

Elaboration de matrices microcellulaires de polymère biosourcé par la technologie CO², supercritique

Swann Gay

► **To cite this version:**

Swann Gay. Elaboration de matrices microcellulaires de polymère biosourcé par la technologie CO², supercritique. Médecine humaine et pathologie. Université d'Angers, 2017. Français. <NNT : 2017ANGE0007>. <tel-01614713>

HAL Id: tel-01614713

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01614713>

Submitted on 11 Oct 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de Doctorat

Swann Gay

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université d'Angers
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire*

École doctorale : **Biologie-Santé**

Discipline : **Biomolécules, Pharmacologie thérapeutique**

Spécialité : **Pharmacologie clinique et expérimentale**

Unité de recherche : **Laboratoire MINT-INSERM U1066 / CNRS 6021**

Laboratoire CRCINA Inserm U1232

Soutenue le **02/03/17**

Élaboration de matrices microcellulaires de polymère biosourcé par la technologie CO₂ supercritique

JURY

Rapporteurs : **Professeur Jacques FAGES**, Ecole des Mines d'Albi
Maître de conférences Benjamin NOTTELET, Université de Montpellier

Examineurs : **Professeur Yves GROHENS**, Université de Bretagne Sud
Maître assistant Martial SAUCEAU, Ecole des Mines d'Albi

Directeur de Thèse : **Professeur Frank BOURY**, Université d'Angers
Co-directeur de Thèse : **Professeur Alain GIBAUD**, Université du Maine
Co-encadrant de Thèse : **Maître de conférences Brice CALVIGNAC**, Université d'Angers

**L'auteur du présent document
vous
autorise à le partager, reproduire,
distribuer et communiquer selon
les conditions suivantes :**



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

**Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/>**

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.



ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) Swann Gay
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **17 / 01 / 2017**

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été réalisé en cotutelle entre mon laboratoire d'accueil, le laboratoire de Micro et Nanomédecines biomiétiques (MINT) et Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM).

Ce projet a été financé par le projet régional MATIERES. Les résultats présentés dans cette thèse n'auraient pas pu être obtenus sans le soutien de la région Pays de la Loire.

Je tiens tout d'abord à remercier M. Jean-Pierre Benoit directeur du laboratoire MINT pour m'avoir accueilli au sein de ce Laboratoire.

Je tiens à remercier aussi M. Benjamin Nottelet et M. Jaques Fages pour avoir accepté de rapporter ce travail de thèse, ainsi que M. Yves Grohens et M. Martial Sauceau pour avoir accepté d'examiner ma soutenance.

Je remercie mes directeurs de thèse Frank Boury et Alain Gibaud de l'intérêt qu'ils m'ont porté en me confiant ce sujet de recherche.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Brice Calvignac, mon encadrant au quotidien durant ces trois années de thèse. Son implication dans ce projet alliée à sa rigueur scientifique ont été essentielles à l'aboutissement de ce projet.

Je remercie également les nombreux acteurs ayant pris part au sein du projet et qui ont contribué à son avancement.

Un grand merci à l'ensemble de l'équipe du laboratoire MINT pour son accueil et sa convivialité. Particulièrement à mes collègues de bureau du second et troisième étages.

Je tiens également à remercier mes parents qui m'ont soutenu tout au long de mes longues études.

Enfin, merci à mes amis et à Lisa de m'avoir soutenu à leurs façons et de m'avoir permis de prendre un peu de recul par rapport à ce travail de thèse.

Contribution scientifique

Publications

Article 1: Fabrication of PLA scaffolds with tunable structural and mechanical properties: Development and scale-up of an eco-friendly TIPS process assisted by supercritical CO₂ (en cours d'évaluation)

Article 2: Synchrotron X-ray In-situ Tomography of Thermally Induced Phase Separation of PLA in Solution in 1,4 Dioxane (en cours de finalisation)

Communications orales

- Journées Scientifiques de l'Université de Nantes 2015
- 3rd Biopolymers 2015 international conference 2015
- 2^{eme} Journées nationales Supercritiques 2016

Communications affichées

- Journées scientifiques de l'école doctorale biologie santé 2014 et 2015
- Journées Scientifiques de l'Université de Nantes 2015

Brevet

- Déclaration d'invention en cours de rédaction

Sommaire

TABLE DES FIGURES	1
TABLE DES TABLEAUX	4
LISTE DES ABREVIATIONS	5
INTRODUCTION GENERALE	7
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	9
1. Les fluides supercritiques (FSC)	9
1.1. Définition.....	9
1.2. Propriétés physico-chimiques	9
1.3. Le dioxyde de carbone supercritique (CO ₂ -SC)	10
2. Polymères biosourcés	11
2.1. Définition.....	11
2.2. Historique	13
2.3. Enjeux et contexte.....	13
2.4. Marché et applications des polymères biosourcés.....	14
2.5. L'Acide polylactique (PLA)	15
3. Comportement du CO₂-SC dans les polymères	20
3.1. Solubilité du CO ₂ dans les polymères	20
3.2. Cas particulier du PLA	20
4. Procédés d'élaboration de matériaux poreux polymères	22
4.1. Procédés conventionnels.....	22
4.2. Procédés assistés par la technologie CO ₂ -SC	26
CHAPITRE 2 : FABRICATION DE MATRICE DE PLA AUX PROPRIÉTÉS MECANIQUES ET STRUCTURELLES AJUSTABLES: DEVELOPPEMENT ET « SCALE UP » D'UN PROCÉDÉ TIPS RESPECTUEUX DE L'ENVIRONNEMENT PAR LE COUPLAGE AU CO₂ SUPERCRITIQUE	33
1. Introduction	33
2. Matériels et méthodes	35
2.1. Appareillages	35
2.2. Matériaux	36
2.3. Mise en forme des matrices de PLA	37
2.4. Mesure d'équilibres de phases par turbidimétrie	38
2.5. Mesure de la masse volumique des matrices de PLA.....	39
2.6. Caractérisation des propriétés mécaniques des matrices de PLA	39
2.7. Analyse de cycle de vie du procédé TIPS	40
3. Résultats	44
4. Discussion générale	75
4.1. Étude paramétrique	75
4.2. L'Analyse de cycle de vie	78
5. Conclusion	79
CHAPITRE 3 : MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE IN-SITU DE SUIVI DE LA SÉPARATION DE PHASE PAR TOMOGRAPHIE-X SYNCHROTRON	81
1. Introduction	81
2. Principe général de la tomographie par rayon X :	82
2.1. La tomographie X en rayonnement synchrotron.....	82
3. Matériels et méthodes	83
3.1. Mise au point d'une méthode de suivi de séparation de phase par tomographie X en rayonnement synchrotron	83

3.2.	Matériaux	85
3.3.	Traitement des images 2D et reconstruction 3D.....	87
3.4.	Analyse et calcul.....	88
3.5.	Mesure de la température de changement de phase.....	89
4.	Résultats	91
5.	Discussion générale.....	109
6.	Conclusion	112
7.	Perspectives	113
CHAPITRE 4 : ELABORATION DE MATRICES DE PLA PAR UN PROCEDE DE MOUSSAGE SANS SOLVANT EN MILIEU CO₂ SC ET ETUDE COMPARATIVE LE PROCEDE TIPS.DE.....		
PLA.....		115
1.	Introduction	115
2.	Matériels et méthodes	115
2.1.	Procédé batch de moussage sans solvant	115
2.2.	Description de l'appareillage.....	117
2.3.	Les PLAs.....	118
3.	Résultats et discussion	119
3.1.	Moussage de PLA semi-cristallin	119
3.2.	Moussage de PLA amorphe	124
4.	Bilan de l'étude sans solvant	126
5.	Etude comparative entre le procédé de moussage sans solvant et le procédé TIPS	127
CONCLUSION GENERALE		131
BIBLIOGRAPHIE		134

Table des Figures

Figure 1 : Diagramme de phase d'un corps pur	9
Figure 2 : Polymères pouvant être obtenus par extraction de biomasse (source Nova-institut)	12
Figure 3 : Polymère et leurs monomères produits par fermentation microbienne combinée à une polymérisation chimique [21].	13
Figure 4 : Cycle de vie du carbone.....	14
Figure 5 : Capacité de production mondiale de « bioplastiques » en 2014 (Nova institut).	15
Figure 6 : Mode d'obtention des différents types de PLAs [41].....	17
Figure 7 : Influence de la température (35-50°C) de la pression et de la nature des PLAs sur la solubilité du CO ₂ dans ces polymères [61], [62]	21
Figure 8 : Influence de la température (180-200°C) de la pression et de la nature des PLAs sur la solubilité du CO ₂ dans ces polymères [60], [63].....	22
Figure 9 : Schéma de principe de mise en forme de matrice polymère par libération de sels [74].....	23
Figure 10 : Principe du melt molding [76].....	24
Figure 11 : Principe du freeze drying [79].....	24
Figure 12 : Représentation schématique d'un diagramme de phase température composition d'une solution polymère/solvant [84]	25
Figure 13 : Schéma représentant la baisse de la T _g et la vitrification de la matrice polymère pendant le procédé de moussage [89]	27
Figure 14 : Appareillage utilisé pour le moussage par CO ₂ -SC [93]	28
Figure 15: Schéma représentant l'interdépendance des paramètres dans la fabrication des mousses en batch.....	28
Figure 16 : Appareillage utilisé pour l'extrusion de polymère par CO ₂ -SC [4].....	29
Figure 17 : Schéma de principe du procédé séparation de phase utilisant le CO ₂ -sc comme anti-solvant	30
Figure 18 : Diagramme de phase montrant une séparation phase solide-liquide.	34
Figure 19 : Diagramme de phase montrant une séparation phase liquide-liquide	34
Figure 20 : Représentation schématique du dispositif de séchage par CO ₂ -SC « petit volume »	35
Figure 21 : Représentation schématique du dispositif de séchage par CO ₂ -SC « gros volume »	36
Figure 22 : Schéma du procédé TIPS couplé à l'extraction par CO ₂ -SC	38
Figure 23 : Principe des mesures d'équilibre de phase par turbidimétrie de solutions binaires	38
Figure 24 : Représentation schématique de la mesure de la masse volumique	39

Figure 25 : Courbe théorique contrainte-déformation en compression d'une matrice polymère poreuse montrant les trois domaines et les propriétés élastiques.	40
Figure 26 : Les 4 étapes de l'ACV selon les normes selon les normes ISO 14040 et 14044....	41
Figure 27 : Bilans matières et énergétiques du procédé TIPS selon trois scénarios de refroidissement pour l'étape de séparation de phase et les deux technologies de séchage envisageables	42
Figure 28 : Clichés MEB de matrices obtenues par séparation de phase S-L en fonction de la concentration en polymère en solution et de la température de refroidissement.	76
Figure 29 : Cliché MEB de matrices obtenues par séparation de phase L-L L en fonction de la concentration en polymère dans solution et de la température de refroidissement pour un même ratio 1,4-dioxane/eau = 8,7 (m/m).....	77
Figure 30 : Clichés MEB de matrices obtenues à partir de solution ternaire à 7,5% de PLLA à trois ratio 1,4-dioxane / H ₂ O	78
Figure 31 : Clichés MEB matrices obtenues à partir de solution ternaire avec des PLLAs de masse moléculaires différentes pour une même formulation : concentration en PLLA = 7,5 % ratio 1,4-dioxane / H ₂ O = 8,7 (m/m)	78
Figure 32 : Représentation du tomographe X en rayonnement synchrotron utilisé pour les expériences <i>in-situ</i>	84
Figure 33 : Cuve en PEEK instrumentée	85
Figure 34 : Traitements des images 2D, a) image brute ; b) image contrastée ; c) image en cours de seuillage ; d) image binarisée.	87
Figure 35 : Représentation 3D d'une matrice ex-situ de PDLA	88
Figure 36 : Représentation du principe de l'épaisseur locale pour la structure [135].....	89
Figure 37 : a) coupe réalisée lorsque l'outil Local Thickness est appliqué aux pores b) coupe réalisée lorsque Local Thickness appliquée aux parois c) vue 3D Local Thickness appliqué aux parois	89
Figure 39 : Détermination de la séparation de phase (S-L) par DSC.....	90
Figure 39 Coupes verticales effectuées dans les tomographies 3D de la solution à 5% en PDLA montrant la progression du front de cristallisation à travers la solution en fonction du temps.	109
Figure 40 : Coupes horizontales d'une solution ternaire en refroidissement montrant la séparation de phase au cours du temps Z= -280 µm.	110
Figure 41 : Tomographies 3D des matrices de PDLA après extraction du solvant produites à différentes températures et concentrations en PDLA.	111
Figure 42 : Zoom sur des structures obtenues à partir d'une solution binaire a) et d'une solution ternaire b).....	112
Figure 43 : Représentation schématique des mécanismes du moussage physique.....	116
Figure 44 : Evolution des variables opératoires pendant le procédé de moussage sans solvant	117
Figure 45 : Appareillage conçu pour le moussage sans solvant.....	117

Figure 46 : Cellule de moussage sans solvant 5 mL	118
Figure 47 : Clichés MEB des matrices de PLA 3052D et PLE 001 en fonction de la température de moussage à 150 bars et pour une vitesse de dépressurisation 15 bars/s	119
Figure 48 : Clichés MEB des matrices de PLE001 selon la température et la pression de moussage pour une vitesse de dépressurisation de 5 bars/s.	121
Figure 49 : Clichés MEB des matrices de PLE001 selon la température et la pression de « moussage » pour une vitesse de dépressurisation de 15 bars/s.	122
Figure 50 : Evolution de la masse volumique de matrice de PLE001 en fonction de la température de moussage pour couples différentes pressions et vitesses de dépressurisation.	123
Figure 51 : Clichés MEB des matrices de « PLA amorphe » en fonction de la température et de la pression pour une vitesse de dépressurisation de 1 bars/s.	125
Figure 52 : Clichés MEB des matrices de « PLA amorphe » en fonction de la température et de la pression pour une vitesse de dépressurisation de 15 bars/s.....	126

Table des tableaux

Tableau 1 : Comparaison de plusieurs fluides supercritiques	10
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du CO ₂ supercritique, gazeux et liquide	11
Tableau 3 : Propriété de PLAs en fonction de leurs stéréochimies, comparés aux propriétés du PS et du PET [42], [47]–[49]	18
Tableau 4 : Formes cristallines des PLAs [43]	19
Tableau 5 : Effet de la température sur la réduction de la masse molaire du PLA [40]	19
Tableau 6 : Synthèse des techniques de génération de matrices poreuses de polymère	31
Tableau 7 : Propriétés des PLAs synthétisés	36
Tableau 8 : 18 impacts de la méthode « ReCiPe » [127]	43
Tableau 9 : Caractéristiques architecturales majeures des matrices poreuses [130]	81
Tableau 10 : Réglages classiques pour l'analyse de microstructure par tomographie X avec un appareil de laboratoire (Phoenix X ray Vtomex) et sur la ligne ID19 de l'ESRF (en 2016)	83
Tableau 11 : Caractéristiques des PLA commerciaux utilisés (en bleu : données tirées des fiches techniques)	85
Tableau 12 : Conditions de fabrication des matrices observées en tomographie X	87
Tableau 13 : Caractéristiques des matrices obtenues à partir des tomographies et par pycnométrie pour la valeur de porosité en rouge.	112
Tableau 14 : Tableau des propriétés des PLAs utilisés pour les expériences de moussage sans solvant	118
Tableau 15 : Effets attendus des paramètres opératoires sur les caractéristiques des mousses	124
Tableau 16 : Comparatif des méthodes de mise en forme de matrice tridimensionnelle de PLA assisté par CO ₂	129
Tableau 17 : Synthèse des applications et des solutions technologiques envisageables.	130

Liste des abréviations

Polymères

PA 11	Polyamide 11
PA6	Polyamide 6
PDLA	Polyacide D-lactique
PDLLA	Polyacide DL-lactique
PET	Polytéréphtalate d'éthylène
PHA	Polyhydroxyalcanoate
PLA	Polyacide lactique
PLLA	Poly L-Lactique Acid
PS	Polystyrène
PSE	Polystyrène expansé
PU	Polyuréthane
SC-PLA	Stérocomplexe de PLA
TPS	Themoplastic starch

Divers

ACV	Analyse de cycle de vie
ADEME	Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie
CBA	<i>Chemical blowing agent</i>
CO ₂ -SC	Dioxyde de carbone supercritique
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i>
FSC	Fluide supercritique
HSP	<i>Hansen solubility parameter</i>
MEB	Microscopie électronique à balayage
PBA	<i>Physical blowing agent</i>
REACH	<i>Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals</i>
ROI	<i>Region of interest</i>
SCEQE	<i>Système Communautaire d'Echange de Quotas d'Emission</i>
SCPL	<i>Solvent casting / particle leaching</i>
TIPS	<i>Thermal induced phase separation</i>



Introduction générale

A l'heure actuelle, l'activité humaine impacte de plus en plus la planète et les principales ressources disponibles diminuent chaque jour. Dans ce contexte, changer nos comportements pour s'engager dans une démarche de développement durable est devenu l'un des enjeux majeurs de ce siècle. Ce changement impose une modification des méthodes de productions pour se diriger vers une industrie plus « verte », qui produit des matériaux/objets plus respectueux de l'environnement.

L'utilisation du dioxyde de carbone supercritique (CO₂-SC) a déjà permis de réduire l'utilisation des solvants organiques à l'échelle industrielle. Le remplacement des produits majoritairement pétrosourcés et toxiques a des qualités sanitaire, écologique et économique. Dans l'industrie plastique, le CO₂-SC peut être utilisé à plusieurs niveaux : pour la synthèse [1], [2], la mise en forme [3], [4] ou bien encore leur recyclage [5], [6]. Son utilisation, pour la mise en forme de matériaux polymères poreux, semble donc parfaitement adaptée.

Les matériaux polymères poreux sont désormais largement utilisés dans de nombreux secteurs tels que la construction, les transports, l'ameublement, la santé, la filtration,... Leur structure, à la fois légère et résistante, leur confère d'excellentes propriétés d'isolation et leur permettent également l'allègement de structures qui *in fine* peuvent aboutir à des économies d'énergie et matière. De plus, la porosité de ces matériaux polymères leurs procure des fonctionnalités originales permettant la création de matériaux à hautes valeurs ajoutées tels que : des membranes de filtration [7], [8], implants pour la régénération tissulaire [9]–[11] ou pour la libération de principes actifs [12]–[16] , des capteurs de pression [17], [18],...

D'autre part, le déploiement de polymères d'origine biosourcés permet aujourd'hui de proposer une alternative réaliste aux polymères pétrochimiques. L'utilisation de ces polymères permettrait alors de réduire le recours aux ressources fossiles pour s'engager dans une démarche plus durable.

Ainsi, l'objectif de ce travail de thèse est de développer des méthodes de production de matrices microcellulaires à partir de polymères biosourcés en utilisant le CO₂-SC. Le but est de combiner un procédé de production propre et des matériaux plus respectueux de l'environnement.

Le premier chapitre de cette thèse rappelle les généralités sur les fluides supercritiques. Nous nous sommes ensuite intéressés aux avantages de l'utilisation de biopolymères et en particulier du Poly(acide lactique) (PLA). Enfin la dernière partie est consacrée aux différentes techniques de mise en forme des polymères en matrices poreuses.

Le second chapitre est consacré au développement de la méthode TIPS (Thermal Induced Phase Separation) couplée à la technologie CO₂ supercritique. La première partie est consacrée à la réalisation d'une étude paramétrique de la mise en forme de matrice de PLA par cette

méthode. La deuxième partie aborde la méthode d'éco-conception mise en place par l'utilisation des outils d'Analyse de Cycle de Vie (ACV).

Le troisième chapitre est axé sur l'analyse tomographique *in situ* et *ex situ* des matrices de PLA obtenus par le procédé TIPS et l'étude de la mécanistique de la séparation de phase entre le 1,4-dioxane et le PLA sous l'effet du refroidissement. L'article associé porte sur le développement d'une méthode inédite de suivi de la séparation de phase par tomographie-X en rayonnement synchrotron.

Enfin dans un dernier chapitre, nous présentons les résultats obtenus par une seconde méthode de moussage du PLA utilisant le CO₂-SC comme agent moussant. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus par la méthode TIPS. Pour terminer, ces résultats ont été confrontés à leurs perspectives d'application.

Chapitre 1 : synthèse bibliographique

1. Les fluides supercritiques (FSC)

1.1. Définition

La Figure 1 montre le diagramme de phase d'un corps pur. Les trois états de la matière sont présents et délimités par les courbes d'équilibre de phase. Seulement, au-delà d'une certaine température et pression définissant le point critique (T_c , P_c), l'interface liquide/gaz disparaît. Ainsi, un fluide est qualifié de supercritique lorsque celui-ci est porté à $T > T_c$ et $P > P_c$.

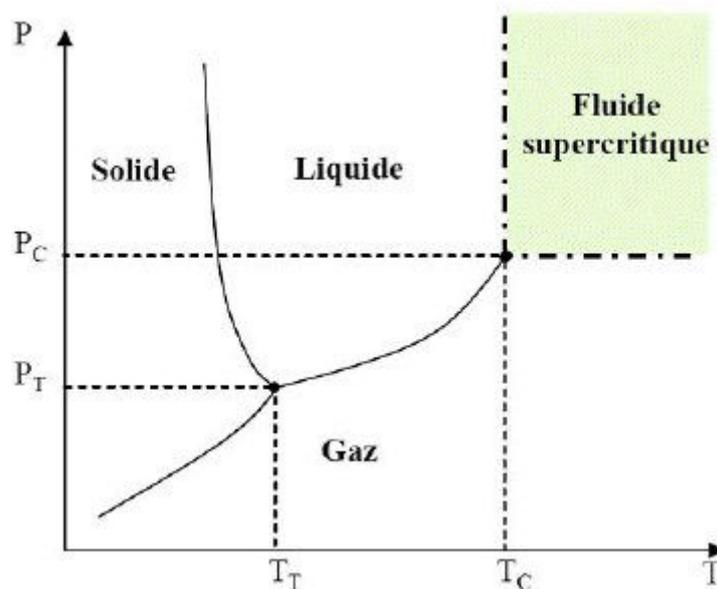


Figure 1 : Diagramme de phase d'un corps pur

1.2. Propriétés physico-chimiques

L'avantage des fluides supercritiques est leurs propriétés thermophysiques intermédiaires entre celles des gaz et des liquides. Ainsi, leur densité voisine de celle d'un liquide leur confère un bon pouvoir solvant et leur viscosité proche de celle d'un gaz leur confère une bonne diffusivité. En effet, l'état des molécules au voisinage du point critique est caractérisé par une concurrence entre un système ordonné lorsque les forces intermoléculaires sont prépondérantes (comme à l'état liquide) et un système dispersé lorsque l'énergie cinétique d'agitation des molécules est prédominante (comme à l'état gazeux). Par conséquent, la variation de la température et de la pression dans le domaine supercritique permet de moduler de façon importante leurs propriétés telles que la masse volumique, la densité, la solubilité, la

viscosité, tension superficielle,... Cette variabilité justifie leur utilisation dans de nombreux procédés industriels.

1.3. Le dioxyde de carbone supercritique (CO₂-SC)

1.3.1. Choix du CO₂-SC

Le dioxyde de carbone est de loin le fluide supercritique le plus utilisé à l'échelle industrielle. Les raisons de sa grande utilisation sont les suivantes :

- **Son point critique est facilement accessible** (T_c=304 °k ; P_c=7,38 MPa). Ainsi, ces conditions nécessitent peu d'énergie pour être atteintes. Sa faible température critique est compatible avec le traitement des molécules thermosensibles. Sa pression critique relativement faible est facilement atteignable. Enfin, étant à l'état gazeux dans les conditions ambiantes de température et de pression, il est facilement recyclable en fin de procédé par simple dépressurisation.
- **Le CO₂ est quasi inerte chimiquement.** Sa non-inflammabilité présente un avantage considérable en termes de sécurité par rapport d'autres fluides (Tableau 1)
- **Le CO₂ n'est pas toxique, ni cancérigène ou mutagène.** Seul, une concentration trop élevée dans l'air peut provoquer une asphyxie.
- **Le CO₂-SC est un solvant peu onéreux** (0,15 €/kg à l'échelle industrielle), car c'est un sous-produit de l'industrie chimique produit abondamment. Par conséquent, son utilisation peut être considérée comme la valorisation d'un déchet.

Tableau 1 : Comparaison de plusieurs fluides supercritiques

Corps pur	T _c (K)	P _c (MPa)	Propriétés contraignant l'usage
Hélium	5,19	0,23	Masse volumique trop faible
Dihydrogène	33,2	1,3	Extrêmement inflammable
Méthane	190,4	4,6	Extrêmement inflammable
Dioxygène	154,6	5,04	Comburent
Dioxyde de carbone	304,15	7,38	/
Butane	425,13	3,8	Extrêmement inflammable / CMR
Eau	647,3	22,12	Pression et température critiques élevées

De plus les récentes réglementations européennes telles que REACH (*Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals*) et mondiales telles que le SCEQE (*Système Communautaire d'Echange de Quotas d'Emission*) favorisent grandement l'utilisation du CO₂ vis-à-vis d'autres fluides ou solvants.

1.3.2. Propriétés physico-chimiques du CO₂-SC

Comme pour tous les fluides supercritiques, le CO₂-SC possède des propriétés physico-chimiques modulables/variables au-delà du point critique en fonction du couple pression et température. Le fluide présente alors des propriétés physico-chimiques intermédiaires entre celles du gaz et du liquide (voir Tableau 2). Effectivement, dans le domaine supercritique, la viscosité dynamique et la diffusivité du CO₂ sont proches de celles du gaz alors que la masse volumique est proche de celle du liquide. Cette combinaison de propriétés confère au CO₂ d'excellentes propriétés de transfert. De plus, la grande variabilité de ces propriétés permet d'ajuster le pouvoir solvant du CO₂.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du CO₂ supercritique, gazeux et liquide

Etat	Masse volumique ρ (kg.m ⁻³)	Viscosité dynamique η (Pa.s)	Diffusivité D (m ² .s ⁻¹)
Gazeux	0,6 < ρ < 2	1.10 ⁻⁵ < η < 3.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁵ < D < 4.10 ⁻⁵
Supercritique	600 < ρ < 900	1.10⁻⁴ < η < 3.10⁻⁴	1.10⁻⁸ < D < 1.10⁻⁷
Liquide	600 < ρ < 1600	2.10 ⁻⁴ < η < 3.10 ⁻³	2.10 ⁻¹⁰ < D < 2.10 ⁻⁹

1.3.3. Les applications du CO₂-SC

Depuis les années 1970, lorsque la technologie CO₂-SC a été utilisée au stade industriel, elle est apparue comme une technologie durable et écoresponsable. Les secteurs concernés sont les industries agroalimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques, chimiques et plus particulièrement la chimie des polymères. Ainsi, le CO₂-SC a permis de limiter, voire supprimer l'utilisation de solvant organique pour le développement de nouveaux procédés plus « verts ». L'usage du CO₂ est désormais possible pour effectuer toutes les opérations suivantes : atomiser, concentrer, cristalliser, imprégner, extraire, purifier, séparer, solubiliser, stériliser, polymériser. De plus en plus de secteurs l'utilisent que ce soit par motivation écologique, mais aussi économique. Une des applications industrielles les plus importantes en tonnage est l'extraction de principe actif des végétaux comme l'extraction de la caféine à partir du café [19] ou du thé [20].

2. Polymères biosourcés

2.1. Définition

Un polymère est qualifié de « biosourcé » lorsque la majorité de ces constituants proviennent de la biomasse. Par conséquent, la source provient de la matière vivante, elle peut être animale, végétale, fongique ou bien encore bactérienne. La **Figure 2** répertorie l'ensemble des polymères pouvant être obtenus à partir de la biomasse, seulement quelques-uns sont partiellement biosourcés (ex : bio-PET, bio-PE, les résines époxy bio), et leurs polymérisations nécessitent également des molécules d'origine pétrochimique. C'est pourquoi dans ce travail,

l'appellation polymère biosourcé sera exclusivement réservée aux polymères synthétisés à partir de 100% de biomasse.

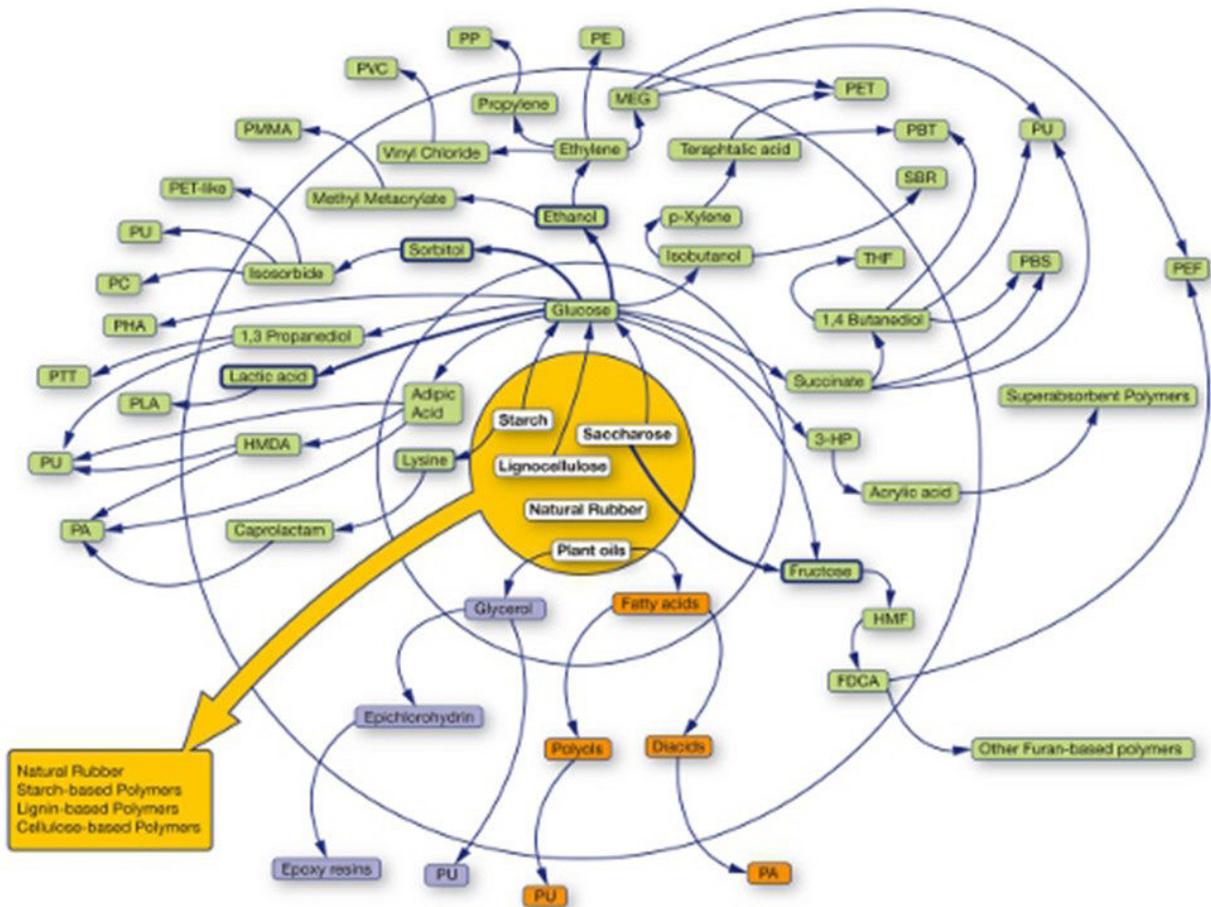


Figure 2 : Polymères pouvant être obtenus par extraction de biomasse (source Nova-institut)

Les polymères biosourcés peuvent provenir d’une extraction directe de la biomasse ou bien ils nécessitent une étape de polymérisation chimique (Figure 3). La production directe de polymères biosourcés peut être réalisée par les algues (alginate, etc.), par les plantes (pectine, cellulose, etc.), par des bactéries (polyhydroxyalcanoates, PHA), par des champignons (chitosanes), à partir de crustacés (chitines) et encore bien d’autres ressources.

Les polymères biosourcés sont divisés en 2 catégories : les polymères biosourcés biodégradables (TPS, PHA, PLA, cellulose, amidon...) et non biodégradables (PA 11, bio-PA6, bio-PE, bio-PET...). C’est pourquoi l’appellation de biopolymère est évitée, car elle prête souvent à confusion entre ces différentes catégories.

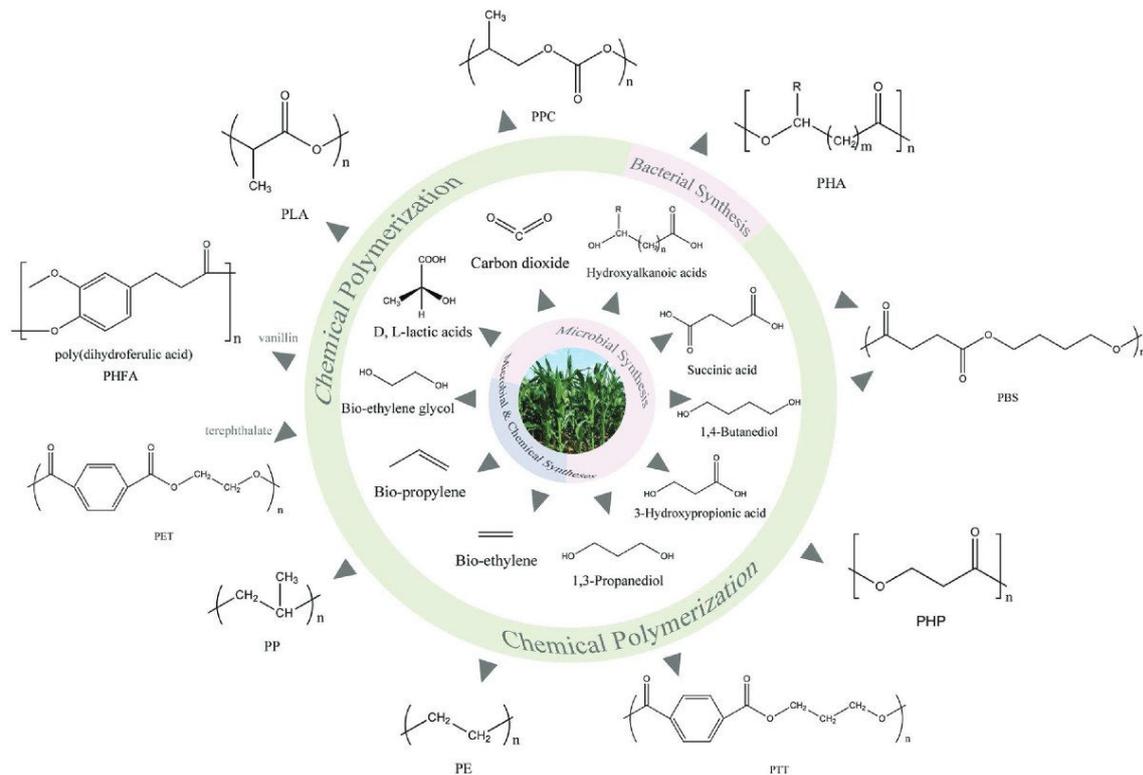


Figure 3 : Polymère et leurs monomères produits par fermentation microbienne combinée à une polymérisation chimique [21].

2.2. Historique

Les premiers polymères utilisés et développés par l'homme étaient d'origine naturelle. Dans l'Égypte antique, la colle polymère à base de gélatine d'os était utilisée. Le caoutchouc rapporté par Christophe Colomb en Europe était déjà utilisé par les civilisations précolombiennes et ce matériau a permis trois siècles plus tard, la mise au point de la vulcanisation par Charles Goodyear. Ainsi, le caoutchouc qui a joué un rôle majeur lors de la révolution industrielle était d'origine naturelle. Un dérivé de la cellulose, dit la Parkésine, découverte par Alexander Parkes en 1862 est à la base de l'industrie plastique moderne. Par la suite, le celluloid, la viscose, et la galalithe ont vu le jour. Puis au début du XXe siècle, l'avènement des polymères d'origine synthétique, moins onéreux a freiné l'utilisation de ces polymères d'origines naturelles à l'exception du caoutchouc naturel et du PA 11 qui de par leurs performances n'ont pu être remplacés.

2.3. Enjeux et contexte

Cependant depuis une vingtaine d'années, les matériaux issus de ressources renouvelables font l'objet d'une attention particulière en raison des préoccupations écologiques et économiques qui sont de plus en plus prégnantes. En effet, une prise de conscience autour de l'épuisement des ressources fossiles et la réduction de l'empreinte écologique humaine est amorcée. De plus, l'avènement des matériaux polymères biosourcés et biodégradables représente un marché en plein essor.

Actuellement, la production annuelle mondiale de matières plastiques est d'environ 300 millions de tonnes, ce qui nécessite d'énormes quantités de pétrole et conduit à l'émission de centaines de millions de tonnes de CO₂. Pourtant le constat est simple, le cycle du carbone présenté en (**Figure 4**) montre que les stocks de ressources fossiles ont été constitués en plusieurs millions d'années et diminuent rapidement. Le CO₂ est libéré beaucoup plus vite que le temps nécessaire à son assimilation par la biomasse. Ainsi, cela augmente inévitablement la quantité de CO₂ dans l'atmosphère qui est partiellement responsable du réchauffement climatique.

L'utilisation de matériaux biosourcés et biodégradables rationalise ce cycle et le ramène à une échelle de temps humaine, puisque la biomasse servant à produire ces matériaux capte le CO₂ dans l'atmosphère, puis les matériaux en fin de vie libère la même quantité de CO₂ qu'ils soient brûlé ou biodégradé.

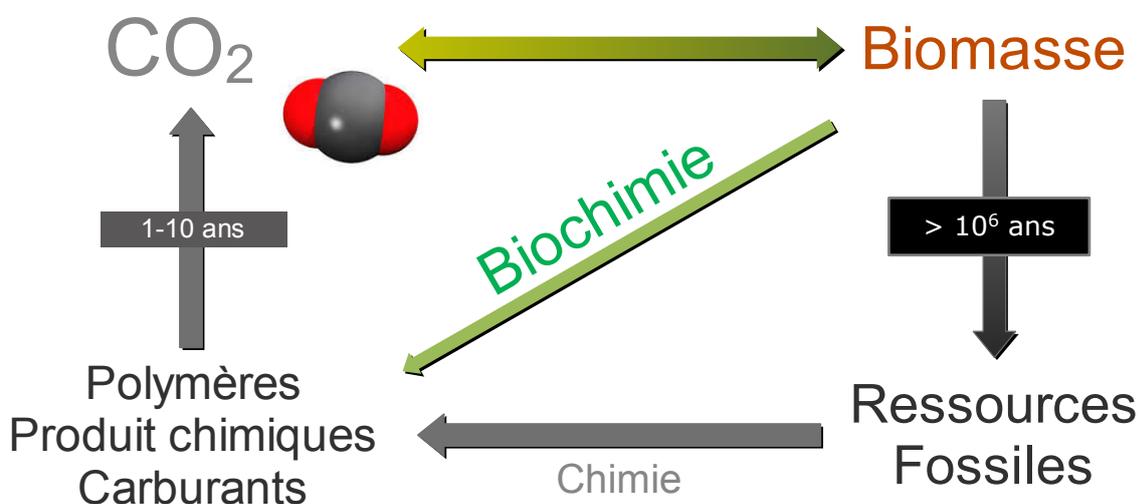


Figure 4 : Cycle de vie du carbone

2.4. Marché et applications des polymères biosourcés

Les polymères biosourcés ont des applications dans des domaines très divers, tels que l'emballage, l'agriculture, l'automobile, l'électronique et le textile. Pourtant, ils ne représentent actuellement que 0,5 % de la capacité mondiale de production de matière plastiques qui s'élevait à 311 Mt en 2014. Les récentes innovations technologiques ont permis une amélioration substantielle des propriétés de ces matériaux comme la résistance à la chaleur pour les PLAs et la résistance mécanique des PHAs. Ainsi, les polymères biosourcés sont éligibles à une plus vaste gamme d'applications. Le principal frein à l'heure actuelle reste leurs prix entre 2 et 4 fois supérieurs par rapport aux polymères pétrosourcés. Cependant, les prix baissent avec l'augmentation des capacités de production. La **Figure 5** regroupe les principaux polymères « biosourcés » et leur part de marché des « bioplastiques ». Environ 40% de la production sont des polymères biodégradables et le reste du marché est composé de polymères dit « traditionnels » mais d'origine biosourcés. L'ensemble représente une capacité de production de 1,7 millions de tonnes. Cependant, ces chiffres sont à prendre avec

précaution, car le leader du marché représente 35% du marché des biopolymères : le bio PET n'est fabriqué qu'à 30% de biomasse.

Selon les estimations actuelles, la production mondiale de bioplastiques devrait croître de 30% annuellement durant la prochaine décennie, pour atteindre 3,5 millions de tonnes en 2020 [22]. De plus, des secteurs tels que le packaging où les durées de vie des emballages sont très courtes, misent fortement sur l'utilisation des polymères biosourcés et biodégradable pour contrer un des inconvénients majeurs des matériaux plastiques : la dissémination. En effet, de par leur « faible » masse volumique, les plastiques voyagent facilement le long des cours d'eau et finissent par s'accumuler dans les océans.

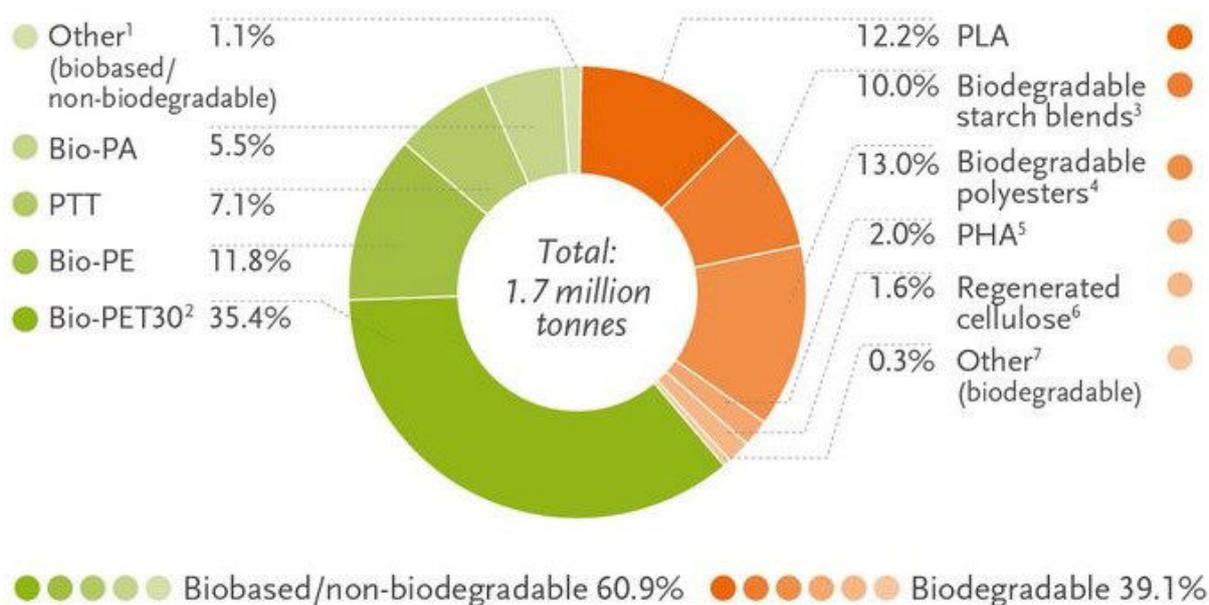


Figure 5 : Capacité de production mondiale de « bioplastiques » en 2014 (Nova institut).

2.5. L'Acide polylactique (PLA)

Depuis les années 1990, le PLA a fait l'objet de nombreuses études notamment dans le domaine biomédical. En effet, sa biocompatibilité et sa biorésorbabilité sont des propriétés d'intérêt pour la fabrication de dispositifs médicaux la libération contrôlée de principe actifs [23]–[25] ou bien l'ingénierie tissulaire : c'est notamment un des biopolymères le plus utilisé pour la réparation des défauts osseux [26]–[30]. Durant cette dernière décennie, les capacités de production du PLA ont considérablement augmenté. L'industrialisation de la production a permis de faire chuter le prix de ce polymère. Par conséquent, l'utilisation des PLAs s'est démocratisée et a conquis d'autres secteurs tel que l'emballage, le textile, l'électronique, l'automobile, etc. Aujourd'hui le PLA représente environ 12% de la production mondiale des « bioplastiques », soit un peu plus de 200 000 tonnes en 2014. Il est donc le polymère 100% biosourcé le plus produit au monde.

2.5.1. Synthèse

Le PLA est un polyester aliphatique issu indirectement de la polymérisation de monomères issus eux-mêmes de ressources végétales. Les polysaccharides sont obtenus par extraction directes de matière première végétale (exemple : maïs, betterave, pomme de terre, canne à sucre, etc). Ceux-ci subissent ensuite une hydrolyse. Des études sont également menées pour utiliser des déchets de la production agricole ou agroalimentaire pour la prochaine génération de bioplastique [31], [32] notamment par bioraffinage des déchets lignocellulosiques [33]. Ensuite, les sucres sont transformés par fermentation en acide lactique. Puis la dernière étape est la polymérisation, celle-ci peut s'effectuer généralement de deux façons par polycondensation directe de l'acide lactique [34], [35] ou par polymérisation par ouverture de cycle [36], [37]. La polycondensation du PLA a été réalisée en 1932 par Carothers (chez DuPont) [38]. Or, cette technique ne permettait pas l'obtention de masse molaire élevée, la résistance mécanique et thermique assez faible de ces polymères n'a suscité que peu d'intérêt. Au début des années 90, la société Cargill dow LLC a breveté la polymérisation par ouverture de cycle à partir du lactide en présence d'un catalyseur métallique qui a permis la synthèse de PLA jusqu'à 300 000g/mol [39]. Une voie alternative combinant une déshydratation azeotropique et une polymérisation enzymatique peut aboutir à des PLAs de masse molaire élevée. Malheureusement, sa complexité et son coût limitent son utilisation [40].

L'étape de fermentation des polysaccharides est stéréosélective puisqu'elle permet l'obtention de l'acide lactique sous forme de deux énantiomères : l'acide lactique D ou L. Ensuite, la condensation de ces acides lactiques permet de former trois isomères du lactide : le L-lactide, D-lactide et le mésolactide. Ces lactides peuvent ensuite être sélectionnés pour former des enchainements stéréoréguliers d'acide polylactique par polymérisation ionique (**Figure 6**). Ces différents enchainements seront en partie responsables des propriétés du futur PLA.

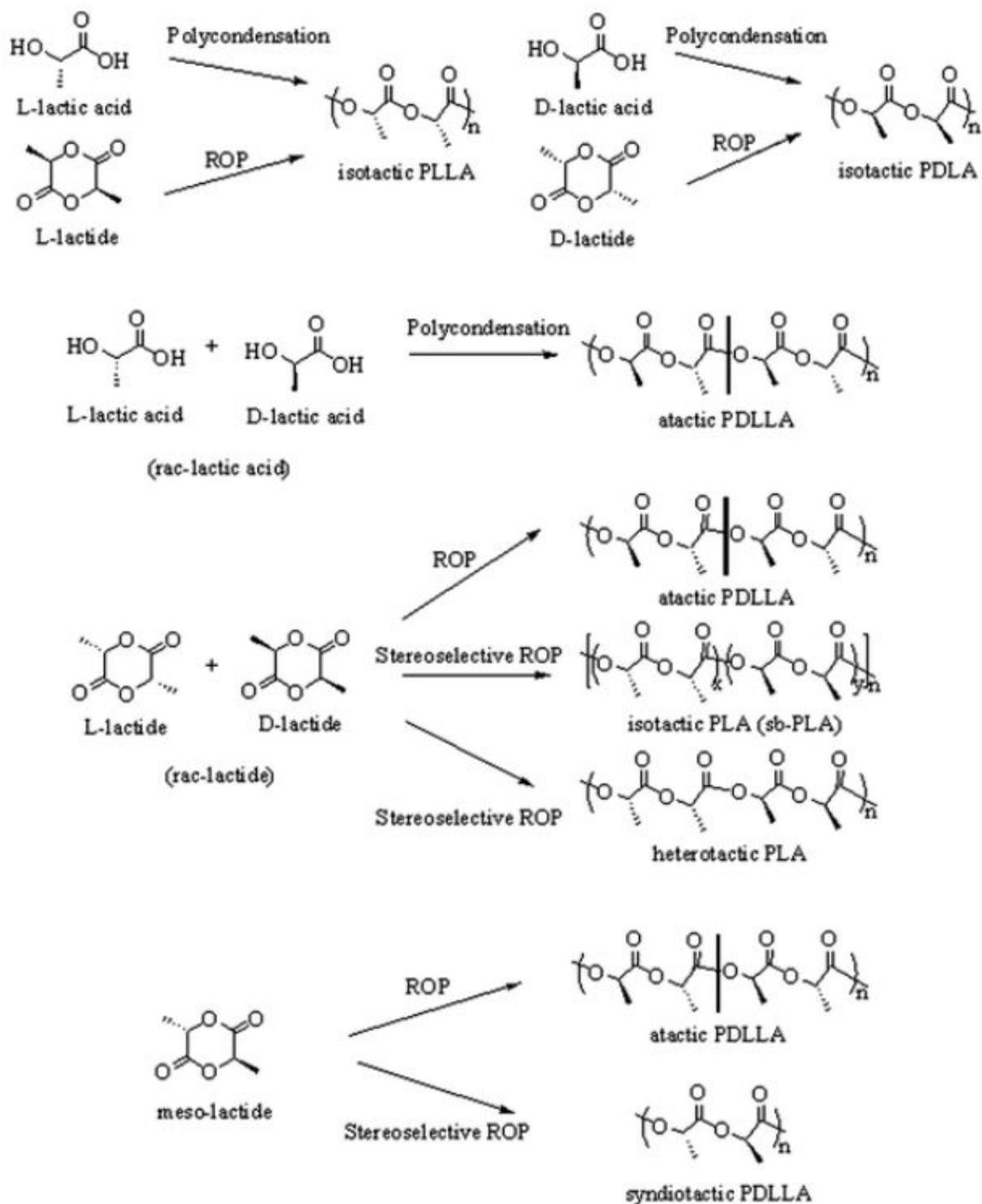


Figure 6 : Mode d'obtention des différents types de PLAs [41]

2.5.2. Propriétés du PLA

L'appellation PLA désigne les différents isomères du polymère, cependant ses propriétés varient fortement avec sa stéréochimie. Ainsi, les homopolymères de PDLAs et PLLAs obtenus respectivement par la polymérisation d'un lactide D et L, sont « très cristallins », entre 50 et 70 %, car leurs structures stéréo-régulières permet la cristallisation. Contrairement au PDLLA qui présente une structure « alternée » héritée soit de la polymérisation du mésolactide ou par copolymérisation du mélange racémique du lactide D et L (**voir Figure 6**). Cette structure ne permettant pas la cristallisation, il est donc amorphe. Par conséquent, il suffit qu'un

copolymère de PLA contienne entre 12 et 15% de méso-lactide (unité DL-lactide) pour annihiler la cristallisation [42]. Cette capacité à cristalliser ou non est responsable de propriétés très différentes.

a) Influence de la cristallinité sur les propriétés

La compréhension du comportement de cristallisation est particulièrement cruciale pour contrôler les propriétés des PLAs.[43]. Un taux élevé de cristallinité augmente la rigidité [44], la résistance en température, la durée de vie [45], les propriétés barrière au gaz [46], mais abouti à un matériau plus cassant. Les PLAs amorphes sont transparents, plus ductiles et leur biodégradation est plus rapide. Ainsi, en fonction des propriétés recherchées, une sorte de PLA peut être privilégié. Cependant, la plupart des PLA disponibles sur le marché sont des mélanges ou des copolymères de PLLA et de PDLLA afin de moduler leurs propriétés et de faciliter leurs mises en œuvre [40]. Le **Tableau 3** regroupe les propriétés thermiques et mécaniques de plusieurs sortes de PLAs : un PLLA à taux de cristallinité élevé, un PDLLA amorphe, un PLA commercial (mélange de PLLA et PDLLA), un SC-PLA (forme cristalline stéréocomplexe) comparé à des polymères pétrosourcés potentiellement concurrents (le polystyrene PS et le Polytéréphtalate d'éthylène PET)

Tableau 3 : Propriété de PLAs en fonction de leurs stéréochimies, comparés aux propriétés du PS et du PET [42], [47]–[49]

Propriétés	PLLA	PDLLA	PLA (Commercial grade)	SC-PLA	PS	PET
Température de fusion T_m (°C)	170-190	/	165-180	220-240	/	245
Température de transition T_g (°C)	55-65	50-60	50-60	65-72	100	70
Module d'élasticité (MPa)	3600	2500	3500	n.c.	3400	2450
Contrainte à la rupture (MPa)	60	4-5	68	90	45	57
Elongation à la rupture (%)	4	8,5	4-9	n.c.	3	59

Le **Tableau 4** présente les différentes formes cristallines observées dans les PLAs. La forme α est la plus courante. La forme β est moins courante, elle résulte d'une déformation des cristaux α et la forme γ n'est obtenue que dans des conditions très spécifiques. Cependant, les mélanges de chaîne de PDLA et PLLA peuvent aboutir à la formation d'un système cristallin stéréocomplexe (SC) [50]. Cette particularité a permis l'élaboration de PLAs plus résistants à la chaleur, car la température de fusion de cette forme avoisine 230 °C et celle de la forme α avoisine 180 °C.

Tableau 4 : Formes cristallines des PLAs [43]

Forme cristalline	Système cristallin	Conformation de chaîne	Paramètre de maille			Angles			$\rho_{\text{théorique}}$ (g/cm ³)
			a (nm)	b (nm)	c (nm)	α (°)	β (°)	γ (°)	
α	Pseudo-orthorhombique	10 ₃ hélicoïdal	1,07	0,645	2,78	90	90	90	1,247
α	Orthorhombique	10 ₃ hélicoïdal	1,05	0,61	2,88	90	90	90	1,297
β	Orthorhombique	3 ₁ hélicoïdal	1,031	1,821	0,9	90	90	90	1,275
β	Trigonal	3 ₁ hélicoïdal	1,052	1,052	0,88	90	90	120	1,277
γ	Orthorhombique	3 ₁ hélicoïdal	0,995	0,625	0,88	90	90	90	1,312
SC	Triclinique	3 ₁ hélicoïdal	0,916	0,916	0,87	109,2	109,2	109,8	1,274
SC	Trigonal	3 ₁ hélicoïdal	1,498	1,498	0,87	90	90	120	1,274

b) Dégradation des PLAs

En fonction des applications visées, une dégradation contrôlée du PLA peut être recherchée. En effet, la phase cristalline est plus résistante à la dégradation que la phase amorphe [51]. Cependant, comme tous les polyesters aliphatiques, les PLAs sont particulièrement sensibles à la température et l'humidité. La présence d'eau peut déclencher l'hydrolyse de la fonction ester qui a pour conséquence de fragmenter la chaîne de PLA. *Bigg et al.* ont mesuré la réduction de la masse moléculaire sous l'effet de la température (**Tableau 5**). Ce sont des données importantes à prendre en compte pour la mise en œuvre de ces matières plastiques, car une réduction importante du poids moléculaire modifie les propriétés du matériau final.

Tableau 5 : Effet de la température sur la réduction de la masse molaire du PLA [40]

Masse molaire initiale (g/mol)	Masse molaire après 30 min à 160 °C (g/mol)	Masse molaire après 30 min à 190 °C (g/mol)
151 000	102 000	84 000
255 000	160 000	104 000
285 000	204 000	142 000
470 000	354 000	228 000
562 000	362 000	223 000
950 000	650 000	390 000

Dans le cas d'une biodégradation, les chaînes sont d'abord fragmentées par hydrolyse de leurs fonctions esters. Une fois que celles-ci sont réduites à l'état d'oligomères, elles peuvent être transformées par l'action de micro-organismes en molécules d'eau et dioxyde de carbone [52].

3. Comportement du CO₂-SC dans les polymères

3.1. Solubilité du CO₂ dans les polymères

Seulement quelques polymères tels que certains polymères fluorés amorphes [53] et silicones [54] sont solubles dans le CO₂-SC. Cependant, le CO₂-SC est soluble de manière substantielle dans la majorité des polymères. L'interaction entre les polymères et le CO₂-SC est fortement dépendante de la nature chimique du polymère et des conditions de température et de pressions. En général, la solubilité du CO₂ augmente avec le nombre de groupes méthyles dans le polymère alors les liaisons hydrogène tant que ces groupes ne forment pas de liaisons hydrogène [55], [56]. Ainsi, ces interactions fortes entre les chaînes peuvent limiter les interactions avec les molécules de CO₂. Pour les polymères amorphes, généralement la solubilité augmente avec la pression jusqu'à atteindre un palier, et elle diminue avec l'augmentation de la température [57], [58]. Par contre, la polarité du polymère joue un rôle crucial dans la détermination de la solubilité du CO₂. Le cas des polymères semi-cristallins est souvent plus complexe, car le CO₂ se solubilise principalement dans la partie amorphe du polymère [59]. De plus un polymère semi-cristallin exposé au CO₂ peut cristalliser davantage sous l'effet plastifiant du CO₂. Ainsi, la cristallisation réduisant la fraction amorphe, cela peut alors diminuer la solubilité.

3.2. Cas particulier du PLA

De par la présence de groupes méthyles, le PLA présente plutôt de bonnes affinités avec le CO₂. Plusieurs travaux sur les mesures de solubilité de CO₂-SC dans du PLA ont été effectuées au moyen de balances à suspension magnétique [60]–[63]. Ces valeurs ont été regroupées dans les graphiques ci-dessous (**Figure 7** et **Figure 8**). Les mesures par balance magnétique sont généralement effectuées en dessous de la T_g et au-dessus de la T_m, car entre ces températures des phénomènes de recristallisation peuvent avoir lieu et perturber les mesures. La **Figure 7** présente des mesures de solubilité effectuées sur des PDLLA (amorphe) de masse molaire différentes et un PLLA (semi cristallin) en dessous de la T_g. Ainsi, la solubilité augmente avec la pression, mais diminue avec la température. La cristallinité du polymère diminue fortement la solubilité. L'augmentation du poids moléculaire engendre également une diminution de la solubilité du CO₂-SC. Enfin dans cette gamme de température (de 35 °C à 50 °C), la solubilité est élevée puisque les polymères ont absorbé entre 17 % et 56 % de CO₂.

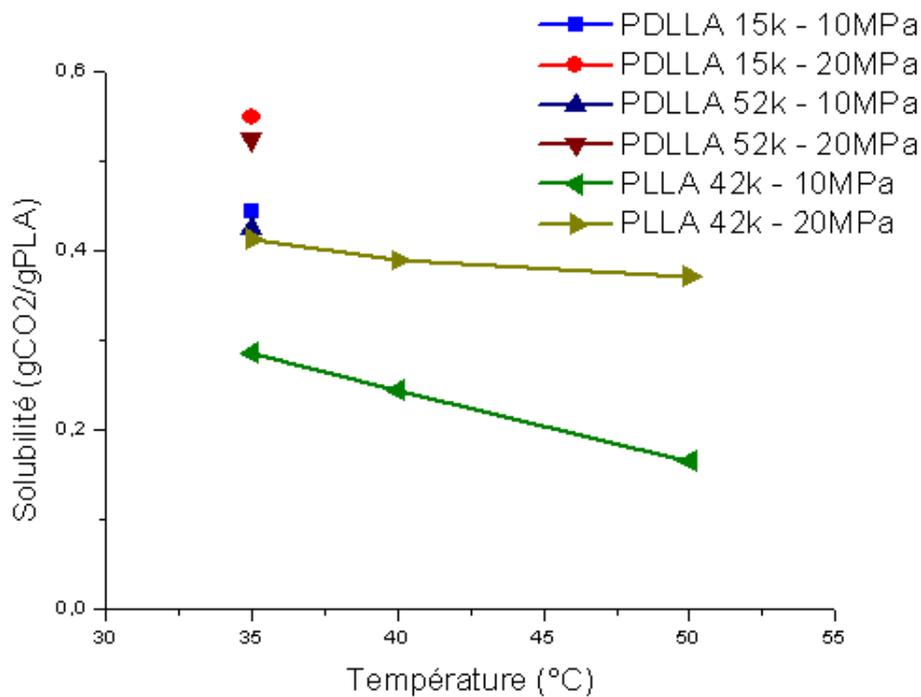


Figure 7 : Influence de la température (35-50°C) de la pression et de la nature des PLAs sur la solubilité du CO₂ dans ces polymères [61], [62]

La **Figure 8** présente des mesures de solubilité effectuées au-dessus de la température de fusion (T_m) des PLAs. Tout d'abord, les valeurs de solubilité sont bien plus faibles que celles mesurées en dessous de la température de T_g (**Figure 7**). Ensuite, les mêmes tendances sont observables : l'augmentation de la température diminue la solubilité et la pression l'augmente. Dans cette gamme de température (de 180 °C à 200°C), la solubilité du CO₂-SC est proportionnelle la pression puisque celle-ci est doublée entre 100 et 200 bars et cela, indépendamment du poids moléculaire du PLA. Enfin, le taux d'unité D-lactide n'a eu aucun effet significatif sur la solubilité du CO₂ dans le PLA.

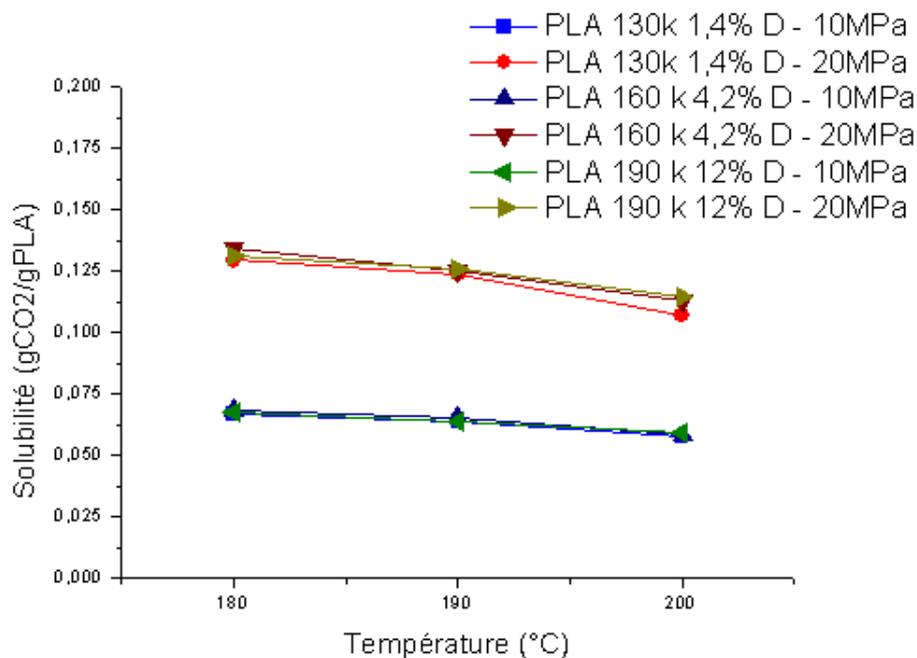


Figure 8 : Influence de la température (180-200°C) de la pression et de la nature des PLAs sur la solubilité du CO₂ dans ces polymères [60], [63]

4. Procédés d'élaboration de matériaux poreux polymères

4.1. Procédés conventionnels

4.1.1. Moussage par agent gonflant physique (PBAs)

Cette méthode se base sur le principe du changement d'état d'un fluide par modification des conditions de température et de pression. Cette méthode a permis le développement de la mousse de polystyrene expansé (PSE)[64][65] dont la production mondiale se chiffrait à environ 2,5 Mt en 2011. Seulement, les agents utilisés sont principalement des fluides fluorocarbonés étant reconnu néfaste pour l'environnement ou des fluides hydrocarbonés comme le butane ou le pentane posant des problèmes de sécurité de par leur inflammabilité.

4.1.2. Moussage par agent gonflant chimique (CBAs)

Le moussage par utilisation d'agent gonflant chimique est une des méthodes les plus utilisées au niveau industriel. Principalement dû à la production de PU [66] dont la production mondiale est de 11,5 Mt en 2011.

Soit l'agent de moussage solide ou liquide réagit avec les constituants du mélange réactionnel (pour les polymères thermodurcissables) soit il se décompose avec la température (pour les polymères thermoplastiques) pour former un gaz. La libération de ce gaz déclenche le moussage.

Un avantage majeur de l'utilisation des CBA solides, est qu'ils peuvent être utilisés avec les procédés classiques de transformation des plastiques, tel que l'extrusion ou l'injection [67], [68]. Cependant, l'utilisation de ces agents solides aboutit souvent à une porosité non

uniforme et implique la présence de résidus qui n'ont pas réagi et qui peuvent polluer la matrice [4].

4.1.3. Solvant casting/particule leaching

La particularité du procédé Solvent Casting/Particle Leaching (SCPL) réside dans sa simplicité à pouvoir générer des matrices poreuses, car elle ne demande aucun équipement spécifique. Il suffit de préparer une solution de 5 à 20 % de polymère, de la mélanger avec un porogène à la granulométrie contrôlée soluble dans l'eau (sels, sucre, particule de gélatine,...) et de la couler dans un moule à la taille désirée [69]–[71]. Ensuite le solvant est évaporé à l'air ou sous vide, puis la matrice est rincée à l'eau. Les avantages de cette technique sont le contrôle accru de la morphologie des pores (taille et forme) par le porogène. Nonobstant la relative simplicité de mise en œuvre du procédé de fabrication, *Murphy et al.* [72] affirment que la densité de la solution de polymère liquide et celle des sels solides étant différentes, le degré de contact direct entre ces deux phases n'est pas bien contrôlé. De fait, l'interconnexion des pores peut ne pas être contrôlée. Enfin, la solution de polymère et les sels étant mélangés de manière telle que les particules de sel ont tendance à être enveloppées par la solution de polymère, le lessivage à l'eau devient difficile. Cette technologie n'est pas donc pas très adaptée aux gros volumes. Par conséquent, les matrices produites sont souvent de faible épaisseur [73]. De plus, il est possible que du solvant résiduel reste piégé dans la matrice polymère.

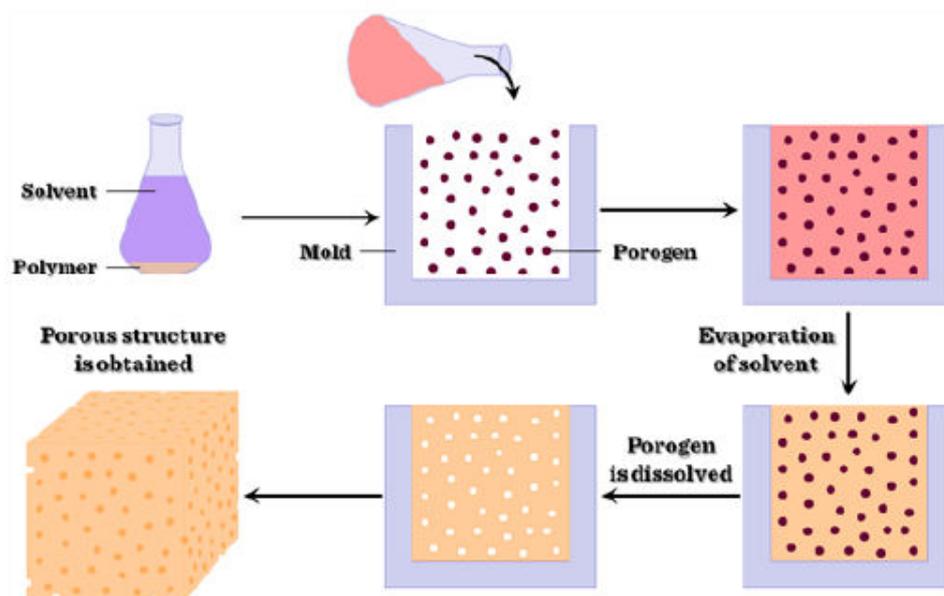


Figure 9 : Schéma de principe de mise en forme de matrice polymère par libération de sels [74]

4.1.4. Melt molding

Le melt molding est également une technique utilisant des particules solides comme porogène. Le principe est présenté en Figure 10. Un mélange de polymère en poudre et de porogène solide est comprimé à l'aide d'une presse chauffante. Ensuite le porogène est évacué par lavage à l'eau. L'avantage principal de cette méthode est l'absence totale de solvant.

Cependant, comme pour la méthode précédente, la dissolution complète du porogène peut-être compliquée. Pour cela les méthodes utilisant des porogènes solides sont souvent réservées à des applications nécessitant des pores interconnectés et supérieurs à 100 μm . De plus, cette technique nécessite un équipement spécifique [75], [76].

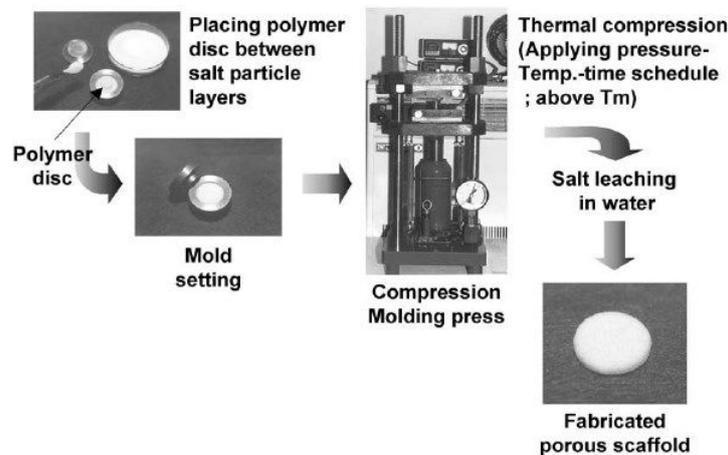


Figure 10 : Principe du melt molding [76]

4.1.5. Emulsion freeze drying

L'émulsion freeze drying requiert la préparation par l'homogénéisation de deux phases immiscibles : une phase riche en solvant et polymère dans laquelle de l'eau est ajoutée. L'émulsion est ensuite plongée rapidement dans l'azote liquide pour la figer puis lyophilisée pour extraire l'eau et le solvant. La phase aqueuse forme des macropores et le solvant des micropores [77], [78]. Cependant, la complexité de contrôle et la nécessité d'utiliser un solvant non miscible à l'eau, limite fortement son utilisation [79].

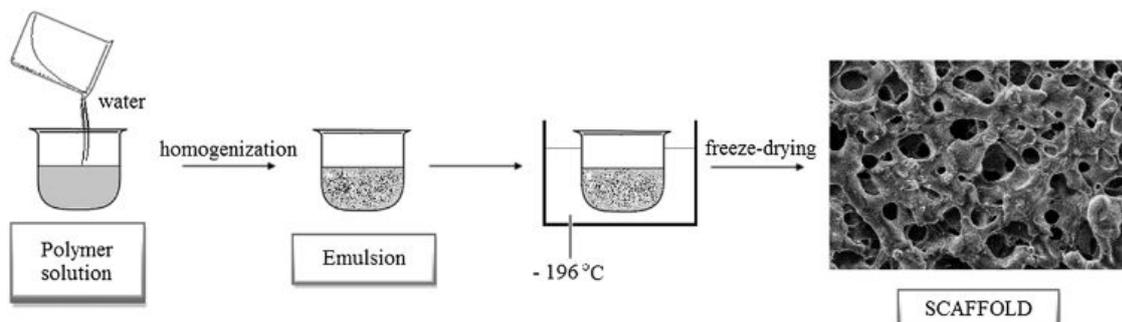


Figure 11 : Principe du freeze drying [79]

4.1.6. TIPS

Le procédé TIPS pour Thermally Induced Phase Separation a beaucoup été étudié pour la fabrication de matrices poreuses polymère pour l'ingénierie tissulaire [73], [80]–[83]. Cette technique permet de produire des structures polymériques tridimensionnelles à très haute porosité (supérieure à 80 %). La technique est basée sur le principe qu'une solution de polymère (2 à 10 m%) homogène est transformée en deux phases distinctes par refroidissement : une phase riche en polymère qui correspondra à l'architecture de la matrice finale et une phase riche en solvant qui sera extraite par la suite. De nombreux mécanismes

peuvent être impliqués dans la séparation de phase (**Figure 12**). Au-dessus du point de trouble, la solution de polymère est limpide et homogène. Différents paramètres tels que la nature du polymère, le solvant, la concentration en polymère, la température et la vitesse de trempe influent sur la séparation de phase. Dans un cas très général, deux types de séparation de phase peuvent avoir lieu, une séparation de phase solide-liquide (S-L) ou liquide-liquide (L-L).

Ces deux mécanismes dépendent du signe de la température de congélation (T_f) et la température critique de la solution (T_c). Quand $T_f > T_c$, la séparation de phase S-L a lieu. La séparation des phases est alors provoquée par la cristallisation du solvant. La morphologie de la matrice polymère est induite par les cristaux de solvant.

Par contre quand $T_f < T_c$, la séparation de phase est de type L-L. La Figure 12 est une représentation schématique d'un diagramme de phase température-composition d'une solution polymère/solvant. Ce diagramme montre les différents domaines qui peuvent être traversés lors d'une séparation de phase L-L.

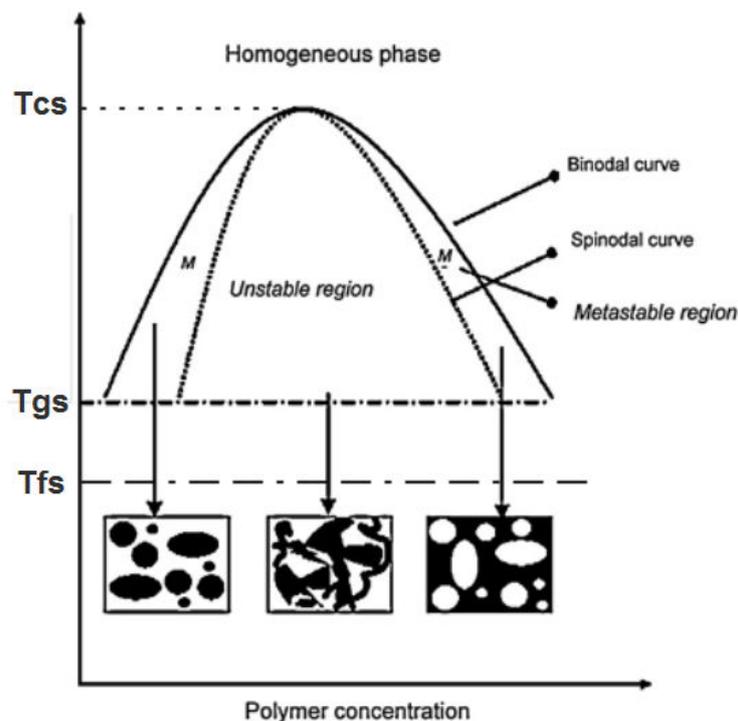


Figure 12 : Représentation schématique d'un diagramme de phase température composition d'une solution polymère/solvant [84] .

Par conséquent, lorsque la solution refroidit, elle se sépare en deux phases distinctes, une phase riche en polymère et une phase pauvre en polymère. Trois scénarios peuvent se produire :

- Au passage de la courbe binodale, la solution se retrouve dans un état métastable. Les deux phases sont séparées suivant des mécanismes de nucléation et de croissance. Si la solution est figée dans cet état la matrice polymère devrait présenter des pores sphériques ou pseudo-sphérique.

- Au passage de la courbe spinodale, la solution se trouve dans un état instable. La séparation de phase s'effectue instantanément dans toute la solution. Si la solution est figée dans cet état la matrice polymère devrait former un réseau 3D.
- Les deux courbes sont successivement traversées avant la solidification de la matrice. Des structures hybrides peuvent être obtenues.

La solution est figée au passage de la transition vitreuse de la solution (T_g). L'étape suivante consiste à éliminer le solvant par lyophilisation. Après séchage, une matrice poreuse est récupérée.

Cette technique nécessite de bien maîtriser la cinétique de refroidissement et tous les couples polymères/solvant qui ne sont pas compatibles avec cette méthode. Cependant la maîtrise du gradient de température lors du refroidissement permet d'obtenir des matrices au gradient de porosité [85] ou aux pores orientés [86], [87].

4.2. Procédés assistés par la technologie CO₂-SC

Les avantages du CO₂ supercritique ont permis le développement de nouveaux procédés de mise en forme de matrice poreuse de polymères. L'usage du CO₂ peut avoir plusieurs intérêts: réduire ou remplacer l'usage de solvant organique, diminuer les températures des procédés, obtenir des matériaux plus propres ou bien en extraire les solvants

Les procédés CO₂-SC peuvent se classer en deux catégories : (i) les procédés utilisant le CO₂-SC comme agent gonflant physique et n'utilisant donc pas de solvant organique et (ii) les procédés où sont utilisées les propriétés anti-solvant et d'extraction du CO₂-SC.

4.2.1. Le CO₂ SC est utilisé comme agent gonflant

Le moussage des polymères par l'utilisation d'agents gonflants dit physique, suit toujours la même cinétique. À haute température, le CO₂ joue le rôle d'agent moussant. Le processus de moussage en physique peut se décomposer en cinq étapes successives :

1. **La solubilisation du CO₂ dans le polymère** : Elle se caractérise par le temps de saturation, la température et la pression de CO₂ de travail. Ces paramètres conditionnent la quantité de CO₂ dissout au sein du polymère.
2. **La nucléation** : La nucléation de bulles de CO₂ dans le polymère est initiée par l'instabilité thermodynamique au sein du polymère saturé en CO₂. Cela conduit à une séparation de phases entre l'agent gonflant et le polymère afin de minimiser leurs niveaux d'énergie mutuels.
3. **La croissance** : Le CO₂ contenu dans la matrice polymère diffuse à l'intérieur des nucléi et repasse à l'état de gaz. Cette expansion cause l'accroissement des bulles de gaz et par conséquent augmente le volume de polymère.
4. **La coalescence** : Cette étape est majoritairement contrôlée par deux variables du système : la viscosité du mélange polymère CO₂ et la tension interfaciale. Ces deux

paramètres étant fortement influencés par la teneur en CO₂ encore contenue dans la matrice polymère ainsi que la température.

5. **La stabilisation** : L'étape finale du moussage physique consiste à la stabilisation par refroidissement de la structure et la diffusion du CO₂ vers l'extérieur. Comme présenté en **Figure 13** la structure se fige au passage de la transition vitreuse, seulement celle-ci dépend aussi de la quantité de CO₂ encore contenu dans le polymère. Ainsi la vitesse de refroidissement peut avoir une influence marquée sur la structure des mousses [88].

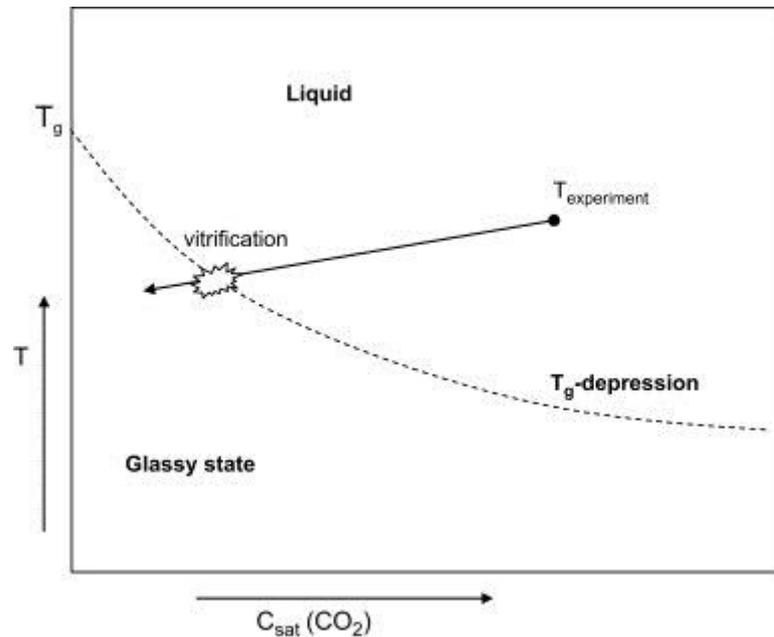


Figure 13 : Schéma représentant la baisse de la Tg et la vitrification de la matrice polymère pendant le procédé de moussage [89]

4.2.2. Procédés batch

L'appareillage classiquement utilisé pour le moussage en batch par CO₂ est présenté en **Figure 14**. La méthode consiste à placer le polymère dans un autoclave. Il est chauffé au-dessus de température de transition vitreuse pour les polymères amorphe ou au-dessus de la température de fusion pour les semi-cristallins afin d'accélérer la diffusion. Ensuite le CO₂ sous pression est introduit, jusqu'à saturation du polymère. La diminution brutale de la pression provoque la nucléation du CO₂ qui forme des bulles qui s'expansent jusqu'à la stabilisation provoquée par le refroidissement de la matrice dû à la détente endothermique du CO₂ (effet de Joule-Thomson) et la diminution de la teneur en CO₂ dans le polymère.

L'influence des conditions de moussages sur la morphologie des mousses est complexe. C'est pourquoi de nombreux travaux essaient d'expliquer les différents phénomènes physico-chimiques responsables de la structuration des polymères [89]–[92]. La principale difficulté résulte dans la dissociation de paramètres interdépendants (**Figure 15**). Ainsi, cinq paramètres opératoires ayant une influence sur la structuration ont été déterminés. Ces paramètres doivent être ajustés en fonctions du polymère que l'on veut mettre en œuvre et de ses propriétés intrinsèques (T_g, T_m, X_c...). Seulement la quantité de CO₂ dissoute à l'intérieur

du polymère va modifier ces propriétés. Ainsi, à la fois les paramètres opératoires et le polymère auront un impact lors de la mise en forme de la matrice.

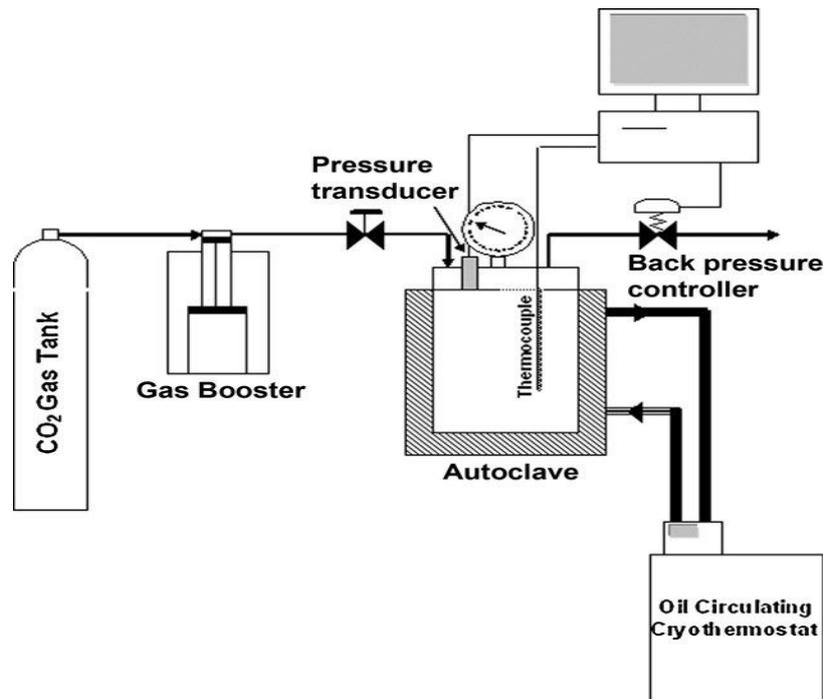


Figure 14 : Appareillage utilisé pour le moussage par CO₂-SC [93]

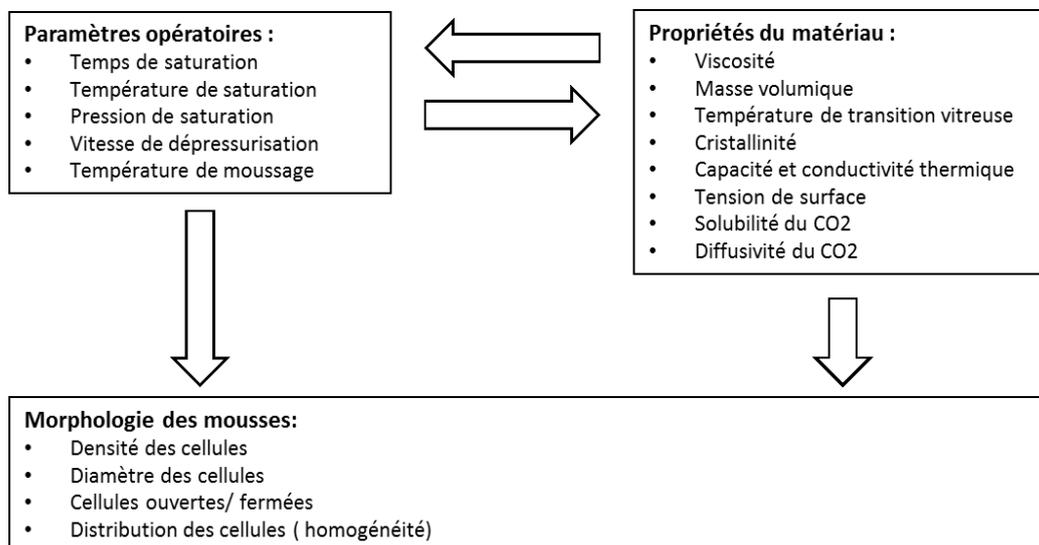


Figure 15: Schéma représentant l'interdépendance des paramètres dans la fabrication des mousses en batch

4.2.3. Procédé continu : l'extrusion par CO₂-SC

Un procédé de moussage continu par CO₂-SC existe également : l'extrusion par CO₂-SC [4]. Cette technique permet de produire des mousses de polymères sous forme de joncs cylindriques ou bien des profilés plus complexes. L'installation traditionnellement utilisée pour le moussage est présentée en **Figure 16**. Elle est composée d'une extrudeuse « classique » couplée à un système de pressurisation et d'injection de CO₂ directement dans le fourreau de

l'extrudeuse. Le polymère est introduit dans l'extrudeuse par la trémie, il commence à fondre dans la première section et monter en pression. Ensuite, le CO₂ est introduit à la même pression que le polymère. Puis le mélange est forcé à travers la filière où la chute de pression et température provoque le passage du CO₂ à l'état gazeux et par conséquent déclenche le moussage.

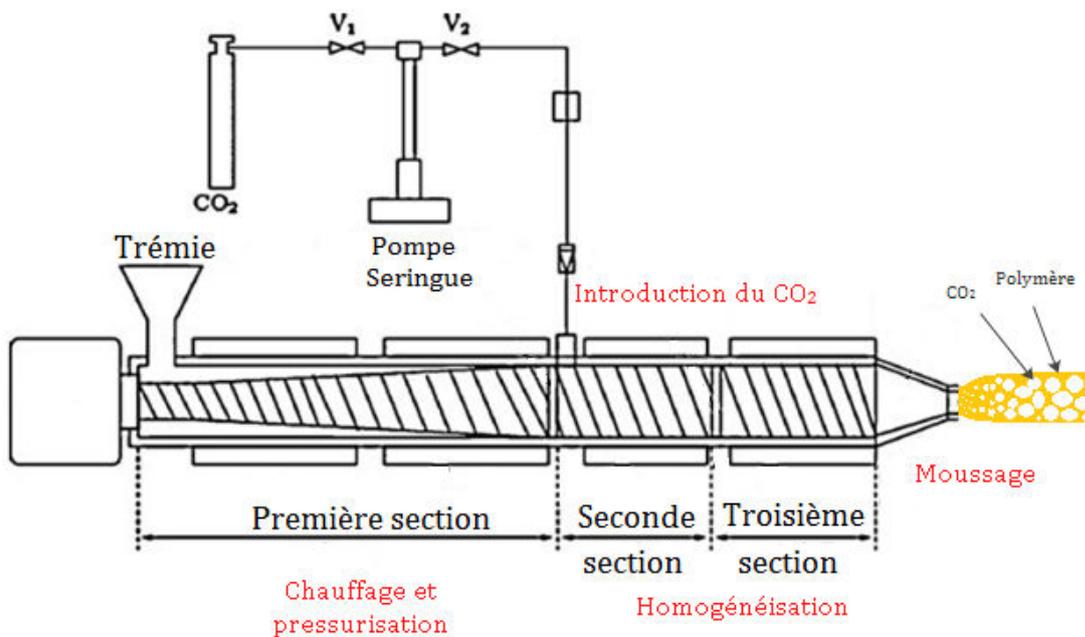


Figure 16 : Appareillage utilisé pour l'extrusion de polymère par CO₂-SC [4]

4.2.4. Procédés d'inversion de phase par CO₂-SC

Le principe de cette méthode est basé sur une inversion de phase provoquée par l'ajout d'un anti-solvant dans une solution polymérique. Anciennement, l'inversion de phase était provoquée par l'immersion de la solution dans un bain d'anti-solvant liquide, cette technique était principalement réservée à l'obtention de membranes [7], [94]. Puis le pouvoir anti-solvant du CO₂-SC a été utilisé en remplacement des liquides [92], [95]–[98]. La méthode par CO₂-SC est présentée en **figure 18**. La solution, composée d'un solvant organique et du polymère (dissout) est initialement placée dans un autoclave. Le CO₂ est introduit en condition critique et se dissolvant beaucoup plus rapidement dans le solvant organique que dans le polymère, il provoque l'inversion de phase puis la précipitation du polymère et conduit à l'obtention d'une matrice poreuse et structurée. Le balayage de CO₂ permet d'extraire le solvant restant dans l'autoclave et la matrice. Les principaux avantages de cette méthode sont que l'ajustement de la pression et de la température permettent de faire varier le pouvoir anti-solvant du CO₂ et qui par conséquent agit sur la structuration de la matrice [98]. La diffusivité élevée et la faible tension de surface du CO₂ comparée au liquide diminue les phénomènes d'effondrement des structures. De plus, l'utilisation du CO₂ permet de sécher rapidement la matrice et de réduire la quantité de solvant résiduel dans la matrice en comparaison à un simple séchage à l'air ou sous vide [97].

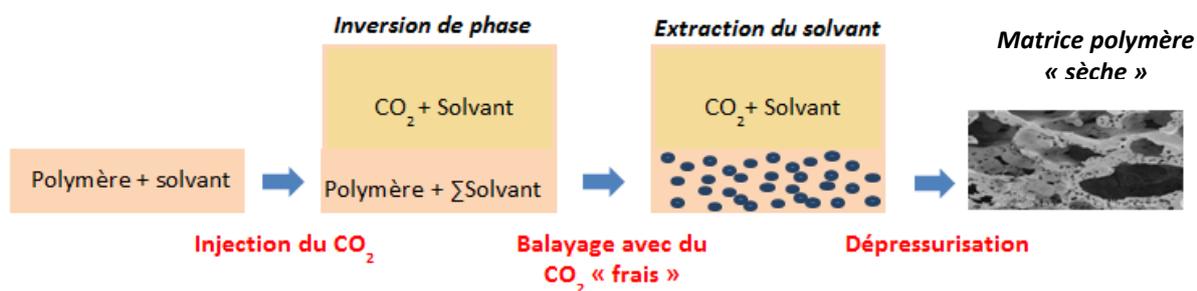


Figure 17 : Schéma de principe du procédé séparation de phase utilisant le CO₂-sc comme anti-solvant

4.2.5. TIPS couplé au CO₂-SC

Alors que les études concernant la technologie TIPS (vu au 4.1.6) sont assez nombreuses, et très peu d'entre elles font référence à l'utilisation de la technologie CO₂-SC. Traditionnellement, le solvant est extrait directement après la phase de refroidissement par lyophilisation [84], [99]–[102]. Mais une méthode alternative consiste à provoquer une deuxième inversion de phase en plongeant la solution congelée dans un anti-solvant tel que l'éthanol ou de l'eau [103]–[105]. Suite à ce traitement, un alcogel ou un hydrogel est formé en fonction du choix de l'anti-solvant (alcoolique ou aqueux). Le séchage de ce gel formé est réalisé en étuve, conduisant ainsi à l'évaporation du solvant initial et de l'anti-solvant.

Récemment, *Salerno et al.* [106]–[108] ont utilisé les bonnes propriétés d'extraction du CO₂-SC pour le séchage d'un alcogel. En effet, le CO₂-SC présente une très grande affinité avec beaucoup de solvants organiques et cela même dans des conditions opératoires très douces (par exemple 100 bars, 35 °C). L'avantage de cette alternative est la réduction du temps de production : le séchage étant plus rapide par CO₂-SC que par lyophilisation. Pourtant, à ce jour, il n'y a pas eu d'études comparatives sur l'analyse des coûts et des impacts environnementaux entre les différentes méthodes TIPS.

4.2.6. Résumé des principales techniques de génération de matrices de polymères

Tableau 6 : Synthèse des techniques de génération de matrices poreuses de polymère

Technique de fabrication	Tailles des pores (µm)	Porosité	Avantages	Désavantages
PBA	/	/	De nombreux polymères thermoplastiques sont compatibles	Utilisation de CFC, HFC ou HC
CBA -liquide -solide	/	/	Procédé « one shot » (thermodurcissable) Couplage avec l'extrusion ou l'injection (thermoplastique)	Limité par les réactifs Porosité non uniforme Résidus dans la matrices
SCPL	100 - 400	>70%	Ne requiert pas d'équipements spéciaux Bon contrôle de la géométrie des pores	Particules difficiles à laver Solvant résiduel éventuel Difficile d'obtenir des pores interconnectés Possibilité de sédimentation du porogène
Melt molding	100 - 400	70%	Absence de solvant	Particules difficiles à laver Requiert un appareillage spécifique
Emulsion freeze dryng	1 - 500	/		Peux contenir du solvant résiduel Difficile à mettre en place et à contrôler
TIPS	1 - 200	>80%	Bon contrôle de la structure et de la taille des pores	Difficulté à obtenir des pores > 200 µm Utilisation d'un solvant avec une température cristallisation élevé Peux contenir du solvant résiduel
CO ₂ SC utilisé comme agent gonflant	50 - 2000	De 10 à 97%	Possibilité de créer des matrices très expansées Absence de solvant Procédé batch et continu	Difficulté de contrôle de la morphologie des matrices
Inversion de phase par CO ₂ SC	50-300	<80%		Faible porosité
TIPS couplé au CO ₂	1 - 200	>80%	Bon contrôle de la structure et de la taille des pores	Utilisation d'un solvant avec une température cristallisation élevé Difficulté à obtenir des pores > 200 µm

D'après la littérature, la méthode TIPS semble être la méthode offrant le plus de contrôle sur les matrices produites : elle est facile à mettre en place en laboratoire [109]-[111] ; il est possible de contrôler la structure et la taille des pores [101], [112], [113] ; ainsi que la densité et par conséquent les propriétés mécaniques [104] des matrices.

En outre, la méthode utilisant le CO₂ SC comme agent gonflant semble la plus écologiquement intéressante grâce à l'absence de solvant [88], [114], [115] . Une large gamme de porosité est accessible [116] et il semblerait qu'il soit possible d'obtenir des structures aux pores fermés [117]-[119] ou bien interconnectés [120] et même dans certains cas une porosité bimodale [121].

Cependant, pour répondre à des cahiers des charges précis, les méthodes citées ci-dessus sont souvent couplées entre-elles. Par exemple, la méthode TIPS peut être associée au *particle leaching* pour augmenter la taille des pores et avoir une double distribution de tailles adaptée aux implants pour la reconstruction osseuse [108], [122]. La combinaison du procédé batch de moussage par CO₂ SC avec le procédé de *particle leaching* a également été utilisée pour obtenir une porosité bimodale [123] ou bien pour promouvoir l'interconnectivité des pores [124].

Chapitre 2 : Fabrication de matrice de PLA aux propriétés mécaniques et structurelles ajustables: Développement et « scale up » d'un procédé TIPS respectueux de l'environnement par le couplage au CO₂ supercritique

1. Introduction

Parmi les méthodes de mises en œuvre de matrices polymères à basse température couplées à l'utilisation de CO₂ SC, deux techniques ont retenu notre attention : l'inversion de phase par CO₂ et la méthode par séparation de phase induite par la température. D'après la littérature, ces méthodes présentent une certaine facilité de mise en œuvre et permettent l'obtention de matrices polymériques avec des taux de porosité élevée (>90%). Après plusieurs essais le procédé TIPS s'est révélé être le plus performant et robuste pour produire des matrices polymères aux propriétés structurales contrôlées. Enfin, nous avons choisi de travailler avec le PLA, un polymère aux propriétés intéressantes : il est biosourcé, biodégradable et biocompatible.

Les essais préliminaires nous ont permis de retenir le 1,4-dioxane comme solvant le plus pertinent pour la fabrication de matrices par procédé TIPS. En effet, le 1,4-dioxane assure la bonne solubilisation du PLA car ces deux matériaux possèdent des paramètres de solubilité très similaires, 21.9 MPa^{1/2} [39] et 20.5 MPa^{1/2} [125] respectivement. Le 1,4-dioxane a une température de fusion élevée (12 °C) pour un solvant organique, ce qui lui permet de cristalliser à une température élevée (entre 8 et 0 °C). En comparaison, le dichlorométhane, un autre bon solvant du PLA, a une température de fusion de -95,1°C. Ainsi, ces paramètres physico-chimiques permettent d'induire par la méthode TIPS, deux mécanismes de séparations de phases différents. Il est bien établi dans la littérature que c'est lors de la séparation de phase que le polymère acquiert son architecture [84], [99]–[102]. Ainsi, cette particularité augmente la possibilité d'obtenir des matrices aux propriétés différentes.

Par conséquent, lorsqu'une solution binaire composée uniquement de PLA et 1,4-dioxane est refroidie, la diminution de l'énergie thermique provoque une séparation de phase solide-liquide (S-L) (**Figure 18**). La cristallisation du solvant est la force motrice de la structuration de la matrice [99].

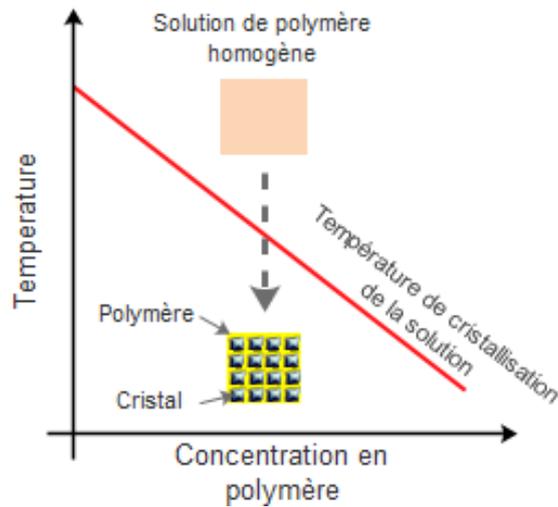


Figure 18 : Diagramme de phase montrant une séparation phase solide-liquide.

D'autre part, il est également possible d'induire une séparation de phase liquide-liquide (L-L) en réduisant l'affinité entre le polymère et le solvant par l'ajout d'eau dans la solution de PLA / 1,4-dioxane [100], [102]. L'eau jouant le rôle de mauvais solvant du PLA ($HSP = 47,8 \text{ Mpa}^1 / ^2$) abaisse les interactions entre le polymère et le bon solvant. Par conséquent, une démixtion liquide-liquide se produit à une température plus élevée que la température de cristallisation. Un schéma typique de la séparation de phase L-L pour une solution de polymère est représenté **Figure 19**. Ainsi, selon la voie thermodynamique (composition, température, temps), la séparation de phase peut présenter des comportements différents et par conséquent aboutir au final à des structures différentes en termes de morphologie et interconnectivité des pores, de masse volumique et de porosité. La structure se fige lors du passage de la température de gélification de la solution.

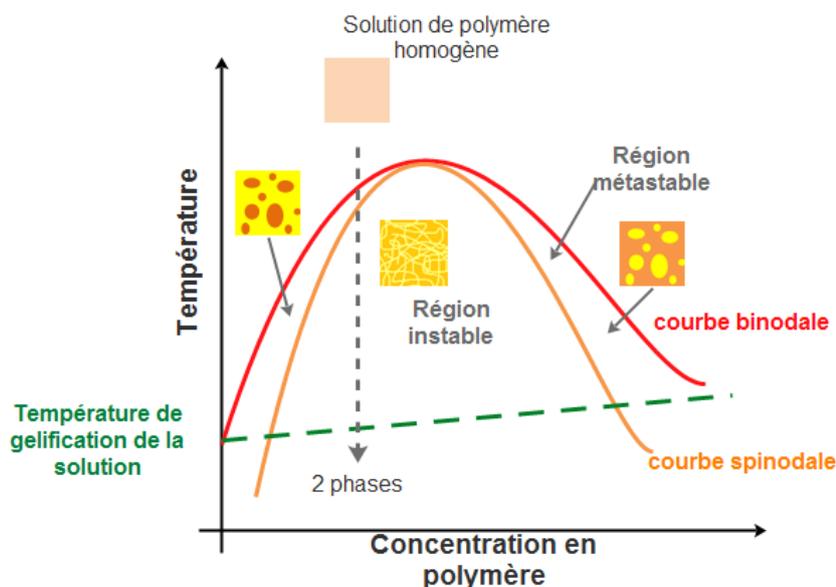


Figure 19 : Diagramme de phase montrant une séparation phase liquide-liquide

Après l'étape de séparation de phase, l'étape de séchage par CO₂ SC a été développée comme alternative écologique au procédé de lyophilisation. En ce sens, l'ensemble du procédé TIPS a ensuite été examiné pour réaliser l'analyse de cycle de vie (ACV) de la production d'une série. L'outil ACV a été mis en place pour comparer l'impact environnemental de notre production avec la méthode « traditionnelle ». De plus, ce procédé n'a encore jamais fait l'objet d'une telle étude malgré l'utilisation de la technique pour la fabrication de matrices polymères depuis une vingtaine d'années. Enfin, dans le but de démontrer le potentiel de changement d'échelle de ce procédé TIPS assisté en CO₂ SC, les échantillons ont été préparés par série de 50.

2. Matériels et méthodes

Cette partie reprend de façon générale les éléments de l'article présenté dans ce chapitre et apportera des informations complémentaires.

2.1. Appareillages

Deux appareillages ont été développés pour l'étude du procédé. Un des équipements est utilisé pour les essais préliminaires permettant la production de 1 à 9 matrices d'1 mL à la fois tandis que l'autre équipement a été mis en place pour l'étude du scale-up et la production de plus grandes quantités de matrices (jusqu'à 50 matrices).

Le premier équipement est présenté à la **Figure 20**. Une pompe seringue (ISCO 100 mL) assure la pressurisation en CO₂. Celle-ci est raccordée à une cellule haute pression de 40 mL équipée de fenêtres de visualisation en saphir (SEPALEX, France). La cellule est régulée en température par de l'eau circulant dans la double enveloppe qui est chauffée par un bain thermostaté. La dépressurisation du système est assurée par une vanne de régulation proportionnelle pneumatique asservi par un transmetteur de pression électronique (Bronkhorst, Pays-Bas) et commandée par ordinateur.

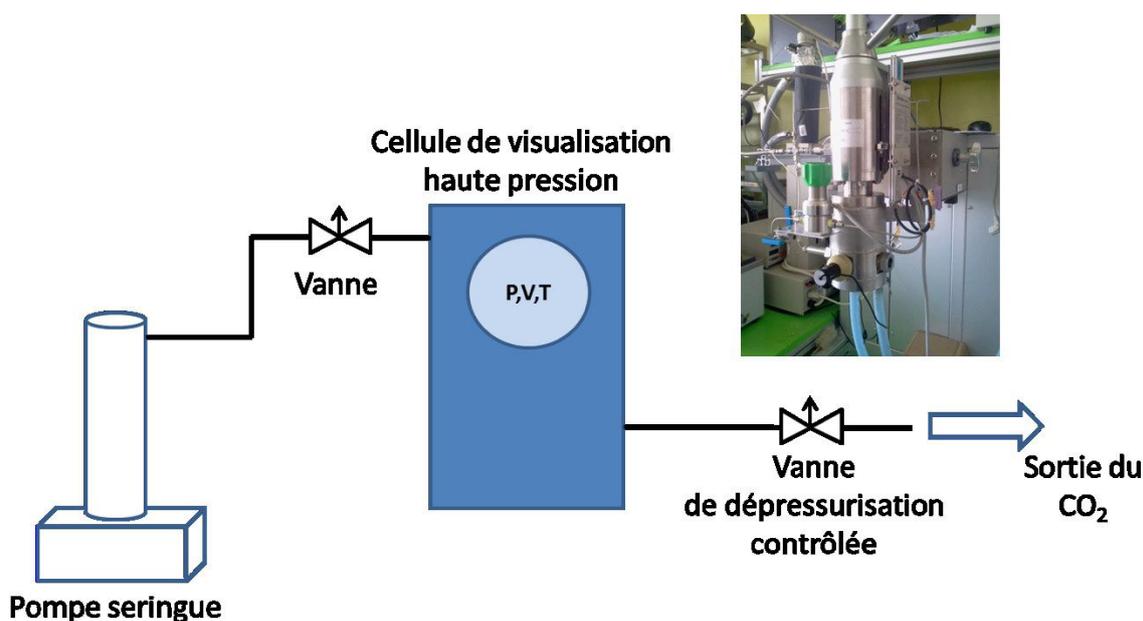


Figure 20 : Représentation schématique du dispositif de séchage par CO₂-SC « petit volume »

Le deuxième équipement (**Figure 21**) dédié au « scale-up » est composé d'un autoclave de 500 mL (SEPALEX, France) permettant de sécher jusqu'à 50 matrices d'1 mL simultanément. Le refroidissement du CO₂ est effectué par un groupe froid de 2000 W (VULCANIC, France), puis il est pressurisé par une pompe double-membranes qui permet un débit constant (MILTON-ROY, Royaume-Uni). En sortie, un déverseur (SWAGELOK, Etats-Unis) permet de réguler la pression de l'autoclave.

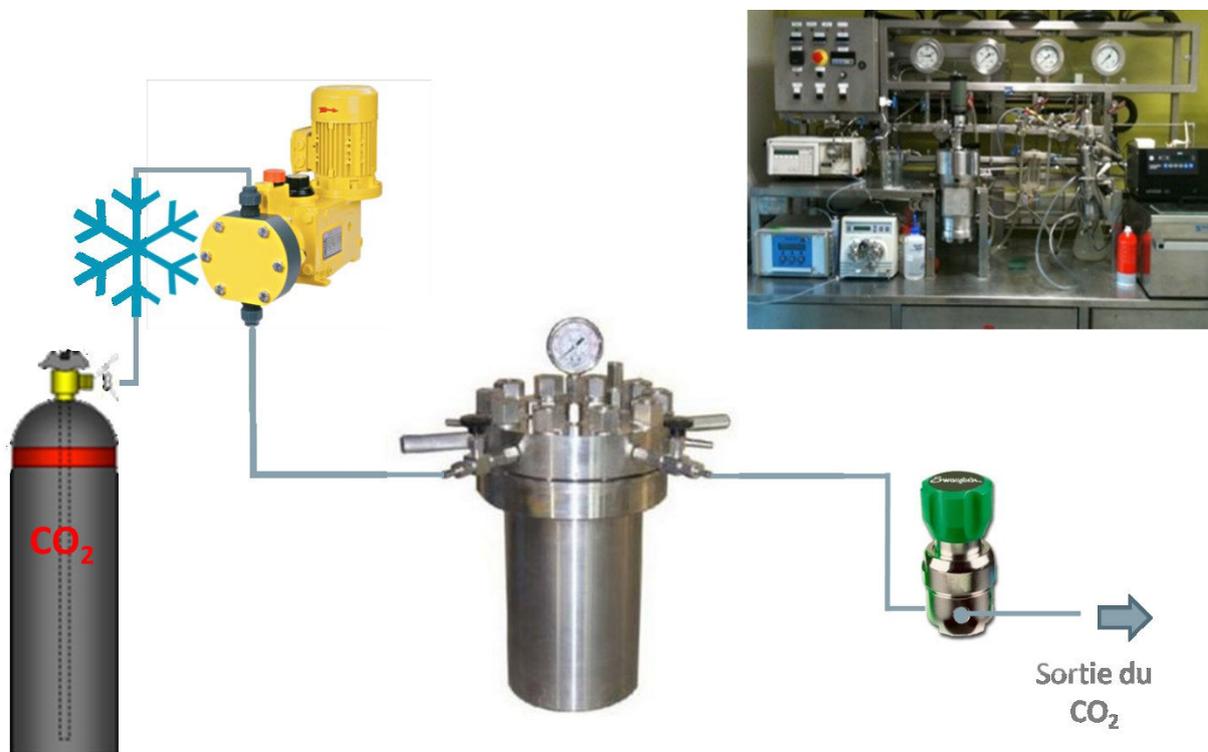


Figure 21 : Représentation schématique du dispositif de séchage par CO₂-SC « gros volume »

2.2. Matériaux

Afin d'étudier l'influence du PLA sur nos procédés, nous avons collaboré avec l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) de Montpellier pour la synthèse de plusieurs grades de PLA. Différentes masses moléculaires et taux de cristallinité ont été sélectionnés afin d'étudier leurs effets sur les propriétés structurales et mécaniques des matrices de PLA.

Tableau 7 : Propriétés des PLAs synthésés

	PLA	PLA94	PLLA		
Masse moléculaire Mw (g/mol)	50 000	50 000	50 000	100 000	150 000
Isomère L (%)	50	94	100 %		
Isomère D (%)	50	6	0%		
Cristallinité	amorphe	27 %	55 %	60 %	66 %
Transition vitreuse Tg (°C)	41	45	59	57	56
Température de fusion Tm (°C)	/	135	175	175	174
Température de cristallisation (°C)	/	nd	105	104	107

Seuls les PLAs, composé à 100% d'isomère-L (PLLA) ont été compatibles avec le séchage par CO₂ dans nos conditions en raison de leurs hautes cristallinités ($\chi_c > 55\%$). A la suite de

l'étape de séchage, les matrices de PLA et PLA 94 étaient « déformées ». Cela peut s'expliquer par la réduction de la Tg en présence de CO₂-SC et le « faible » taux de cristallinité du PLA 94 qui n'a pas été suffisant pour maintenir sa structure intacte. Ainsi, seuls les trois PLLA de masses moléculaires différentes ont été retenus.

2.3. Mise en forme des matrices de PLA

La **Figure 22** montre les différentes étapes de la mise en œuvre du procédé TIPS pour la fabrication de matrices poreuses de PLA. Tout d'abord, les différentes solutions binaires et ternaires ont été préparées par dissolution du PLLA dans le 1,4-dioxane. Pour la préparation de solution ternaire, l'eau a été ajoutée après la préparation d'une solution homogène PLLA/1,4-dioxane.

Les concentrations en PLLA étudiées sont comprises entre 5 et 10% en masse. En dessous d'une concentration de 5%, les matrices produites présentent une très faible résistance mécanique et au-dessus de 15%, la taille des pores est fortement réduite.

Ensuite, les solutions sont rapidement coulées dans des moules en aluminium et immédiatement refroidies. Pour éviter toute séparation de phase avant la phase de refroidissement, le temps nécessaire à cette étape a été réduit au maximum (\approx 1-2 min).

Trois conditions de refroidissement ont été appliquées : soit les échantillons ont été stockés à froid à -20 °C ou -80 °C, soit ils ont été trempés dans de l'azote liquide (-196 °C). Pour assurer la stabilisation complète de la température, les échantillons ont été laissés 12 heures dans les entrepôts froids et au moins 5 minutes dans l'azote liquide. Une fois les échantillons congelés, ils ont été immergés dans dix fois leur volume en éthanol (1 :10 v/v) pré-refroidi à -20 °C pour extraire le 1,4-dioxane pendant au moins 2 h, le tout placé dans une enceinte à 4°C. L'éthanol étant un bon solvant du 1,4-dioxane mais un mauvais solvant du PLLA, il dissout les cristaux de 1,4-dioxane sans modifier la structure du PLLA en dessous de sa température de transition vitreuse. Nous avons remarqué qu'il était important que l'éthanol soit à une température inférieure, à la température de fusion du 1,4 dioxane, pour que la dissolution des cristaux s'effectue sans affecter la structure du PLLA.

Enfin, la dernière étape de séchage est effectuée dans un des dispositifs de séchage, avec des conditions équivalentes : 150 bars, 35°C, et 1,5kg/h de CO₂ liquide pendant 3h. Par la suite, l'autoclave est lentement dépressurisé à 2,5 bars/min pour éviter la déformation des échantillons.

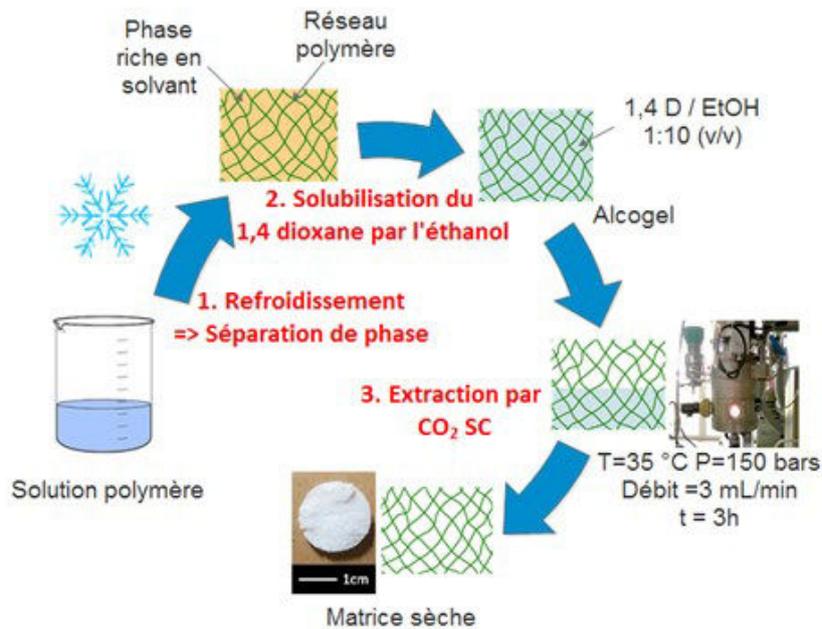


Figure 22 : Schéma du procédé TIPS couplé à l'extraction par CO₂ -SC

2.4. Mesure d'équilibres de phases par turbidimétrie

Une méthode d'évaluation par turbidimétrie a été utilisée pour évaluer la température de début de séparation de phase L-L et S-L. Cette méthode consiste à placer dans un bain thermostaté une ou plusieurs solutions de polymère et réduire progressivement la température de ce bain. La vitesse de refroidissement choisie était de 0,1 °C/ min afin de déterminer avec précision la température de séparation de phase [109]. Pour les mélanges binaires, la séparation S-L se caractérise par la cristallisation du mélange (**Figure 23b**) tandis que pour les mélanges ternaires, le point trouble caractérise le début de la séparation de phase L-L (**Figure 23c**).

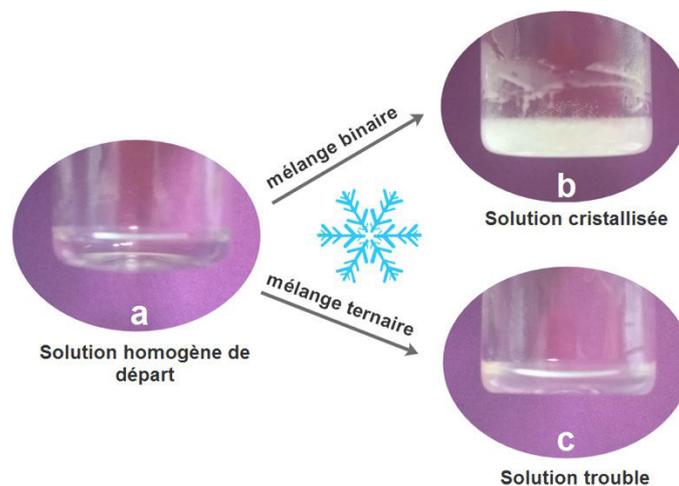


Figure 23 : Principe des mesures d'équilibre de phase par turbidimétrie de solutions binaires et ternaires de PLLA

2.5. Mesure de la masse volumique des matrices de PLA

La masse volumique est une caractéristique d'un matériau poreux. Une méthode simple par pycnométrie a été développée et mise en place pour caractériser les matrices de PLLA. Pour cela, une éprouvette de 25 mL a été utilisée à la place du pycnomètre pour permettre la mesure d'échantillons de plus gros volume. La masse volumique des échantillons complets a été mesurée. Une rondelle de métal est utilisée en contrepoids pour piéger la matrice au fond de l'éprouvette. La **Figure 24** montre les trois pesées nécessaires à la détermination de la masse volumique de l'échantillon et les **équations 1 et 2** comment en déduire la masse volumique et la porosité de la matrice.

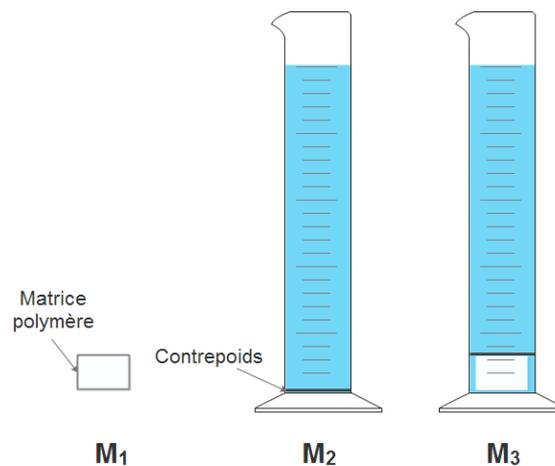


Figure 24 : Représentation schématique de la mesure de la masse volumique

La masse volumique de la matrice est déterminée, tel que :

$$\rho = \frac{m_1}{(m_2 - m_3) + m_1} * \rho_{H2O}$$

Équation 1 : Masse volumique de la matrice, m1=masse de la matrice polymère, m2=masse de l'éprouvette (+contrepoids) remplie, m3=masse de l'éprouvette remplie avec l'échantillon

En connaissant la masse volumique du polymère, il est également possible d'en déduire la valeur de la porosité, tel que :

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{\text{échantillon}}}{\rho_{\text{polymère}}}$$

Équation 2 : Détermination de la porosité à partir de la masse volumique

2.6. Caractérisation des propriétés mécaniques des matrices de PLA

Les matrices ont été soumises à des tests de compression réalisés sur une machine de traction/compression ADAMEL LHOMARGY DY 34B avec un capteur de 1 kN (Adamel Lhomargy, Roissy-en-Brie, France). Les données de forces et d'allongement ont été converties en contrainte déformation. Les courbes obtenues sont caractéristiques des mousses polymères

sollicitées en compression [126]. La **Figure 25** montre une courbe de contrainte-déformation en compression présentant la réponse typique de cette classe de matériaux, comprenant une région linéaire élastique, un plateau plastique et une zone correspondant à la densification de la matrice. La mesure de la contrainte, de la déformation et du module élastique nous ont permis de caractériser les différentes matrices afin de relier la formulation et la microstructure aux propriétés mécaniques.

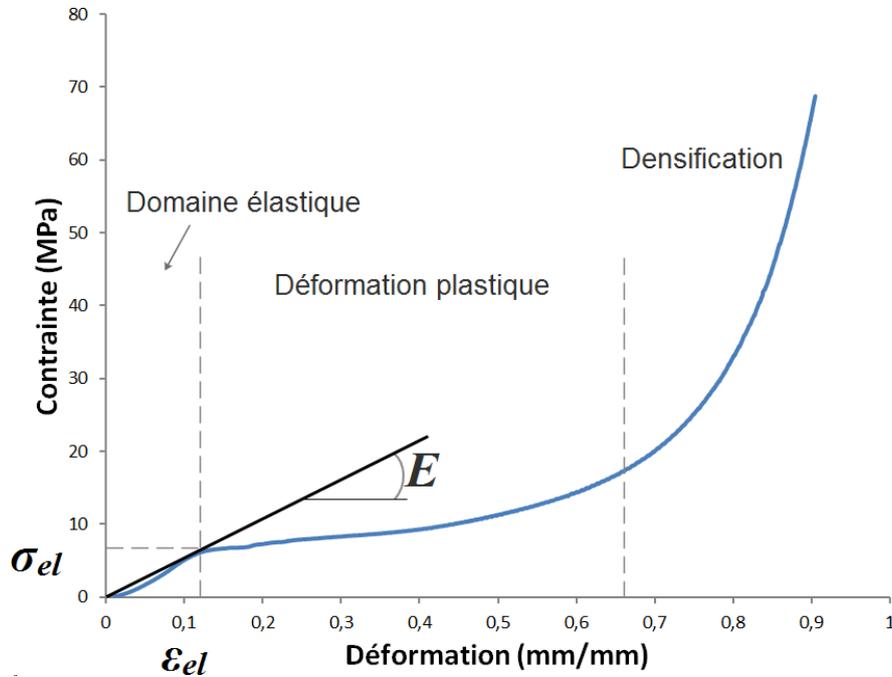


Figure 25 : Courbe théorique contrainte-déformation en compression d’une matrice polymère poreuse montrant les trois domaines et les propriétés élastiques.

2.7. Analyse de cycle de vie du procédé TIPS

Selon l’Agence De l’Environnement et de la Maîtrise de l’Energie (ADEME), l’analyse de cycle de vie se caractérise comme l’outil le plus abouti en matière d’évaluation globale et multicritère des impacts environnementaux. Cette méthode normalisée permet de mesurer les effets quantifiables de produits ou de services sur l’environnement.

D’une façon générale, on considère qu’une ACV se construit en 4 phases (**Figure 26**) et décrites ci-dessous. Cet outil est puissant mais il est nécessaire de porter un regard critique sur les hypothèses et modélisations. Sinon, les résultats peuvent perdre en objectivité et aboutir à des aberrations.

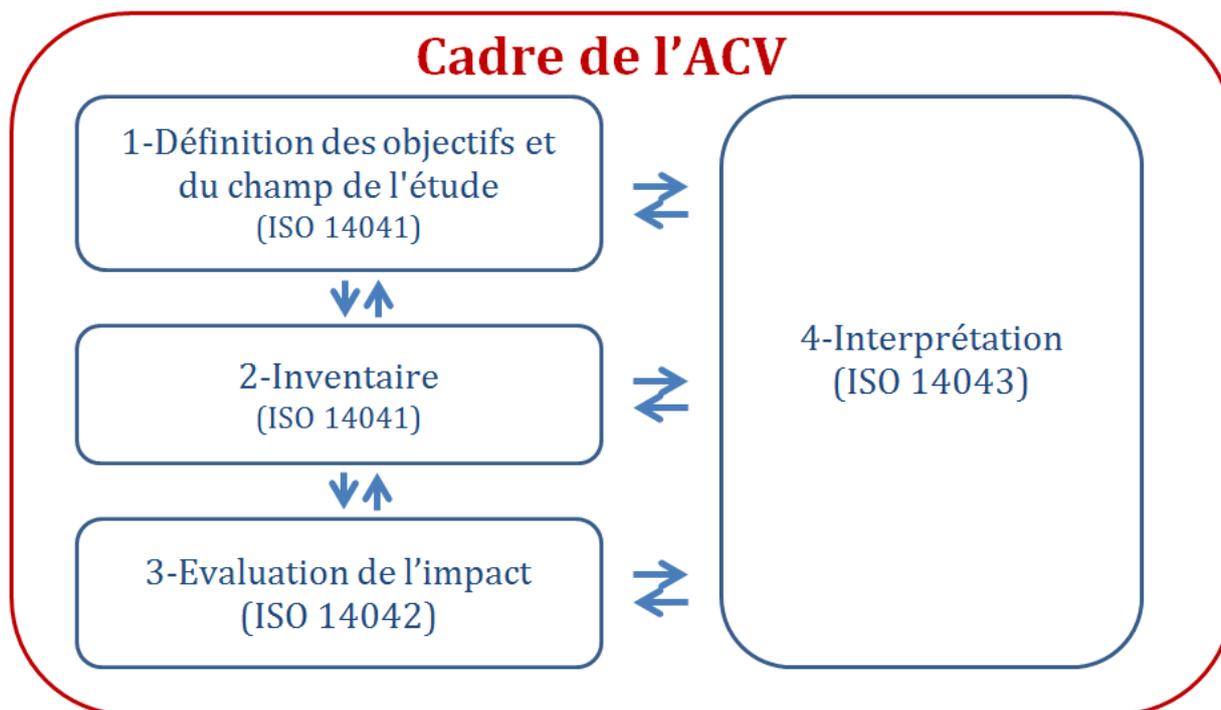


Figure 26 : Les 4 étapes de l'ACV selon les normes selon les normes ISO 14040 et 14044

1) La phase de définition des objectifs et du champ de l'étude

L'analyse du cycle de vie (ACV) a été choisie dans ce travail car elle permet une approche très complète pour l'évaluation de tous les impacts environnementaux au sein d'un processus ou d'un produit « du berceau à la tombe » (« cradle to grave » en anglais), c'est-à-dire de l'extraction des ressources à la gestion des déchets.

L'objet de cette étude était d'évaluer l'impact environnemental du procédé TIPS et de comparer l'impact du procédé de séchage par CO₂ SC et par lyophilisation. Nous avons donc réalisé une étude complète du procédé et simulé les différentes voies de production. De plus, afin de d'évaluer le potentiel de « scale-up », nous avons choisi l'unité fonctionnelle suivante :

la production de 50 matrices de PLLA par le procédé TIPS.

A noter qu'il a été considéré indépendamment de la technologie de séchage utilisée que les 50 matrices obtenues auraient des caractéristiques identiques, c'est pourquoi nous n'avons pas simulé la phase d'utilisation.

2) La phase d'inventaire

Cette étape consiste à dresser l'inventaire des flux de matières et d'énergies entrants et sortants, associés aux étapes du cycle de vie rapporté à l'unité fonctionnelle retenue. **L'inventaire constitue ainsi un bilan matière et énergétique réalisé sur la production de 50 matrices de PLLA.** Cette phase est la plus critique, et afin de ne pas générer d'erreurs sur les consommations énergétiques de nos équipements, celles-ci ont été mesurées ou estimées à partir des données des équipementiers. Tous les flux entrants et

sortants de matières et énergétiques pour la production de 50 matrices ont été répertoriés et sont représentés en **Figure 27**.

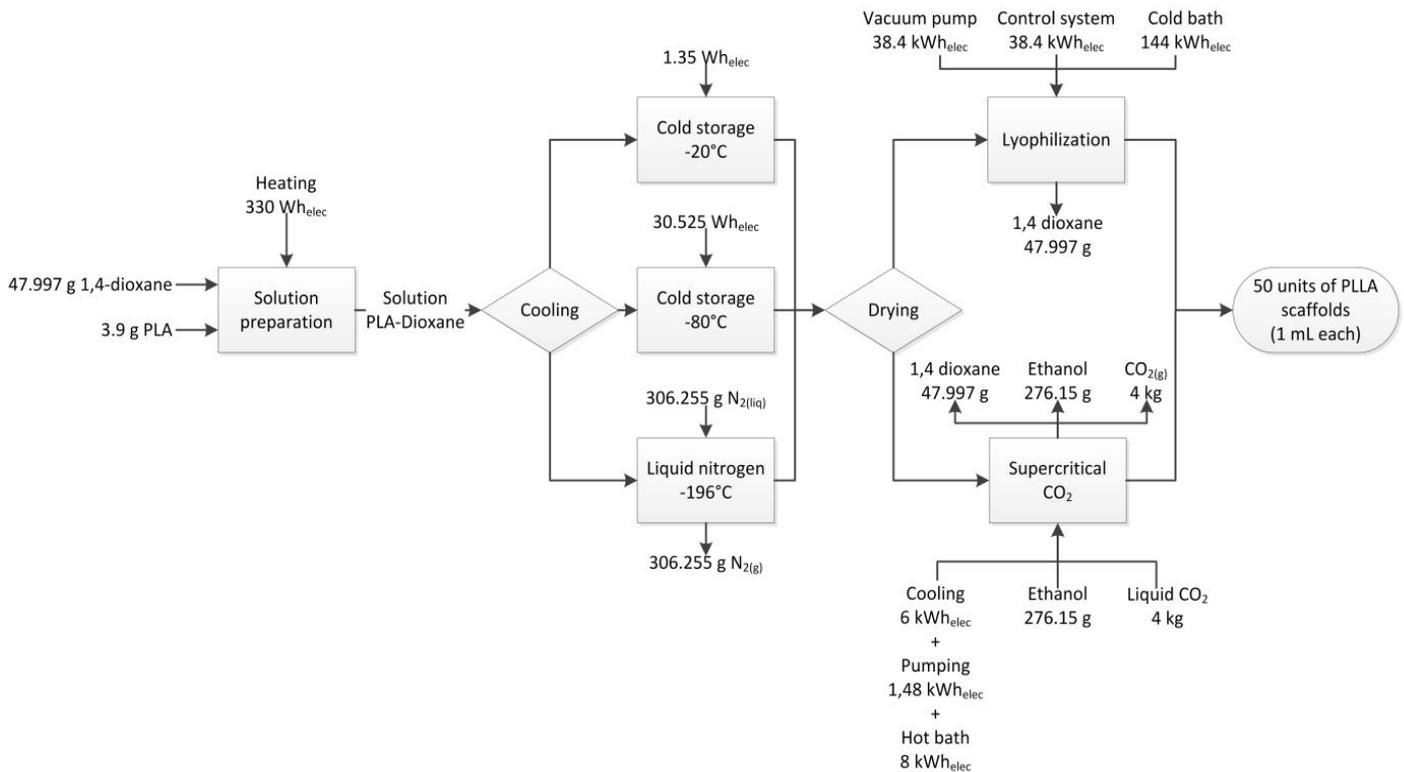


Figure 27 : Bilans matières et énergétiques du procédé TIPS selon trois scénarios de refroidissement pour l'étape de séparation de phase et les deux technologies de séchage envisageables

3) La phase d'évaluation de l'impact

Une fois les données récoltées grâce à l'inventaire, elles sont converties en impacts environnementaux. Le logiciel Simapro® et la base de données Ecoinvent ont été utilisés pour la simulation du modèle. La méthode de calcul de l'impact choisie était la « ReCiPe 2008 midpoint (H) impact categories ». Les 18 indicateurs d'impacts de la méthode ont été conservés pour avoir une vision la plus globale possible sur l'impact environnemental global de la fabrication. Les 18 indicateurs sont présentés dans le **Tableau 8**.

Tableau 8 : 18 impacts de la méthode « ReCiPe» [127]

Impact category Name	abbr.	Indicator name	unit*
climate change	CC	infra-red radiative forcing	W×yr/m ²
ozone depletion	OD	stratospheric ozone concentration	ppt ^f ×yr
terrestrial acidification	TA	base saturation	yr×m ²
freshwater eutrophication	FE	phosphorus concentration	yr×kg/m ³
marine eutrophication	ME	nitrogen concentration	yr×kg/m ³
human toxicity	HT	hazard-weighted dose	–
photochemical oxidant formation	POF	Photochemical ozone concentration	kg
particulate matter formation	PMF	PM ₁₀ intake	kg
terrestrial ecotoxicity	TET	hazard-weighted concentration	m ² ×yr
freshwater ecotoxicity	FET	hazard-weighted concentration	m ² ×yr
marine ecotoxicity	MET	hazard-weighted concentration	m ² ×yr
ionising radiation	IR	absorbed dose	man×Sv
agricultural land occupation	ALO	occupation	m ² ×yr
urban land occupation	ULO	occupation	m ² ×yr
natural land transformation	NLT	transformation	m ²
water depletion	WD	amount of water	m ³
mineral resource depletion	MRD	grade decrease	kg ⁻¹
fossil resource depletion	FD	upper heating value	MJ

4) La phase d'interprétation

L'interprétation des résultats de l'ACV est l'essentielle de la démarche d'écoconception. Elle permet de déterminer quelles sont les phases du procédé les plus polluantes et donc de trouver des solutions efficaces pour réduire l'impact environnemental. Les principales interprétations sont décrites dans l'article ci-dessous.

3. Résultats

Les résultats de ce travail ont fait l'objet de la rédaction d'un article (ci-dessous) soumis au journal *Sustainable Chemistry and Engineering*, et actuellement en cours d'évaluation.



Fabrication of PLA scaffolds with tunable structural and mechanical properties: Development of environmentally improved routes for TIPS process

Swann. Gay[†], Guillaume. Lefebvre[†], Marie. Bonnin^{†,‡}, Benjamin. Nottelet, Frank. Boury[†], Alain. Gibaud[#] and Brice. Calvignac[†]*

[†], Micro et Nanomedécines Biomimétiques-MINT, INSERM U1066, CNRS 6021, Université d'Angers, 4 rue Larrey, Cedex 9, Angers, 49933, France

[‡]ISTIA, LARIS EA 7315, Université d'Angers, 62 Avenue Notre Dame du Lac, 49000 Angers, France

* Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) UMR 5247 CNRS-Université Montpellier-ENSCM, Faculté de Pharmacie, 15, avenue Charles Flahault BP14491 34093 Montpellier cedex 5, France

[#]Institut des Molécules et Matériaux du Mans, UMR-CNRS 6283, Université du Maine, 72085 Le Mans, France

KEYWORDS

Scaffold, polylactic acid (PLA), TIPS, environmental, Supercritical CO₂, Life cycle assesement (LCA).

ABSTRACT

Many routes are nowadays utilized for the production of PLA scaffolds. In this study a relative large scale of scaffolds was produced combining thermal induced phase separation and supercritical CO₂ as a green alternative drying. The phase separation between polylactic acid and 1,4-dioxane was monitored by adjusting the process parameters such as the polymer concentration, the molecular weight, the solvent power and the cooling conditions. The morphologic changes occurring during the phase separation were analyzed by scanning electron microscopy. Structural and mechanical properties of scaffolds were correlated and it was possible to tune them depending on the process parameters. Moreover, an environmental analysis of the thermal induced phase separation (TIPS) process and the comparison between supercritical CO₂ and the traditional freeze drying technologies were investigated. This paper is the first known attempt to conduct the life cycle assessment (LCA) methodology on TIPS process and the polylactic acid scaffolds production. The results of the LCA have demonstrated that using supercritical-CO₂ drying technology allows to reduce by at least 50 % the environmental impact of the whole process and to drastically diminish the production time.

INTRODUCTION

The porous structure of polymers foams provides them lightweight combined to good mechanical properties, but also filtering or insulation capacities. For these reasons, they became indispensable in many areas such as transport, building, sport equipment, packaging, and filtration, among others. Furthermore, the recent arrival of biosourced polymers like starch polymers, polyhydroxyalkanoates (PHAs) or polylactic acids (PLAs) allowed designing new materials. These bio-based materials are not only indispensable to deal with the reduction of fossil fuels but they also have attractive combination of properties to expand their applications. For example, PLAs could have similar mechanical properties than their petroleum based equivalent but they are more attractive because of their biocompatibility¹ and biodegradability *in vivo*² or *in compost*.³ Therefore, PLAs are excellent candidates for the production of polymer scaffolds.⁴⁻⁹

Thermal induced phase separation (TIPS) process has been widely used to manufacture polymer membranes¹⁰⁻¹² and 3D scaffolds for tissue engineering^{7,13,14} or as a drug carrier for controlled release.¹⁵ This technique is easy to implement at lab scale and shows a good control of the future scaffold structure such as porosity or pore diameter. Meanwhile, many other techniques have been developed for the production of this kind of materials, such as porogen leaching,^{16,17} supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) phase inversion,¹⁸ emulsion freeze drying,^{19,20} 3D printing,²¹ gas foaming,²²⁻²⁴ and any possible combination of two of these techniques^{25,26}. Nevertheless, among all these techniques, the ease of implementation due to the absence of required specific equipment makes TIPS one of the most effective processes to produce scaffolds with tuning properties (structural,²⁷ mechanical,⁷ biodegradability²⁸). Simple modifications of operating parameters can yield many porous structures with desired shapes.²⁹

TIPS process is based on the principle that a homogeneous solution of a polymer dissolved in a good solvent can undergo a phase separation by cooling and can consequently cause the solution saturation which leads to polymer precipitation, followed by polymer structuration as microcellular foam. The adjustment of the thermodynamic parameters allows promoting one specific way of

phase separation. As a function of polymer-solvent affinity, the TIPS process can follow two typical mechanisms (**Figure 1**). In case of polymer-solvent having a good compatibility such as PLA and 1,4-dioxane (Hansen Solubility Parameters (HSP) respectively 21.9 MPa^{1/2} and 20.5 MPa^{1/2}),³⁰ combined to quite high freezing temperature of the solvent, Solid-Liquid (S-L) phase separation may occur (**Figure 1.a**). The crystallization of the solvent part governs the structuration of scaffolds.³¹ On the contrary a Liquid-Liquid (L-L) phase separation occurs under cooling when the affinity between the polymer and the solvent is too weak. Moreover, Shugens et al³² and Nam et Park³³ showed that the addition of water in PLA/ 1,4-dioxane system can change the phase separation mechanism under cooling. The addition of water as a poor solvent of PLA (HSP=47.8 Mpa^{1/2}) lowers interactions between the polymer and the good solvent. Therefore, a liquid-liquid demixing occurs at higher temperature than the freezing one. Typical diagram of L-L phase separation for polymer solution such as Upper Consolute Temperature (UCST) is introduced in Figure 1.b. According to the thermodynamic pathway (composition, temperature, time), the phase separation can show different behaviors.^{33,34} Thus, three scenarios can occur: the first one is a demixing which occurs below the binodal curve into the metastable region. The two phases separate following nucleation and growth mechanisms. This kind of separation provides a polymeric matrix with spherical or pseudo-spherical pores poorly interconnected. The second one, called spinodal decomposition, takes place when the spinodal curve is crossed with the formation of a 3D polymer network. The third scenario, encountered in most cases, is a combination of the two previous mechanisms by crossing both curves. After the phase separation, when the temperature is smaller than the glass transition temperature of the solution, this one is frozen in a solid state composed of two solid phases, one rich in polymer and one rich in solvent.

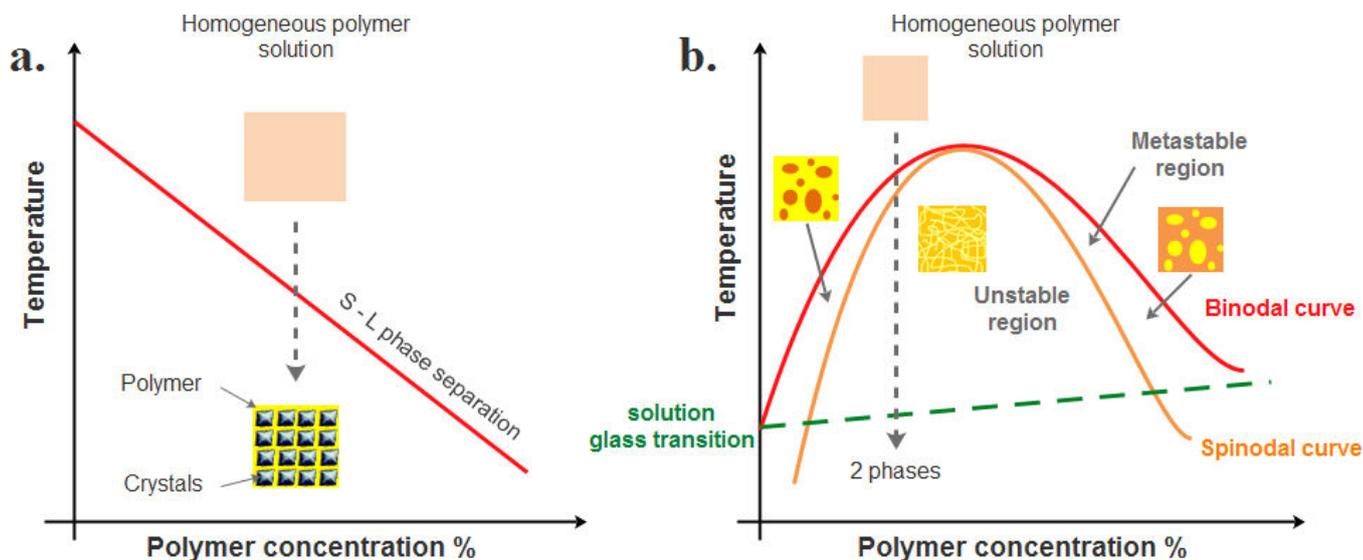


Figure 1. Thermally induced phase separation in polymer solutions: a) Solid-Liquid phase separation, b) Liquid-Liquid phase separation

Regardless of phase separation mechanisms, the next step is to remove the solvent part to obtain the polymer scaffold. Traditionally this last step is carried out by freeze drying. This step can last between 3 days^{20,33,34} and 1 week^{35,36} and is particularly high energy-consuming. To reduce the environmental cost of the whole process, SC-CO₂ drying technology seems to be an excellent alternative but rather scarcely studied until now³⁷. Indeed, its good extraction properties reduce the processing time and the energy consumption. Furthermore *Reverchon et al*³⁸ showed that SC-CO₂ dioxane extraction in PLA matrix after 4h could reduce the residual solvent below 263 ppm, which is respectful of concentration limits of dioxane (380 ppm) authorized by the Pharmacopeial convention. One major challenge of this study is also to guarantee the production of eco-friendly and safe materials and respectful of limits for residual solvents. Indeed, minimizing the energy consumption and environmental impacts is an important issue for industrial processes. Most of environmental impacts are fixed during the conception phase,³⁹ thus, to be efficient, the implementation of an eco-friendly methodology has to be integrated as soon as possible during the process development.

Life cycle assessment (LCA) was chosen in this work to compare objectively the two drying technologies during the whole process. LCA has already been used to compare the environmental

costs of the production and use of PLAs with petrochemicals equivalent.^{40–42} LCA literature is particularly well described for packaging.^{43–45} and building materials.^{46–48} These two sectors are large consumers of polymer foams; nevertheless, no study concerning the production of PLAs foams has been done.

The present paper aims at showing the potential of a more sustainable TIPS process assisted by the supercritical CO₂ drying technology for the production of PLA scaffolds with tunable structural and mechanical properties. To go further in the process parametric study of this work, an environmental analysis of the process and its alternative cooling and drying technologies has been performed.

MATERIALS AND METHODS

Materials

PolyLactic Acid (PLA) was synthesized by the method described by *Sardo et al*⁴⁹ and characterized with the methods described below. This PLA is called PLLA because it contains more than 99% of L-isomer making it particularly crystalline. In preliminary experiment, this kind of PLA has shown a better ability to keep integrity of our scaffolds structures. Three molecular weights of this polymer were used, *i.e.* 50 kDa, 100 kDa and 150 kDa with a respectively crystalline ratio of 0.55; 0.60 and 0.66 quantified by DSC. In this paper these three formulations will call PLLA 50, PLLA 100 and PLLA 150. 1,4-dioxane (ACS reagent >99%) was bought from Sigma–Aldrich and its melt temperature is 12°C. CO₂ (99.99995 wt%, Linde) was used as the drying agent. To date, no green alternative solvent has shown the same properties, *i.e.* a high freezing temperature and a high affinity with PLLA.

Methods

Polymer characterization

Thermal properties and crystallinity of PLLA were evaluated by DSC. Measurements were carried out under nitrogen on a Perkin Elmer Instrument DSC 6000 Thermal Analyzer. Samples were submitted to the following treatment: 1) Heat from 20°C to 200°C at 5°C/min (*Tm1*/ \square *Hm1*;

$Tc1/\Delta Hc1$; $Tg1$), 2) Hold for 10 min at 200°C, 3) Cool from 200°C to -10°C at 5°C/min ($Tc2/\Delta Hc2$), 4) Hold for 10 min at -10°C, 5) Heat from -10°C to 200°C at 5°C/min ($Tm2/\Delta Hm2$; $Tg2$).

Moreover, the number average molecular weight (M_n) and the dispersity (\mathcal{D}) of the polymers were determined by size exclusion chromatography (SEC) using a Viscotek GPCMax autosampler system fitted two Viscotek LT5000L mixed medium columns (300 × 7.8 mm), a Viscotek VE 3580 RI detector. The mobile phase was THF at 1 mL/min flow and 30 °C. Typically, the polymer (20 mg) was dissolved in THF (2 mL), and the resulting solution was filtered through a 0.45- μ m Millipore filter before injection of 20 μ L of filtered solution. M_n was expressed according to calibration using polystyrene standards. ^1H NMR spectra were recorded at room temperature using an AMX300 Bruker spectrometer operating at 300 MHz. Deuterated chloroform was used as solvent, chemical shifts were expressed in ppm with respect to tetramethylsilane (TMS).

Scaffolds formulation

The method described below allows producing 50 scaffolds in one batch. to demonstrate the scale-up potentiality of this process. **Figure 2** schematically details the different steps of the process. PLLA/1,4-dioxane solutions were prepared by dissolution of polymer in the solvent under 500 rpm stirring at 50 °C. The amount of PLLA was comprised between 5 wt% and 10 wt% to obtain high porous scaffolds. After complete dissolution of the polymer in the solution, the water was added if needed for L-L phase separation process. A volume of 1 mL of the obtained solution was poured in cylindrical aluminum molds. The time of this step was minimized to avoid any phase separation before the cooling operation. Three cooling conditions were applied by putting the samples in a cold storage at -20°C or -80°C, or by soaking in liquid nitrogen (-196°C). The choice of these cooling temperatures was done in order to impose the cooling rate and accordingly the crystallization conditions (see section Phase equilibria of PLLA/1,4-dioxane systems). To ensure the complete stabilization of the temperature, samples were left 12 hours in the cold storages and at least 5 min in liquid nitrogen. When samples were frozen, they were immersed in pre-cooled

ethanol at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ to extract the 1,4-dioxane during at least 2h in a cold storage (4°C). Finally, 50 samples were placed in a stainless autoclave with a capacity of 500 mL (Separex, Champigneulle, France) heated at $35.0\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ and pressurized with CO_2 at 150 ± 1 bar. Liquid CO_2 was continuously pumped at a rate of $1\pm 0.1\text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$ by a high-pressure membrane pump (Milton Roy Europe, Pont Saint Pierre, France) and was preheated by a heat exchanger (Separex, Champigneulle, France) before feeding the autoclave. The autoclave pressure was kept constant by means of a back-pressure regulator (Swagelok, Solon, USA) during 3 hours for solvent extraction, and then the autoclave was slowly depressurized at $2.5\text{ bar}/\text{min}$ to recover the dried samples obtained.

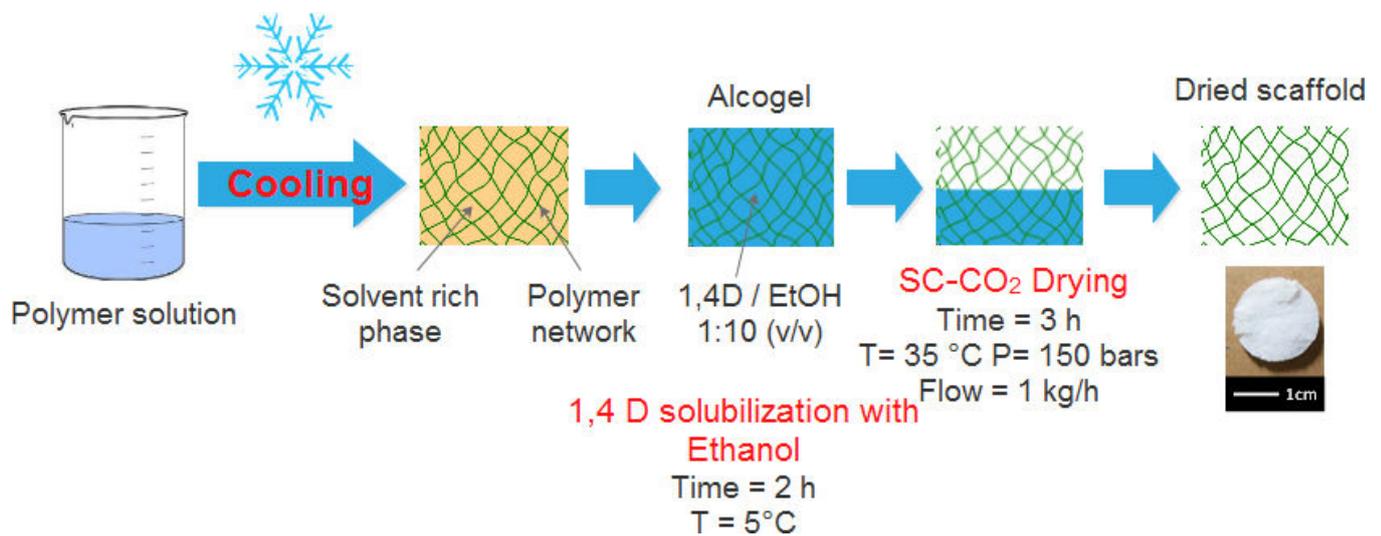


Figure 2. Scheme of the TIPS process coupled with SC-CO_2 drying

Phase diagram determination

Binary solutions were studied by crystallization temperature measurement whereas ternary solutions were studied by cloud point measurements. The crystallization and cloud point were determined visually by turbidimetric measurements, following *Hua et al* procedure.⁵⁰ The different mixtures were prepared under stirring at 60°C until the complete dissolution of PLLA in 1,4-dioxane, then if needed water was added under 600 rpm stirring during 15 minutes. Afterwards, all the mixtures held in closed vials were placed in a water bath at 60°C . The temperature was then slowly decreased in steps of 1°C every 10 min. For binary mixtures, the freezing temperature was

measured whereas for ternary mixture, the cloud point temperature was taken. The measurement precision is about 1°C.

Scanning electron microscopy

The morphology of scaffolds was observed by SEM on a JEOL 6301F (JEOL Paris, France). Samples were coated with a thin layer of platinum by sputtering with a high vacuum coater (Leica EM ECA600, Leica, France). Images were captured at a 3 kV acceleration voltage in the secondary electron mode and a working distance of 20 mm.

Density measurements

The density of scaffolds was assessed by water displacement method. The whole sample was firstly weighted dry, and secondly weighted inside a 25mL measuring cylinder refilled of water. The scaffold was trapped at the bottom of the measuring cylinder. In this method, it was assumed that the water did not penetrate within the sample because of the small size of external pores. This method also allows calculating a global porosity of our samples.

Mechanical tests

The compressive properties of the scaffolds including compressive strength and compressive modulus were measured with an ADAMEL LHOMARGY DY 34B tension/compression machine with 1kN sensor (Adamel Lhomargy, Roissy-en-Brie, France). Each circular specimen of 11 mm of diameter and 5 mm of thickness was compressed at a compress rate of 1mm/min. The compressive modulus, yield stress and strain rate were obtained by averaging three measurements per sample.

Life cycle analysis

Environmental assessment of processes can be performed thanks to many different methods: qualitative or quantitative approach, mono or multicriteria analysis, on the all life cycle or on specific steps, etc. It has been decided here to adopt the LCA method, which is a very comprehensive approach used for assessing all the environmental impacts of a process or product “from cradle to grave”, which means from the resources extraction to the waste management. Different tools and calculating methods exist to implement this method. The widely used SimaPro®

software v8.0.3 (<http://www.evea-conseil.com/en/logiciel/simapro-software-lca>) has been selected for the model simulation, together with the impact calculation method ReCiPe v1.10 (<http://www.lcia-recipe.net>) midpoint impact categories (H) (<http://www.ecoinvent.org/>) and the database Ecoinvent v3.01. The LCA methodology has been defined in the standard ISO 14040, following four steps (<http://www.iso.org>). The first step of an LCA is to define precisely the goal and scope of the study, which means to define the functional unit and the system boundaries, to highlight any assumption and limitation and to choose an allocation method and the impact categories retained. The objective here is to compare the environmental impacts of the different alternatives previously detailed for the production of PLA scaffolds. The management of PLA scaffolds once a waste was not considered here, thus the LCA was simplified as a “cradle to gate” approach. **Table 1** details the goal and scope of this study.

Table 1. Goal and scope of LCA

Functional unit	Production of 50 units of PLA scaffolds of 1mL each
System boundaries	From resource extraction to the scaffolds production: management of scaffolds as waste has not been considered
Assumption and limitation	No impacts have been considered for the building where the experiment have been performed or for the “big materials” (cold storage, etc.) as it has been assumed that their impacts are negligible regarding their lifetime
Allocation method	The “default system” allocation method proposed in Ecoinvent v3.0 database, based on economic or physical flows, has been retained
Impact categories	The 18 impact categories of the ReCiPe v1.10 method have been conserved

In a second step (Life Cycle Inventory analysis), all mass and energy flows within the system boundary are inventoried referring to the functional unit. Then, in a third step (Life Cycle Impact Assessment), the environmental impacts of these mass and energy flows are assessed. In the last step, all results are summed up and interpreted to derive potential improvements or to support decisions between different options

RESULT AND DISCUSSION

Phase equilibria of PLLA/1,4-dioxane systems

As the phase separation governs the final structure of the material, consequently knowledge and control of this step is the major challenge of TIPS process. In solution composed only of PLLA and 1,4-dioxane at low concentration in polymer, the phase separation is S-L type. Thus, shaping is caused by the 1,4-dioxane crystallization. **Figure 3.a** showed the crystallization temperature of solution of PLLA 50, PLLA 100 and PLLA 150 at different concentrations. Solutions were frozen between 2 °C and 4°C but no significant effect of concentration or molecular weight have been measured.

In ternary mixture, L-L phase separation is promoted due to the addition of water as a poor solvent of PLLA but miscible in 1,4-dioxane. The cloud point measurement is a simple way to evaluate the L-L phase separation temperature. **Figure 3.b** shows the effect of three different ratios of 1,4-dioxane / H₂O (6.7, 8.7 and 12.2) for one molecular weight of 100 kDa of the polymer and three different molecular weights (50, 100 and 150 kDa) for one 1,4-dioxane / H₂O ratio of 8.7. The graph shows that at fixed PLLA content, the cloud point temperature of the solution increases with the water content. Moreover, it highlights that the cloud point temperature increases with the polymer concentration. Also, a slight increase of the cloud point with the molecular weight has been measured. According to the literature, it was found that the polymer dissolution rate decreases with the molecular weight.⁵¹ DSC measurements were also done on ternary mixture (not shown). These analyzes showed an exothermic peak of crystallization below -10°C. This temperature is largely below the gel temperature measured by *Shugens et al*³² in similar experiments. Moreover, the morphologies of scaffolds obtained by L-L phase separation were not influenced by the crystallization of the solvent part (water and 1,4-dioxane). Whatever the mechanism of phase separation, S-L or L-L, obtained respectively with binary and ternary PLLA/1,4-dioxane mixtures, these results show that the temperature of phase separation should impact the final material.

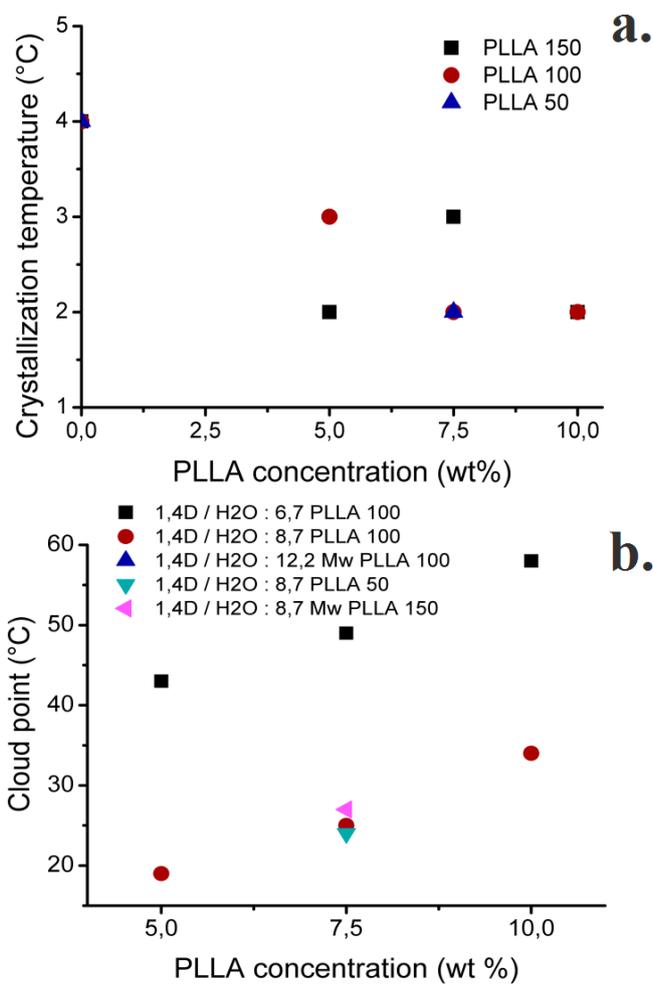


Figure 3. S-L phase equilibrium (a) and L-L phase equilibrium (b) of PLLA/1,4-dioxane systems.

Structural properties of PLLA scaffolds

Density is often a selective criterion in porous material because it is linked to its mechanical properties. As expected, the density of scaffold was increased with the concentration in polymer (**Figure 4**). Once the solvent was removed, only the polymer part remained. Moreover, for each mixture the density increases when the cooling temperature decreases. This result could be due to a faster cooling rate which involves a freezing point depression of the polymer solution. This tendency was more pronounced for PLLA scaffolds obtained from binary than from ternary mixtures. Besides, the difference between the density of liquid 1,4-dioxane 1.028 g/cm^3 ⁵² and the density of the crystal form 1.384 g/cm^3 ⁵³ could explain this result.

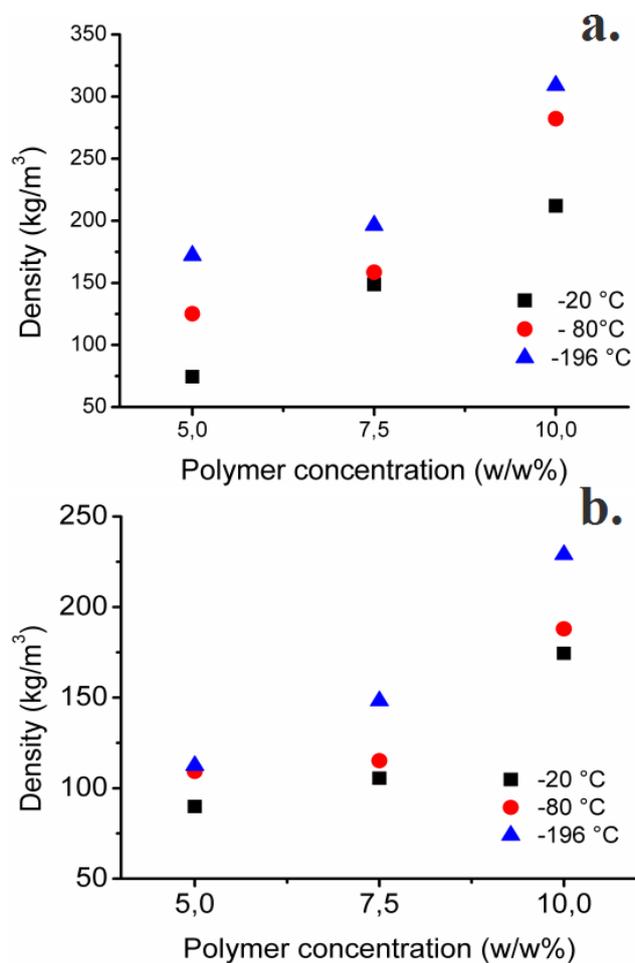


Figure 4. Evolution of scaffolds density with the PLLA concentration from (a) S-L phase separation (PLLA 100) and (b) L-L phase separation.

The internal pore structures were observed by SEM. **Figure 5** shows different scaffold morphologies obtained with binary solutions from 5 wt% to 10 wt% of PLLA at three different cooling temperatures. All scaffolds present anisotropic pores close to a parallelepiped shape. From these observations, shapes and organizations of scaffold pores are assumed to be due to the 1,4-dioxane crystallization and the influence of temperature gradient. Indeed, this gradient seems to induce the orientation of the structure in a preferential direction. The orientation was more pronounced at cooling temperature of -80 °C and -196 °C than at -20 °C because of the higher induced gradient between the walls and the heart of the sample. It is a well-known effect⁵⁴ used to orientate the structure of PLLA membranes produced by the TIPS process.

It is also clear in **Figure 5** that the cell density increases with a strong cooling. Indeed, at -20 °C, -80 °C and -196 °C, pore sizes are respectively between 40 to 80 μm, 10 to 20 μm and 1 to 5 μm.

When the cooling temperature is getting closer to the crystallization temperature of the solution, the growth of large crystals is favored. On the contrary, when the cooling temperature is far from the crystallization temperature of the solvent, the nucleation is favored.

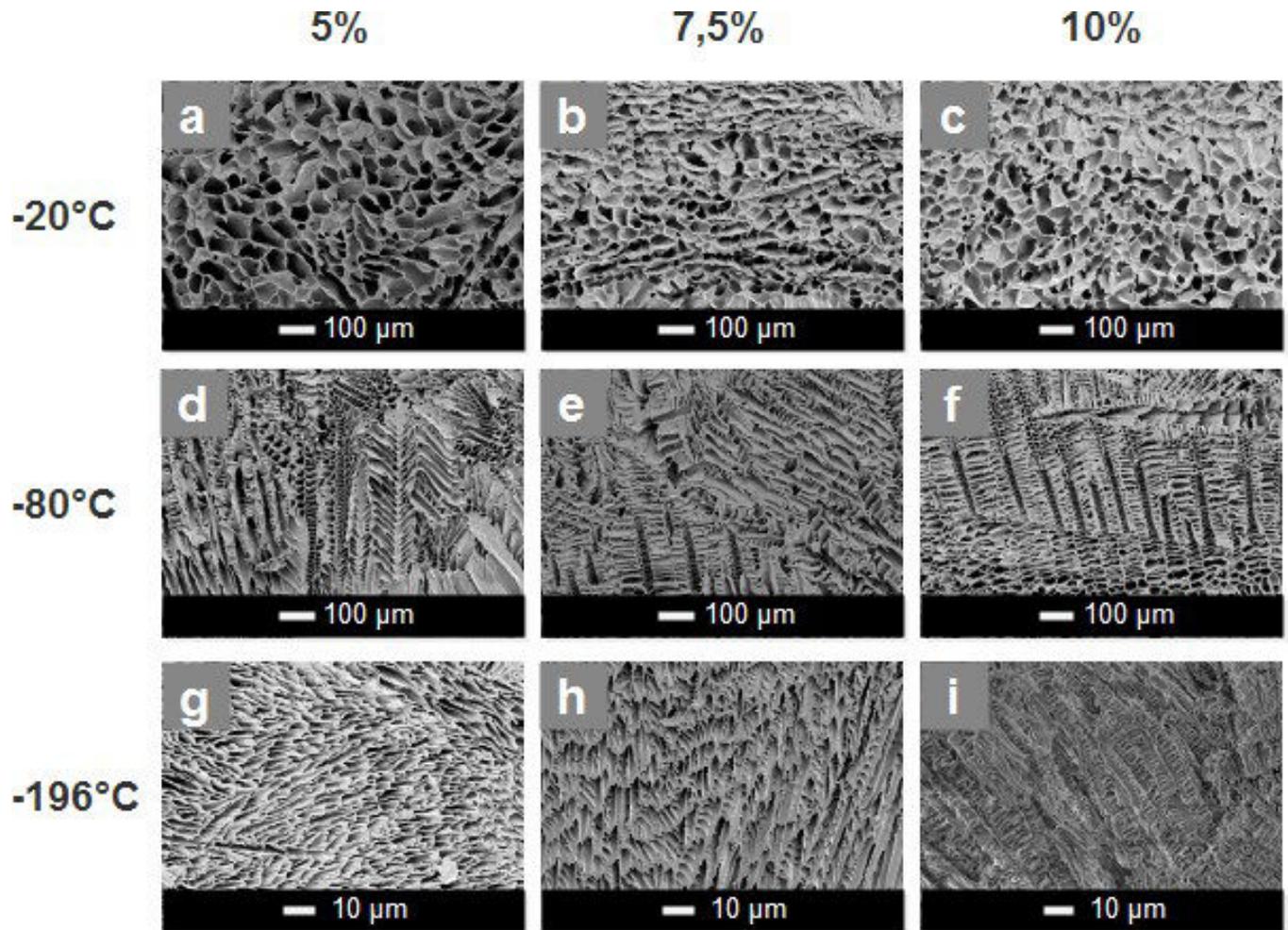


Figure 5. SEM images of scaffold structures obtained with binary solutions of PLLA 100 and 1,4-dioxane for various polymer concentrations and cooling temperatures.

These observations have been confirmed by the cell density calculation, which allows getting rid of the anisotropy. Values were obtained by counting the pores on a known area on MEB pictures: results are presented in **Figure 6** Scaffolds produced at -20 °C, presented a cells density between 200 n/mm² and 500 n/mm², 1000 and 3500 n/mm² at -80 °C whereas the scaffold cooled with liquid nitrogen showed a cells density between 5800 n/mm² and 56000 n/mm².

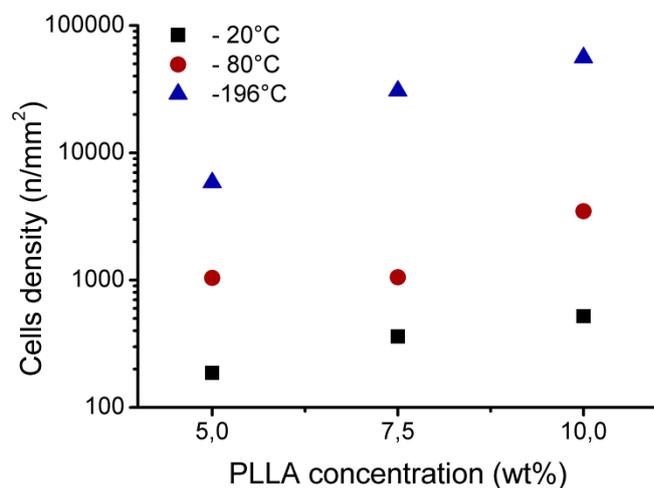


Figure 6. SEM images of scaffold structures obtained with binary solutions of PLLA 100 and 1,4-dioxane for various polymer concentrations and cooling temperatures.

Figure 6. also attests that cell density (calculated from SEM observations) increases with PLLA concentration. This is due to the fact that additional materials constrain more crystals and consequently increase the number of small crystals. No significant effects of PLLA molecular weight on the scaffold morphologies have been observed. This means that the increase of viscosity by a higher molecular weight did not affect the 1,4-dioxane crystallite formation. All these results confirm that the control of the crystallization, especially by the temperature, is the key parameter of the scaffold production by S-L phase separation.

In ternary solutions, the thermodynamic pathway and the kinetics impact the obtained structure of PLLA scaffolds. Indeed, the kinetics was directly governed by the cooling temperature. However, in this work, all scaffolds obtained by L-L phase separation led to relative isotropic structures. **Figure 7** shows the effects of the cooling conditions and PLLA concentrations (for 1,4-dioxane/water ratio about 8.7) on the scaffold structures obtained.

All structures obtained at -20°C (**Figure 7a, b, c** and **Figure 8**) were composed of nanofibers assembled together. *Liu et al* reported that nanofibers structure is related to the L-L phase separation and subsequent nucleation and crystallization growth in the polymer-rich phase.⁵⁵ Besides similar structure to **Figure 7.a** and **Figure 8** has been observed by *Zhang et al.*⁵⁶ in thermal phase separation of solution of PLLA/DMF. The obtained structures seem to form micro-

sheaves around few micrometers, attributed to a radially crystal growth of PLLA. At lower temperature of cooling (-80 °C and -196 °C) PLLA micro-fibers structures disappeared instead of denser networks. It seems that, when the cooling is too slow, a self-arrangement of PLLA molecular chains may occur in a more favorable thermodynamically state. This leads to poorly cohesive materials. Yet these microfiber structures could be interesting to increase the internal surface for the functionalization or to increase the roughness to promote the cell adhesion.¹⁴

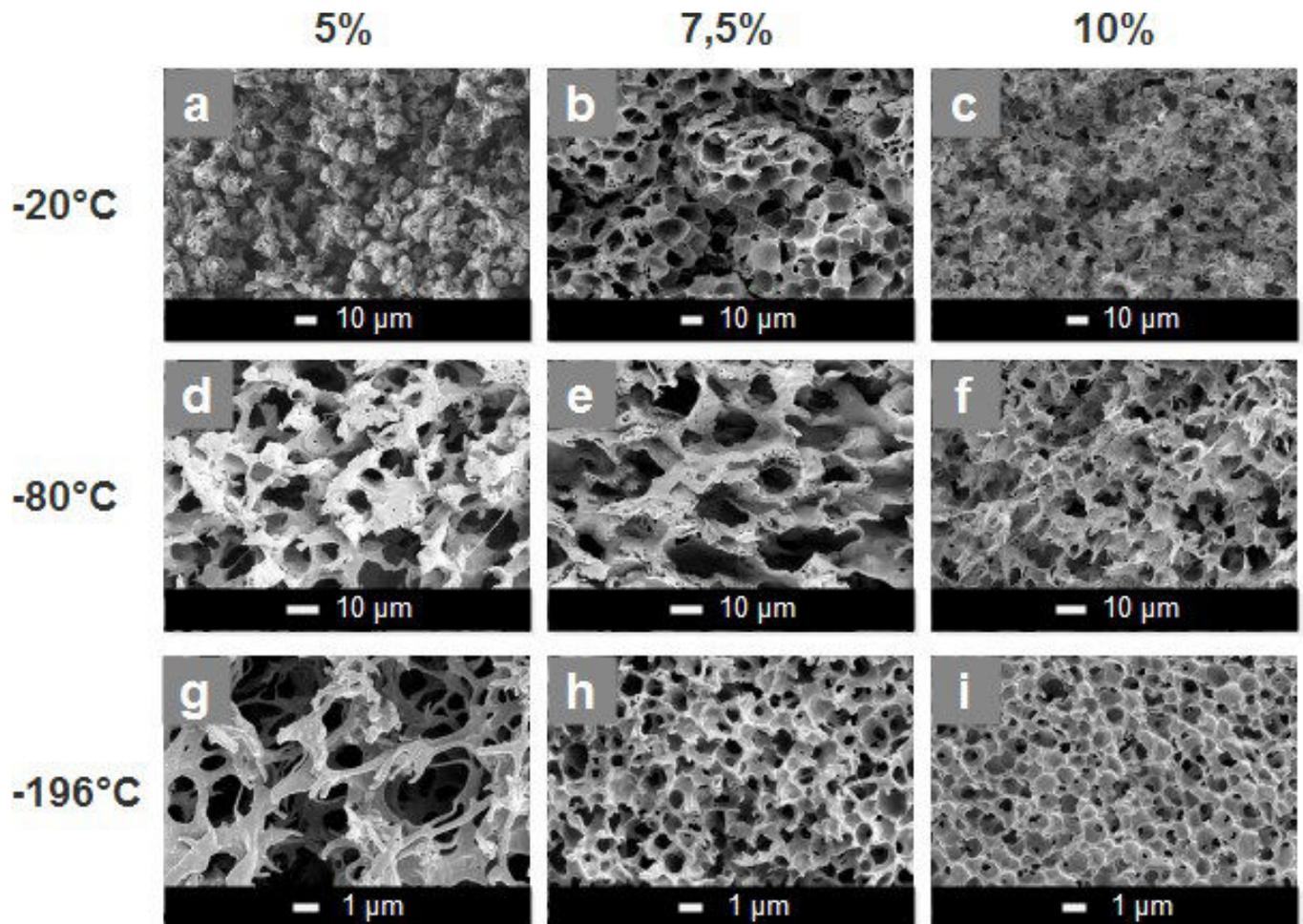


Figure 7. SEM images of scaffold structure obtained from a ternary solution of PLLA 100/1,4-dioxane/H₂O with various PLLA concentrations and cooling temperatures.

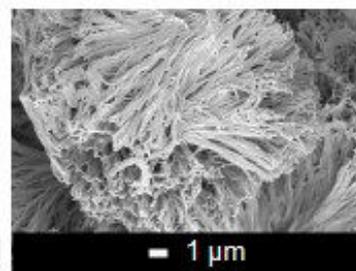
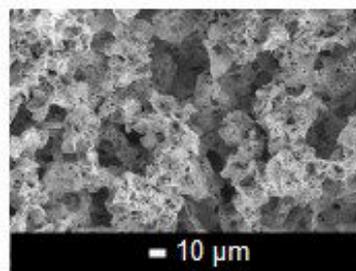
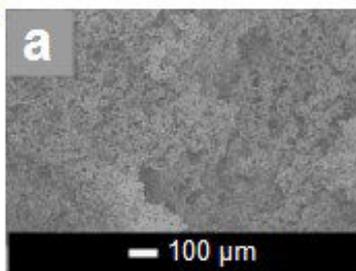
On the other hand, scaffolds obtained at lower temperature seem more cohesive. The interconnected network shown in **Figure 7.c, d, g** seems to reveal that the solution solidified in the unstable region. Meanwhile, spherical pores observed in **Figure 7.e** and **f** seem to result from a

metastable region. Finally, Figure. 7 shows that a lower PLLA concentration favors the formation of open structures.

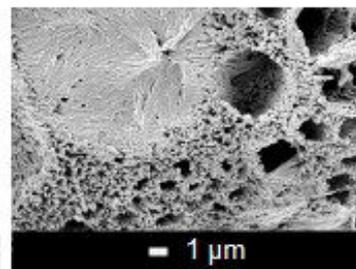
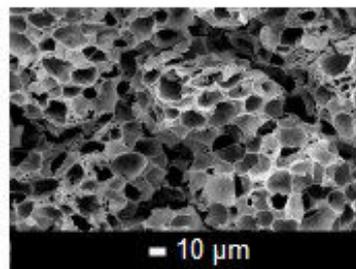
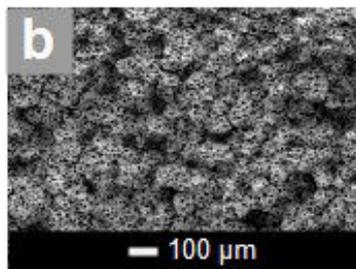
Another key parameter of L-L phase separation was the water content. **Figure 8** shows the effect of water content on scaffold structures obtained with fixed conditions PLLA content (7.5 wt%) and cooling conditions (-20°C). At low water content, scaffolds are composed of micro-sheaves structures (**Figure 8.a**), whereas when the water content increases, scaffolds are composed of spherical pores with size up to 100µm (**Figure 8.c**). This spherical structure is a characteristic of binodal phase separation which is due to an important reduction of interactions between the solvent and polymer. The increase of the water content seems to confine the PLLA chains and consequently prevents the preferential rearrangement. This could explain why the structure obtained with higher water content looks like tougher at the macroscopic scale.

1,4-dioxane /
H₂O ratio

12.2



8.7



6.7

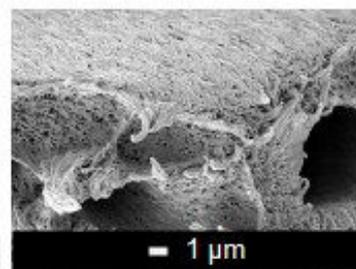
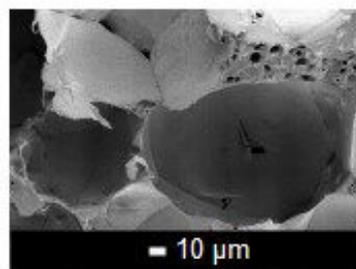
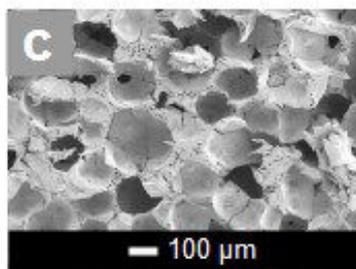


Figure 8. SEM images of scaffold structures obtained from ternary solutions PLLA 100/1,4-dioxane/H₂O with various weight ratios of 1,4-dioxane/H₂O.

Effects of temperature and water content have been already evaluated^{33,34}, but little is known about the effect of the PLLA molecular weight. **Figure 9** shows PLLA scaffolds with molecular weight from 50 to 150 kDa and at fixed composition of a ternary mixture PLLA/1,4-dioxane/H₂O. No significant differences have been observed for PLLA 50 and PLLA 100. On the contrary, higher molecular weight with PLLA 150 (**Figure 9.c**) shows a structure significantly different with a fibrous network surrounding the micropores. It could be assumed that the chain length of PLLA limits their arrangement and/or the higher viscosity limits the coalescence of the solvent part. It is difficult to explain clearly this phenomenon, but it is obvious that an increase in molecular weight modifies the structure of the obtained scaffold.

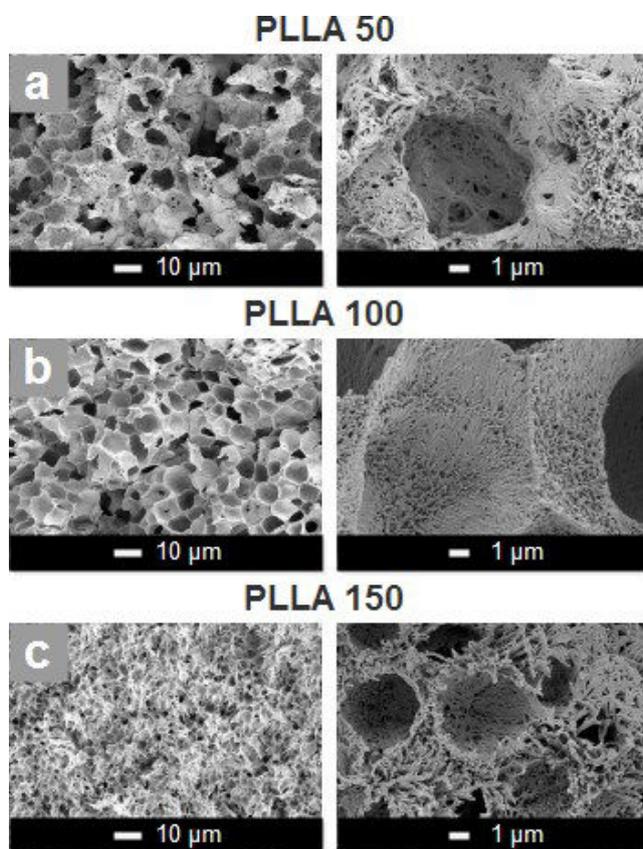


Figure 9. SEM images of scaffold structures obtained from ternary solutions PLLA/1,4-dioxane/H₂O with various PLLA molar weight.

Mechanical properties of PLLA scaffolds

In the present work, compressive modulus, yield stress and yield strain were characterized by simple compressive tests. 10 series of samples were tested in triplicate to highlight the effects of

process parameters, PLLAs molecular weight and the scaffold morphologies on the mechanical properties. Characteristics of scaffold formulations are reported in **Table 2** and the results are presented in **Figure. 10** The values were extracted from stress-strain curves. The specimens exhibit a well-described foam response under compression with the following three regions (*i*) linear elastic, (*ii*) a plastic plateau and (*iii*) densification.⁵⁷

Table 2. Summary of formulation conditions for the mechanical behavior characterization of PLLA scaffolds.

	Cooling temperature (°C)	Molecular weight (kDa)	Polymer concentration (wt%)	Weight ratio 1,4-dioxane / H ₂ O
A	-20	100	7.5	/
B	-80	100	7.5	/
C	-196	100	7.5	/
D	-20	100	5	/
E	-20	100	10	/
F	-20	50	7.5	/
G	-20	150	7.5	/
H	-20	100	7.5	12.2
I	-20	100	7.5	8.7
J	-20	100	7.5	6.7

The compressive modulus and the yield stress of PLLA scaffolds increase with the polymer content (samples D and E of **Figure. 10**), whereas the strain rate decreases. It means that the increase of PLA content and consequently of density too, leads to a more rigid material. For a fixed PLLA content, the compressive modulus decreases and the yield strain increases with the cooling temperature (samples B and C). These results are contradictory with the increase of density previously measured. Indeed, it can be only attributed to the morphology and probably to the decrease of pore size. Besides, a significant stiffening of scaffolds was found with the increasing of molecular weight (samples F and G) although no difference in morphology has been noticed. Furthermore, the crystallinity on sample F, A and G was evaluated by DSC, the crystallinity rate

was respectively of 58 %, 51% and 48%. This difference could be explained by a greater difficulty of the long polymer chains to reorganize themselves. High crystallinity rate of polymers leads to stiffer materials⁵⁸⁻⁶⁰, but in the range of molecular weight and crystallinity of the used PLLAs, the effect of the molecular weight seems to be predominant. Hence, it would be possible to modulate the mechanical properties by controlling the molecular weight. Consequently, it shows the possibility to obtain PLLA scaffolds from S-L phase separation with very similar structures but still with tuning mechanical properties.

Scaffolds from samples H, I and J have been obtained from L-L phase separation. Both solutions H and I with higher 1,4-dioxane/H₂O weight ratios present a poor strength. This weakness could be due to the poor cohesive structures observed in **Figure 9** However, the samples with the high water content, like the J series, show a higher mechanical strength. These results are in good agreement with SEM observations.

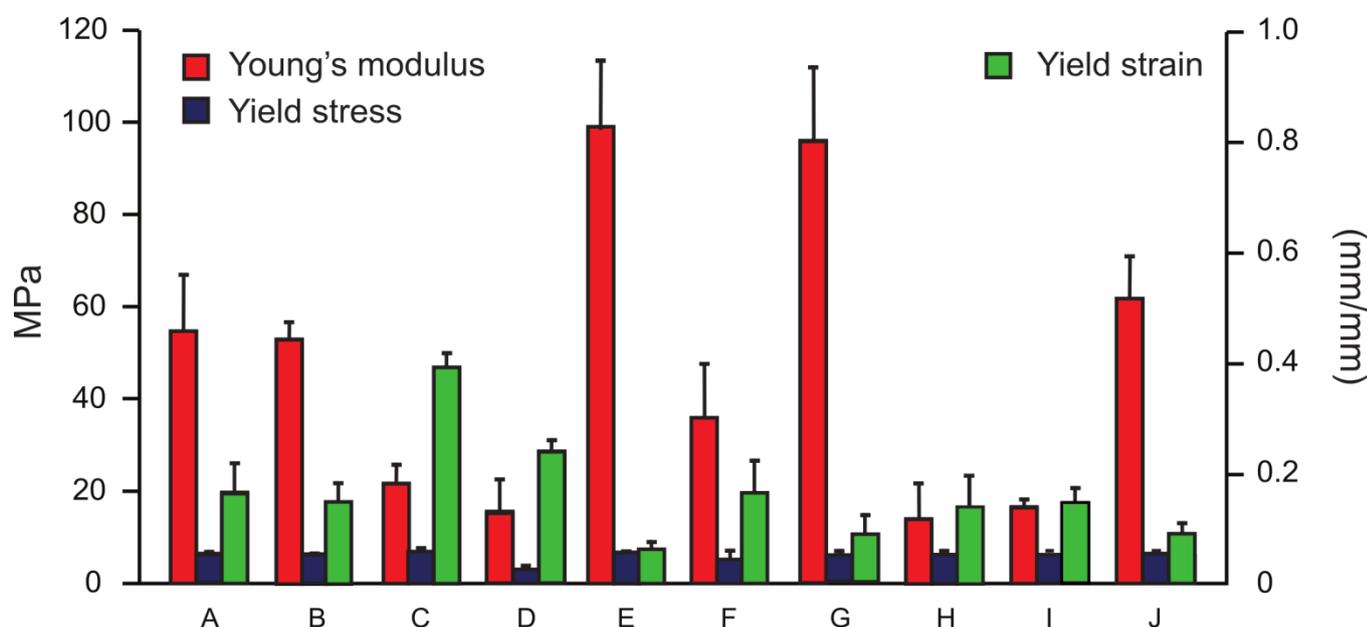


Figure 10. Effect of formulation parameters on the scaffold mechanical properties.

Life Cycle Assessment

The LCA conducted here aims at comparing the environmental impacts of the different alternatives previously detailed for the production of PLA scaffolds. Life cycle inventory involves the collection of all the raw material, energy and water flows that come inside the system

boundaries, as well as all the outputs (emissions to air, water and soil) for each of the alternatives.

All these data have been provided in **Figure 11**.

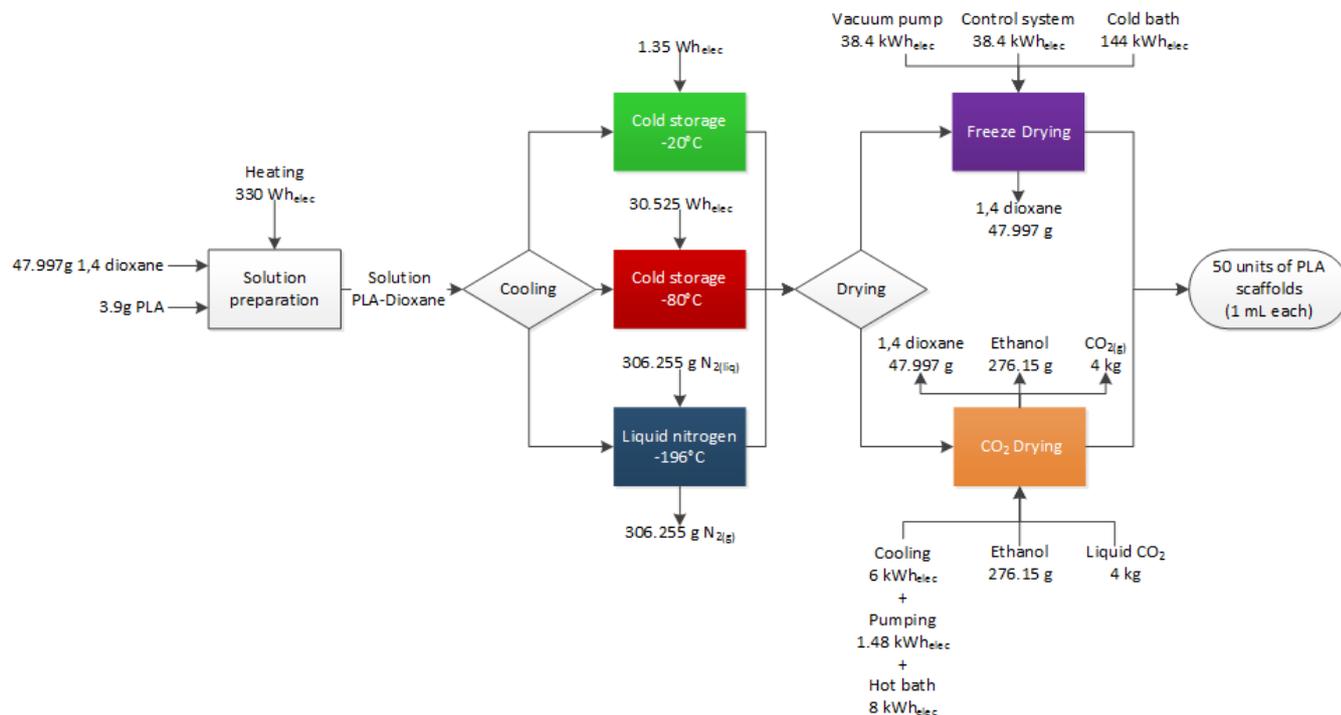


Figure 11. Mass and energy balances for the production of 50 PLLA scaffolds according different cooling and drying scenarios.

The parametric study demonstrated the influence of cooling on the structure and properties of the scaffolds. Thus, environmental impacts of the three cooling conditions were reported in **Figure 12**. For both cold storages (-20 and -80 °C), electric consumptions were calculated from the original equipment manufacturer data and considering the volume occupied by 50 scaffolds. 300 g of liquid nitrogen was also necessary to freeze the scaffolds. Some precisions about all calculation and hypothesis have been listed in supplementary information. As expected, the stronger the cooling, the higher the impact. As cooling conditions also influence the scaffold structure, this result is not to be used as a decisive criterion. Yet, it shows that cooling at -196 °C with liquid nitrogen leads to a high increase of all the LCA impacts compared to a cold storage at -80 °C. The most impacting cooling process (at -196 °C) was selected for the simulation of the complete process to maximize the impact of this step and see its importance on the global life cycle.

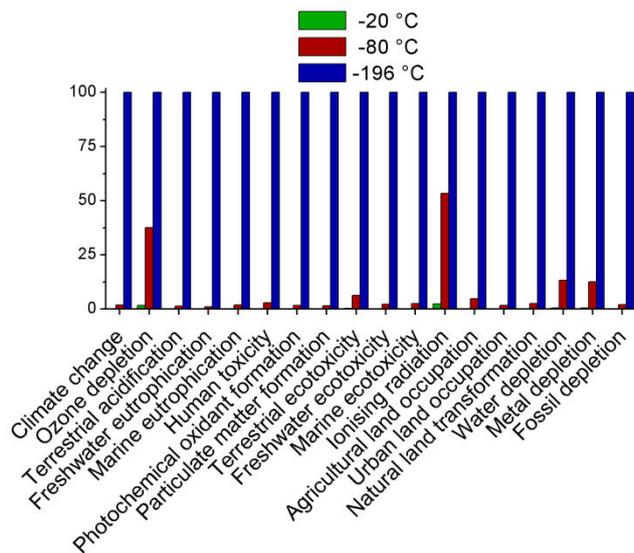


Figure 12. Environmental impact assessment for the cooling conditions of the TIPS process (-20, -80 and 196 °C).

Hence, the complete system has been modeled with the liquid nitrogen cooling process and the two drying alternatives: SC-CO₂ drying vs freeze-drying. **Figure 13** shows clearly the benefits and reasons to choose the SC-CO₂ drying technology.

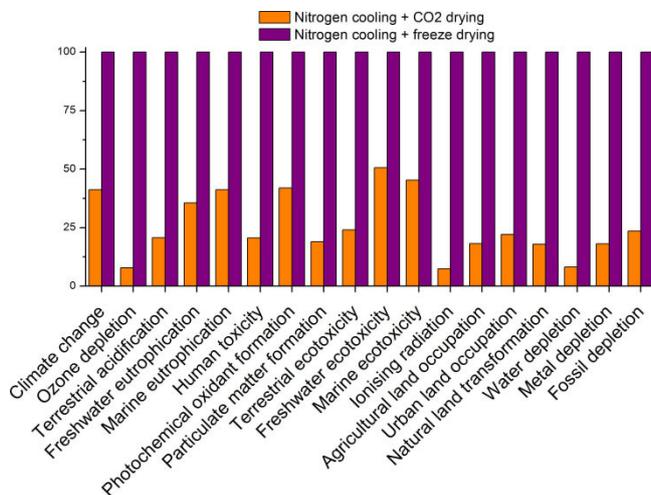


Figure. 13. Environmental impact assessment for the Freeze drying and SC-CO₂ drying technologies involved in the TIPS process.

Indeed, all environmental impacts are at least 50 % reduced in comparison with the freeze-drying technology. This result is explained by the high-energy consumption of freeze drying considering the long extraction time with this process.

To better understand these results, a more detailed study has been conducted on each drying technology to see the impact repartition depending on the process step (polymer dissolution, cooling, drying and waste management). As one can see in **Figure 14**, the drying step is clearly the most damaging step for both processes. Regarding freeze drying, this is particularly due to the important duration of the drying (96h) that lead to a very high electricity consumption. Considering CO₂ drying, the electricity consumption (used for the production of supercritical CO₂) is also quite important compared to the other steps of the process, while it represents less than 10% of the electricity used with freeze drying.

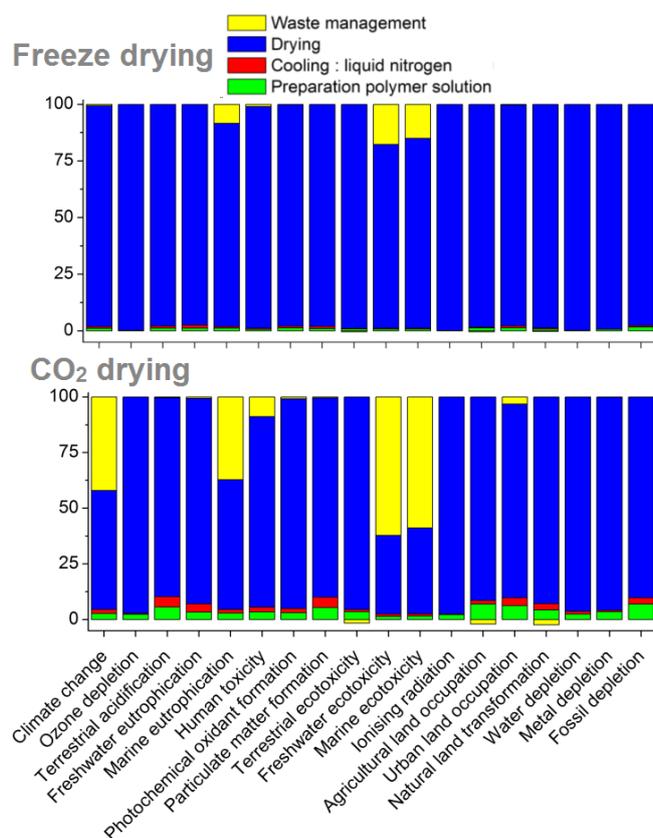


Figure. 14. Detailed environmental impact assessment of the TIPS process with nitrogen cooling (-196 °C) and for the Freeze drying and SC-CO₂ drying technologies.

Moreover, for most of the impact categories and for both scenarios, the second source is the management of generated wastes. Two main outputs of the process have been considered as waste: the gases (CO₂ and nitrogen) and liquid chemicals (ethanol and 1,4-dioxane). In this study, it was considered that the gases were simply released to the atmosphere and liquids were sent to the

French waste scenario. This explains the importance of waste management regarding the climate change, marine eutrophication and freshwater and marine ecotoxicity for the CO₂ drying alternative: 4 kg of CO₂ are emitted into the atmosphere for the production of each group of 50 scaffolds. However, other scenarios for the waste management could be proposed. For example, the recycling of gaseous and liquid solvents could be considered. Unfortunately, a lack of data for these retreatments scenario prevented a simulation in the SimaPro software, but, at an industrial scale, the CO₂ used at the drying step would probably be recycled. In this way, an estimation conducted at lab scale led to the conclusion that 75 % of liquid CO₂ could be saved. This would increase even more the interest of this technology against freeze drying. These LCA results are all the more interesting because they could be transposed to many processes using freeze drying and that would be compatible with CO₂-SC.

CONCLUSION

Firstly, this study was focused on an in-depth parametric study of the TIPS process and its scale-up for production of PLAs scaffolds. The effects of major key parameters such as polymer concentration, molecular weight, solvent miscibility, and cooling temperature have been evaluated. This rather thorough study gives an overview of the various kinds of PLAs scaffold structures which could be produced with a TIPS process assisted by the SC-CO₂ technology. Besides, the mechanical performances of scaffolds have been characterized. This helped highlighting the relationship between process parameters, morphology and structures of the PLLA scaffolds and their behavior under compressive stress. Furthermore, this paper is the first known attempt to conduct an environmental analysis of TIPS process and the comparison between SC-CO₂ and freeze drying technologies. The results of the LCA have shown that the use of SC-CO₂ drying process is thriftier in energy than freeze drying process classically used, and reduces the environmental costs. Indeed, the SC-CO₂ drying process allows the reduction of between 50 and 90% of the environmental impacts of the whole process. Moreover the production time was also drastically reduced from several days to several hours. To conclude, this work has shown the potentiality to

transfer in industrial scale an eco-friendly process like TIPS assisted by supercritical CO₂ to produce polymer scaffolds. Then, to go further in the mechanistic understanding of the PLAs scaffold processing, recent *in situ* X-ray tomography experiments were carried out at synchrotron facilities. These results about the phase separation mechanisms involved in TIPS process were not yet available in literature and they will be described in the next publication. This work should help to better understand the effect of formulation parameters which are critical to control the solvent crystallization and hence, to tune the structural and mechanical properties of the PLAs scaffolds.

For full instructions, please see the journal's Instructions for Authors. Depending on the journal, the manuscript may include sections such as an introduction, experimental details (sections titled Experimental Methods, Experimental Section, or Materials and Methods), theoretical basis (sections titled Theoretical Basis or Theoretical Calculations), results, discussion, and conclusions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful for the financial support from the MATIERES project and the "Région Pays de la Loire". The authors thank the SCIAM ("*Service Commun d'Imagerie et d'Analyse Microscopique*", University of Angers) for scanning electron microscopy images, the PIAM ("*Plateforme d'Ingénierie et d'Analyses Moléculaires*", University of Angers) for DSC analyses, the BIA laboratory (INRA U1268, University of Nantes, France) for compressive tests.

ASSOCIATED CONTENT

Table S1: Inventory of data and hypothesis used for SimaPro simulation

Step	Material /energy	Data / Hypothesis	Quantity	Simapro
Polymer dissolution	PLLA	50 samples	3,9g	Poly lactide, granulate {GLO} market for Alloc Def, S
	1,4 Dioxane	50 samples	48g	Dioxane {GLO} market for Alloc Def, S
	Hot plate (550 W)	15% of the maximal power is needed to heat at 60°C During 4h	330 Wh	Electricity, medium voltage {FR} market for Alloc Def, S
Cooling at -20°C	Cold storage - 20°C (0.322kWh/24h)	The storage could contain 2000 sample, so electric consumption is divided by 40 During 4h	54 Wh	Electricity, medium voltage {FR} market for Alloc Def, S
Cooling at -80°C	Cold storage - 80°C (7,33kWh/24h)	The storage could contain 2000 samples, so electric consumption was divided by 40 During 4h	1221 Wh	Electricity, medium voltage {FR} market for Alloc Def, S
Cooling at -196°C	Liquid nitrogen	0,340L are necessary to froze 50 samples	306 g	Nitrogen, liquid {GLO} market for Alloc Def, S
Freeze dryng	Vacuum pump (400 W)	During 96h	38400 Wh	Electricity, medium voltage {FR} market for Alloc Def, S
	Regulation system (400W)		38400 Wh	
	Cold bath (1500W)		144000 Wh	
CO ₂ dryng	CO ₂ Pump (370 W)	During 4h	1480Wh	Electricity, medium voltage {FR} market for Alloc Def, S
	Heat bath (2000 W)		8000Wh	
	Cold bath (1500 W)		6000 Wh	
	Liquid CO ₂	Flow 1 kg/h	4kg	Carbon dioxide, liquid {GLO} market for Alloc Def, S
	Ethanol	350 mL are necessary to soak 50 samples	276 g	Ethanol, from ethene, at plant/RER Mass
Waste : Cooling CO ₂ drying scenario	Dioxane	All materials used for the production gone to french waste scenario	48g	Waste (waste scenario) {FR} treatment of waste Alloc Def, S
	Liquid nitrogen		306 g	
	Liquid CO ₂		4kg	
	Ethanol		276 g	
Waste : Cooling Freeze drying scenario	Dioxane	All materials used gone for the production french waste scenario	48g	Waste (waste scenario) {FR} treatment of waste Alloc Def, S
	Liquid nitrogen		306 g	

REFERENCES

- (1) Ramot, Y.; Haim-Zada, M.; Domb, A. J.; Nyska, A. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 153–162.
- (2) Anderson, J. M.; Shive, M. S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64*, Supplement, 72–82.
- (3) Stloukal, P.; Pekařová, S.; Kalendova, A.; Mattausch, H.; Laske, S.; Holzer, C.; Chitu, L.; Bodner, S.; Maier, G.; Slouf, M.; et al. Kinetics and mechanism of the biodegradation of PLA/clay nanocomposites during thermophilic phase of composting process. *Waste Manag.* **2015**, *42*, 31–40.
- (4) Duarte, A.; Mano, J.; Reis, R. Polymer Processing Using Supercritical Fluid?Based Technologies for Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. In *Supercritical Fluid Nanotechnology*; Pan Stanford, 2015; pp 273–296.
- (5) Chung, H. J.; Park, T. G. Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59* (4–5), 249–262.
- (6) Ma, P. X. Scaffolds for tissue fabrication. *Mater. Today* **2004**, *7* (5), 30–40.
- (7) Molladavoodi, S.; Gorbet, M.; Medley, J.; Ju Kwon, H. Investigation of microstructure, mechanical properties and cellular viability of poly(L-lactic acid) tissue engineering scaffolds prepared by different thermally induced phase separation protocols. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2013**, *17*, 186–197.
- (8) Okamoto, M.; John, B. Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38* (10–11), 1487–1503.
- (9) Montjovent, M.-O.; Mathieu, L.; Schmoekel, H.; Mark, S.; Bourban, P.-E.; Zambelli, P.-Y.; Laurent-Applegate, L. A.; Pioletti, D. P. Repair of critical size defects in the rat cranium using ceramic-reinforced PLA scaffolds obtained by supercritical gas foaming. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2007**, *83A* (1), 41–51.
- (10) Kim, B. S.; Lee, J. Directional crystallization of dioxane in the presence of PVDF producing porous membranes. *J. Cryst. Growth* **2013**, *373*, 45–49.
- (11) Xing, Q.; Dong, X.; Li, R.; Yang, H.; Han, C. C.; Wang, D. Morphology and performance control of PLLA-based porous membranes by phase separation. *Polymer* **2013**, *54* (21), 5965–5973.
- (12) Tanaka, T.; Lloyd, D. R. Formation of poly(l-lactic acid) microfiltration membranes via thermally induced phase separation. *J. Membr. Sci.* **2004**, *238* (1–2), 65–73.
- (13) Ho, M.-H.; Kuo, P.-Y.; Hsieh, H.-J.; Hsien, T.-Y.; Hou, L.-T.; Lai, J.-Y.; Wang, D.-M. Preparation of porous scaffolds by using freeze-extraction and freeze-gelation methods. *Biomaterials* **2004**, *25* (1), 129–138.
- (14) Salerno, A.; Fernández-Gutiérrez, M.; Barrio, J. S. R. del; Pascual, C. D. Macroporous and nanometre scale fibrous PLA and PLA–HA composite scaffolds fabricated by a bio safe strategy. *RSC Adv.* **2014**, *4* (106), 61491–61502.
- (15) Cardea, S.; Baldino, L.; Scognamiglio, M.; Reverchon, E. 3D PLLA/Ibuprofen composite scaffolds obtained by a supercritical fluids assisted process. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2013**, *25* (4), 989–998.
- (16) Zhang, J.; Yang, S.-G.; Ding, J.-X.; Li, Z.-M. Tailor-made poly(L-lactide)/poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds prepared via high-pressure compression molding/salt leaching. *RSC Adv.* **2016**, *6* (53), 47418–47426.
- (17) Guan, J.; Fujimoto, K. L.; Sacks, M. S.; Wagner, W. R. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. *Biomaterials* **2005**, *26* (18), 3961–3971.
- (18) Reverchon, E.; Cardea, S.; Rappo, E. S. Production of loaded PMMA structures using the supercritical CO₂ phase inversion process. *J. Membr. Sci.* **2006**, *273* (1–2), 97–105.

- (19) Whang, K.; Thomas, C. H.; Healy, K. E.; Nuber, G. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds. *Polymer* **1995**, *36* (4), 837–842.
- (20) Sultana, N.; Wang, M. Fabrication of HA/PHBV composite scaffolds through the emulsion freezing/freeze-drying process and characterisation of the scaffolds. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2007**, *19* (7), 2555.
- (21) An, J.; Teoh, J. E. M.; Suntornnond, R.; Chua, C. K. Design and 3D Printing of Scaffolds and Tissues. *Engineering* **2015**, *1* (2), 261–268.
- (22) Jacobs, L. J. M.; Kemmere, M. F.; Keurentjes, J. T. F. Sustainable polymer foaming using high pressure carbon dioxide: a review on fundamentals, processes and applications. *Green Chem.* **2008**, *10* (7), 731.
- (23) Ji, C.; Annabi, N.; Hosseinkhani, M.; Sivaloganathan, S.; Dehghani, F. Fabrication of poly-DL-lactide/polyethylene glycol scaffolds using the gas foaming technique. *Acta Biomater.* **2012**, *8* (2), 570–578.
- (24) Dehghani, F.; Annabi, N. Engineering porous scaffolds using gas-based techniques. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2011**, *22* (5), 661–666.
- (25) Flaibani, M.; Elvassore, N. Gas anti-solvent precipitation assisted salt leaching for generation of micro- and nano-porous wall in bio-polymeric 3D scaffolds. *Mater. Sci. Eng. C* **2012**, *32* (6), 1632–1639.
- (26) Salerno, A.; Fernández-Gutiérrez, M.; San Román del Barrio, J.; Domingo, C. Bio-safe fabrication of PLA scaffolds for bone tissue engineering by combining phase separation, porogen leaching and scCO₂ drying. *J. Supercrit. Fluids* **2015**, *97*, 238–246.
- (27) He, L.; Zuo, Q.; Shi, Y.; Xue, W. Microstructural characteristics and crystallization behaviors of poly(l-lactide) scaffolds by thermally induced phase separation. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131* (4), n/a-n/a.
- (28) Carrubba, V. L.; Pavia, F. C.; Brucato, V.; Piccarolo, S. PLLA/PLA scaffolds prepared via Thermally Induced Phase Separation (TIPS): tuning of properties and biodegradability. *Int. J. Mater. Form.* **2008**, *1* (1), 619–622.
- (29) Kasoju, N.; Kubies, D.; Kumorek, M. M.; Kříž, J.; Fábryová, E.; Machová, L. 'ka; Kovářová, J.; Rypáček, F. Dip TIPS as a Facile and Versatile Method for Fabrication of Polymer Foams with Controlled Shape, Size and Pore Architecture for Bioengineering Applications. *PLoS ONE* **2014**, *9* (10).
- (30) Auras, R. A.; Lim, L.-T.; Selke, S. E. M.; Tsuji, H. *Poly(lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*; John Wiley & Sons, 2011.
- (31) Schugens, C.; Maquet, V.; Grandfils, C.; Jerome, R.; Teyssie, P. Biodegradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1. Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation. *Polymer* **1996**, *37* (6), 1027–1038.
- (32) Schugens, C.; Maquet, V.; Grandfils, C.; Jerome, R.; Teyssie, P. Polylactide macroporous biodegradable implants for cell transplantation. II. Preparation of polylactide foams by liquid-liquid phase separation. *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *30* (4), 449–461.
- (33) Nam, Y. S.; Park, T. G. Biodegradable polymeric microcellular foams by modified thermally induced phase separation method. *Biomaterials* **1999**, *20* (19), 1783–1790.
- (34) Chen, J.-S.; Tu, S.-L.; Tsay, R.-Y. A morphological study of porous polylactide scaffolds prepared by thermally induced phase separation. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2010**, *41* (2), 229–238.
- (35) Ma, P. X.; Zhang, R. Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *46* (1), 60–72.
- (36) He, L.; Zhang, Y.; Zeng, X.; Quan, D.; Liao, S.; Zeng, Y.; Lu, J.; Ramakrishna, S. Fabrication and characterization of poly(l-lactic acid) 3D nanofibrous scaffolds with controlled architecture by liquid-liquid phase separation from a ternary polymer-solvent system. *Polymer* **2009**, *50* (16), 4128–4138.

- (37) Salerno, A.; Domingo, C. Making microporous nanometre-scale fibrous PLA aerogels with clean and reliable supercritical CO₂ based approaches. *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *184*, 162–168.
- (38) Reverchon, E.; Cardea, S.; Rapuano, C. A new supercritical fluid-based process to produce scaffolds for tissue replacement. *J. Supercrit. Fluids* **2008**, *45* (3), 365–373.
- (39) Huebschmann, S.; Kralisch, D.; Loewe, H.; Breuch, D.; Petersen, J. H.; Dietrich, T.; Scholz, R. Decision support towards agile eco-design of microreaction processes by accompanying (simplified) life cycle assessment. *Green Chem.* **2011**, *13* (7), 1694.
- (40) Vink, E. T. H.; Davies, S. Life Cycle Inventory and Impact Assessment Data for 2014 Ingeo™ Polylactide Production. *Ind. Biotechnol.* **2015**, *11* (3), 167–180.
- (41) Yates, M. R.; Barlow, C. Y. Life cycle assessments of biodegradable, commercial biopolymers—A critical review. *Resour. Conserv. Recycl.* **2013**, *78*, 54–66.
- (42) Vink, E. T. H.; Rábago, K. R.; Glassner, D. A.; Gruber, P. R. Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polym. Degrad. Stab.* **2003**, *80* (3), 403–419.
- (43) Wang, Y.; Gao, Y.-X.; Song, J.; Bonin, M.; Guo, M.; Murphy, R. Assessment of technical and environmental performances of wheat-based foams in thermal packaging applications. *Packag. Technol. Sci.* **2010**, *23* (7), 363–382.
- (44) Gironi, F.; Piemonte, V. Life cycle assessment of polylactic acid and polyethylene terephthalate bottles for drinking water. *Environ. Prog. Sustain. Energy* **2011**, *30* (3), 459–468.
- (45) Suwanmanee, U.; Varabuntoonvit, V.; Chaiwutthinan, P.; Tajan, M.; Mungcharoen, T.; Leejarkpai, T. Life cycle assessment of single use thermoform boxes made from polystyrene (PS), polylactic acid, (PLA), and PLA/starch: cradle to consumer gate. *Int. J. Life Cycle Assess.* **2012**, *18* (2), 401–417.
- (46) Su, X.; Luo, Z.; Li, Y.; Huang, C. Life cycle inventory comparison of different building insulation materials and uncertainty analysis. *J. Clean. Prod.* **2016**, *112*, Part 1, 275–281.
- (47) Ardente, F.; Beccali, M.; Cellura, M.; Mistretta, M. Building energy performance: A LCA case study of kenaf-fibres insulation board. *Energy Build.* **2008**, *40* (1), 1–10.
- (48) Zabalza Bribián, I.; Valero Capilla, A.; Aranda Usón, A. Life cycle assessment of building materials: Comparative analysis of energy and environmental impacts and evaluation of the eco-efficiency improvement potential. *Build. Environ.* **2011**, *46* (5), 1133–1140.
- (49) Sardo, C.; Nottelet, B.; Triolo, D.; Giammona, G.; Garric, X.; Lavigne, J.-P.; Cavallaro, G.; Coudane, J. When Functionalization of PLA Surfaces Meets Thiol–Yne Photochemistry: Case Study with Antibacterial Polyaspartamide Derivatives. *Biomacromolecules* **2014**, *15* (11), 4351–4362.
- (50) Hua, F. J.; Park, T. G.; Lee, D. S. A facile preparation of highly interconnected macroporous poly(d,l-lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) scaffolds by liquid–liquid phase separation of a PLGA–dioxane–water ternary system. *Polymer* **2003**, *44* (6), 1911–1920.
- (51) Frisch, H. L. “Diffusion in polymers” edited by J. Crank and G. S. Park, Academic Press, London and New York, 1968; 452 pg. *J. Appl. Polym. Sci.* **1970**, *14*.
- (52) Calvo, E.; Brocos, P.; Piñeiro, Á.; Pintos, M.; Amigo, A.; Bravo, R.; Roux, A. H.; Roux-Desgranges, G. Heat Capacities, Excess Enthalpies, and Volumes of Mixtures Containing Cyclic Ethers. 4. Binary Systems 1,4-Dioxane + 1-Alkanols. *J. Chem. Eng. Data* **1999**, *44* (5), 948–954.
- (53) Olejniczak, A.; Katrusiak, A.; Vij, A. Halogen···oxygen aggregation and disorder modes in pressure frozen XCF₂CF₂X : 1,4-dioxane (X = Br,I) complexes. *CrystEngComm* **2009**, *11* (7), 1240.
- (54) Yang, F.; Qu, X.; Cui, W.; Bei, J.; Yu, F.; Lu, S.; Wang, S. Manufacturing and morphology structure of polylactide-type microtubules orientation-structured scaffolds. *Biomaterials* **2006**, *27* (28), 4923–4933.

- (55) Liu, R.; Li, K.; Liu, M.; Liu, Y.; Liu, H. Free poly(l-lactic acid) spherulites grown from thermally induced phase separation and crystallization kinetics. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2014**, *52* (22), 1476–1489.
- (56) Zhang, W.; Liu, M.; Liu, Y.; Liu, R.; Wei, F.; Xiao, R.; Liu, H. 3D porous poly(L-lactic acid) foams composed of nanofibers, nanofibrous microspheres and microspheres and their application in oil–water separation. *J. Mater. Chem. A* **2015**, *3* (26), 14054–14062.
- (57) Hilyard, N. C.; Cunningham, A. *Low density cellular plastics: Physical basis of behaviour*; Springer Science & Business Media, 2012.
- (58) Carrasco, F.; Pagès, P.; Gámez-Pérez, J.; Santana, O. O.; MasPOCH, M. L. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. *Polym. Degrad. Stab.* **2010**, *95* (2), 116–125.
- (59) Harris, A. M.; Lee, E. C. Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *107* (4), 2246–2255.
- (60) Perego, G.; Cella, G. D.; Bastioli, C. Effect of molecular weight and crystallinity on poly(lactic acid) mechanical properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **1996**, *59* (1), 37–43.

4. Discussion générale

Cette partie regroupe les résultats majeurs de l'étude, discutés plus en profondeur dans l'article associé.

4.1. Étude paramétrique

De façon générale, la densité des matrices produites augmente avec la concentration en polymère dans la solution initiale. Par ailleurs, plus la vitesse de refroidissement est faible, plus la densité des matrices augmente. Ainsi, pour des concentrations en PLLA comprise entre 5 et 10% (w/w), les masses volumiques des matrices obtenues pour les solutions binaires sont comprises entre 75 et 320 kg/m³ et entre 80 et 230 kg/m³ pour les mélanges ternaires. Pour plus de clarté, la discussion de l'étude paramétrique du procédé TIPS est scindée en deux sous-parties correspondant aux deux types de séparation de phase : sur le mélange binaire (séparation de phase S-L) et le mélange ternaire (séparation L-L)

4.1.1. Mélange binaire PLLA/1,4 dioxane

L'architecture et la morphologie interne des matrices fabriquées à partir des solutions binaires ont été caractérisées par MEB. Les matrices sont poreuses et présentent des structures caractéristiques de mélanges ayant subi une séparation de phase S-L. Les pores ont une forme de microtube correspondant à « l'empreinte » des cristaux de 1,4-dioxane **Figure 28**. La taille des pores diminue avec la concentration en polymère, car nous supposons qu'une quantité plus élevée de polymère dans la solution limite la coalescence des cristaux. De plus, l'augmentation de la vitesse de refroidissement diminue fortement la taille des pores. En effet, lorsque la température de refroidissement est proche de la température de cristallisation de la solution, la croissance des grands cristaux est favorisée. En revanche, lorsque la température de refroidissement est éloignée de la température de cristallisation du solvant, la nucléation est favorisée. Par ailleurs, l'augmentation de la masse moléculaire du PLLA n'a pas d'effet significatif sur l'architecture interne des matrices observées.

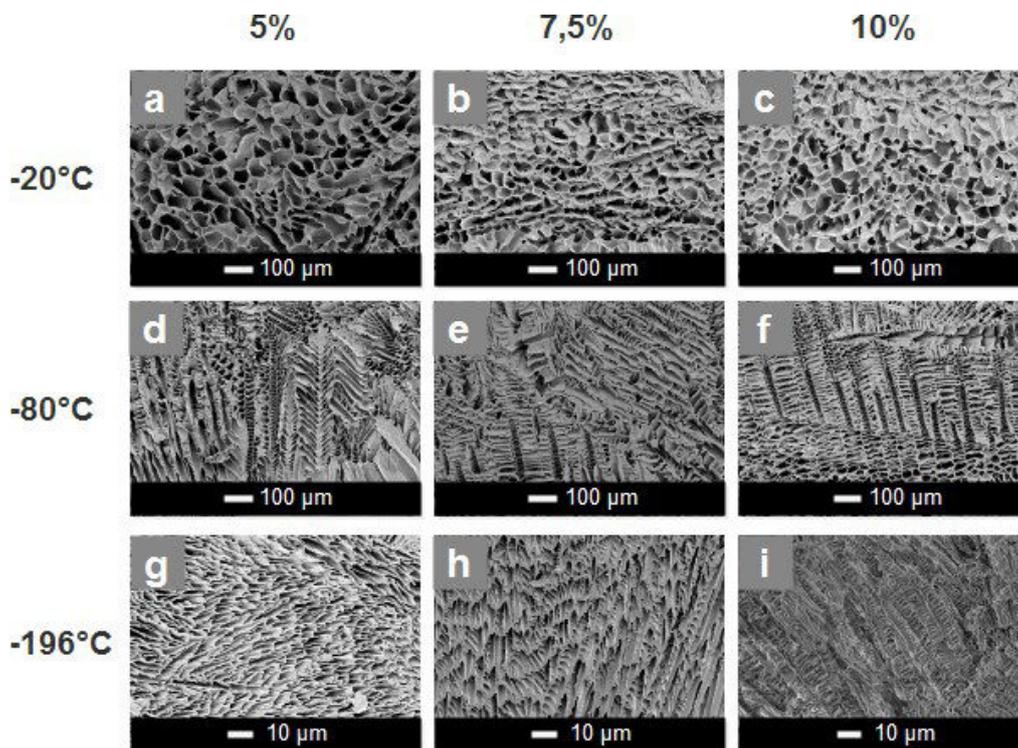


Figure 28 : Clichés MEB de matrices obtenues par séparation de phase S-L en fonction de la concentration en polymère en solution et de la température de refroidissement.

Les tests de compressions ont démontré que les matrices obtenues à partir des solutions plus concentrées en PLLA étaient plus rigides. Pour une même concentration, la diminution de la taille des pores par un refroidissement plus sévère a eu pour effet de diminuer la rigidité, mais d'augmenter la limite de déformation élastique. Enfin, on a pu constater que l'augmentation de la masse moléculaire du PLLA permet d'augmenter la résistance mécanique. Il est donc possible par cette méthode de contrôler la taille des pores par la vitesse de refroidissement. Par ailleurs, la concentration en polymère permet de contrôler la densité et de moduler les performances mécaniques du matériau obtenu.

4.1.2. Mélange ternaire PLLA/1,4 dioxane/H₂O

La caractérisation par MEB des matrices obtenues à partir des mélanges ternaires a montré que les structures sont plus diversifiées (voir **Figure 29**). En effet, en fonction du chemin thermodynamique, différents comportements de séparations de phase ont été induits. Il est plus difficile de conclure sur l'effet de chaque paramètre opératoire, car toute modification dans la formulation peut sensiblement modifier le diagramme de phase.

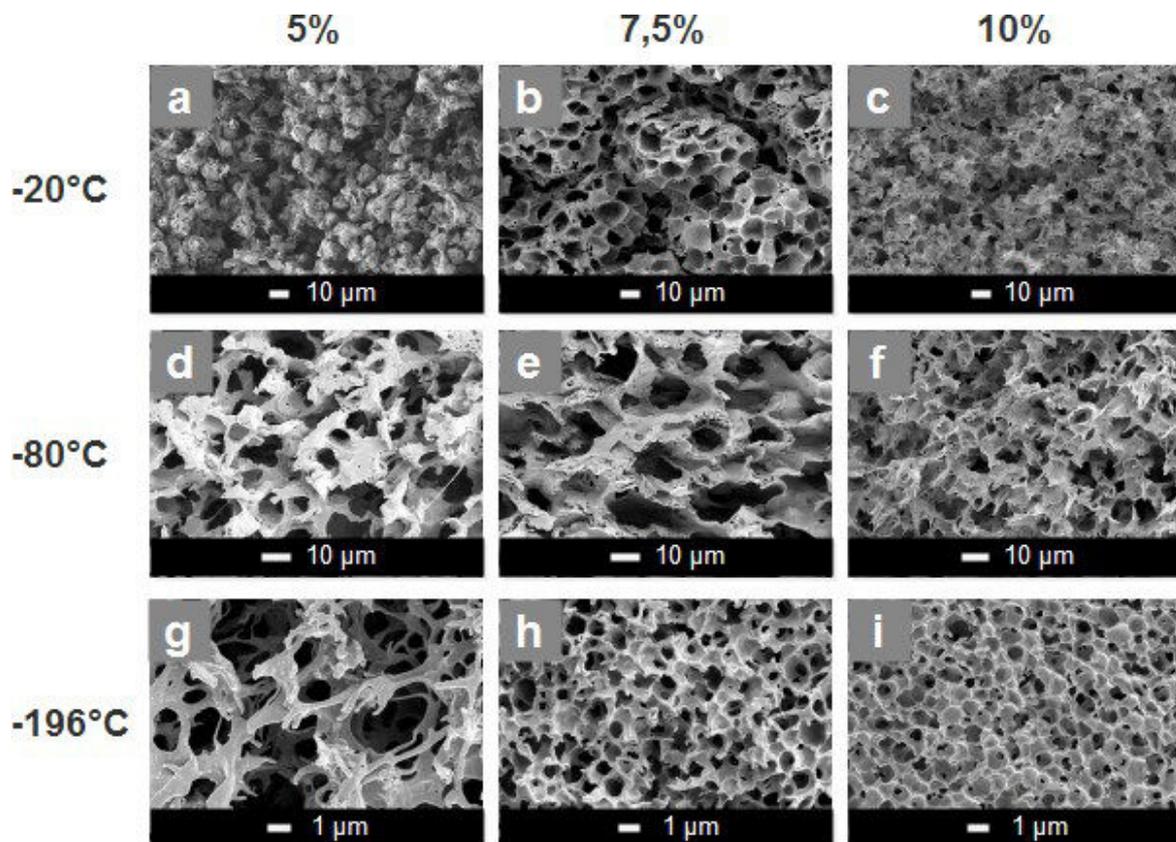


Figure 29 : Cliché MEB de matrices obtenues par séparation de phase L-L L en fonction de la concentration en polymère dans solution et de la température de refroidissement pour un même ratio 1,4-dioxane/eau = 8,7 (m/m).

Cependant, nous avons pu tirer les conclusions suivantes. Il s'avère que les matrices refroidies à -20°C semblaient peu cohésives, car les chaînes de polymère ont eu d'avantage le temps de se réorganiser par rapport aux autres conditions de refroidissement. La vitesse de refroidissement plus lente augmente le temps entre le début de la séparation de phase (passage du point trouble) et la gélification. La microstructure en microfilaments est caractéristique de la cristallisation du polymère [128], [129], ce qui prouve que celui-ci a eu le temps de se réorganiser. Par ailleurs, la diminution de la température et l'augmentation de la concentration semblent diminuer la taille des pores et le degré d'interconnectivité. L'augmentation de la quantité d'eau dans la solution de départ a provoqué la formation de pores sphériques de plusieurs dizaines de micromètres. Il semblerait que dans la limite de la solubilité du mélange, l'augmentation de la composition en eau, engendre une augmentation de la taille des pores de la matrice finale obtenue.

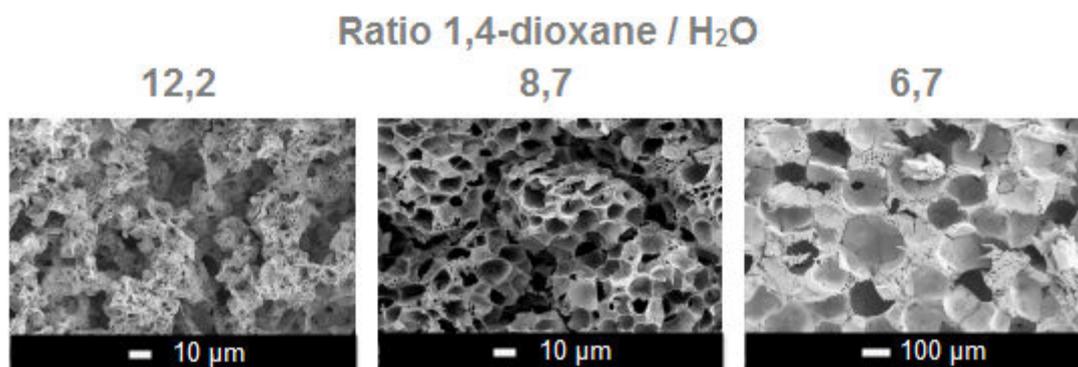


Figure 30 : Clichés MEB de matrices obtenues à partir de solution ternaire à 7,5% de PLLA à trois ratio 1,4-dioxane / H₂O

La **Figure 31** montre les structures des matrices obtenues avec les trois PLLA de masses molaires différentes. Contrairement aux résultats obtenus avec les mélanges binaires, la masse moléculaire du PLLA a une influence sur les structures obtenues. On peut supposer que la longueur de chaîne de PLLA limite leur agencement et / ou que la viscosité plus élevée limite la coalescence de la partie riche en solvant. Il est difficile d'expliquer clairement ce phénomène, mais il est évident qu'une augmentation du poids moléculaire peut modifier la structure des matrices.

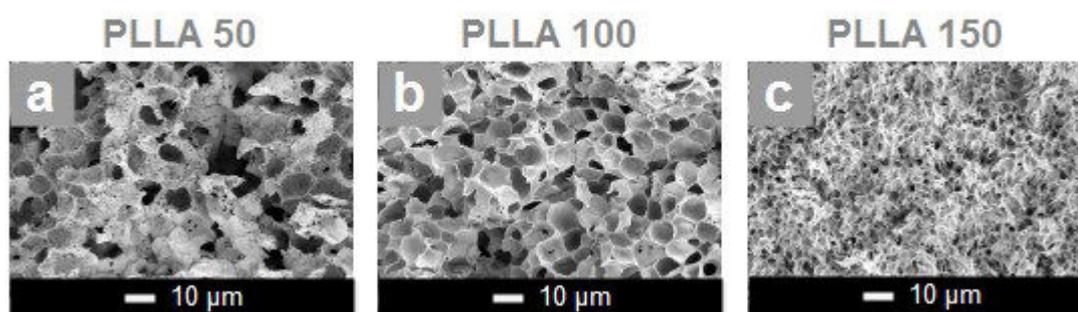


Figure 31 : Clichés MEB matrices obtenues à partir de solution ternaire avec des PLLAs de masses moléculaires différentes pour une même formulation : concentration en PLLA = 7,5 % ratio 1,4-dioxane / H₂O = 8,7 (m/m)

4.2. L'Analyse de cycle de vie

L'ACV du procédé a permis de mettre en évidence que l'étape la plus dommageable en termes d'impacts environnementaux est bien celle de séchage. Cela confirme notre approche d'écoconception et il était donc judicieux de proposer une alternative au séchage par lyophilisation. L'étude comparative a démontré que sur l'ensemble du procédé, la mise en place du séchage par CO₂ SC a permis de réduire l'impact environnemental entre 50 et 90% selon les indicateurs d'impacts. Enfin, cette étude nous a aussi permis de mettre en évidence que la performance environnementale de la méthode de séchage pouvait être sensiblement améliorée par l'ajout d'une boucle de recyclage de CO₂. Nous pouvons estimer que ce dispositif permettrait de réduire de 75% la consommation de CO₂ liquide.

5. Conclusion

Dans un premier temps, cette étude a fait l'objet d'une analyse paramétrique approfondie du procédé TIPS pour la production de matrices poreuses de PLLA. Les effets majeurs des paramètres clés tels que la concentration et le poids moléculaire du PLLA, la miscibilité du solvant avec le PLLA et la température de refroidissement ont été évalués. Cette étude approfondie donne un aperçu des différents types de matrices de PLLA qui peuvent être produites par TIPS assisté par la technologie CO₂ SC.

Dans un second temps, les résultats de l'ACV ont montré que l'utilisation du procédé de séchage par CO₂ SC permet un séchage efficace, tout en permettant une économie importante d'énergie par rapport la technologie de lyophilisation classiquement utilisée avec le procédé TIPS. Le temps de production a également été considérablement réduit de plusieurs jours à plusieurs heures. Pour finir, ce travail a permis de d'évaluer la possibilité de transfert du procédé TIPS vers l'échelle industrielle, à considérer comme étant écologiquement viable, dans le but de produire des matrices poreuses de polymère aux propriétés mécaniques et structurales contrôlées.

Pour aller plus loin dans la compréhension mécanistique de la mise en forme de matrice PLA par le procédé TIPS, des expériences *in situ* de tomographie par rayons X ont été effectuées en rayonnement synchrotron à l'ESRF. Ces résultats sont présentés dans le chapitre suivant.



Chapitre 3 : Mise au point d'une méthode in-situ de suivi de la séparation de phase par tomographie-X synchrotron

1. Introduction

Le développement de matrices tridimensionnelles, quelles que soient leurs applications, requiert une connaissance approfondie de leur architecture. Cependant, la caractérisation structurale des matrices poreuses est souvent complexe et limitée. Les paramètres majeurs permettant de caractériser la porosité de ces objets sont regroupés dans le **Tableau 9** ci-dessous.

Tableau 9 : Caractéristiques architecturales majeures des matrices poreuses [130]

Propriétés	Formules / élaboration
Porosité	$\text{Porosité} = 100 \% \cdot \text{volume de pores} / \text{volume total}$
Ratio surface/volume	$\text{Ratio surface/volume} = \text{surface interne} / \text{volume total}$
Interconnectivité	$\text{Interconnectivité} = 100 \% \cdot \text{volume de pores interconnectés} / \text{volume total des pores}$
Taille des pores	Diamètre moyen des pores
Épaisseurs des parois	Épaisseur moyenne des parois
Anisotropie	Mesure de la non-uniformité dans l'alignement des parois
Section transversale	Mesure de la surface d'une section plane
Perméabilité	Mesure de l'écoulement d'un fluide à travers les pores

Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer ces propriétés :

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB) permet de caractériser l'architecture et la géométrie d'une structure. Cette technique permet d'obtenir des images à fort grossissement avec une bonne résolution mais les images sont le plus souvent à deux dimensions. L'extrapolation de la structure à trois dimensions n'est pas toujours évidente pour les structures anisotropes comme celles de nos matrices de PLA. Il faut noter que la microscopie électronique peut maintenant être couplée à la technique de FIB (Focusing Ion beam) et que par érosions successives de la surface de l'échantillon, il devient possible de faire des images en trois dimensions d'un échantillon. Cette technique est cependant loin d'être disponible dans

tous les laboratoires. **Les techniques pycnométriques liquide** (eau / mercure) **et gaz** (hélium) permettent d'évaluer la porosité et la taille moyenne des pores, mais les résultats peuvent être erronés si des pores complètement fermés sont présents dans la structure.

Actuellement l'une des techniques très en vogue pour appréhender les propriétés poreuses de matériaux est la **tomographie X**. C'est une méthode qui présente l'avantage d'être non destructive. Elle reproduit l'architecture interne et externe d'un matériau optiquement opaque par modélisation tridimensionnelle. Ensuite, la modélisation peut être analysée par des outils informatiques pour en extraire les caractéristiques de la structure.

2. Principe général de la tomographie par rayon X :

Le principe de la tomographie X est identique à celui des scanners médicaux, mais avec une meilleure résolution grâce à l'utilisation d'un faisceau de rayons X. Bien que diverses configurations expérimentales puissent être utilisées pour réaliser une tomographie par rayons X, les principes de base de la technique restent les mêmes. Un faisceau de rayons X est envoyé sur un échantillon monté sur une platine tournante. Une série de N radiographies correspondant à N positions angulaires de l'échantillon traversées par le faisceau est enregistré sur un détecteur CCD. Les N radiographies obtenues correspondent à la distribution de l'atténuation linéaire des rayons X à l'intérieur de l'échantillon. Elles sont ensuite compilées par un logiciel pour obtenir une reconstruction tridimensionnelle. La reconstruction forme un objet tridimensionnel dont l'unité élémentaire est appelée voxel et qui peut être visualisé avec des logiciels d'imagerie appropriés.

2.1. La tomographie X en rayonnement synchrotron

L'utilisation d'un faisceau de rayons X synchrotron permet d'étudier la microstructure de divers matériaux avec une résolution spatiale inférieure au micron [131]. Le **Tableau 10** compare les performances d'un microtomographe de laboratoire avec les performances de la ligne ID 19 à l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) en mode de balayage « normal » et « fast ». En plus de fournir une meilleure résolution, notamment grâce à l'utilisation de camera très haute résolution, la rapidité de l'acquisition est nettement améliorée. En effet, celle-ci permet désormais de réaliser un scan toutes les secondes de 1000^3 voxels cube. Cette vitesse d'acquisition permet donc de suivre l'évolution de la microstructure d'un matériau au cours du temps.

Tableau 10 : Réglages classiques pour l'analyse de microstructure par tomographie X avec un appareil de laboratoire (Phoenix X ray Vtomex) et sur la ligne ID19 de l'ESRF (en 2016).

	Phoenix Xray Vtomex	Synchrotron (fast)
	[132]	
Volume max.	1900 ² *1500	2048 ³
Temps d'acquisition	30 min	1s
Gamme angulaire	360°	180° ou 360°
Mode contraste de phase	non	oui

De plus, le haut degré de cohérence spatial du faisceau de rayons-X synchrotron a permis le développement d'une technique de microtomographie en contraste de phase. Les images en contraste de phase sont obtenues en faisant varier la distance entre l'échantillon et le détecteur. Cette technique d'imagerie a l'avantage d'être très sensible, en particulier pour des matériaux à faible densité de type polymère ou pour des matériaux composites dont les différents constituants ont des coefficients d'atténuation linéaires très proches. L'imagerie par contraste de phase se concentre principalement sur les bords où se produit un saut de phase. Utilisée en combinaison avec la méthode de tomographie classique, cette méthode permet d'établir une cartographie précise de la densité des matériaux. Cette procédure a été appelée l'holotomographie [133], elle permet de mettre en évidence des objets à peine discernables par tomographie par absorption.

Les performances de la tomographie X en rayonnement synchrotron sont idéales pour appréhender les propriétés de nos matrices (*ex-situ*). En outre, cette technique nous a permis de développer une méthode de suivi de la séparation de phase en refroidissement entre le PLA et le 1,4-dioxane (*in-situ*).

3. Matériels et méthodes

3.1. Mise au point d'une méthode de suivi de séparation de phase par tomographie X en rayonnement synchrotron

Depuis son invention dans les années 1970, la méthode TIPS a été particulièrement utilisée pour la fabrication de matrices tridimensionnelles et de membranes polymères. Cependant, à notre connaissance, aucune étude *in-situ* n'avait encore été menée pour observer les premiers stades de la séparation de phase entre le solvant et le polymère de type PLA.

Ainsi, pour approfondir la connaissance des mécanismes intervenant dans la séparation de phase entre le PLA et le 1,4-dioxane, une expérience *in-situ* a été imaginée. Le suivi de la séparation de phase a été réalisé par microtomographie X en rayonnement synchrotron. Le principe de l'équipement est représenté **Figure 32**. L'expérience s'est déroulée sur la ligne ID 19 à l'ESRF à Grenoble. La séparation de phase s'est effectuée dans une cuve en PEEK de 0,3 mL (**Figure 33**). Ce matériau a été sélectionné pour sa bonne « transparence » aux

rayons X. La cellule était équipée de deux thermocouples situés à la surface et au fond de la cuve pour suivre l'évolution de la température au travers de l'échantillon. Le refroidissement a été assuré par un cryostream (OXFORD CRYOSYSTEM) permettant de souffler un flux d'azote à une température contrôlée sur l'échantillon. L'analyse *ex-situ* de matrices préalablement mise en forme au laboratoire et séchées en CO₂-SC dans des conditions de fabrications proches a également été effectuée en tomographie X.

Sur la ligne ID19, les échantillons tournent de façon continue à une vitesse de 360°/s ; il est donc possible de faire une tomographie de l'échantillon par seconde. La résolution maximale pouvant être atteinte avec la caméra utilisée était de 1,4 µm / pixel. La région d'intérêt (ROI) choisie était de 1008*1008 pixels pour les images *in-situ* et 2016*2016 pour les images *ex-situ*. La diminution de la ROI permet de réduire la taille des données générées pendant les expériences *in-situ* car elles sont composées d'un grand nombre d'acquisitions. Ainsi, un tomographe complet *in-situ* était composé de 1008*1008*1008 pixels, soit un volume imagé de 2,81.10⁹ µm³.

Il convient de noter que les conditions opératoires (concentration en polymère, vitesse de refroidissement,) ont dû être adaptées afin d'obtenir des structures de taille compatible avec la résolution.

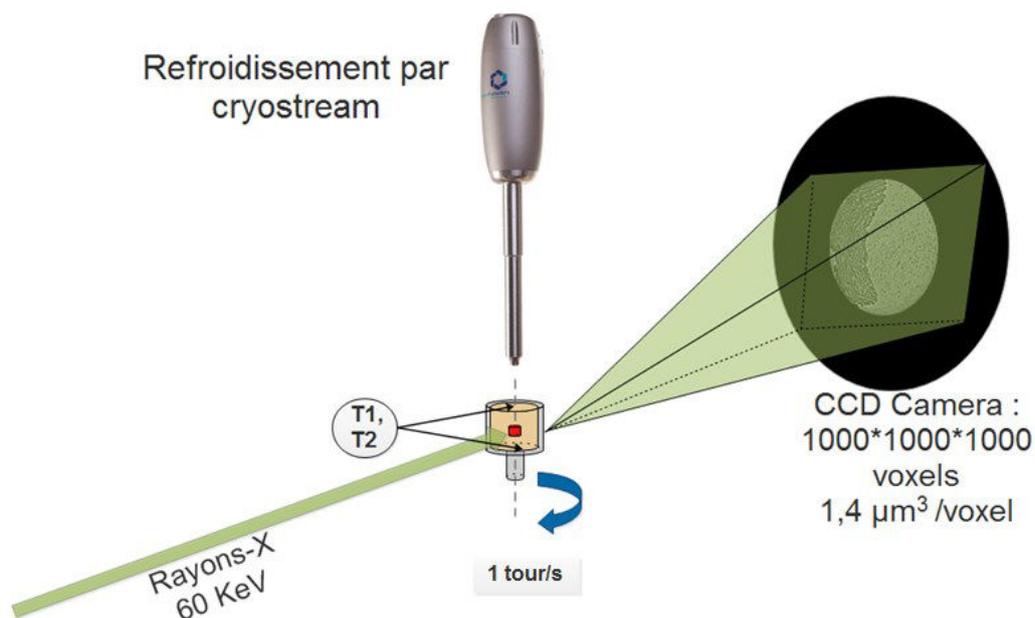


Figure 32 : Représentation du tomographe X en rayonnement synchrotron utilisé pour les expériences *in-situ*

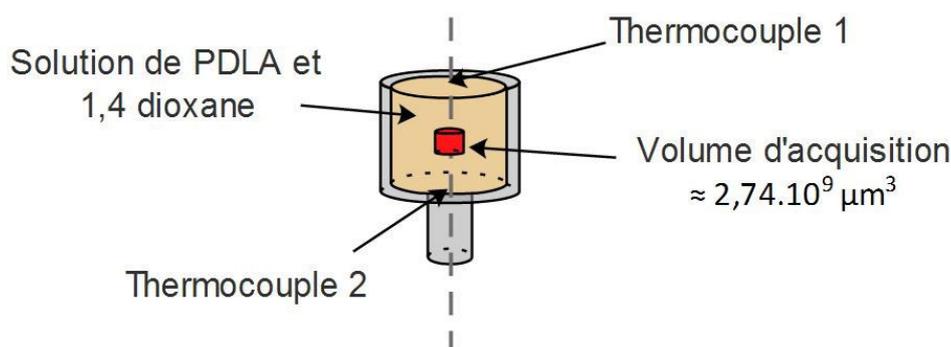


Figure 33 : Cuve en PEEK instrumentée

Les analyses par tomographie ont généré des millions de projections bidimensionnelles. Dans un premier temps, les matrices tridimensionnelles ont été reconstruites à partir des piles d'images en deux dimensions, puis converties dans des formats compatibles avec les outils traditionnels de traitement et d'analyse d'images. Ce travail a pu être réalisé grâce aux serveurs de l'ESRF, car les données brutes sont de tailles trop importantes pour être manipulées avec de simples ordinateurs.

3.2. Matériaux

Le PLA (PolyDLactic-Acid PDLA) a été fourni par Natureplast. Il a été retenu parmi les grades de PLA commerciaux que nous avons utilisés en TIPS avant de pouvoir travailler avec les PLAs synthétisés présentés au chapitre précédent. Les matrices obtenues grâce à ce grade étaient plus régulières et plus homogènes. Nous supposons que ces résultats sont dus à la cristallinité élevée de ce PLA (**Tableau 11**), composé de 99% d'isomère D (PDLA) alors que les deux autres références sont des mélanges des deux isomères.

Tableau 11 : Caractéristiques des PLA commerciaux utilisés (en bleu : données tirées des fiches techniques)

	PLA 3251 INGÉO	D PLE 001	PDLA 001
Producteur / distributeur	Natureworks	Natureplast	Natureplast
Masse moléculaire Mw (g/mol)	55 000	/	47 000
Indice de fluidité à chaud (MFI) (190°C, 2,16 kg) (g/10 min)	35	2-5	22±5
Température de transition vitreuse Tg (°C)	61	59	60
Température de fusion Tm (°C)	171	162	170
Température de cristallisation (°C)	104	101	106
Cristallinité χ_c (%)	27	25	49

- Les données en bleu proviennent des fiches techniques

Pour mesurer l'influence de la formulation sur la séparation de phase, plusieurs solutions de PDLA et de 1,4 dioxane ont été préparées. Pour l'étude de la séparation de phase S-L : 2 solutions binaires à 5 et 10% (m/m) de PDLA ont été analysées en tomographie X. Pour l'étude de la séparation de phase L-L, une solution ternaire de composition 7,5/80,5/12 (PDLA/1,4-dioxane/H₂O) a été préparée.

Par la suite, une série de matrices (**Tableau 12**) a été préalablement produite en TIPS et séchée en CO₂ SC au laboratoire pour être observée dans un premier temps par tomographie et ensuite au MEB. Le but était de comparer les résultats obtenus par les deux techniques pour évaluer leurs performances.

Tableau 12 : Conditions de fabrication des matrices observées en tomographie X

Solutions	Température de refroidissement (°C)
Mélange binaire : PDLA / 1,4 Dioxane (% m/m)	
5/95	-1
5/95	-18
7,5/92,5	-1
10/90	-1
Mélange ternaire : PDLA / 1,4 Dioxane / H ₂ O (% m/m/m)	
7,5/80,5/12	-1
7,5/80,5/12	-18

3.3. Traitement des images 2D et reconstruction 3D

Différentes piles d'images à deux dimensions ont été récupérées puis traitées avant de pouvoir les analyser. Ces traitements ont été réalisés avec l'éditeur d'image open source ImageJ. La **Figure 34** présente les traitements réalisés par ordre chronologique. Les fonctions « contrast » et « brightness » permettent d'améliorer le contraste et le contour des formes (**Figure 34 b**). Il est ensuite nécessaire de binariser les images afin d'effectuer leurs analyses. Les pixels « clairs » vont être convertis en blanc et les « foncés » en noir (**Figure 34 d**). Les images brutes n'étant constituées que de nuance de gris, l'outil « threshold » permet de déterminer et de placer le seuil au mieux pour la binarisation (**Figure 34 c**).

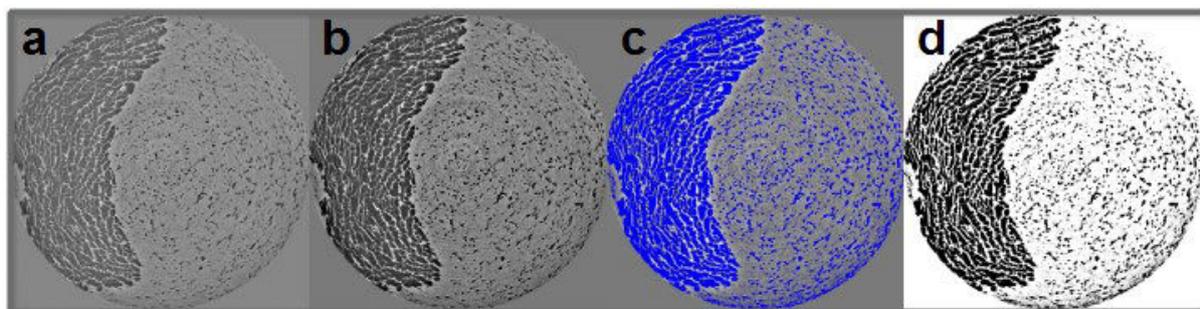


Figure 34 : Traitements des images 2D, a) image brute ; b) image contrastée ; c) image en cours de seuillage ; d) image binarisée.

La reconstruction tridimensionnelle des matériaux à partir des piles d'images deux dimensions a été effectuée avec le logiciel CTVox de BRUCKER (**Figure 35**). Les réglages de lumière et de brillance permettent d'accentuer le contraste et l'effet de profondeur sur le modèle trois dimensions

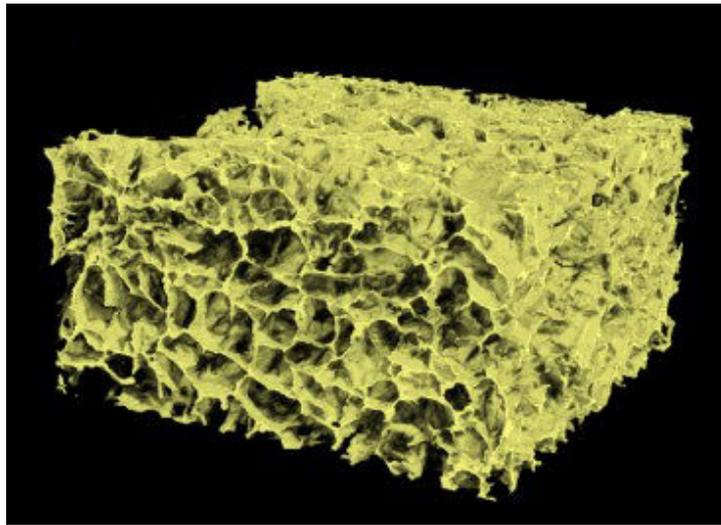


Figure 35 : Représentation 3D d'une matrice ex-situ de PDLA

3.4. Analyse et calcul

Calcul à partir des images 2D

Les images à deux dimensions sont analysées de la même manière que les clichés MEB. Les outils de mesures d'ImageJ permettent de mesurer la taille de différents éléments (pores, parois, ou bien la surface d'une ROI). Ces valeurs sont ensuite analysées avec un tableur pour en déduire la taille moyenne des pores et des parois, ou une densité de pores.

Calcul à partir des modélisations 3D

La tomographie permet de calculer les propriétés des modélisations 3D. Différents logiciels payants tels que Amira Avizo ou VGstudio permettent de calculer les propriétés de matrices poreuses tridimensionnelles et sont très performants. Cependant le plug-in libre BoneJ [134], initialement développé pour les calculs sur des structures osseuses s'est révélé parfaitement adapté au calcul de nos matrices polymères. La porosité globale des échantillons *ex-situ* a été calculée avec l'outil "Volume fraction", elle correspond au rapport entre le nombre de voxels blancs et le nombre de voxels noirs dans un volume donné. Cette fonction a également permis d'évaluer la proportion de cristaux formés au cours des expériences *in-situ* pour suivre la séparation de phase.

La taille des pores et des parois a été caractérisée grâce à l'outil "Thickness" qui est basé sur la théorie de l'épaisseur locale [135], [136]. Cette technique de calcul volumique modélise en chaque point d'une structure la plus grande sphère possible (**Figure 36**). Le rayon de cette sphère correspond alors à une valeur d'épaisseur locale. La moyenne des épaisseurs locales permet de caractériser les matrices poreuses. L'avantage de cette méthode est qu'il est possible de caractériser en trois dimensions les matrices avec pores sphériques ou non. Effectivement, les matrices poreuses sont souvent caractérisées par un diamètre de pores moyen, mais cette grandeur est difficile à définir dès que les pores des matrices ne sont pas parfaitement sphériques. Ainsi l'utilisation de cette méthode permet de comparer entre-elles de structure aux géométries de pores différentes. La **Figure 37** montre la visualisation de

l'outil local « thickness » dans la modélisation trois dimensions pour les pores a) et les parois b).

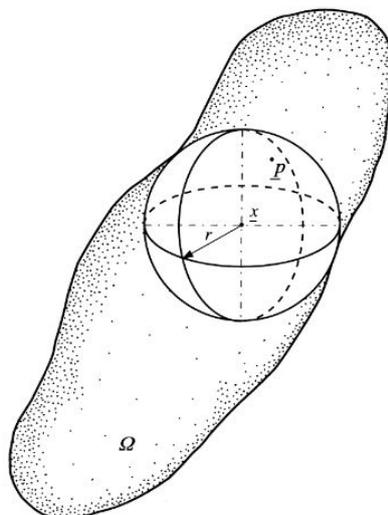


Figure 36 : Représentation du principe de l'épaisseur locale pour la structure [135]

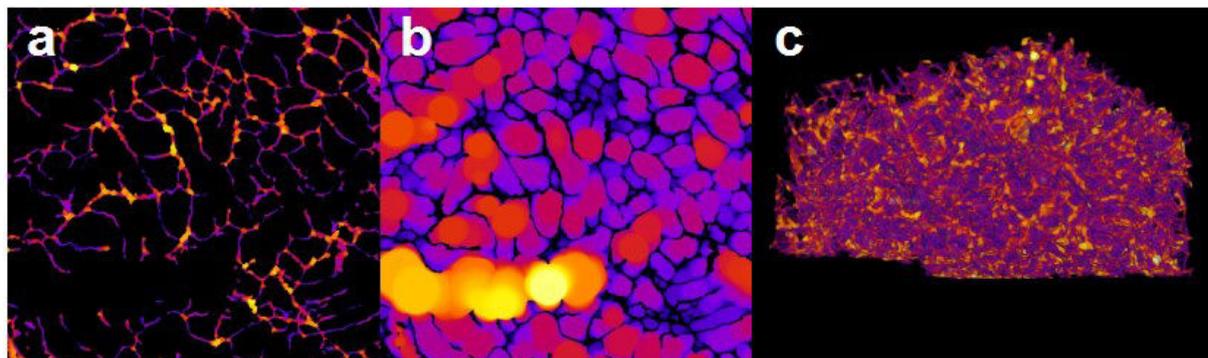


Figure 37 : a) coupe réalisée lorsque l'outil Local Thickness est appliqué aux pores b) coupe réalisée lorsque Local Thickness appliquée aux parois c) vue 3D Local Thickness appliqué aux parois

3.5. Mesure de la température de changement de phase

Une deuxième méthode de caractérisation de la séparation de phase S-L a été élaborée grâce à l'utilisation d'un appareillage de calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Les solutions binaires ont été refroidies et le thermogramme qui présente le flux thermique en fonction de la température a permis de déterminer la température de début de cristallisation du solvant **Figure 38**. En effet, lorsque le 1,4-dioxane cristallise, cela provoque un dégagement de chaleur et un double pic exothermique est mesurable en DSC [137]. L'avantage de la méthode DSC est qu'il est possible d'imposer une large gamme de vitesse de refroidissement ou de chauffage, ce qui a permis de reproduire des conditions proches de l'expérience *in-situ*. Cependant, seule la séparation de phase S-L est observable en DSC, car la séparation de phase L-L n'est pas caractérisée par un événement thermique détectable.

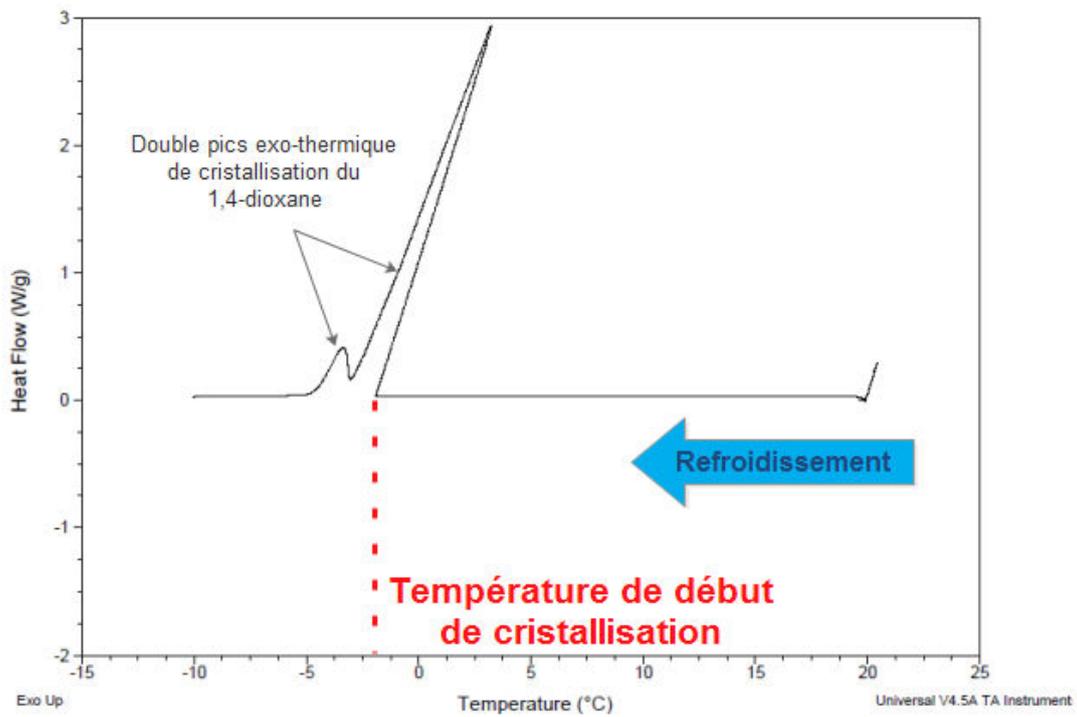
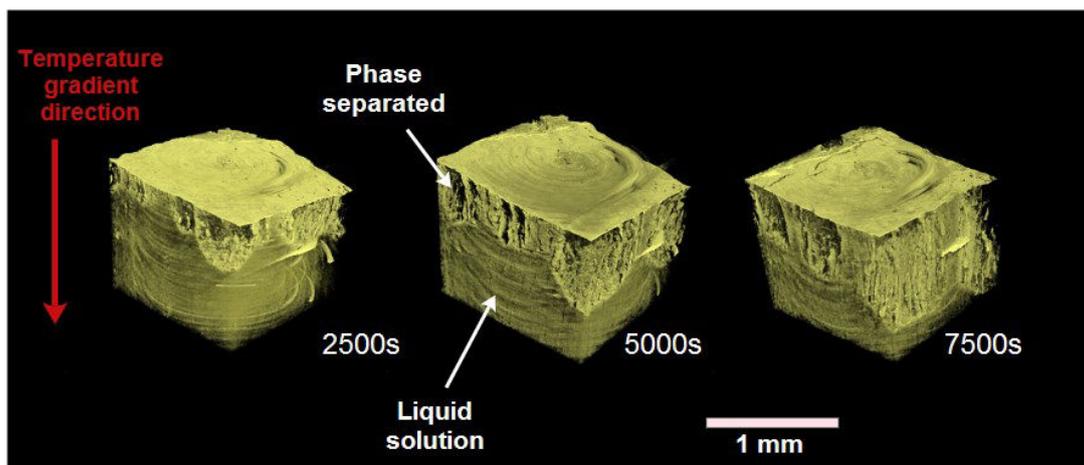


Figure 38 : Détermination de la séparation de phase (S-L) par DSC

4. Résultats

Les résultats de ce travail ont fait l'objet de la rédaction d'un article (ci-dessous) actuellement en cours de finalisation avant soumission.



Synchrotron X-ray In-situ Tomography of Thermally Induced Phase Separation of PLA in Solution in 1.4 Dioxane

S. Gay^a, B. Calvignac^a, T. Beuvier^b, E. Boller^c, M. Sauceau^d, S. Del Confetto^d, F. Bourry^a and A. Gibaud^b

^aLUNAM University, UMR S-1066, Micro-Nanomédecines Biomimétiques, F-49933 Angers, France

^bLUNAM University, CNRS UMR 6283-Institut des Matériaux et des Molécules du Mans, 72085 LE MANS Cedex 09, France

^cESRF, 6, rue Jules Horowitz, BP 220, 38043, Grenoble Cedex 9, France

^dRAPSODEE Research Centre, Ecole des Mines d'Albi, F-81013 Albi, France

Keywords : PLA , tomography X, synchrotron , 1,4-dioxane , TIPS, scaffold, porosity

Introduction

Thermally Induced Phase Separation (TIPS) invented in the late 1970s has become a key technique for producing porous polymer matrices after extraction of the solvent [1], [2]. In this technique, the polymer is dissolved into an organic solvent and then cooled down: the cooling triggers the phase separation. Traditionally two kinds of phase separation could be induced for polymer scaffold production TIPS technology. The first one is the Solid-Liquid (S-L) phase separation. It requires the use of a polymer and solvent couple with close solubility parameters. Above all the solvent must have a high crystallization temperature. In this case, separation is guided by the fact that when the solvent reaches its freezing point, it undergoes a phase transformation from a liquid to a solid crystalline phase. When the formed crystals are large enough in size, they cannot sustain anymore to remain in contact with the polymer. A polymer rich phase becomes then separated from a crystallized solvent rich phase. Thus, the shaping of a polymer network is governed by the growth of the solvent crystals. The second one is the Liquid-Liquid phase separation: it occurs when the cloud point temperature is greater than the temperature of freezing. Thereby, the removal of the thermal energy from the solution causes the separation in two liquid phases: a polymer-rich phase and a polymer-lean phase [3]. After achieving the phase separation of the polymer with the solvent, a porous structure can be revealed by solvent extraction. By tuning different parameters such as the polymer/solvent nature, the polymer concentration, the quench temperature, the quenching rate or the solvent, different pathways can be achieved. This in turn yields different scaffold morphologies.

Though TIPS has been used for long in industry to produce porous polymer scaffolds [4]–[7] and membranes [3], [8]–[11], it is rather amazing that no *in-situ* experiment has been reported on the kinetics of formation of such porous architectures. So far classical investigation techniques (like SEM) are usually utilized to evidence the porous structure but this is done post-mortem. Another drawback of SEM is its inability to properly characterized the overall complex porous structures [12]. It is subsequently still very challenging to monitor *in-situ* the formation of the phase separated regions during the TIPS process in order to unveil the role of the different parameters that can affect the pore formation.

With the advance of third generation synchrotron sources, it is now possible to image in 3D with sufficient spatial and time resolution, the *in-situ* phase separation of the TIPS process [13]–[16]. To correctly unravel the key parameters that drive this type of porosity, open/closed cells ratio or the degree of interconnectivity, one needs a technique which provides *in-situ* temporal and spatial information at the early stages of the process. So far the only technique which can provide such information is *in-situ* microtomography at synchrotron facilities. Such a technique allows imaging a relatively large volume (1-6 μm^3) within less than a second with a resolution spanning the characteristic length scales of the porosity that can be encountered in foams, i.e. ranging from sub micrometer to a few microns depending on the experimental set-up. It is non-destructive and provides 3D data on material morphology.

In this paper, we have investigated by x-ray tomography the phase separation under cooling of two kinds of polymer solutions: a binary mixture of PolyLactic Acid (PLA) with 1,4 dioxane and a ternary mixture with PLA, 1,4 dioxane and water. The PLA have an interesting combination of properties: good mechanical strength, biodegradability and biocompatibility. Furthermore, this polymer has been extensively used for fabrication of biomedical devices. The couple PLA/1,4 dioxane have been much used in TIPS technology to produce membranes [11], [17] and implant for bones repair [18].

We show in particular that tomography is a perfect tool to analyze both the kinetics of formation of the phase separation and the shape of the crystals that are formed for a specific ramp of temperature. Yet the experimental set-up based on a

cryo-cooling system was not ideal as the temperature gradient inherent to this set-up produced a strong anisotropy in the crystallization. Ex-situ foams made by a homogeneous quench are also presented for sake of comparison.

Experimental

Materials and methods

The solvent (1,4 dioxane) was chosen because of its affinity with PLA. This can be evidenced by comparing its Hansen solubility parameter $\delta=20.5 \text{ MPa}^{1/2}$ to the one of PLA $\delta=21.9 \text{ MPa}^{1/2}$. These two values are quite close with somewhat similar contribution for the polar and dispersion coefficients and a weaker hydrogen bonding coefficient. In addition, the melting temperature $T_m \approx 12 \text{ }^\circ\text{C}$ of 1,4 dioxane is the highest compared to other solvents and it is thus easier to work with this solvent than the others when it comes to dissolve the PDLA. The freezing temperature of 1,4 dioxane was also measured by DSC and was found to be close to $T_c \approx 0 \text{ }^\circ\text{C}$ at a $-1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ cooling speed. This temperature markedly differs from the T_m , measured by DSC to $11.5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tableau 1 : The solubility parameters of different solvents together with their freezing temperature [19]

System	δ_p	δ_h	δ_d	δ_t	T_m solvent ($^\circ\text{C}$)
Poly(lactic acid)	9.9	6	18.6	21.9	
Chloroform	3.1	5.7	17.8	18.9	-64
Dichloromethane	6.3	6.1	18.2	20.2	-95
Dichloroethane	7.8	3.0	16.5	18.5	-35
1,4 dioxane	7.4	1.8	19.0	20.5	12
Water				48	0

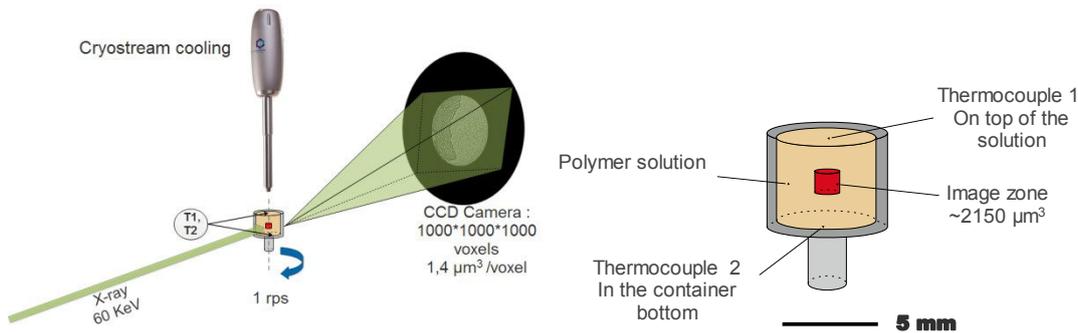
For the ternary mixture, water was chosen as the additional non-solvent of PDLA. The main objective for adding a small amount of water in the solution is to modify the equilibrium by lowering the polymer/solvent interaction. In the case of the binary mixture, the good compatibility between the two components favors during the cooling the crystallization of the solvent that expels the polymer chains and consequently causes the phase separation. So, the process is a solid-liquid phase separation whereas when water is added, a liquid-liquid phase separation is dominating the process. This point is very important because scaffolds obtained by these two ways are radically different.

PolyDLactic-Acid (PDLA) was supplied by Natureplast. This PLA contains more than 99% of D-isomer making it particularly crystalline. The crystallinity rate was measured by DRX at 24% on the raw material. Its molar mass measured by steric exclusion chromatography was found to be $M_w=47000 \text{ g/mol}^{-1}$ with an index of polydispersity $PI = 1,36$. 1,4 Dioxane (ACS reagent, >99%) was bought from Sigma–Aldrich (Sigma-Aldrich, ACS reagent, >99%)

Solutions of PDLA in 1,4 Dioxane were prepared by dissolving PDLA pellets in dioxane under stirring 300 rpm at $50 \text{ }^\circ\text{C}$. The amount of PDLA was comprised between 5 to 15% in weight. In the case of ternary mixtures water was added after complete dissolution of the polymer in the dioxane. Three PDLA binary mixtures were prepared with weight percentage concentrations of 5%w/w, 7.5%w/w and 10% w/w. One ternary mixture was prepared with weight percentage concentrations and 7.5/80.5/12 % w/w (PDLA/1,4 D/H₂O).

To follow the mechanism of phase separation under cooling yielding the formation of PDLA scaffold, a special device was designed and mounted on the ID 19 microtomography beam line at the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF). The device was composed of a cooling system with an Oxford Cryostream able to blow a nitrogen flow at

regulated temperature and an instrumented sample holder in peek (**Figure 1**). The sample holder had two thermocouples located both at the top and the bottom of the container thus enabling to measure the temperature gradient in the sample.



**Figure 1: Left panel : Schematic illustration of the device used to *in-situ* experiments ;
Right panel: The instrumented sample holder**

In order to perform the experiments, PCO dimax Detector was used in which we selected a ROI 1008*1008 pixels for in situ experiments and 2016*2016 pixels for ex-situ experiments. The pixel size was 1.4 μm with an exposure time of 0.001s. All measurements were performed with a pink beam centered at energy of 68 keV. A full in-situ tomograph consisted in a 3D image of 1008*1008*1008 voxels.

At the beginning of any tomography experiments, a little amount (0.3 ml) of the polymer solution was poured in the sample holder. The gun of the cryostream regulated at 250K was placed above the solution immediately prompting the temperature decrease. Tomography scans were starting about 2 minutes later. The duration of a scan was fixed to 1 s. Scans were continuously recorded every 25 s to observe the phase separation mechanisms caused by cooling. The choice of the cryostream temperature was guided by trial and errors experiments during which visible phase separation consistent with the resolution of the instrument was tested.

In order to carry out the tomographic experiment in the right range of temperature, the freezing temperature of the PDLA-dioxane binary mixture was measured by DSC (-1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) and turbidimetry (-0,1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) [20]. The result is shown in **Figure 2**. One can see, the cooling rate have a huge influence on solution freezing point. A faster cooling speed decreases the freezing temperature. Moreover, this temperature decreases also with the concentration of polymer.

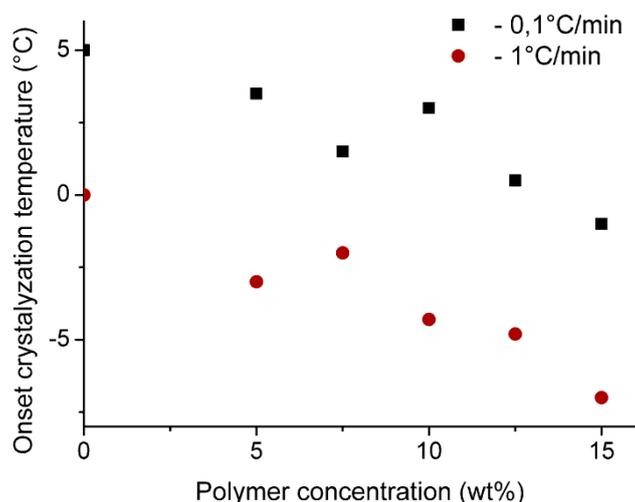


Figure 2: Solution crystallization temperature in function of polymer concentration. The black curve (-0,1 °C/min) was determined by turbidimetry and the red curve (-1 °C/min).

To ensure the crystallization of the binary mixture we have chosen to impose a temperature around -10°C at the top of the sample holder. This corresponded to tuning the nitrogen flow at 1cm above the sample with an output temperature of -20°C . This temperature was chosen to be not too far from the crystallization temperature of 1-4 dioxane to favor the formation of crystals large enough to be measured with the tomography resolution. We now report in the next section the results obtained for different concentrations.

Results and discussion

Solid-Liquid phase separation

Before discussing in details the results of this experiment, it is important to understand that the cryo-cooling gas set-up that was used did not enable to produce an homogeneous vertical distribution of temperature inside the cell even though the cell height was quite small ($h < 10$ mm). A temperature gradient of about 18°C was measured between the top and the bottom of the cell with the top part being colder than the bottom one. As the cell height was 4 mm, the temperature gradient was estimated to be equal to $4,5^{\circ}\text{C}/\text{mm}$. As a result, the onset of crystallization and phase separation did not occur at the same time at different heights in the sample.

Figure 3 shows 2D vertical slices extracted from the 3D tomographs. It shows the crystallization progression in PDLA/1.4 solution at 5/95 wt%. The darker regions correspond to dioxane crystals whereas the brighter ones stand for the binary PDLA/dioxane mixture. It is thus clear that the crystallization of dioxane starts at the top surface and progresses downwards across the solution as a function of time. The progression of the crystallization was found to evolve almost linearly as a function time, to reach 65,5% of the imaged volume at 10000 seconds. Its evolution is reported in **Figure 4**.

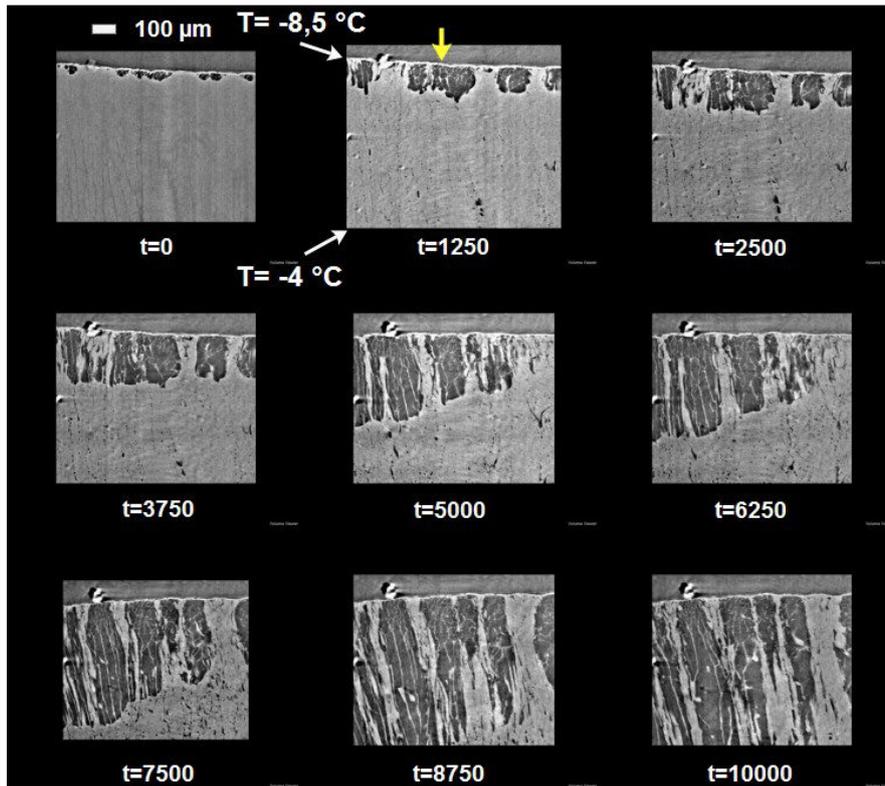


Figure 3: Top panel Vertical cuts carried out in the 3D tomograms showing the progression of crystallization front across the solution as a function of time

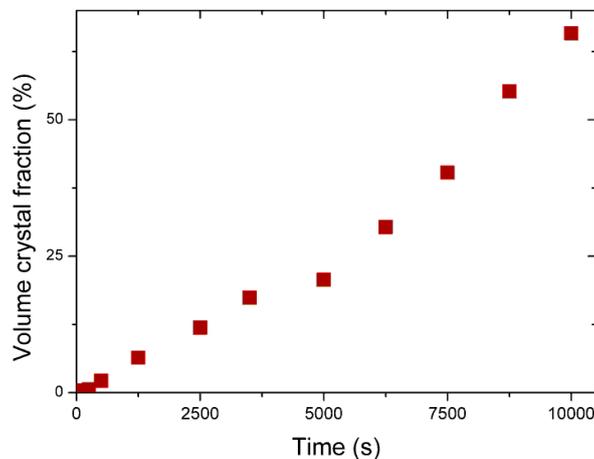


Figure 4: Kinetic of the crystal volume growth

At the surface the crystals appear to grow quite isotropically. But few micrometers deeper, due to the thermal gradient and the confinement, crystals form in a very different way from the one observed for an homogeneous quench. Instead of growing randomly in the cell, the crystals are growing in an anisotropic way with the onset of the growth starting at the top part of the cell and expanding towards the bottom (see the vertical slice in **(Figure 5.a)**). In addition the growth is not homogeneous laterally as shown in the horizontal slice (**Figure 5.b**). Yet the clearest anisotropy is the one along the thermal gradient in the cell with crystals elongated in this direction compared to their in-plane dimension. While this gradient appears to be a drawback when it comes to create an isotropic evolution of the crystal growth, it can be considered as extremely valuable for orienting the pores along the vertical direction. This statement is supported by recent studies in which oriented membranes were produced by TIPS with 1.4 dioxane [21], [22]. This is why

temperature has been monitored by two thermocouples located at the top and bottom of the cell. In this way we could attribute a given temperature to a given height in the cell once we reached a steady state.

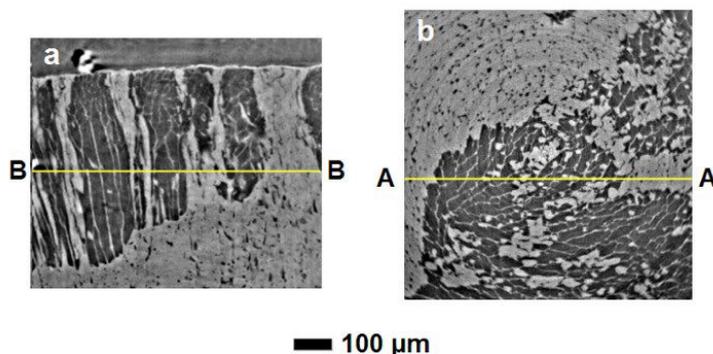


Figure 5: Vertical (a) and horizontal (b) slices at 7500s showing the anisotropy of crystal growth caused by temperature gradient.

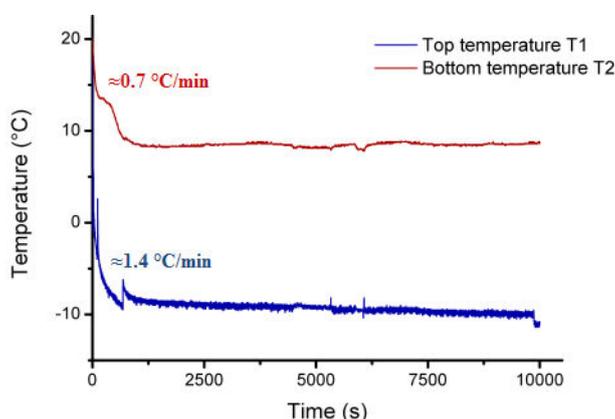


Figure 6: Evolution of the temperature at the top and bottom of the cell as a function of time during a scan illustrates that the steady state is reached after about 1000s. The nitrogen flow was regulated at 250K and the temperature of the top part of the cell was close to -10°C while the bottom one was close to 8°C. The temperature gradient was thus of about 18°C with the bottom temperature higher than the freezing point of the solvent.

We now represent 2D slices at a specific height in the sample in order to monitor the in-plane progression of crystallization. Typical slices measured for a binary mixture made of 5 % of PDLA in 1.4 dioxane at about 280 μm below the surface are shown in **Figure 7** as a function of time. These slices are obtained by phase contrast imaging as the ones issued from absorption only were too poor to be properly analyzed. This definitely shows the superiority of the phase contrast imaging for such an analysis. At $t=0$ s, the slice is uniformly grey signifying that the PDLA is homogeneously dissolved in the dioxane. When time passes by, dark regions appear on the slices after about 500 s to 750 s. At 1250 s one can clearly observe that a large number of dark particles are formed on the right side of the image probably nucleating from one side of the cell. These particles steadily grow and invade a large part of the slice as seen at 9750s. From the composition of the initial solution it is obvious that the dark particles must be attributed to dioxane crystallites as dioxane is the majority phase present in the solution. Alternatively, white regions are related to the PDLA and to the non-crystallized solvent. This in turn evidences that the in-situ tomography is a perfect tool to monitor the phase transition between the liquid to solid state occurring during the crystallization of the solvent as a function of time.

Note however that the images obtained here are limited by the resolution of the instrument with a voxel size of $1.4\mu\text{m}^3$. Any feature below this threshold is therefore smeared out. This statement is valid for both the crystals forming and even more for the PDLA minority phase that occupies a small fraction of the final volume. This phase is the one that will remain after solvent extraction. The instrumental resolution is also a limiting factor for exploring the evolution of the size of the crystallites upon a quench at very low temperature as in this case the crystallites will be too small to be detected. Here, the result obtained shown when the top part of the cell was at about -10°C in the steady state. To confirm the previous statement, all measurements made with a top temperature of -50°C failed as the crystallites were likely too small.

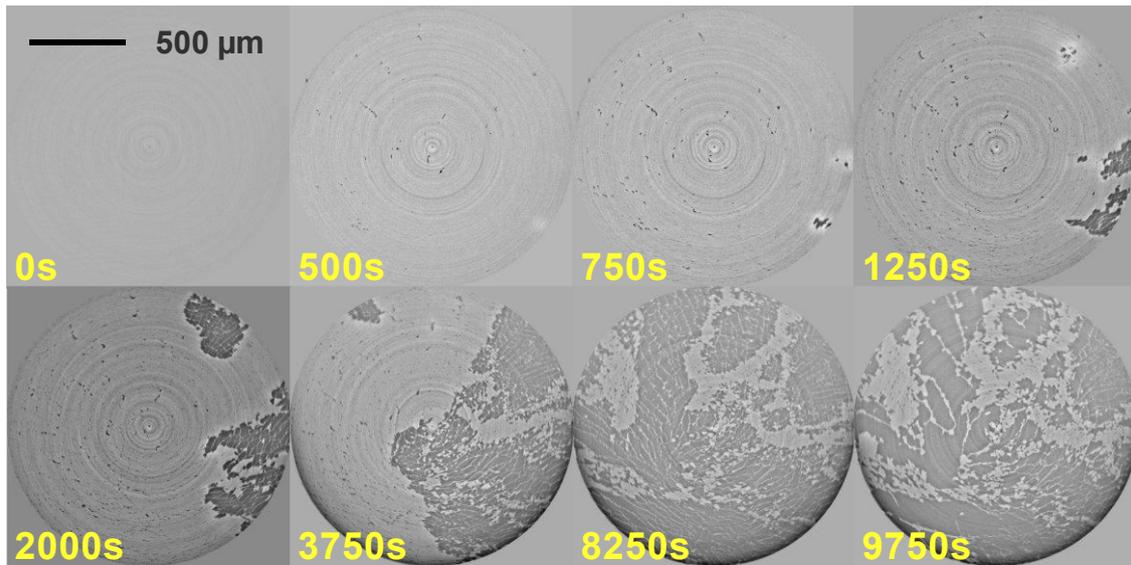


Figure 7: Slice taken a $z=280\mu\text{m}$ from the top surface of the cell showing the progression of crystallization front as a fonction of time. Roughly speaking the equilibrium temperature at this position was of the order of $-7,25^\circ\text{C}$.

Similar experiments were conducted with another concentration of 10% of PDLA in dioxane. As shown in **Figure 8**, the crystallization pathway is now quite different especially at large time of cooling. We indeed observe that the surface covered by solvent crystals is quite weak compared to the one made at 5% w/w. Non-ergodicity is also quite obvious in this case. The reason for which there is such a discrepancy between the slices could be due to a variation of the height of the liquid in the cell which could impede the imaging at the same place with respect to the top surface of the liquid. Nonetheless, one can yet observe that the general trend is quite similar with the formation of small patches of crystalline areas growing in size as time passes by. It is worth noting that as the crystal growth is 3D, 2D slices give only a partial view of the growth process mainly because of the temperature gradient induces by the nitrogen flow device.

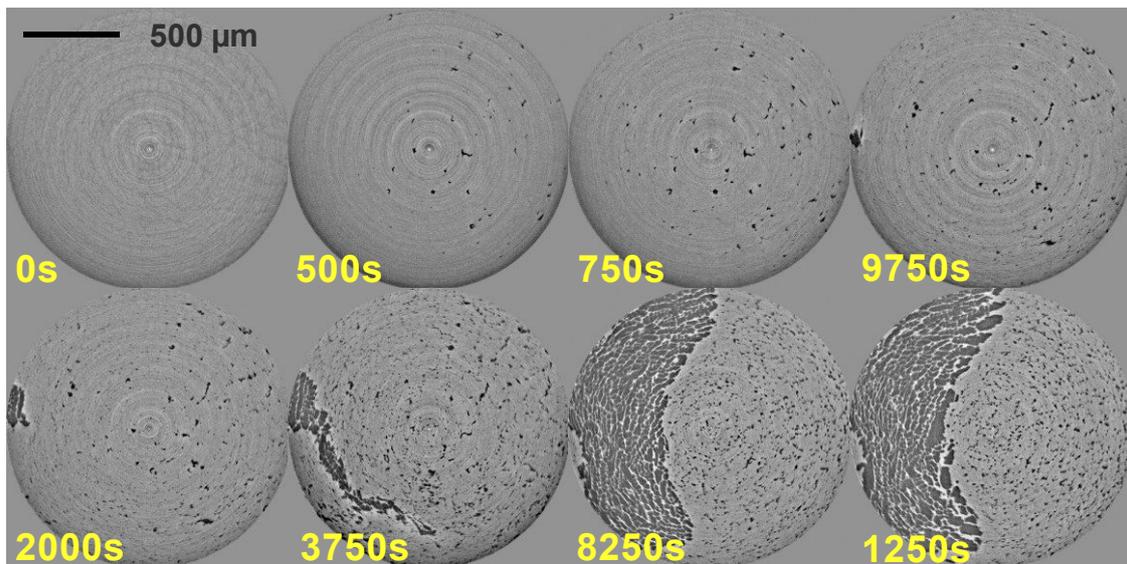


Figure 8: Slice taken a $z=280\mu\text{m}$ from the top surface of the cell showing the progression of crystallization front as a function of time. Roughly speaking the equilibrium temperature at this position was of the order of $-7,25^\circ\text{C}$.

To go beyond the simple observation of these slices one can extract the surface area occupied by the crystallites as a function of time. This is shown in **Figure 9** for the 5% and 10% W/W solutions. It can be seen that the 5% solution exhibits a much faster crystalline invasion than the 10% one. The reason for this can be mainly attributed to two factors: i) the 5% solution is less viscous than the 10% and ii) the bigger the PDLA concentration the more difficult the phase transition to occur as the solvent cannot be considered any more as a pure solvent.

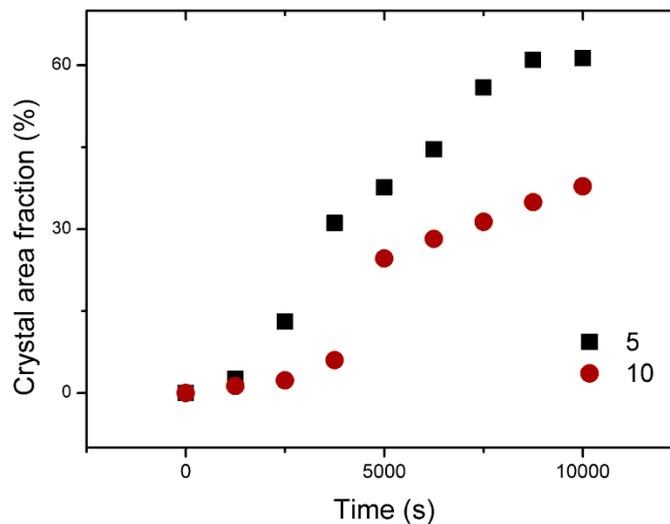


Figure 9 : Surface area occupied by 1-4 dioxane crystals in the 2D slices as a function of time (black squares 5% and red circles 10% PDLA w/w in dioxane).

A more realistic view of the evolution of the crystallization is obtained in 3D plots of the monitored zone. These 3D graphs shown in **Figure 10** are very informative as they show that the crystals indeed form from the top surface towards the bottom part of the cell due to the temperature gradient. The part where the solvent was crystallized is well defined whereas bottom part shown some circular trajectories. This phenomenon is due to that part of solution was still liquid. And the rotation of the cell caused the displacement of little crystal while they grow in an unfrozen phase. Moreover, the top surface exhibits a certain concavity reminiscent at the center. This phenomenon was also seen during

homogeneous quench, it was attributed to the shrinkage of the material due to the 25 % density difference between the liquid and solid 1,4 dioxane [23], [24]. Nonetheless one can definitely observe that the crystalline front progresses downwards when time passes by.

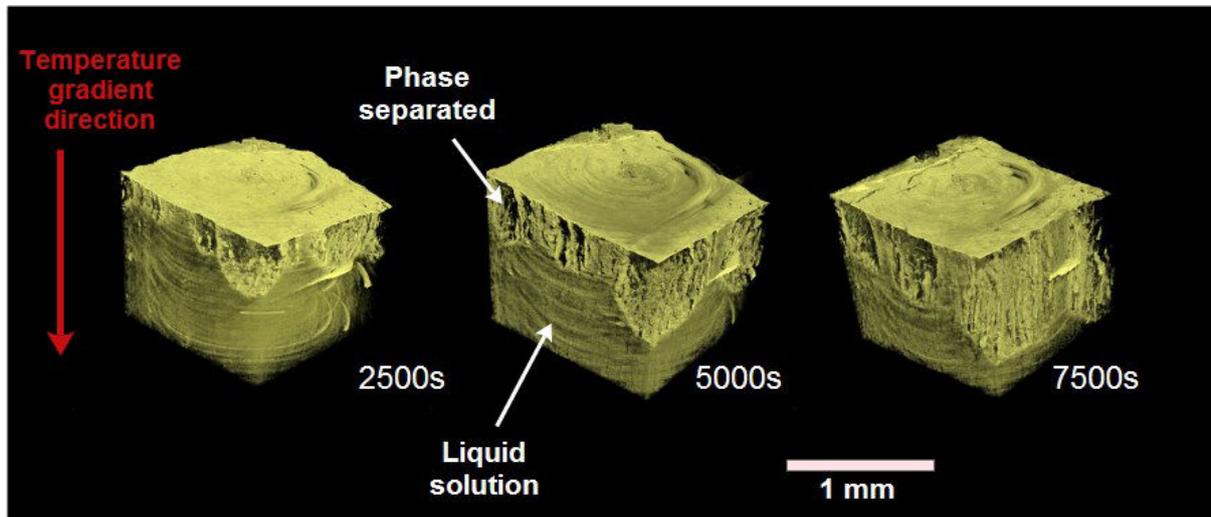


Figure 10: 3D tomograms obtained at different maturing times

To get a better estimation of the progression of the crystallization front sagittal cuts were carried out in the 3D tomograms (**Figure .10**). One can clearly observe on these cuts that the crystallization front moves slowly downwards leaving some polymer enriched regions unaffected. Further evidence of the progression of the front are obtained from transverse cuts at different heights inside the cell. In these cuts one can clearly observe that the top part of the cell at $z=560\mu\text{m}$ is almost fully invaded at 7500s while the bottom one is only occupied by crystals in the bottom right corner at 7500s. At this latter elevation, only a few crystals are seen at the early stages $t=2500\text{s}$ and $t=5000\text{s}$. These cuts provide essential information about the progression of the crystallization front.

They evidence that the progression is extremely slow with this thermal gradient which the top part of the cell is at -10°C while the bottom part is at 8°C . It is a serious handicap for the development of an homogeneous crystallization pattern. Indeed, turbidimetry measurements have clearly established that at a concentration of 5% of polymer in 1,4 dioxane the crystallization temperature is of the order of $3,5^{\circ}\text{C}$. This indicates that it is expected that the crystallization would be extremely difficult in the bottom part of the cell as evidenced in the tomograms.

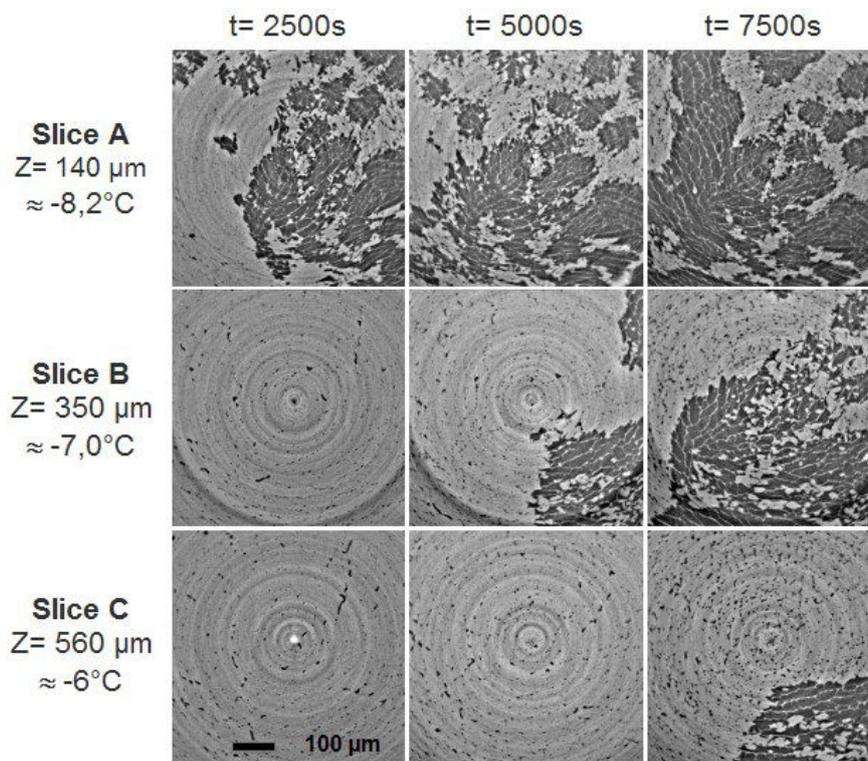


Figure 11: Slices at different height consequently temperature and times for the 5% PDLA experiment

Liquid-liquid phase separation

One ternary mixture has been also studied with the *in-situ* experiment. Some tomograph slices of this experiment are shown in the **Figure 12**. These results confirm that a behavior of phase separation is radically different than with binary solution. After only 125 seconds of cooling, one structure similar of the scaffold produced by homogenous quench is ever observable. In fact, the cloud point temperature has been measured by turbidimetry at 18 °C for at speed of 1°C/min, and the temperature at height and time is estimated at -1,5°C. The cloud point temperature characterizes the start of the L-L phase separation.

This observation evidences the fact that bubble of dark grey uniquely composed of liquids (1,4 dioxane and water) since it is the large pores observed on the final matrix (**Figure 14**). On the following pictures, inside these bubbles the structures evolved. It seems that the clearest phase should due to the crystallization of 1,4-dioxane and the darkest phase to the formation of ice. DSC measurements showed that the 1,4-dioxane/water mixture had two crystallization peaks at -12 °C and -19 °C. The hypothesis is that the proximity of the temperature in the cell with the crystallization temperatures of the two compounds should explain the instability of these two phases. It should be noted that the polymer rich phase does not appear to be affected by the phenomena of crystallization. Thus, the images obtained allowed to produce the first visual which confirms the theoretical phenomenology of the shaping of scaffolds by liquid-liquid phase separation. However, it is difficult to go further in the analysis. Because in the early stages of phase separation, there is lack of contrast and then artefacts appear because of differences in density. Perhaps a better setting should improve the visuals.

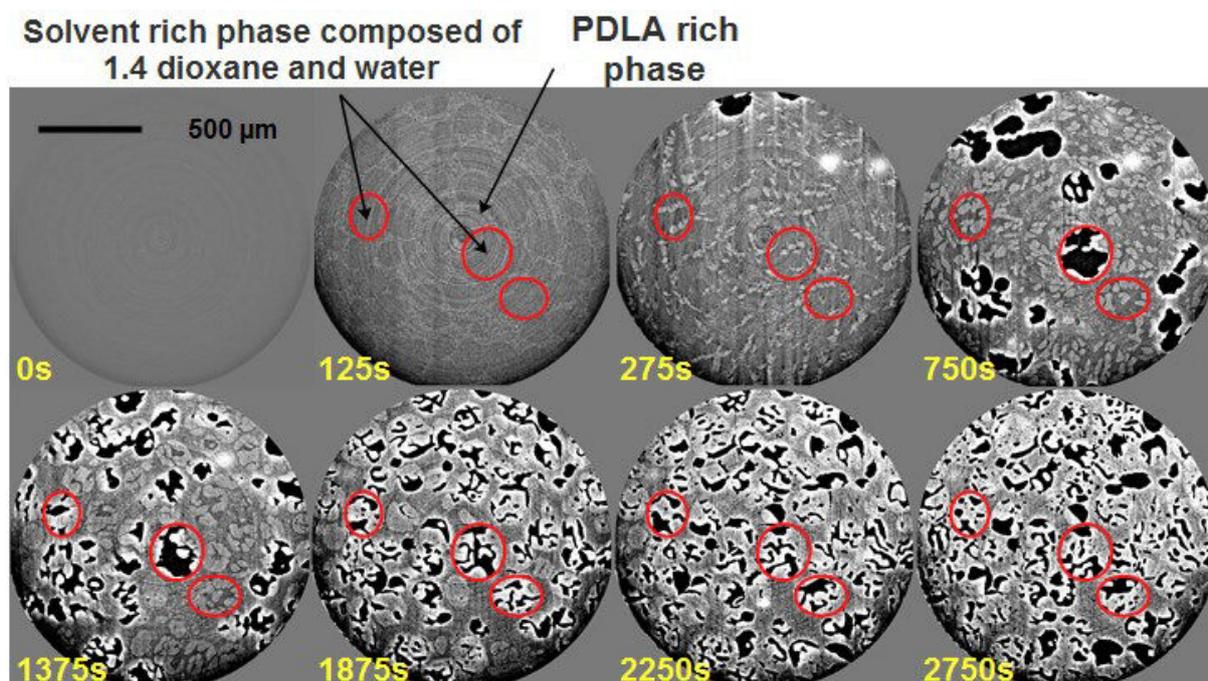


Figure 12 : Slices taken a $z=280\mu\text{m}$ from the top surface of the cell showing the phase separation mechanism of a ternary solution

Ex-situ scaffold analysis

The in-situ tomography reported in the previous section was quite interesting to unveil *in-situ* the progression of the phase separation. Yet the thermal gradient was a serious handicap to fully understand how scaffolds could be made when materials are made by uniform quenches. This is why we have also performed tomography on samples for which the quench was uniform and moreover for which the solvent was removed with supercritical CO_2 after phase separation.

One can clearly observe on the 3D tomograms of binary mixture (shown in **Figure 13**) that the porosity was better spatially distributed. Pores were smaller at low concentration of PDLA than at higher concentrations. The full analysis of the pore size and of the PDLA wall thickness carried out using BoneJ [24] a free plugin for the open source software ImageJ [25]. Results confirmed this statement and shows that the wall thickness becomes a bit bigger if the concentration of the polymer increases. With the exception of the sample produced from the ternary solution, results extracted from 3D tomograms are in agreement with the porosity measured by water pycnometry. The difference of the porosity results could be easily explain by the presence of pores below $1.4\ \mu\text{m}$ in size, the pixel resolution seen in SEM observation (**Figure 14**). Furthermore, scaffolds obtained by a solid-liquid separation shown a correlation between the porosity decreases when the concentration of the polymer increases. The relation between experimental parameters and scaffold properties have been deeply study in a previous paper.

Tableau 2 : Evolution of the pore diameter, wall thickness and porosity of PDLA samples solutions in 1-4 dioxane quenched at different temperature and in which the solvent was extracted by sc- CO₂. These properties were obtained from the 3D tomograms (Figure).

Sample	Temperature	Pores thickness (μm) Mean ± std	Walls thickness (μm) Mean ± std	Porosity from 3D (%)	Porosity from pycometry (%)
PDLA 5%	-1°C	67 ± 37	7.9 ± 3,0	88.3	87.8 ± 2.9
PDLA 5%	-18°C	47 ± 41	7.4 ± 2,4	87.0	87.0 ± 3.0
PDLA 7.5%	-1°C	46 ± 19	9.4 ± 3,7	82.6	84.2 ± 4.7
PDLA 10%	-1°C	40 ± 22	8.8 ± 3,0	80.8	84.1 ± 4.7
PDLA 7.5% H ₂ O 12%	-1°C	71±40	7.6 ± 2,4	51.2	91.1 ± 1.8
PDLA 7,5% H ₂ O 12%	-18°C	52±33	6,6 ± 2,5	40,8	89,7± 1,9

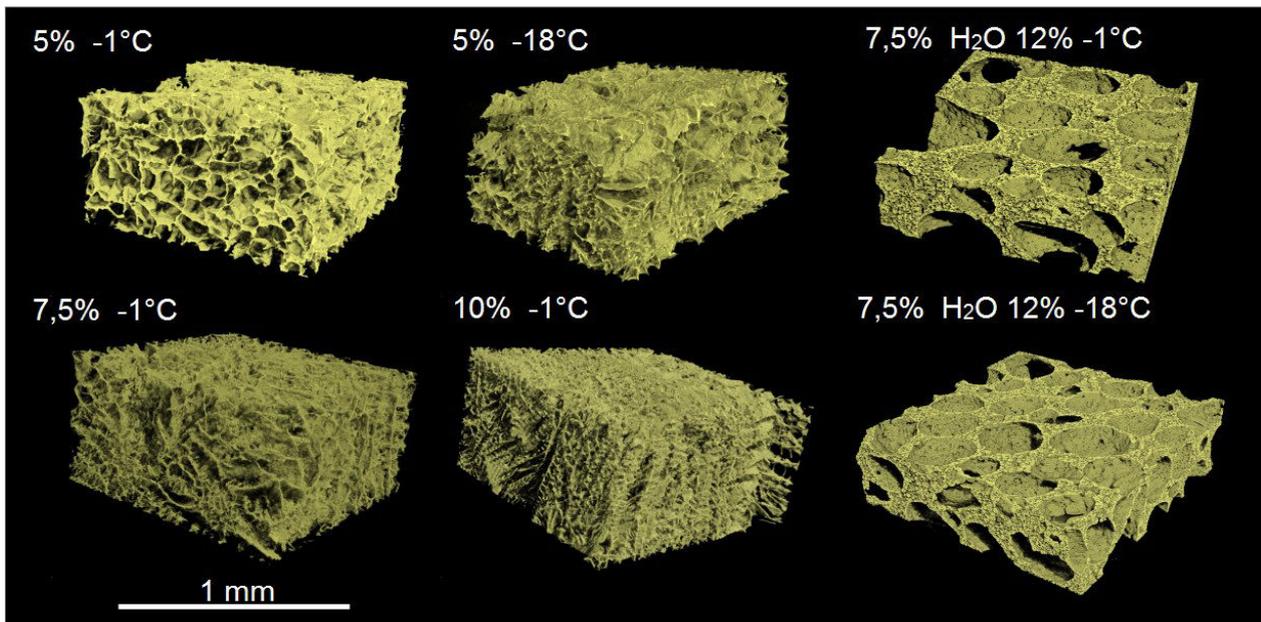


Figure 13: 3D tomograms of the PDLA scaffolds after solvent extraction for different quenching temperature and different formulation.

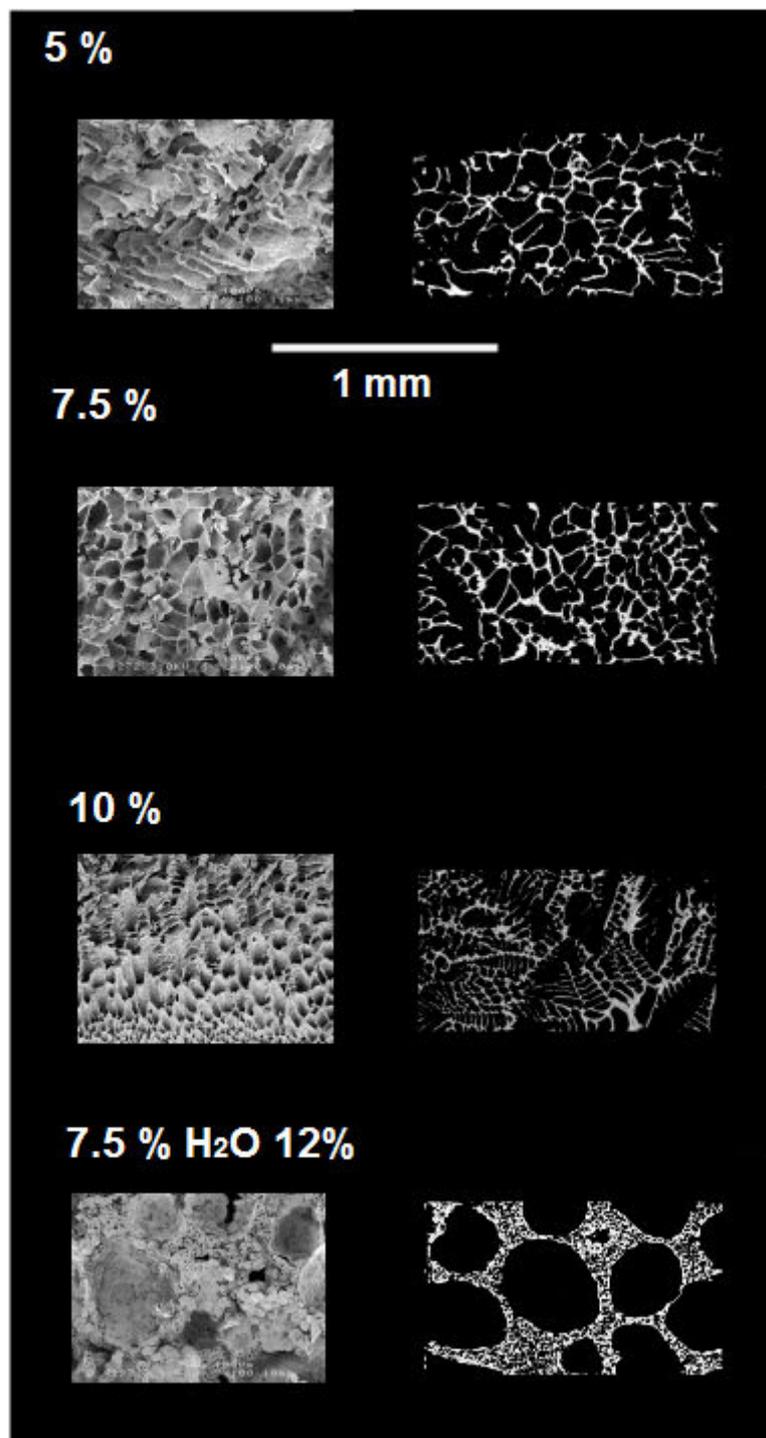


Figure 14 : Comparison of SEM images and slice extract from 3D tomograph taken in the same scaffold.

Conclusion

We have shown that the in-situ tomography of PDLA solutions in 1,4-dioxane during a cooling run is a key technique to understand the mechanism and kinetics of phase separation under cooling. The developed device is particularly efficient to monitor the solid-liquid phase separation and follow the crystallization front progresses in TIPS experiment. Yet a major drawback of our set-up was the existence of a very large thermal gradient which was slightly different of the traditional way to produce polymer scaffolds by quenching. However, the method is quite similar as production of oriented membranes by TIPS. In addition, we also suffered from a lack of spatial resolution (pixel size $>1.4\mu\text{m}$) to

apprehend in a more precise way the formation of the crystallites. Nonetheless it was possible to show that 3D tomography could be used to measure the crystal growth and to unravel the porosity of PDLA scaffolds when the solvent was extracted.

Acknowledgements

The authors are grateful for the financial support from the MATIERES project and the “Région Pays de la Loire”. The authors thank the ESRF for allowing the realization of the tomography experiment, and more specifically to the ID19 beamline (E. Boller and J-P. Valade) for the technical support. The authors thank the SCIAM (*“Service Commun d’Imagerie et d’Analyse Microscopique”*, University of Angers) for scanning electron microscopy images.

References

- [1] J. J. van Aartsen, 'Theoretical observations on spinodal decomposition of polymer solutions', *Eur. Polym. J.*, vol. 6, no. 7, pp. 919–924, Jul. 1970.
- [2] M. Bank, J. Leffingwell, and C. Thies, 'Thermally induced phase separation of polystyrene-poly(vinyl methyl ether) mixtures', *J. Polym. Sci. Part -2 Polym. Phys.*, vol. 10, no. 6, pp. 1097–1109, Jun. 1972.
- [3] P. van de Witte, P. J. Dijkstra, J. W. A. van den Berg, and J. Feijen, 'Phase separation processes in polymer solutions in relation to membrane formation', *J. Membr. Sci.*, vol. 117, no. 1, pp. 1–31, Aug. 1996.
- [4] S. Molladavoodi, M. Gorbet, J. Medley, and H. Ju Kwon, 'Investigation of microstructure, mechanical properties and cellular viability of poly(L-lactic acid) tissue engineering scaffolds prepared by different thermally induced phase separation protocols', *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 17, pp. 186–197, Jan. 2013.
- [5] M.-H. Ho *et al.*, 'Preparation of porous scaffolds by using freeze-extraction and freeze-gelation methods', *Biomaterials*, vol. 25, no. 1, pp. 129–138, Jan. 2004.
- [6] A. Salerno, M. Fernández-Gutiérrez, J. S. R. del Barrio, and C. D. Pascual, 'Macroporous and nanometre scale fibrous PLA and PLA–HA composite scaffolds fabricated by a bio safe strategy', *RSC Adv.*, vol. 4, no. 106, pp. 61491–61502, Nov. 2014.
- [7] S. Cardea, L. Baldino, P. Pisanti, and E. Reverchon, '3-D PLLA scaffolds formation by a supercritical freeze extraction assisted process', *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 25, no. 2, pp. 355–362, Oct. 2013.
- [8] Z. Karim, A. P. Mathew, M. Grahn, J. Mouzon, and K. Oksman, 'Nanoporous membranes with cellulose nanocrystals as functional entity in chitosan: Removal of dyes from water', *Carbohydr. Polym.*, vol. 112, pp. 668–676, Nov. 2014.
- [9] N. Hilal, A. F. Ismail, and C. Wright, *Membrane Fabrication*. CRC Press, 2015.
- [10] H. Matsuyama, H. Okafuji, T. Maki, M. Teramoto, and N. Kubota, 'Preparation of polyethylene hollow fiber membrane via thermally induced phase separation', *J. Membr. Sci.*, vol. 223, no. 1–2, pp. 119–126, Sep. 2003.
- [11] T. Tanaka and D. R. Lloyd, 'Formation of poly(L-lactic acid) microfiltration membranes via thermally induced phase separation', *J. Membr. Sci.*, vol. 238, no. 1–2, pp. 65–73, Jul. 2004.
- [12] S. T. Ho and D. W. Huttmacher, 'A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds', *Biomaterials*, vol. 27, no. 8, pp. 1362–1376, Mar. 2006.
- [13] E. Boller *et al.*, 'Techniques d'imagerie pour la caractérisation 3D des matériaux à l'ESRF', in *Matériaux 2010*, Nantes, France, 2010.
- [14] T. Weitkamp *et al.*, 'Status and evolution of the ESRF beamline ID19', in *AIP Conference Proceedings*, 2010, vol. 1221, pp. 33–38.
- [15] J.-Y. Buffiere, E. Maire, J. Adrien, J.-P. Masse, and E. Boller, 'In Situ Experiments with X-ray Tomography: an Attractive Tool for Experimental Mechanics', *Exp. Mech.*, vol. 50, no. 3, pp. 289–305, Mar. 2010.
- [16] L. Salvo *et al.*, 'X-ray micro-tomography an attractive characterisation technique in materials science', *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. Mater. At.*, vol. 200, pp. 273–286, Jan. 2003.
- [17] Q. Xing, X. Dong, R. Li, H. Yang, C. C. Han, and D. Wang, 'Morphology and performance control of PLLA-based porous membranes by phase separation', *Polymer*, vol. 54, no. 21, pp. 5965–5973, Oct. 2013.
- [18] J. Oliveira *et al.*, 'Effect of Solvent on The Physical and Morphological Properties of Poly(Lactic Acid) Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning', *J. Eng. FIBERS Fabr.*, vol. 9, no. 4, p. 117, 2014.
- [19] F. J. Hua, T. G. Park, and D. S. Lee, 'A facile preparation of highly interconnected macroporous poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) scaffolds by liquid–liquid phase separation of a PLGA–dioxane–water ternary system', *Polymer*, vol. 44, no. 6, pp. 1911–1920, Mar. 2003.
- [20] B. S. Kim and J. Lee, 'Directional crystallization of dioxane in the presence of PVDF producing porous membranes', *J. Cryst. Growth*, vol. 373, pp. 45–49, Jun. 2013.
- [21] F. Yang *et al.*, 'Manufacturing and morphology structure of polylactide-type microtubules orientation-structured scaffolds', *Biomaterials*, vol. 27, no. 28, pp. 4923–4933, Oct. 2006.
- [22] A. Olejniczak, A. Katrusiak, and A. Vij, 'Halogen···oxygen aggregation and disorder modes in pressure frozen XCF2CF2X: 1,4-dioxane (X = Br,I) complexes', *CrystEngComm*, vol. 11, no. 7, p. 1240, 2009.

- [23] E. Calvo *et al.*, 'Heat Capacities, Excess Enthalpies, and Volumes of Mixtures Containing Cyclic Ethers. 4. Binary Systems 1,4-Dioxane + 1-Alkanols', *J. Chem. Eng. Data*, vol. 44, no. 5, pp. 948–954, Sep. 1999.
- [24] M. Doube *et al.*, 'BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ', *Bone*, vol. 47, no. 6, pp. 1076–1079, Dec. 2010.
- [25] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, 'NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis', *Nat. Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 671–675, Jul. 2012.

5. Discussion générale

Cette étude a permis pour la première fois de visualiser la séparation de phase entre le PDLA et le 1,4-dioxane. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la séparation de phase S-L avec deux solutions de PDLA / 1,4-dioxane à 5 et 10 % en masse. La tomographie X en contraste de phase a donné de bons résultats ; les images 2D et les reconstructions 3D nous ont permis de visualiser la séparation de phase par cristallisation au sein de la solution. La **Figure 39** montre la cristallisation du dioxane dans la solution à 5%. L'évolution de la phase cristalline a ainsi pu être mesurée pendant le refroidissement par le suivi du volume des cristaux. Cependant, ces images ont permis de mettre en évidence ce qui peut apparaître soit comme une lacune soit comme un avantage de notre procédé : le gradient de température verticalement imposé dans la solution (du haut vers le bas). En effet, le refroidissement par CRYOSTREAM entraîne une différence de température d'environ 18 °C entre le haut et le bas de la cellule. Le thermocouple placé à la surface de la solution a enregistré une température à l'équilibre d'environ -10 °C alors que celui placé au fond de la cellule a enregistré une température d'environ 8 °C. Du fait de la présence de ce gradient, une forte anisotropie dans la formation des cristaux de 1,4-dioxane a été observée : ceux-ci croissent préférentiellement dans la direction du gradient de température.

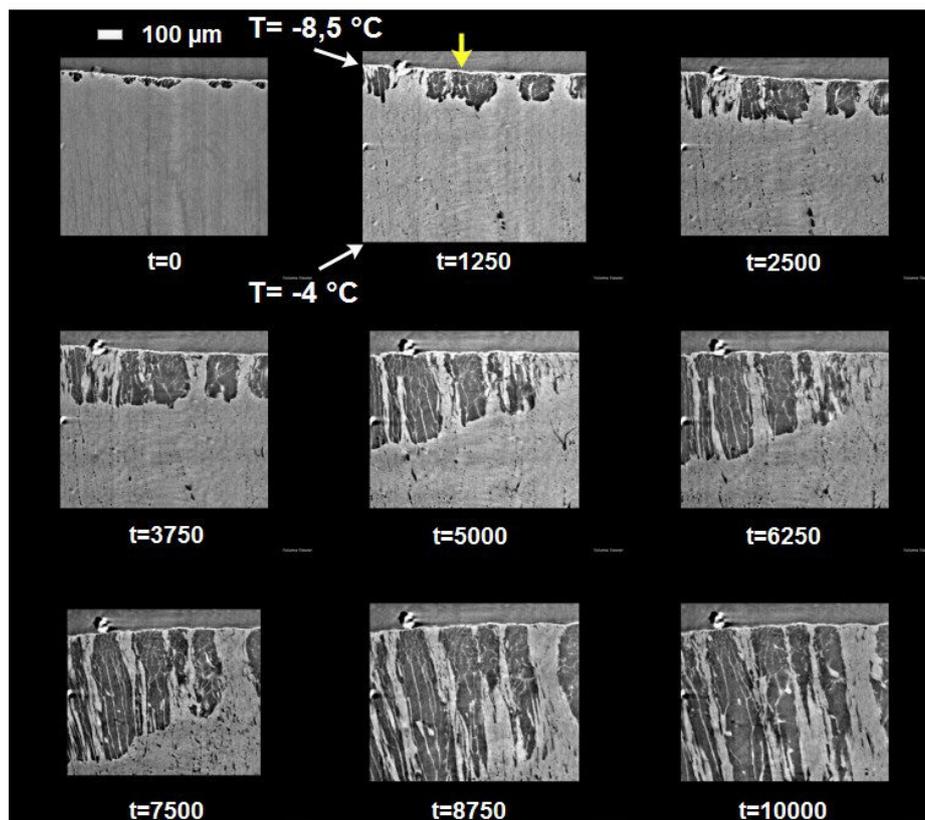


Figure 39 Coupes verticales effectuées dans les tomographies 3D de la solution à 5% en PDLA montrant la progression du front de cristallisation à travers la solution en fonction du temps.

Ces analyses *in-situ* ont aussi mis en évidence une différence dans la cinétique de formation des cristaux avec la concentration de la solution. La cristallisation progresse moins vite dans la solution plus concentrée et les cristaux formés sont plus petits.

La séparation de phase L-L a également fait l'objet d'une observation *in-situ* par tomographie X. La cinétique des différents évènements de la séparation de phase a été imagée durant le refroidissement. La **Figure 40** montre les différentes étapes (à environ 280 μm en dessous de la surface) : au départ la solution est homogène puis rapidement la séparation de phase débute. Des bulles plus foncées composées d'eau et de 1,4-dioxane apparaissent alors qu'une phase riche en polymère est visible en plus clair à l'interface. À cette étape, la différence de contraste entre les deux phases est moins marquée que pour le mélange binaire car la différence de densité entre les deux phases est plus faible : le 1,4-dioxane n'est pas cristallisé. Sur les images suivantes, il apparaît deux phases dans les bulles qui correspondent à la cristallisation de l'eau et du 1,4-dioxane. En dépit des informations tirées des coupes bidimensionnelles, les analyses n'ont pas pu être plus approfondies car la qualité des images acquises n'était pas optimale.

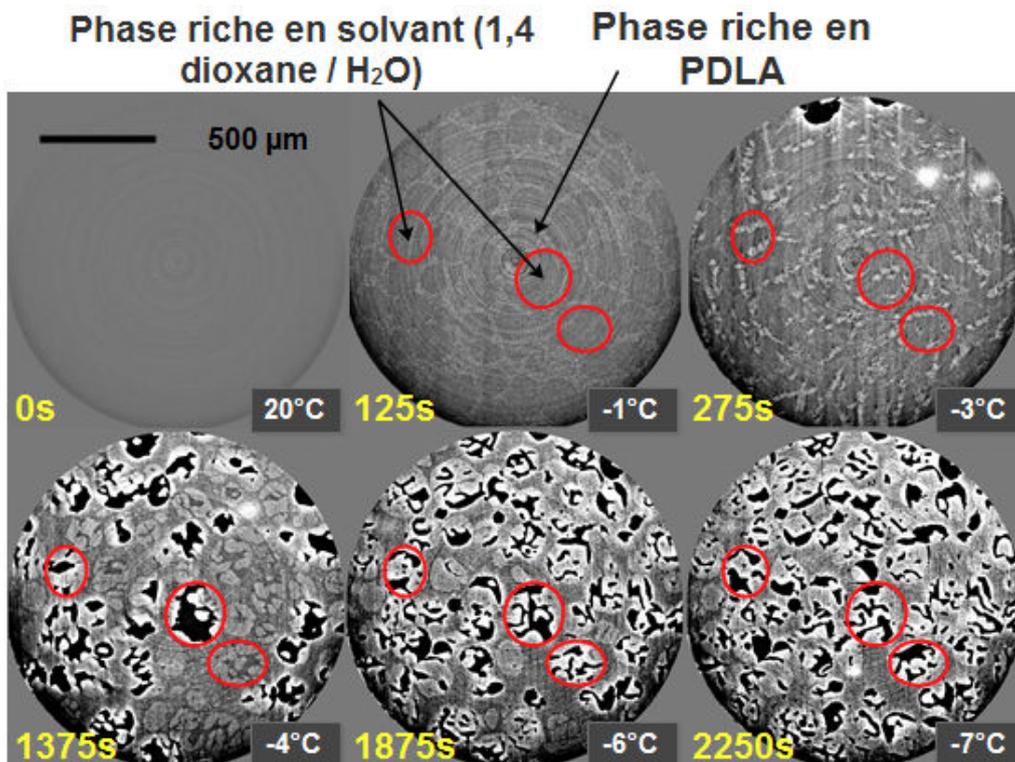


Figure 40 : Coupes horizontales d'une solution ternaire en refroidissement montrant la séparation de phase au cours du temps $Z = -280 \mu\text{m}$.

Enfin, des matrices produites *ex-situ* ont été reconstruites **Figure 41**. Les analyses confirment les résultats de l'étude paramétrique précédente (**Tableau 13**). Ces résultats ont démontré l'intérêt de caractériser des matrices de polymère par tomographie X et le potentiel des méthodes de traitement des données générées. Une seconde valeur de porosité a été déterminée par pycnométrie, elle permet de confirmer les valeurs calculées par tomographie X, pour les matrices obtenues à partir des mélanges binaires. Par contre, la valeur de porosité

obtenue par tomographie-X a largement été sous-évaluée pour la matrice fabriquée à partir d'un mélange ternaire.

Ce résultat s'explique par la microstructure des matrices fabriquées à partir de mélanges ternaires (**Figure 42**). Cela a permis de mettre en évidence une des principales limites de la technique qui est la taille du voxel. Cette taille conditionne complètement la visibilité des phases en présence. Ainsi, lorsque la dimension caractéristique d'une des phases est inférieure à la taille d'un voxel, il devient impossible d'observer cette phase. Dans le cas présent, la taille minimum du voxel est donc de $1.4\mu\text{m}$ dans une dimension ce qui conduit à pouvoir raisonnablement sonder des objets dont la taille était de l'ordre de $4\mu\text{m}$ (à peu près trois voxels).

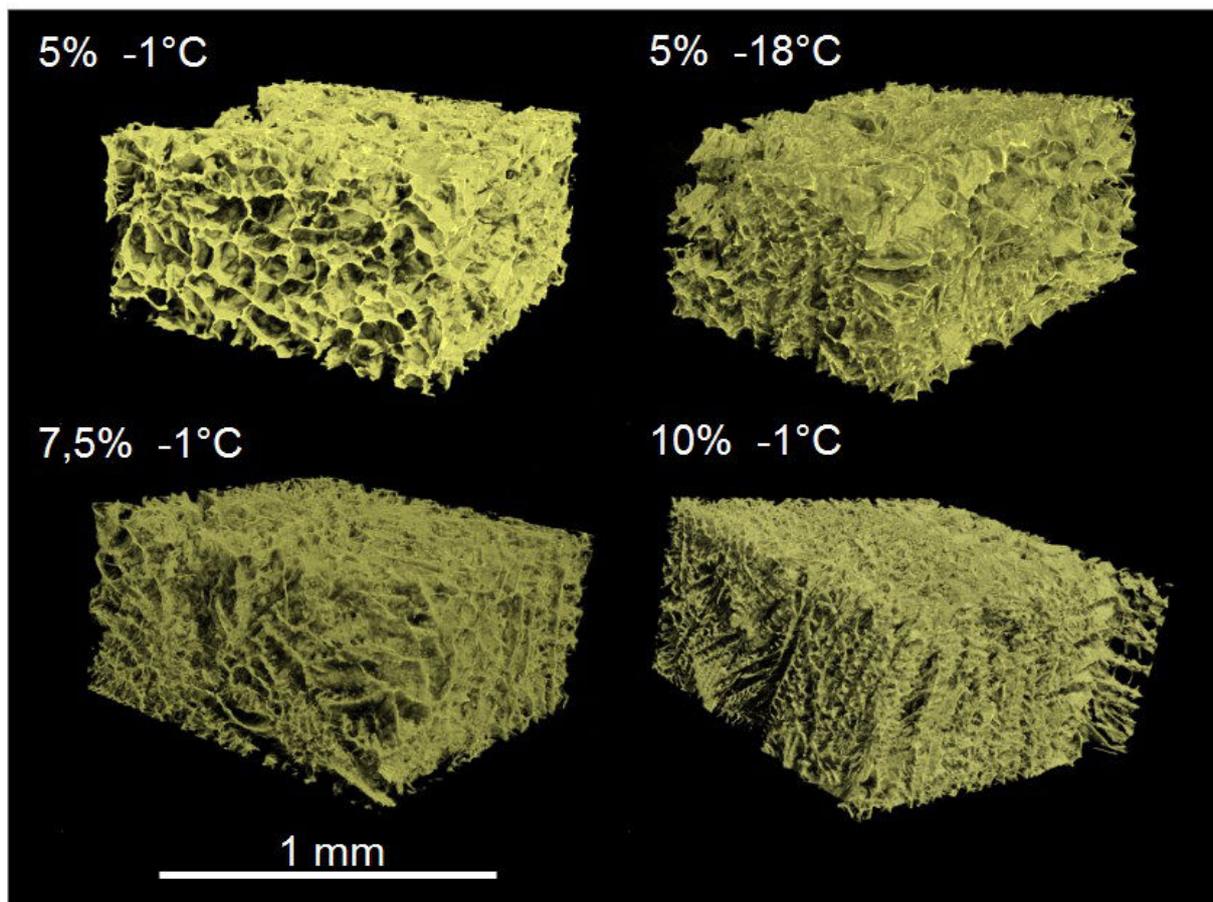


Figure 41 : Tomographies 3D des matrices de PDLA après extraction du solvant produites à différentes températures et concentrations en PDLA.

Tableau 13 : Caractéristiques des matrices obtenues à partir des tomographies et par pycnométrie pour la valeur de porosité en rouge.

Matrice	Temperature (°C)	Pores (µm)	Parois (µm)	Porosité à partir des 3D (%)	Porosité (pycnométrie) (%)
PDLA 5%	-1	67 ± 37	7,9 ± 3,0	88,3	87,8 ± 2,9
PDLA 5%	-18	47 ± 41	7,4 ± 2,4	87,0	87,0 ± 3,0
PDLA 7,5%	-1	46 ± 19	9,4 ± 3,7	82,6	84,2 ± 4,7
PDLA 10%	-1	40 ± 22	8,8 ± 3,0	80,8	84,1 ± 4,7
PDLA 7,5% H ₂ O 12%	-1	71±40	7,6 ± 2,4	51,2	91,1 ± 1,8
PDLA 7,5% H ₂ O 12%	-18	52±33	6,6 ± 2,5	40,8	89,7± 1,9

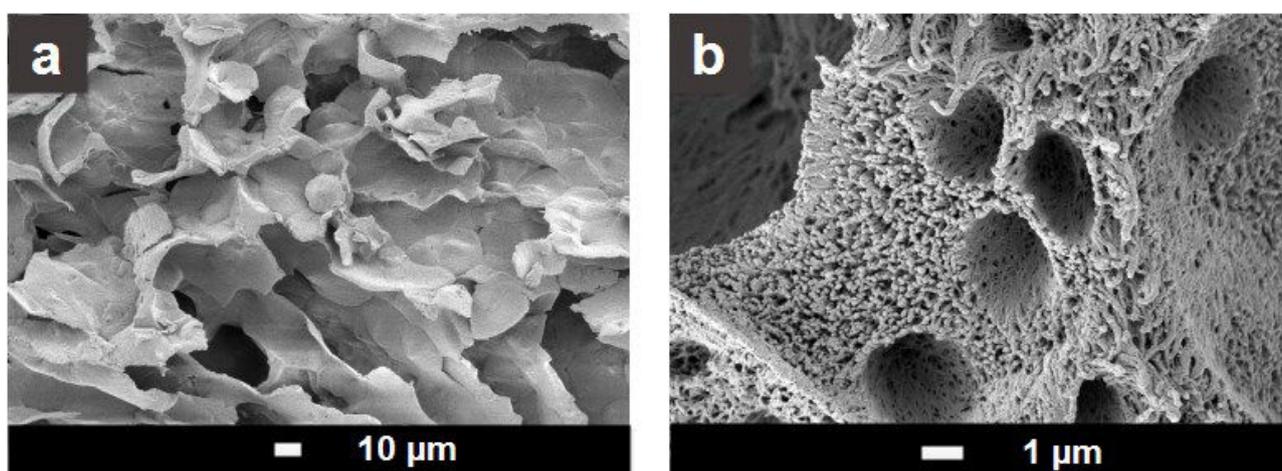


Figure 42 : Zoom sur des structures obtenues à partir d'une solution binaire a) et d'une solution ternaire b).

6. Conclusion

Pour conclure, cette étude nous a permis de mettre au point une expérience originale pour observer la séparation de phase au cours du procédé TIPS. La présence d'un gradient de température dans la cellule a conduit à l'observation de pores très anisotropes allongés dans la direction du gradient de température. On peut de ce fait considérer que le gradient de température est un paramètre opératoire intéressant pour créer une orientation contrôlée de la porosité. Par comparaison avec les études menées *ex-situ*, on peut également conclure qu'un refroidissement plus homogène permet d'obtenir des matrices plus isotropes.

De plus, cette étude a aussi permis de développer une méthode d'analyses efficaces et non-destructives des matrices obtenues. Cette méthodologie pourra être réutilisée pour la caractérisation de matrices polymères mesurées avec un tomographe de laboratoire (sous réserve de structure compatible avec la résolution de l'appareil).

7. Perspectives

Les analyses des données acquises à l'ESRF sont encore en cours d'analyse et quelques résultats supplémentaires devraient être extraits prochainement. À partir des données des expériences *in-situ*, un cristal de 1,4-dioxane sera isolé, pour pouvoir analyser sa croissance le long du gradient de température. Ces données pourraient éventuellement servir à la compréhension de mise en forme de matrice à structure orientée de façon unidirectionnelle [87], [138].

L'analyse des données 3D se poursuit pour développer une méthode permettant de déterminer la surface interne des matrices et l'interconnectivité. Plusieurs solutions ont été testées, mais les résultats obtenus ne sont pas encore suffisamment aboutis.

Dans un second temps la mise en évidence de la sensibilité du 1,4 dioxane au gradient de température pourrait permettre de mettre en forme des matrices de PLA aux canaux orientés par séparation de phase S-L. Ce type de matériaux pourrait servir à l'élaboration de membrane par exemple.



Chapitre 4 : Elaboration de matrices de PLA par un procédé de moussage sans solvant en milieu CO₂ SC et étude comparative le procédé TIPS.

1. Introduction

Cette dernière partie du travail de thèse est consacrée à l'étude d'un procédé de moussage dit « physique » et utilisant le CO₂-SC comme agent gonflant. Cette méthode présente l'avantage de n'utiliser aucun solvant organique. Ce chapitre a pour but de présenter les premiers résultats obtenus grâce à ce procédé sans solvant. Dans ce travail, nous avons étudié l'influence **de la cristallinité du PLA, de la température de moussage, de la pression et de la vitesse de dépressurisation** sur les caractéristiques des mousses obtenues (structure : masse volumique et taille de pores). Enfin, une étude comparative des résultats a été réalisée sur les caractéristiques des mousses obtenues avec procédé sans solvant et le procédé TIPS, ceci dans le but de conclure sur les propriétés d'usage des matériaux obtenus et de leurs applications potentielles.

2. Matériels et méthodes

2.1. Procédé batch de moussage sans solvant

La **Figure 43** représente les principales étapes du moussage dit « physique ». Initialement, une quantité d'environ 100 mg de PLA est placée dans une cellule en inox. Cette cellule (tube en INOX) est plongée dans un bain d'huile régulé à la température désiré pour le moussage. Le temps nécessaire à la mise en température est de 15 minutes. Ensuite, le CO₂-SC est injecté dans la cellule au-dessus des conditions critiques pour assurer sa solubilisation dans le PLA. Après 2h de saturation en CO₂, la cellule est sortie du bain et la dépressurisation est régulée par une vanne de régulation proportionnelle pneumatique pilotée par ordinateur. Les consignes de dépressurisation sont gérées par le logiciel FLOWPLOT dans lequel sont programmés des scripts de commande de régulation. Cette dépressurisation rapide provoque une instabilité thermodynamique qui provoque la nucléation de bulles de CO₂ au sein de la matrice de PLA. Sous l'effet de la chute de pression, le CO₂ auparavant piégé dans la matrice diffuse, conduisant aux grossissements et à la coalescence de bulles de CO₂ et entraînant *in fine* l'expansion du polymère. L'expansion du CO₂ étant endothermique, la température de la cellule

chute de façon drastique. Au passage de la température de transition vitreuse du PLA, le polymère est figé dans une structure microcellulaire. La matrice est ensuite rapidement extraite de la cellule.

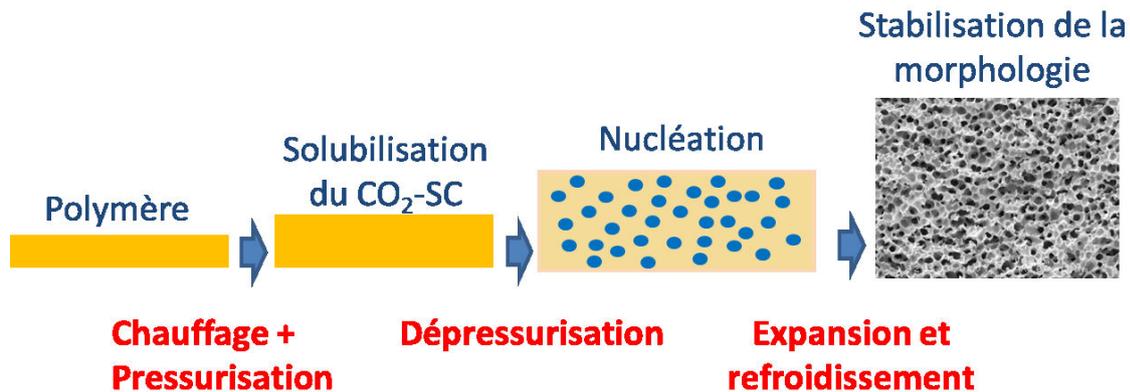


Figure 43 : Représentation schématique des mécanismes du moussage physique

En fonction de la nature du PLA, deux méthodes ont été développées : une pour les PLAs semi-cristallins et une pour les PLAs amorphes. La **Figure 44** montre l'évolution des paramètres opératoires de pression et de température en cours du procédé en fonction de la nature du PLA.

La méthode 1, utilisée pour les PLA semi-cristallins : Le PLA est chauffé à 175°C soit à une température supérieure à sa température de fusion (T_f). Cela permet de faire fondre la partie cristalline avant de commencer la saturation en CO_2 SC et d'éviter une éventuelle recristallisation du PLA en présence du CO_2 . Par ailleurs, d'après la littérature, il est bien connu que le CO_2 diffuse moins bien dans la partie cristalline [59]. En l'absence d'agitation dans la cellule, le PLA est maintenu à l'état fondu et saturé en CO_2 SC durant deux heures. A la fin de l'étape de saturation, la température du PLA est abaissée en plongeant la cellule dans le second bain (entre 60 et 110°C). Cette diminution de la température entraîne une augmentation de la viscosité du PLA, nécessaire pour limiter la diffusion du CO_2 hors de la matrice et favoriser ainsi l'expansion volumique de la mousse de PLA. Après 15 minutes de stabilisation de la température, la cellule en température est ensuite dépressurisée.

La méthode 2, utilisée pour les PLA amorphes : Cette méthode nécessite de chauffer beaucoup moins, puisque la température de transition vitreuse (T_g) des PLAs est autour de 55°C. Ainsi, le PLA est chauffé à une température inférieure à sa T_g et la solubilisation s'effectue à cette même température toujours pendant 2h. Ensuite la cellule est dépressurisée.

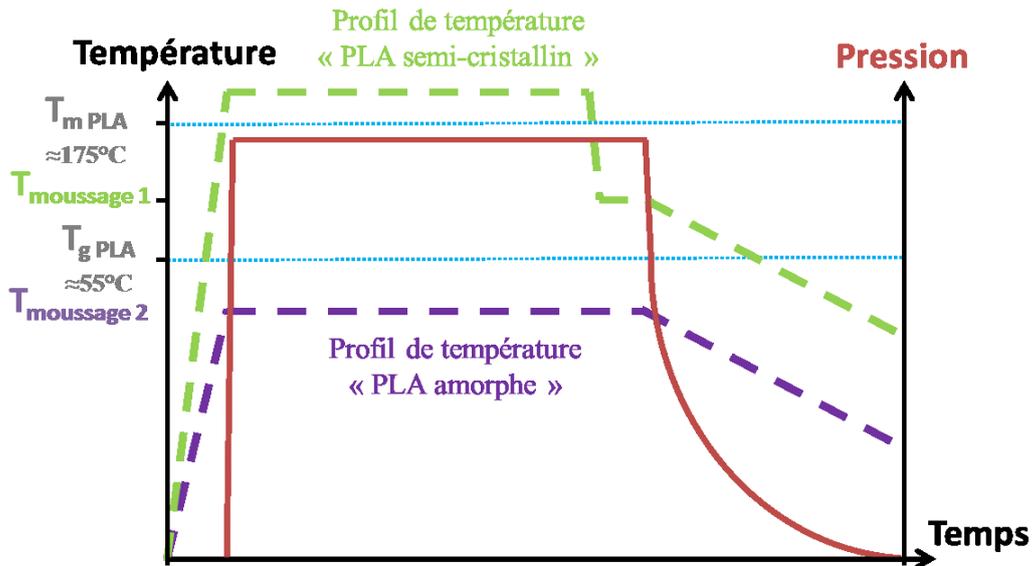


Figure 44 : Evolution des variables opératoires pendant le procédé de moussage sans solvant

2.2. Description de l'appareillage

L'appareillage utilisé pour ce procédé batch de moussage sans solvant est représenté en **Figure 45**. Le moussage s'effectue dans des cellules réalisées à partir de raccord inox haute pression de volume interne 5 ou 25 mL (**Figure 46**). La régulation en température est assurée par un ou deux bains d'huile dans lesquels la cellule est plongée. L'utilisation de deux bains permet de rapidement changer la température de la cellule. La pressurisation en CO₂ est assurée par une pompe seringue haute pression de 100 ml (ISCO, Modèle 100DX, Etats-Unis), et alimentée en amont par une bouteille de CO₂ liquide. Enfin le contrôle de la dépressurisation s'effectue grâce à une vanne de régulation proportionnelle pneumatique asservie par un transmetteur de pression électronique (Bronkhorst, Pays-Bas) et commandée par ordinateur.

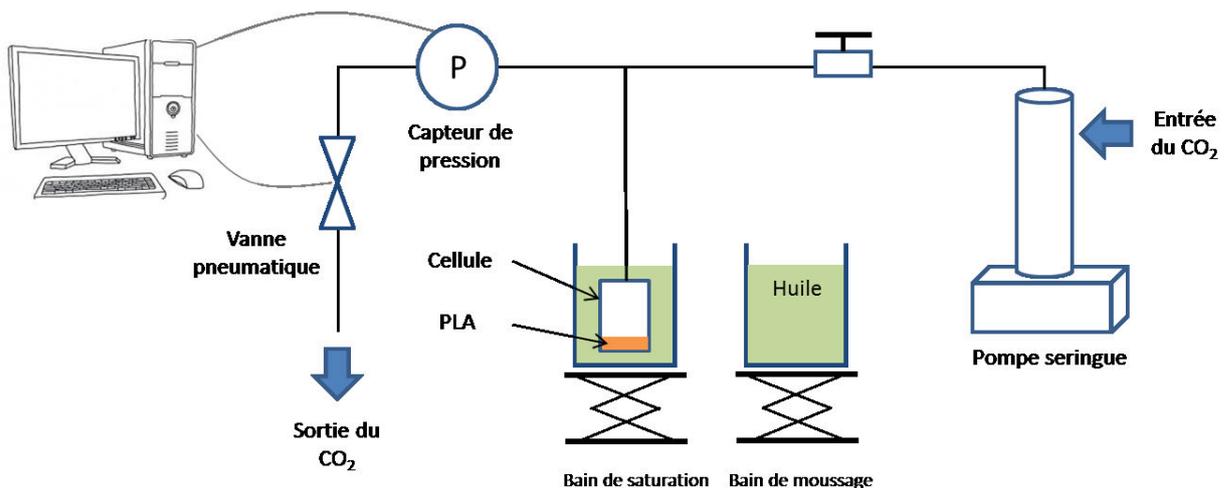


Figure 45 : Appareillage conçu pour le moussage sans solvant



Figure 46 : Cellule de moussage sans solvant 5 mL

2.3. Les PLAs

Lorsque nous avons commencé ces expériences nous n'avions pas la possibilité de commander des PLA synthétisés à façon. Nous avons à disposition trois références de grade de PLA semi-cristallins commerciaux. En revanche, les expériences sur les PLAs amorphes étant plus récentes, nous avons utilisé le PLA amorphe fourni par l'IBMM.

Tableau 14 : Tableau des propriétés des PLAs utilisés pour les expériences de moussage sans solvant.

	PLA 3251D	PLE 001	PDLA 001	PLA amorphe
Producteur / distributeur	Natureworks	Natureplast	Natureplast	IBMM
Masse moléculaire Mw (g/mol)	55 000	NC	47 000	50 000
Indice de fluidité à chaud (MFI) (190°C, 2,16 kg) (g/10 min)	35	2-5	22±5	n.c.
Température de transition vitreuse Tg (°C)	61	59	60	41
Température de fusion Tm (°C)	171	162	170	/
Température de cristallisation Tc (°C)	104	101	106	/
Cristallinité Xc (%)	27	25	49	/

3. Résultats et discussion

3.1. Moussage de PLA semi-cristallin

3.1.1. Expérience préliminaire : Sélection du PLA

Nous avons choisi initialement d'étudier trois PLA semi-cristallins : PDLA001, PLE001 et PLA3251D. Dès les premiers essais, nous avons dû écarter de l'étude le PDLA001 qui fut inadapté pour le moussage sans solvant en l'absence d'expansion de la matrice obtenue quelles que soient les conditions opératoires. Nous pouvons supposer que la cristallinité élevée ($X_c \approx 50\%$) du polymère rigidifie trop la matrice pour permettre l'expansion. Les essais poursuivis avec les deux autres polymères, ont permis de mettre en évidence la gamme de température de moussage avec expansion : de 60 et 100°C pour le PLE001 et de 100 à 120 °C pour le PLA3052D. Nous avons néanmoins retenu seulement le PLE001 pour la suite de l'étude, compte-tenu de l'obtention de structures plus homogènes et de l'étendue de la gamme de température de moussage plus large (**Figure 47**). Nous pouvons supposer que cela est dû à la plus grande viscosité à l'état fondu du PLE001 comparativement au PLA3052D (**Tableau 14**), permettant ainsi un meilleur maintien de l'expansion du CO₂ et donc une meilleure processabilité du polymère. En effet, *Mihai et al.* et *Corre et al.* ont démontré le lien entre l'augmentation de la viscosité des PLA et l'augmentation de la plage des températures de moussage [93], [139].

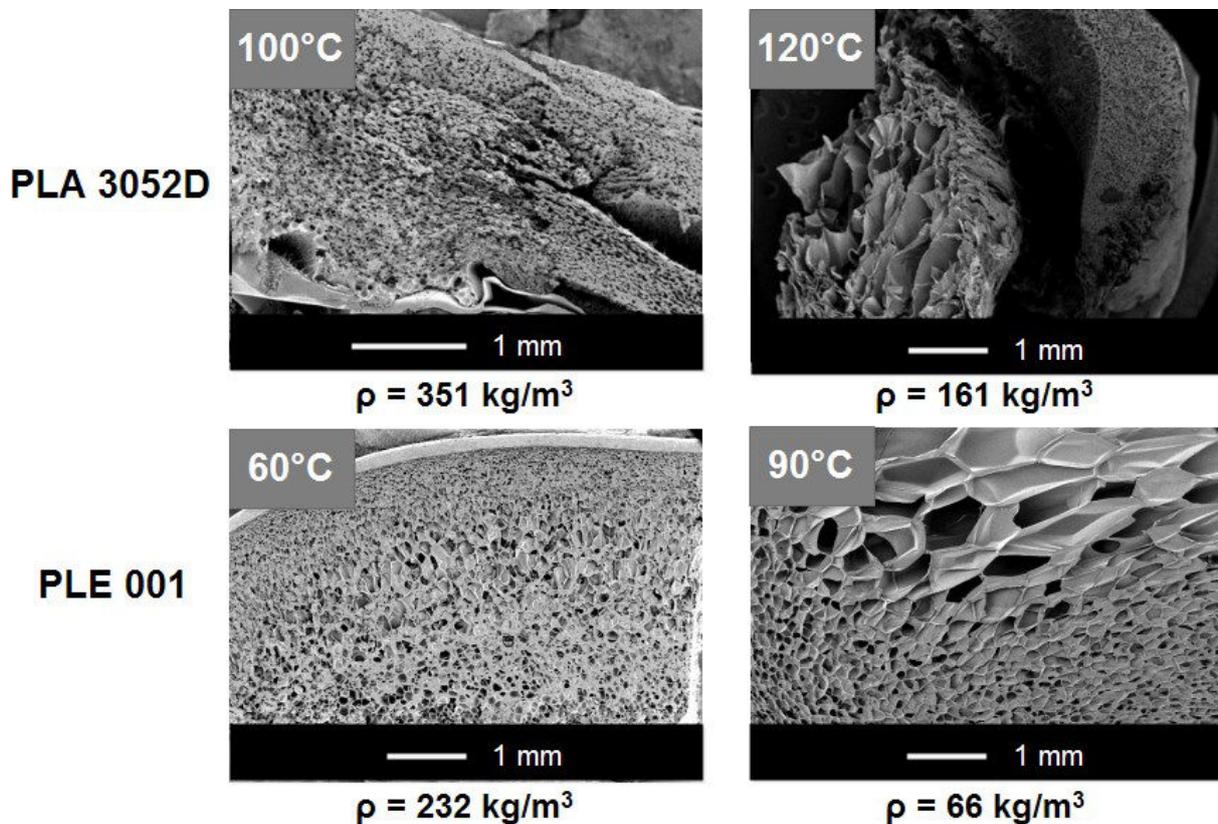


Figure 47 : Clichés MEB des matrices de PLA 3052D et PLE 001 en fonction de la température de moussage à 150 bars et pour une vitesse de dépressurisation 15 bars/s

3.1.2. PLE 001

Les essais de moussage du PLE001 utilisant le CO₂ comme agent gonflant ont conduit à l'obtention de matrices dont la masse volumique est comprise entre 60 et 300 kg/m³, et le taux de porosité compris entre 80 et 95%. Par ailleurs, le taux d'expansion maximal atteint est de 20, soit 20 fois le volume initial de PLA introduit. Des clichés MEB des structures obtenues avec le PLE001 sont regroupés dans la **Figure 48** pour une vitesse de dépressurisation de 5 bars/s, alors que les images de la **Figure 49** montrent des matrices obtenues avec une vitesse de dépressurisation de 15 bars/s. On peut y observer une porosité majoritairement fermée et l'absence de porosité ouverte en surface. Par ailleurs, la plupart des matrices produites présentent un important gradient de porosité entre le centre et les parois. Cela pourrait s'expliquer par une différence de température entre la matière au cœur plus chaude et les parois qui refroidissent plus rapidement lors de la dépressurisation. Cette large distribution de tailles des pores au sein d'un même échantillon a rendu peu significative la définition d'une seule moyenne de taille de pores. C'est pourquoi, lorsque deux populations de taille de pores étaient discernables, deux moyennes (\varnothing_1 et \varnothing_2) ont été reportées sur les figures. De plus les images MEB présentées ci-dessous ont été faites à faible grossissement pour avoir une vue d'ensemble de la structure des échantillons.

Sur la **Figure 48**, à 150 bars, l'augmentation de la température de moussage a eu pour effet d'augmenter la taille des pores et de diminuer la masse volumique. Ceci s'expliquerait par la diminution de la viscosité avec l'augmentation de la température. Le polymère étant moins visqueux, cela favorise l'expansion volumique lors de la dépressurisation et par conséquent abouti à une mousse moins dense.

Cependant à 250 bars cet effet n'est pas visible, nous pouvons supposer que l'augmentation de la pression a favorisé la nucléation de bulles de CO₂. Une pression de saturation plus importante implique un taux de CO₂ dissout dans la matrice plus important [60] et augmente par conséquent le taux de nucléation.

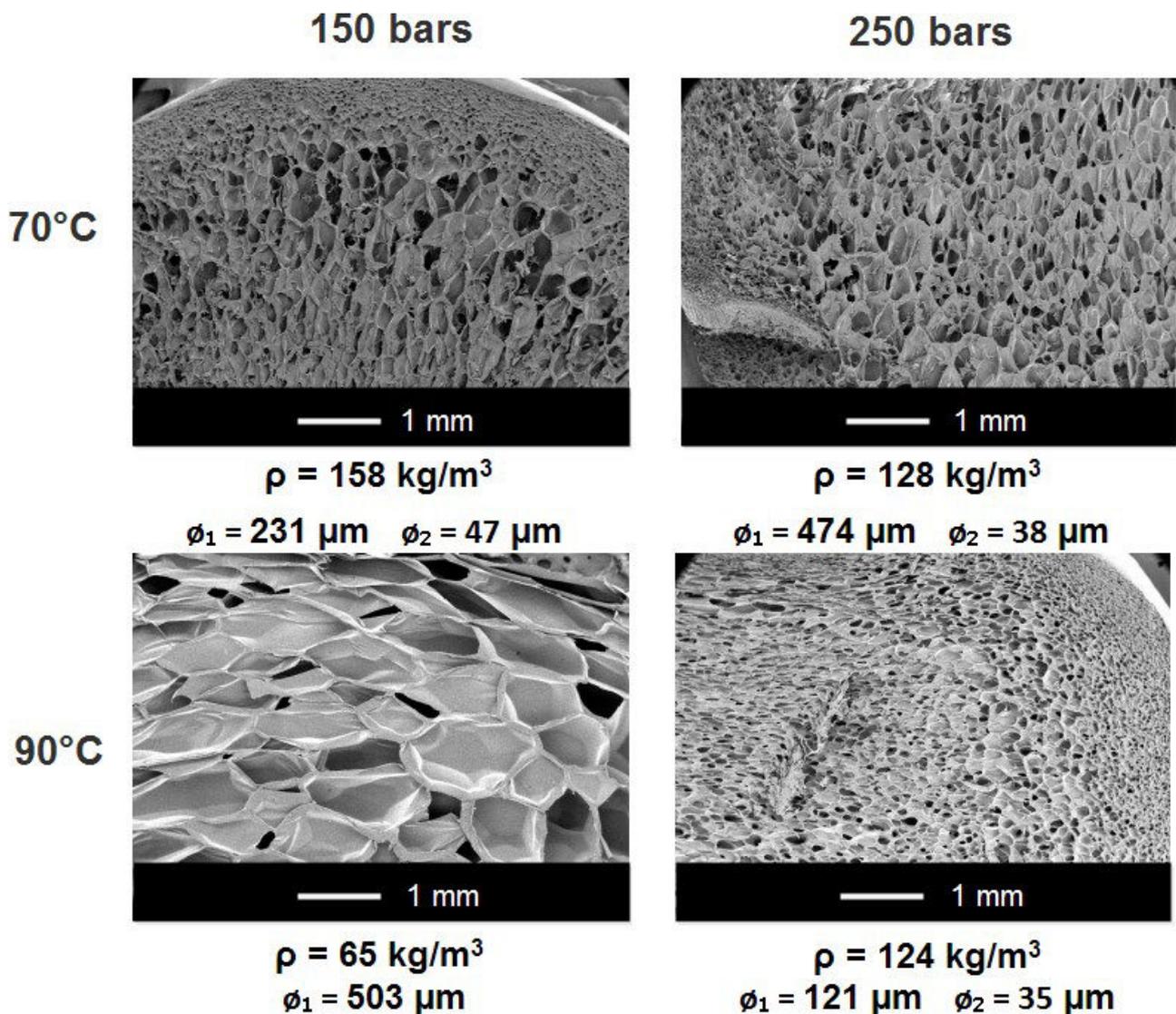


Figure 48 : Clichés MEB des matrices de PLE001 selon la température et la pression de moussage pour une vitesse de dépressurisation de 5 bars/s.

L'observation de la **figure 50** permet de dégager quelques tendances sur les essais de moussage avec une vitesse de dépressurisation à 15 bars/s et qui viennent confirmer notamment certaines tendances des essais de moussage à 5 bars/s. En effet, il semble également qu'à 150 bars, l'augmentation de la température engendre une d'augmentation de la taille des pores. Cet effet est nettement plus contrasté à 250 bars. Par ailleurs, la mousse de PLA obtenu à 60°C et 250 bars, semble être intéressante, car elle possède une masse volumique faible et elle est composée de petits pores (20-50 μm). Ce type de structure a généralement de bonnes propriétés isolantes possède un bon ratio performances mécaniques / masse volumique. Il semblerait ainsi que ces conditions opératoires soient un bon compromis en termes de taux de nucléation et de viscosité du PLA fondu pour maintenir de l'expansion volumique de la matrice.

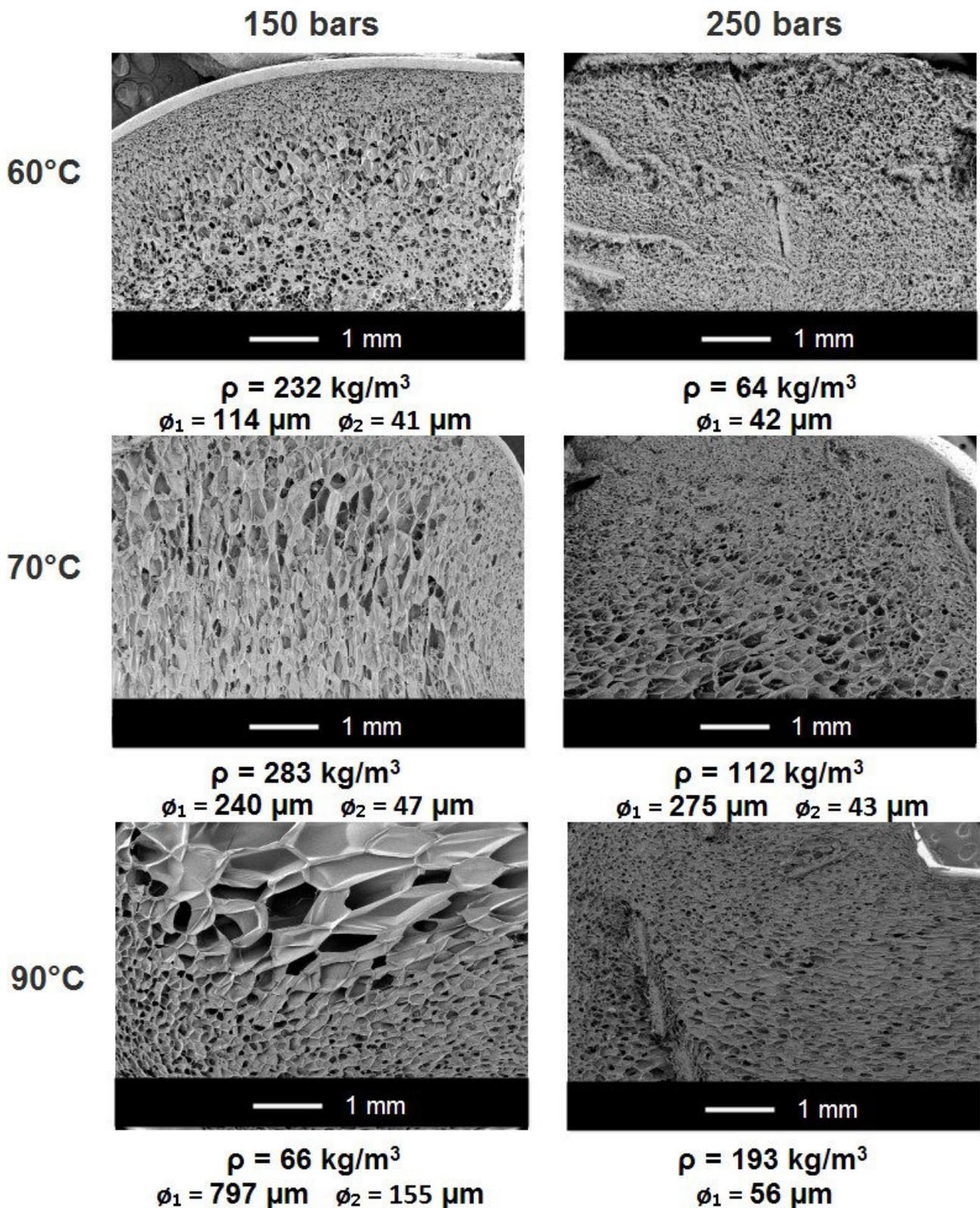


Figure 49 : Clichés MEB des matrices de PLE001 selon la température et la pression de « moussage » pour une vitesse de dépressurisation de 15 bars/s.

Le graphique en **Figure 50** montre l'évolution de la masse volumique en fonction des différentes conditions opératoires étudiées telles que la pression et la température. Bien que la variabilité importante des caractéristiques des mousses obtenues soit démontrée, il est difficile de dégager de réelles tendances de ces paramètres de par leurs effets concurrents sur

la viscosité du PLA. Par conséquent, le **Tableau 15** regroupe les différents effets attendus sur les caractéristiques des mousses pour chaque paramètre opératoire considéré indépendamment de leur compétition potentielle. Ainsi, l'augmentation de la pression à une température donnée permet d'augmenter la solubilité du CO₂ dans le PLA fondu et conduisant à une diminution de sa viscosité [140]. Cette tendance permettrait donc de conduire à l'obtention de mousses de PLA à faible densité et dont la taille des pores augmente avec la pression de CO₂. Cependant, cette augmentation de pression a aussi un impact sur le taux de nucléation du CO₂ dans le polymère et par conséquent sur le nombre de pores grandissant qui peut en diminuer leurs tailles. Ainsi, la variation d'un seul paramètre tel que la pression peut déjà engendrer des effets contradictoires sur les caractéristiques des mousses obtenus. Néanmoins, ce premier travail exploratoire du procédé sans solvant permet de montrer qu'il est intéressant de travailler à 150 bars et entre 60 de 90 °C, afin d'obtenir des mousses avec une grande amplitude d'ajustement de leurs caractéristiques en termes de masse volumique et de taille de pores. Par ailleurs, dans ces conditions restreintes de pression et de température, la vitesse de dépressurisation est un degré de liberté supplémentaire pour la modulation des propriétés des mousses obtenues.

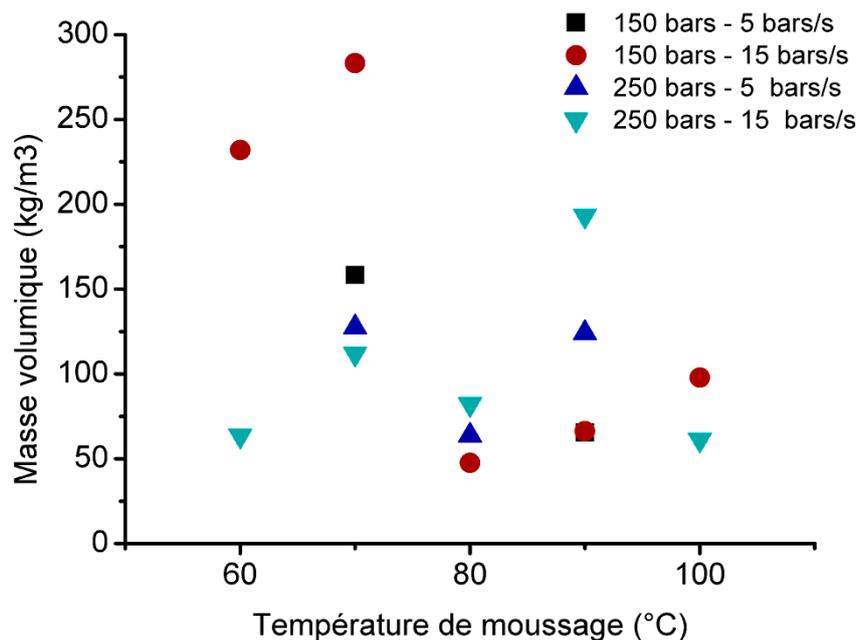


Figure 50 : Evolution de la masse volumique de matrice de PLE001 en fonction de la température de moussage pour couples différentes pressions et vitesses de dépressurisation.

Tableau 15 : Effets attendus des paramètres opératoires sur les caractéristiques des mousses

Variables	Effet sur la matière/système	Conséquences sur la structure
↗ Température	↘ viscosité du polymère : accroît la « déformabilité » de la matière	↗ taille des pores ↘ masse volumique
↗ Pression	↗ augmente la quantité de CO ₂ dans le polymère : ↘ viscosité du polymère ↗ la nucléation (loi de nucléation // DP)	↗ taille des pores ↗ nombre de pores : ↘ taille
↗ Vitesse de dépressurisation	↘ diminue la température dans la cellule par effet Joule-Thomson : ↗ viscosité du polymère	↘ taille des pores ↗ masse volumique

3.2. Moussage de PLA amorphe

Le moussage sans solvant de PLA amorphe a été étudié à des températures inférieures à 55°C soit en dessous de leur T_g. La méthode utilisée est légèrement différente puisque la température de moussage et de saturation est la même. Cependant, pour une même pression de saturation mais à une température plus élevée, la solubilité du CO₂ est moindre. Donc contrairement à la première méthode, nous ne pouvons pas supposer qu'à une même pression le taux de CO₂ initialement contenu dans les matrices est identique. Les clichés MEB des matrices obtenues pour une vitesse de dépressurisation de 1 bars/s sont présentées en **Figure 51** et celle à 15 bars/s en **Figure 52**.

Les structures présentées en **Figure 51** sont majoritairement composées de pores fermés de diamètre compris entre 40 µm et 1 mm. L'augmentation de la température de moussage, semble être responsable de l'augmentation de la taille des pores et de la diminution de la masse volumique. Il semblerait également que l'augmentation de la pression engendre l'augmentation de la taille des pores. Ces tendances sont cohérentes avec les effets attendus de ces paramètres sur les caractéristiques des mousses (**Tableau 15**).

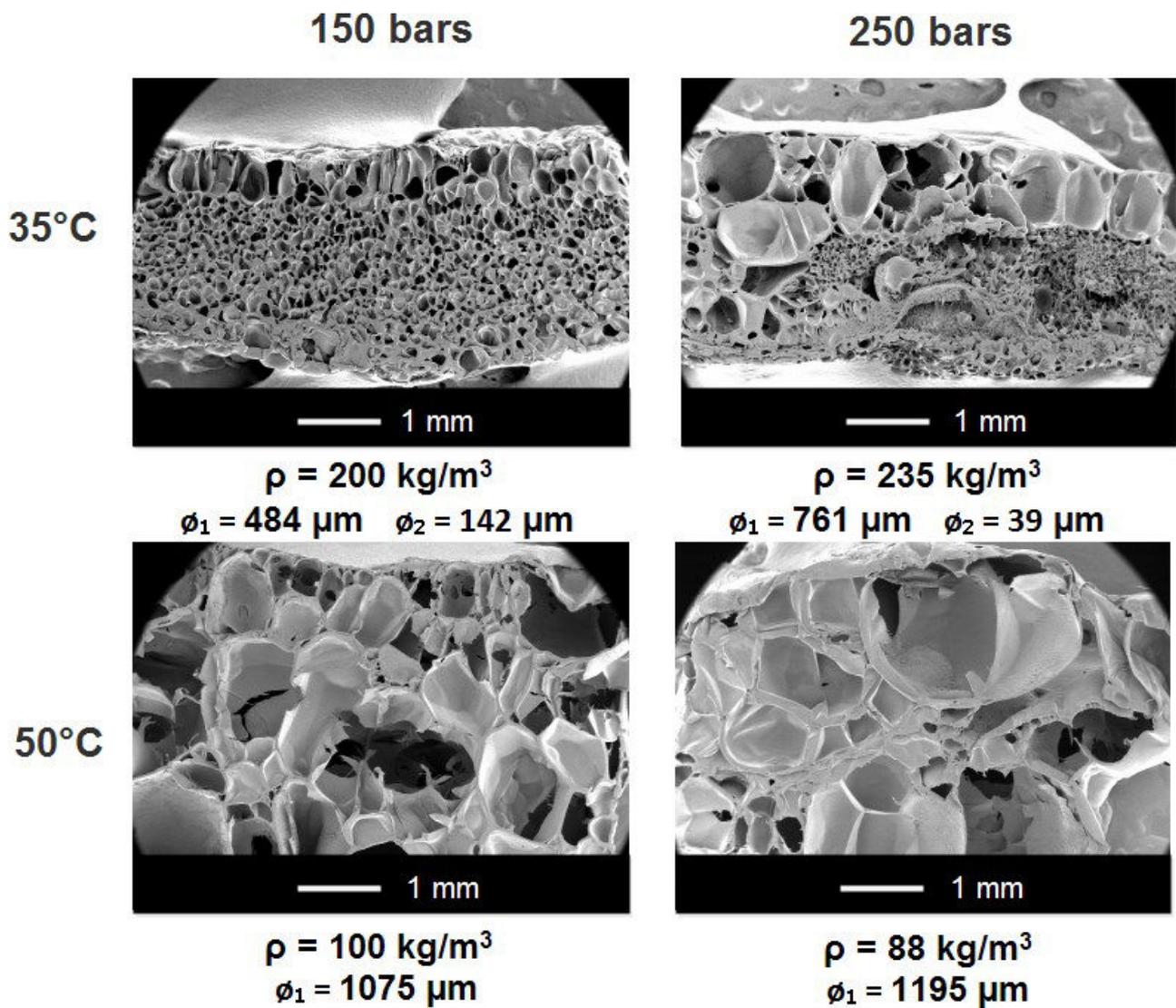


Figure 51 : Clichés MEB des matrices de « PLA amorphe » en fonction de la température et de la pression pour une vitesse de dépressurisation de 1 bars/s.

En comparaison aux matrices obtenues à 1 bars/s, la taille des pores des matrices obtenues à 15 bars/s a sensiblement diminué, à part pour la condition 35 °C-150 bars. Ce résultat pourrait signifier que dans ces conditions, la nucléation a été favorisée par rapport à la coalescence des bulles de CO₂ durant la phase d'expansion. De plus, les mousses obtenues à cette vitesse ont également abouti à des structures avec une porosité qui semble plus interconnectée.

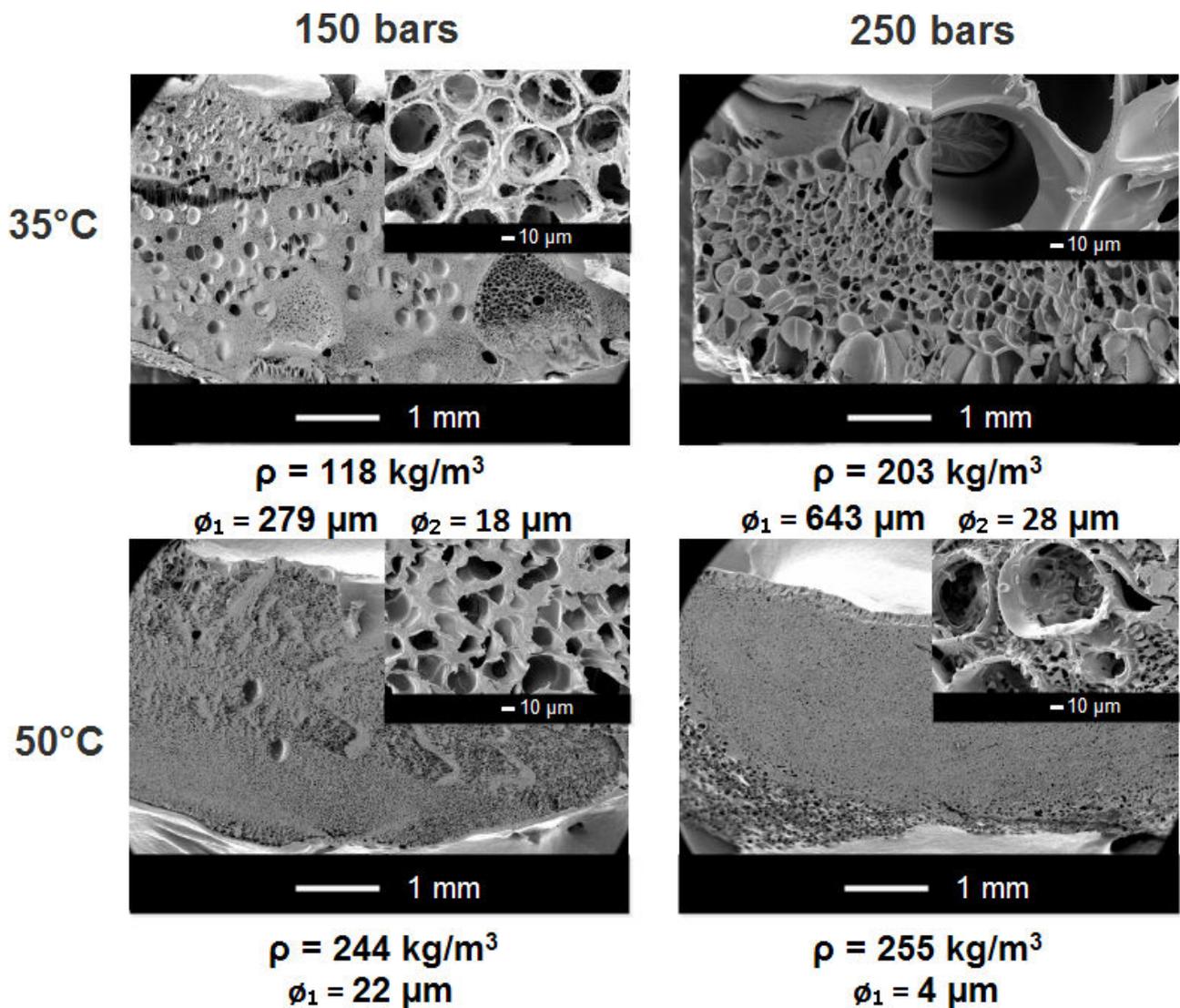


Figure 52 : Clichés MEB des matrices de « PLA amorphe » en fonction de la température et de la pression pour une vitesse de dépressurisation de 15 bars/s.

4. Bilan de l'étude sans solvant

Cette étude exploratoire a permis de produire des matrices tridimensionnelles en utilisant le CO₂ SC comme agent gonflant. En comparaison aux procédés traditionnels, celui-ci est particulièrement respectueux de l'environnement, car il n'utilise aucun solvant organique et ne nécessite pas énormément d'énergie. De plus, ce procédé est rapide, car l'ensemble de l'opération de fabrication des mousses dure au total seulement 2h30. Les structures obtenues possèdent un taux de porosité compris entre 80 et 95%.

Le moussage des PLAs très cristallin ($X_c > 30\%$) semble être compliqué. Cependant, il semblerait que des PLAs avec une importante viscosité à l'état fondu facilite le moussage.

Le PLA amorphe semble parfaitement compatible avec la méthode sans solvant. De plus leurs mises en œuvre s'effectuent à des températures relativement douce (entre 35 et 50°). Contrairement au PLE001, certaines conditions opératoires ont permis d'obtenir des structures partiellement interconnectées.

Cependant, le procédé semble compliqué à contrôler, et les nombreux paramètres opératoires ont un impact sur la structure des matrices. Pour mieux comprendre le procédé et dissocier les effets de chaque paramètre, il serait judicieux d'effectuer des mesures de solubilités du CO₂ SC *in situ* ainsi que des mesures de rhéologie en atmosphère CO₂. Les matrices produites étaient assez inhomogènes au niveau de la distribution des pores, c'est pourquoi l'ajout d'agent nucléant inorganique tel que le talc [141] des nanoargiles [142], [143] ou organique comme les cristaux de celluloses [144], [145] pourraient permettre d'obtenir une structure homogène. La compatibilité des PLAs semi-cristallins et amorphes avec la méthode utilisant le CO₂ SC comme agent gonflant permettrait de produire des mousses de PLA avec des résistances mécaniques et thermiques, mais aussi des cinétiques de biodégradation adaptées aux applications envisagées grâce à l'ajustement du taux de cristallinité et de la masse volumique

5. Etude comparative entre le procédé de moussage sans solvant et le procédé TIPS

Pour conclure ce chapitre, cette dernière partie résume quelques résultats majeurs obtenus par les deux procédés de mise en forme de matrice de PLA : la méthode TIPS et par la méthode sans solvant. En effet, les différentes structures obtenues grâce aux deux méthodes et leurs besoins matériels indiquent que ces méthodes de productions ne sont pas concurrentes, mais complémentaires. Le **Tableau 16** compare les méthodes de mise en forme de PLA mise en place au laboratoire.

La méthode TIPS convient davantage à la production de matériaux à haute valeur ajoutée, car cette technologie permet un contrôle précis de l'architecture des matrices produites. Il est possible de produire des structures interconnectées tout en contrôlant la taille des pores et de la densité des matériaux. Ces propriétés répondraient particulièrement aux demandes des secteurs de la filtration [146] ou de la santé [147]. De plus, la biodégradabilité du PLA est un atout non négligeable pour la fin de vie de membrane filtrante ou bien pour la résorption d'un implant. Seulement, le nombre d'étapes nécessaires à l'élaboration des matrices, l'utilisation de solvant et une consommation plus élevée en CO₂, en font probablement un procédé moins économique et moins écologique que le procédé sans solvant. Une analyse de cycle de vie comparative permettrait de le démontrer. Toutefois, il est envisageable d'améliorer les impacts environnementaux du procédé TIPS en recyclant la quasi-totalité du solvant par distillation fractionnée et environ 75% du CO₂ par la mise en place d'une boucle de recyclage.

Cependant, le procédé sans solvant semble, écologiquement performant avec une faible consommation de CO₂. En effet, la durée de mise œuvre étant plus courte et le nombre d'étapes restreint rendent ce procédé particulièrement économe en temps et en énergie.

Sous réserve d'uniformisation de la taille des pores et de la possibilité de production à grande échelle, ce procédé sans solvant conduisant à l'obtention des matrices avec des pores majoritairement fermés pourrait éventuellement servir pour produire des matériaux aux propriétés isolantes ou mécaniques. Ainsi, des mousses de PLA semi-cristallin pourraient être utilisées comme matériaux isolants ou bien comme matériaux d'âme pour des structures

composites de par leurs bonnes propriétés mécaniques. Ils offriraient une alternative au mousse polystyrène, polyuréthane ou bien de polyéthylène, et en fin de vie il pourrait être soit recyclé soit simplement assimilé pour la biodégradation. Les mousses de PLA amorphe pourraient davantage offrir des solutions pour l’emballage, un secteur consommateur de mousses polymères. Leur cinétique de biodégradation rapide serait une solution intéressante pour réduire la pollution par les plastiques.

Tableau 16 : Comparatif des méthodes de mise en forme de matrice tridimensionnelle de PLA assisté par CO₂

Critères	Méthode sans solvant	Méthode TIPS
Solvant organique	Non	Oui
Consommation de CO₂	Faible	Élevée
Température	35°C < T < 180°C	-196°C < T < 35°C
Porosité	40 à 96%	64 à 96%
Taille des pores	10 µm à 1mm	<1 µm à 200 µm
Porosité interconnectée	Peu	Oui
Pores débouchant en surface	Non	Oui
Masse volumique apparente	50 à 750 kg/m ³	40 à 414 kg/m ³
Scale up	-	++

Le **Tableau 17** relie quelques applications non exhaustives des matrices de polymères avec les procédés de mise en forme des matrices de PLA développées lors de cette thèse. Cependant, il est à noter que les deux procédés de mise en forme de matrices de PLA ne sont pas aux mêmes stades de maturité technologique. Le procédé TIPS-CO₂ a fait ses preuves en termes de répétabilité et une étape de « scale up » a été amorcée. De plus, les éventuelles applications telles que les implants ou systèmes filtrants sont des objets de volume modéré, assez proche de ceux produits en laboratoire. Alors que le procédé utilisant le CO₂-SC comme agent gonflant vise des applications aux volumes plus importants (panneaux isolants, emballage...) donc le défi de « scale up » est d'autant plus grand.

Tableau 17 : Synthèse des applications et des solutions technologiques envisageables.

Applications	Propriétés recherchées	Solutions technologiques
<p>Isolation thermique /phonique</p> <p>ou</p> <p>Âme pour matériaux composites</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Porosité fermée • Compromis densité /propriétés mécaniques/ et le transfert (chaleur/acoustique) 	<p>CO₂ = agent gonflant</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Procédé peu polluant ● Économe en énergie ● Porosité fermée ● Homogénéité de la taille des pores ● Gros volume
Emballage	<ul style="list-style-type: none"> • Économe • Procédé peu polluant • Biodégradabilité 	<p>CO₂ = agent gonflant</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Procédé peu polluant ● Économe en énergie ● PLA amorphe : dégradation rapide ● Homogénéité de la taille des pores
Filtration	<ul style="list-style-type: none"> • Porosité ouverte et contrôlée • Possibilité de fonctionnalisation • Contrôle de la dégradabilité 	<p>TIPS CO₂</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Porosité ouverte et interconnectée ● Contrôle de la taille des pores et de la masse volumique ● Porosité unidirectionnelle ?
Santé	<ul style="list-style-type: none"> • Porosité ouverte et contrôlée • Possibilité de fonctionnalisation • Contrôle de la dégradabilité • Compromis élasticité/résistance mécanique 	<p>TIPS CO₂</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Porosité ouverte et interconnectée ● Contrôle précis de la taille des pores et de la masse volumique

En vert : les acquis des procédés

En rouge : les perspectives d'amélioration

Conclusion générale

Cette thèse a débuté par un travail exploratoire sur la mise en forme de matrices poreuses appliquées aux polymères biosourcés. Après avoir sélectionné le PLA comme le polymère le plus intéressant en termes de propriétés et de polyvalence pour répondre aux applications usuelles des matrices poreuses de polymères. Nous avons conçu et mis en place plusieurs équipements destinés à la mise en forme de matrice de PLA en utilisant la technologie CO₂ SC. Dès la production des premières structures, nous avons déployé des méthodes pour caractériser les matériaux *ex-situ* mais aussi durant les différentes étapes des procédés (MEB, DSC, SEC, pycnométrie, turbidimétrie, tomographie-X, essais mécaniques). Suite à ces essais nous avons retenu deux procédés : le procédé TIPS couplé à un séchage au CO₂ SC pour sa possibilité de contrôle des propriétés des matrices et un procédé sans solvant utilisant le CO₂ comme agent gonflant.

Concernant le procédé TIPS, nous avons réalisé une étude approfondie qui a permis de déterminer les paramètres opératoires contrôlant la structuration des matrices d'obtenir des structures. Il a donc été possible de produire des matrices de PLLAs de faible densité entre 40 et 300kg/m³ avec des structures de pores différentes (géométrie, interconnexions, tailles). Ce contrôle des propriétés de la structure a également permis de moduler les propriétés mécaniques des matériaux produits.

De plus, dans une logique d'écoconception nous nous sommes intéressés à l'apport du séchage par CO₂-SC pour ce procédé en comparaison de la lyophilisation traditionnellement utilisée. C'est pourquoi nous avons réalisé une ACV comparative du procédé complet sur une production d'une cinquantaine de matrices. Le bénéfice de la technologie CO₂ a permis un gain important d'énergie, qui a réduit entre 50% et 90% impacts du procédé complet selon les indicateurs. Ces résultats sont d'autant plus intéressants qu'ils devraient être transférables à tous les procédés où la lyophilisation pourrait être remplacée par un séchage CO₂.

Dans un second temps, nous avons poussé les investigations par le développement d'une méthode inédite de suivi *in-situ* de la séparation de phase entre le PLA et le 1,4 dioxane par tomographie-X en rayonnement synchrotron. Un dispositif expérimental spécifique a été conçu pour cette expérience. Nous avons pu observer et reconstruire en trois dimensions la structuration de la matrice par la cristallisation du solvant pendant le refroidissement. Cette expérience a aussi mis à jour une perspective de recherche très intéressante : l'orientation des cristaux par l'induction d'un gradient de température. Ces résultats encore en cours d'analyse, devraient permettre de caractériser l'anisotropie des cristaux le long du gradient. Ensuite, ces données pourront servir pour la fabrication de matrice ou de film PLA aux pores orientés

permettant d'envisager de nouvelles applications. Une méthode de traitement des données et d'analyse par tomographie-X a été mise au point, et pourra également être réutilisée avec un tomographe de laboratoire.

En parallèle, nous avons réalisé un début d'étude de la mise en forme des PLAs en utilisant le CO₂ SC comme agent gonflant. Ces premiers résultats ont permis de discriminer des paramètres matières et opératoires clés, tels que la cristallinité et la viscosité du PLA et la vitesse de dépressurisation. L'obtention de matrices expansées dans une large gamme de masse volumique (40 à 750 kg/m³) est plutôt encourageante. Cependant, il faudrait pouvoir homogénéiser la distribution des pores. L'ajout d'agents nucléants semble nécessaire pour combiner faible densité et homogénéité. Le moussage de PLA amorphe semble dans des conditions spécifiques aboutir à des structures interconnectées, alors que le moussage de PLA cristallin n'a abouti qu'à des structures aux pores fermés. Pour terminer l'étude du procédé sans solvant, des essais de moussage de plus gros volume avec un agent nucléant seraient nécessaires. Pour augmenter les connaissances de ce procédé et par conséquent avoir un meilleur contrôle, il faudrait caractériser le polymère sous CO₂-SC. Ainsi, des mesures de solubilités du CO₂ dans le PLA *in-situ*, combiné à des expériences de DSC et rhéologie semblent indispensables pour dissocier les différents effets concurrents à la structuration des matrices.

À la suite du développement de ces méthodes et des structures obtenues, nous avons confronté nos résultats aux applications auxquelles les matrices de PLA poreuses produites pourraient être envisagées. Le procédé de mise en forme utilisant le CO₂ SC comme agent gonflant (sous réserve de la faisabilité du *scale up*) pourrait remplacer des procédés de production de fort tonnage. Par exemple, les mousses de PLA semi-cristallin en raison de leurs rigidités importantes pourraient servir de matériaux structuraux. Alors que ce même procédé, utilisé pour mettre en forme des mousses de PLA amorphes, permettrait l'obtention de matériaux de faible densités aux cinétiques de biodégradation rapide. Ainsi, ces matériaux pourraient devenir des alternatives biodégradables aux emballages moussés pétrosourcés usuels.

Alors que la méthode TIPS couplée au CO₂ SC devrait représenter un coût de mise en œuvre plus important mais offrant un bon contrôle de la structure, ce procédé serait principalement déployé pour des applications à hautes valeurs ajoutées. La technique TIPS traditionnelle (sans CO₂) étant déjà utilisée pour la fabrication de dispositifs biomédicaux, la méthode TIPS / CO₂-SC peut également couvrir de telles applications. Les matrices de PLLA offrant une bonne résistance mécanique, elles pourraient servir pour des implants pour la régénération osseuse.

En perspective de ce travail de thèse, le développement d'un procédé original est en cours de développement au laboratoire et sera dédié à la mise en forme en milieu CO₂ SC de mousses

de Polyuréthane (PU) biosourcé et rigidifiées par la copolymérisation de segments de PLA. Cette fonctionnalisation permettra de moduler les propriétés structurales et mécaniques des matrices de PU obtenues.

Bibliographie

- [1] M. N. Islam, Y. Haldorai, V. H. Nguyen, and J.-J. Shim, 'Synthesis of poly(vinyl pivalate) by atom transfer radical polymerization in supercritical carbon dioxide', *Eur. Polym. J.*, vol. 61, pp. 93–104, Dec. 2014.
- [2] P. F. Oliveira, R. A. F. Machado, D. Barth, and E. D. Acosta, 'Dispersion polymerization of methyl methacrylate in supercritical carbon dioxide using vinyl terminated poly(dimethylsiloxane)', *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 103, pp. 46–52, May 2016.
- [3] H.-B. Wu, H. J. Haugen, and E. Wintermantel, 'Supercritical CO₂ in injection molding can produce open porous polyurethane scaffolds – a parameter study', *J. Cell. Plast.*, vol. 48, no. 2, pp. 141–159, Mar. 2012.
- [4] M. Saucéau, J. Fages, A. Common, C. Nikitine, and E. Rodier, 'New challenges in polymer foaming: A review of extrusion processes assisted by supercritical carbon dioxide', *Prog. Polym. Sci.*, vol. 36, no. 6, pp. 749–766, Jun. 2011.
- [5] B. S. Anouar *et al.*, 'Purification of post-consumer polyolefins via supercritical CO₂ extraction for the recycling in food contact applications', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 98, pp. 25–32, Mar. 2015.
- [6] A. Merrington, '9 - Recycling of Plastics A2 - Kutz, Myer', in *Applied Plastics Engineering Handbook (Second Edition)*, William Andrew Publishing, 2017, pp. 167–189.
- [7] T.-H. Young and L.-W. Chen, 'Pore formation mechanism of membranes from phase inversion process', *Desalination*, vol. 103, no. 3, pp. 233–247, Dec. 1995.
- [8] T. Tanaka and D. R. Lloyd, 'Formation of poly(l-lactic acid) microfiltration membranes via thermally induced phase separation', *J. Membr. Sci.*, vol. 238, no. 1–2, pp. 65–73, Jul. 2004.
- [9] G. Wei and P. X. Ma, 'Macroporous and nanofibrous polymer scaffolds and polymer/bone-like apatite composite scaffolds generated by sugar spheres', *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 78A, no. 2, pp. 306–315, Aug. 2006.
- [10] M.-O. Montjovent *et al.*, 'Repair of critical size defects in the rat cranium using ceramic-reinforced PLA scaffolds obtained by supercritical gas foaming', *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 83A, no. 1, pp. 41–51, Oct. 2007.
- [11] F. Yang, R. Murugan, S. Ramakrishna, X. Wang, Y.-X. Ma, and S. Wang, 'Fabrication of nano-structured porous PLLA scaffold intended for nerve tissue engineering', *Biomaterials*, vol. 25, no. 10, pp. 1891–1900, May 2004.
- [12] S. Cardea, L. Baldino, M. Scognamiglio, and E. Reverchon, '3D PLLA/Ibuprofen composite scaffolds obtained by a supercritical fluids assisted process', *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 25, no. 4, pp. 989–998, Dec. 2013.
- [13] H. J. Chung and T. G. Park, 'Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering', *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 59, no. 4–5, pp. 249–262, May 2007.
- [14] A. Salerno, J. Saurina, and C. Domingo, 'Supercritical CO₂ foamed polycaprolactone scaffolds for controlled delivery of 5-fluorouracil, nicotinamide and triflusal', *Int. J. Pharm.*, vol. 496, no. 2, pp. 654–663, Dec. 2015.
- [15] J. M. Kanczler *et al.*, 'The effect of the delivery of vascular endothelial growth factor and bone morphogenic protein-2 to osteoprogenitor cell populations on bone formation', *Biomaterials*, vol. 31, no. 6, pp. 1242–1250, Feb. 2010.
- [16] R. R. S. Thakur, H. L. McMillan, and D. S. Jones, 'Solvent induced phase inversion-based in situ forming controlled release drug delivery implants', *J. Controlled Release*, vol. 176, pp. 8–23, Feb. 2014.
- [17] L. E. Dunne, S. Brady, B. Smyth, and D. Diamond, 'Initial development and testing of a novel foam-based pressure sensor for wearable sensing', *J. NeuroEngineering Rehabil.*, vol. 2, p. 4, 2005.
- [18] S. Brady, D. Diamond, and K.-T. Lau, 'Inherently conducting polymer modified polyurethane smart foam for pressure sensing', *Sens. Actuators Phys.*, vol. 119, no. 2, pp. 398–404, Apr. 2005.
- [19] H. Peker, M. P. Srinivasan, J. M. Smith, and B. J. McCoy, 'Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide', *AIChE J.*, vol. 38, no. 5, pp. 761–770, May 1992.
- [20] W.-J. Kim, J.-D. Kim, J. Kim, S.-G. Oh, and Y.-W. Lee, 'Selective caffeine removal from green tea using supercritical carbon dioxide extraction', *J. Food Eng.*, vol. 89, no. 3, pp. 303–309, Dec. 2008.
- [21] G.-Q. Chen and M. K. Patel, 'Plastics Derived from Biological Sources: Present and Future: A Technical and Environmental Review', *Chem. Rev.*, vol. 112, no. 4, pp. 2082–2099, Apr. 2012.

- [22] L. Shen, E. Worrell, and M. Patel, 'Present and future development in plastics from biomass', *Biofuels Bioprod. Biorefining*, vol. 4, no. 1, pp. 25–40, Jan. 2010.
- [23] J. M. Anderson and M. S. Shive, 'Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres', *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 28, no. 1, pp. 5–24, Oct. 1997.
- [24] M. S. San Román, M. J. Holgado, B. Salinas, and V. Rives, 'Drug release from layered double hydroxides and from their polylactic acid (PLA) nanocomposites', *Appl. Clay Sci.*, vol. 71, pp. 1–7, Jan. 2013.
- [25] V. Tamboli, G. P. Mishra, and A. K. Mitra, 'Novel pentablock copolymer (PLA–PCL–PEG–PCL–PLA)-based nanoparticles for controlled drug delivery: effect of copolymer compositions on the crystallinity of copolymers and in vitro drug release profile from nanoparticles', *Colloid Polym. Sci.*, vol. 291, no. 5, pp. 1235–1245, May 2013.
- [26] L. M. Mathieu, T. L. Mueller, P.-E. Bourban, D. P. Pioletti, R. Müller, and J.-A. E. Manson, 'Architecture and properties of anisotropic polymer composite scaffolds for bone tissue engineering', *Biomaterials*, vol. 27, no. 6, pp. 905–916, Feb. 2006.
- [27] C. M. Agrawal and R. B. Ray, 'Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering', *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 55, no. 2, pp. 141–150, May 2001.
- [28] S. S. Liao, F. Z. Cui, W. Zhang, and Q. L. Feng, 'Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: nano-HA/collagen/PLA composite', *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 69, no. 2, pp. 158–165, May 2004.
- [29] D. W. Hutmacher, J. T. Schantz, C. X. F. Lam, K. C. Tan, and T. C. Lim, 'State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective', *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, vol. 1, no. 4, pp. 245–260, Jul. 2007.
- [30] S. Yang, K.-F. Leong, Z. Du, and C.-K. Chua, 'The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors', *Tissue Eng.*, vol. 7, no. 6, pp. 679–689, Dec. 2001.
- [31] A. A. Koutinas *et al.*, 'Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, no. 8, pp. 2587–2627, 2014.
- [32] M. M. Rahman, K. Ho, and A. N. Netravali, 'Bio-based polymeric resin from agricultural waste, neem (*Azadirachta indica*) seed cake, for green composites', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 132, no. 1, p. n/a-n/a, Jan. 2015.
- [33] T. D. Bugg, M. Ahmad, E. M. Hardiman, and R. Singh, 'The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation', *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 22, no. 3, pp. 394–400, Jun. 2011.
- [34] F. Achmad, K. Yamane, S. Quan, and T. Kokugan, 'Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators', *Chem. Eng. J.*, vol. 151, no. 1–3, pp. 342–350, Aug. 2009.
- [35] M. Ajioka, K. Enomoto, K. Suzuki, and A. Yamaguchi, 'The basic properties of poly(lactic acid) produced by the direct condensation polymerization of lactic acid', *J. Environ. Polym. Degrad.*, vol. 3, no. 4, pp. 225–234, Oct. 1995.
- [36] E. T. H. Vink, K. R. Rábago, D. A. Glassner, and P. R. Gruber, 'Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production', *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 80, no. 3, pp. 403–419, 2003.
- [37] O. Dechy-Cabaret, B. Martin-Vaca, and D. Bourissou, 'Controlled Ring-Opening Polymerization of Lactide and Glycolide', *Chem. Rev.*, vol. 104, no. 12, pp. 6147–6176, Dec. 2004.
- [38] W. H. Carothers, G. L. Dorough, and F. J. van Natta, 'STUDIES OF POLYMERIZATION AND RING FORMATION. X. THE REVERSIBLE POLYMERIZATION OF SIX-MEMBERED CYCLIC ESTERS', *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 54, no. 2, pp. 761–772, Feb. 1932.
- [39] R. A. Auras, L.-T. Lim, S. E. M. Selke, and H. Tsuji, *Poly(lactic acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*. John Wiley & Sons, 2011.
- [40] D. Garlotta, 'A Literature Review of Poly(Lactic Acid)', *J. Polym. Environ.*, vol. 9, no. 2, pp. 63–84.
- [41] K. Masutani and Y. Kimura, 'Chapter 1. PLA Synthesis. From the Monomer to the Polymer', in *RSC Polymer Chemistry Series*, A. Jiménez, M. Peltzer, and R. Ruseckaite, Eds. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2014, pp. 1–36.
- [42] K. Fukushima and Y. Kimura, 'Stereocomplexed polylactides (Neo-PLA) as high-performance bio-based polymers: their formation, properties, and application', *Polym. Int.*, vol. 55, no. 6, pp. 626–642, Jun. 2006.
- [43] S. Saeidlou, M. A. Huneault, H. Li, and C. B. Park, 'Poly(lactic acid) crystallization', *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 12, pp. 1657–1677, Dec. 2012.

- [44] A. M. Harris and E. C. Lee, 'Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 107, no. 4, pp. 2246–2255, Feb. 2008.
- [45] S. Li and S. McCarthy, 'Influence of Crystallinity and Stereochemistry on the Enzymatic Degradation of Poly(lactide)s', *Macromolecules*, vol. 32, no. 13, pp. 4454–4456, Jun. 1999.
- [46] M. Drieskens, R. Peeters, J. Mullens, D. Franco, P. J. Lemstra, and D. G. Hristova-Bogaerds, 'Structure versus properties relationship of poly(lactic acid). I. Effect of crystallinity on barrier properties', *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 47, no. 22, pp. 2247–2258, Nov. 2009.
- [47] A. P. Gupta and V. Kumar, 'New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique', *Eur. Polym. J.*, vol. 43, no. 10, pp. 4053–4074, Oct. 2007.
- [48] G. Perego, G. D. Cella, and C. Bastioli, 'Effect of molecular weight and crystallinity on poly(lactic acid) mechanical properties', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 59, no. 1, pp. 37–43, Jan. 1996.
- [49] M. Baiardo *et al.*, 'Thermal and mechanical properties of plasticized poly(L-lactic acid)', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 90, no. 7, pp. 1731–1738, Nov. 2003.
- [50] J. r. Sarasua, A. L. Arraiza, P. Balerdi, and I. Maiza, 'Crystallinity and mechanical properties of optically pure polylactides and their blends', *Polym. Eng. Sci.*, vol. 45, no. 5, pp. 745–753, May 2005.
- [51] H. Tsuji and S. Miyauchi, 'Poly(l-lactide): VI Effects of crystallinity on enzymatic hydrolysis of poly(l-lactide) without free amorphous region', *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 71, no. 3, pp. 415–424, 2001.
- [52] V. M. Ghorpade, A. Gennadios, and M. A. Hanna, 'Laboratory composting of extruded poly(lactic acid) sheets', *Bioresour. Technol.*, vol. 76, no. 1, pp. 57–61, Jan. 2001.
- [53] J. M. DeSimone, Z. Guan, and C. S. Elsbernd, 'Synthesis of Fluoropolymers in Supercritical Carbon Dioxide', *Science*, vol. 257, no. 5072, pp. 945–947, Aug. 1992.
- [54] T. A. Hoefling, D. A. Newman, R. M. Enick, and E. J. Beckman, 'Effect of structure on the cloud-point curves of silicone-based amphiphiles in supercritical carbon dioxide', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 6, no. 3, pp. 165–171, Sep. 1993.
- [55] Z. Shen *et al.*, 'CO₂-solubility of oligomers and polymers that contain the carbonyl group', *Polymer*, vol. 44, no. 5, pp. 1491–1498, Mar. 2003.
- [56] Y.-T. Shieh and Y.-G. Lin, 'Equilibrium solubility of CO₂ in rubbery EVA over a wide pressure range: effects of carbonyl group content and crystallinity', *Polymer*, vol. 43, no. 6, pp. 1849–1856, Mar. 2002.
- [57] A. D. Shine, 'Polymers and Supercritical Fluids', in *Physical Properties of Polymers Handbook*, J. E. Mark, Ed. Springer New York, 2007, pp. 319–338.
- [58] Y.-T. Shieh, J.-H. Su, G. Manivannan, P. H. C. Lee, S. P. Sawan, and W. Dale Spall, 'Interaction of supercritical carbon dioxide with polymers. II. Amorphous polymers', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 59, no. 4, pp. 707–717, Jan. 1996.
- [59] Y.-T. Shieh, J.-H. Su, G. Manivannan, P. H. C. Lee, S. P. Sawan, and W. Dale Spall, 'Interaction of supercritical carbon dioxide with polymers. I. Crystalline polymers', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 59, no. 4, pp. 695–705, Jan. 1996.
- [60] G. Li, H. Li, L. S. Turng, S. Gong, and C. Zhang, 'Measurement of gas solubility and diffusivity in polylactide', *Fluid Phase Equilibria*, vol. 246, no. 1–2, pp. 158–166, Aug. 2006.
- [61] E. Aionicesei, M. Škerget, and Ž. Knez, 'Measurement of CO₂ solubility and diffusivity in poly(l-lactide) and poly(d,l-lactide-co-glycolide) by magnetic suspension balance', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 2, pp. 296–301, Dec. 2008.
- [62] R. Pini, G. Storti, M. Mazzotti, H. Tai, K. M. Shakesheff, and S. M. Howdle, 'Sorption and swelling of poly(DL-lactic acid) and poly(lactic-co-glycolic acid) in supercritical CO₂: An experimental and modeling study', *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 46, no. 5, pp. 483–496, Mar. 2008.
- [63] S. H. Mahmood, M. Keshtkar, and C. B. Park, 'Determination of carbon dioxide solubility in polylactide acid with accurate PVT properties', *J. Chem. Thermodyn.*, vol. 70, pp. 13–23, Mar. 2014.
- [64] 'Expanded polystyrene foam articles produced from used polystyrene materials'.
- [65] 'Polymerization of styrene acrylonitrile expandable microspheres'.
- [66] 'Process for making polyurethane foam'.
- [67] 'Process of making extruded styrene polymer foams'.

- [68] 'Polymer foam process'.
- [69] Q. Cai, J. Yang, J. Bei, and S. Wang, 'A novel porous cells scaffold made of polylactide–dextran blend by combining phase-separation and particle-leaching techniques', *Biomaterials*, vol. 23, no. 23, pp. 4483–4492, Dec. 2002.
- [70] S. Taherkhani and F. Moztaezadeh, 'Fabrication of a poly(ϵ -caprolactone)/starch nanocomposite scaffold with a solvent-casting/salt-leaching technique for bone tissue engineering applications', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 133, no. 23, p. n/a-n/a, Jun. 2016.
- [71] L. Draghi, S. Resta, M. G. Pirozzolo, and M. C. Tanzi, 'Microspheres leaching for scaffold porosity control', *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, no. 12, pp. 1093–1097, Dec. 2005.
- [72] W. L. Murphy, R. G. Dennis, J. L. Kileny, and D. J. Mooney, 'Salt fusion: an approach to improve pore interconnectivity within tissue engineering scaffolds', *Tissue Eng.*, vol. 8, no. 1, pp. 43–52, Feb. 2002.
- [73] J. Guan, K. L. Fujimoto, M. S. Sacks, and W. R. Wagner, 'Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications', *Biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3961–3971, Jun. 2005.
- [74] D. Bartis and J. E. Pongracz, 'Three dimensional tissue cultures and tissue engineering', *ResearchGate*, Nov. 2011.
- [75] J. Zhang, S.-G. Yang, J.-X. Ding, and Z.-M. Li, 'Tailor-made poly(L-lactide)/poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds prepared via high-pressure compression molding/salt leaching', *RSC Adv.*, vol. 6, no. 53, pp. 47418–47426, May 2016.
- [76] S. H. Oh, S. G. Kang, E. S. Kim, S. H. Cho, and J. H. Lee, 'Fabrication and characterization of hydrophilic poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method', *Biomaterials*, vol. 24, no. 22, pp. 4011–4021, Oct. 2003.
- [77] K. Whang, C. H. Thomas, K. E. Healy, and G. Nuber, 'A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds', *Polymer*, vol. 36, no. 4, pp. 837–842, Jan. 1995.
- [78] N. Sultana and M. Wang, 'Fabrication of HA/PHBV composite scaffolds through the emulsion freezing/freeze-drying process and characterisation of the scaffolds', *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 19, no. 7, p. 2555, Aug. 2007.
- [79] H. Janik and M. Marzec, 'A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds', *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 48, pp. 586–591, Mar. 2015.
- [80] L. Soletti *et al.*, 'A bilayered elastomeric scaffold for tissue engineering of small diameter vascular grafts', *Acta Biomater.*, vol. 6, no. 1, pp. 110–122, Jan. 2010.
- [81] G. Wei and P. X. Ma, 'Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering', *Biomaterials*, vol. 25, no. 19, pp. 4749–4757, Aug. 2004.
- [82] L. A. Smith and P. X. Ma, 'Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering', *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 39, no. 3, pp. 125–131, Dec. 2004.
- [83] H. D. Kim, E. H. Bae, I. C. Kwon, R. R. Pal, J. D. Nam, and D. S. Lee, 'Effect of PEG–PLLA diblock copolymer on macroporous PLLA scaffolds by thermally induced phase separation', *Biomaterials*, vol. 25, no. 12, pp. 2319–2329, May 2004.
- [84] J.-S. Chen, S.-L. Tu, and R.-Y. Tsay, 'A morphological study of porous polylactide scaffolds prepared by thermally induced phase separation', *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, vol. 41, no. 2, pp. 229–238, Mar. 2010.
- [85] G. Giulio, 'PLLA Scaffold via TIPS for Bone Tissue Engineering', *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS*, 2016.
- [86] F. Yang *et al.*, 'Manufacturing and morphology structure of polylactide-type microtubules orientation-structured scaffolds', *Biomaterials*, vol. 27, no. 28, pp. 4923–4933, Oct. 2006.
- [87] B. S. Kim and J. Lee, 'Directional crystallization of dioxane in the presence of PVDF producing porous membranes', *J. Cryst. Growth*, vol. 373, pp. 45–49, Jun. 2013.
- [88] L. J. M. Jacobs, M. F. Kemmere, and J. T. F. Keurentjes, 'Sustainable polymer foaming using high pressure carbon dioxide: a review on fundamentals, processes and applications', *Green Chem.*, vol. 10, no. 7, p. 731, 2008.
- [89] L. J. M. Jacobs, K. C. H. Danen, M. F. Kemmere, and J. T. F. Keurentjes, 'A parametric study into the morphology of polystyrene-co-methyl methacrylate foams using supercritical carbon dioxide as a blowing agent', *Polymer*, vol. 48, no. 13, pp. 3771–3780, Jun. 2007.

- [90] C. Ji, N. Annabi, M. Hosseinkhani, S. Sivaloganathan, and F. Dehghani, 'Fabrication of poly-DL-lactide/polyethylene glycol scaffolds using the gas foaming technique', *Acta Biomater.*, vol. 8, no. 2, pp. 570–578, Feb. 2012.
- [91] F. Dehghani and N. Annabi, 'Engineering porous scaffolds using gas-based techniques', *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 22, no. 5, pp. 661–666, Oct. 2011.
- [92] D. L. Tomasko *et al.*, 'A Review of CO₂ Applications in the Processing of Polymers', *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 42, no. 25, pp. 6431–6456, Dec. 2003.
- [93] Y.-M. Corre, A. Maazouz, J. Duchet, and J. Reignier, 'Batch foaming of chain extended PLA with supercritical CO₂: Influence of the rheological properties and the process parameters on the cellular structure', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 58, no. 1, pp. 177–188, Aug. 2011.
- [94] P. van de Witte, P. J. Dijkstra, J. W. A. van den Berg, and J. Feijen, 'Phase separation processes in polymer solutions in relation to membrane formation', *J. Membr. Sci.*, vol. 117, no. 1–2, pp. 1–31, Aug. 1996.
- [95] I. Tsivintzelis, G. Sanxaridou, E. Pavlidou, and C. Panayiotou, 'Foaming of polymers with supercritical fluids: A thermodynamic investigation', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 110, pp. 240–250, Apr. 2016.
- [96] E. Reverchon, S. Cardea, and E. S. Rappo, 'Production of loaded PMMA structures using the supercritical CO₂ phase inversion process', *J. Membr. Sci.*, vol. 273, no. 1–2, pp. 97–105, Mar. 2006.
- [97] A. Deng *et al.*, 'Porous nanostructured poly-L-lactide scaffolds prepared by phase inversion using supercritical CO₂ as a nonsolvent in the presence of ammonium bicarbonate particles', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 77, pp. 110–116, May 2013.
- [98] I. Tsivintzelis, E. Pavlidou, and C. Panayiotou, 'Porous scaffolds prepared by phase inversion using supercritical CO₂ as antisolvent: I. Poly(L-lactic acid)', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 40, no. 2, pp. 317–322, Mar. 2007.
- [99] C. Schugens, V. Maquet, C. Grandfils, R. Jerome, and P. Teyssie, 'Biodegradable and macroporous polylactide implants for cell transplantation: 1. Preparation of macroporous polylactide supports by solid-liquid phase separation', *Polymer*, vol. 37, no. 6, pp. 1027–1038, 1996.
- [100] C. Schugens, V. Maquet, C. Grandfils, R. Jerome, and P. Teyssie, 'Polylactide macroporous biodegradable implants for cell transplantation. II. Preparation of polylactide foams by liquid-liquid phase separation', *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 30, no. 4, pp. 449–461, Apr. 1996.
- [101] Y. S. Nam and T. G. Park, 'Biodegradable polymeric microcellular foams by modified thermally induced phase separation method', *Biomaterials*, vol. 20, no. 19, pp. 1783–1790, Oct. 1999.
- [102] Y. S. Nam and T. G. Park, 'Porous biodegradable polymeric scaffolds prepared by thermally induced phase separation', *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 47, no. 1, pp. 8–17, Oct. 1999.
- [103] J. Shao, C. Chen, Y. Wang, X. Chen, and C. Du, 'Early stage evolution of structure and nanoscale property of nanofibers in thermally induced phase separation process', *React. Funct. Polym.*, vol. 72, no. 10, pp. 765–772, Oct. 2012.
- [104] S. Molladavoodi, M. Gorbet, J. Medley, and H. Ju Kwon, 'Investigation of microstructure, mechanical properties and cellular viability of poly(L-lactic acid) tissue engineering scaffolds prepared by different thermally induced phase separation protocols', *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 17, pp. 186–197, Jan. 2013.
- [105] F. C. Pavia, V. L. Carrubba, and V. Brucato, 'Polymeric scaffolds based on blends of poly-L-lactic acid (PLLA) with poly-D-L-lactic acid (PLA) prepared via thermally induced phase separation (TIPS): demixing conditions and morphology', *Polym. Bull.*, vol. 70, no. 2, pp. 563–578, Feb. 2013.
- [106] A. Salerno and C. Domingo, 'Making microporous nanometre-scale fibrous PLA aerogels with clean and reliable supercritical CO₂ based approaches', *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 184, pp. 162–168, Jan. 2014.
- [107] A. Salerno, M. Fernández-Gutiérrez, J. S. R. del Barrio, and C. D. Pascual, 'Macroporous and nanometre scale fibrous PLA and PLA–HA composite scaffolds fabricated by a bio safe strategy', *RSC Adv.*, vol. 4, no. 106, pp. 61491–61502, Nov. 2014.
- [108] A. Salerno, M. Fernández-Gutiérrez, J. San Román del Barrio, and C. Domingo, 'Bio-safe fabrication of PLA scaffolds for bone tissue engineering by combining phase separation, porogen leaching and scCO₂ drying', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 97, pp. 238–246, Feb. 2015.

- [109] F. J. Hua, T. G. Park, and D. S. Lee, 'A facile preparation of highly interconnected macroporous poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) (PLGA) scaffolds by liquid-liquid phase separation of a PLGA-dioxane-water ternary system', *Polymer*, vol. 44, no. 6, pp. 1911–1920, Mar. 2003.
- [110] K. C. Shin, B. S. Kim, J. H. Kim, T. G. Park, J. D. Nam, and D. S. Lee, 'A facile preparation of highly interconnected macroporous PLGA scaffolds by liquid-liquid phase separation II', *Polymer*, vol. 46, no. 11, pp. 3801–3808, May 2005.
- [111] N. Kasoju *et al.*, 'Dip TIPS as a Facile and Versatile Method for Fabrication of Polymer Foams with Controlled Shape, Size and Pore Architecture for Bioengineering Applications', *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, Oct. 2014.
- [112] H. Schoof, J. Apel, I. Heschel, and G. Rau, 'Control of pore structure and size in freeze-dried collagen sponges', *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, no. 4, pp. 352–357, Jan. 2001.
- [113] S. Samitsu, R. Zhang, X. Peng, M. R. Krishnan, Y. Fujii, and I. Ichinose, 'Flash freezing route to mesoporous polymer nanofibre networks', *Nat. Commun.*, vol. 4, Oct. 2013.
- [114] J. Reignier, 'Extrusion foaming of poly(lactic acid) blown with CO₂: Toward 100% green material', *Cell. Polym.*, vol. 26, no. 2, pp. 83–115, Jan. 2007.
- [115] 'Green Chemical Processing Using CO₂ - Industrial & Engineering Chemistry Research (ACS Publications)'. [Online]. Available: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie0300530>. [Accessed: 09-Jan-2017].
- [116] K. A. Arora, A. J. Lesser, and T. J. McCarthy, 'Preparation and Characterization of Microcellular Polystyrene Foams Processed in Supercritical Carbon Dioxide', *Macromolecules*, vol. 31, no. 14, pp. 4614–4620, Jul. 1998.
- [117] M. Nofar and C. B. Park, 'Poly (lactic acid) foaming', *Prog. Polym. Sci.*, vol. 39, no. 10, pp. 1721–1741, Oct. 2014.
- [118] D. J. Kang, D. Xu, Z. X. Zhang, K. Pal, D. S. Bang, and J. K. Kim, 'Well-Controlled Microcellular Biodegradable PLA/Silk Composite Foams Using Supercritical CO₂', *Macromol. Mater. Eng.*, vol. 294, no. 9, pp. 620–624, Sep. 2009.
- [119] M. Zhou, P. Zhou, P. Xiong, X. Qian, and H. Zheng, 'Crystallization, rheology and foam morphology of branched PLA prepared by novel type of chain extender', *Macromol. Res.*, vol. 23, no. 3, pp. 231–236, Mar. 2015.
- [120] X. Teng, J. Ren, and S. Gu, 'Preparation and characterization of porous PDLLA/HA composite foams by supercritical carbon dioxide technology', *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol. 81B, no. 1, pp. 185–193, Apr. 2007.
- [121] A. Salerno, S. Zeppetelli, E. Di Maio, S. Iannace, and P. A. Netti, 'Design of Bimodal PCL and PCL-HA Nanocomposite Scaffolds by Two Step Depressurization During Solid-state Supercritical CO₂ Foaming', *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 32, no. 15, pp. 1150–1156, Aug. 2011.
- [122] E. Reverchon, S. Cardea, and C. Rapuano, 'A new supercritical fluid-based process to produce scaffolds for tissue replacement', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 45, no. 3, pp. 365–373, Jul. 2008.
- [123] X. Xin, Q.-Q. Liu, C.-X. Chen, Y.-X. Guan, and S.-J. Yao, 'Fabrication of bimodal porous PLGA scaffolds by supercritical CO₂ foaming/particle leaching technique', *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 133, no. 27, p. n/a-n/a, Jul. 2016.
- [124] L. D. Harris, B.-S. Kim, and D. J. Mooney, 'Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming', *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 42, no. 3, pp. 396–402, Dec. 1998.
- [125] J. Oliveira *et al.*, 'Effect of Solvent on The Physical and Morphological Properties of Poly(Lactic Acid) Nanofibers Obtained by Solution Blow Spinning', *J. Eng. FIBERS Fabr.*, vol. 9, no. 4, p. 117, 2014.
- [126] N. C. Hilyard and A. Cunningham, *Low density cellular plastics: Physical basis of behaviour*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [127] M. Goedkoop, 'A life cycle impact assessment method which comprises harmonised category indicators at the midpoint and the endpoint level, 1', 2009.
- [128] R. Liu, K. Li, M. Liu, Y. Liu, and H. Liu, 'Free poly(L-lactic acid) spherulites grown from thermally induced phase separation and crystallization kinetics', *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 52, no. 22, pp. 1476–1489, Nov. 2014.
- [129] W. Zhang *et al.*, '3D porous poly(L-lactic acid) foams composed of nanofibers, nanofibrous microspheres and microspheres and their application in oil-water separation', *J. Mater. Chem. A*, vol. 3, no. 26, pp. 14054–14062, Jun. 2015.

- [130] S. T. Ho and D. W. Hutmacher, 'A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds', *Biomaterials*, vol. 27, no. 8, pp. 1362–1376, Mar. 2006.
- [131] E. Boller *et al.*, 'Techniques d'imagerie pour la caractérisation 3D des matériaux à l'ESRF', in *Matériaux 2010*, Nantes, France, 2010, p. .
- [132] J.-Y. Buffiere, E. Maire, J. Adrien, J.-P. Masse, and E. Boller, 'In Situ Experiments with X ray Tomography: an Attractive Tool for Experimental Mechanics', *Exp. Mech.*, vol. 50, no. 3, pp. 289–305, Mar. 2010.
- [133] P. Cloetens *et al.*, 'Holotomography: Quantitative phase tomography with micrometer resolution using hard synchrotron radiation x rays', *Appl. Phys. Lett.*, vol. 75, no. 19, pp. 2912–2914, Nov. 1999.
- [134] M. Doube *et al.*, 'BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ', *Bone*, vol. 47, no. 6, pp. 1076–1079, Dec. 2010.
- [135] T. Hildebrand and P. Rüegsegger, 'A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images', *J. Microsc.*, vol. 185, no. 1, pp. 67–75, Jan. 1997.
- [136] R. Dougherty and K.-H. Kunzelmann, 'Computing Local Thickness of 3D Structures with ImageJ', *Microsc. Microanal.*, vol. 13, no. Supplement S02, pp. 1678–1679, Aug. 2007.
- [137] E. S. Domalski and E. D. Hearing, 'Heat Capacities and Entropies of Organic Compounds in the Condensed Phase. Volume III', *J. Phys. Chem. Ref. Data*, vol. 25, no. 1, pp. 1–525, Jan. 1996.
- [138] M. C. Gutiérrez, M. L. Ferrer, and F. del Monte, 'Ice-Templated Materials: Sophisticated Structures Exhibiting Enhanced Functionalities Obtained after Unidirectional Freezing and Ice-Segregation-Induced Self-Assembly', *Chem. Mater.*, vol. 20, no. 3, pp. 634–648, Feb. 2008.
- [139] M. Mihai, 'Rheology and extrusion foaming of chain-branched poly(lactic acid)', *Polym. Eng. Sci.*, vol. 50, no. 3, pp. 629–642, Mar. 2010.
- [140] C. A. Kelly, S. M. Howdle, K. M. Shakesheff, M. J. Jenkins, and G. A. Leeke, 'Viscosity studies of poly(DL-lactic acid) in supercritical CO₂', *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 50, no. 19, pp. 1383–1393, Oct. 2012.
- [141] S. N. Leung, A. Wong, L. C. Wang, and C. B. Park, 'Mechanism of extensional stress-induced cell formation in polymeric foaming processes with the presence of nucleating agents', *J. Supercrit. Fluids*, vol. 63, pp. 187–198, Mar. 2012.
- [142] Y. Di, S. Iannace, E. D. Maio, and L. Nicolais, 'Poly(lactic acid)/organoclay nanocomposites: Thermal, rheological properties and foam processing', *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 43, no. 6, pp. 689–698, Mar. 2005.
- [143] Y. Fujimoto, S. S. Ray, M. Okamoto, A. Ogami, K. Yamada, and K. Ueda, 'Well-Controlled Biodegradable Nanocomposite Foams: From Microcellular to Nanocellular', *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 24, no. 7, pp. 457–461, May 2003.
- [144] F. Hu, N. Lin, P. R. Chang, and J. Huang, 'Reinforcement and nucleation of acetylated cellulose nanocrystals in foamed polyester composites', *Carbohydr. Polym.*, vol. 129, pp. 208–215, Sep. 2015.
- [145] J. Dlouhá, L. Suryanegara, and H. Yano, 'Cellulose nanofibre–poly(lactic acid) microcellular foams exhibiting high tensile toughness', *React. Funct. Polym.*, vol. 85, pp. 201–207, Dec. 2014.
- [146] H. Karkhanechi, S. Rajabzadeh, E. Di Nicolò, H. Usuda, A. R. Shaikh, and H. Matsuyama, 'Preparation and characterization of ECTFE hollow fiber membranes via thermally induced phase separation (TIPS)', *Polymer*, vol. 97, pp. 515–524, Aug. 2016.
- [147] M. Santoro, S. R. Shah, J. L. Walker, and A. G. Mikos, 'Poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering', *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 107, pp. 206–212, Dec. 2016.

Thèse de Doctorat

Swann Gay

Élaboration de matrices microcellulaires de polymère biosourcé par la technologie CO₂ supercritique

Elaboration of microcellular scaffold of biosourced polymer by supercritical CO₂ technology

Résumé

Dans le contexte actuel, où la préservation des ressources et le développement durable sont devenus des enjeux importants de ce siècle, la production de matériaux tant performants que respectueux de l'environnement est devenue indispensable. Ainsi, ce travail de thèse porte sur l'élaboration de matrices poreuses de biopolymères en utilisant la technologie CO₂ supercritique (CO₂-SC). L'utilisation du PLA permet de produire des matrices 100% biosourcées et biodégradables, alors que l'utilisation de CO₂-SC permet de diminuer l'impact écologique des procédés de mise en forme. Dans un premier temps une étude paramétrique de la mise en forme de matrice de PLA par une méthode de séparation de phase thermique (TIPS) couplée à un séchage par CO₂ a été réalisée. Elle a permis de produire des matrices microcellulaires de faible densité (entre 60 et 320 kg/m³) et aux propriétés structurales mécaniques modulables. L'ensemble du procédé a fait l'objet d'une analyse de cycle de vie et il a été démontré que l'utilisation du CO₂-SC en remplacement de la lyophilisation a réduit d'entre 50 et 90% l'impact environnemental. Dans un second temps une étude *in-situ* de la séparation de phase par tomographie-X en rayonnement synchrotron a permis de mieux comprendre la mécanistique de notre procédé. Enfin, la dernière partie de ce travail a été consacrée à la mise en forme de matrice de PLA sans solvant, en utilisant le CO₂-SC comme agent gonflant. Les résultats obtenus ont servi à réaliser une étude comparative des deux procédés développés.

Mots clés

Matrice, biopolymère, CO₂ supercritique, analyse de cycle de vie (ACV), tomographie-X synchrotron, PolyLactic Acid (PLA)

Abstract

In the present context, where the preservation of resources and sustainable development became the main issues of this century, the production of more efficient and environmentally friendly materials is essential. Thus, this work deals with the development of biobased polymeric porous matrix using SC-CO₂. The use of PLA makes it possible to produce 100% biosourced and biodegradable matrices, while the use of CO₂-SC reduces the ecological impact of the shaping processes. In a first step, a parametric study of PLA matrix shaping by a thermal induced phase separation (TIPS) method coupled to CO₂ drying was performed. Low density microcellular matrices were obtained with tunable structural and mechanical properties. The whole process was analyzed by life cycle assessment and the results showed that SC-CO₂ replacing freeze-drying has reduced the environmental impact between 50 and 90%. Secondly, a phase separation *in situ* study by tomography-X synchrotron radiation tomography allowed us to better understand the mechanics of our process. Finally, the last part of this work was devoted to the implementation of a solvent-free process, using SC-CO₂ as a blowing agent. The results obtained were used to carry out a comparative study of the two processes developed.

Keywords

Matrix, biopolymer, supercritical CO₂, life cycle assessment, synchrotron tomography-X, PolyLactic Acid (PLA)