147-152.
- ASTM. F2792-12a, Standard Terminology for Additive Manufacturing Technologies. (2012). *ASTM International*, West Conshohocken, PA (US).
- Awaja, F., Gilbert, M., Kelly, G., Fox, B., & Pigram, P. J. (2009). Adhesion of polymers. *Progress in Polymer Science*, *34(9)*, 948-968.
- Bakrani Balani, S., Chabert, F., Nassiet, V., Cantarel, A., & Garnier, C. (2017). Toward improvement of the properties of parts manufactured by FFF (Fused Filament Fabrication) through understanding the influence of temperature and rheological behaviour on the coalescence phenomenon. *Proceedings of the International Conference ESAFORM*. AIP-PublishingGroup.
- Bakrani Balani, S., Cantarel, A., Chabert, F., & Nassiet, V. (2018). Influence of parameters controlling the extrusion step in fused filament fabrication (FFF) process applied to polymers using numerical simulation. *Proceedings of the International Conference ESAFORM*. AIP-PublishingGroup.
- Barone, J. R., Schmidt, W. F., & Gregoire, N. T. (2006). Extrusion of feather keratin. *Journal of Applied Polymer Science*, *100(2)*, 1432-1442.

Barron, C., Della Valle, G., Colonna, P., & Vergnes, B. (2002). Energy balance of low hydrated starches transition under shear. *Journal of Food Science*, 67(4), 1426-1437.

Bellehumeur, C. T., Bisaria, M. K., & Vlachopoulos, J. (1996). An experimental study and model assessment of polymer sintering. *Polymer Engineering and Science*, 36(17), 2198-2207.

Bellehumeur, C., Li, L., Sun, Q., & Gu, P. (2004). Modeling of bond formation between polymer filaments in the fused deposition modeling process. *Journal of Manufacturing Processes*, 6, 171-178.

Belter, J. T., & Dollar, A. M. (2015). Strengthening of 3D Printed Fused Deposition Manufactured Parts Using the Fill Compositing Technique. *Plos One*, 10(4).

Bengoechea, C., Arrachid, A., Guerrero, A., Hill, S. E., & Mitchell, J. R. (2007). Relationship between the glass transition temperature and the melt flow behavior for gluten, casein and soya. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 275-284.

Bica, K., Rodriguez, H., Gurau, G., Cojocaru, O. A., Riisager, A., Fehrmann, R., & Rogers, R. D. (2012). Pharmaceutically active ionic liquids with solids handling, enhanced thermal stability, and fast release. *Chemical Communications*, 48(44), 5422-5424.

Bier, J. M., Verbeek, C. J. R., & Lay, M. C. (2014). Thermal transitions and structural relaxations in protein-based thermoplastics. *Macromolecular Materials and Engineering*, 299, 524-539.

Bidlingmeyer, B. A., Cohen, S. A., & Tarvin, T. L. (1984). Rapid analysis of amino-acids using pre-column derivatization. *Journal of Chromatography*, 336(1), 93-104.

Biresaw, G., & Carriere, C. J. (2002). Interfacial tension of poly(lactic acid)/polystyrene blends. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics*, 40(19), 2248-2258.

Biswas, A., Shogren, R. L., Stevenson, D. G., Willett, J. L., & Bhowmik, P. K. (2006). Ionic liquids as solvents for biopolymers: Acylation of starch and zein protein. *Carbohydrate Polymers*, 66(4), 546-550.

Bizot, H., LeBail, P., Leroux, B., Davy, J., Roger, P., & Buleon, A. (1997). Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds. *Carbohydrate Polymers*, 32(1), 33-50.

Bonn, D. (2009). Wetting and spreading. *Rev.Mod.Phy.*, 81, 739-805.

Boschetto, A., Bottini, L., & Veniali, F. (2016). Integration of FDM surface quality modeling with process design. *Additive Manufacturing*, 12 (Part B) 334-344.

Bouman, J., Belton, P., Venema, P., van der Linden, E., de Vries, R., & Qi, S. (2015). The Development of Direct Extrusion-Injection Moulded Zein Matrices as Novel Oral Controlled Drug Delivery Systems. *Pharmaceutical Research*, 32(8), 2775-2786.

Bouman, J., Belton, P., Venema, P., van der Linden, E., de Vries, R., & Qi, S. (2016). Controlled Release from Zein Matrices: Interplay of Drug Hydrophobicity and pH. *Pharmaceutical Research*, 33(3), 673-685.

Boyd, J., West, W. T. J., Wu, S., Takacs, E. S., Vlachopoulos, J., & Thompson, M. R. (2017). Automated image analysis to characterize the melt densification stage of polymer sintering processes. *Polymer Testing*, 60, 242-249.

Bugnicourt, E., Cinelli, P., Lazzeri, A., & Alvarez, V. (2014). Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. *Express Polymer Letters*, 8(11), 791-808.

Butler, C.A., McCullough, R.L., Pitchumani, R., Gillespie, J.W. (1998) An analysis of mechanisms governing fusion bonding of thermoplastic composites, *Journal of Thermoplastic Composite Materials* 11(4), 338-363.

Cazaux, G., Bizet, L., Duchemin, B., Gomina, M., Orange, G., Bréard, J. (2015) Caractérisation des tensions de surface de différents polyamides 6,6 utilisés dans le procédé RTM. *Compte-Rendu des JCN-XIX*.

Chanvrier, H., Colonna, P., Della Valle, G., & Lourdin, D. (2005). Structure and mechanical behaviour of corn flour and starch-zein based materials in the glassy state. *Carbohydrate Polymers*, 59(1), 109-119.

Chanvrier, H., Della Valle, G., & Lourdin, D. (2006). Mechanical behaviour of corn flour and starch-zein based materials in the glassy state: A matrix-particle interpretation. *Carbohydrate Polymers*, 65(3), 346-356.

- Chanvrier, H., Chaunier, L., Della Valle, G., & Lourdin, D. (2015). Flow and foam properties of extruded maize flour and its biopolymer blends expanded by microwave. *Food Research International*, 76, 567-575.
- Chen, L. H., Reddy, N., Wu, X. Y., & Yang, Y. (2012). Thermoplastic films from wheat proteins. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 70-76.
- Chen, R. K., Jin, Y.-a., Wensman, J., & Shih, A. (2016). Additive manufacturing of custom orthoses and prostheses-A review. *Additive Manufacturing*, 12 (Part A), 77-89.
- Chen, J., Xie, F., Li, X., & Chen, L. (2018). Ionic liquids for the preparation of biopolymer materials for drug/gene delivery: a review. *Green Chemistry*, 1-32.
- Chia, H. N., & Wu, B. M. (2015). Recent advances in 3D printing of biomaterials. *Journal of Biological Engineering*, 9, 14-19.
- Colomines, G., Decaen, P., Lourdin, D., & Leroy, E. (2016). Biofriendly ionic liquids for starch plasticization: a screening approach. *RSC Advances*, 6(93), 90331-90337.
- Conner, B. P., Manogharan, G. P., Martof, A. N., Rodomsky, L. M., Rodomsky, C. M., Jordan, D. C., & Limperos, J. W. (2014). Making sense of 3-D printing: Creating a map of additive manufacturing products and services. *Additive Manufacturing*, 1-4, 64-76.
- Corradini, E., de Medeiros, E. S., Carvalho, A. J. F., Curvelo, A. A. S., & Mattoso, L. H. C. (2006). Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. *Journal of Applied Polymer Science*, 101(6), 4133-4139.
- Corradini, E., Carvalho, A. J. F. d., Curvelo, A. A. d. S., Agnelli, J. A. M., & Mattoso, L. H. C. (2007). Preparation and characterization of thermoplastic starch/zein blends. *Materials Research*, 10(3), 227-231.
- Corradini, E., Curti, P. S., Meniqueti, A. B., Martins, A. F., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2014). Recent Advances in Food-Packing, Pharmaceutical and Biomedical Applications of Zein and Zein-Based Materials. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12), 22438-22470.
- Couchman, P. R., & Karasz, F. E. (1978). Classical thermodynamic discussion of effect of composition on glass-transition temperatures. *Macromolecules*, 11(1), 117-119.

- Crockett, R.S., & Calvert, P.D. (1996) The liquid-to-solid transition in stereodeposition techniques, *7th Solid Freeform Fabrication (SFF) Symposium, Univ Texas Austin, Conference Proceedings*, 257-264.
- Dai, L., Cheng, T., Duan, C., Zhao, W., Zhang, W. P., Zou, X. J., & Ni, Y. H. (2019). 3D printing using plant-derived cellulose and its derivatives: A review. *Carbohydrate Polymers*, 203, 71-86.
- Dawson, A., Rides, M., Urquhart, J., Brown, C.S. (2000) Thermal conductivity of polymer melt and implications of uncertainties in data for process simulation. *Report. National Physical Laboratory, Teddington, Middlesex, UK.*
- Dil, E. J., Arjmand, M., Li, Y., Sundararaj, U., & Favis, B. D. (2016). Assembling copper nanowires at the interface and in discrete phases in PLA-based polymer blends. *European Polymer Journal*, 85, 187-197.
- Di Maio, E., Mali, R., & Iannace, S. (2010). Investigation of Thermoplasticity of Zein and Kafirin Proteins: Mixing Process and Mechanical Properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 18(4), 626-633.
- Dombrink-Kurtzman, M. A., & Bietz, J. A. (1993). Zein composition in hard and soft endosperm of maize. *Cereal Chemistry*, 70(1), 105-108
- dos Santos, W. N., de Sousa, J. A., & Gregorio, R. (2013). Thermal conductivity behaviour of polymers around glass transition and crystalline melting temperatures. *Polymer Testing*, 32(5), 987-994.
- Du, Y. C., Li, S. Z., Zhang, Y. C., Rempel, C., & Liu, Q. (2016-a). Treatments of protein for biopolymer production in view of processability and physical properties: A review. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(17), 13-17.
- Du, J., Wei, Z. Y., Wang, X., Wang, J. J., & Chen, Z. (2016-b). An improved fused deposition modeling process for forming large-size thin-walled parts. *Journal of Materials Processing Technology*, 234, 332-341.
- Dupré, A. (1869). Théorie mécanique de la chaleur. *Paris: Ed. Gauthier-Villars.*

Economidou, S. N., & Karalekas, D. (2016). Optical sensor-based measurements of thermal expansion coefficient in additive manufacturing. *Polymer Testing*, 51, 117-121.

Erickson, D.P., Renzetti, S., Jurgens, A., Campanella, O.H. & Hamaker, B.R. (2014) Modulating state transition and mechanical properties of viscoelastic resins from maize zein through interactions with plasticizers and co-proteins, *Journal of Cereal Science*, 60(3), 576-583.

Eshelby, J., (1949) Discussion of 'Seminar on the Kinetics of Sintering'. *Metallurgical Transactions*, 185, 796–813.

FDA, Food and Drug Administration -US-. (2014) Zein as a direct food substances affirmed as Generally Recognized as Safe (GRAS), *Code of Federal Regulations (CFR-21)*.

Follain, N., Joly, C., Dole, P., & Bliard, C. (2005). Mechanical properties of starch-based materials. I. Short review and complementary experimental analysis. *Journal of Applied Polymer Science*, 97(5), 1783-1794.

Forato, L. A., Colnago, L. A., Garratt, R. C., & Lopes, M. A. (2000). Identification of free fatty acids in maize protein bodies and purified alpha zeins by C-13 and H-1 nuclear magnetic resonance. *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1543(1), 106-114.

Forato, L. A., Doriguetto, A. C., Fischer, H., Mascarenhas, Y. P., Craievich, A. F., & Colnago, L. A. (2004). Conformation of the Z19 prolamin by FTIR, NMR, and SAXS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2382-2385.

Frenkel, J. (1945). Viscous flow of crystalline bodies under the action of surface tension. *Journal of Physics (USSR)*, 9, 385-391.

Gadilohar, B. L., & Shankarling, G. S. (2017). Choline based ionic liquids and their applications in organic transformation. *Journal of Molecular Liquids*, 227, 234-261.

Gayral, M., Bakan, B., Dalgalarondo, M., Elmorjani, K., Delluc, C., Brunet, S., Linossier, L., Morel, M. H., & Marion, D. (2015). Lipid Partitioning in Maize (*Zea mays L.*) Endosperm Highlights Relationships among Starch Lipids, Amylose, and Vitreousness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(13), 3551-3558.

- Ghanbarzadeh, B., Musavi, M., Oromiehie, A. R., Rezayi, K., Rad, E. R., & Milani, J. (2007). Effect of plasticizing sugars on water vapor permeability, surface energy and microstructure properties of zein films. *Lwt-Food Science and Technology*, *40*(7), 1191-1197.
- Giannitelli, S. M., Accoto, D., Trombetta, M., & Rainer, A. (2014). Current trends in the design of scaffolds for computer-aided tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, *10*(2), 580-594.
- Gillgren, T., & Stading, M. (2008). Mechanical and barrier properties of avenin, kafirin, and zein films. *Food Biophysics*, *3*(3), 287-294.
- Gillgren, T., Barker, S. A., Belton, P. S., Georget, D. M. R., & Stading, M. (2009). Plasticization of Zein: A Thermomechanical, FTIR, and Dielectric Study. *Biomacromolecules*, *10*(5), 1135-1139.
- Godoi, F. C., Prakash, S., & Bhandari, B. R. (2016). 3D printing technologies applied for food design: Status and prospects. *Journal of Food Engineering*, *179*, 44-54.
- Gordon, M., & Taylor, J. S. (1952). Ideal copolymers and second-order transitions in synthetic rubbers. I. Non-crystalline polymers. *Journal of Applied Chemistry*, *2*, 493-500.
- Goole, J., & Amighi, K. (2016). 3D printing in pharmaceuticals: A new tool for customizing drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, *499*, 376-394.
- Goyanes, A., Buanz, A. B. M., Basit, A. W., & Gaisford, S. (2014). Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, *476*(1-2), 88-92.
- Hansen, C. M. & Skaarup, K. (1967). *J. Paint Technol*, *39*, 551-560.
- Hobin, T. P. (1972). Surface Tension in Relation to Cohesive Energy with Particular Reference to Hydrocarbon Polymers. *The Journal of Adhesion*, *3*(3), 237-247.
- Hofstaetter, T., Pimentel, R., Pedersen, D.B., Mischkot, M., & Hansen, H.N. (2015). *Proceedings Annual COMSOL conference*.
- Heller, B. P., Smith, D. E., & Jack, D. A. (2016). Effects of extrudate swell and nozzle geometry on fiber orientation in Fused Filament Fabrication nozzle flow. *Additive Manufacturing*, *12* (Part B), 252-264.

Hernandez-Izquierdo, V. M., & Krochta, J. M. (2008). Thermoplastic processing of proteins for film formation - A review. *Journal of Food Science*, 73(2), 30-39.

Hoque, M. E., Chuan, Y. L., & Pashby, I. (2011). Extrusion based rapid prototyping technique: An advanced platform for tissue engineering scaffold fabrication. *Biopolymers*, 97(2), 83-93.

Holding, D. R. (2014). Recent advances in the study of prolamin storage protein organization and function. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1-9.

Hopper, R.W. (1984) Coalescence of Two Equal Cylinders: Results for Creeping Viscous Plane Flow Driven by Capillarity, *Communications of the American Ceramic Society*, C262-C264.

Hopper, R. W. (1993-a). Coalescence of 2 viscous cylinders by capillarity .1. Theory. *Journal of the American Ceramic Society*, 76(12), 2947-2952.

Hopper, R. W. (1993-b). Coalescence of 2 viscous cylinders by capillarity .2. Shape evolution. *Journal of the American Ceramic Society*, 76(12), 2953-2960.

Hu, Y., Liu, L., Dan, W. H., Dan, N. H., & Gu, Z. P. (2013). Evaluation of 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate based ionic liquid systems as a suitable solvent for collagen. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(4), 2245-2256.

Hussan, K. P. S., Thayyil, M. S., Deshpande, S. K., Jinitha, T. V., Rajan, V. K., & Ngai, K. L. (2016). Synthesis and molecular dynamics of double active pharmaceutical ingredient-benzalkonium ibuprofenate. *Journal of Molecular Liquids*, 223, 1333-1339.

Huang, X., Kanerva, P., Salovaara, H., Loponen, J., & Sontag-Strohm, T. (2013). Oxidative modification of a proline-rich gliadin peptide. *Food Chemistry*, 141(3), 2011-2016.

Hughes, J., Thomas, R., Byun, Y., & Whiteside, S. (2012). Improved flexibility of thermally stable poly-lactic acid (PLA). *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 165-172.

Hwang, S. W., Park, D. H., Kang, D. H., Lee, S. B., & Shim, J. K. (2016). Reactive compatibilization of poly(l-lactic acid)/poly(propylene carbonate) blends: Thermal, thermomechanical, and morphological properties. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(18), 10.

- Jbilou, F., Ayadi, F., Galland, S., Joly, C., Dole, P., Belard, L., & Degraeve, P. (2012). Effect of Shear Stress Extrusion Intensity on Plasticized Corn Flour Structure: Proteins Role and Distribution. *Journal of Applied Polymer Science*, *123*(4), 2177-2186.
- Jerez, A., Partal, P., Martinez, I., Gallegos, C., & Guerrero, A. (2007). Protein-based bioplastics: effect of thermo-mechanical processing, *Rheologica Acta*, *46*, 711-720.
- Jiang, J. D., Su, L. L., Zhang, K., & Wu, G. Z. (2013). Rubber-toughened PLA blends with low thermal expansion. *Journal of Applied Polymer Science*, *128*(6), 3993-4000.
- Jouannin, C., Tourne-Peteilh, C., Darcos, V., Sharkawi, T., Devoisselle, J. M., Gaveau, P., Viau, L. (2014). Drug delivery systems based on pharmaceutically active ionic liquids and biocompatible poly(lactic acid). *Journal of Materials Chemistry B*, *2*(20), 3133-3141.
- Kar, G. P., Biswas, S., & Bose, S. (2014). Tailoring the interface of an immiscible polymer blend by a mutually miscible homopolymer grafted onto graphene oxide: outstanding mechanical properties. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *17*, 1811-1821.
- Kempin, W., Franz, C., Koster, L. C., Schneider, F., Bogdahn, M., Weitschies, W., & Seidlitz, A. (2017). Assessment of different polymers and drug loads for fused deposition modeling of drug loaded implants. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *115*, 84-93.
- Khaled, S. A., Burley, J. C., Alexander, M. R., & Roberts, C. J. (2014). Desktop 3D printing of controlled release pharmaceutical bilayer tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, *461*(1-2), 105-111.
- Khan, M. I. H., Islam, J. M. M., Kabir, W., Rahman, A., Mizan, M., Rahman, M. F., Khan, M. A. (2016). Development of hydrocolloid Bi-layer dressing with bio-adhesive and non-adhesive properties. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, *69*, 609-615.
- Kongjao, S., Damronglerd, S., & Hunsom, M. (2010). Purification of crude glycerol derived from waste used-oil methyl ester plant. *Korean Journal of Chemical Engineering*, *27*(3), 944-949.
- Kwok, D. Y., Cheung, L. K., Park, C. B., & Neumann, A. W. (1998). Study on the surface tensions of polymer melts using axisymmetric drop shape analysis. *Polymer Engineering and Science*, *38*(5), 757-764.

- Lai, H. M., Geil, P. H., & Padua, G. W. (1999). X-ray diffraction characterization of the structure of zein-oleic acid films. *Journal of Applied Polymer Science*, *71*(8), 1267-1281.
- Lam, C. X. F., Mo, X. M., Teoh, S. H., & Hutmacher, D. W. (2002). Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, *20*(1-2), 49-56.
- Landry, J. (1979). Zein of maize grain - Preparation and Characterization. *Biochimie*, *61*(4), 549-558
- Lawton, J. W. (2002). Zein: A history of processing and use. *Cereal Chemistry*, *79*(1), 1-18.
- Lawton, J. W. (2004). Plasticizers for zein: Their effect on tensile properties and water absorption of zein films. *Cereal Chemistry*, *81*(1), 1-5.
- Legland, D., & Beaugrand, J. (2013). Automated clustering of lignocellulosic fibres based on morphometric features and using clustering of variables. *Industrial Crops and Products*, *45*, 253-261.
- Leroy, E., Jacquet, P., Coativy, G., Reguerre, A. L., & Lourdin, D. (2012). Compatibilization of starch-zein melt processed blends by an ionic liquid used as plasticizer. *Carbohydrate Polymers*, *89*(3), 955-963.
- Li, Y. Q., Li, J., Xia, Q. Y., Zhang, B., Wang, Q., & Huang, Q. R. (2012). Understanding the Dissolution of alpha-Zein in Aqueous Ethanol and Acetic Acid Solutions. *Journal of Physical Chemistry B*, *116*(39), 12057-12064.
- Li, W. B., Yu, D. G., Chen, K., Wang, G. H., & Williams, G. R. (2013). Smooth preparation of ibuprofen/zein microcomposites using an epoxy-coated electrospaying head. *Materials Letters*, *93*, 125-128.
- Liu, J., Sun, L., Xu, W., Wang, Q., Yu, S., & Sun, J. (2019). Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers. *Carbohydrate Polymers*, *207*, 297-316.
- Lourdin, D., DellaValle, G., & Colonna, P. (1995). Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydrate Polymers*, *27*(4), 261-270.

- Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H., & Colonna, P. (1997). Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, 38(21), 5401-5406.
- Lynam, J. G., Kumar, N., & Wong, M. J. (2017). Deep eutectic solvents' ability to solubilize lignin, cellulose, and hemicellulose; thermal stability; and density. *Bioresource Technology*, 238, 684-689.
- Madeka, H., & Kokini, J. L. (1992). Effect of addition of zein and gliadin on the rheological properties of amylopectin starch with low-to-intermediate moisture. *Cereal Chemistry*, 69(5), 489-494.
- Madeka, H., & Kokini, J. L. (1996). Effect of glass transition and cross-linking on rheological properties of zein: Development of a preliminary state diagram. *Cereal Chemistry*, 73(4), 433-438.
- Magoshi, J., Nakamura, S., & Murakami, K. I. (1992). Structure and Physical-properties of seed proteins. 1. Glass-transition and crystallization of zein protein from corn. *Journal of Applied Polymer Science*, 45(11), 2043-2048.
- Mahler, H. C., Friess, W., Grauschopf, U., & Kiese, S. (2009). Protein Aggregation: Pathways, Induction Factors and Analysis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(9), 2909-2934.
- McIlroy, C., & Olmsted, P. D. (2016). Modelling Polymer Deformation during 3D Printing. *Proceedings of the XVIIth International Congress of Rheology*. Kyoto.
- McIlroy, C., & Olmsted, P. D. (2017). Disentanglement effects on welding behaviour of polymer melts during the fused-filament-fabrication method for additive manufacturing. *Polymer*, 123, 376-391.
- Majesté, J. C. M., J.P. Allal, A. Marin, G. (1998). Viscoelasticity of low molecular weight polymers and the transition to the entangled regime. *Rheological Acta*, 37, 486-499.
- Marangoni, C. G. M. (1871). *Annals of Physics*, 143, 377-380.
- Matsushima, N., Danno, G., Takezawa, H., & Izumi, Y. (1997). Three-dimensional structure of maize alpha-zein proteins studied by small-angle X-ray scattering. *Biochimica Et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1339(1), 14-22.

- Melnikova, R., Ehrmann, A., & Finsterbusch, K. (2014). 3D printing of textile-based structures by Fused Deposition Modelling (FDM) with different polymer materials. *Global Conference on Polymer and Composite Materials (PCM)* (Vol. 62). Ningbo, PEOPLES R CHINA: Iop Publishing Ltd.
- Michon, T., Wang, W. C., Ferrasson, E., & Gueguen, J. (1999). Wheat prolamine crosslinking through dityrosine formation catalyzed by peroxidases: Improvement in the modification of a poorly accessible substrate by "indirect" catalysis. *Biotechnology and Bioengineering*, *63*(4), 449-458.
- Mu-Forster, C., & Wasserman, B. P. (1998). Surface localization of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm. Proteolytic removal by thermolysin and in vitro cross-linking of granule-associated polypeptides. *Plant physiology*, *116*(4), 1563-1571.
- Nedi, I., Di Maio, E., & Iannace, S. (2012). The role of protein-plasticizer-clay interactions on processing and properties of thermoplastic zein bionanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, *125*, 314-323.
- Nonthanum, P., Lee, Y., & Padua, G. W. (2013). Effect of pH and ethanol content of solvent on rheology of zein solutions. *Journal of Cereal Science*, *58*(1), 76-81.
- Oliviero, M., Di Maio, E., & Iannace, S. (2010). Effect of Molecular Structure on Film Blowing Ability of Thermoplastic Zein. *Journal of Applied Polymer Science*, *115*(1), 277-287.
- Owens, D. K., & Wendt, R. C. (1969). Estimation of the surface free energy of polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, *13*(8), 1741-1747.
- Peppas, N. A., & Brannon-Peppas, L. (1994). Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods. *Journal of Food Engineering*, *22*(1-4), 189-210.
- Pfister, A., Landers, R., Laib, A., Hubner, U., Schmelzeisen, R., & Mulhaupt, R. (2004). Biofunctional rapid prototyping for tissue-engineering applications: 3D biplotting versus 3D printing. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, *42*(3), 624-638.
- Pham, D. T., & Gault, R. S. (1998). A comparison of rapid prototyping technologies. *International Journal of Machine Tools & Manufacture*, *38*(10-11), 1257-1287.
- Pokluda, O., Bellehumeur, C. T., & Vlachopoulos, J. (1997). Modification of Frenkel's model for sintering. *Aiche Journal*, *43*(12), 3253-3256.

Pommet, M., Redl, A., Morel, M. H., Domenek, S., & Guilbert, S. (2003). Thermoplastic processing of protein-based bioplastics: Chemical engineering aspects of mixing, extrusion and hot molding. *Macromolecular Symposia*, 197, 207-217.

Ramukutty, S., & Ramachandran, E. (2012). Growth, spectral and thermal studies of ibuprofen crystals. *Crystal Research and Technology*, 47(1), 31-38.

Rangarajan, S., Qi, G., Venkataraman, N., Safari, A., & Danforth, S. C. (2000). Powder processing, rheology, and mechanical properties of feedstock for fused deposition of Si₃N₄ ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*, 83(7), 1663-1669.

Reddy, N., Chen, L. H., & Yang, Y. Q. (2013). Thermoplastic films from peanut proteins extracted from peanut meal. *Industrial Crops and Products*, 43, 159-164.

Reddy, N., & Yang, Y. Q. (2013). Thermoplastic films from plant proteins. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(2), 729-738.

Redl, A., Morel, M.-H., Bonicel, J., Guilbert, S., & Vergnes, B. (1999). Rheological properties of gluten plasticized with glycerol: dependence on temperature, glycerol content and mixing conditions. *Rheologica Acta*, 38, 311-320.

Rindlav-Westling, A., Stading, M., Hermansson, A. M., & Gatenholm, P. (1998). Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 36(2-3), 217-224.

Roos, Y. H. (1995). Prediction of the physical state. In : Phase transition in foods. *Taylor's S.L. (Eds). Academic Press : San Diego, CA, US*, pp. 121-139.

Rouilly, A., Meriaux, A., Geneau, C., Silvestre, F., & Rigal, L. (2006). Film extrusion of sunflower protein isolate. *Polymer Engineering and Science*, 46(11), 1635-1640.

Saadat, A., Nazockdast, H., Sepehr, F., & Mehranpour, M. (2010). Linear and Nonlinear Melt Rheology and Extrudate Swell of Acrylonitrile-Butadiene-Styrene and Organoclay-Filled Acrylonitrile-Butadiene-Styrene Nanocomposite. *Polymer Engineering and Science*, 50(12), 2340-2349.

- Selling, G. W. (2010). The effect of extrusion processing on Zein. *Polymer Degradation and Stability*, 95(12), 2241-2249.
- Selling, G. W., & Utt, K. D. (2013). Effect of multiple extrusion passes on zein. *Polymer Degradation and Stability*, 98(1), 184-189.
- Seppala, J. E., & Migler, K. D. (2016). Infrared thermography of welding zones produced by polymer extrusion additive manufacturing. *Additive Manufacturing*, 12, Part A, 71-76.
- Sessa, D. J., Selling, G. W., Willett, J. L., & Palmquist, D. E. (2006). Viscosity control of zein processing with sodium dodecyl sulfate. *Industrial Crops and Products*, 23(1), 15-22.
- Shamshina, J. L., Kelley, S. P., Gurau, G., & Rogers, R. D. (2015). Develop ionic liquid drugs. *Nature*, 528(7581), 188-189.
- Shewry, P. R., & Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947-958.
- Shi, W., & Dumont, M. J. (2014). Review: bio-based films from zein, keratin, pea, and rapeseed protein feedstocks. *Journal of Materials Science*, 49(5), 1915-1930.
- Shukla, R., & Cheryan, M. (2001). Zein: the industrial protein from corn. *Industrial Crops and Products*, 13(3), 171-192
- Sidambe, A. T. (2014). Biocompatibility of Advanced Manufactured Titanium Implants-A Review. *Materials*, 7(12), 8168-8188.
- Smith, W. C., & Dean, R. W. (2013). Structural characteristics of fused deposition modeling polycarbonate material. *Polymer Testing*, 32(8), 1306-1312.
- Soroudi, A., & Jakubowicz, I. (2013). Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. *European Polymer Journal*, 49(10), 2839-2858.
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 207-218.

- Sugisaki, M., Suga, H., & Seki, S. (1968). Calorimetric study of the glassy state. IV-heat capacity of glassy water and cubic ice. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 41, 2591-2599.
- Sun, Q., Rizvi, G. M., Bellehumeur, C. T., & Gu, P. (2008). Effect of processing conditions on the bonding quality of FDM polymer filaments. *Rapid Prototyping Journal*, 14(2), 72-80.
- Tomlinson, S. R., Kehr, C. W., Lopez, M. S., Schlup, J. R., & Anthony, J. L. (2014). Solubility of the Corn Protein Zein in Imidazolium-based Ionic Liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(6), 2293-2298.
- Turner, B. N., Strong, R., & Gold, S. A. (2014). A review of melt extrusion additive manufacturing processes: I. Process design and modeling. *Rapid Prototyping Journal*, 20(3), 192-204.
- Turner, B. N., & Gold, S. A. (2015). A review of melt extrusion additive manufacturing processes: II. Materials, dimensional accuracy, and surface roughness. *Rapid Prototyping Journal*, 21, 250-261.
- Venkataram, N., Rangarajan, S., & Matthewson, M. J. (2000). Feedstock material property - process relationships in fused deposition of ceramics (FDC). *Rapid Prototyping Journal*, 6(4), 244-252.
- Ventola, C. L. (2014). Medical Applications for 3D Printing: Current and Projected Uses. *Pharmacy and Therapeutics*, 39(10), 704-711.
- Verbeek, C. J. R., & van den Berg, L. E. (2010). Extrusion Processing and Properties of Protein-Based Thermoplastics. *Macromolecular Materials and Engineering*, 295(1), 10-21.
- Vogel, J., Kessler, M. R., Sundararajan, S., & Grewell, D. (2012). Activation energy for diffusion and welding of PLA films. *Polymer Engineering and Science*, 52(8), 1693-1700.
- Wang, Y., Lopes, F., Geil, P., & Padua, G. W. (2005). Effects of processing on the structure of zein/oleic acid films investigated by X-ray diffraction. *Macromolecular Bioscience*, 5(12), 1200-1208.
- Wang, J. W., & Shaw, L. L. (2005). Rheological and extrusion behavior of dental porcelain slurries for rapid prototyping applications. *Materials Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing*, 397(1-2), 314-321.
- Wang, Y., & Padua, G. W. (2012). Nanoscale Characterization of Zein Self-Assembly. *Langmuir*, 28(5), 2429-2435.

- Wang, H., Gurau, G., Shamshina, J., Cojocaru, O. A., Janikowski, J., MacFarlane, D. R. & Rogers, R. D. (2014). Simultaneous membrane transport of two active pharmaceutical ingredients by charge assisted hydrogen bond complex formation. *Chemical Science*, 5(9), 3449-3456.
- Wei, X. J., Li, D., Jiang, W., Gu, Z. M., Wang, X. J., Zhang, Z. X., & Sun, Z. Z. (2015). 3D Printable Graphene Composite. *Scientific Reports*, 5, 7-10.
- Wegst, U. G. K., Bai, H., Saiz, E., Tomsia, A. P., & Ritchie, R. O. (2015). Bioinspired structural materials. *Nature Materials*, 14(1), 23-36.
- Weng, Z. X., Wang, J. L., Senthil, T., & Wu, L. X. (2016). Mechanical and thermal properties of ABS/montmorillonite nanocomposites for fused deposition modeling 3D printing. *Materials & Design*, 102, 276-283.
- Wilson, C. M. (1991). Multiple zeins from maize endosperms characterized by reversed-phase high-performance liquid-chromatography. *Plant Physiology*, 95(3), 777-786.
- Winter, H. (1987). Can the gel point of a cross-linking polymer be detected by the $G'-G''$ crossover ? *Polymer Engineering and Science*, 27(22), 1698-1702.
- Wu, S. (1969). Surface and interfacial tensions of polymer melts .I. Polyethylene, polyisobutylene and polynivyl acetate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 31(2), 153-160.
- Wu, S. (1970). Surface and interfacial tensions of polymer melts .II. Poly(methyl methacrylate), poly (normal-butyl methacrylate) and polystyrene. *Journal of Physical Chemistry*, 74(3), 632-640.
- Wu, S. (1982). Polymer Interface and Adhesion, *Ed. Marcel Dekker, New York, NY*, 142-146.
- Xia, Y. C., Wang, Y. X., & Chen, L. Y. (2011). Molecular Structure, Physicochemical Characterization, and in Vitro Degradation of Barley Protein Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 13221-13229.
- Xin, L., Boutaous, M., Xin, S.H., Siginer, D.A. (2017) Multiphysical modeling of the heating phase in the polymer powder bed fusion process, *Additive Manufacturing*, 18, 121-135.

Xu, H., Chai, Y. W., & Zhang, G. Y. (2012). Synergistic Effect of Oleic Acid and Glycerol on Zein Film Plasticization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(40), 10075-10081.

Yan, X., & Gu, P. (1996). A review of rapid prototyping technologies and systems. *Computer-Aided Design*, 28(4), 307-318.

Yang, D., Xu, Z., Liu, C., & Wang, L. D. (2010). Experimental study on the surface characteristics of polymer melts. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 367(1-3), 174-180.

Yates, M. R., & Barlow, C. Y. (2013). Life cycle assessments of biodegradable, commercial biopolymers-A critical review. *Resources Conservation and Recycling*, 78, 54-66.

Yeong, W. Y., Chua, C. K., Leong, K. F., & Chandrasekaran, M. (2004). Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential. *Trends in Biotechnology*, 22(12), 643-652.

Young, T. (1805). An Essay on the Cohesion of Fluids. *Philos.Trans.Rev.Soc.Lond*, Vol. 95, 65-87.

Yousfi, M., Alix, S., Lebeau, M., Soulestin, J., Lacrampe, M. F., & Krawczak, P. (2014). Evaluation of rheological properties of non-Newtonian fluids in micro rheology compounder: Experimental procedures for a reliable polymer melt viscosity measurement. *Polymer Testing*, 40, 207-217.

Zhang, J., Mungara, P., & Jane, J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. *Polymer*, 42(6), 2569-2578.

Zhang, B. C., Luo, Y. C., & Wang, Q. (2011). Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidant properties of alpha-zein. *Food Chemistry*, 124(1), 210-220.

Zhang, Y., Cui, L. L., Che, X. X., Zhang, H., Shi, N. Q., Li, C. L., Chen, Y., & Kong, W. (2015). Zein-based films and their usage for controlled delivery: Origin, classes and current landscape. *Journal of Controlled Release*, 206, 206-219.

Zhang, J. X., Yang, W. W., Vo, A. Q., Feng, X., Ye, X. Y., Kim, D. W., & Repka, M. A. (2017). Hydroxypropyl methylcellulose-based controlled release dosage by melt extrusion and 3D printing: Structure and drug release correlation. *Carbohydrate Polymers*, 177, 49-57.

Zhao, D. D., Palaparathi, A. D., Huang, Q. R., Fu, X., Liu, H. S., & Yu, L. (2015). Effects of ionic liquid 1-allyl-3-methylimidazolium chloride treatment on the microstructure and phase transition of cornstarch. *Industrial Crops and Products*, 77, 139-145.

Zhu, Y. Z., Pyda, M., & Cebe, P. (2017). Electrospun fibers of poly(l-lactic acid) containing lovastatin with potential applications in drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(36), 9-12.

Annexes

Annexe 1 : Liste et structures des principaux acides aminés

Annexe 2 : Délipidation de la zéine commerciale à l'extracteur Soxhlet

Annexe 3 : Caractérisation de la fraction lipidique de la zéine commerciale par HPLC

Annexe 4 : Caractérisation de la zéine par HPLC en phase inversée

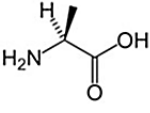
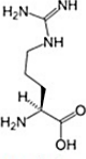
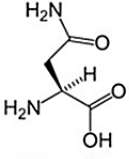
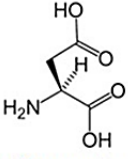
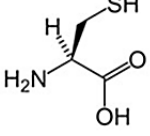
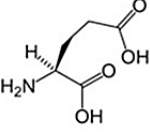
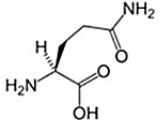
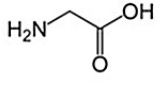
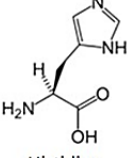
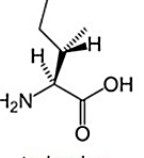
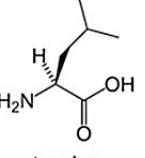
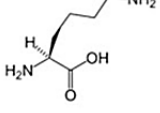
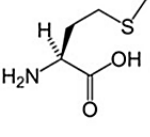
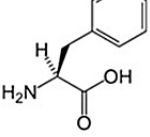
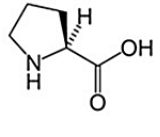
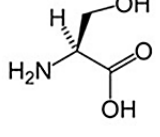
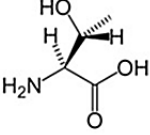
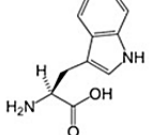
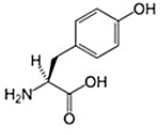
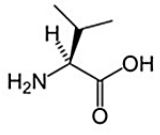
Annexe 5 : Détermination de la solubilité de la zéine commerciale brute et plastifiée

Annexe 6 : Recherche de réticulations de type dityrosine

Annexe 7 : Recherche de déamidations

Annexe 8 : Détermination de la composition en acides aminés

Annexe 1 : Liste et structures des principaux acides aminés

			
Alanine	Arginine	Asparagine	Acide aspartique
			
Cystéine	Acide glutamique	Glutamine	Glycine
			
Histidine	Isoleucine	Leucine	Lysine
			
Méthionine	Phénylalanine	Proline	Sérine
			
Thréonine	Tryptophane	Tyrosine	Valine

Annexe 2 : Délipidation de la zéine commerciale à l'extracteur Soxhlet

L'extracteur Soxhlet est constitué d'un ballon monocol, d'un circuit réfrigérant (thermostaté à 5°C), et d'un extracteur où est placée une cartouche en cellulose contenant la matière première sous forme d'une poudre (de l'ordre de 150g à 250g selon la densité), Fig. Annexe-2.1.

L'extracteur présente un système de tube en siphon permettant la vidange du réservoir (1L) contenant la cartouche. Initialement, la cartouche et l'échantillon qu'elle contient sont placés dans le réservoir puis imbibés de solvant, le dichlorométhane (CH_2Cl_2 , Carlo Erba, F-27 Val de Reuil), qui coule en excès dans le ballon pour un volume total de 1,5l environ. Le ballon est placé dans un système chauffant pour entraîner l'ébullition du solvant ($T_{\text{ébullition}}=40^\circ\text{C}$) dont la vapeur se condense au contact du circuit réfrigérant dans la partie supérieure du dispositif. Il retombe alors, à l'état pur, sur la cartouche et entraîne les composés organiques solubles à extraire initialement présents dans le produit brut à traiter. Dès que le niveau de solvant est à la hauteur du coude supérieur du siphon, le réservoir se vidange automatiquement et le dichlorométhane chargé en composés extraits retombe dans le ballon d'ébullition et un nouveau cycle d'extraction recommence. Jusqu'à la fin de la délipidation, la zéine reste contenue dans la cartouche en cellulose de l'extracteur Soxhlet.

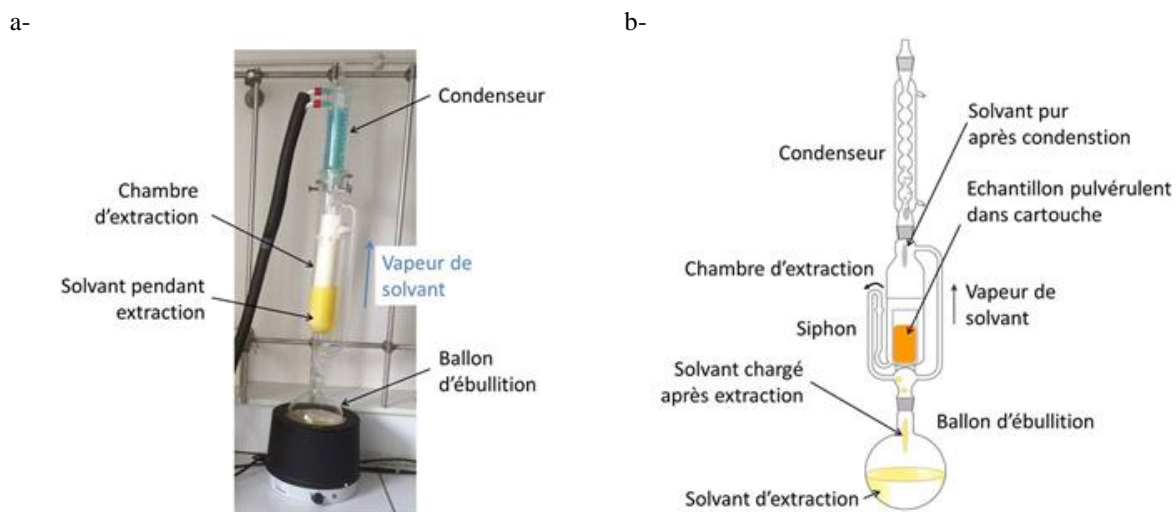


Figure Annexe-2.1. Image de l'extracteur Soxhlet, présentant un volume utile de 1L, en cours de fonctionnement lors de la délipidation de la zéine (a-). Schéma de principe de fonctionnement du Soxhlet (b-)

La délipidation nécessite de nombreux cycles durant une période de 40 à 50 heures répartis sur 6 à 8 jours dans ce cas, jusqu'à ce que le solvant soit transparent dans le siphon et que la substance à extraire soit donc épuisée dans l'échantillon. A la fin de ce temps, l'ensemble des composés extraits par le dichlorométhane, tels les lipides et les pigments, se retrouvent dans le ballon d'ébullition. Il est démonté et le solvant est évaporé au Rotavapor à une pression de 450mBar pendant environ 30 minutes à 30°C à une vitesse de 150rpm (KNF Lab, RC900, KNF Neuberger SA, F-68 Village-Neuf).

La fraction lipidique extraite est rincée dans l'acétone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$, Carlo Erba, F-27 Val de Reuil) avant lyophilisation.

Quelques particules de zéine pouvant avoir été entraînées par le flux de solvant dans l'extracteur sont alors retirées, car non solubles. Ainsi, la fraction lipidique extraite de la zéine est diluée dans 150 mL d'acétone environ et répartie en 4 pots de 45 mL pour centrifugation à 3500 rpm pendant 5 min.

Les surnageants (fraction lipidique pure) de chaque pot sont récupérés puis concentrés au rotavapor, dans les mêmes conditions que pour évaporer le dichlorométhane après l'extraction au soxhlet, puis pour un vide plus poussé (<10 mBar).

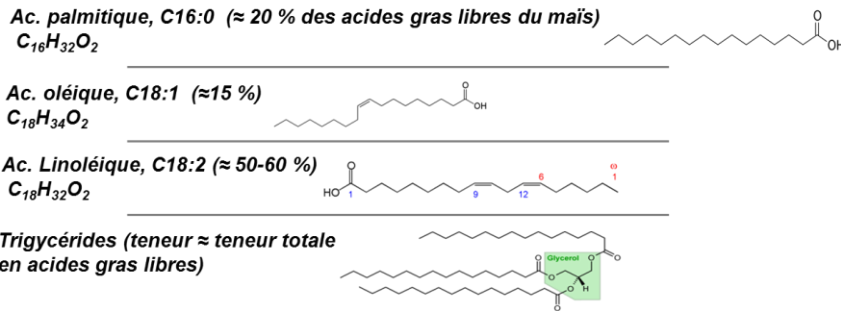
Les culots sont dilués à nouveau dans de l'acétone en quantité suffisante pour remplir deux tubes de centrifugation. Ceci est répété 4 à 5 fois, de façon à récupérer l'ensemble des lipides purs rincés et de les séparer des résidus protéiques (culots constitués de protéines, vérifiés comme étant insolubles dans une solution de dichlorométhane/méthanol -CH₂Cl₂/CH₃OH-, Carlo Erba, F-27 Val de Reuil-, à 2 volumes pour 1 volume respectivement). La fraction lipidique contenue dans la zéine commerciale est issue de l'ensemble des surnageants concentrés au rotavapor (pour évaporer l'acétone), puis séchés par lyophilisation (12h ; -90°C ; 0,1 mBar) en Heto Drywinner (Thermo Electron Corp., Waltham, MA, US). Cette fraction sera caractérisée ensuite (composition en acides gras et triglycérides notamment).

La cartouche en cellulose, contenant la zéine délipidée, est vidée de son contenu qui forme une masse compacte de couleur crème après extraction des lipides et des caroténoïdes initialement présents. La zéine est alors concassée ($\varnothing_{particules} < 20$ mm) puis dispersée sur une plaque métallique à température ambiante sous une hotte aspirante pour éliminer les résidus de dichlorométhane. De façon à obtenir une granulométrie régulière, la zéine est alors soumise à un broyage dans un broyeur à rotor à 12000 tr/min (broyeur Rotor Speed Mill, pulv.14, Fritsch, Idar-Oberstein, DE), puis tamisée (< 0,7 mm).

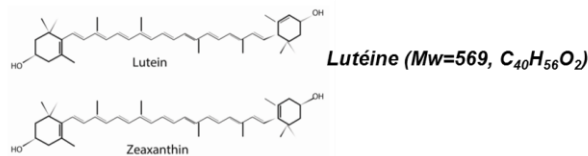
Annexe 3 : Caractérisation de la fraction lipidique de la zéine commerciale par HPLC

Les principaux lipides du maïs (et pigments caroténoïdes aux structures proches) ont été reportés dans la littérature. Les lipides neutres, tels que le triglycérides, et les acides gras libres (en proportions équivalentes dans l'albumen) représentent plus de 80% des lipides de l'endosperme (Gayral *et al.*, 2015) :

- Lipides ≈ 4% du gluten de maïs (CGM) et 1% de l'albumen : essentiellement acides gras libres et triglycérides



- Carotènes+Lutéine≈50mg/kg maïs



La fraction lipidique sèche (après extraction au Soxhlet) issue de la zéine commerciale est diluée dans 100 mL de chloroforme pour constituer une solution mère qui servira de base à la caractérisation des composés lipidiques présents (*e.g.*, triglycérides, acides gras libres). La solution mère constituée de la fraction lipidique dans du chloroforme est diluée à 1/100 de nouveau dans du chloroforme, puis injectée (10 µL) dans un dispositif d'HPLC (Ref. 1525, Waters SAS, F-78 Guyancourt). La colonne non modifiée (Ref. EC250/4,6 NUCLEODUR 100-5, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, DE), avec groupements de type silanols (SiOH), est alimentée en éluant à 1 mL/min pour une élution à gradient de solvants adaptée à la séparation des lipides (Tableau Annexe-3.1).

Tableau Annexe-3.1. Gradient de solvant pour élution en HPLC : caractérisation de la fraction lipidique. Avec A (chloroforme pur) et B (Méthanol : 460 volumes, ammoniac en solution aqueuse à 30% : 35 volumes, et chloroforme : 5 volumes)

Temps (min)	Flux (mL.min ⁻¹)	% A	% B
0	1	100	0
3	1	80	20
12	1	0	100
18	1	0	100
18,10	1	100	0
23	1	100	0

Les groupements silanols non greffés de la phase stationnaire sont polaires et hydrophiles. Les composés à la polarité la plus faible, tels les triglycérides dans la fraction lipidique issue de la zéine, sont élués en premier, suivis par des composés un peu plus polaires tels que les diglycérides, puis les acides gras libres.

En sortie de colonne, l'équipement d'HPLC est équipé d'un détecteur à diffusion de lumière (Sedex 55, Sedere SAS, F-94 Alfortville) après vaporisation de l'éluant (3 Bar, 40°C). Les chromatogrammes sont traités par le logiciel Breeze 2 (Waters SAS, F-78 Guyancourt).

La fraction lipidique extraite de la zéine est ainsi caractérisée puis comparée à un standard contenant des triglycérides (élués à 5 minutes, Fig. Annexe-3.1) et des acides gras libres (élués à 11 minutes, Fig. Annexe-3.1).

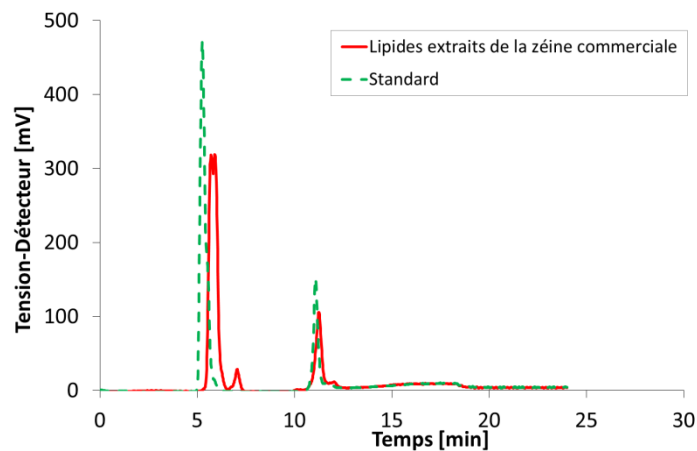


Figure Annexe-3.1. Caractérisation de la fraction lipidique extraite de la zéine commerciale et d'un standard (triglycérides et acides gras libres) par HPLC sur colonne SiOH

Les résultats ne sont pas quantitatifs, mais permettent d'identifier les lipides extraits de la zéine, constitués de triglycérides et d'acides gras libres par comparaison à un standard. Un pic apparaît aussi à 7 minutes d'éluion, probablement dû à des mono- ou di-glycérides.

Une caractérisation plus précise a été réalisée avec l'équipe BIA-ISD, par HPLC et CPG (chromatographie en phase gazeuse) après méthylation (résultats présentés ci-dessous). Elle est similaire aux valeurs de la littérature avec 58% d'acides gras libres (AGL, dont majoritairement les acides linoléique, oléique et palmitique), 38% de triglycérides (TAG) et 4% de diglycérides (DG) :

- Teneurs en Acides Gras Libres (AGL) : 58%, en triglycérides (TAG) : 38% et en diglycérides (DG) : 4% (détermination en HPLC)

- Détail de la composition en AGL (détermination en CPG, après méthylation ; Tableau Annexe-3.2).

Tableau Annexe-3.2. Détail de la composition en acides gras libres (AGL) de la zéine commerciale brute. Flèches indiquant les acides gras majoritaires : acides linoléique (C18:2n-6), oléique (C18:1n-9) et palmitique (C16, saturé)

Composition en acides gras des lipides extraits de la zeine	
C15	0.1
→ C16	14.3
C18	1.9
C20	0.6
C22	0.5
C24	1.1
Saturés	18.6
C16:1n-9	0.1
C16:1n-7	0.1
→ C18:1n-9	24.0
C18:1n-7	0.8
C20:1n-9	0.3
C22:1n-9	0.6
Monoinsaturés	25.9
→ C18:2n-6	53.2
C18:3n-3	2.3
Polyinsaturés	55.6
Qtt méthylée (µg)	970
Qtt AG (µg)	471

Annexe 4 : Caractérisation de la zéïne par HPLC en phase inversée

Cette technique de Chromatographie Liquide à Haute performance (HPLC) en phase inversée repose sur l'utilisation d'une phase stationnaire placée dans une colonne de 25 cm de longueur, pour un diamètre de 4,6 mm, dont le diamètre des particules est de 5 μm avec une porosité moyenne de 30 nm (ref. Nucleosil 300-5-C18, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, DE).

La nature chimique de la phase stationnaire (chaines alkyles à 18 atomes de carbone) greffée sur les billes de silice de la colonne ($\text{R}=(\text{CH}_2)_{17}\text{-CH}_3$), permet des interactions hydrophobes avec les composés peptidiques à analyser. Les solutés les plus polaires (très solubles dans la phase mobile) sont peu retenus et les apolaires seront d'autant plus retenus que leur hydrophobie est importante.

Pour améliorer les interactions hydrophobes solutés-phase stationnaire, la colonne est placée dans un four à 50°C. L'élution est réalisée pendant 50 min à un débit de 0,8 mL/min par un gradient de solvant : A (eau et acide trifluoroacétique à 0,1%) et B (acétonitrile et acide trifluoroacétique à 0,09%), Tableau Annexe-4.1.

Tableau Annexe-4.1. Gradient de solvants pour élution en HPLC en phase inverse, avec A : eau et acide trifluoroacétique à 0,1 % et B : acétonitrile et acide trifluoroacétique à 0,09 %

Temps [min]	Flux [$\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$]	% A	% B
0	0,8	75	25
15	0,8	47	53
17	0,8	47	53
44	0,8	35	65
45	0,8	30	70
47	0,8	30	70
48	0,8	75	25

Le volume de solution injecté est de 50 μl (à 2 mg/mL, après dissolution dans l'éthanol à 70vol%). Une pré-colonne de même nature, mais de longueur inférieure à 5cm est placée en amont de la colonne de séparation pour la rétention de composés non éluables.

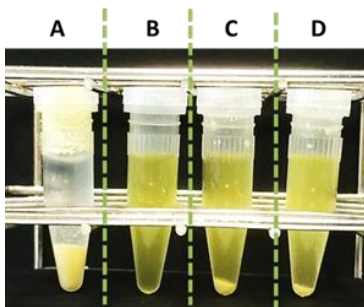
En sortie de colonne, un détecteur (Dual λ Absorbance Detector Ref.2487, Waters SAS, F-78 Guyancourt) permet de suivre l'élution à deux longueurs d'onde : 214 nm, caractéristique de liaison peptidique et 280 nm : cycle aromatique du tryptophane. L'acquisition et le traitement des chromatogrammes sont réalisés avec le logiciel Empower 2 (Waters SAS, F-78 Guyancourt).

Annexe 5 : Détermination de la solubilité de la zéine commerciale brute et plastifiée

Les échantillons bruts, ou prélevés pendant leur caractérisation à l'état fondu, sont cryobroyés et mis en solution en tube eppendorf, à une concentration de 30 mg/mL dans le solvant considéré (*e.g.*, eau distillée, solution aqueuse d'éthanol, avec ou sans agent dénaturant -SDS-). Ils sont ensuite agités fortement (6 x 10 s, au vortex), puis centrifugés à 18.10^3 rpm pendant 5 min à température ambiante. Le surnageant est éliminé par pipetage, puis le reste évaporé pendant 72h à température ambiante. La pesée des culots secs est réalisée avec une balance de précision. La proportion de matière insoluble est alors calculée en rapportant cette masse à celle de zéine mise en solution initialement. *N.B. Des essais ont été réalisés pour des mesures de solubilité à partir des surnageants, mais les composés colorés naturellement liés aux zéines, ou le plastifiant, interfèrent lors des mesures directes de densité optique à 280 nm. Un dosage a aussi été essayé par spectrophotométrie après coloration spécifique des surnageants: le test colorimétrique est basé sur la réduction des ions Cu^{2+} ($Cu(II)$) en Cu^+ ($Cu(I)$), en milieu alcalin, par les liaisons peptidiques des protéines. L'acide bicinchoninique présente dans le kit utilisé est un réactif colorigène hautement spécifique pour le $Cu(I)$, qui forme un complexe pourpre ayant une absorption optique maximale à 562 nm (BC Assay Kit, Uptima, Interchim, F-03 Montluçon). L'absorbance est théoriquement proportionnelle à la concentration de protéines. Mais les mêmes problèmes de mesure, attribués aux composés colorés liés aux zéines, ou au plastifiant rendant le milieu légèrement turbide, ne donnent pas de résultats interprétables.*

La meilleure solubilité a été constatée en solution aqueuse d'éthanol à 70% (v/v), l'un des solvants les plus efficaces pour la zéine (Fig. Annexe-5.1-a; Anderson et Lamsal, 2011). Après mise en solution dans ce solvant, centrifugation et élimination du surnageant (Fig. Annexe-5.1-b), la pesée des résidus secs donne des valeurs de l'ordre de 0,5 à 1 % du poids initial mis en solution pour la zéine commerciale, de 3 à 4 % pour l'échantillon Z20Gly au minimum de viscosité en rhéométrie dynamique à 130°C et de 6 à 7% pour la même composition (Z20Gly) au point de gel obtenu à la même température. *N.B. Les pesées sur des masses aussi faibles (de l'ordre du mg) sont relativement peu précises, mais semblent liées à l'agrégation thermique de la zéine.*

a-



b-

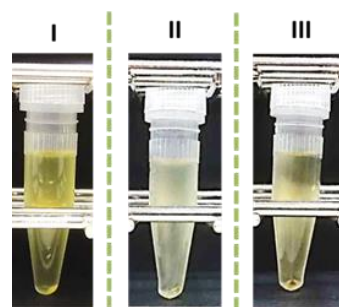


Figure Annexe-5.1. Solubilité de la zéine commerciale dans différents solvants: eau distillée (A), solution aqueuse d'éthanol à 70vol% (B), solution de SDS à 1% (g/mL) (C), solution de SDS à 1% (g/mL) et β -mercaptoéthanol à 1% (D) (a-). Solubilité en solution aqueuse d'éthanol 70vol% de la zéine commerciale brute (I), de la zéine plastifiée, Z20Gly, à l'obtention du fondu en rhéométrie dynamique à 130°C (II) et au point de gel à 130°C (III) (b-)

Annexe 6 : Recherche de réticulations de type dityrosine

But de la mise en évidence de dityrosines :

Des réticulations de type dityrosine peuvent être créées lors des traitements thermomécaniques de protéines (Stadtman et Levine, 2003). Ce type de modifications est à rechercher dans les matériaux à base de zéine, de façon à contribuer à la compréhension du changement de leur comportement rhéologique au cours de leur mise en forme à l'état fondu. La tyrosine représente 5% des acides aminés des zéines- α (cf. Chapitre I).

Principe et Modes opératoires :

Des essais de mise en évidence de réticulations de type dityrosine sont réalisés sur des échantillons témoins (zéine commerciale brute pour laquelle les réticulations sont induites par une réaction d'oxydation ciblée sur les tyrosines) et des zéines plastifiées à différents temps pendant leur caractérisation rhéologique à l'état fondu à 130°C.

Les échantillons témoins sont préparés à partir de la zéine commerciale oxydée spécifiquement par $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (Huang *et al.*, 2013). La zéine commerciale est diluée à 2 mg/mL dans une solution aqueuse d'éthanol à 70%vol. Un ajout de solution de sulfate de cuivre, CuSO_4 à 5mM, est réalisé à 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de solution de zéine. L'eau oxygénée à 50mM est ajoutée, pour 10 $\mu\text{l}/\text{ml}$ de solution de zéine dans l'éthanol. Les tubes dans lesquels sont réalisés les mélanges sont laissés 16h à 37°C à l'abri de la lumière. La réaction est arrêtée par ajout d'EDTA à 1mM (11 $\mu\text{l}/\text{ml}$). Une mesure est alors réalisée par spectrophotométrie de fluorescence (Edinburgh Instruments, UK) en cuve à quartz, à $\lambda_{\text{max}} = 410 \text{ nm}$ (excitation à $\lambda_{\text{excitation}} = 318 \text{ nm}$) selon la procédure décrite par Michon *et al.* (1999).

Les échantillons sont aussi caractérisés par électrophorèse PAGE, en milieu acide en présence d'urée (permettant la solubilisation des protéines sans affecter leur charge, contrairement au SDS). Ils sont mis en solution aqueuse d'éthanol (70% vol), puis dilués ($1/4$ dans tampon acide: acide acétique à 25mM, 20% glycérol, urée à 6M et vert de méthyle 0,01% -avec/sans β -mercaptoéthanol à 3% selon conditions réductrices ou non-). Ils sont soumis ensuite à une électrophorèse sur gel en polyacrylamide (Tableau Annexe-6.1) réalisée en solvant acide (à pH4, auquel les protéines migrent en fonction de leur charge et de leur masse moléculaire depuis l'anode reliée au haut du gel dans ce cas, vers la cathode en bas -anode: 45 mM acide acétique; cathode: 25 mM acide acétique ; 250 V, 1h30-).

Tableau Annexe-6.1. Préparation du gel pour l'électrophorèse acide-urée PAGE

Composé	Quantité
Acrylamide/bis-acrylamide (29/1) 40%	6 mL
Urée	2,4 g
Acide ascorbique	20 mg
Sulfate de fer 16mg/50mL	0,875 mL
Acide acétique 1M	2,625 ml
H ₂ O	qsp 20mL
H ₂ O ₂ 0,6%	25 mL

Une caractérisation des tyrosines par HPLC en phase inverse est aussi réalisée, après hydrolyse acide des liaisons peptidiques des mêmes échantillons. L'élution est réalisée en milieu acide (détection à 275nm, pour une absorbance maximale spécifique de la tyrosine et 318nm, spécifique des liaisons dityrosine). Pour réaliser l'hydrolyse acide, les échantillons sont dilués à 5 mg/mL dans une solution aqueuse d'éthanol à 70vol%. 100µL sont placés en tube Ø6mm.

Un témoin (2mg/mL) est aussi préparé pour référence avec 250µl/tube. Les échantillons sont alors séchés sous vide et 200µL HCl (6N, pour hydrolyse acide de la protéine) sont ajoutés avec 1mM de BHT (Hydroxytoluène butylé, un antioxydant évitant la dégradation de la tyrosine) dans un flacon mis sous vide partiel pendant 24 h à 110 °C. Une étape de séchage est alors nécessaire sous vide, puis de neutralisation par ajout de 20 µL eau/éthanol/TEA(triéthylamine) (2/2/1) et séché de nouveau (2 fois).

L'analyse par HPLC en phase inverse est réalisée sur une colonne synergi-4-fusion (250 x 4,6mm, 80A ; Phenomenex, F-78 Le Pecq) équilibrée avec [H₂O, TFA (0,11%)] 95% , CH₃CN 5% (solvant A) à un débit de 0,8 mL/min. L'élution est réalisée par un gradient de 5 à 20% de solvant B (CH₃CN, TFA (0,09%), en 15 min d'élution. La détection est réalisée à $\lambda_{\max 1} = 275$ nm (absorbance maximale spécifique de la tyrosine) et $\lambda_{\max 2} = 318$ nm (absorbance maximale spécifique des liaisons de type dityrosine) en sortie de colonne. L'injection du témoin (tyrosine seule) est réalisée avec une solution à 1 mg/mL (d'abord solubilisée dans une solution d'éthanol à 70vol%), puis diluée dans H₂O (10% [éthanol] au final).

Résultats obtenus :

Des spectres d'émission de fluorescence ont été acquis tout d'abord avant et après oxydation de la zéine brute commerciale pour entrainer la création ciblée de réticulations de type dityrosine (Fig. Annexe-6.1). Ils sont assez d'allures similaires.

Le maximum du spectre à $\lambda_{\text{max}} = 415 \text{ nm}$ de la zéine oxydée semble plus élevé que celui de la zéine native, mais cette dernière présente aussi un spectre d'émission important dans ce domaine de longueur d'ondes après excitation à $\lambda_{\text{excitation}} = 318 \text{ nm}$. La présence de dityrosine dans la zéine brute est donc possible, mais cette émission pourrait aussi être due à la fluorescence de nombreuses molécules potentiellement présentes (*e.g.* pigments, composés émettant dans cette gamme de longueur d'ondes). Cette technique ne permet donc pas de mettre en évidence la présence de dityrosine.

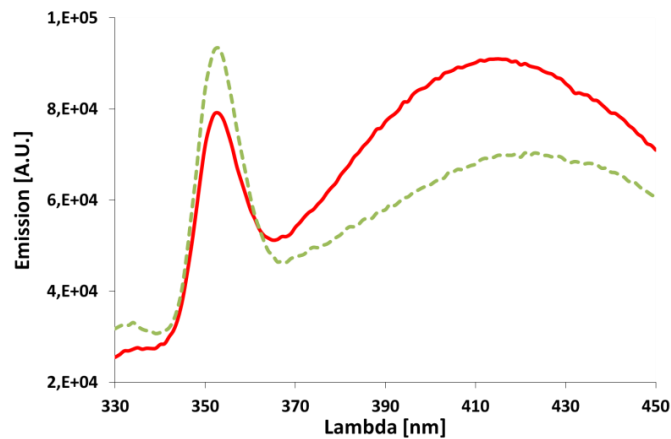


Figure Annexe-6.1. Spectre d'émission d'une zéine commerciale oxydée (—) (création spécifique de réticulations dityrosine) et brute (---), en solution ($\lambda_{\text{excitation}}=318\text{nm}$) (*N.B.* bande Raman de l'eau à $\lambda=350\text{nm}$)

Des essais sont réalisés par électrophorèse en milieu acide avec une zéine commerciale solubilisée, puis diluée (x1/4) -ou non-, en solution tampon (urée à 6M). Les bandes obtenues (pistes A et B, Fig. Annexe-6.2) sont identiques à celle obtenue après oxydation spécifique pour la création de réticulations de type dityrosine (piste C). Des résultats équivalents sont obtenus en conditions réductrices. Les réticulations de type dityrosine ne sont donc pas mises en évidence par cette technique.

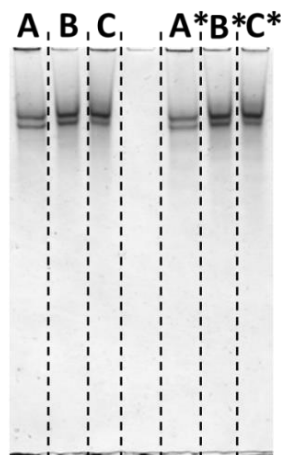
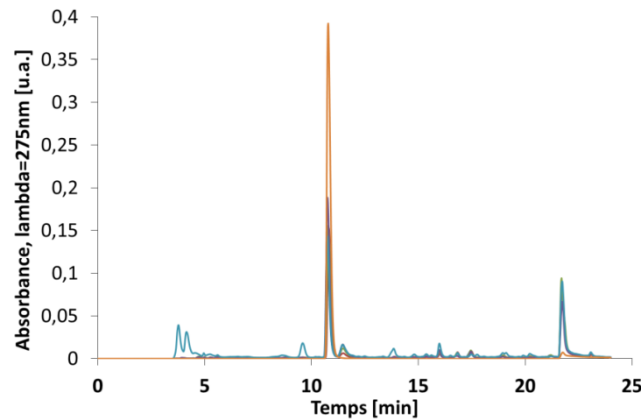


Figure Annexe-6.2. Acide-urée PAGE sur témoins (différents traitements dont oxydation pour créer dityrosine): Piste A, Zéine commerciale brute solubilisée en solution tampon à 2mg/mL (urée + acide acétique); B, zéine solubilisée dans solution éthanol-70% (2mg/mL), puis diluée 4x dans tampon; C : Zéine oxydée spécifiquement (création de dityrosine), mise en solution éthanol à 70%, puis diluée 4x dans tampon. *: en conditions réductrices (2-Mercaptoéthanol -3% - ajouté aux solutions avant déposition sur gel)

Après hydrolyse des liaisons peptidiques en milieu acide à 110°C l'analyse par HPLC en phase réverse ne montre aucune apparition de dityrosine dans la zéine aux différents stades de sa caractérisation rhéologique à l'état fondu (Fig. Annexe-6.3). En effet la dityrosine devrait être éluée quelques minutes après la tyrosine (Michon *et al.*, 1999) éluée à 11min (Fig. Annexe-6.3-a), or aucun nouveau pic n'est détecté à 318 nm. De plus la hauteur du pic de tyrosine est la même pour tous les échantillons indiquant que la quantité de tyrosine n'a pas diminué. (Fig. Annexe-6.3-b). L'échantillon oxydé pour générer des réticulations ciblées de type dityrosine présente de trop nombreux pics pour pouvoir conclure.

a-



b-

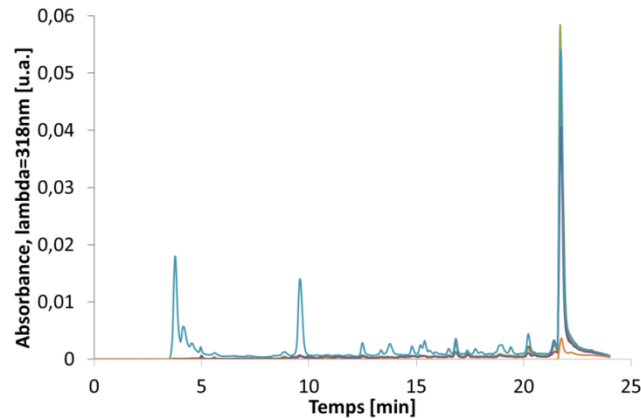


Figure Annexe-6.3. Chromatogrammes en HPLC à $\lambda_{\text{dét}}=275\text{nm}$ (typique des résidus tyrosine) (a-) et $\lambda_{\text{dét}}=318\text{nm}$ (dityrosine) (b-). Notations : (—), mélange Z20Gly pulvérulent (étape I-, *cf.* Chapitre III) ; (—), à l'obtention complète du fondu au minimum de viscosité à 130°C (étape IV-, *cf.* Chapitre III) ; (—), au point de gel (étape V-, *cf.* Chapitre III) ; (—), zéine commerciale brute pulvérulente ; (—), zéine commerciale oxydée pour création spécifique de réticulations de type dityrosine ; (—) tyrosine seule, en solution à 1mg.mL^{-1}

Malgré des tentatives de réticulations ciblées, les différentes techniques mises en œuvre pour observer, ou quantifier, l'apparition de réticulations de type dityrosine pour la zéine commerciale ne montrent aucune évolution certaine en ce sens.

Annexe 7 : Recherche de déamidations

Description de la déamidation et but de sa caractérisation :

La déamidation est un processus enzymatique, ou non enzymatique, favorisé par des pH acides et des traitements thermomécaniques de protéines. Il convertit les résidus asparagine et glutamine en acide aspartique et glutamique, respectivement. Le changement de charge induit par cette réaction peut conduire à des changements de conformation des protéines, notamment dans le cas de la zéine tel que montré en solution (Zhang *et al.*, 2011). La déamidation est donc à rechercher dans les matériaux à base de zéine au cours de leur transformation à l'état fondu, les résidus asparagine et glutamine représentant 5% et 25% des acides aminés des zéines- α , respectivement.

Principe du dosage et mode opératoire :

Les essais de dosage de la déamidation sont réalisés sur des échantillons témoins (zéine commerciale) pour lesquels elle est induite par une réaction spécifique avec de l'acide chlorhydrique peu concentré. Ils sont aussi menés sur des zéines plastifiées à différents temps pendant leur caractérisation rhéologique à l'état fondu à 130°C.

Les échantillons témoins sont préparés à partir de zéine commerciale diluée à 5mg/mL dans une solution aqueuse d'éthanol à 70%vol. Une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl, 50mM) est ajoutée et les échantillons sont laissés de façon contrôlée 2h, ou 16h, à 70°C.

Des solutions sont préparées ensuite à partir des échantillons témoins et des zéines préalablement caractérisée à l'état fondu dans le rhéomètre oscillatoire à 130°C (4mg/mL dans éthanol à 70%vol), puis diluées (1/4) dans un tampon d'électrophorèse en présence d'urée (Tris 50mM pH 6,8, urée 6M, bleu de bromophénol 0,01% -avec/sans β -mercaptoéthanol à 3% selon conditions réductrices ou non-).

Elles sont déposées sur des gels en polyacrylamide (dépôt: 10 μ l) où les échantillons subissent deux types d'électrophorèses: « acide » (pH4, auquel les protéines migrent en fonction de leur charge de l'anode reliée au haut du gel dans ce cas, vers la cathode, *idem* protocole acide-urée PAGE pour dosage dityrosine, *cf.* Annexe 6) et « native » (Tableau Annexe-7.1 ; pH basique, sans SDS; Tampon de migration: Tris 50mM, glycine 0,2M) en présence d'urée (pour la solubilisation des protéines sans affecter leur charge, contrairement au SDS). Dans ce dernier cas d'électrophorèse, les protéines migrent en fonction de leur charge à pH basique et de leur masse moléculaire (10 mA pour le gel de concentration et 20 mA pour le gel de séparation).

Tableau Annexe-7.1. Préparation des gels pour l'électrophorèse native(basique)-urée PAGE

Composé	Gel de séparation	Gel de concentration
Acrylamide /bis-acrylamide (29/1) 40%	2 ml	0,44 ml
Tris 2M pH8,8	1,33 ml	-
Tris 0,5M pH6,8	-	0,48 ml
Urée 9M	4,57 ml	2,72 ml
Eau	-	0,33 ml
APS 10%	0,1ml	40 ml
TEMED	10 ml	4 ml

Résultats obtenus :

La première étape a visé à induire spécifiquement une déamidation de la zéine commerciale brute et d'évaluer si un impact était visible sur sa structure moléculaire. Lors de cette déamidation contrôlée des effets importants sont constatés sur les résultats en acide-urée PAGE. La zéine déamidée pendant 2 heures donne une bande migrant moins loin et celle ayant subi une déamidation pendant 16h ne pénètre pas dans le gel (Fig. Annexe-7.1). D'autres essais sont réalisés en conditions « natives » (pH basique) en urée PAGE, pour mieux mettre en évidence l'effet (meilleure séparation des bandes lors de l'électrophorèse, Fig. Annexe-7.2).

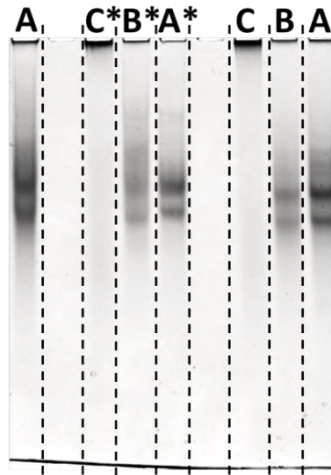


Figure Annexe-7.1. Acide-urée PAGE. Résultats obtenus sur la zéine commerciale brute et après deux traitements de déamidation. Notations : Piste A, zéine 2mg/mL en solution urée + acide acétique ; B, zéine 5 mg/mL solution aqueuse d'éthanol à 70%, HCl 50mM 2h à 70°C diluée 5x dans solution urée + acide acétique; C, zéine 5 mg/mL éthanol-70%, HCl 50mM (16h) à 70°C diluée 5x dans solution urée + acide acétique. *: en conditions réductrices (3% β -mercaptoéthanol ajouté aux solutions avant déposition sur gel)

Les résultats obtenus par native (pH basique)-urée PAGE montrent qu'une partie des zéines natives ne migre pas dans le gel principal (Fig. Annexe-7.2). La bande observée dans le gel de concentration disparaît en milieu réducteur, elle correspond certainement aux protéines agrégées par pont disulfure.

Après déamidation pendant 2h, 2 bandes migrent plus loin et une large bande diffuse apparaît dans le gel principal à 16h de déamidation (avec disparition de la bande dans le « stacking gel », ou gel de concentration). La déamidation contrôlée entraîne une modification hétérogène des zéines dont l'effet est très visible dans ces conditions d'électrophorèses.

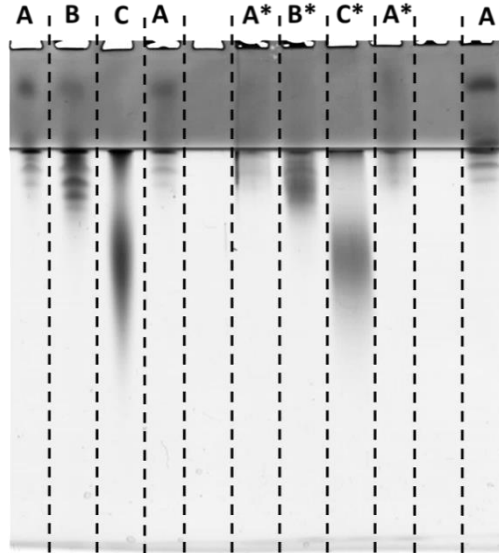


Figure Annexe-7.2. Native(basique)-urée PAGE sur une zéine commerciale subissant un traitement contrôlé de déamidation. Notations : A, zéine native (dépôt tripliqué sur le gel) ; B, déamidation ciblée, pendant 2h ; C, déamidation ciblée, pendant 16h. *: en conditions réductrices (3% β -mercaptoéthanol ajouté aux solutions avant déposition sur gel)

Aucune différence n'apparaît entre les matériaux à base de zéine prélevés aux différents temps de leur caractérisation rhéologique (Fig. Annexe-7.3). Ils sont similaires à l'échantillon initial, alors que la technique de déamidation ciblée a été montrée efficace sur la zéine commerciale seule (Fig. Annexe-7.2 et Fig. Annexe-7.3 pistes D et E), surtout après séparation en native-urée PAGE pour une meilleure visualisation des bandes qu'en acide-urée PAGE (Fig. Annexe-7.1).

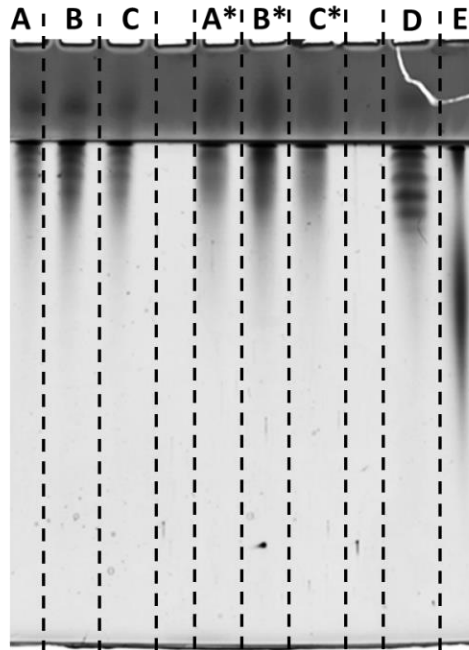


Figure Annexe-7.3. Native(pH basique)-urée PAGE sur fondus à base de zéine lors de leur caractérisation rhéologique. Notations : A, mélange Z20Gly pulvérulent (étape I-, *cf.* Chapitre III) ; B, à l'obtention complète du fondu au minimum de viscosité à 130°C (étape IV-, *cf.* Chapitre III) ; C, au point de gel (étape V-, *cf.* Chapitre III) ; D, déamidation contrôlée 2h ; E, déamidation contrôlée, 16h. *: en conditions réductrices (3%, β -mercaptoéthanol ajouté aux solutions avant déposition sur gel)

Les fondus à base de zéines subissent une évolution structurale à chaud que nous avons reliée à l'évolution de leurs propriétés rhéologiques, conduisant à l'augmentation de leur viscosité et l'apparition d'un point de gel. De façon non exhaustive, une agrégation thermique par des interactions non covalentes et des réticulations par liaisons covalentes de type pont disulfure, S-S (oxydation thermique des résidus cystéine) ont été mises en évidence à la base de ce phénomène. De la même façon que lors de la recherche de réticulations de type dityrosine (*cf.* Annexe 6), il n'est pas possible de conclure assurément sur la déamidation des zéines à l'état fondu.

Annexe 8 : Détermination de la composition en acides aminés

Description de la détermination de la composition en acides aminés de la zéine et but de sa caractérisation :

La composition en acides aminés est déterminée aux différentes étapes de l'évolution des fondus à base de zéine plastifiée à 130 °C en rhéomètre oscillatoire. Ceci est réalisé de façon à déterminer si les résidus acides aminés sont affectés et si leurs chaînes latérales interagissent à haute température.

Mode opératoire :

La composition en acides aminés de la protéine est déterminée après rupture intégrale des liaisons peptidiques par l'acide chlorhydrique concentré (HCl, 6 N, 110 °C, 24 h). Les échantillons lysés sont séparés par chromatographie, puis comparaison des éluogrammes avec des solutions d'acides aminés standards de molarités connues et élués dans les mêmes conditions.

L'échantillon à base de protéine est solubilisé dans l'éthanol (5 mg/mL). 20 µL sont alors prélevés et déposés dans des tubes de diamètre 6 mm puis séchés sous vide. Les tubes sont déposés dans un flacon et 200 µL d'une solution concentrée d'acide chlorhydrique (HCl, 6 N) sont disposés dans ce flacon qui est placé sous vide partiel. L'ensemble est porté à 110 °C pendant 24 h, dans une station Pico-Tag (Waters Associates, Millford, MA, USA) pour entraîner la rupture de l'ensemble des liaisons peptiques par exposition aux vapeurs d'acide. Après séchage, puis neutralisation par une solution de triéthylamine (TEA) -éthanol/eau/TEA, en proportion 2/2/1- (20 µL ajoutés), l'échantillon est séché. Un groupement phénol est ensuite greffé pour détection en sortie de colonne HPLC (composé chimique réactif : phénylisothiocyanate, ou PITC, en solution dans éthanol/Eau/TEA/PITC, en proportion 7/1/1/1 ; selon méthode Bidlingmeyer *et al.*, 1984).

L'échantillon est dissout dans une solution 95% [2mmol/l Na₂HP0₄, pH7,4] / 5% acétonitrile. La séparation est ensuite réalisée par chromatographie en phase inverse (colonne Pico Tag C18/10µm/100Å/150x4.6mm; élution à 1 mL/min; λ_{détecteur} = 254 nm). La colonne est équilibrée au préalable en solvant A (94% [0,14M CH₃COONa, avec 3,59 mM triéthylamine -pH6.4-] / 6% acétonitrile) et l'élution est réalisée avec un gradient de 100% en solvant A à 46% en solvant B (40% H₂O / 60% acétonitrile) en 10 min. Des standards (2.5 µmol/mL ; PierceTM/Thermo Scientific, F67, Illkirch), de molarité connue, sont utilisés dans les mêmes conditions d'élution, pour le calcul de la proportion molaire de chaque acide aminé présent dans la structure primaire de la protéine caractérisée.

Résultats obtenus :

La composition en acides aminés est déterminée aux différentes étapes de l'évolution des fondus à haute température au rhéomètre, après lyse complète des liaisons peptidiques dans l'acide chlorhydrique concentré, 24h à 110°C (Bidlingmeyer *et al.*, 1984).

On constate que la composition reste stable, quel que soit le stade étudié (Tableau Annexe-8.1) : mélange pulvérulent de zéine avec 20% glycérol, Z20Gly (étape I-, *cf.* Chapitre III), à l'obtention des fondus à 130 °C (étape IV-, *cf.* Chapitre III) et au point de gel à 130 °C (étape V-, *cf.* Chapitre III).

Les chaînes latérales des acides aminés caractérisés par ce dosage ne semblent pas être impliquées dans des réticulations au cours de la mise en œuvre des fondus à base de zéine.

Tableau Annexe-8.1. Composition en acides aminés principaux de la zéine plastifiée [mol%] pendant son évolution à haute température : mélange pulvérulent initial (Z20Gly (I-) ; étape I- de la caractérisation en rhéomètre oscillatoire, *cf.* Chapitre III) ; à l'obtention des fondus à 130°C (Z20Gly (IV-) ; étape IV-, *cf.* Chapitre III) et au point de gel (Z20Gly (V-) ; étape V-, *cf.* Chapitre III).

N.B. L'oxydation intense nécessaire à ce type de dosage ne permet pas de présenter les résultats pour certains acides aminés, tels que la Méthionine, ou la Cystéine ; par ailleurs, « AsX » et « GlX » représentent la somme des résidus Asp-Asn et Glu-Gln, puisque l'hydrolyse acide transforme Asn et Gln en Asp et Glu, respectivement.

Notations : « Ser », pour les résidus Sérine ; « Gly », pour résidus Glycine ; « His », pour résidus Histidine ; « Arg », pour résidus Arginine ; « Thr », pour résidus Thréonine ; « Ala », pour résidus Alanine ; « Pro », pour résidus Proline ; « Tyr », pour résidus Tyrosine ; « Val », pour résidus Valine ; « Leu », pour résidus Leucine ; « Ile », pour résidus Isoleucine et « Phe », pour Phénylalanine

Echantillon	AsX	GlX	Sér	Gly	His	Arg	Thr	Ala	Pro	Tyr	Val	Ile	Leu	Phe
Z20Gly (I-)	4,0	21,4	7,1	2,8	1,3	1,4	2,7	12,5	11,3	3,5	3,8	3,1	18,3	5,2
Z20Gly (IV-)	3,8	20,9	7,3	2,8	1,2	1,4	2,7	12,8	11,4	3,5	3,9	3,1	18,0	5,4
Z20Gly (V-)	3,9	21,0	7,3	2,7	1,1	1,3	2,6	12,7	11,5	3,5	3,9	3,1	18,1	5,5

Titre : Matériaux thermoplastiques à base de biopolymère pour leur impression 3D par dépôt de fil fondu

Mots clés : Fabrication Additive, Protéine, Plastifiant, Rhéologie, Extrusion, Fusion-Adhésion.

Résumé : La Fabrication Additive (FA) ouvre des perspectives nouvelles pour mettre en forme des matériaux à base de polymères naturels et ainsi tirer parti de leurs propriétés intrinsèques, telles que comestibilité et biorésorbabilité. Cette thèse se concentre sur le procédé d'impression 3D par dépôt de fil fondu (FA-DFF) appliqué à la zéïne, une protéine de réserve du maïs pouvant être mise en œuvre à l'état fondu en présence de plastifiants.

Après avoir établi un cahier des charges déclinant les critères « matière » pour ce procédé, une formulation plastifiée par 20% de glycérol a fait l'objet d'une caractérisation complète des propriétés concernées. Son comportement thermomécanique et rhéologique peut être compatible avec un procédé FA-DFF alimenté par des filaments préalablement extrudés : Suffisamment rigide à 20°C, le matériau peut être extrudé à des températures supérieures à 120 °C.

Son comportement rhéofluidifiant et son aptitude à la fusion-adhésion sont alors similaires à ceux de polymères standards tels que l'ABS et le PLA. Cependant, une réticulation progressive due à l'agrégation de la protéine à l'état fondu, mise en évidence par des caractérisations structurales, vient limiter sa fenêtre de mise en œuvre. Néanmoins, il est possible de pallier à ce phénomène soit en modifiant le système d'alimentation matière du procédé, soit en modulant la formulation. Outre la combinaison du glycérol avec des additifs réducteurs ou dénaturants, l'intérêt de sa substitution par des liquides ioniques est mis en évidence, ces composés pouvant apporter des fonctionnalités pharmaceutiques aux objets imprimés, ce qui ouvrirait un champ d'applications nouvelles pour la zéïne.

Title : Thermoplastic materials based on biopolymer for their 3D printing by material extrusion

Keywords : Additive Manufacturing, Protein, Plasticizer, Rheology, Extrusion, Fusion-Bonding.

Abstract : Additive Manufacturing (AM) opens new perspectives for the processing and shaping of materials based on natural polymers. Their intrinsic properties such as edibility and bioresorbability could thus be exploited. This thesis focuses on 3D printing by molten Material Extrusion (AM-ME). It is applied to zein, a corn storage protein which is melt processable in presence of plasticizers.

After listing the relevant material specifications for the AM-ME process, all the properties concerned were characterized for a formulation plasticized by 20% of glycerol. Its thermomechanical and rheological behaviour can be compatible with an AM-ME process fed by previously extruded filaments : While rigid enough at 20°C, the material can be extruded above 120°C.

Its shear thinning behaviour and fusion-bonding ability are similar to those of standard polymers such as ABS and PLA. However, a progressive crosslinking due to protein aggregation in the melt was shown by structural characterizations. The processing window is thus limited, but this issue can be addressed either by modifying the feeding system of the process, or by adapting the formulation. Glycerol can be combined with reducing or denaturing agents, or substituted by ionic liquids. The interest of these plasticizers is to allow bringing pharmaceutical functionalities to printed parts. This would open the field of new applications for zein.