



HAL
open science

Assemblages d'acides gras : du volume aux interfaces

Anne-Laure Fameau

► **To cite this version:**

Anne-Laure Fameau. Assemblages d'acides gras : du volume aux interfaces. Ingénierie des aliments. Université de Nantes; Ecole Doctorale Végétal, Environnement, Nutrition, Agroalimentaire, Mer, 2011. Français. NNT : . tel-02810889

HAL Id: tel-02810889

<https://hal.inrae.fr/tel-02810889v1>

Submitted on 6 Jun 2020

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.

UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE
VEGETAL, ENVIRONNEMENT, NUTRITION, AGROALIMENTAIRE, MER

Année 2011

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Assemblages d'acides gras : du volume aux interfaces

THÈSE DE DOCTORAT
Discipline : Chimie des matériaux
Spécialité : Chimie et science des matériaux

*Présentée
et soutenue publiquement par*

Anne-Laure FAMEAU

Le 20 avril 2011, devant le jury ci-dessous

Président M. Sanchez Christian, Professeur des Universités, Université Montpellier 2
Rapporteurs Mme Langevin Dominique, Directeur de Recherche, Université Paris sud 11
M. Guenoun Patrick, Directeur de Recherche, Lions, CEA Saclay
Examineurs M. Terech Pierre, Directeur de Recherche, CEA Grenoble
M. Legrand Jack, Professeur des Universités, Université de Nantes
M. François Boué, Directeur de Recherche, LLB, CNRS Saclay
M. Fabrice Cousin, Ingénieur de Recherche, LLB, CEA Saclay
M. Jean-Paul Douliez, Directeur de Recherche, INRA Nantes

Directeur de thèse : Jean-Paul Douliez

Remerciements

Cette thèse a été cofinancée par l'Institut National de la Recherche Agronomique et le Commissariat à l'Energie Atomique.

Avant toute chose je tiens à remercier les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail. Patrick Guenoun et Dominique Langevin qui ont accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit (je le reconnais un peu long!) ainsi que d'avoir porté un grand intérêt à mon travail ainsi que des commentaires très constructifs pour la suite de mes travaux. Je suis très reconnaissante à Christian Sanchez pour avoir présidé mon jury de thèse, et je remercie également Jack Legrand et Pierre Terech d'avoir accepté de participer au jury.

J'ai effectué mes trois années de thèse au sein du Laboratoire Léon Brillouin et au sein de l'équipe Interfaces et Systèmes dispersés de l'INRA de Nantes. Je tiens donc à remercier Philippe Mangin et Christiane Alba-Simionesco, successivement directeurs, Susanna Gota-Goldman, directrice adjointe, et Alain Menelle pour m'avoir accueillie au sein du Laboratoire Léon Brillouin. Je remercie également M. Jacques Guéguen, directeur de l'unité Biopolymères Interactions Assemblages de l'INRA de Nantes et M. Marc Anton, responsable de l'équipe Interfaces et Systèmes Dispersés de m'avoir accueillie au sein du laboratoire.

J'en profite pour remercier Chantal Marais et Aurore Verdier (LLB) ainsi que Sylvaine Bizon (INRA Nantes), toujours disponibles, souriantes et très efficaces. Toutes les trois m'ont permises de vaincre ces satanés papiers administratifs très compliqués lors d'une thèse en codirection!

J'adresse mes remerciements les plus sincères à tous mes encadrants, car une thèse c'est avant tout un travail d'équipe. Merci à mon directeur de thèse, Jean-Paul Douliez (dit le chef suprême), pour m'avoir offert l'occasion de faire mes preuves sur un sujet qui ne m'était pas vraiment destiné au départ, je t'en suis très reconnaissante. Grâce à nos discussions quotidiennes tu as pu me transmettre tes connaissances et m'aiguiller tout au long de ma thèse pour faire avancer le projet. Un grand merci également à Fabrice (Mickaël) Cousin pour sa très grande disponibilité, pour avoir répondu à toutes mes questions (mêmes naïves) tout au long de la thèse et pour m'avoir formée à la diffusion de neutrons avec une très grande patience (tout est bon dans le neutron!). Je remercie chaleureusement François Boué pour m'avoir fait confiance, ainsi que pour toutes les discussions scientifiques animées que nous avons pu avoir ensemble. Je remercie également Bruno Novales (Maître Capello et/ou le maître du dance-floor) pour ses conseils toujours très constructifs sur les mousses.

De nombreuses personnes que ce soit au LLB ou à l'INRA ont contribué grandement à ce travail. Tout d'abord à l'INRA, je tenais à remercier Bérénice Houinsou-Houssou pour tous les petits coups de main qui facilitent la vie au quotidien dans le laboratoire, pour son soutien, sa disponibilité, sa gentillesse et sa bonne humeur (XOXO)! Je dois également remercier Cédric Gaillard sans qui ces magnifiques images de microscopie confocale n'auraient jamais été obtenues. Il m'a de plus toujours encouragé chaleureusement tout au long de ma thèse. Au LLB, je tenais à remercier Francis Gibert pour son aide si précieuse lors des expériences de réflectivité. Un très grand merci à Frédéric Ott pour m'avoir aidée lors des expériences de réflectivité hors-spéculaire, pour son efficacité et ses nombreux conseils.

Beaucoup de personnes extérieures au LLB et à l'INRA ont contribué à rendre ce travail très complet. Tout d'abord, je voudrais remercier Laurence Navailles et Frédéric Nallet du CRPP de Bordeaux pour leur aide précieuse lors des expériences de diffusion de neutrons et pour l'interprétation des résultats. Un grand merci pour votre disponibilité et pour vos conseils qui ont permis de faire avancer le projet. Je garde de très bons souvenirs de ces week-ends passés sur le spectromètre en votre compagnie. Je remercie également tous les membres de l'équipe Mousse du LPS d'Orsay (Dominique Langevin, Wiebke Drenckhan, Emmanuelle Rio, Anniina Salonen) pour m'avoir accueillie chez eux afin de réaliser des expériences sur les mousses. Le séjour fut court mais très agréable grâce au très bon accueil que j'ai reçu. Encore merci à toutes pour vos nombreux conseils et votre aide tout au long de ma thèse. Je remercie chaleureusement Arnaud Saint Jalmes et Janine Emile de m'avoir accueillie à l'IPR de Rennes pour réaliser des expériences de rhéologie et de balance à film. Un grand merci à vous deux pour votre disponibilité et votre gentillesse. Une mention spéciale à Arnaud Saint Jalmes qui grâce à nos discussions et à son enthousiasme m'a permis de raconter une jolie histoire sur les mousses de tubes!

Je voulais remercier les chercheurs du laboratoire Léon Brillouin, avec lesquels j'ai eu la chance de partager de nombreuses discussions aussi bien à la pause café que sur les spectromètres : Jacques (merci d'être venu à ma soutenance!), Jean-Marc, Stéphane, Annie, Alain, Nathalie, Sophie, Géraldine, José, Giulia, Didier et Lay-Theng. De même, je tenais à remercier tous les membres de l'équipe d'ISD qui par leur sympathie ont rendu cette thèse très agréable. Un merci particulier à Claude, Anne, Michèle et Lucie avec qui j'ai eu la chance de travailler lors de mon stage de Master.

Cette thèse s'est déroulée dans la joie et la bonne humeur grâce à toutes les personnes présentent au quotidien dans les deux laboratoires!

Un grand merci à mes trois voisines de bureau au LLB, Chloé Chevigny, Anne-sophie Robbes et Zineb Guennouni. Merci tout d'abord à Chloé pour ses blagues sur le cheval (Le cheval c'est trop génial!) et pour ce séjour inoubliable à Rémuzat lors des JDN 18, on s'en souviendra de ce prix de thèse dignement fêté dans la piscine! Zineb, je suis sûre que tu vas adorer la réflectivité de neutrons au sein du laboratoire Léon LE Brillouin (et non Chloé la réflectivité ça sert à quelque chose!).

Pour Anne-sophie Robbes (ma « coupine » de thèse) je pourrais écrire une page entière de remerciements mais bon je vais essayer de faire court ! Ces trois années (enfin presque) n'auraient pas été les mêmes sans toi. L'un des meilleurs moments fut ce fameux congrès en Espagne avec la super 207 (qui a eu chaud aux fesses !). Mes deux voisins d'en face : merci à François Gal (ou Galou pour les intimes !) pour tes blagues graveleuses cela à égayer mes journées ! Christophe Tasserit (ou mon bisounours !) merci pour ton sourire, ta gentillesse, tes tours de magie mais par contre abonne toi à l'équipe car ta culture sportive laisse à désirer (Lionel Messi c'est le plus grand joueur du monde !). L'unique Clémence Le Coeur : je me souviendrais toujours de ce match de football de la coupe du monde à Saturne avec toi ! Ta bonne humeur et tes péripéties sont inoubliables pour moi ! Un grand merci à Caroline pour son soutien sans faille lors de la rédaction (grâce à toi et à ton mari j'ai la biblio à la fin de chaque chapitre !). Je me souviendrais toujours de nos pauses chocolat au coin café ! Une mention particulière pour Nicolas Jouault (dit pauvre naze ou monsieur X) pour m'avoir dépanné très tard lors d'une longue nuit au mois de janvier avec LaTeX... (ulallaa c'est chaud !) PS : je te rappelle qu'Elvis nous attend toujours ! Mon petit Sindhu, j'espère qu'après ma thèse tu continueras à manger des légumes et je te rappelle que le coca ce n'est pas légume ! Encore merci d'être le seul au LLB à connaître tous les bons joueurs de football, tu es le seul qui me comprenne ! Merci également à Alexandros, Cynthia, Gilbert, Adrien, Julie, Isabelle, Cédric, Vincent, Guillaume et j'en oublie sûrement !

A Nantes aussi j'ai passé des moments mémorables, grâce entre autres à mes collègues de bureaux !

Qu'aurais-je fait sans mes discussions et repas fréquents avec Carole pour partager ma passion du sport et surtout du football, la seule personne à même de commenter tous les résultats sportifs du week-end ! Merci à mon copain radin (Mathieu Delample) pour avoir partagé avec moi toutes ces astuces de radin.com ! Merci à Bénédicte qui grâce à sa bonne humeur a rendu le quotidien agréable. Merci à Bérénice de faire la secrétaire de Jean-Paul lorsque je ne veux pas répondre au téléphone : " Bureau de Jean-Paul Douliez, bonjour ? ".

Merci à l'équipe des filles : Clairounette (black car), Claire (voiture bleue), Lucie (Melle Frisette), Pauline (encore merci pour tous ces repas partagés toutes les deux). Un grand merci également aux autres membres de l'équipe avec qui j'ai eu la chance de partager discussions et pauses cafés : Oscar, Alberto, Salhia, Jean-Marc, Hernan, Dominique, Geneviève, Marlène, Tin Hinan...

Grâce à mes nombreux voyages et congrès, j'ai eu la chance de rencontrer des personnes exceptionnelles et notamment Elise Lejeune rencontrée lors des FAN en février 2009. Nous nous sommes revues au congrès ESC en Espagne et puis à l'ECIS où nous avons visité Prague toutes les deux et passé une semaine formidable. Je lui souhaite bonne chance en Allemagne ! En Australie, j'ai eu la chance de partager ma chambre pendant le congrès Food and Neutrons (oui c'était un vrai congrès, je ne suis pas juste partie voir les kangourous et les surfeurs !) avec Kitty van Gruijthuijsen, nous avons passé ensemble un super congrès dans un super hôtel ! Grâce aux GDR Mousses, j'ai rencontré Laurie Saulnier et Stéphanie Limage, je me souviendrais toujours de ce congrès au fin fond de la Bulgarie avec vous...

Le monde de la matière molle bien que vaste est un petit monde puisque j'ai eu la chance

de côtoyer de nombreux chercheurs que j'ai pris plaisir à apprendre à connaître que ce soit en congrès, aux JDN ou à Saturne (ma deuxième maison!) : Bruno Jean, Isabelle Grillo, François Muller et bien d'autres!

Un merci particulier aux personnes qui ne sont pas de l'équipe ISD à l'INRA mais avec qui j'ai eu plaisir à travailler et discuter : Arnaud, Carole, Mélanie, Marion, Benoît, Jérôme, Valérie et Jean-Luc.

Au cours de cette thèse, j'ai eu la chance d'encadrer deux stagiaires : Fanny Chevillot et Marion Guilloux. Encore merci à vous deux pour votre travail et c'était un réel plaisir d'avoir pu vous faire découvrir le monde de la recherche.

Je tenais à remercier tous les personnes avec qui j'ai encadrées les TP à ONIRIS et avec qui j'ai passé de très bons moments.

Je remercie enfin les amis qui se sont déplacés pour ma soutenance Sandrine, Charlotte, Ludivine et Benoît.

Je tiens également à remercier cette très chère Hi Fi (chaîne Hifi, canasson, dada, poney...), que beaucoup d'entre vous connaissent et que certains ont même eu la chance de rencontrer! Grâce à elle, je pense que la plupart des gens au LLB aime les chevaux maintenant (ou pas!) Comme le dit si bien le slogan : Le cheval c'est génial (ou pas)!

Quiero agradecer a la familia Ventureira por su apoyo y aliento. Fue muy fácil escribir cuando estuve en Argentina gracias a su ayuda. Muchos agradecimientos hacia ellos y en especial a mi Jorgito.

Merci à toute ma famille pour leur soutien quotidien et je tenais à prévenir mes parents que maintenant c'est bon j'arrêtais les études!

Table des matières

Introduction	10
1 Assemblages supramoléculaires d'acides gras et propriétés tensioactives associées	19
1.1 Les acides gras : molécules tensioactives	19
1.1.1 Définition d'un tensioactif	19
1.1.2 Différentes classes de tensioactifs	20
1.1.3 Dispersion des acides gras dans l'eau	22
1.1.4 Agrégation des tensioactifs en solution	24
1.2 Un auto-assemblage particulier : les tubes	26
1.2.1 Agrégation de tensioactifs sous forme de tubes	26
1.2.2 Les tubes d'acide gras 12-hydroxy stéarique : un assemblage au comportement singulier	28
1.3 Les mousses	30
1.3.1 Qu'est-ce qu'une mousse ?	30
1.3.2 Mécanismes de formation d'une mousse	32
1.3.3 Mécanismes de déstabilisation d'une mousse	34
1.3.4 Comment augmenter la stabilité des mousses ?	38
1.3.5 Caractérisation et étude des mousses aux différentes échelles	39
1.3.6 Vers de nouvelles mousses : les mousses stimulables	42
2 12-hydroxy stearic acid lipid tubes under various experimental conditions	55
2.1 Abstract	55
2.2 Introduction	56
2.3 Materials and methods	57
2.3.1 Stock Solution Preparation	57
2.3.2 Effect of concentration	57
2.3.3 Effect of molar ratio	57
2.3.4 Effect of ethanol	57
2.3.5 Acid/Base effects	57
2.3.6 Ionic strength	58
2.3.7 Doping	58
2.3.8 Phase Contrast Microscopy	58
2.3.9 Differential Scanning Calorimetry (DSC)	58
2.3.10 Small-angle neutron scattering (SANS)	59

2.4	Results and discussion	59
2.4.1	Effect of pH	60
2.4.2	Effect of the fatty acid concentration	64
2.4.3	Fatty acid/ethanolamine molar ratio	66
2.4.4	Addition of ethanol	68
2.4.5	Addition of NaCl	69
2.4.6	Doping with other lipids	69
2.5	Conclusion	73
2.6	Supplementary information	75
2.6.1	SI1 DSC data	75
2.6.2	SI1 pH data	77
3	Multi-scale structural characterizations of fatty acid multilayered tubes with a temperature-tunable diameter.	87
3.1	Abstract	88
3.2	Introduction	89
3.3	Materials and methods	90
3.3.1	Stock Solution Preparation	90
3.3.2	Phase Contrast Microscopy	90
3.3.3	Differential Scanning Calorimetry	90
3.3.4	Small-angle neutron scattering	90
3.4	Results and discussion	91
3.4.1	Phase contrast microscopy experiments	91
3.4.2	DSC experiments	93
3.4.3	SANS experiments	96
3.5	Discussion	100
3.6	Conclusions and perspectives	101
3.7	Supplementary information	103
3.7.1	Phase contrast microscopy data	103
3.7.2	DSC data	104
3.7.3	SANS data	104
4	Adsorption of multilamellar tubes with a temperature tunable diameter at the air/water interface.	115
4.1	Abstract	115
4.2	Introduction	116
4.3	Materials and methods	117
4.3.1	Sample preparation	117
4.3.2	Specular Neutron Reflectivity	117
4.4	Results and Discussion	118
4.4.1	Raw data at 20 °C	118
4.4.2	Modeling of the SNR data at 20 °C	120
4.4.3	Evolution of the SNR data with temperature for in-cell heating	123
4.4.4	Reversibility of the structural transitions with temperature	125
4.4.5	Influence of the thermal history of the sample	126

4.4.6	Surface behavior <i>versus</i> bulk behavior	127
4.5	Conclusion	128
4.6	Appendix 1 : Theoretical Scattering Length Density profile of multilamellar tubes adsorbed on a planar interface	129
4.7	Supporting Information	131
4.7.1	Surface tension measurements	131
4.7.2	Influence on the area of integration of the specular signal on the 2-D detector compared with the 1-D detector.	132
4.7.3	SNR with 3 different H ₂ O/D ₂ O compositions experiments to discriminate between surface and bulk scattering.	132
4.7.4	Influence of the different geometric parameters of the model of multilamellar tubes adsorbed on a planar interface on the Specular Neutron Reflectivity curve	134
4.7.5	SANS of ethanolamine salt of 12-hydroxystearic acid solution at 70 °C : formation of micelles	135
5	Smart foams : switching reversibly between ultrastable and unstable foams	145
5.1	Abstract	145
5.2	Introduction	146
5.3	Materials and methods	147
5.3.1	Sample preparation	147
5.3.2	Small-angle neutron scattering (SANS)	147
5.3.3	Preparation of foams	148
5.4	Results and discussion	148
5.4.1	Foams at room temperature	148
5.4.2	Foams as a function of the temperature	152
5.4.3	Tunable foams	154
5.5	Conclusion	155
5.6	Supporting Information	156
5.6.1	Calculation of the amount of gas incorporated in the foam	156
5.6.2	Experiments with 3 different H ₂ O/D ₂ O compositions experiments to discriminate between surface and bulk scattering	156
5.6.3	Thin film balance experiment	156
5.6.4	Hand-shaking foam stability for the system 12-HSA/ethanolamine at 60 °C	158
5.6.5	SANS additional data	159
5.6.6	Hand-shaking foam stability for the system 12-HSA/hexanolamine at 60 °C	160
5.6.7	Foam stability as a function of time and temperature	160
6	Synthèse : propriétés des tubes en solution, à l'interface air/eau et dans la mousse.	167
6.1	Etude des tubes en solution	167
6.1.1	Quelle est l'origine de la variation du diamètre des tubes en fonction de la température?	167

6.1.2	Est-ce que l'hypothèse formulée précédemment se vérifie avec d'autres systèmes formant des tubes multilamellaires ayant un diamètre variable avec la température?	170
6.1.3	Dans quelles conditions physico-chimiques se forment les tubes?	175
6.2	Etude de la structure présente à l'interface	179
6.2.1	Détermination de la cinétique d'adsorption	180
6.2.2	Expériences de réflectivité de neutrons à 20 °C	180
6.2.3	Expériences de réflectivité de neutrons en fonction de la température <i>in situ</i>	183
6.2.4	Réversibilité des transitions structurales avec la température	186
6.2.5	Influence de l'histoire thermique de l'échantillon	187
6.2.6	Comparaison entre le comportement à l'interface des tubes et en solution	188
6.2.7	Conclusion	188
6.3	Etude des propriétés moussantes des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique à température ambiante	189
6.3.1	Propriétés moussantes d'une solution de tubes par bullage	189
6.3.2	Etude des films minces par la balance à film	191
6.3.3	Etude de la structure des tubes <i>in situ</i> dans les bords de Plateau par DNPA	192
6.3.4	Expériences de drainage forcé	194
6.3.5	Etude de la stabilité de la mousse sur des temps longs	194
6.3.6	Conclusion	194
6.4	Etude des propriétés moussantes des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique en fonction de la température	196
6.4.1	Formation et stabilité des mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique en fonction de la température par bullage	196
6.4.2	Formation et stabilité des mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique en fonction de la température par agitation manuelle	196
6.4.3	Etude de la structure des tubes <i>in situ</i> dans les bords de Plateau par DNPA en fonction de la température	198
6.4.4	Stabilité des mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique lors de cycles de température	199
6.4.5	Etude de la structure des tubes <i>in situ</i> dans les bords de Plateau par DNPA lors de cycles de températures	200
6.4.6	Conclusion	202
6.5	Conclusions générales : lien 3D, 2D et propriétés moussantes	202
7	Self assembly, foaming and emulsifying properties of sodium alkyl carboxylate/guanidine hydrochloride aqueous mixtures.	211
7.1	Abstract	212
7.2	Introduction	213
7.3	Materials and methods	214
7.3.1	Sample preparation	214
7.3.2	Phase-contrast microscopy	214
7.3.3	Solid state NMR	214

7.3.4	Small-angle neutron scattering (SANS)	215
7.3.5	Preparation of o/w emulsions	215
7.3.6	Light scattering measurements	215
7.3.7	Preparation of foams	215
7.3.8	Surface tension measurements	216
7.4	Results and discussion	216
7.4.1	Self-assembly in water	216
7.4.2	Adsorption kinetics at the air/water or hexadecane/water interface	222
7.4.3	Foaming properties	224
7.4.4	Emulsifying properties	226
7.5	Conclusion	228
7.6	Supplementary information	229
7.6.1	SI1 DSC Results	229
7.6.2	SI2 Foams	229
7.6.3	SI3 Emulsions	229
Conclusion		236
A Etude des assemblages en solution		245
A.1	Préparation des solutions	245
A.2	Caractérisation des assemblages par microscopie à contraste de phase	245
A.3	Caractérisation des assemblages par analyse thermique différentielle	246
B La diffusion des neutrons aux petits angles DNPA		249
B.1	Le neutron et l'interaction neutron/matière	249
B.2	Les mesures	250
B.3	Le traitement des données	252
B.4	La particularité des neutrons	253
B.5	Diffusion aux petits angles des assemblages d'acides gras	253
C La réflectivité de neutrons		255
C.1	Principe de la mesure	255
C.2	Appareillage et mode opératoire	257
C.2.1	Description du spectromètre EROS	257
C.2.2	Environnement échantillon	257
C.3	Les mesures	257
C.4	Traitement des données	258
D Etude des propriétés moussantes		261
D.1	Formation des mousses par bullage	261
D.2	Formation des mousses par agitation manuelle	262
D.3	Caractérisation des films interfaciaux par la balance à films	262
D.4	Caractérisation de l'interface par la tensiométrie à goutte	263

E Etude des propriétés émulsifiantes	265
E.1 Préparation des émulsions	265
E.2 Détermination de la taille des gouttelettes d'huile par granulométrie laser . .	265
E.3 Suivi du crémage des émulsions	266
Résumé	270

Introduction

Introduction

L'utilisation d'agro-ressources à des fins industrielles est un des grands défis du XXIème siècle, en contribuant par exemple à la substitution de carburants d'origine fossile ou à la formation des « biosynthons » organiques pour l'industrie chimique. Dans le domaine des détergents, la part des produits dits « verts » occupant le marché est encore très faible. Dans ce contexte actuel de chimie verte et de développement durable, il faut donc chercher à renforcer cette part de produits plus respectueux de l'environnement tout en tenant compte également de la biodégradabilité des molécules utilisées. Par exemple, les acides gras à courte chaîne sont très utilisés dans les secteurs de la détergence et de la cosmétique. Néanmoins, il existe aussi une forte quantité d'acides gras à longue chaîne et hydroxylés peu valorisés actuellement alors qu'ils peuvent être extraits des plantes, notamment des téguments des fruits, et qu'ils représentent une biomasse importante des industries de conserverie. Il est connu dans la littérature que les acides gras à longues chaînes sont insolubles dans l'eau à température ambiante, ce qui limite leur utilisation en tant que tensioactif. Récemment, des contre-ions spécifiques ont été utilisés pour disperser ces biomolécules dans l'eau à température ambiante. Ces études ouvrent ainsi la voie à la valorisation de ces sels d'acides gras comme nouveaux tensioactifs.

De plus, suivant la nature du contre-ion et de l'acide gras utilisé, il est possible d'obtenir des dispersions homogènes avec une grande variété d'assemblages supramoléculaires : micelle, vésicule, tube, cône, etc. Des études préliminaires réalisées à l'INRA de Nantes sur la formation de mousses et d'émulsions à partir de ces assemblages ont montré des stabilités différentes selon le polymorphisme. Ceci est intéressant du point de vue de l'application : le contrôle des propriétés moussantes et émulsifiantes à partir de la structure du tensioactif en solution répondrait aux attentes des industriels désirant former des mousses et des émulsions facilement modulables sous contrainte physique ou chimique. Ces systèmes ont également un intérêt plus fondamental pour la compréhension des mécanismes permettant la prédiction des propriétés interfaciales à partir de la structure des assemblages présents en solution : de par leur large polymorphisme en solution, ils sont en effet bien adaptés à l'étude du lien entre la structure des assemblages en solution et les propriétés aux interfaces. Ce travail de thèse a donc été initié avec pour objectif d'obtenir une compréhension suffisamment fine des mécanismes impliqués dans la stabilisation d'une mousse par un assemblage d'acides gras pour permettre la formulation d'une mousse ayant une stabilité modulable. J'ai donc cherché à répondre au cours de ce travail aux questions suivantes :

- Pour un assemblage complexe en solution, quelle est la structure adoptée à l'interface ?

- Quelle est la structure de cet assemblage au sein de la mousse ?
- Quel est le rôle joué par cet assemblage dans la stabilisation de la mousse ?
- Comment peut-on générer des interfaces et des mousses à propriétés modulables ?

Je me suis basée sur des travaux réalisés préalablement à l'INRA de Nantes qui avaient montré qu'un assemblage particulier peut être obtenu en utilisant l'acide gras 12-hydroxy stéarique et l'éthanolamine comme contre-ion : des tubes multilamellaires ayant un diamètre variable avec la température. Cet assemblage, au comportement singulier vis-à-vis de la température, semblait bien adapté pour étudier la structure adoptée à l'interface et dans les mousses par un assemblage de morphologie complexe en solution. Le but était de générer des interfaces et des mousses à propriétés modulables sous l'action d'une contrainte externe (la température) à partir de ces tubes multilamellaires. Ainsi, la majeure partie des travaux de cette thèse s'est donc focalisée sur l'étude de ce système. Nous souhaitons également étudier d'autres types d'assemblages afin d'apporter des éléments de compréhension supplémentaires sur la relation entre la structure des assemblages en solution et leurs propriétés interfaciales, moussantes et émulsifiantes. Dans cette optique, nous avons réalisé des dispersions d'acides gras en présence de soude et de chlorhydrate de guanidine, sel connu pour disperser les acides gras à longues chaînes en solution aqueuse tout en empêchant leur cristallisation à température ambiante.

Ce manuscrit de thèse est organisé de la façon suivante :

Dans le premier chapitre sont décrits, à partir de la littérature, les travaux en matière d'auto-assemblage des acides gras. Ensuite, les mécanismes de formation et de stabilité des mousses sont développés. Un paragraphe détaille plus particulièrement les travaux récents concernant les mousses stimulables.

Le chapitre suivant, sous forme de publication, est consacré à l'étude de la formation de cette structure spécifique de tubes multilamellaires en solution aqueuse en fonction de paramètres physico-chimiques. L'objectif de cette partie est de mettre en évidence les conditions pour lesquelles les tubes multilamellaires se forment en solution. Nous montrons que les tubes multilamellaires se forment pour des conditions variées de pH, de concentration en acides gras, de force ionique et de rapport molaire.

Toujours avec l'objectif de caractériser finement l'assemblage en solution, le troisième chapitre, sous forme de publication, traite de la compréhension de l'augmentation du diamètre des tubes avec la température. Pour tenter de comprendre ce phénomène, une étude multi-échelles couplant la microscopie optique, l'analyse thermique différentielle et la diffusion de neutrons aux petits angles est décrite sur différents systèmes formant des tubes. Il est en effet indispensable de connaître précisément l'évolution de la structure de l'assemblage en solution en fonction de la température pour pouvoir ensuite caractériser ses propriétés interfaciales sous l'action de cette contrainte externe.

Le quatrième chapitre, sous forme de publication, concerne l'étude des propriétés interfaciales des tubes multilamellaires par tensiométrie à goutte et réflectivité de neutrons. Nous présentons d'abord la structure formée à l'interface à température ambiante : nous verrons que cette structure originale est un exemple pour lequel la structure en volume est conservée à l'interface. Ceci est illustré par le comportement de la couche interfaciale en fonction de la température.

Le cinquième chapitre, sous forme de publication, traite des propriétés moussantes des tubes multilamellaires. Dans un premier temps, nous montrons que ces mousses sont incroyablement stables à température ambiante. Dans un deuxième temps, nous démontrons que la stabilité de celles-ci est modulable par la température du fait de changements structuraux de l'assemblage *in situ* dans les bords de Plateau, ce qui en fait un système unique.

Le sixième chapitre rassemble sous forme d'une synthèse en français les principaux résultats obtenus dans les chapitres précédents. Grâce à cette étude complète concernant les propriétés des tubes en solution, à l'interface et dans les mousses, nous montrons que la structure en volume est conservée à l'interface et que la maîtrise de l'assemblage en volume permet un contrôle des propriétés moussantes.

Le dernier chapitre, sous forme de publication, est consacré à l'étude d'autres types d'assemblages d'acides gras obtenus avec des acides gras à longues chaînes et dérivés hydroxylés en présence de chlorhydrate de guanidine et de soude. L'objectif de cette partie est d'apporter des éléments de réponse complémentaires sur l'impact de la structure d'un assemblage en volume sur les propriétés interfaciales, moussantes et émulsifiantes. Tout d'abord, les assemblages formés à partir de ce sel d'acides gras sont caractérisés en solution en couplant la résonance magnétique nucléaire et la diffusion de neutrons aux petits angles. Ensuite, les propriétés aux interfaces ainsi que moussantes et émulsifiantes de ces assemblages sont étudiées et comparées en fonction de la nature de l'acide gras.

En annexes sont détaillées les principales techniques expérimentales utilisées au cours de cette thèse.

CHAPITRE I

Chapitre 1

Assemblages supramoléculaires d'acides gras et propriétés tensioactives associées

1.1 Les acides gras : molécules tensioactives

1.1.1 Définition d'un tensioactif

Un tensioactif possède une partie polaire hydrophile (ionique ou non), et une partie apolaire hydrophobe généralement constituée d'une chaîne hydrocarbonée alkyle (Figure 1.1). C'est l'antagonisme de cette structure qui lui confère ses propriétés particulières. En effet, par exemple dans l'eau, les molécules tensioactives cherchent à minimiser les contacts entre leur partie hydrophobe et le solvant. Ceci se traduit par une adsorption préférentielle aux interfaces et une diminution de la tension interfaciale. C'est la raison pour laquelle ces molécules sont appelées « tensioactives ». La nature de ces molécules leur permet également de solubiliser une phase organique dans l'eau, ou l'inverse, par adsorption à l'interface eau-huile, la tête polaire dans l'eau tandis que la chaîne hydrophobe s'insère dans la phase apolaire. Elles ont également la faculté, à concentration suffisante en phase aqueuse, de se grouper pour donner naissance à des micelles, ou d'autres types d'assemblages supramoléculaires.

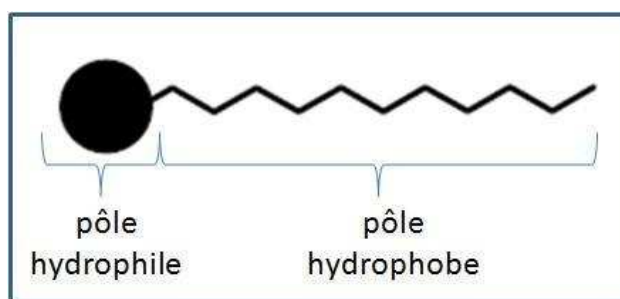


FIGURE 1.1 – Schéma d'un tensioactif.

Les tensioactifs, quelle que soit la nature des têtes polaires, peuvent présenter des structures très diverses (Figure 1.2). Dans le cas des tensioactifs monocaténaires, bicaténaires et tricaténaires, les têtes polaires portent respectivement une, deux et trois chaînes alkyles. Les bolaformes sont constitués de deux têtes polaires reliées par un ou deux segments hydro-

phobes. Enfin, les géminés sont constitués de deux têtes polaires portant chacune une chaîne alkyle reliées par un segment hydrophobe appelé bras espaceur¹.






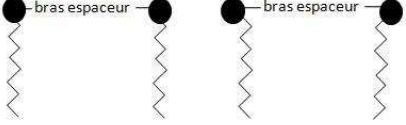
Structure du tensioactif	nom
	monocaténaire
	bicaténaire
	tricaténaire
<hr/>	
	bolaforme simple chaîne
	bolaforme double chaîne
<hr/>	
	géminés

FIGURE 1.2 – Classement des tensioactifs.

1.1.2 Différentes classes de tensioactifs

Il est possible de classer les agents de surface de différentes manières : importance économique, solubilité dans l'eau, propriétés, applications, etc. Mais le classement le plus rationnel est relatif au caractère ionique des tensioactifs. Dans la littérature, on rencontre diverses structures de tensioactifs, variant notamment selon la nature de la partie hydrophile qui peut être cationique, anionique, amphotère ou non ionique. La partie hydrophobe, quant à elle, est le plus souvent sous forme d'une chaîne aliphatique de longueur variable, ramifiée ou non.

1.1.2.1 Les grandes familles de tensioactifs

Les tensioactifs anioniques sont historiquement les premiers tensioactifs utilisés sous la forme de savons. Actuellement, ce sont les tensioactifs les plus utilisés, notamment dans le domaine de la détergence. En solution aqueuse, ils se dissocient pour donner des ions amphiphiles chargés négativement. A titre d'exemple, nous citerons le sulfate d'alkyle le plus connu : le dodécylsulfate de sodium (SDS) dérivé du dodécanol (Figure 1.3).



FIGURE 1.3 – Exemple d'un tensioactif anionique : le dodécylsulfate de sodium (SDS).

En solution aqueuse, les tensioactifs cationiques se dissocient pour donner des ions amphiphiles chargés positivement comme les ammoniums quaternaires, par exemple le bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) utilisé dans le domaine de la détergence (Figure 1.4).

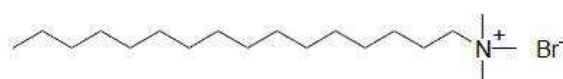


FIGURE 1.4 – Exemple d'un tensioactif cationique : le bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB).

Les tensioactifs zwitterioniques, ou amphotères, possèdent sur la partie hydrophile à la fois une charge positive et une charge négative. Ils sont par conséquent électriquement neutres. Cependant, selon le pH du milieu, ces tensioactifs peuvent aisément devenir anioniques ou cationiques. Cette structure dipolaire s'apparente à celle des phospholipides naturels et conduit à une famille de produits généralement non irritants et peu agressifs sur le plan biologique. De nombreuses substances naturelles comme les bétaines entrent dans cette classe de tensioactifs (Figure 1.5).

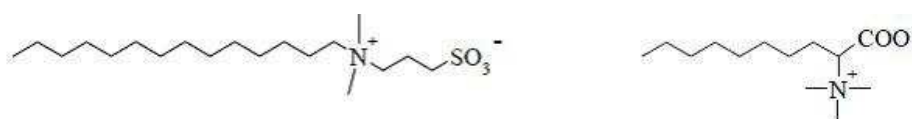


FIGURE 1.5 – Exemple de tensioactifs amphotères : la sulfobétaine et la carboxybétaine.

Les tensioactifs non ioniques constituent la classe la plus récente de tensioactifs. Les tensioactifs non ioniques ne se dissocient pas en solution aqueuse. Leur hydrophilie provient alors de la présence dans leur structure moléculaire de groupements polaires du type éther, alcool, carbonyle ou amide. Les polyoxyéthylènes tels que le Brij 35 ou les polyglucosides d'alkyle (APG)², utilisés en détergence ou en cosmétique en sont des exemples. L'un des plus usuels est le Tween 20 (Figure 1.6).

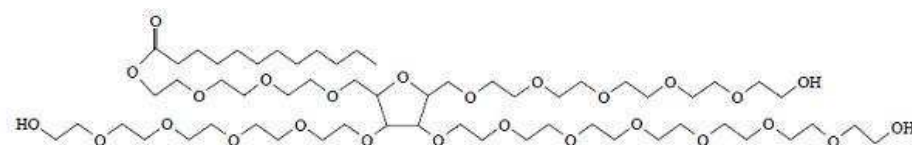


FIGURE 1.6 – Exemple d'un tensioactif non ionique : le tween 20.

1.1.2.2 Les acides gras

En chimie, un acide gras est un acide carboxylique à chaîne aliphatique. Les acides gras sont des composants présents en abondance dans les graisses animales (lard, beurre, etc.) et végétales (huiles ou cires). Ces molécules sont donc tensioactives naturellement avec une tête hydrophile (groupement carboxylique) et une queue hydrophobe (chaîne alkyle)³. Les anions de type $R-COO^-$ abaissent la tension superficielle aux interfaces : ils sont tensioactifs. De cet ensemble de caractéristiques, résultent les propriétés mouillantes, moussantes et émulsionnantes des acides gras. On classe les acides gras en fonction de la nature de la chaîne aliphatique, c'est-à-dire selon : la longueur, la présence ou l'absence de doubles liaisons, la position des doubles liaisons ou encore selon la présence de groupements hydroxyles à des positions particulières. Ainsi, on parle d'acides gras à « longue chaîne » pour une longueur

de 14 à 24 carbones et « à très longue chaîne » s'il y a plus de 24 carbones. Par ailleurs, les acides gras ne possédant pas de doubles liaisons sont qualifiés de saturés et ceux possédant des doubles liaisons sont qualifiés d'insaturés. De la même façon, on parle d'acides gras hydroxylés lorsqu'ils possèdent un groupement hydroxyle (Figure 1.7).

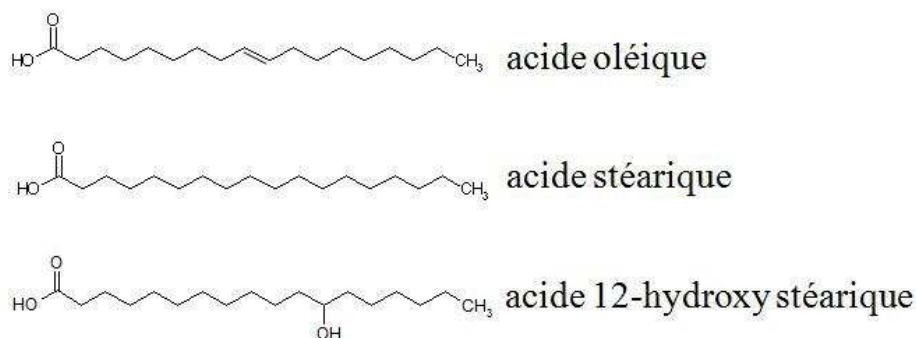


FIGURE 1.7 – Exemple de quelques acides gras.

La tête hydrophile des acides gras qui porte la fonction carboxylique est polaire dans l'eau à un pH supérieur à 5,5 à température ambiante, par contre la chaîne carbonée est apolaire. La solubilité des acides gras dans l'eau diminue donc avec l'augmentation du nombre de carbones. A partir de 5 carbones, les acides gras sont insolubles et s'organisent soit en film moléculaire à l'interface eau-air soit en micelles^{4, 5}. Ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires tels que le benzène, le chloroforme, etc. De plus, les acides gras à longues chaînes cristallisent en solution aqueuse à température ambiante, empêchant leur utilisation dans de nombreuses applications. L'enjeu est donc de disperser les acides gras pour pouvoir ensuite exploiter leurs propriétés tensioactives.

1.1.3 Dispersion des acides gras dans l'eau

Il existe à notre connaissance trois stratégies possibles pour disperser les acides gras à longues chaînes dans l'eau, détaillées ci-après.

1.1.3.1 Les systèmes catanioniques

Le terme « catanionic » (catanionique, en français) fait référence aux mélanges de tensioactifs cationiques et anioniques. La présence de ces deux charges électrostatiques opposées, permet le rapprochement de ces deux molécules pour former une nouvelle entité tensioactive (Figure 1.8). On qualifie de catanioniques purs les mélanges de tensioactifs cationique et anionique sans contre-ions. La formation de systèmes catanioniques mettant en jeu des acides gras est décrite dans la littérature en utilisant différents tensioactifs cationiques⁶⁻⁹. De nombreuses morphologies d'agrégats en solution peuvent être formées à partir de ces systèmes d'acides gras. Par exemple, dans le cas du système hydroxyde de cétyltriméthyl ammonium/ acide myristique dans l'eau des agrégats très différents ont été observés à différentes compositions du système : phase lamellaire, disque, vésicule ou icosaèdre¹⁰⁻¹³.

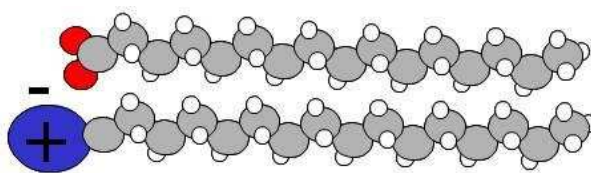


FIGURE 1.8 – Représentation schématique d'un système catanionique.

1.1.3.2 Les modifications chimiques

A l'aide de modifications chimiques, il est possible d'augmenter l'hydrophilie des acides gras et ainsi faciliter leur dispersion dans l'eau. En effet, le groupement carboxylate est une fonction relativement réactive et ainsi de nombreuses molécules avec différents motifs (type acrylate, type sulfonate, etc.) peuvent être additionnées¹⁴⁻¹⁶. Cette technique pour disperser les acides gras est cependant coûteuse en énergie.

1.1.3.3 Formation de sels d'acides gras

Une autre méthode pour disperser les acides gras et qui ne nécessite aucune modification de ces derniers consiste à utiliser des contre-ions. La modification s'effectue au niveau de la tête hydrophile de l'acide gras en créant des charges électrostatiques. Le caractère polaire de la molécule est alors augmenté et l'existence de charges entraîne une meilleure solvata-tion des têtes hydrophiles. Une paire d'ions est alors formée. Ce système est équivalent au système catanionique, mais contrairement à ce dernier il implique seulement une molécule tensioactive (l'acide gras).

Les sels d'acides gras les plus communs sont les sels de sodium ou de potassium, préparés simplement par neutralisation de l'acide gras avec les groupements hydroxyles^{4, 5}. Néanmoins, ces sels d'acides gras ont une utilisation réduite du fait de leur faible solubilité dans l'eau à température ambiante liée à la température de Krafft (voir le paragraphe 1.1.4.1). Par exemple, le sel de sodium de l'acide stéarique cristallise en dessous de 71 °C¹⁷. En 1972, Shinoda *et al*¹⁸ ont montré que la solubilité de l'acide gras pouvait être modifiée par le type de contre-ion utilisé pour le disperser. Ce comportement général a été confirmé ensuite par les travaux de Zana *et al*¹⁹⁻²¹, qui ont trouvé que l'utilisation de l'ion hydroxyle de tétra-butyle ammonium (TBAOH) permettait d'obtenir des dispersions stables d'acides gras à longues chaînes (jusqu'à 24 carbones) à 3 °C pendant plusieurs semaines. Ainsi, la substitution d'un contre-ion alcalin par une amine quaternaire permet d'augmenter de façon très significative la solubilité. La paire d'ions formée au niveau de la tête polaire résulte de la réaction acido-basique entre la fonction acide carboxylique de l'acide gras et l'amine basique.

De la même manière, d'autres contre-ions possédant des fonctions amines ont été utilisés avec succès pour disperser les acides gras à longues chaînes saturés ainsi que les acides gras hydroxylés. Par exemple, l'éthanolamine permet de disperser les acides gras hydroxylés sous la forme de membranes ou de tubes²². Des molécules biologiques comme la lysine ou la choline permettent de disperser avec succès les acides gras. Dans le cas de la choline^{23, 24}, les acides gras sont dispersés sous forme de micelles, tandis qu'avec la lysine²⁵ ils sont dispersés

sous forme de vésicules, mais cristallisent rapidement à température ambiante. Ainsi, il est possible d'obtenir facilement un polymorphisme varié d'assemblages d'acides gras en jouant sur la nature du contre-ion. Par ailleurs, il est connu dans la littérature que l'activité de surface d'un acide gras augmente avec sa longueur de chaîne carbonée, mais s'accompagne en parallèle d'une diminution de sa solubilité. Grâce à ces études sur les sels d'acides gras, il est maintenant possible d'augmenter la solubilité d'un acide gras à longue chaîne en solution à température ambiante, permettant ainsi de profiter de sa forte activité de surface comme tensioactif²⁶⁻²⁸.

Une fois dispersés, les acides gras peuvent s'auto-assembler en solution. Le type d'agrégat observé varie en fonction de paramètres extrinsèques (solvant, température, salinité, concentration), de la structure de la molécule amphiphile (nature de la tête polaire, nature des chaînes hydrocarbonées, etc.) et de la nature du contre-ion. Par ailleurs, la taille et la forme des agrégats résultent des différentes interactions (hydrophobes et électrostatiques) et des contraintes géométriques d'entassement.

1.1.4 Agrégation des tensioactifs en solution

En solution à faible concentration, certains tensioactifs sont présents sous forme de monomères, dont une partie est située à l'interface solution-air. L'augmentation de la concentration en tensioactifs engendre une saturation progressive de l'interface. Au-delà de cette saturation, les monomères s'organisent pour former des agrégats moléculaires de formes variées, afin de minimiser les contacts entre les parties hydrophobes des molécules de tensioactifs et les molécules d'eau. Ainsi, les parties hydrophobes du tensioactif se regroupent pour former une pseudo-phase organique, tandis que les têtes polaires se positionnent, quant à elles, vers le milieu environnant. La formation de ces objets permet de réduire les interactions hydrophobes entre l'eau et les chaînes alkyles et favorise la solvation des têtes polaires. La concentration à partir de laquelle les monomères commencent à former ces agrégats est définie comme la concentration d'agrégation critique (CAC).

1.1.4.1 La micellisation

L'un des phénomènes les plus connus est la micellisation qui peut être rencontrée dans divers solvants, l'eau restant le solvant le plus employé (Figure 1.9). La concentration à partir de laquelle les monomères commencent à former ces agrégats est définie comme la concentration micellaire critique (CMC). L'analyse de la solubilité d'un tensioactif anionique ou de certains tensioactifs non-ioniques montre qu'au delà d'une certaine température, caractéristique du tensioactif considéré, la solubilité s'accroît fortement. Ce phénomène, observé pour la première fois par Krafft et collaborateurs, est dû à la formation de micelles²⁹. La température à laquelle ces micelles commencent à se former est appelée température de Krafft (T_k) ou point de Krafft. Une fois la CMC atteinte, deux comportements sont observés : en-dessous de la température de Krafft, les monomères constituent une phase solide que l'on pourrait définir comme le mélange de composés organisés tels que des cristaux ou des cristaux liquides au sein de la solution. Cela se traduit par une solution d'aspect trouble. Puis, au-delà de la température de Krafft, les monomères adoptent une organisation en micelles permettant de

dispenser les molécules dans la solution, se traduisant par le passage d'une solution trouble à limpide (Figure 1.10). La température de Krafft est donc déterminée en observant l'apparition et la disparition d'un trouble dans une solution de tensioactifs de concentration donnée (assez élevée en général).

Certains contre-ions permettent de disperser les acides gras sous formes de micelles^{19, 23, 30}. Comme nous l'avons vu précédemment (voir le paragraphe 1.1.3.3), la température de Krafft varie alors fortement suivant le contre-ion utilisé.

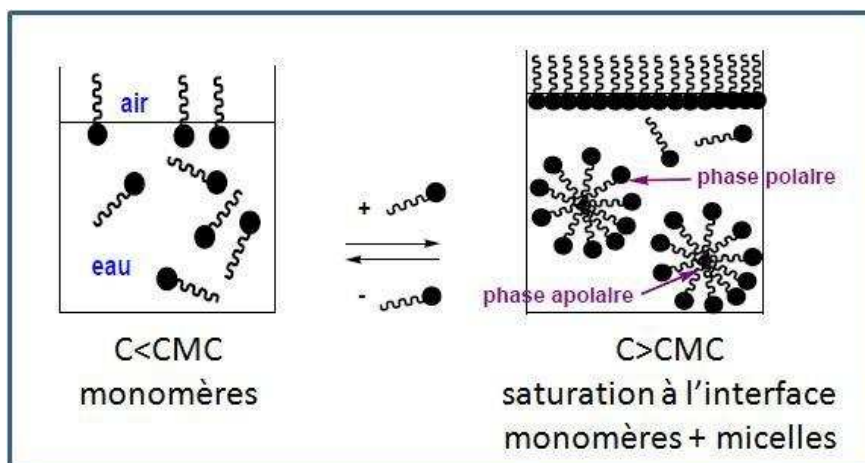


FIGURE 1.9 – Concentration micellaire critique.

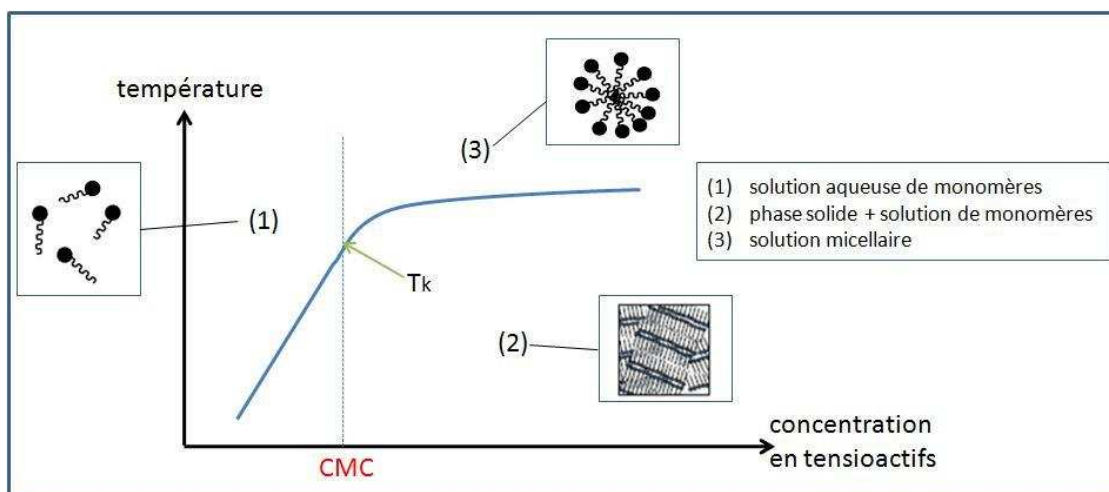


FIGURE 1.10 – Diagramme de phase d'un tensioactif soluble dans l'eau.

1.1.4.2 Relation structure/ morphologie des agrégats de tensioactifs

Des considérations géométriques simples permettent de déterminer à priori les organisations possibles, en solution aqueuse, d'un tensioactif donné. En 1976, Israelachvili *et al.*³¹ ont établi un lien entre la géométrie du tensioactif et la morphologie des agrégats obtenus. Pour cela, les auteurs ont défini un paramètre d'empilement p . Ce dernier est le rapport entre

le volume de la tête polaire du tensioactif v et l'aire de cette dernière a_0 multipliée par la longueur critique l_c de la chaîne hydrophobe (Equation 1.1).

$$p = \frac{v}{a_0 \cdot l_c} \quad (1.1)$$

Cette longueur représente la longueur maximale pour laquelle la chaîne alkyle peut être considérée comme fluide et non figée au sein de l'agrégat. Grâce à ce paramètre d'empilement p , la structure des agrégats peut être déduite de la structure géométrique des tensioactifs (Figure 1.11). Différents agrégats peuvent donc être formés dans l'eau. Lorsque la tête hydrophile du tensioactif devient prépondérante par rapport à la chaîne hydrophobe ($p < 1/2$), on obtient des agrégats micellaires. Par contre, lorsque le volume occupé par la partie hydrophobe est égal ou supérieur à celui de la partie hydrophile, des vésicules ($1/2 < p < 1$) ou des micelles inverses sont obtenues ($p > 1$). De plus, le paramètre p dépend des composantes du milieu, telles que la force ionique, la présence des sels, qui influent sur l'intensité des interactions attractives et répulsives entre les acides gras.

La maîtrise du paramètre d'empilement est donc un moyen de contrôler les interactions entre tensioactifs. Dans le cas des acides gras, un moyen simple de modifier le paramètre d'empilement est de jouer sur la structure du contre-ion et ainsi de former de nouvelles morphologies telles que des cônes³², des tubes³³, des rubans³⁴, des disques¹⁰ et des icosaèdres¹¹. Généralement, ces organisations réversibles apparaissent à des concentrations n'excédant pas 5 % en masse d'acides gras. A plus haute concentration en tensioactifs la formation de phase cristal liquide lyotrope est possible³⁵. Dans tous les cas, il est important de noter que ces structures sont dynamiques et donc réversibles par dilution ou par modification des paramètres du milieu tels que la force ionique ou la température.

1.2 Un auto-assemblage particulier : les tubes

1.2.1 Agrégation de tensioactifs sous forme de tubes

De nombreuses molécules tensioactives peuvent s'assembler sous la forme de tubes cylindriques³⁶. Dans la littérature on peut trouver des exemples variés incluant des polymères diblocs, des sels biliaires, des amides amphiphiles et de nombreux lipides tels que des glycolipides, des phospholipides, les dérivés de glycolipides bolaformes etc³⁷. Comme dans le cas des nanotubes de carbones, ces assemblages ont un très grand intérêt technologique. En effet, les nanotubes lipidiques possèdent une surface externe et un cœur hydrophile, ce qui peut servir de modèles pour la fabrication d'objets inorganiques³⁸, comme substrat pour la cristallisation de macromolécules³⁹ et comme organogélateur⁴⁰. Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer la formation de ces structures à fortes courbures³⁷. Deux grandes catégories de modèles existent : les modèles basés sur les propriétés élastiques chirales des membranes et les modèles basés sur d'autres effets incluant les interactions électrostatiques et la courbure spontanée. Dans la plupart des cas, les tubes formés à partir de lipides sont obtenus à partir de molécules chirales. Ces tubes sont obtenus dans un mélange d'eau et d'alcool avec une étape intermédiaire dans laquelle des rubans torsadés hélicoïdaux sont formés³⁶. Dans ce cas, les modèles reposant sur les propriétés chirales élastiques des membranes semblent bien

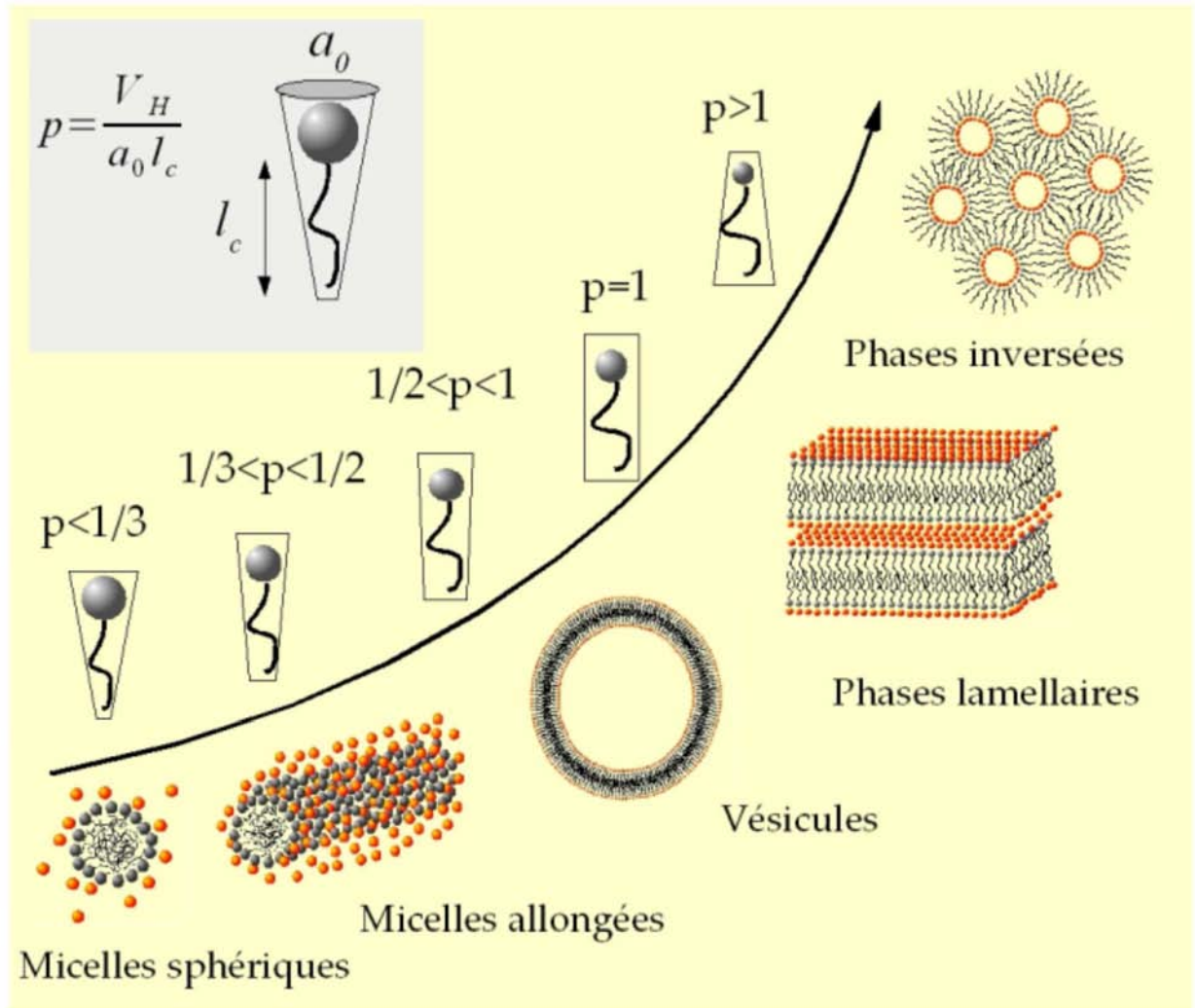


FIGURE 1.11 – Structure des agrégats en fonction du paramètre d’empilement des tensioactifs³¹.

adaptés pour expliquer la formation de ces tubes^{37, 41, 42}. De façon intuitive, dans une membrane, les molécules se placent les unes à côté des autres. La chiralité du lipide engagé dans la membrane influence la position de la molécule voisine en la décalant d'un certain angle. Progressivement, l'angle formé génère une torsion au sein de la membrane, ce qui entraîne la formation de tubes. C'est cette torsion qui définit le diamètre des tubes et des rubans hélicoïdaux. Avec ce raisonnement, dans un mélange racémique, seules des membranes plates devraient pouvoir se former comme cela a été observé dans le cas de tensioactifs géminés⁴³. Pourtant, des exemples dans la littérature montrent que des tubes peuvent se former avec des mélanges racémiques ou non chiraux³⁷. Dans ce cas, il y a formation de tubes parce que la symétrie de chaque monocouche est rompue, ce qui entraîne une déformation de la membrane au même titre que lorsque des lipides chiraux sont utilisés.

1.2.2 Les tubes d'acide gras 12-hydroxy stéarique : un assemblage au comportement singulier

Récemment des tubes au comportement singulier ont été découverts au laboratoire BIA de l'INRA de Nantes. Ces tubes sont formés à partir de l'acide gras 12-hydroxystéarique et de l'éthanolamine (2-amino-1-ethanol) comme contre-ion⁴⁴. Comme nous avons pu le voir dans la section 1.2.1, les molécules tensioactives capables de générer ce type d'agrégat présentent la particularité de posséder un centre de chiralité. Pour l'acide gras 12-hydroxystéarique, le groupement hydroxyle en position 12 permet d'obtenir un centre de chiralité sur cette position. La réaction acide/base entre la tête polaire de l'acide gras et le contre-ion permet la formation d'une paire d'ions. L'utilisation de l'éthanolamine comme contre-ion permet ainsi de disperser l'acide gras en solution aqueuse. L'entité tensioactive formée possède donc une géométrie cylindrique (Figure 1.12).

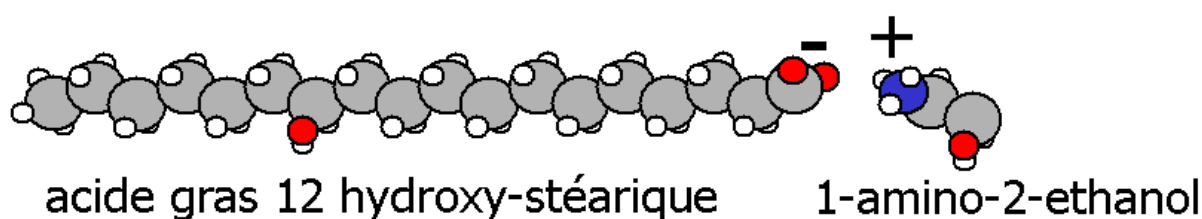


FIGURE 1.12 – Schéma d'association entre l'acide gras 12-hydroxy stéarique et le contre-ion éthanolamine.

Les premiers travaux sur ce système ont concerné l'étude à température ambiante d'un mélange équimolaire d'acide gras 12-hydroxystéarique et de l'éthanolamine comme contre-ion en solution aqueuse à une concentration de 10 mg/mL⁴⁴. Ce mélange, après chauffage à 70 °C, forme une solution isotrope qui, après refroidissement à température ambiante, devient turbide. L'étude de cette solution par microscopie à contraste de phase a montré la présence de bâtonnets d'environ 10 μm de longueur à température ambiante. A l'aide de

la microscopie électronique à transmission, les auteurs ont pu mettre en évidence que ces bâtonnets sont des tubes creux dont le diamètre externe est de $0,6 \mu\text{m}$ et le diamètre interne est de $0,4 \mu\text{m}$. Ensuite pour obtenir des données sur la structure de ce système, des expériences en diffusion de neutrons aux petits angles (DNPA) ont été réalisées. Un spectre de diffusion avec des pics de Bragg a été observé, ce qui suggère que les tubes sont formés d'un empilement concentrique de bicouches séparées par une lamelle d'eau (Figure 1.13). L'espace interlamellaire (correspondant à la distance de répétition comprenant une couche d'eau et une bicouche) a été déterminée à partir de la position des pics de Bragg, à environ 350 \AA . En couplant ce résultat avec les valeurs du diamètre obtenu par microscopie, les auteurs en ont déduit que les tubes étaient formés de 4 bicouches. Par ailleurs, l'épaisseur de la bicouche a été évaluée à environ 40 \AA . Cette valeur est égale à deux fois la valeur de la longueur de la chaîne de l'acide stéarique dans sa conformation tout étendue. Ainsi, toutes les chaînes alkyles des acides gras sont en conformation *trans*, c'est à dire en phase gel (L_β). En modélisant la courbe de diffusion de neutrons obtenue avec un facteur de structure approprié, des informations sur les fluctuations élastiques des membranes constituant les tubes ont été obtenues. Les résultats suggèrent que les bicouches sont très rigides avec un module de courbure de l'ordre de $50k_B T$, en association avec des interactions fortes dans l'empilement lamellaire.

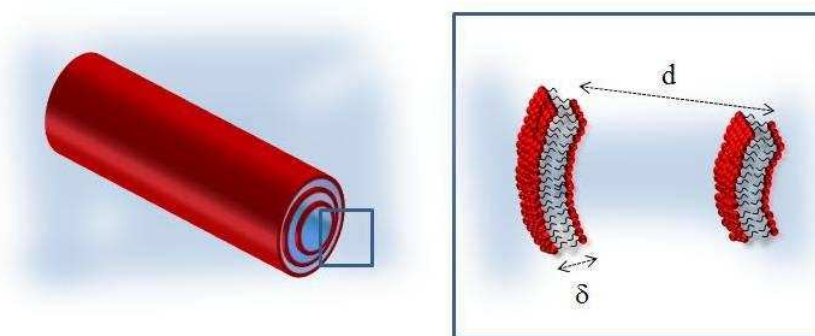


FIGURE 1.13 – Schéma représentant les tubes multilamellaires, avec δ l'épaisseur de la bicouche et d l'espace interlamellaire.

Dans une autre étude, les auteurs ont mis en évidence que les tubes d'acides gras 12 hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion ont leur diamètre qui varie avec la température³³. Ces tubes ont un diamètre externe de $0,6 \mu\text{m}$ à température ambiante et, à $47 \text{ }^\circ\text{C}$, le diamètre externe augmente pour atteindre une valeur de $5 \mu\text{m}$ puis diminue à nouveau à $60 \text{ }^\circ\text{C}$, puis les tubes disparaissent à $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Par DNPA, l'espace interlamellaire a été évalué à 270 \AA à $60 \text{ }^\circ\text{C}$ ²². L'espace interlamellaire a donc diminué en comparaison avec la valeur de 350 \AA obtenue à $25 \text{ }^\circ\text{C}$. De la même façon, à $60 \text{ }^\circ\text{C}$, l'épaisseur de la bicouche est de 27 \AA . Cette valeur est nettement inférieure à deux fois la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras dans sa conformation tout étendue. Ceci provient du fait que les chaînes alkyles sont dans un état fluide (L_α) désordonné. Cette diminution de l'épaisseur de la bicouche de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ à $60 \text{ }^\circ\text{C}$ est due à la transition des chaînes alkyles d'acides gras de la phase gel (L_β) à la phase fluide (L_α). Les auteurs émettent aussi l'hypothèse que cette transition est accompagnée de phénomènes d'interdigitation. Une autre étude a mis en évidence qu'il était possible

d'obtenir des tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec d'autres hydroxyl alkyles amines que l'éthanolamine : le 1-amino-2-propanol et le 2-amino-3-propanol³³. La température pour laquelle le diamètre des tubes augmente et celle pour laquelle il y a fusion des tubes sont modulées en fonction du contre-ion utilisé.

Ce phénomène d'augmentation du diamètre des tubes avec la température est unique dans la littérature et reste à ce jour encore inexpliqué. Par ailleurs, une étude préliminaire comparant les propriétés moussantes et émulsifiantes de l'acide gras 12-hydroxy stéarique assemblé sous forme de tubes (contre-ion : éthanolamine) ou de micelles (contre-ion : TBAOH) à température ambiante a montré que les micelles de cet acide gras formaient des mousses et des émulsions beaucoup moins stables que dans le cas des tubes²². Cet assemblage au comportement singulier vis-à-vis de la température semble donc avoir un potentiel très intéressant pour la production de mousses et d'émulsions.

1.3 Les mousses

1.3.1 Qu'est-ce qu'une mousse ?

1.3.1.1 Définition d'une mousse

Une mousse est une dispersion instable de bulles de gaz dans un volume très faible de liquide. Les bulles sont séparées par des films liquides qui sont stabilisées par des tensioactifs. Dans une mousse, il y a deux phases : la phase dispersée constituée des bulles de gaz et la phase continue constituée du liquide. La principale caractéristique d'une mousse est sa *stabilité*. Les mousses sont d'un point de vue thermodynamique des systèmes instables parce que l'énergie libre associée à la mousse est supérieure à celle du système liquide-gaz séparé. Les mousses évoluent immédiatement après être formées afin de minimiser l'énergie libre interfaciale qui est très importante à l'issue de leur formation, ce qui au final conduira à leur destruction⁴⁵.

Il existe des mousses instables ou éphémères ayant une durée de vie de l'ordre de quelques secondes (exemple du champagne), des mousses métastables ou permanentes ayant une durée de vie de l'ordre de quelques heures (exemple de la bière) ou de quelques jours (exemple de la mousse au chocolat). La mousse est un système multi-échelle c'est-à-dire qu'il présente différents niveaux d'organisation comme l'illustre la figure 1.14. La mousse peut-être considérée comme un ensemble de bulles. Les bulles sont séparées par des films qui se rejoignent pour former les bords de Plateau et les nœuds qui construisent le squelette de la mousse selon des règles de géométrie locale. A l'échelle du nanomètre apparaît la structure moléculaire de l'interface. Pour caractériser les mousses, il faut prendre en compte ces différents niveaux d'organisation.

1.3.1.2 Structure d'une mousse

Au niveau structural, deux types de mousses sont distingués : les mousses à bulles sphériques et les mousses à bulles polyédriques⁴⁶. Les mousses fraîchement préparées sont consti-

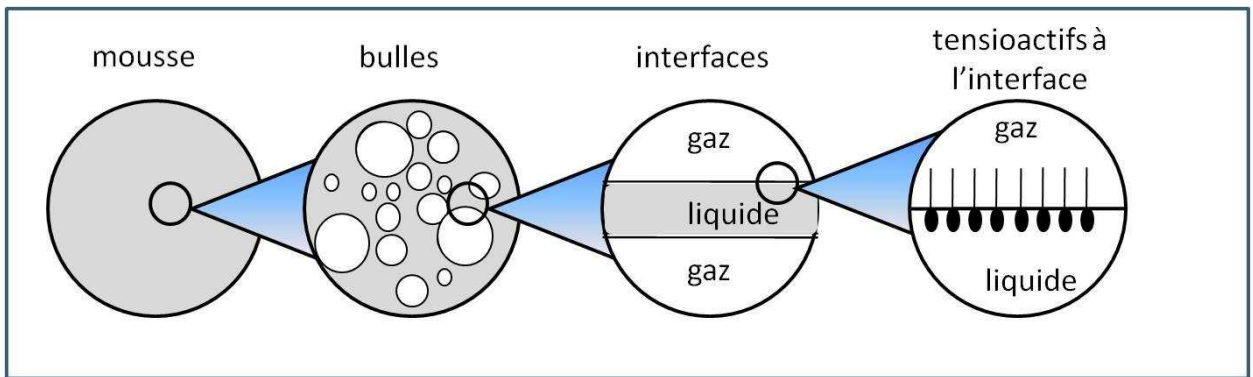


FIGURE 1.14 – Représentation d'une mousse de tensioactifs à différentes échelles.

tuées de bulles sphériques. La quantité de gaz incorporé y est suffisamment faible pour que les bulles soient séparées par des films épais constitués de liquide de la phase continue qui maintiennent la taille et la forme des bulles. Lorsque la mousse vieillit, le liquide présent entre les bulles s'écoule par gravité ce qui forme des mousses de plus en plus sèches. Ainsi, la concentration des bulles dans la partie supérieure de la mousse augmente tandis que le liquide drainé s'accumule dans la partie inférieure. Lorsque la mousse est sèche, les bulles sont comprimées les unes contre les autres. La mousse est alors constituée de cellules polyédriques remplies de gaz et séparées par des films plats et minces. L'équilibre mécanique de la structure est maintenu lorsque ces films drainent jusqu'à se rejoindre en formant un angle de 120° , les jonctions entre trois films ainsi créées constituant les bords de Plateau (Figure 1.15)⁴⁵.

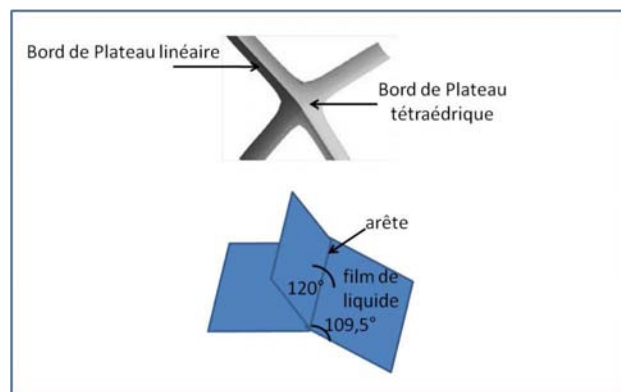


FIGURE 1.15 – Représentation d'un bord de Plateau et des angles des lois de Plateau⁴⁵.

1.3.1.3 Comment produire une mousse ?

La mousse provient de la présence d'un gaz dans un liquide. Par exemple, un gaz préalablement dissous dans un liquide est libéré par un changement physique, en général une baisse de pression ou une augmentation de température. Une autre façon simple de produire des mousses est d'agiter manuellement la solution ce qui permet d'introduire des bulles de gaz au sein du liquide⁴⁷. Dans ce cas, au début de l'agitation, de grosses bulles sont formées, puis,

elles sont fragmentées en bulles plus petites sous l'action prolongée de l'agitation. La méthode par bullage consiste à former la mousse par injection de gaz dans une solution d'agents tensioactifs à travers des orifices (tube capillaire, disque poreux, etc.). Ces différents modes de production aboutissent à des mousses aux caractéristiques différentes. La taille des bulles, leur distribution ainsi que la quantité de gaz incorporée varient selon la technique utilisée. L'agitation manuelle conduit généralement à des mousses avec une petite taille de bulles et une quantité de gaz non maîtrisée. Quant au bullage, cette méthode conduit à la formation de mousses avec une taille de bulle homogène et une quantité de gaz maîtrisée par le débit imposé.

Pour qu'un liquide mousse, il faut aussi qu'il contienne une quantité suffisante de tensioactifs, qui stabilisent les interfaces liquide-gaz créées par bullage ou agitation. En effet, la formation des bulles nécessite de l'énergie et engendre l'apparition d'une aire interfaciale importante (jusqu'à $1 \text{ m}^2.\text{mL}^{-1}$) à l'interface air/liquide. La tension superficielle élevée qui s'exerce, tend naturellement à minimiser cette aire et ainsi à réduire l'énergie libre du système afin de stabiliser l'interface. La persistance des bulles et, par conséquent, l'existence de la mousse n'est possible que si des molécules tensioactives s'adsorbent à l'interface. Le rôle des molécules tensioactives consiste d'une part à abaisser la tension de surface, diminuant ainsi l'énergie nécessaire à la création d'interfaces liquide/gaz et d'autre part à former un film interfacial organisé permettant d'augmenter la stabilité des bulles. Plus la tension est basse, plus il est facile de créer de l'aire superficielle ou interfaciale, et c'est pour cela qu'il est indispensable d'utiliser des tensioactifs pour fabriquer des mousses et des émulsions⁴⁷. Du fait des nombreux paramètres influant sur la formation de la mousse, nous avons décidé dans ce travail de thèse de produire les mousses à la fois par bullage et par agitation manuelle.

1.3.2 Mécanismes de formation d'une mousse

Ce paragraphe décrit de façon qualitative les différents mécanismes à l'origine de la formation d'une mousse. Pour former une mousse, il faut la présence de tensioactifs en solution et fournir de l'énergie afin de disperser le gaz dans la phase liquide. Ainsi, tous les liquides ne moussent pas de la même façon, chacun possédant une capacité moussante différente aussi appelée moussabilité. La moussabilité d'une solution est une mesure qualitative de sa capacité à produire une mousse lorsque du gaz est incorporé à la solution par agitation ou par bullage.

1.3.2.1 Adsorption de tensioactifs à l'interface gaz/liquide

Les tensioactifs ont une influence déterminante sur la moussabilité d'une solution en s'adsorbant aux interfaces gaz/liquide, entraînant une diminution de la tension de surface. En effet, lors de la formation de la mousse, l'aire interfaciale (A) augmente drastiquement. Une faible tension de surface (γ) est donc favorable à la moussabilité, puisque l'énergie interfaciale est proportionnelle à $E = \gamma A$. Néanmoins, une faible tension de surface n'est pas suffisante pour avoir une bonne moussabilité. En fait, c'est la dynamique d'adsorption des tensioactifs aux interfaces qui prime sur la valeur de la tension de surface à l'équilibre. Pour une bonne moussabilité, il faut dès le début de la formation des bulles que les tensioactifs migrent le

plus rapidement possible à l'interface pour les recouvrir en formant une couche dense^{45, 48}.

La présence d'une couche de tensioactifs adsorbée en surface, en contact direct avec le réservoir de tensioactifs dans la solution, confère des propriétés bien spécifiques à la viscoélasticité interfaciale à la fois en dilatation et en cisaillement. Ces propriétés dépendent de la solubilité et de la concentration du tensioactif dans le liquide. Actuellement, il n'existe pas de critère précis pour relier directement la moussabilité avec la viscoélasticité interfaciale. Néanmoins, de nombreuses études ont montré que la viscoélasticité de l'interface en compression/dilatation jouait un rôle important dans la formation de la mousse. Par exemple, lorsqu'il y a étirement du film, celui-ci s'amincit et tend à se rompre spontanément, entraînant les molécules de tensioactifs, concentrées entre les deux parois. Ce phénomène crée des variations locales de la tension de surface. Le gradient de tension de surface ainsi formé provoque la migration des molécules de tensioactifs adsorbées aux interfaces le long du film vers les zones où elles sont en défaut, ceci empêchant l'augmentation de l'aire du film. Lors de l'étirement du film, l'augmentation locale de la tension de surface provoquée par la diminution de la concentration en tensioactifs à l'interface porte le nom d'effet Gibbs. Un autre effet appelé effet Marangoni, représente les forces nécessaire au tensioactif pour migrer le long de la surface du film et rétablir la tension de surface originale du film dans un temps donné. Les deux effets sont complémentaires et sont donc résumés sous le terme d'effet Gibbs-Marangoni (Figure 1.16). En l'absence de ce phénomène, le film continue à s'amincir jusqu'à sa rupture et les bulles se cassent. Ainsi, si les interfaces du film sont élastiques, les mécanismes liés à l'effet Gibbs-Marangoni vont se mettre en place en cas de fluctuations d'épaisseur du film interfacial réduisant ainsi le risque de rupture du film⁴⁹.

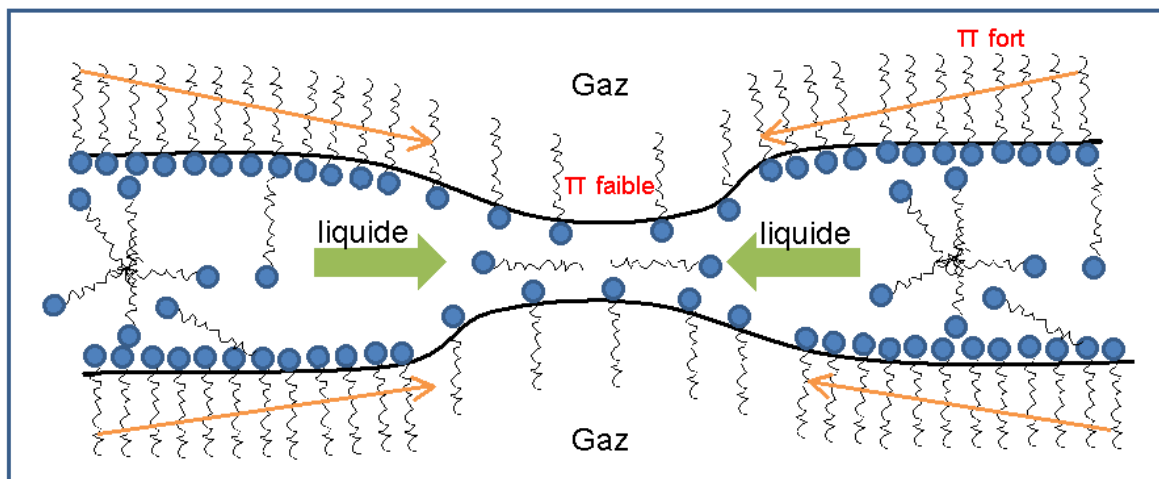


FIGURE 1.16 – Représentation de l'effet Gibbs-Marangoni dans le cas d'un étirement local avec une différence de pression (Π) au niveau du film.

1.3.2.2 Lien entre films liquides et moussabilité

Lorsque la mousse est en train de se former, les tensioactifs migrent aux interfaces et s'adsorbent à la surface des bulles. Ensuite, les bulles s'approchent les unes des autres et de

nombreuses forces rentrent en jeu entre les deux interfaces.

Tout d'abord, deux surfaces couvertes de tensioactifs s'attirent *via* des forces dipolaires induites, dites de *London-van der Waals*. Par ailleurs, il faut prendre en compte la contribution de l'interaction électrostatique. En effet, les interfaces sont la plupart du temps chargées électriquement du fait du caractère ionique de la plupart des tensioactifs. Normalement de telles surfaces se repoussent. Mais dans le cas des mousses, il faut prendre en considération la présence d'une solution ionique entre ces surfaces chargées. La présence de ces ions dans la solution produit un phénomène couramment appelé « écrantage » du potentiel électrostatique. Le modèle communément appelé modèle DLVO (Derjaguin, Landau, Vervey et Overbeck) regroupe la somme de ces interactions attractives et répulsives ayant comme portée caractéristique la longueur de Debye³¹. Cependant dans le cas des mousses, ce modèle n'est pas suffisant car il ne tient pas compte des interactions à très courtes distances *via* les répulsions stériques entre les couches de tensioactifs⁵⁰. Comme nous l'avons vu dans le paragraphe 1.1.4.2, les tensioactifs sont souvent présents en solution sous la forme d'*assemblages supramoléculaires*. Le confinement de ces structures dans les films induit une interaction supplémentaire à longue portée.

Un film qui vient juste d'être créé fait quelques micromètres d'épaisseur généralement et s'amincit du fait de la gravité ou de la succion capillaire (du fait de la courbure des bords de Plateau) jusqu'à une épaisseur de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres. A ce moment là, la pression de disjonction (pression positive dans le film) rentre en jeu en empêchant le film de s'amincir davantage ce qui assure son équilibre mécanique en plus de la pression du liquide p . A l'équilibre, la pression de disjonction (Π_d) est égale à la pression capillaire P_c , $\Pi_d = P - p = P_c$. C'est grâce à cet équilibre que le film peut avoir une épaisseur finie. Par exemple, pour des pressions capillaires faibles (ce qui est généralement le cas pour des tensioactifs de faibles masses moléculaires), un film stable de plusieurs dizaines de nanomètres d'épaisseur peut être obtenu. Il est généralement appelé *film noir commun* et il est stabilisé par l'équilibre entre les forces électrostatique et dipolaire. On qualifie ce film de noir, parce que pour ces valeurs d'épaisseur il ne réfléchit presque plus la lumière⁴⁹.

Ainsi, pour que la solution que l'on souhaite étudier forme une mousse, il faut tout d'abord que la solution étudiée contienne des tensioactifs. Ensuite, il faut introduire du gaz dans cette solution et il faut que les tensioactifs s'adsorbent rapidement à l'interface air/liquide et en quantité suffisante. Ils doivent aussi diminuer fortement la tension interfaciale. De plus, il est nécessaire que ces tensioactifs forment une couche interfaciale avec une pression de disjonction positive pour stabiliser les films. Par ailleurs, il faut que la couche formée par les tensioactifs possède une élasticité dilatationnelle suffisante pour limiter les fluctuations d'épaisseur du film interfacial grâce à l'effet Gibbs-Marangoni.

1.3.3 Mécanismes de déstabilisation d'une mousse

Maintenant que les mécanismes de formation d'une mousse ont été décrits, nous allons décrire ceux responsables de la déstabilisation. En effet, les mousses sont des systèmes instables à plus ou moins long terme. Les mousses tendent donc à retourner sous leur état d'équilibre biphasique gaz-liquide. Une mousse « vieillit » et se transforme sous l'effet de

différents processus irréversibles. Trois mécanismes principaux conduisent à sa disparition :

- Drainage gravitationnel et succion capillaire
- Mûrissement d'Ostwald
- Coalescence des films

1.3.3.1 Drainage gravitationnel et pression capillaire

Durant les premiers instants, c'est-à-dire quand la mousse contient une proportion volumique importante de liquide (20 % environ), il se produit une ségrégation gravitationnelle des bulles du fait que la poussée d'Archimède est plus forte sur les grosses bulles que sur les petites.

Sous l'action de la gravité, le liquide s'écoule dans la mousse et la fraction liquide diminue. Ce phénomène correspond au *drainage*. Ainsi au cours du temps, l'écoulement irréversible du liquide vers le bas assèche la mousse. Le liquide contenu dans la mousse s'écoule principalement dans les bords de Plateau et les nœuds. Le drainage gravitationnel du liquide vers le bas se produit tout au long de la vie d'une mousse (Figure 1.17). Néanmoins, la gravité n'est pas le seul moteur du drainage dans une mousse. En effet, le réseau formé par les bords de Plateau, les nœuds et les films est déformable. Cela signifie que plus la mousse devient sèche, plus les bulles sont compactées les unes avec les autres ce qui entraîne une réduction du chemin accessible au liquide dans les bords de Plateau. Par ailleurs, les rayons de courbure des interfaces qui définissent ces bords de Plateau deviennent de plus en plus petits. Ainsi, la loi de Laplace (Equation 1.2) indique que la pression capillaire augmente. Ceci signifie que les zones sèchent aspirent le liquide. Ce gradient de pression capillaire est dirigé du haut vers le bas⁴⁵.

$$P = \frac{2\gamma}{R} \quad \text{où } \gamma \text{ est la tension superficielle et } R \text{ le rayon de la bulle} \quad (1.2)$$

La vitesse de drainage des mousses peut être diminuée en augmentant la viscosité de la phase continue de liquide en ajoutant des solutés tels que du glycérol ou du polyoxyéthylène et/ou en augmentant aussi la viscosité interfaciale qui se manifeste près des parois du réseau⁵¹.

1.3.3.2 Mûrissement de la mousse

La structure d'une mousse est modifiée progressivement par la diffusion gazeuse inter-bulle. Quand les bulles sont polyédriques, les films se comportent comme des films plans de faible épaisseur, mais à cause de la loi de Laplace, la pression est plus forte dans les petites bulles que dans les grandes. En conséquence, il existe en général un gradient de pression de part et d'autre d'un film, qui induit une diffusion gazeuse à travers ce film. Ce phénomène, appelé *mûrissement d'Ostwald* ou *disproportionnement*, fait que les petites bulles se vident dans les grandes jusqu'à leur disparition (Figure 1.18). La force responsable de ce mécanisme est la différence de pression de Laplace de part et d'autre de la surface convexe d'une bulle. D'après la loi de Henry, la solubilité d'un gaz augmente avec la pression. Davantage de gaz se dissout alors à la proximité des petites bulles, si bien que les grandes bulles grossissent au détriment des petites.

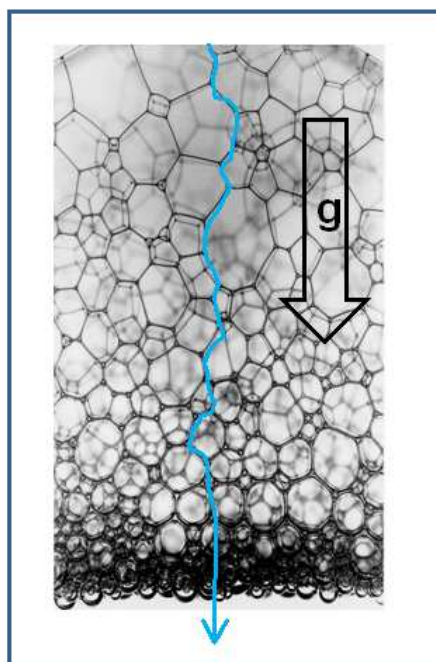


FIGURE 1.17 – Ecoulement du liquide à travers la mousse sous l'effet de la gravité.

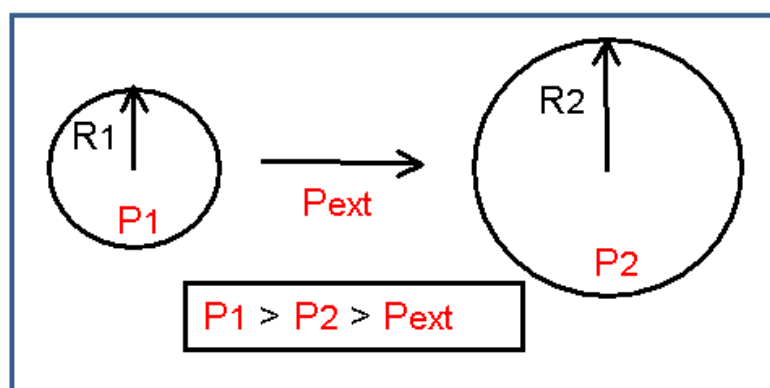


FIGURE 1.18 – Représentation schématique du mûrissement d'Ostwald : le gaz contenu dans la petite bulle diffuse vers la plus grosse, où la pression est moins élevée.

Autrement dit, les bulles disparaissent ainsi les unes après les autres, donc la taille moyenne des bulles restantes augmente avec conservation de la quantité de gaz. La vitesse de ce processus dépend des caractéristiques de la mousse : la fraction de liquide, la taille des bulles ainsi que la nature du liquide et du gaz^{52, 53}. Les deux phénomènes de déstabilisation des mousses que sont le drainage et le mûrissement peuvent être fortement couplés.

1.3.3.3 Coalescence des films dans la mousse

Dans certains cas, les films séparant deux bulles se cassent. Ces deux bulles se recomposent alors pour n'en former plus qu'une (Figure 1.19). Ce phénomène est appelé *coalescence*. En effet, avec le drainage, les films séparant les bulles deviennent plus minces et peuvent se rapprocher, jusqu'à une épaisseur critique où les films ne sont pas assez résistants et un trou peut se former. L'épaisseur critique du film menant à sa rupture dépend fortement de la nature de l'agent tensioactif et de la viscoélasticité de l'interface^{54, 55}. La conséquence de ce phénomène est l'accroissement de la taille des bulles et la diminution de leur nombre. Lorsqu'il se produit au niveau de la surface libre de la mousse, à l'interface mousse/air, il se traduit également par une diminution de la hauteur de la mousse. Pour des mousses peu stables, un phénomène de rupture en avalanche peut également survenir⁵⁶. Le processus de rupture se déclenche lorsque la fraction volumique de gaz devient supérieure à une valeur seuil qui dépend du tensioactif et de sa concentration⁵⁷. Il semblerait que le seuil corresponde à la dilatation maximale que les films peuvent supporter lors des réarrangements induits par le drainage. Il ne dépend pas de la taille des bulles, mais cependant la durée de vie des mousses est d'autant plus grande que les bulles sont petites car le drainage y est d'autant plus lent, ce qui retarde l'instant où le seuil est atteint. Les films de la partie supérieure se rompent en premier du fait de leur faible épaisseur. Ces films se cassent donc en premier, puis la mousse casse de haut en bas de proche en proche. Malgré de nombreuses études, la coalescence reste encore mal comprise car il semble qu'un ensemble de causes diverses en soit à l'origine. On peut citer par exemple, l'instabilité de l'épaisseur du film due au drainage, l'amplification des gradients de concentration, les fluctuations thermiques d'épaisseur du film ou encore la présence d'impuretés de nature hydrophobe dans la solution^{52, 53}.

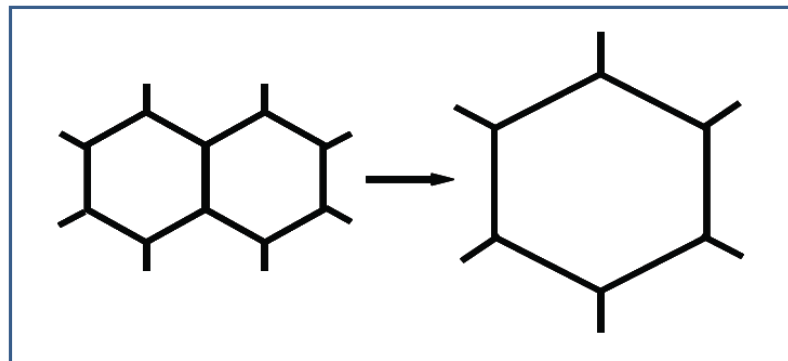


FIGURE 1.19 – Représentation schématique de la coalescence.

1.3.4 Comment augmenter la stabilité des mousses ?

Au vu du paragraphe précédent, pour stabiliser les mousses, il est nécessaire de limiter le drainage, le mûrissement d'Ostwald et/ou la rupture des films. Pour cela, on peut agir sur différents paramètres décrits ci-après.

1.3.4.1 Taille des bulles et polydispersité

Un des critères primordiaux pour obtenir une mousse stable est la taille des bulles. La mousse est d'autant plus stable que la taille des bulles est petite. Les bulles de petite taille offrent une surface spécifique très grande, la surface spécifique étant définie comme le rapport de la surface d'une bulle et de son volume. Accroître la surface spécifique des bulles permet d'augmenter le taux de couverture d'agents de surface à l'interface, et ainsi de renforcer la stabilité des mousses.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le problème est que la taille des bulles varie selon le mode de production de la mousse⁵⁸. Dans le cas d'une mousse faite par bullage, la taille de la bulle est imposée par le disque poreux à travers lequel est injecté le gaz, tandis que dans le cas d'une mousse produite par agitation, la taille des bulles est imposée par la force d'agitation. L'utilisation d'un disque poreux comme dans nos expériences permet de produire une mousse avec une taille de bulles plus monodisperse que dans le cas de l'agitation manuelle. Cependant, l'idéal est de réaliser des mousses monodisperses grâce à des systèmes microfluidiques^{59, 60}. Ces techniques permettent de s'affranchir du mûrissement d'Ostwald puisque celui-ci est lié à la présence de bulles de tailles différentes.

1.3.4.2 La nature du gaz

Une étude réalisée par Saint-Jalmes⁶¹ a montré l'effet de la nature du gaz et des tensioactifs sur le temps de mûrissement des mousses. Pour cela, la fraction liquide a été maintenue à peu près constante en empêchant le drainage grâce à une agitation tournante de l'échantillon. A l'aide de la diffusion de la lumière le diamètre moyen des bulles a été mesuré en fonction du temps. Deux gaz différents ont été étudiés : le diazote et le perfluorohexane, et deux tensioactifs : le SDS et la caséine. Un temps caractéristique de mûrissement des mousses pour chacun des couples gaz/tensioactif a été déterminé. Il a ainsi été montré que la dynamique de mûrissement est fortement dépendante de la physico-chimie des constituants de la mousse : gaz et tensioactif. D'autres études confirment ces résultats^{62, 63}. Par exemple, Cervantes-Martinez *et al.*⁶⁴ ont comparé deux mousses produites par bullage en utilisant du diazote et en ajoutant du perfluorohexane C₂F₆ au diazote. La coalescence est plus forte dans le cas des mousses contenant seulement du diazote. Lorsque du perfluorohexane est utilisé pour former les mousses, celles-ci sont beaucoup plus stables, du fait du ralentissement du mûrissement. Ce phénomène s'explique par le fait que le perfluorohexane a une plus faible solubilité dans l'eau que le diazote. Ce résultat est intéressant puisqu'il montre que, pour tenter de s'affranchir du mûrissement et de la coalescence, il faut utiliser un gaz avec une très faible solubilité dans la phase liquide.

La capacité du gaz à diffuser dans le liquide séparant deux bulles influe sur le mûrissement d'Ostwald. La nature du gaz a ainsi un effet direct sur la stabilité de la mousse.

1.3.4.3 La nature du tensioactif

Différents tensioactifs existent pour stabiliser les mousses, le point commun de ces molécules est leur caractère amphiphile. Les molécules tensioactives de faible masse moléculaire ($<1000\text{g/mol}$) permettent d'abaisser rapidement la tension de surface. Cependant, les couches qu'ils forment à l'interface ne présentent généralement pas de comportement viscoélastique, contrairement à celles formées par les tensioactifs de fortes masses moléculaires (les polymères et les protéines). Saint-Jalmes *et al.*⁶⁵ ont montré que le taux de coalescence est environ 5 fois plus élevé dans le cas d'une mousse de tensioactifs (SDS) de faible masse moléculaire comparée à celui d'une mousse de protéines à fraction de liquide donnée et taille de bulles équivalentes. De plus, les tensioactifs de faible masse moléculaire sont plus prompts à s'adsorber mais aussi à se désorber sur une interface que des tensioactifs de fortes masses moléculaires. L'adsorption des tensioactifs de faible masse moléculaire est réversible, ce qui n'est par exemple pas le cas des protéines. De plus, la viscosité surfacique accroît la durée de vie des mousses en limitant la vitesse d'écoulement dans les films liquides. Elle reflète la stabilité dynamique du système, c'est-à-dire la capacité des processus de relaxation à restaurer l'équilibre après une perturbation. Que ce soit dans le cas de l'augmentation de la viscosité surfacique ou volumique, elle renforce la résistance à l'amincissement de films. Par ailleurs, comme nous venons de le voir dans la partie précédente, la nature du tensioactif en solution joue un rôle sur le mûrissement.

Il est très rare que les molécules tensioactives remplissent toutes ces conditions simultanément. Par conséquent, il existe souvent des mélanges entre tensioactifs dans l'industrie pour optimiser les propriétés d'une solution moussante.

1.3.5 Caractérisation et étude des mousses aux différentes échelles

Les mousses sont des systèmes multi-échelles. Pour comprendre les propriétés des mousses, il faut donc étudier celles-ci à différentes échelles : au niveau de l'interface liquide/gaz, du film liquide, des bords de Plateau, de la bulle et de la mousse dans son ensemble. Dans ce paragraphe sont décrites les différentes méthodes utilisées expérimentalement pour la fabrication et l'étude des mousses.

1.3.5.1 Fabrication et étude de la structure des mousses

Pour produire une mousse, il faut incorporer du gaz dans un liquide (voir partie 1.3.2). Il est possible d'incorporer le gaz par agitation manuelle de la solution ce qui force les bulles d'air à entrer dans le liquide. Les caractéristiques de la mousse obtenue dépendent de la vitesse et de la durée de l'agitation. Avec cette méthode, les tailles des bulles sont polydisperses. Par contre, on peut varier la fraction de liquide suivant la quantité initiale de solution utilisée. Il faut noter que les mousses ne sont jamais extrêmement sèches avec ce mode de production. L'avantage de cette méthode est qu'il suffit d'introduire le liquide à étudier dans un flacon et de l'agiter pour tester si on peut ou non produire une mousse et savoir combien de temps elle subsiste. Ainsi, on peut facilement discriminer les échantillons qui moussent de ceux qui ne moussent pas. Cette méthode est donc très utile d'un point de vue qualitatif.

Pour obtenir des mousses avec une distribution de taille de bulles plus fines, on peut fabriquer des mousses par bullage de gaz dans la solution à étudier au sein d'une colonne à travers un disque poreux. Des bulles de taille ajustable entre 200 μm et 10 mm peuvent être générées. Néanmoins avec cette méthode, les mousses sont souvent plus sèches du fait que le drainage a lieu simultanément avec la production de la mousse. L'un des avantages de cette méthode vient du fait que des résultats reproductibles et quantitatifs sont obtenus. La moussabilité d'une solution et la stabilité d'une mousse peuvent être mesurées. Pour cela, il suffit d'injecter dans la solution étudiée du gaz à débit constant et contrôlé. Ainsi, le volume de mousse produit durant un temps donné et la vitesse à laquelle la mousse disparaît après arrêt du bullage de gaz sont déterminés simultanément. Certaines colonnes sont équipées d'électrodes permettant de mesurer la conductivité relative de la mousse donnant ainsi accès à sa fraction liquide.

Ce sont ces deux types de techniques que nous avons décidé d'utiliser pour produire les mousses durant la thèse. Les expériences sont facilement réalisables au laboratoire et donnent des mousses avec des caractéristiques assez différentes. Grâce à ces techniques nous pouvons étudier facilement la moussabilité et la stabilité des mousses.

Une fois produite, il est possible d'étudier les mousses par imagerie optique. Au moyen d'un microscope, la structure des bulles dans l'échantillon peut être observée. La microscopie en 3D peut être utilisée pour étudier la structure en profondeur de l'échantillon comme par exemple la microscopie confocale. D'autres techniques telles que l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), méthode non-invasive et non-destructive, permet d'enregistrer les phénomènes au sein des mousses, y compris les phénomènes dynamiques tels que le mûrissement et la coalescence⁶⁶. Ainsi, des renseignements sur la densité des mousses, le drainage et la stabilité sont obtenus. Par ailleurs, le développement des sources de radiation de forte énergie, type synchrotron, rend l'étude des mousses par tomographie des rayons X possible⁶⁷. D'autre part, Axelos *et al.*⁶⁸ ont mis au point une technique permettant de caractériser *in situ* les mousses par diffusion de neutrons aux petits angles. Cette technique permet d'obtenir des informations sur la structure des objets présents en solution dans les bords de Plateau, sur l'épaisseur des films et sur la taille des bulles.

1.3.5.2 Etude des films isolés

L'étude des films *in situ* dans la mousse est limitée techniquement. Il apparaît donc nécessaire d'étudier les propriétés de films isolés. En effet, nous avons vu précédemment que la stabilité des mousses est liée en partie à la stabilité des films interfaciaux. La plupart des études visent à mesurer les forces impliquées au sein d'un film, rassemblées sous le terme de pression de disjonction, ainsi que leur épaisseur. La technique la plus utilisée est la *balance à film*. Elle permet d'étudier les interactions entre interfaces à l'échelle des films minces. Avec cette méthode, on peut également visualiser le film à l'aide d'un microscope. De cette manière, on peut directement apprécier si le film est homogène et présente des instabilités. De nombreux auteurs ont utilisé cette technique pour obtenir des informations sur les films de mousse^{69, 70}.

Généralement, l'épaisseur des films est déterminée par interférométrie. L'épaisseur des

films de mousse peut être aussi mesurée par diffusion de neutrons aux petits angles⁶⁸. La structure des films peut être sondée par des mesures de rayons X, par réflectivité de neutrons, à l'aide d'un microscope à angle de Brewster ou par ellipsométrie⁷¹. Grâce à toutes ces informations collectées sur les films, on peut comprendre plus aisément l'origine de la moussabilité d'une solution.

1.3.5.3 Etude des interfaces eau/air

Il est possible en couplant différentes techniques de connaître la tension de surface, la cinétique d'adsorption des tensioactifs à l'interface, la viscoélasticité interfaciale ainsi que la structure de la couche formée par les tensioactifs.

Il existe de nombreuses manières de déterminer la tension de surface. Il y a trois techniques qui sont très utilisées. La première méthode dite de *Wilhemmy* consiste à mesurer la force capillaire exercée sur une lame de platine (ou un papier filtre) immergée dans la solution. Ce dispositif est bien adapté pour mesurer des tensions de surface à l'équilibre. La deuxième méthode consiste à mesurer la pression de détachement d'une bulle formée à l'aide d'un capillaire de rayon R_c plongé dans la solution de tensioactifs. L'injection de gaz dans ce capillaire permet de gonfler la bulle et ainsi on mesure la pression du gaz en fonction du temps. Lorsque le rayon de la bulle devient égal au rayon du capillaire, la pression du gaz est maximale et peut être déterminée selon la loi de Laplace (Equation 1.2). Si on injecte encore plus de gaz, la bulle continue à gonfler jusqu'à ce qu'elle soit expulsée du capillaire. En répétant ces cycles de gonflage/détachement, on peut ainsi accéder à l'évolution de la tension de surface en fonction du temps. La troisième méthode, utilisée lors de cette thèse, consiste à mesurer la forme d'une goutte de la solution de tensioactif ou d'une bulle de gaz⁷². En effet, lorsqu'une goutte d'un fluide est en contact avec un autre fluide, la forme de la goutte découle des effets combinés de la tension de surface qui force la goutte à prendre une forme sphérique et de la gravité qui tend à l'allonger ou l'aplatir. La goutte étant asymétrique, l'équation de Laplace (Equation 1.3) prend la forme analytique suivante dans un repère cartésien (Figure 1.20) :

$$\frac{1}{x} \frac{d(x \sin \theta)}{dx} = \frac{2}{b} - cz \quad (1.3)$$

où x et z sont les coordonnées cartésiennes pour tout point du profil de la goutte. L'origine des coordonnées étant considérée à l'apex de la goutte, b est le rayon de courbure à l'apex, θ l'angle de la tangente au profil, c la constante de capillarité définie comme $c = g\Delta\rho/\gamma$ avec g l'accélération de la gravité, $\Delta\rho$ la différence de densité entre les fluides étudiés et γ la tension interfaciale. Un tensiomètre à goutte peut être utilisé en mode goutte pendante ou montante. La tension de surface est calculée à partir de l'étude du contour d'une goutte présentant une symétrie de révolution.

L'utilisation de la réflectivité de neutrons ou des rayons X permet d'obtenir des informations sur la structure de la couche adsorbée à l'interface. Les épaisseurs et la composition chimique d'une ou plusieurs couches minces à l'interface air/eau peut être précisément mesurées. Ces techniques sont très bien adaptées à l'étude de la structure adoptée à l'interface par les tensioactifs⁷³⁻⁷⁶.

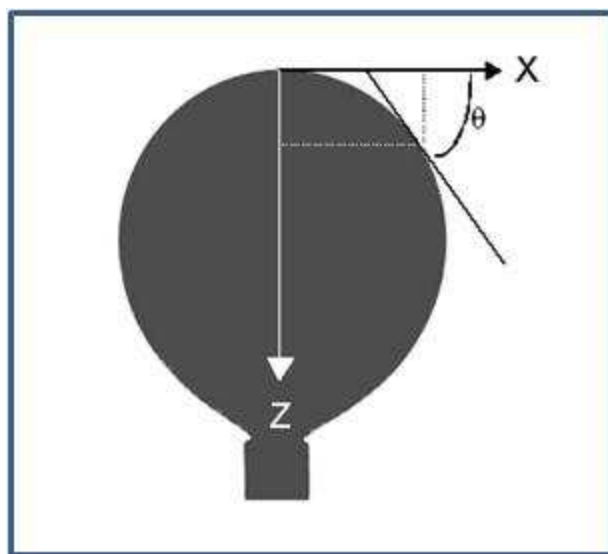


FIGURE 1.20 – Schéma d'une goutte montante et de ses coordonnées dans un repère cartésien.

1.3.6 Vers de nouvelles mousses : les mousses stimulables

De nombreux groupes de recherche s'intéressent à l'étude des mousses liquides et à leurs propriétés. Les mousses ont diverses applications dans la vie quotidienne (mousses alimentaires, produits cosmétiques, détergents, etc.) et dans de nombreux procédés industriels (lutte contre les incendies, matériaux de construction, etc.). La stabilité des mousses est la plupart du temps déterminante. Récemment, beaucoup d'études ont été menées pour produire des mousses très stables à partir d'une grande variété de systèmes. Par exemple, la microfluidique a été appliquée avec succès pour produire des mousses^{59, 60}. Cette technique permet d'obtenir des mousses avec des bulles monodisperses permettant de ralentir significativement la coalescence et le mûrissement pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois.

D'autres chercheurs se sont intéressés à produire des mousses avec des particules solides⁷⁷. Si ces particules ne s'adsorbent pas aux interfaces, elles peuvent être piégées dans le réseau des nœuds et des bords de Plateau qui constituent la mousse. Dans ce cas, les particules jouent le rôle de bouchon et ralentissent le drainage du liquide⁷⁸. Ceci est attribué au rétrécissement et au colmatage des sections disponibles à l'écoulement, à la modification des propriétés d'écoulement par les particules, voire à la formation d'un réseau gélifié dans l'ensemble des canaux. De plus, les particules présentes dans le liquide diminuent la perméabilité des films liquides et ainsi agissent sur le mûrissement^{77, 79}.

D'autres types de particules s'adsorbent et restent à l'interface de façon permanente⁷⁹. De cette manière, elles réduisent la surface d'échange, voire provoquent une inversion locale de la courbure de la bulle, ce qui empêche la diffusion du gaz de la bulle vers le liquide, et donc bloque le mûrissement et la coalescence. C'est le cas du système développé par *Alargova et al*⁸⁰ constitué de bâtonnets de polymère d'une longueur de $23,5 \mu\text{m}$ et d'un diamètre moyen $0,6 \mu\text{m}$. Des mousses sont produites par agitation manuelle à partir de ces suspensions de bâtonnets. Ces mousses sont stables pendant plus de trois semaines à l'air libre. Les volumes

de mousses produits sont très faibles, ce qui s'apparentent plutôt à des empilements de bulles recouvertes d'un réseau de bâtonnets constituant une coque rigide empêchant l'évolution de leur taille. D'autres bâtonnets rigides ont aussi été utilisés pour stabiliser des mousses. Nous pouvons par exemple citer, les travaux de Zhou *et al*⁸¹ avec des particules de CaCO_3 ou de Wege *et al*⁸² avec des microparticules de cellulose formant des filaments qui stabilisent l'interface. D'autres travaux portent sur la stabilisation de l'interface par des nanoparticules de silice⁷⁹ ou des particules d'alumine⁸³.

Ainsi, il est possible d'obtenir des mousses stables sur de très longues durées. Cependant, il existe des cas où la stabilité de la mousse doit être modulée sans changer la composition du système. Ceci nécessite donc de former des mousses dont la stabilité peut être modulée *in situ* grâce à des contraintes physiques ou chimiques. Ceci a déjà été réalisé dans le domaine des émulsions avec succès⁸⁴⁻⁸⁶.

L'équipe de Binks *et al*, a été parmi les premières à tenter de réaliser des mousses stimulables. Pour cela, des particules de latex recouvertes d'un polymère sensible au pH ont été synthétisées⁸⁷. La moussabilité et la stabilité des mousses obtenues à partir de ces particules sont fortement dépendantes du pH. A faible pH, ces particules cationiques peuvent stabiliser des mousses. Par contre, à fort pH, les particules sont chargées négativement et sont stables en solution colloïdale et il n'est donc plus alors possible de produire des mousses. Le pH des mousses après formation de celle-ci a été augmenté par ajout de soude directement dans la mousse. L'augmentation du pH entraîne la destruction de la mousse. Ces mousses ont donc leurs propriétés modulables en fonction du pH. Toutefois, cette déstabilisation n'est pas due à une modification *in situ* dans la mousse, car c'est l'ajout d'une solution externe qui modifie les propriétés de la mousse, ce qui modifie la composition du système.

Dans l'optique de produire des mousses stimulables par contraintes externes sans changer la composition du système, il faut donc utiliser des tensioactifs qui s'adsorbent à l'interface et permettent ainsi de former des mousses relativement stables. Par ailleurs, si on veut obtenir des mousses et des émulsions sensibles à un stimulus externe (c'est-à-dire sans changer la composition du système par modification du pH ou de la force ionique), il est nécessaire que les tensioactifs eux-mêmes ou les assemblages formés réagissent lors de l'application du stimulus. Il est donc très difficile d'arriver à rassembler toutes ces caractéristiques dans un seul tensioactif.

Prenons l'exemple du polymère tensioactif et thermosensible poly(N-isopropylacrylamide) ou PNIPAM, celui-ci est capable de s'adsorber aux interfaces et d'abaisser de manière significative la tension de surface. De plus, il permet d'obtenir des films minces métastables en dessous de la température de transition de phase. Au dessus de cette température de transition de phase, les films deviennent inhomogènes et se cassent⁸⁸. Au vu de ces résultats, il semblait intéressant d'essayer de former des mousses avec ce système de manière à pouvoir les déstabiliser à l'aide de la température. Ce polymère permet en effet la production de mousses dans certaines conditions, mais celles-ci sont très instables en dessous de la température de transition⁸⁹. Il n'est donc pas possible d'utiliser les propriétés thermosensibles de ce polymère pour former des mousses thermosensibles.

Une étude très récente a montré la possibilité d'utiliser la lumière et la température comme stimuli pour contrôler la moussabilité d'une émulsion comprenant à la fois un polymère réactif à la lumière et un tensioactif sensible à la température⁹⁰. Ces deux stimuli ont l'avantage de ne pas modifier la composition du système contrairement aux changements de pH et de force ionique. Ce type d'émulsion est connu pour pouvoir transiter d'émulsion directe à inverse sous l'action de la lumière ou de la température⁸⁵. Ainsi, la moussabilité de ce système peut être modulée en jouant soit sur la lumière, soit sur la température. la voie d'une nouvelle stratégie pour concevoir des mousses sensibles à des stimuli externes a été ouverte. Néanmoins, le système est compliqué impliquant à la fois un tensioactif, un polymère et une émulsion.

Au vu de ces résultats, il apparaît donc nécessaire d'utiliser un système modèle plus simple pour contrôler finement les propriétés moussantes en fonction de contraintes externes.

Bibliographie

- [1] F. M. Menger and C. A. Littau. Gemini surfactants - synthesis and properties. *Journal of the American Chemical Society*, 113(4) :1451–1452, 1991.
- [2] C. Boyat, V. Rolland-Fulcrand, M. L. Roumestant, P. Viallefont, and J. Martinez. Chemo-enzymatic synthesis of new non ionic surfactants from unprotected carbohydrates. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 30(4) :281–294, 2000.
- [3] A. Karleskind. *Manuel des corps gras.*, volume 1. Paris, lavoisier edition, 1992.
- [4] James W. McBain and C. S. Salmon. Colloidal electrolytes. soap solutions and their constitution. *Journal of the American Chemical Society*, 42(3) :426–460, 1920.
- [5] James W. McBain, Robert D. Vold, and Mary Frick. A phase rule study of the system sodium stearate in water. *The Journal of Physical Chemistry*, 44(9) :1013–1024, 1940.
- [6] J. P. Douliez, L. Navailles, and F. Nallet. Self-assembly of fatty acid-alkylboladiamine salts. *Langmuir*, 22(2) :622–627, 2006.
- [7] C. Vautrin, M. Dubois, T. Zemb, S. Schmolzer, H. Hoffmann, and M. Gradzielski. Chain melting in swollen catanionic bilayers. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 217(1-3) :165–170, 2003.
- [8] C. Vautrin, T. Zemb, M. Schneider, and M. Tanaka. Balance of ph and ionic strength influences on chain melting transition in catanionic vesicles. *Journal of Physical Chemistry B*, 108(23) :7986–7991, 2004.
- [9] Y. Michina, D. Carriere, T. Charpentier, R. Brito, E. F. Marques, J. P. Douliez, and T. Zemb. Absence of lateral phase segregation in fatty acid-based catanionic mixtures. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(5) :1932–1938, 2010.
- [10] M. Dubois, T. Gulik-Krzywicki, B. Deme, and T. Zemb. Rigid organic nanodisks of controlled size : A catanionic formulation. *Comptes Rendus De L'Academie Des Sciences Serie Ii Fascicule C-Chimie*, 1(9) :567–575, 1998.
- [11] M. Dubois, B. Deme, T. Gulik-Krzywicki, J.C. Dedieu, C. Vautrin, S. Desert, E. Perez, and T. Zemb. Self-assembly of regular hollow icosahedra in salt-free catanionic solutions. *Nature*, 411(6838) :672–675, 2001.
- [12] M. Dubois, V. Lizunov, A. Meister, T. Gulik-Krzywicki, J. M. Verbavatz, E. Perez, J. Zimmerberg, and T. Zemb. Shape control through molecular segregation in giant surfactant aggregates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42) :15082–15087, 2004.
- [13] T. Zemb, M. Dubois, B. Deme, and T. Gulik-Krzywicki. Self-assembly of flat nanodiscs in salt-free catanionic surfactant solutions. *Science*, 283(5403) :816–819, 1999.

-
- [14] I. RicoLattes and A. Lattes. Synthesis of new sugar-based surfactants having biological applications : Key role of their self-association. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 123 :37–48, 1997.
- [15] P. Favresse and A. Laschewsky. A new anionic, hydrolysis-resistant polymerizable surfactant : synthesis and polymerization. *Colloid and Polymer Science*, 277(8) :792–797, 1999.
- [16] Y. Pouilloux, S. Metayer, and J. Barrault. Synthesis of glycerol monoctadecanoate from octadecanoic acid and glycerol. influence of solvent on the catalytic properties of basic oxides. *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Ii Fascicule C-Chimie*, 3(7) :589–594, 2000.
- [17] C. Madelmont and R. Perron. Study of influence of chain-length on some aspects of soap-water diagrams. *Colloid and Polymer Science*, 254(6) :581–595, 1976.
- [18] H. Kunieda and K. Shinoda. Krafft points, critical micelle concentrations, surface-tension, and solubilizing power of aqueous-solutions of fluorinated surfactants. *Journal of Physical Chemistry*, 80(22) :2468–2470, 1976.
- [19] R. Zana. Partial phase behavior and micellar properties of tetrabutylammonium salts of fatty acids : Unusual solubility in water and formation of unexpectedly small micelles. *Langmuir*, 20(14) :5666–5668, 2004.
- [20] R. Zana, M. Benraou, and B. L. Bales. Effect of the nature of the counterion on the properties of anionic surfactants. 3. self-association behavior of tetrabutylammonium dodecyl sulfate and tetradecyl sulfate : Clouding and micellar growth. *Journal of Physical Chemistry B*, 108(47) :18195–18203, 2004.
- [21] R. Zana, J. Schmidt, and Y. Talmon. Tetrabutylammonium alkyl carboxylate surfactants in aqueous solution : Self-association behavior, solution nanostructure, and comparison with tetrabutylammonium alkyl sulfate surfactants. *Langmuir*, 21(25) :11628–11636, 2005.
- [22] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [23] R. Klein, D. Touraud, and W. Kunz. Choline carboxylate surfactants : biocompatible and highly soluble in water. *Green Chemistry*, 10(4) :433–435, 2008.
- [24] R. Klein, M. Kellermeier, M. Drechsler, D. Touraud, and W. Kunz. Solubilisation of stearic acid by the organic base choline hydroxide. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 338(1-3) :129–134, 2009.
- [25] B. Novales, A. Riaublanc, L. Navailles, B. H. Houssou, C. Gaillard, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly and foaming properties of fatty acid-lysine aqueous dispersions. *Langmuir*, 26(8) :5329–5334, 2010.
- [26] C.H. Chang, N.-H.L. Wang, and E.I. Franses. Adsorption dynamics of single and binary surfactants at the air/water interface. *Colloids and Surfaces*, 62(4) :321–332, 1992.
- [27] K. A. Coltharp and E. I. Franses. Equilibrium and dynamic surface tension behavior of aqueous soaps : Sodium octanoate and sodium dodecanoate (sodium laurate). *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 108(2-3) :225–242, 1996.

- [28] X. Y. Wen, J. Lauterbach, and E. I. Franses. Surface densities of adsorbed layers of aqueous sodium myristate inferred from surface tension and infrared reflection absorption spectroscopy. *Langmuir*, 16(17) :6987–6994, 2000.
- [29] Laughlin R.G. *The Aqueous Phase Behavior of Surfactants*. San Diego, academic press edition, 1994.
- [30] R. Zana. Ionization of cationic micelles - effect of the detergent structure. *Journal of Colloid and Interface Science*, 78(2) :330–337, 1980.
- [31] Jacob Israelachvili. *Intermolecular and surface forces*. Academic press limited, London NW1 7DX, second edition, 1992.
- [32] J. P. Douliez. Self-assembly of hollow cones in a bola-amphiphile/hexadamine salt solution. *Journal of the American Chemical Society*, 127(45) :15694–15695, 2005.
- [33] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [34] J. P. Douliez, L. Navailles, F. Nallet, and C. Gaillard. Self-assembly of unprecedented swollen multilamellar twisted ribbons from a racemic hydroxy fatty acid. *Chemphyschem*, 9(1) :74–77, 2008.
- [35] J. P. Douliez. Magnetic self-orientation of lyotropic hexagonal phases based on long chain alkanolic (fatty) acids. *Langmuir*, 26(13) :11397–11400, 2010.
- [36] T. Shimizu, M. Masuda, and H. Minamikawa. Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chemical Review*, 105(4) :1401–1443, 2005.
- [37] J.V. Selinger, M.S. Spector, and J.M. Schnur. Theory of self assembled tubules and helical ribbons. *Journal of physical Chemistry*, 105(30) :7157–7169, 2001.
- [38] P. Gao, C. L. Zhan, and M. H. Liu. Controlled synthesis of double- and multiwall silver nanotubes with template organogel from a bolaamphiphile. *Langmuir*, 22(2) :775–779, 2006.
- [39] H. Matsui and G. E. Douberly. Organization of peptide nanotubes into macroscopic bundles. *Langmuir*, 17(25) :7918–7922, 2001.
- [40] C. L. Zhan, P. Gao, and M. H. Liu. Self-assembled helical spherical-nanotubes from an l-glutamic acid based bolaamphiphilic low molecular mass organogelator. *Chemical Communications*, (4) :462–464, 2005.
- [41] Serhii Pakhomov, Robert P. Hammer, Bijaya K. Mishra, and Britt N. Thomas. Chiral tubule self-assembly from an achiral diynoic lipid. *Proceedings of the National academy of sciences of the United states of America*, 100(6) :3040–3042, 2003.
- [42] Udo Seifert, Julian Shillcock, and Philip Nelson. Role of bilayer tilt difference in equilibrium membrane shapes. *Physical review Letters*, 77(26) :5237–5240, 1996.
- [43] R. Oda, I. Huc, M. Schmutz, S.J. Candau, and F.C. MacKintosh. Tuning bilayer twist using chiral counterions. *Nature*, 399(6736) :566–569, 1999.
- [44] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [45] D. Weaire and S. Hutzler. *The Physics of Foams*. Oxford, 1999.

-
- [46] R. J. Pugh. Foaming, foam films, antifoaming and defoaming. *Advances in Colloid and Interface Science*, 64 :67–142, 1996.
- [47] S. Lagerge. *Les mousses : moussage et démoussage.*, volume 9. Groupe Formulation SFC, Paris, 2002.
- [48] P.G. De Gennes, F. Brochard-Wyart, and D. Quéré. *Gouttes, bulles, perles et ondes.* 2002.
- [49] D. Langevin. Dynamics of surfactant layers. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 3(6) :600–607, 1998.
- [50] D. Exerowa, P.M. Kruglyakov, and R. Möbius. *Foam and foam films.* Miller, Amsterdam, elsevier edition, 1998.
- [51] D. Langevin. Influence of interfacial rheology on foam and emulsion properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 88(1-2) :209–222, 2000.
- [52] A. Saint-Jalmes and D. Langevin. Time evolution of aqueous foams : drainage and coarsening. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 14(40) :9397–9412, 2002.
- [53] S. Hutzler and D. Weaire. Foam coarsening under forced drainage. *Philosophical Magazine Letters*, 80(6) :419–425, 2000.
- [54] R. von Klitzing and H. J. Muller. Film stability control. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 7(1-2) :42–49, 2002.
- [55] G. Sethumadhavan, S. Bindal, A. Nikolov, and D. Wasan. Stability of thin liquid films containing polydisperse particles. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 204(1-3) :51–62, 2002.
- [56] W. Muller and J. M. di Meglio. Avalanches in draining foams. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 11(21) :L209–L215, 1999.
- [57] V. Carrier and A. Colin. Coalescence in draining foams. *Langmuir*, 19(11) :4535–4538, 2003.
- [58] S. A. Magrabi, B. Z. Dlugogorski, and G. J. Jameson. Bubble size distribution and coarsening of aqueous foams. *Chemical Engineering Science*, 54(18) :4007–4022, 1999.
- [59] W. Drenckhan and D. Langevin. Monodisperse foams in one to three dimensions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15(5) :341–358, 2010.
- [60] W. Drenckhan. Generation of superstable, monodisperse microbubbles using a ph-driven assembly of surface-active particles. *Angewandte Chemie-International Edition*, 48(29) :5245–5247, 2009.
- [61] A. Saint-Jalmes. Physical chemistry in foam drainage and coarsening. *Soft Matter*, 2 :836–849, 2006.
- [62] M Safouane. *Drainage des mousses aqueuses : rôle de la rhéologie du fluide moussant.* PhD thesis, 2003.
- [63] S. Hilgenfeldt, S. A. Koehler, and H. A. Stone. Dynamics of coarsening foams : Accelerated and self-limiting drainage. *Physical Review Letters*, 86(20) :4704–4707, 2001.
- [64] A. Cervantes-Martinez, A. Saint-Jalmes, A. Maldonado, and D. Langevin. Effect of cosurfactant on the free-drainage regime of aqueous foams. *Journal of Colloid and Interface Science*, 292(2) :544–547, 2005.

- [65] A. Saint-Jalmes, M. L. Peugeot, H. Ferraz, and D. Langevin. Differences between protein and surfactant foams : Microscopic properties, stability and coarsening. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 263(1-3) :219–225, 2005.
- [66] C. P. Gonatas, J. S. Leigh, A. G. Yodh, J. A. Glazier, and B. Prause. Magnetic-resonance images of coarsening inside a foam. *Physical Review Letters*, 75(3) :573–576, 1995.
- [67] C. Monnereau and M. Vignes-Adler. Optical tomography of real three-dimensional foams. *Journal of Colloid and Interface Science*, 202(1) :45–53, 1998.
- [68] M. A. V. Axelos and F. Boue. Foams as viewed by small-angle neutron scattering. *Langmuir*, 19(17) :6598–6604, 2003.
- [69] V. Bergeron. Forces and structure in thin liquid soap films. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 11(19) :R215–R238, 1999.
- [70] C. Stubenrauch and R. von Klitzing. Disjoining pressure in thin liquid foam and emulsion films - new concepts and perspectives. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 15(27) :R1197–R1232, 2003.
- [71] C. Dame. *Etude de la relation entre la stabilité des mousses de décontamination nucléaire et leurs propriétés physico-chimiques*. PhD thesis, 2006.
- [72] J. Benjamins, A. Cagna, and E. H. LucassenReynders. Viscoelastic properties of triacylglycerol/water interfaces covered by proteins. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 114 :245–254, 1996.
- [73] J. Penfold. Neutron scattering for surface characterization. *Current Science*, 78(12) :1458–1466, 2000.
- [74] J. R. Lu, R. K. Thomas, and J. Penfold. Surfactant layers at the air/water interface : structure and composition. *Advances in Colloid and Interface Science*, 84(1-3) :143–304, 2000.
- [75] J. Penfold and R. K. Thomas. The application of the specular reflection of neutrons to the study of surfaces and interfaces. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2(6) :1369–1412, 1990.
- [76] J. Penfold, R. K. Thomas, E. Simister, E. Lee, and A. Rennie. The structure of mixed surfactant monolayers at the air-liquid interface, as studied by specular neutron reflection. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2 :SA411–SA416, 1990.
- [77] B. P. Binks. Particles as surfactants - similarities and differences. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 7(1-2) :21–41, 2002.
- [78] R. M. Guillermic, A. Salonen, J. Emile, and A. Saint-Jalmes. Surfactant foams doped with laponite : unusual behaviors induced by aging and confinement. *Soft Matter*, 5(24) :4975–4982, 2009.
- [79] B. P. Binks and T. S. Horozov. Aqueous foams stabilized solely by silica nanoparticles. *Angewandte Chemie-International Edition*, 44(24) :3722–3725, 2005.
- [80] R. G. Alargova, D. S. Warhadpande, V. N. Paunov, and O. D. Velev. Foam superstabilization by polymer microrods. *Langmuir*, 20(24) :10371–10374, 2004.
- [81] W. Z. Zhou, J. Cao, W. C. Liu, and S. Stoyanov. How rigid rods self-assemble at curved surfaces. *Angewandte Chemie-International Edition*, 48(2) :378–381, 2009.

- [82] H. A. Wege, S. Kim, V. N. Paunov, Q. X. Zhong, and O. D. Velev. Long-term stabilization of foams and emulsions with in-situ formed microparticles from hydrophobic cellulose. *Langmuir*, 24(17) :9245–9253, 2008.
- [83] U. T. Gonzenbach, A. R. Studart, E. Tervoort, and L. J. Gauckler. Ultrastable particle-stabilized foams. *Angewandte Chemie-International Edition*, 45(21) :3526–3530, 2006.
- [84] B. P. Binks, R. Murakami, S. P. Armes, and S. Fujii. Effects of ph and salt concentration on oil-in-water emulsions stabilized solely by nanocomposite microgel particles. *Langmuir*, 22(5) :2050–2057, 2006.
- [85] S. Khoukh, P. Perrin, F. B. de Berc, and C. Tribet. Reversible light-triggered control of emulsion type and stability. *Chemphyschem*, 6(10) :2009–2012, 2005.
- [86] F. Marchal, A. Roudot, N. Pantoustier, P. Perrin, J. Daillant, and P. Guenoun. Emulsion stabilization and inversion using a ph- and temperature-sensitive amphiphilic copolymer. *Journal of Physical Chemistry B*, 111 :13151–13155, 2007.
- [87] B. P. Binks, R. Murakami, S. P. Armes, S. Fujii, and A. Schmid. ph-responsive aqueous foams stabilized by ionizable latex particles. *Langmuir*, 23(17) :8691–8694, 2007.
- [88] B. Jean. *Un polymère thermosensible à l'interface eau-air, interaction avec les tensioactifs et stabilisation de films minces*. PhD thesis, 2000.
- [89] R.M. Guillermic. *De nouveaux types de mousses : vers des matériaux adaptatifs*. PhD thesis, 2011.
- [90] A. Salonen, D. Langevin, and P. Perrin. Light and temperature bi-responsive emulsion foams. *Soft Matter*, 6(21) :5308–5311, 2010.

CHAPITRE II

L'objectif de la thèse était d'obtenir une compréhension suffisamment fine des mécanismes impliqués dans la stabilisation d'une mousse par un assemblage d'acides gras pour permettre la formulation d'une mousse ayant une stabilité modulable. Pour cela, nous avons basé nos travaux sur l'étude de tubes multilamellaires ayant un diamètre variable avec la température formés avec l'acide gras 12-hydroxy stéarique et l'éthanolamine comme contre-ion (cf. Chapitre 1). Le but était de générer des interfaces et des mousses à propriétés modulables sous l'action d'une contrainte externe (la température) à partir de ces tubes multilamellaires, au comportement singulier vis-à-vis de la température.

L'objectif de cette première partie est de mettre en évidence les conditions physicochimiques pour lesquelles les tubes multilamellaires se forment en solution. Ce type d'étude fondamentale s'avère indispensable pour des applications potentielles de ces tubes pour la formulation aisée de mousses.

La première partie des travaux a été consacrée à l'étude de la formation de cette structure spécifique de tubes multilamellaires en solution aqueuse en fonction de paramètres physicochimiques en couplant des techniques à l'échelle microscopique (microscopie à contraste de phase), des études thermodynamiques (analyse thermique différentielle) et des mesures structurales à l'échelle locale (diffusion de neutrons aux petits angles). Cette étude a été basée sur le système des tubes multilamellaires formés à partir de l'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion. L'effet du pH, la concentration en acides gras, la force ionique, le rapport molaire (acide gras/contre-ion) ainsi que l'ajout d'autres molécules lipidiques sur la formation des tubes multilamellaires ont été étudiés.

Des tubes à diamètres variables sont obtenus pour une large gamme de conditions physicochimiques (pH compris entre 8.8 et 10.6, concentration en acides gras entre 3 et 100 mg/mL, rapport molaire acide gras/contre-ion entre 2/3 et 5/2, concentration en NaCl < 60 mM). Dans certains cas, des tubes multilamellaires se forment mais le diamètre ne varie plus avec la température (fort excès de contre-ions) et dans d'autres cas, des cristaux se forment (excès d'acides gras, $\text{pH} < 8.8$ ou $\text{pH} > 10.6$, excès de NaCl). De plus, pour ce système de tubes multilamellaires, nous avons montré que l'augmentation du diamètre des tubes semble se coupler avec la transition entre la phase gel (L_β) et la phase fluide (L_α) des bicouches d'acides gras.

Chapitre 2

12-hydroxy stearic acid lipid tubes under various experimental conditions

Anne-Laure Fameau ^{1,2}, Bérénice Houinsou-Houssou ¹, Bruno Novales ¹, Laurence Navailles ³, Frédéric Nallet ³ and Jean-Paul Douliez ¹

- 1) Biopolymères Interactions Assemblages Inra, rue de la Géraudière, 44316 Nantes, France.
- 2) Laboratoire Léon-Brillouin, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, France.
- 3) Université de Bordeaux, centre de recherche Paul-Pascal - CNRS, 115 avenue du Docteur-Schweitzer, 33600 Pessac, France.

Journal of Colloid and Interface Science 341 (2010) 38-47

2.1 Abstract

There is a growing interest for constructing supramolecular hollow tubes from amphiphilic molecules. Aqueous solutions of the ethanolamine salt of 12-hydroxy-stearic acid are known to form tubes of several tens of micrometers in length with a temperature tunable diameter. However, the phase behavior of this system has not been fully studied. Herein, we report the variation of various physico-chemical parameters on the self assembling properties of this system. The effect of the ionic strength, ethanol, doping with other lipids, pH, concentration and the fatty acid/ethanolamine molar ratio R were investigated by both phase contrast microscopy and DSC. We observed the formation of tubes in a wide range of parameters. For instance, the molar ratio R can be modified from $2/3$ to $5/2$ without altering the formation of tubes. In some but not all cases, the tube diameter still varied with temperature. These findings show that tubes form in various experimental conditions. This should increase the interest in producing such self-assemblies from low-cost fatty acids.

Keywords : Lipid tubes, hydroxy fatty acids, self-assembly.

2.2 Introduction

The literature reporting on the formation of supramolecular hollow tube architectures based on amphiphilic molecules is markedly increasing both from the experimental and theoretical point of view¹⁻⁴, in particular owing to various technological reasons such as their use as templates or vectors for drug delivery^{5,6}. Lipid tubes are constituted of membranes (bilayers) that may be packed in a concentric fashion with a cylindrical curvature. It is generally assumed that most of lipid tubes form from an intermediate step which consists of helically coiled ribbons. A theoretical description has been proposed with the aim of determining and understanding the relationship between size and shape of the tubes⁴. However, there are still some contradictions regarding the relationship between chirality and the shape of the self-assembled structures.

There are a limited number of natural and synthetic lipids that can self-assemble into tubular structures, amongst which are glycolipids^{7,8} and their bola-form derivatives⁹ and phospholipids⁶. Most often, the tube-forming lipids are chiral molecules. Recently, a novel simple and inexpensive lipid mixture that forms tubes in aqueous solution was introduced¹⁰. It is formed of the ethanolamine salt of 12-hydroxy-stearic acid in water. Of particular interest is that the fatty acid is a generic molecule, *i.e.*, it does not require a previous chemical synthesis step as in the case of most other lipid forming tubes. In that case, tubes of several tens of micrometers in length spontaneously form upon cooling from an isotropic solution. They exhibit an inner and outer diameters of 400 and 600 nm, respectively, and their walls consist of concentric stacked bilayers of fatty acid salts, each separated by a layer of water¹⁰. It has also been shown that the diameter of these tubes first increases with the temperature and then decreases after what the lipid tubes melt¹¹.

However, the formation of such tubes has only been studied for a given fatty acid/ ethanolamine molar ratio R , namely $R=1$, without modifying the experimental conditions. It is well known that the lipid self-assembly strongly depends on the physico-chemical experimental conditions. For instance, an increase in ionic strength modifies the lamellar spacing by screening electrostatic interactions. The pH is also known to play a role in the fatty acid self-assembly which can change from crystals to vesicles and micelles¹²⁻¹⁵. The presence of ethanol may also affect the polymorphism since it is expected to solubilise the lipids. Varying such parameters seems promising for screening the phase behavior of the 12-hydroxy stearic ethanolamine salt system and determining the experimental conditions for tube formation. This is the main aim of the present work. For better understanding the self assembling properties and the various conditions in which temperature-tunable diameter tubes survive, we examined a wide range of parameters such as the addition of NaCl, ethanol, the doping effect with other fatty acids, as well as the effects of fatty acid concentration, pH variations and changes in fatty acid/ethanolamine molar ratio. We employed differential scanning calorimetry (DSC) to characterize the lipid phase transition and phase contrast microscopy was used to investigate the variation of the tube diameter as a function of temperature.

2.3 Materials and methods

2.3.1 Stock Solution Preparation

12-hydroxy stearic acid (Sigma-Aldrich, 99 % purity) was weighed exactly in a tube and ultra pure water was added so that the concentration was 10 mg/mL (1 %). Then, the desired volume of a 1 M stock solution of ethanolamine (Sigma-Aldrich, 99 % purity) prepared in ultra pure water was incorporated to reach equivalence (12OHSt/EtOHNH₂ molar ratio R=1). The mixture was melted at 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. Prior to being used, each sample was heated at 80 °C for 15 min and cooled at room temperature. Except where mentioned, all samples, the composition of which was varied (pH, ionic strength, etc.) as described hereafter, were re-homogenized according to such a protocol.

2.3.2 Effect of concentration

For diluted solutions, ultra pure water was added to the stock solution at 10 mg/mL 12OHSt/EtOHNH₂ so that the concentration ranged from 3.3 mg/mL to 7.5 mg/mL. For higher concentrations, the samples were prepared as mentioned above except that the initial amount of fatty acid was 20 to 300 mg/mL.

2.3.3 Effect of molar ratio

In the case where the fatty acid was in excess compared to the amount of ethanolamine required for having a molar ratio of 1, a given amount of fatty acid was weighted in the sample tubes and further 'diluted' with the stock solution. According to that procedure, the molar ratio R was adjusted to 2/1, 5/2 and 3/1. For samples in an excess of ethanolamine compared to that required for having a molar ratio of 1, desired volumes of the ethanolamine stock solution were added to the stock solution of 12OHSt/EtOHNH₂ tubes. According to that procedure, the molar ratio R was adjusted to 4/5, 2/3, 1/2, 1/3, 1/4 and 1/5.

2.3.4 Effect of ethanol

An adequate volume of ethanol (VWR, purity 99 %) was incorporated to 1 mL of the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. We studied samples at ethanol concentrations ranging from 5 % to 50 %.

2.3.5 Acid/Base effects

For increasing the pH, an adequate volume of 1 M NaOH (pellets of Fisher Scientifics) was incorporated to 3 mL of the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. The NaOH concentration was varied from 3 mM to 32 mM. For decreasing the pH, an adequate volume of 1 M HCl (Carlo Erba) was incorporated to 3 mL of the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. The HCl concentration was varied from 3 mM to 32 mM. The pH of each solution was checked with a pH-meter TIM 900 titration manager Tritralab (Tacussel Électronique, Radiometer analytical S.A.).

2.3.6 Ionic strength

An adequate volume of 1 M NaCl was incorporated to 3 mL of the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. We studied samples with concentrations from 5 mM to 80 mM NaCl.

2.3.7 Doping

The 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution was doped with various lipids according to the following procedure. Palmitic acid or stearic acid (both Sigma-Aldrich, 99 % purity) were weighed exactly in a tube and ultra pure water was added so that the concentration was 10 mg/mL (1 %). Then, the desired volume of a 1 M stock solution of ethanolamine (Sigma-Aldrich, 99 % purity) prepared in ultra pure water was incorporated to reach equivalence (molar ratio of Fatty acid/EtOHNH₂ of 1). The mixture was heated to 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. The desired volumes of that solution were added to the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. The rate of doping is mentioned in the Results and Discussion section. In the case of 12-hydroxystearyl alcohol (Sigma-Aldrich, 99 % purity) which is insoluble in water, 5 mg, 10 mg and 15 mg were weighted exactly in a tube and 3 mL of 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution were added. The homogenization procedure allowed to get well dispersed systems. A phospholipid, 1,2 dimyristol-sn-glycerol-3-phosphocholine (DMPC, AVANTI) was also mixed with the 12OHSt/EtOHNH₂ stock solution. The 12OHSt and DMPC powders were weighted exactly and water together with the desired volume of ethanolamine were directly added without pre-solubilisation in ethanol. In that particular case, freeze-thawing steps as usually done for phospholipid mixtures were necessary to obtain well dispersed solutions.

2.3.8 Phase Contrast Microscopy

Phase-contrast microscopy was used to investigate the variation of the tube diameter as a function of temperature (20 °C to 80 °C). Microscopy observations were carried out at 20x magnification using an optical microscope in the phase-contrast mode (Nikon Eclipse E-400, Tokyo, Japan) equipped with a 3-CCD JVC camera allowing digital images (768x512 pixels) to be collected. A drop of the lipid dispersion (about 20 μ L) was deposited on the glass-slide surface (76x26x1.1 mm, RS France) and covered with a cover slide (22x22 mm, Menzel-Glaser, Germany). The glass slides were previously cleaned with ethanol and acetone.

2.3.9 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

We employed differential scanning calorimetry (DSC) to characterize the lipid-phase transition. Experiments were performed on a microcalorimeter from MicroCal Incorporated (USA). An amount of 1.5 mL of the lipid solution was injected in the sample cell with a syringe. The reference cell contained 1.5 mL of ultra pure water. The sample was scanned between 8 °C and 80 °C at 1 °C/min. The DSC is controlled by an intelligent user interface and data analysis is performed with Origin.

2.3.10 Small-angle neutron scattering (SANS)

Small-angle neutron scattering (SANS) experiments were performed at Laboratoire Léon-Brillouin (laboratoire mixte CEA/CNRS, Saclay, France) on spectrometer PAXY. The neutron beam was collimated by appropriately chosen neutron guides and circular apertures, with a beam diameter at the sample position of 7.6 mm. The neutron wavelength was set to 4 or 8 Å with a mechanical velocity selector ($\Delta\lambda/\lambda \approx 0.1$), the 2D detector (128x128 pixels, pixel size 5x5 mm²) being positioned at 1.4 or 6.7 m, respectively. The scattering wave vector, Q , then ranges from typically 0.005 to 0.4 Å⁻¹, with a significant overlap between the two configurations. The samples, prepared with deuterated water, were held in flat quartz cells with a 2 mm optical path, and temperature-controlled by a circulating fluid to within ± 0.2 °C. The azimuthally-averaged spectra were corrected for solvent, cell and incoherent scattering, as well as for background noise. The general theory for fitting the SANS data can be found in the literature¹⁶ and our present data were fitted with models which were previously described for other fatty acid systems^{10, 17, 18}.

2.4 Results and discussion

In a previous work, the formation of tubes by using a 1 % aqueous solution of the ethanamine salt of 12-hydroxy-stearic acid has been reported¹⁰. This sample is further referred to as the stock solution and appears as a turbid liquid solution. At room temperature, the lipid dispersion is constituted by randomly oriented tubes which are well visualized as rods by phase contrast microscopy. At 48 °C, the diameter of the tubes was shown to increase until a value of about 5 μm is reached and further decreased at about 55 °C. Then, tubes melts at around 70 °C. This phenomenon is perfectly reversible since the decrease of the temperature starting from 70 °C is accompanied by a change of the tube diameter in a similar evolution (increase/decrease) than that observed upon heating.

The enthalpogram of that 1 % solution showed a sharp peak at around 45.6 °C and a broad one at 70 °C with a shoulder that starts at 30 °C¹¹. We can conclude that the increase of tube diameter is associated with the first phase transition. It was expected that this peak corresponds to the gel-to-fluid lipid phase transition. In order to check this point, we performed a small angle neutron scattering experiment below and above that temperature of 45.6 °C and the data are shown Figure 2.1. The azimuthally-averaged spectra at 41.7 °C and 51.9 °C display a strong small-angle scattering signal at both temperatures and three sharp peaks exactly in a ratio 1 : 2 : 3 ($Q_0, 2Q_0, 3Q_0$) can be readily identified. This result is similar to that already observed at a lower temperature¹⁰ and shows that tubes are formed by periodically-stacked bilayers below and above the transition. The lamellar spacing, *i.e.*, the repeat distance corresponding to one lipid layer and one water layer in the stack is $2\pi/Q_0 = 35$ nm and 30 nm, as can be determined at low and high temperature, respectively. The value below the transition is similar to that obtained at a lower temperature¹⁰ but that in the fluid, high-temperature phase is markedly different. Considering the so-called 'swelling law' of one-dimensional stacks, namely $Q_0 = 2\pi\Phi/\delta$, such a change may result from water being exchanged between the inter-bilayer spaces and the excess solvent (Φ variation) or from a variation of the bilayer thickness δ .

In the so-called Porod representation, where Q^4 times the scattering intensity is displayed as a function of Q (see Figure 2.1), a fit to the form factor main oscillation yielded a value of the bilayer thickness δ equal to 4 and 2.7 nm \pm 0.1, below and above the phase transition, respectively, implying an *increase* in the local amount of solvent between the bilayers since Φ then varies from about 11 to 9 %.

It must be reminded that the stearic chain in its extended conformation has a length of about 2.1 nm, that is to say about half the value we obtain from the fit at 41.7 °C. The SANS data are then consistent with lipids organized in bilayers with their alkyl chains in an all-trans conformation, *i.e.*, in their gel state. However, at 51.9 °C, the bilayer thickness δ is markedly lower than twice the stearic chain length in its extended conformation. This means that the alkyl chains are in a fluid, disordered state, *i.e.*, in the fluid phase. Moreover, such a low thickness also suggests that alkyl chains are interdigitated as previously suggested¹⁸. Thus, SANS data confirmed that below and above the temperature of the sharp peak observed by DSC, the bilayers are embedded in a gel and fluid phase, respectively. Then, we systematically investigated the effect of various parameters. For the sake of simplicity, only DSC and microscopy were used to characterize the samples. Following our SANS data, we will further assume that the sharp peak observed by DSC stands for the lipid gel-to-fluid phase transition.

2.4.1 Effect of pH

Variations of the pH modify the protonation/ionization ratio of the fatty acid carboxylic group and can therefore influence the lipid solubility and self-assembly^{12, 15}. For instance, the coexistence of both carboxylic and carboxylate groups has been shown to be a prerequisite for the formation of fatty acid vesicles^{12, 13, 19}. Moreover, there is still a strong debate dealing with the deprotonation state of the fatty acid in such mixtures. This has been mentioned in cationic systems²⁰ but also in mixtures with alcohols^{12, 13, 21}. In the stock solution of our microtubes, the pH is around 9.8 but we expect that both carboxylate and carboxylic groups coexist although the concentration of COO^- is probably higher since the pH is basic. However, the ratio $[\text{COO}^-]/[\text{COOH}]$ is difficult to estimate since the pKa of a fatty acid varies with experimental conditions. Indeed, the pKa of fatty acids are expected to be below 7 but it was shown to be close to 8 for cholesterol-palmitic acid systems^{21, 22}.

We added different volumes of HCl (1 M) to the stock solution of tubes at room temperature. The data for the variation of pH as a function of the HCl concentration is given in the supplementary information section. We observed that the samples appear as turbid liquid solutions from 0 mM to 13.3 mM of HCl. Phase contrast microscopy showed the presence of rods as for the stock solution, suggesting that tubes indeed formed for those concentrations of acid. Clearly, the ratio of carboxylic groups is increased compared to that in the stock solution but this does not hamper the formation of tubes.

The enthalpograms of the systems for an HCl concentration of 3.3, 6.6 and 13.3 mM HCl are shown in Figure 2.2 (A-D). The data for the transition temperature and the enthalpies are given in the supplementary information section. One observed a similar complex endothermic behavior as that for the stock solution with a sharp peak at around 45.6 °C and a broad

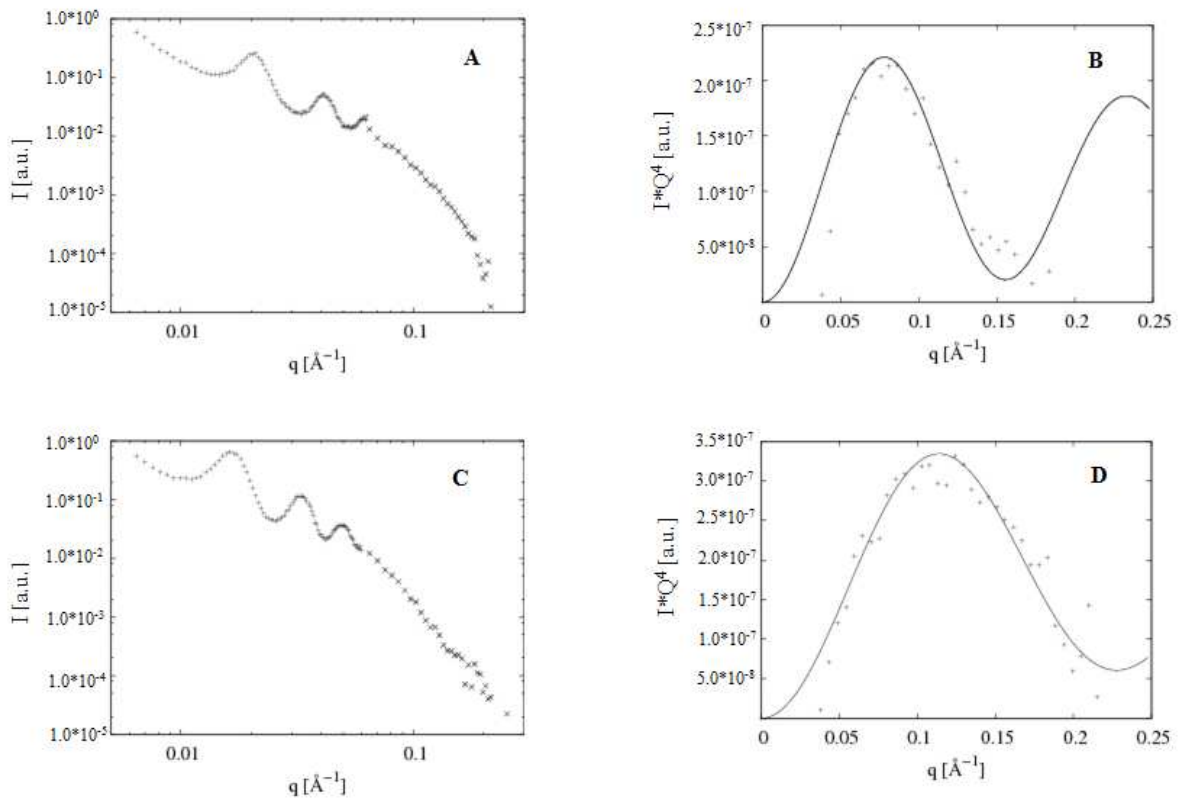


FIGURE 2.1 – SANS intensity profiles for the 1 % aqueous dispersion of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt, in either the gel phase (A : 41.7 °C) or the fluid phase (C : 51.9 °C). SANS intensity profiles in the gel phase (B : 41.7 °C) or the fluid phase (D : 51.9 °C) displayed in the Porod representation. The lines correspond to the best fit of the data according to a previously published model (see ref¹⁰).

one at around 70 °C. As mentioned above, the first peak stands for the gel-to-fluid phase transition. The main gel-to-fluid transition temperature remained unchanged upon addition of HCl except that the enthalpy of the peak slightly decreased. The maximum temperature of the second peak is shifted towards higher temperature and its enthalpy markedly increased. The values reach that of the pure fatty acid with its protonated carboxylic group, since it melts at 75 °C as indicated by the supplier. Then, we expect that this latter peak stands for the melting of the fatty acid tubes but this was not clearly established previously and cannot be well correlated with the microscopy observations. The tube diameter was studied as a function of the temperature. Lipid tubes with temperature-tunable diameter were clearly observed by phase-contrast microscopy up to an HCl concentration of 13.3 mM (Figure 2.3 A-B). The variation occurred in a similar fashion¹¹ than for the stock solution (not shown). Altogether, those results show that the addition of HCl until a concentration of 13.3 mM does not markedly modify the formation of tubes and the variation of their diameter with the temperature.

However, from 19.6 mM of HCl, a precipitate formed in the sample in coexistence with the turbid solution. The amount of precipitated material increased with that of HCl. Clearly, the precipitate is constituted of fatty acid crystals. Indeed, at low pH values, there are too many carboxylic groups (COOH) *vs.* carboxylate (COO⁻) destabilizing the bilayer structure and then the supramolecular assembly in tubes.

Similar experiments were carried out with addition of various volumes of NaOH (1 M). At room temperature, the samples appear as turbid liquid solutions up to 16.7 mM NaOH. Rods are observed by phase contrast microscopy as for the stock solution. In this case, in comparison with the stock solution, we can expect that more fatty acid carboxylic groups are ionized but without impact on the formation of tubes.

For those solutions (up to 12 mM NaOH), the enthalpograms (Figure 2.2 E-H) present a shift of the first peak towards higher temperatures in comparison with the enthalpogram of the stock solution. The maximum temperature of the first peak is 45.6 °C for the stock solution, whereas for a sample with 12 mM NaOH the maximum temperature is 54.8 °C. The main gel-to-fluid transition temperature is then shifted towards higher temperatures in the presence of NaOH. We can suppose that the increase of carboxylate groups plays a role in the main gel-to-fluid transition. Moreover, the maximum temperature of the second peak is simultaneously shifted towards lower temperatures and the enthalpy decreased with the addition of NaOH. The modification of the protonation/ionization ratio of the fatty acid carboxylic groups can also modify the melting temperature of fatty acid tubes. By phase contrast microscopy, we observed that lipid tubes with temperature-tunable diameter survived up to 12 mM NaOH. However, the temperature at which the tube diameter increases rises proportionally with the quantity of added NaOH. For example, it was 52 °C for 12 mM NaOH solution. These observations are in agreement with enthalpograms since the gel-to-fluid transition was also shown to be shifted towards higher temperature.

At higher concentration of NaOH (>16.7 mM), a precipitate formed at room temperature. For these samples, we observed the formation of star-like structures characteristic of lipid crystals by phase contrast microscopy (Figure 2.3 C). The amount of precipitated material and star structures increased with that of NaOH. We deduct from these observations that

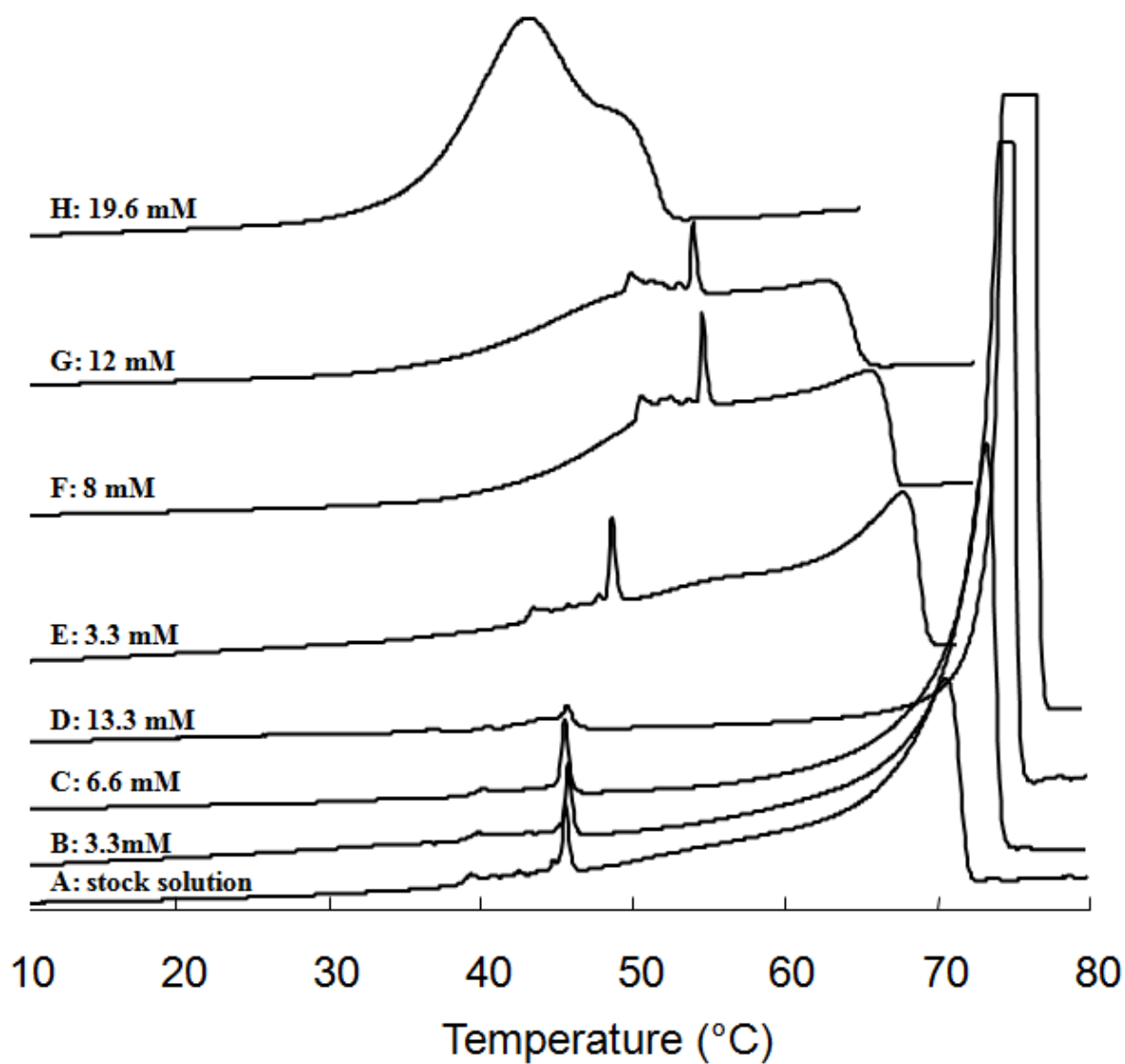


FIGURE 2.2 – Enthalpograms of a 1 % aqueous dispersion of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt upon addition of HCl (B-D) and NaOH (E-H). For the sake of clarity, the enthalpogram of the stock solution is also reported (A). The concentration of either HCl or NaOH is given in the figure.

the precipitate is formed by fatty acid crystals. This result is rather surprising since the increase of pH in fatty acid containing systems is generally associated with the formation of micelles^{12, 13}. However, the sodium salt of the 12-hydroxy stearic is not soluble in water even at high temperature. These systems containing a precipitate present a simple endothermic behavior by DSC with a single broad peak that starts at 30 °C (Figure 2.2 H). We suppose that this peak corresponds to the fatty acid crystals fusion.

In summary, we have shown that the 12OHSt tubes survive to small amount of both NaOH or HCl without considerably modifying their overall properties (diameter) and for higher concentrations, crystals form. This is because the pH changes the protonation/ionization ratio of the terminal carboxylic acid what is already known to change the self-assembly in fatty acid systems.

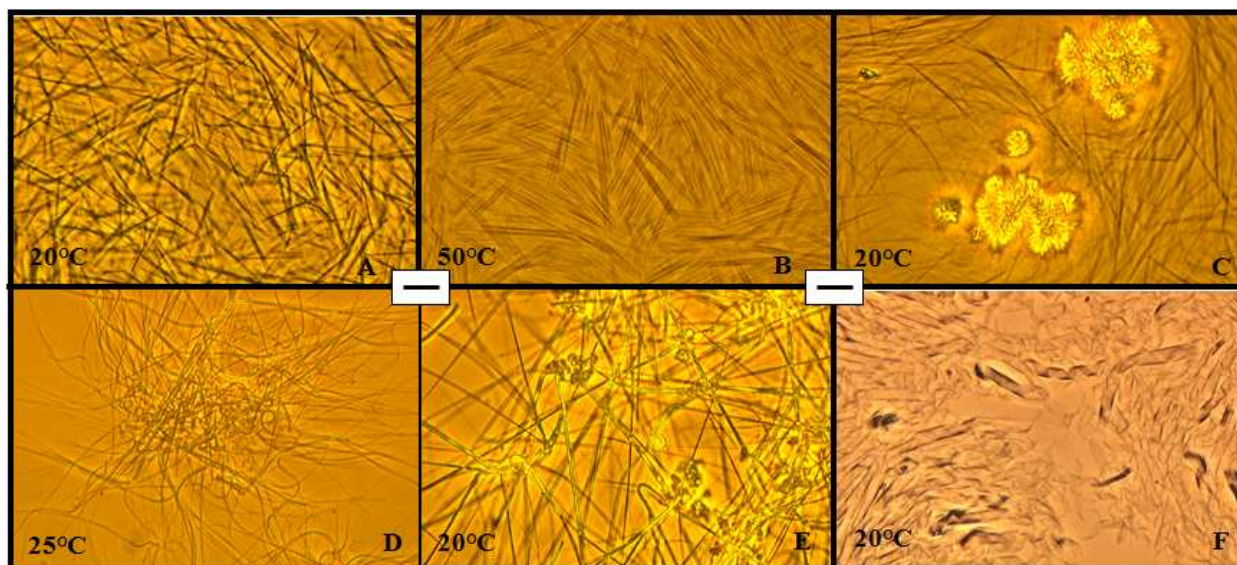


FIGURE 2.3 – Phase contrast micrographs for selected samples. The scale bar represents 10 μM . The temperature at which the images were recorded is indicated in the figure. A and B : in the presence of 13 mM HCl, C : 16.7 mM NaOH; D : 23 % ethanol; E : 41 % ethanol and F : 50 % stearic acid.

2.4.2 Effect of the fatty acid concentration

In lipid systems, the concentration of fatty acid is known to influence the formation of lipid self-assemblies and their stabilities. For instance, Apel *et al.*,¹³ reported that the monocarboxylic acid concentration played a significant role in the stability of self-assembled vesicles. At room temperature, all our samples up to a concentration of 100 mg/mL appear as turbid liquid solutions as the stock solution which is at 1 %. For higher concentrations, the system was still turbid but appears as a white viscous solution, the viscosity of which increases leading to a gel at 300 mg/mL. At that concentration, the sample tube can be turned upside-down without any flow. For samples at a concentration from 3.3 to 30 mg/mL, enthalpograms were similar to those obtained for the stock solution (Figure 2.4). Nevertheless, the first peak presents a slight shift towards higher temperatures and an increase of the enthalpy with the concentration. The main gel-to-fluid transition temperature is then modified by the concentration of fatty acid in solution.

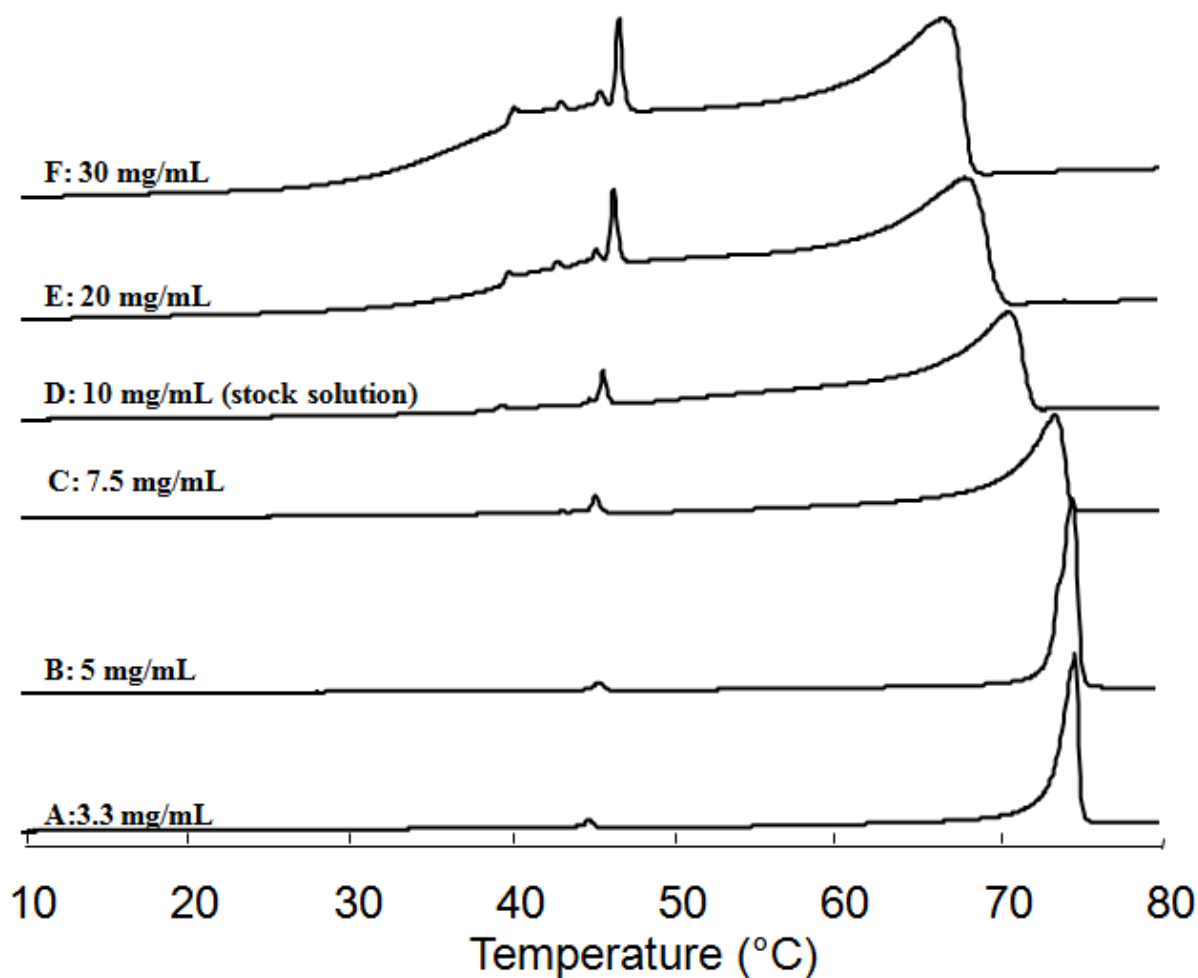


FIGURE 2.4 – Enthalpogram of various aqueous dispersions of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt. The fatty acid concentration is given in the figure.

An important shoulder from 40 °C to 45 °C appears from a 2 % aqueous solutions of the ethanolamine salt of 12-hydroxy-stearic acid (Figure 2.4 E). However, we have no interpretation for this feature. The second peak of the enthalpograms presents a shift towards lower temperatures and an increase of the enthalpy with the fatty acid concentration. These results show that the melting of fatty acid assemblies depends on the concentration what has been further confirmed by phase contrast microscopy.

At room temperature, as can be expected, the density of tubes (observed by phase-contrast microscopy) seems to increase with the concentration of fatty acids. Upon rising the temperature, tubes diameter still vary with the temperature. However, the temperature at which the tube diameter increases is modified when the concentration of fatty acid is higher than 1 %. For instance, that temperature was of 45 °C at 3 % compared to 48 °C for the stock solution. In the same way, the melting temperature is also modified by the increase of fatty acid concentration. For example, the melting temperature was 70 °C for the solution at 3 %, whereas it is 75 °C for the stock solution. Tubes with temperature-tunable diameter

were then observed for various fatty acid concentrations from 0.33 % to 10 %. For higher concentrations, tubes no longer formed but the system more probably self-assemble into a stack of membranes. This was well illustrated by phase contrast microscopy since no rods were observed but rather lumps of fatty acid materials (not shown).

2.4.3 Fatty acid/ethanolamine molar ratio

We further investigated the phase diagram of this system by studying the effect of various fatty acid/ethanolamine ratios. We first start with higher amounts of ethanolamine (than that required for having the equivalence), *i.e.*, for molar ratios, R , fatty acid/ethanolamine lower than 1. At room temperature, all samples from $R = 4/5$ to $1/5$ appear as turbid liquid solutions as the stock solution. The enthalpogram of the sample at $R = 4/5$ (Figure 2.5 F) was similar to that obtained for the stock solution (Figure 2.5 G), but the second peak was shifted by 5 °C towards lower temperatures and its enthalpy was decreased. Moreover, a shoulder appearing as a broad peak at around 55 °C was also observed. The second peak disappeared upon decreasing the molar ratio ($R = 2/3$) (Figure 2.5 E) at the expense of that broad peak. At that molar ratio, the gel to fluid phase transition still occurred since the first peak is present. However, it disappeared for $R = 1/2$ (Figure 2.5 D), also at the expense of the broad peak, the temperature of which was markedly shifted to lower temperatures. Finally, for lower molar ratios, the broad peak was further shifted to lower temperatures and in addition, it became sharper. It clearly appears that the molar ratio plays an important role on the thermotropism of that system.

When we increased the temperature, tubes with temperature-tunable diameter were observed for a molar ratio of $4/5$ and $2/3$ by phase-contrast microscopy as usually observed¹¹ (see also Figure 2.3 B as an example of large tubes observed by this technique). The temperature at which the tube diameter increases was 48 °C, the same temperature than for the stock solution. However, lipids tubes melted at 70 °C for a molar ratio of $4/5$ whereas for a molar ratio of $2/3$ this occurs at 65 °C. Such a decrease of the melting temperature cannot be well correlated with the observations made by DSC. Indeed, we observed no peak at the corresponding temperature. From a molar ratio of $1/2$ at room temperature, rods were observed but their tube diameter did not vary as a function of the temperature as observed for the stock solution. Rather, they melted at around 55 °C. Once again, no peak was observed for the corresponding temperature. Rather, a large shoulder is detected at lower temperature. This confirms as suggested above that the second peak is not well correlated with the melting of the tubes. Similar observations were made for lower molar ratios except that the melting occurred at around 40 °C.

The pH of those samples logically increased with the increase of the amount of ethanolamine. As previously commented for the study on the effect of pH, there is probably a modification of the protonation/ionization ratio of the terminal carboxylic group. However, the effect is more important and rather different. Again, the increase of the amount of carboxylate (COO^-) *versus* carboxylic groups does not hamper the formation of lipid assemblies. However, the variation of the diameter no longer occurs and no crystals are formed. Then, there is an additional phenomenon that occurs which does not depend on the protonation state of the fatty acid but prevents the variation of the diameter with temperature.

The molar ratio was also varied in the reverse case, that is, by increasing the amount of fatty acid *versus*. ethanolamine. The molar ratio investigated were $R=2/1$, $5/2$ and $3/1$. At room temperature, all samples appear as turbid liquid solutions as the stock solution. Enthalpograms of these systems were similar to those obtained for the stock solution (Figure 2.5 (G-J)). However, the enthalpy of the first peak decreased with the increase of R . The intensity of the second peak was higher than for the stock solution and even saturated. Tubes with a temperature-tunable diameter were observed for a molar ratio of $2/1$ and $5/2$ by phase-contrast microscopy. For $R=3/1$, one observed tubes but in addition, filaments are also presents together with small amounts of $2-3 \mu\text{m}$ length crystals. Those structures show that, in a relative excess, the fatty acid cannot be fully dispersed as tubes but remains as crystals. Interestingly, fatty acid soaps are known to also crystallize as filaments²³. This might also be a consequence of the modification of the protonation/ionization ratio since the higher the molar ratio, the higher the amount of carboxylic groups.

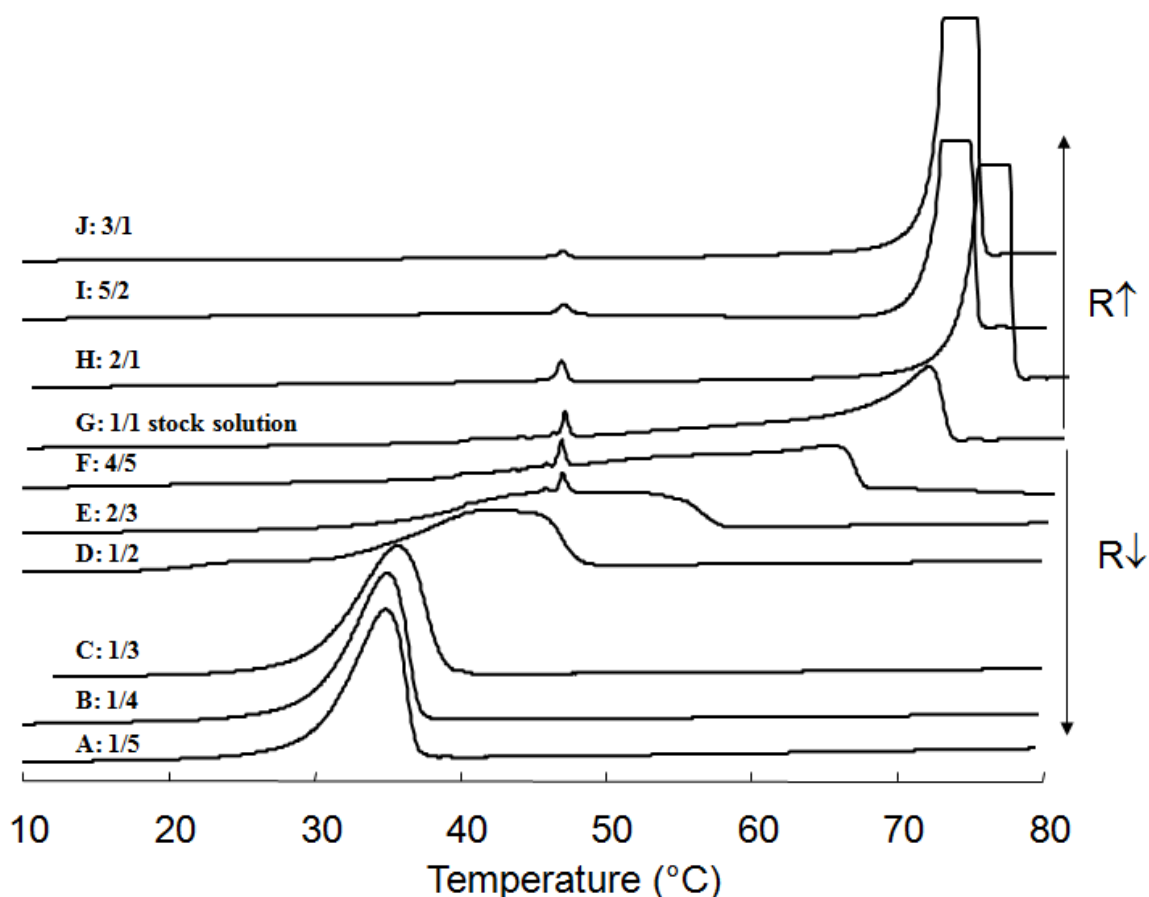


FIGURE 2.5 – Enthalpogram of a 1 % aqueous dispersion of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt with various fatty acid/ethanolamine molar ratios. The molar ratio is given in the figure.

2.4.4 Addition of ethanol

Ethanol is well known to solubilise lipids but can participate, when added in small amounts in aqueous dispersions, in the bilayer self-assembly as a cosurfactant²⁴. It is also often used in sol-gel process where surfactants are used as templates. Besides, Ji *et al.*,²⁵ used peptide-dialkyl derivatives forming tubes as templates for synthesizing silicate tubes. They showed that their tubes survived upon addition of ethanol until a given volume after what, the assemblages change to fibers and vesicles. Moreover, the diameter of the lipid tubes in some cases can be modified by the addition of ethanol, because it affects the hydration of layers and can alter the spacing and packing of the lipid head groups.

Then, we investigated the effect of ethanol on our fatty acid forming tubes. Various amount of ethanol were added to the stock solution, the volumes are given in table 2.1, together with a summary of the observations made by phase contrast microscopy which are commented here-after. At room temperature, all samples appear as turbid liquid solutions. Nevertheless, with the addition of ethanol, samples are more limpid than the stock solution. Upon increasing the temperature, tubes with a temperature-tunable diameter were still observed up to an ethanol concentration of 9 %. The temperature at which the tube diameter increases was 48 °C, the same temperature than for the stock solution. Fatty acids tubes melted at 70 °C. From 9 % to 16 % of ethanol concentration, we observed tubes but their diameter did not vary with the temperature. Moreover, those microtubes melted at 50 °C.

Volume fraction of ethanol (%)	Self-assembled structures
4.7	Lipid tubes with a temperature-tunable diameter
9	Rods
16	Rods
23	Mixture of rods, filaments, and coil filaments
29	Mixture of rods and filaments
33	Filaments and crystallized fatty acids
37.5	Filaments and crystallized fatty acids
41	Fibers and crystallized lipids
44	Limpid solution

TABLE 2.1 – Self-assembled structures of the lipid in ethanol/water mixtures.

From an ethanol concentration of 23 %, we still observed rods but also curved filaments having a much higher length (Figure 2.3 D). In some cases, those filaments exhibited a coil structure. Interestingly, similar textures have been reported in gemini surfactant dispersions using nucleotides². Moreover, for similar ethanol concentrations, Ji *et al.*,²⁵ reported the formation of fibers. Interestingly, the 12-hydroxy stearic acid is also known to form fibers in organic solvents^{26, 27}. For an ethanol concentration of 33 %, rods were no longer observed in our case but filaments together with crystals which appeared as bright lumps (Figure 2.3 E). When the ethanol volume fraction was increased to more than 44 %, the solution became completely limpid suggesting that all fatty acids were fully dispersed as monomers or micelles.

Then, our fatty acid tubes can survive until a given volume of ethanol. For low amount, we can expect that the ethanol molecules penetrate into the fatty acid bilayers²⁴. Ethanol can

also play a role as cosurfactant by stabilizing the hydrogen bond network at the surface of the bilayer. This feature has been suggested in fatty acid mixtures with longer chain alcohols as nonanol¹³. For higher ethanol concentrations, the bilayer is first probably destabilized forming filaments, the exact structure of which remains to be determined after what the fatty acids are solubilized.

2.4.5 Addition of NaCl

To characterize the effect of ionic strength on the lipid tubes formation (stability), we added various volumes of NaCl (1 M). At room temperature, all samples up to a NaCl concentration of 60 mM appear as turbid liquid solutions as the stock solution. From 70 mM of NaCl a precipitate formed in the solution. The amount of precipitated material increased with that of NaCl. We confirmed the presence of fatty acid crystals by phase contrast microscopy (not shown). Similar observations have been reported by Visscher *et al.*²⁸, except that they started from vesicles. The formation of a precipitate at high ionic strength in their bola form mixtures was attributed to the reduction of the electrostatic headgroup repulsion. This argument may also hold in our case since the surface of the bilayers is negatively charged, mostly composed of carboxylate groups interacting with their counter-ions. Moreover, the sodium may come in competition with the ethanolamine at the bilayer-water interface and it is known that the sodium salt of 12-hydroxy stearic is not soluble, forming crystals in water.

The enthalpograms of these systems up to 60 mM NaCl (Figure 2.6) show a similar complex endothermic behavior as that obtained for the stock solution. We observed a shift of the first sharp peak corresponding to the gel-to-fluid transition towards high temperatures. This peak at 45.6 °C for the stock solution shifts upon increasing the ionic strength to a value of 56.4 °C for a concentration of NaCl of 60 mM (Figure 2.6 H). Moreover, the enthalpy of the second peak is also modified with the addition of NaCl. This suggests that the melting of the fatty acids can be modified by the addition of NaCl. This is also because the sodium enters into competition with the ethanolamine, and it is known that the melting temperature of fatty acids depends on the nature of the counter-ion. Once again, the value reaches that of the pure fatty acid with its protonated carboxylic group, as previously observed upon decreasing the pH with HCl. Samples were observed as a function of the temperature by phase contrast microscopy. Up to a concentration of 60 mM of NaCl, tubes with temperature-tunable diameter were observed. The temperature at which the tube diameter starts to increase was around 50 °C for all samples. That temperature is slightly higher than that for the stock solution but remains lower than the gel-to-fluid phase transition as determined by DSC. This is in contradiction with our previous observations which suggested that the increase of the tube diameter started at the phase transition.

2.4.6 Doping with other lipids

Various lipids were added to the stock solution with the aim of studying the influence of non-hydroxyl lipids within the 'core' of the 12 hydroxy stearic acid bilayer on the formation of tubes. Doping may be of particular interest for drug delivery or other applications but in some cases, the addition of 'foreign' molecules may destabilize the initial supramolecular architecture. We have previously shown that the ethanolamine salt of various non hydroxyl

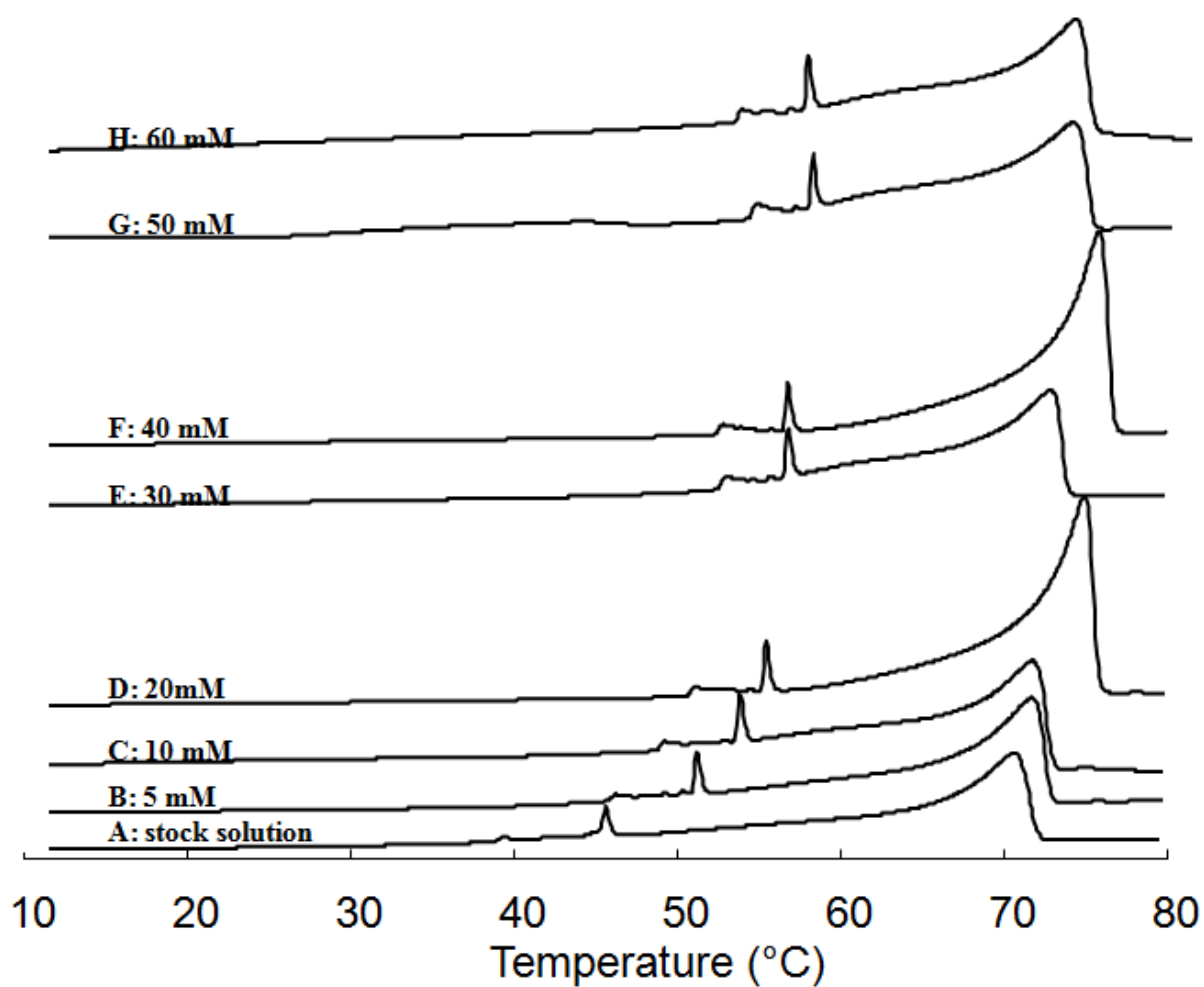


FIGURE 2.6 – Enthalpogram of a 1 % aqueous dispersion of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt upon addition of NaCl. The NaCl concentration is given in the figure.

fatty acids form membranes¹⁸. As in the case of our tubes, those membranes exhibit a phase transition, being in a gel phase at low temperature and in a fluid state at higher. However, those membranes crystallize upon ageing when kept at room temperature.

Then, we prepared a fresh dispersion of the ethanolamine salt of palmitic acid and prior its crystallization occurs, we added a desired volume of that solution to our tubes. Up to a concentration of 30 % palmitic acid *v.s.* the 12-hydroxy stearic acid, the dispersions appeared turbid as for the stock solution of tubes and were isotropic at 80 °C. Phase contrast microscopy showed the presence of tubes at room temperature but no membranes suggesting that the experimental procedure yielded a 'correct' mixing of both fatty acids. Indeed, we can reasonably expect that upon heating the mixture to the isotropic phase, both fatty acids are well mixed together within the solution and do not remain un-mixed forming their own separated supramolecular structures. From 43 % to 50 % palmitic acid, a white gel formed. The enthalpograms of those systems from 0 % to 50 % palmitic acid showed a similar behavior as that observed for the stock solution (Figure 2.7). The enthalpy of the first peak slightly decreased with the increase of the amount of palmitic acid, the transition temperature remaining the same at 45.6 °C. However, the second peak presents a shift towards lower temperatures accompanied by a decrease of its enthalpy. Tubes with a tunable diameter were observed up to a concentration of 30 % palmitic acid and for higher concentration, tubes coexisted with fatty acid crystals, the relative amount of which increased with that of the non-hydroxyl fatty acid. At 50 % palmitic acid, tubes were no longer observed but only crystals. The melting of the tubes appeared at lower temperature upon increasing the amount of palmitic acid, in agreement with the DSC experiments.

We prepared a sample using deuterated palmitic acid at 30 % allowing us to perform a deuterium solid state NMR experiment. This technique is powerful for determining the lipid phase behavior²⁹ and has been employed successfully with this aim in the case of other deuterated fatty acids systems^{17, 18, 30, 31}. In the present case of tubes doped with deuterated palmitic acid, the NMR spectrum consisted of a single isotropic line (not shown). This is rather surprising since the pure ethanolamine salt of palmitic acid in water showed a wide powder spectrum consistent with the formation of membranes¹⁸. Even if palmitic acid was not embedded within the 12-hydroxy fatty acid bilayer, but would remain as separated membranes, it should yield a large powder spectrum. The occurrence of an isotropic line signifies that palmitic acid undergoes fast isotropic motions as in the case of fatty acids embedded in micelles¹⁷. It is known that the tubes are not constituted by concentric bilayers but rather by ribbons which rolled up to form the tubes⁸. This is clearly evidenced by transmission electron microscopy as a helical marking because the connection of the ribbons represent defects in which the contrasting agent accumulates. Then, we propose that the 12-hydroxy stearic acid form the bilayer ribbons of the tubes and that palmitic acid lies at the edges of the ribbons as defects. In that case, the palmitic acid would form a half micelle for closing the 12-hydroxy stearic acid bilayer at the ribbons edges. Such a feature is known to occur in catanionic systems³² or in bicelles³³. Such an arrangement of the palmitic acid would explain the isotropic line as observed by NMR since they would exhibit fast motions and an isotropic angle distribution in 'half' the micelle.

We also used the ethanolamine salt of stearic acid as the doping agent. At room temperature, that solution was turbid and behave in a similar fashion that the palmitic acid salt

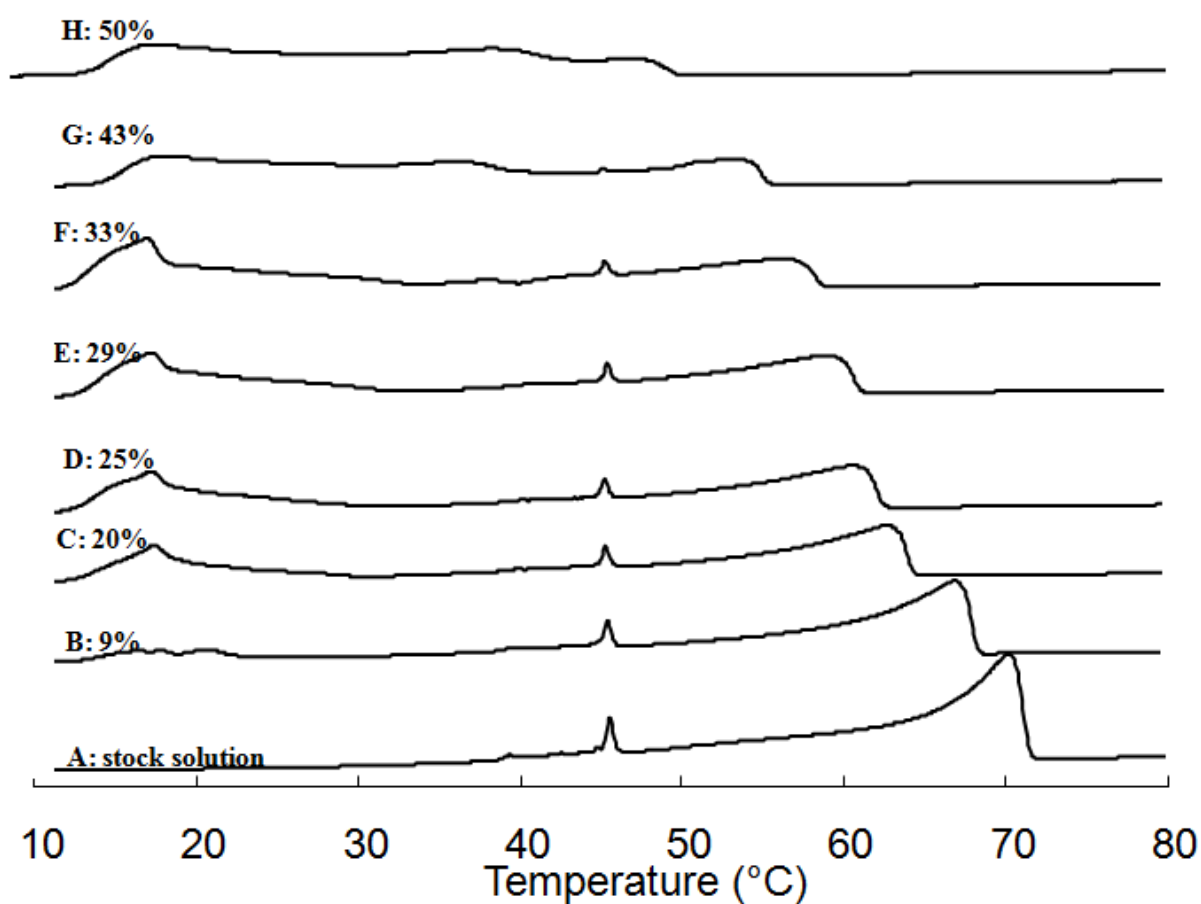


FIGURE 2.7 – Enthalpogram of a 1 % aqueous dispersion of 12-hydroxy-stearic acid ethanolamine salt upon addition of a 1 % aqueous dispersion of palmitic acid ethanolamine salt. The palmitic acid volume is given in the figure.

except that the phase transition occurred at 57 °C (not shown). When mixed with the tubes, we observed a very similar behavior as that with the palmitic acid. However, at 50 % stearic acid, phase contrast microscopy depicted the presence of ribbons partially rolled up at room temperature (Figure 2.3 F). As mentioned above, those assemblies are often encountered in lipid forming tubes representing a preliminary step prior the formation of tubes⁸.

Mixing fatty acids with the corresponding fatty alcohol has been shown to be of particular interest since the presence of the alcohol contributes to the hydrogen bond network at the surface of the bilayer¹³. Then, we doped our 12-hydroxy stearic acid tubes with the analog alcohol, *i.e.*, the 12-hydroxy stearyl. By phase-contrast microscopy, for all samples we observed rods, the length of which was slightly lower than those obtained with the stock solution (not shown). However, the diameter of the tubes did not vary with the temperature and DSC returned a single endothermic peak at 78 °C (not shown). Then, the presence of this alcohol suppresses the gel-to-fluid phase transition. Such a phenomenon is well known to occur in phospholipid dispersions upon addition of cholesterol³⁴. Besides, we also doped our tubes with a phospholipid bearing two alkyl chains, dimyristoyl phosphatidyl choline (DMPC). That pure phospholipid forms vesicles in water but only tubes were observed when mixed with the ethanolamine salt of 12-hydroxy stearic acid. As mentioned above for palmitic acid, this signifies that the phospholipids were well mixed within the fatty acid bilayers. Up to a concentration of 30 % DMPC, the diameter of the tubes varied with the temperature. Interestingly, we were able to incorporate up to 3 times the amount of DMPC in our tubes. However, for such high concentrations, the diameter no longer varied. For higher amounts of DMPC, tubes no longer formed but we were not able to identify the formation of vesicles as could be expected. Additional experiments such as transmission electron microscopy are necessary to determine the supramolecular architecture in such mixtures but this is beyond the scope of the present paper.

2.5 Conclusion

Tubes with temperature-tunable diameter can be formed in various experimental conditions. The overall results are summarized in Figure 2.8. Briefly, the formation of tubes is not so sensitive. They can survive to small amounts of salts, ethanol, NaOH and HCl. Interestingly, they can be doped in a rather large excess since they also survive upon addition of more than 30 % of another lipid such as saturated fatty acids or a phospholipid. Finally, variation of the molar ratio showed that the formation of temperature-tunable tubes occurs not only for the neutralized fatty acid salt. Altogether, those results are interesting and show that the tubes made of 12-hydroxy stearic acid with ethanolamine as the counter-ion could be used for various applications such as drug delivery or as templates for the synthesis of, for instance, silica tubes with a tunable diameter.

Author contributions

A.L FAMEAU designed research, performed research, analyzed data and contributed to write the paper.

CHAPITRE 2. 12-HYDROXY STEARIC ACID LIPID TUBES UNDER VARIOUS EXPERIMENTAL CONDITIONS

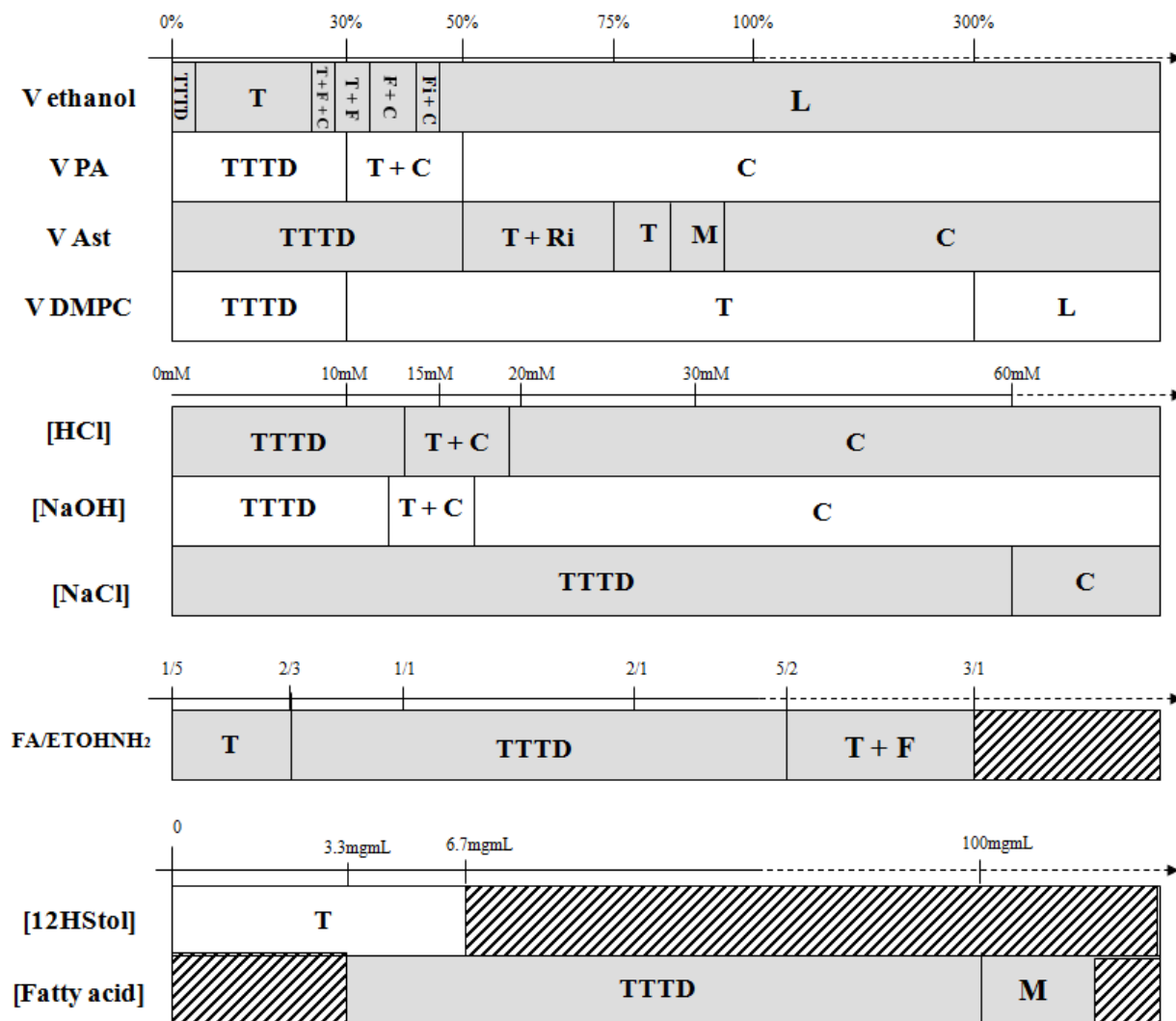


FIGURE 2.8 – Summary of the results depicting the variation of various physico-chemical parameters on the self assembly of tubes. TTTD : temperature tunable diameter tubes. T : tubes with constant diameter. C : fatty acid crystals. F : filament. Fi : fiber. M : membrane. L : lipid. Ri : ribbon. Atching zones correspond to domains which were not investigated.

2.6 Supplementary information

2.6.1 SI1 DSC data

The enthalpy is given in millicalorie knowing that 1.53 mL of fatty acid dispersion at a concentration of 10 mg/mL are poured in the DSC cell.

Concentration (mM)	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
0	45.6	5.2	70.6	170.3
3.3	45.8	5.2	73.2	235.9
6.6	45.5	5.1	74.1	273.1
13.3	45.7	4.1	74.3	249.5 (saturation)

TABLE 2.2 – Effect of HCl.

Concentration (mM)	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
0	45.6	5.2	70.6	170.3
3.3	50.4	4.8	69.4	133.8
8	54	4.9	63.1	40.5
12	54.8	5.2	61.9	13.2
19.6	43.2	248.9		

TABLE 2.3 – Effect of NaOH.

Concentration (mg/mL)	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
3.3	45.3	1.7	74.4	74.2
5	44.9	1.9	74.1	84.8
7.5	45.1	4.4	73.4	106.9
10	45.6	5.2	70.6	170.3
20	46.3	9.8	68.0	230.5
30	46.6	14.3	66.7	275.6

TABLE 2.4 – Effect of the fatty acid concentration.

CHAPITRE 2. 12-HYDROXY STEARIC ACID LIPID TUBES UNDER VARIOUS EXPERIMENTAL CONDITIONS

Ratio	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
3/1	46.1	1.8	72.1	283.7 (saturation)
5/2	46.6	3.7	74.4	210.6 (saturation)
2/1	45.8	8	75.8	190 (saturation)
1/1	45.6	5.2	70.6	170.3
4/5	46	4.5	64.8	116.4
2/3	46	4.3	53.2	36.2
1/2	45.1	55.2		
1/3	35.7	257.8		
1/4	35	248.6		
1/5	34.9	236.7		

TABLE 2.5 – Effect of the fatty acid/ethanolamine molar ratio.

Concentration (mM)	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
0	45.6	5.2	70.6	170.3
5	51.2	5.4	71.7	184.7
10	53.8	5	71.7	184.2
20	55.4	5.6	74.9	267.5
30	56.8	4.4	72.9	163.1
40	56.8	5.4	75.8	265.6
50	57.6	4.3	73.6	168.8
60	56.4	4.5	72.8	180.9

TABLE 2.6 – Effect of NaCl.

Volume (%)	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak
0	45.6	5.2	70.6	170.3
9	45.5	5.2	66.8	119.6
20	45.3	5.2	62.7	100
25	45.2	5.1	60.6	81.6
29	45.3	2.6	58.9	73.4
33	45.3	2.3	56.3	46
43	45.2	0.9	53.3	19

TABLE 2.7 – Doping with palmitic acid.

2.6.2 SI1 pH data

HCl concentration (mM)	pH
0	9.8
3.3	9.8
6.6	9.7
13.3	8.8
19.6	8.2

TABLE 2.8 – pH data (HCl).

NaOH concentration (mM)	pH
0	9.8
3.3	10.2
8	10.4
12	10.6
19.6	10.7

TABLE 2.9 – pH data (NaOH)

Bibliographie

- [1] D. Berthier, T. Buffeteau, J.M. Léger, R. Oda, and I. Huc. From chiral counterions to twisted membranes. *Journal of american chemical society*, 124 :13486–13494, 2002.
- [2] R. Oda, I. Huc, and S.J. Candau. Gemini surfactants as new, low molecular weight gelators of organic solvents and water. *Angewandte chemie international edition*, 37(19) :2689–2691, 1998.
- [3] R. Oda, I. Huc, M. Schmutz, S.J. Candau, and F.C. MacKintosh. Tuning bilayer twist using chiral counterions. *Nature*, 399(6736) :566–569, 1999.
- [4] J.V. Selinger, M.S. Spector, and J.M. Schnur. Theory of self assembled tubules and helical ribbons. *Journal of physical Chemistry*, 105(30) :7157–7169, 2001.
- [5] A. H. Fuhrhop and T. Y. Wang. Bolaamphiphiles. *Chemical Reviews*, 104(6) :2901–2937, 2004.
- [6] M. S. Spector, J. V. Selinger, A. Singh, J. M. Rodriguez, R. R. Price, and J. M. Schnur. Controlling the morphology of chiral lipid tubules. *Langmuir*, 14(13) :3493–3500, 1998.
- [7] M. Blanzat, S. Massip, V. Speziale, E. Perez, and I. Rico-Lattes. First example of helices and tubules in aqueous solution of a new fluorescent cationic sugar surfactant. *Langmuir*, 17(11) :3512–3514, 2001.
- [8] T. Shimizu, M. Masuda, and H. Minamikawa. Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chemical Review*, 105(4) :1401–1443, 2005.
- [9] A. Meister and A. Blume. Self-assembly of bipolar amphiphiles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12(3) :138–147, 2007.
- [10] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [11] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [12] D. P. Cistola, D. Atkinson, J. A. Hamilton, and D. M. Small. Phase-behavior and bilayer properties of fatty-acids - hydrated 1-1 acid soaps. *Biochemistry*, 25(10) :2804–2812, 1986.
- [13] C.L. Apel, D.W. Deamer, and M.N. Mautner. Self-assembled vesicles of monocarboxylic acids and alcohols : conditions for stability and for the encapsulation of biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1559(1) :1–9, 2002.
- [14] K. Morigaki and P. Walde. Giant vesicle formation from oleic acid/sodium oleate on glass surfaces induced by adsorbed hydrocarbon molecules. *Langmuir*, 18 :10509–11, 2002.

-
- [15] K. Fontell and L. Mandell. Phase-equilibria and phase-structure in the ternary-systems sodium or potassium octanoate octanoic-acid water. *Colloid and Polymer Science*, 271(10) :974–991, 1993.
- [16] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.
- [17] J. P. Douliez, L. Navailles, and F. Nallet. Self-assembly of fatty acid-alkylboladiamine salts. *Langmuir*, 22(2) :622–627, 2006.
- [18] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [19] W.R. Hargreaves and D.W Deamer. Liposomes from ionic, single-chain amphiphiles. *Biochemistry*, 17 :3759–68, 1978.
- [20] R. Bordes, M. Vedrenne, Y. Coppel, S. Franceschi, E. Perez, and I. Rico-Lattes. Micelle-vesicle transition of fatty acid based ion-pair surfactants : Interfacial evidence and influence of the ammonium counterion structure. *Chemphyschem*, 8(13) :2013–2018, 2007.
- [21] J. Ouimet, S. Croft, C. Pare, J. Katsaras, and M. Lafleur. Modulation of the polymorphism of the palmitic acid/cholesterol system by the ph. *Langmuir*, 19(4) :1089–1097, 2003.
- [22] C. Pare and M. Lafleur. Formation of liquid ordered lamellar phases in the palmitic acid/cholesterol system. *Langmuir*, 17(18) :5587–5594, 2001.
- [23] C. Gaillard, B. Novales, F. Jerome, and J. P. Douliez. Broad polymorphism of fatty acids with amino organosilane counterions, towards novel templates. *Chemistry of Materials*, 20(4) :1206–1208, 2008.
- [24] E. S. Rowe. Lipid chain-length and temperature-dependence of ethanol phosphatidylcholine interactions. *Biochemistry*, 22(14) :3299–3305, 1983.
- [25] Q. M. Ji, R. Iwaura, and T. Shimizu. Regulation of silica nanotube diameters : Sol-gel transcription using solvent-sensitive morphological change of peptidic lipid nanotubes as templates. *Chemistry of Materials*, 19(6) :1329–1334, 2007.
- [26] M. Burkhardt, S. Kinzel, and M. Gradzielski. Macroscopic properties and microstructure of hsa based organogels : Sensitivity to polar additives. *Journal of Colloid and Interface Science*, 331(2) :514–521, 2009.
- [27] P. Terech and R. G. Weiss. Low molecular mass gelators of organic liquids and the properties of their gels. *Chemical Review*, 97 :3133–3159, 1997.
- [28] I. Visscher and J. B. F. N. Engberts. Vesicles of mixtures of the bolaform amphiphile sodium di-n-decyl ,-eicosanyl bisphosphate and sodium di-n-decyl phosphate. *Langmuir*, 16(1) :52–58, 2000.
- [29] J. Davis. The description of membrane lipid conformation, order and dynamics by 2h-nmr. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 737(1) :117–171, 1983.
- [30] J.P. Douliez. Phase behavior of the palmitic acid/palmitin system. a 2h nmr study. *Langmuir*, 20 :1543–1550, 2004.
- [31] Q. M. Ji, R. Iwaura, and T. Shimizu. Regulation of silica nanotube diameters : Sol-gel transcription using solvent-sensitive morphological change of peptidic lipid nanotubes as templates. *Chemistry of Materials*, 19(6) :1329–1334, 2007.

- [32] T. Zemb, M. Dubois, B. Deme, and T. Gulik-Krzywicki. Self-assembly of flat nanodiscs in salt-free catanionic surfactant solutions. *Science*, 283(5403) :816–819, 1999.
- [33] A. Arnold, T. Labrot, R. Oda, and E.J. Dufourc. Cation modulation of bicelle size and magnetic alignment as revealed by solid-state nmr and electron microscopy. *Biophysical Journal*, 83(5) :2667–2680, 2002.
- [34] M. R. Vist and J. H. Davis. Phase equilibria of cholesterol/dipalmitoylphosphatidylcholine mixtures : 2h nuclear magnetic resonance and differential scanning calorimetry. *Biochemistry*, 29(2) :451–464, 1990.

CHAPITRE III

Dans le chapitre précédent, nous avons émis l'hypothèse que, pour des tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion, l'augmentation du diamètre des tubes est reliée avec la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches d'acides gras. Pour vérifier cette hypothèse et obtenir des informations complémentaires sur l'augmentation du diamètre des tubes en fonction de la température, la deuxième partie de nos travaux a été consacrée à la compréhension de ce phénomène. Il est en effet indispensable de connaître précisément l'évolution de la structure de l'assemblage en solution en fonction de la température pour pouvoir ensuite caractériser ses propriétés interfaciales sous l'action de cette contrainte externe.

Des études préliminaires ont montré que suivant la nature du contre-ion, il était possible de modifier la température pour laquelle le diamètre des tubes augmente (cf. Chapitre 1). Dans le but de réaliser une étude exhaustive, des contre-ions différant par la longueur de leurs chaînes carbonées et par la position du groupement amine ou hydroxyle ont été utilisés pour produire des tubes multilamellaires ayant potentiellement des propriétés différentes vis-à-vis de la température. Ainsi, pour tenter de comprendre ce phénomène, une étude multi-échelles couplant la microscopie optique, l'analyse thermique différentielle et la diffusion de neutrons aux petits angles a été réalisée sur ces différents systèmes.

Dans un premier temps, nous avons montré que des tubes à diamètre variable sont obtenus pour une large gamme de contre-ions. De plus, la température à laquelle le diamètre des tubes commence à augmenter ainsi que la température de fusion des tubes sous forme de micelles varient en fonction du contre-ion utilisé.

Dans un second temps, nous avons établi que l'augmentation du diamètre des tubes en solution n'était ni reliée à la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches, ni à la variation de l'espace interlamellaire. Par contre, la dynamique des bicouches est fortement modifiée à la température pour laquelle le diamètre des tubes augmente.

Chapitre 3

Multi-scale structural characterizations of fatty acid multilayered tubes with a temperature-tunable diameter.

Anne-Laure Fameau ^{1,2}, Fabrice Cousin ², Laurence Navailles ³, Frédéric Nallet ³, François Boué ² and Jean-Paul Douliez ¹

- 1) Biopolymères Interactions Assemblages Inra, rue de la Géraudière, 44316 Nantes, France.
- 2) Laboratoire Léon-Brillouin, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, France.
- 3) Université de Bordeaux, centre de recherche Paul-Pascal - CNRS, 115 avenue du Docteur-Schweitzer, 33600 Pessac, France.

Submitted to Journal of Physical Chemistry B

3.1 Abstract

It is known that 12-hydroxystearic acid coupled *via* ion-pairing with a counter-ion such as ethanolamine self-assembles into supramolecular multilayer tubes which exhibit a peculiar temperature tunable diameter variation. At a given temperature threshold ($T_{\odot\uparrow}$), there is a large increase of the tube diameter by almost one decade. We investigate here the nature of the counter-ion on the self assembly of such tubes and the variation of their diameter with the temperature. Height counter-ions are used to produce tubes *via* ion-pairing with 12-hydroxystearic acid. We systematically measure structural parameters at different scales coupling phase contrast microscopy and small-angle neutron scattering (SANS), in combination with thermodynamic studies using differential scanning calorimetry (DSC). The temperature ($T_{\odot\uparrow}$) is found to depend sensitively on the nature of the counter-ion. One could not identify any DSC peak associated to the diameter variation. However, a detailed line-shape analysis of the SANS spectra reveals that a significant softening of the elastic properties of the multilayer tube walls occurs at ($T_{\odot\uparrow}$), for all counter-ions investigated. Depending on both temperature and the nature of the counter-ion, the interlayer spacing in the multilayered structure (respectively, the bilayer thickness) varies in a range from 240 Å to 440 Å (resp. from 22 Å to 42 Å) but those variations appear not to be related to ($T_{\odot\uparrow}$). Altogether, our results show that the variation of the diameter is correlated to the nature of the counter-ion and to the elastic properties of the bilayer stack.

Keywords : Lipid tubes, SANS, hydroxy fatty acid, self-assembly, counter-ion.

3.2 Introduction

There is a growing interest for producing supramolecular assemblies with stimuli responsiveness to external environmental changes. This is mainly because of their potential use in biology and materials science^{1, 2}. Tubes are of particular interest because they are hollow structures which could be filled by drugs suggesting potential applications in the field of biology and drug delivery³. In the case of multilayered walls, the encapsulation of drugs between the bilayers should be possible as has been done for multilamellar vesicles^{4, 5}. Although they are opened structures, this could allow a slow delivery of the drugs. Tubes are also attractive for materials chemistry since they can be used as sacrificial templates for the synthesis of, for instance, silica tubes⁶. Control of length and diameter of tubes is important because those parameters can drive the release rate in controlled-release⁶⁻⁸ or the shape of the resulting materials.

There are a limited number of lipids known to self-assemble into tubular structures⁶. Generally, the tubes are made of bilayer ribbons which are rolled up^{6, 9}. The diameter of the tubes can be varied depending on the composition^{6, 10}. For instance, increasing the alkyl chain length in gemini surfactants has been shown to increase the diameter of the tubes¹¹. There exist various theoretical models which describe the formation of tubes¹². They are based upon the elastic properties of the surfactant bilayers in relation with the chirality of the system. Thus, they use as basic parameters the bilayer bending modulus, bilayer thickness and interlayer spacing^{12, 13}. Hence, it is of great importance to make a full structural characterization at all length scales to determine those parameters. However to date, there is not any model allowing the prediction of the tube diameter as a function of the composition, or explaining the variation of the tube diameter with temperature or even other parameters. Interestingly, we recently introduced a system which forms multilayer tubes with a temperature tunable diameter^{14, 15}. The tubes were made of the 2-amino-1-ethanol (ethanolamine) salt of 12-hydroxy-stearic acid and their outer tube diameter varies from 600 nm to about 5 microns upon heating¹⁵. The tube walls are made of concentric stacked bilayers of the fatty acid salt, each separated by a layer of water¹⁴ as illustrated Figure 3.1. We have previously suggested that the increase of the tube diameter could be correlated with the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition in the fatty acid bilayer¹⁶. We have also shown in preliminary experiments limited to optical microscopy observations that changing the nature of the counter-ion modifies the temperature at which the tube diameter starts to increase (T_{\uparrow})¹⁵. However, despite our various investigations on this system, we still have no explanations for understanding why the tube diameter varies with temperature.

Based upon our previous results, it became obvious to study a larger panel of systems forming tubes potentially having a different behavior as a function of the temperature in order to elucidate this phenomenon. We chose to vary the nature of the counter-ion using a series of hydroxylalkylamine as depicted in Figure 3.1. We varied the counter-ion alkyl chain length and the position of the amino or hydroxyl groups, expecting to change T_{\uparrow} . We first investigate those systems by phase contrast microscopy allowing us to determine the temperature, T_{\uparrow} , at which the tube diameter starts to increase. Next, we perform DSC experiments to check if the variation of the tube diameter is correlated with the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition. Further SANS data yield the bilayer thickness and the interlayer

spacing as a function of the temperature. The coupling of these techniques allows us to probe the systems at different length scales and is reported hereafter separately.

3.3 Materials and methods

3.3.1 Stock Solution Preparation

12-hydroxy stearic acid (Sigma-Aldrich, 99 % purity) was weighed accurately in a sample tube into which ultra pure water was added to reach a concentration of 10 mg/mL (1 %). Then, we incorporated the desired volume of a 1 M stock solution of the counter-ion to reach equivalence (12-hydroxy stearic acid/counter-ion molar ratio $R=1/1$). The mixture was heated at 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. Prior to use, each sample was heated at 80 °C for 15 min and cooled at room temperature. A given enthalpogram is an average on 3 temperature cycles. Its reproducibility has been checked at least on three samples.

3.3.2 Phase Contrast Microscopy

Phase-contrast microscopy was used to investigate the variation of the tube diameter as a function of temperature (from 20 °C to 80 °C). Microscopy observations were carried out at 20x magnification using an optical microscope in the phase-contrast mode (Nikon Eclipse E-400, Tokyo, Japan) equipped with a 3-CCD JVC camera allowing digital images (768x512 pixels) to be collected. A drop of the lipid dispersion (about 20 μ L) was deposited on the glass-slide surface (76x26x1.1 mm, RS France) and covered with a cover slide (22x22 mm, Menzel-Glaser, Germany). The glass slides were previously cleaned with ethanol and acetone.

3.3.3 Differential Scanning Calorimetry

We employed differential scanning calorimetry (DSC) to characterize the lipid-phase transition. Experiments were performed on a microcalorimeter from MicroCal Incorporated (USA). An amount of 1.5 mL of the lipid solution was injected into the sample cell with a syringe. The reference cell contained 1.5 mL of ultra pure water. The sample was scanned between 8 °C and 80 °C at 1 °C / min.

3.3.4 Small-angle neutron scattering

Small-angle neutron scattering (SANS) experiments were performed at Laboratoire Léon-Brillouin (Saclay, France) on spectrometers PAXY and PAXE. For both spectrometers, we use two configurations to get a Q-range lying between 0.005 \AA^{-1} and 0.4 \AA^{-1} (respectively 4 \AA at 1.4 m and 8 \AA at 6.7 m on PAXY and 4 \AA at 1.4 m and 12 \AA at 4 m on PAXE). The neutron beam was collimated by appropriately chosen neutron guides and circular apertures, with a beam diameter at the sample position of 7.6 mm. The neutron wavelength was set to the desired value with a mechanical velocity selector ($\Delta\lambda/\lambda \approx 0.1$). The samples, prepared with deuterated water, were held in flat quartz cells (Hellma) with a 2 mm optical path, and temperature-controlled by a circulating fluid to within ± 0.2 °C. All samples

were freshly made. The azimuthally-averaged spectra were corrected for solvent, cell and incoherent scattering, as well as for background noise. The general theory for fitting the SANS data can be found in the literature¹⁷ and our present data were fitted with models which were previously described for other fatty acid systems^{14, 18, 19}.

3.4 Results and discussion

3.4.1 Phase contrast microscopy experiments

Our previous experiments yielding tubes having a temperature tunable diameter were done with the 1-amino-2-ethanol (ethanolamine) salt of 12 hydroxy stearic acid in water. For the sake of clarity, this counter-ion is called here C2 because it has two carbons between the α - NH₂ group and the terminal ω - OH group. The alkyl chain length of the counter-ion was progressively increased up to 6 carbons (C6), increasing its hydrophobicity (see Figure 3.1). Those mixtures of fatty acids with hydroxylalkylamine are denoted in the rest of the article with the abbreviation of the hydroxylalkylamine, *i.e.*, C2 to C6. Next, we also used hydroxylalkylamines which differed by the number and/or the position of the hydroxyl and the amine groups (see Figure 3.1). For instance, 2-amino-1-propanol (C3b) differs from C3 by the position of the hydroxyl group. The 3-amino-1.2-propanediol (C3c) has three carbons as C3, but has two hydroxyl groups. Finally, the 2-amino-1-butanol (C4b) has the same alkyl chain length as C4, but the amine group is on the second carbon.

At 20 °C, samples appear as turbid liquid solutions with the mixtures prepared with 12-hydroxy stearic acid and all the counter-ions depicted Figure 3.1. As viewed by phase contrast microscopy, tubes are formed in all cases. The phase contrast micrographs are similar to those previously observed¹⁴ and an example is depicted Figure 3.2 in the case of C3b. All counter-ions give stable tubes when kept at room temperature, except for C4b and C6 for which the solution became slightly viscous and clearer after about one day. Since the initial turbidity originates from the scattering of light by the tubes, this clarification points out a morphological change of the self-assembly. After an additional day, a translucent gel formed : the sample did not flow when the cell was turned upside down. This behavior has been previously observed for C6 and is associated with a transition from tubes to twisted ribbons²⁰. Thus, we can assume that the same phenomenon occurs with C4b. Interestingly, this behavior was not observed using C4, the hydroxyalkylamine bearing the same chain length but with the amine group at the terminal position (see Figure 3.1).

Upon heating, the tube diameter increased for all hydroxylalkylamines counter-ions (including C4b and C6), at a given threshold temperature. For the sake of clarity, we will further denote that temperature at which the diameter starts to increase as the threshold temperature, $T_{\odot\uparrow}$. Upon a further increase of the temperature, the diameter reached a value of about 5 μm after what it decreased at a temperature denoted $T_{\odot\downarrow}$. Interestingly, $T_{\odot\downarrow}$ is about $T_{\odot\uparrow} + 10$ °C (see Supplementary Information section, Table 3.2). Upon a further increase of temperature, tubes finally melted, producing an isotropic solution and tubes are no longer observed by phase contrast microscopy (Figure 3.2). The variation of the tube diameter with the temperature, an astonishing behavior, has already been observed for C2¹⁵.

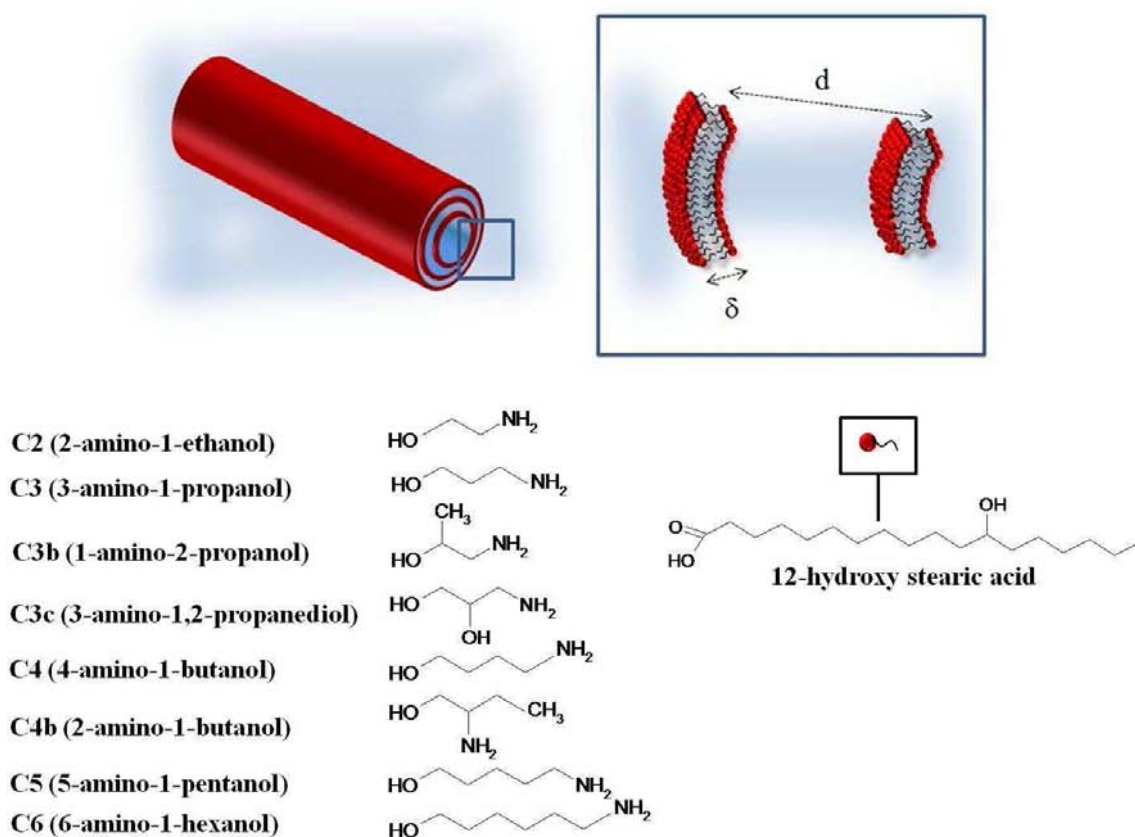


FIGURE 3.1 – Schematic representation of the multilayer tubes (d , interlayer spacing) (δ , bilayer thickness) and chemical structure of the 12-hydroxy stearic acid and hydroxylalkylamines used, 2-amino-1-ethanol (C2), 3-amino-1-propanol (C3), 1-amino-2-propanol (C3b), 3-amino-1,2-propanediol (C3c), 4-amino-1-butanol (C4), 2-amino-1-butanol (C4b), 5-amino-1-pentanol (C5) and 6-amino-1-hexanol (C6).

Here, we mainly focused on $T_{\phi\uparrow}$ to avoid any confusion.

$T_{\phi\uparrow}$ strongly depends on the nature of the counter-ion from C2 to C6. It decreases with the increase of the hydroxylalkylamine chain length from 48 °C for C2 to 30 °C for C6 (Figure 3.4). In the same way, the melting temperature of the tubes decreases with the increase of the chain length of the hydroxylalkylamine (see Supplementary Information section, Table 3.1). It decreases from 70 °C for C2 to 45 °C for C6. For the other counter-ions (C3b and C4b), the same behavior is observed (see Figure 3.4 and Table 3.1 in the supplementary information section).

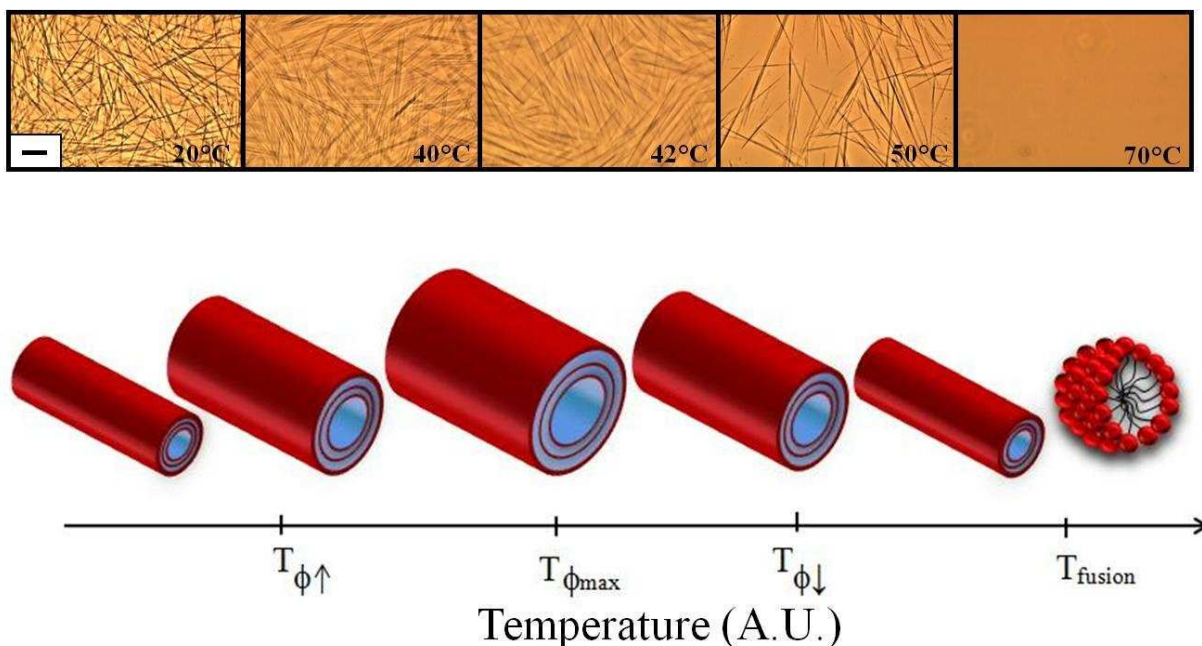


FIGURE 3.2 – Selected pictures of tube dispersions made of 1-amino-2-propanol (C3b) salt of 12 hydroxy stearic acid at 10 mg/mL as a function of the temperature. The scale bar represents 10 μm . The temperature at which the images were recorded is indicated in the figure. Similar pictures were recorded for other counter-ions. For the sake of clarity, a schematic representation of the variation of the tube diameter with the temperature is also shown.

3.4.2 DSC experiments

As recalled in the introduction section, we have shown in a previous work¹⁶, that for C2, the increase of the tube diameter is correlated with the gel (L_{β}) to fluid (L_{α}) transition (of the fatty acid bilayer) which was assigned to a sharp peak in DSC experiments. Then, we performed DSC experiments for all other counter-ions. The enthalpograms are shown in Figure 3.3 and the data for the transition temperatures and the enthalpies are given in the Supplementary Information section, Table 3.3. For comparison, we also included the data for C2 although they are already published¹⁶. In all cases, one observed a complex endothermic behavior. At high temperature (55 °C-75 °C), a broad peak is present in all enthalpograms. It was expected to stand for the melting of the tubes¹⁶. This is rather well correlated with the microscopy observations : the melting temperature of the tubes decreased

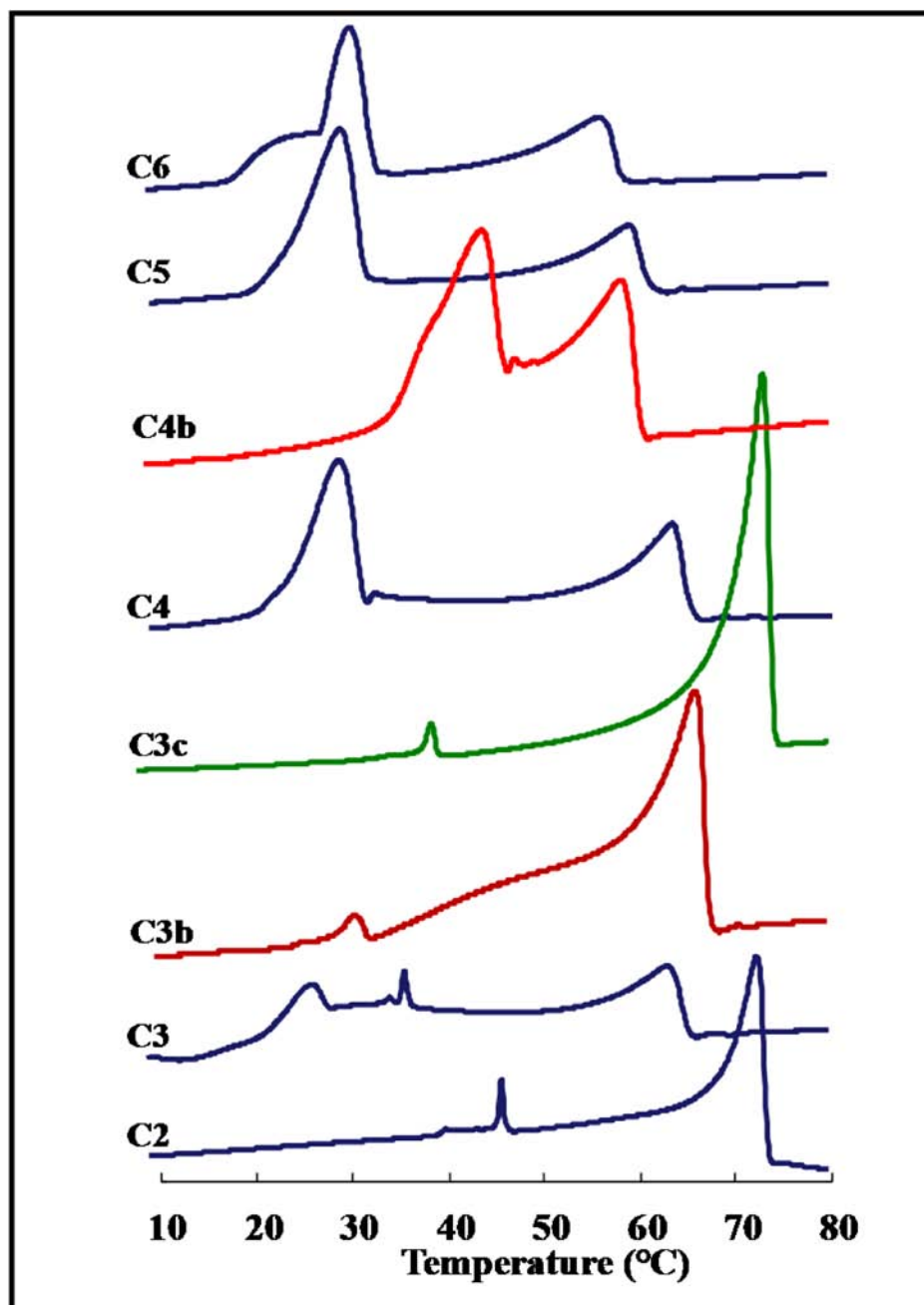


FIGURE 3.3 – Enthalpograms obtained for 1 % mixtures of tubes made of the various counter-ions (heating curves) ion-paired with 12 hydroxy stearic acid. The nature of the counter-ion is indicated on the left of each curve.

with the counter-ion alkyl chain length (see Figure 3.9 in the Supplementary Information section). Interestingly, that melting temperature can be markedly modified for a given chain length (see C3c *vs.* C3).

At lower temperature, the behavior differs from one counter-ion to another. For C2, C3 and C3c, we observed a sharp peak. For C3 and C3c, the two temperatures $T_{\odot\uparrow}$ (as determined by phase contrast microscopy) do not match with the temperature of this peak. Furthermore, for all other systems, that sharp peak was no longer observed. An additional broad peak was also observed for C3, C4, C5 and C6 and even for C4b. Here again, it cannot be assigned to any thermal event that would be observed by microscopy (Figure 3.4). This means that our initial expectation made for C2, associating the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition with the increase of the tube diameter, does not hold for all counter-ions. The absence of the sharp peak on several enthalpograms could also suggest the absence of a gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition for the corresponding systems. In order to check this feature, we performed SANS measurements, allowing determining in which phase the fatty acids are embedded by giving the bilayer thickness.

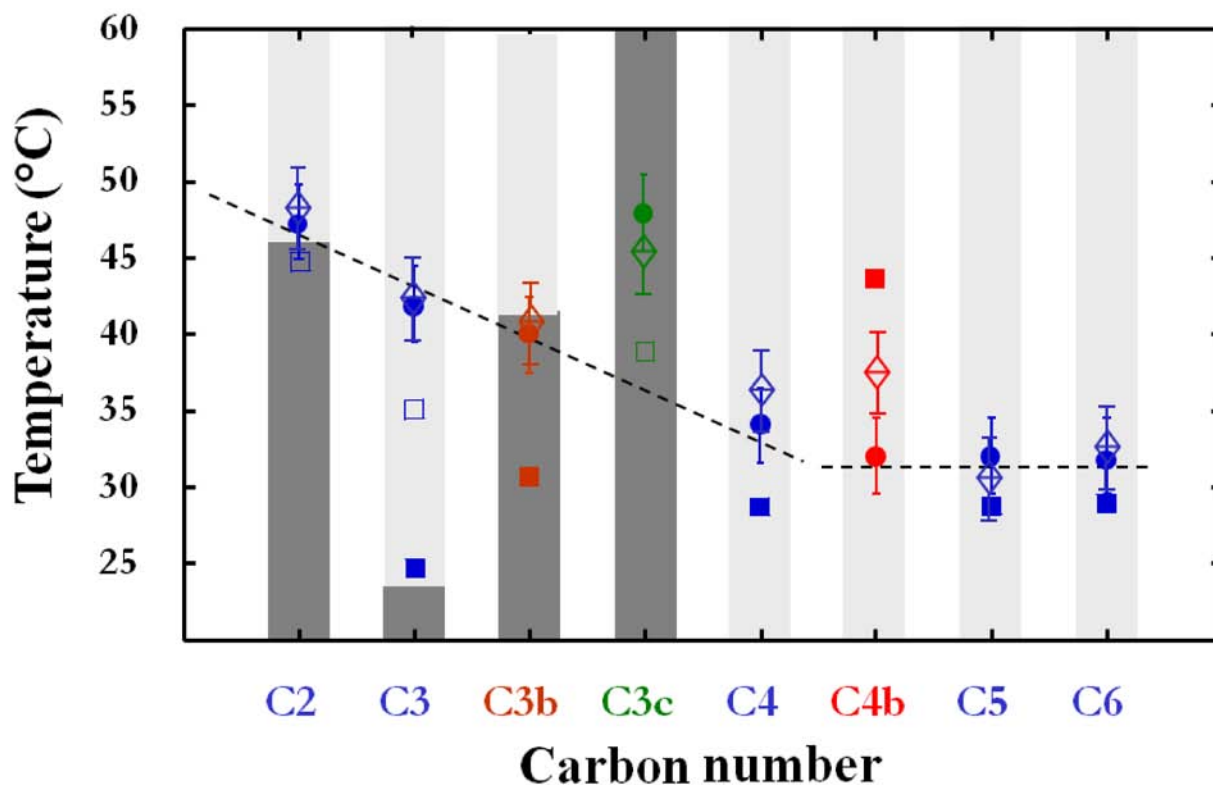


FIGURE 3.4 – Characteristic temperatures of the various thermal events recorded in this study as a function of the nature of the counter-ion. • : $T_{\odot\uparrow}$ as determined by phase contrast microscopy, ■ : temperature of the first broad peak determined by DSC (the errors bars are smaller than the symbols), □ : temperature of the sharp peak determined by DSC (the errors bars are smaller than the symbols), ◇ : T_{fl} : temperature at which the SANS Bragg peaks flattened. The grey area stand for the gel L_β (dark grey) to fluid L_α (clear grey) phase in which the 12 hydroxy stearic acid are embedded as determined from the change of the bilayer thickness measured by SANS (see text). The dotted line is drawn to guide the eye.

3.4.3 SANS experiments

The azimuthally-averaged scattering spectra for all counter-ions from 19 °C to 65 °C are represented in the Supporting Information section, Figure 3.7. Selected scattering spectra are given as a function of temperature in the case of C3b in Figure 3.5a. In the low-Q region, we observe two to three intense sharp peaks whose position can be readily identified, exactly in a ratio 1 : 2 : 3 ($Q_0, 2Q_0, 3Q_0$). This result is similar to that already observed at room temperature for C2¹⁴ and shows that tubes are formed by periodically stacked bilayers (see sketch Figure 3.1). Because the radius of curvature of the tube walls is always much larger than the spatial scale probed with neutron scattering, it is possible to describe the main features of the spectra in terms of a simple model of *planar* membranes being stacked with a period d . The scattering intensity, $I(Q)$, can be expressed as the product of three terms, namely, the form factor $P(Q)$ of a planar membrane of well-defined thickness δ , with the simple expression :

$$I(Q) = \frac{\sin^2(Q\delta/2)}{Q^2}$$

the structure factor $S(Q)$ of the 1D stack, and a Lorentz factor $1/Q^2$ accounting for the random orientation of the membranes in the scattering volume, that is to say :

$$I(Q) \approx \frac{P(Q)S(Q)}{Q^2}$$

Such a description readily yields the interlayer spacing, *i.e.*, the distance d as $2\pi/Q_0$, corresponding to one lipid bilayer plus one water layer in the stack of bilayers (see Figure 3.1). The data are displayed as a function of temperature and the nature of the counter ion Figure 3.6. The numerical values are also given in the Supplementary Information section, Table 3.4 and 3.5. For C2, C3b and C3c, the interlayer spacing first increases and then decreases upon heating. For C3, C4, C4b, C5 and C6, we observed that the interlayer spacing only decreases upon heating. The range of variations was similar whatever the counter-ion, from about 400 Å to 240 Å. Thus, it appears that the increase of the tube diameter triggered by temperature cannot arise from a simple increase of the interlayer spacing : the number of stacked bilayers or the diameter of the water core of the tubes also have to increase, separately or in combination, in order to compensate for the observed decrease in interlayer spacing.

At large Q , in the Porod regime, one probes the surface scattering of the objects and the scattering decays like Q^{-4} as the structure factor contribution having reached its asymptotic value 1, the intensity reduces to $I(Q) \approx P(Q)/Q^2$. In the so-called Porod representation, where Q^4 times the scattering intensity is displayed as a function of Q (see Figure 3.5 b and Supplementary Information section, Table 3.6 and 3.7), a main oscillation appears related to the form factor of the bilayer. A fit to this form factor main oscillation yields the value of the bilayer thickness δ as a function of temperature. The values are given in the Supplementary Information section and examples of fits are shown in Figure 3.5b. For C2, the bilayer thickness δ was about 40 Å \pm 1 at low temperature¹⁶ and then decreased to 23 Å \pm 1 above the phase transition of 45 °C that corresponds to the sharp peak observed by DSC as

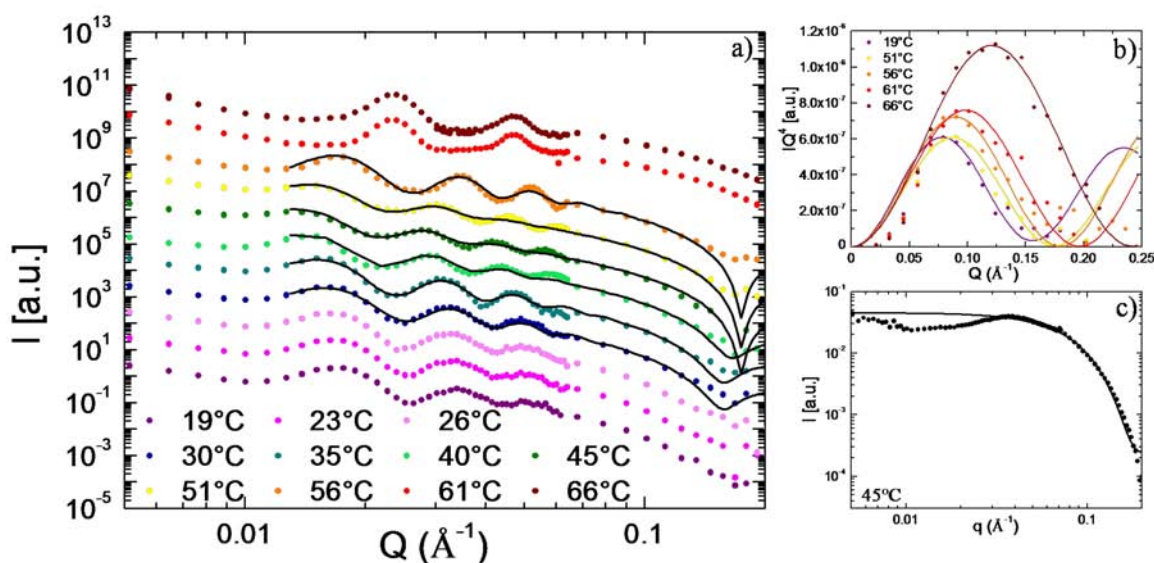


FIGURE 3.5 – (a) SANS intensity profile for 3-amino-1,2-propanediol (C3c) salt of 12-hydroxystearic acid as a function of the temperature. The data were arbitrary shifted in intensity for the sake of clarity. The lines correspond to the best fit of the data according to the model described in the text. (b) SANS intensity profile for 3-amino-1,2-propanediol (C3c) salt of 12-hydroxystearic acid as a function of the temperature displayed in the Porod representation. The lines correspond to the best fit of the data according to a previously published model¹⁹. (c) SANS intensity profile for 6-amino-1-hexanol (C6) salt of 12-hydroxystearic acid at 45.5 °C illustrating the formation of micelles at high temperature. The lines correspond to the best fit of the data according to the form factor of a sphere.

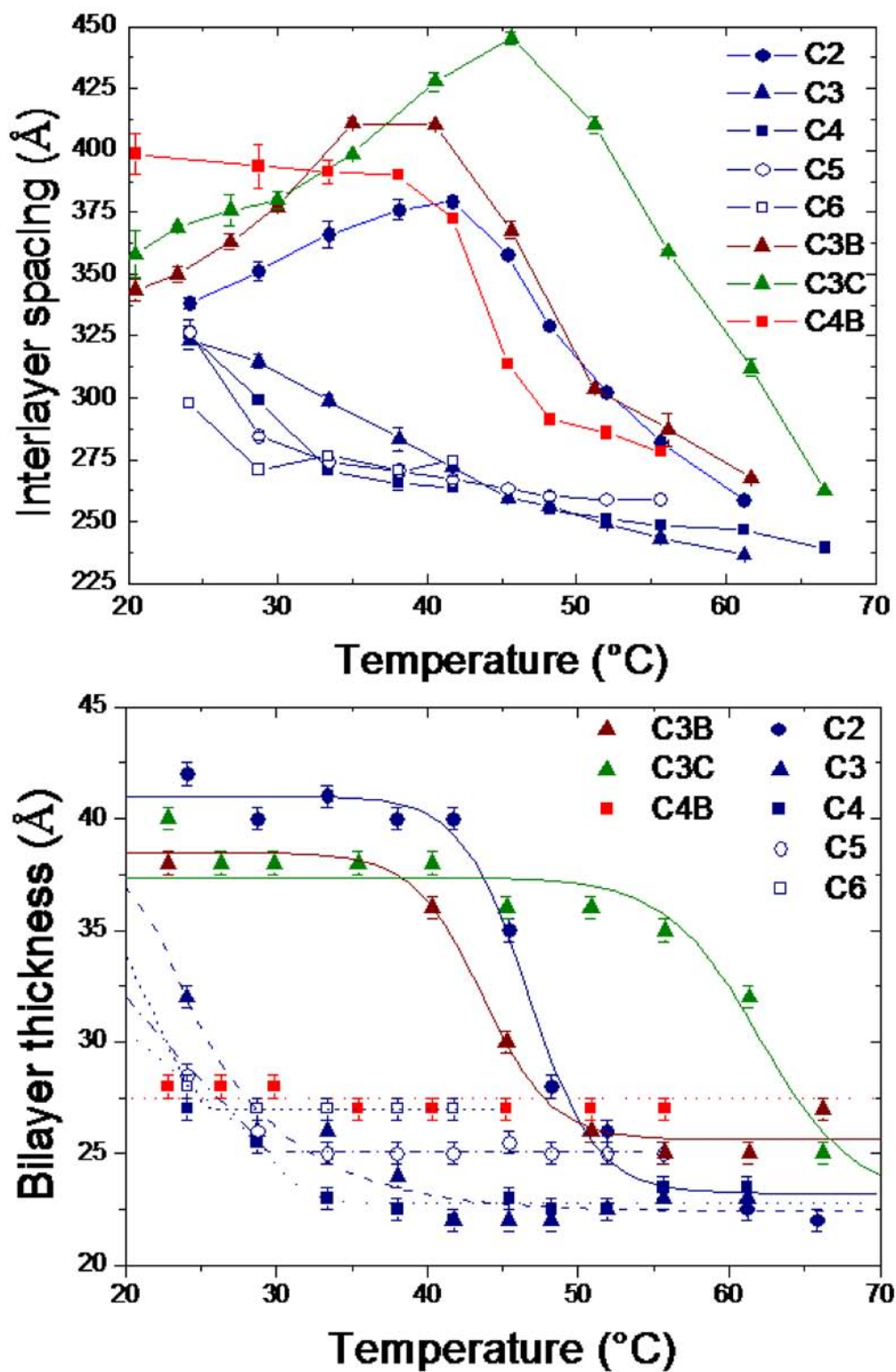


FIGURE 3.6 – Evolution of the interlayer spacing (top) and the bilayer thickness (bottom) as a function of the temperature. The colored solid lines are drawn to guide the eye.

commented before¹⁶. The value of $40 \text{ \AA} \pm 1$ at low temperature suggests that fatty acids are embedded in a gel bilayer phase (L_β) since it corresponds to twice the length of the fatty acid chain length (21 \AA)¹⁶. At higher temperature, the fatty acids are in a fluid phase (L_α), most probably with their alkyl chains interdigitated since the thickness is markedly lower than twice their extended conformation. For C3b and C3c, one observed a similar behavior, with different transition temperatures (Figure 3.6). For C3 however, there is not any longer a regime for which the thickness is of the order of 40 \AA at low temperatures. The thickness decreases from 32 \AA at $24 \text{ }^\circ\text{C}$ down to a minimum value close to that obtained for C2 at high temperature. This indicates that the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition occurs at a temperature below the lowest temperature investigated here. Therefore, the sharp peak observed by DSC for C3 at $35 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figure 3.4) does not correspond to that phase transition. For C4, C4b, C5 and C6, we observed that the bilayer thickness only slightly decreases from a given value which shows that for such systems, the fatty acids are already embedded in their fluid (L_α) bilayer phase at the lowest temperature investigated here. The bilayer thickness data were fitted with a sigmoid curve (a convenient but arbitrary choice) and the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition was then estimated at the inflection point. The resulting temperatures are reported in Figure 3.4, where it clearly appears that they are not correlated with $T_{\odot\uparrow}$. The origin of the increase of the tube diameter is thus not linked to the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition.

However, there is a striking feature in the SANS spectra, observed for all systems, it is that Bragg peaks flattened at a given temperature (see Figure 3.5 a and Figure 3.8 in the Supporting Information). However, below and above that temperature, the peaks remained relatively sharp. The temperature at which this flattening occurs is further denoted T_{fl} and was recorded and plotted as a function of the counter-ion in Figure 3.4. Interestingly, the flattening occurs at a temperature which matches exactly $T_{\odot\uparrow}$ for all counter-ions investigated ($T_{fl}=T_{\odot\uparrow}$). A flattening of the Bragg peaks reveals a decrease of order which may occur either because bilayers fluctuate with higher amplitude, or because the amount of stacked bilayers in the tube walls decreases.

In order to satisfactorily account for this feature, we employed a more sophisticated model for the structure factor in which both the number of stacked bilayers and the Caillé parameter (η) accounting for the thermal fluctuations of the bilayers²¹, were adjusted. The Caillé parameter is essentially determined from the Bragg peak region of the spectrum. For C2, C3, C3b, and C4 (see Figure 3.8 in the Supporting Information), the same trend occurs. For C3c (Figure 3.5 a), below T_{fl} , the fit yielded 4 for the number of stacked bilayers. The Caillé parameter (η) is 0.03 ± 0.005 . At T_{fl} , one obtains the same number of bilayers. However, η has increased more than a factor of two (η is 0.065 ± 0.005). Clearly, it provides that the elastic properties of the bilayer stack are strongly modified at that temperature, the stack becoming much softer. This may be due to a weakening of the interactions between adjacent bilayers, an increase of bilayer flexibility, or a combination of both. However, T_{fl} is not related to the gel (L_β) to fluid (L_α) phase transition for which the bilayer flexibility may increase²²⁻²⁶. Then, it is tempting to suggest that stack softening rather occurs because of a weakening of the interactions between adjacent bilayers. Surprisingly at $T > T_{fl}$, at the temperatures for which the tube diameter has decreased again

to its initial value, the data could only be well fitted with about 7 bilayers, a value significantly higher from the above-mentioned numbers. Such an increase of the numbers of layers would mean that additional bilayers self assemble within the tubes what seems inconsistent. However, because of mass conservation, such an increase of the number of layers would possibly results either from a decrease of the tube length or from a decrease of the quantity of tubes. The comparison of the pictures of Figures 3.2 taken respectively at 20 °C and 50 °C favors this last hypothesis because the number of tubes has largely decreased at 50 °C. At $T > T_{fl}$, the value of the caillé parameter (η) is around 0.02 ± 0.005 a value very close to that obtained at $T < T_{fl}$. The decrease of η would mean that the interactions between adjacent bilayers are now similar to those below T_{fl} . The same trend has been observed for the other counter-ions (see Supporting Information, Figure 3.8).

In the specific case of C6 at high temperature, the shape of the scattering spectrum was markedly different. The sharp peaks have disappeared, revealing a complete structural change of the self-assembly. At large Q , we can fit the data with the form factor of a sphere with a radius of about 23 Å, suggesting the formation of micelles at that temperature. We previously suggested such a feature because the samples become transparent at high temperature¹⁵. Since they are charged, micelles strongly repel over large distances, which gives rise to the broad correlation peak seen at around 0.04 \AA^{-1} in reciprocal space (Figure 3.5 c), corresponding in direct space to the average separation distance between micelles^{17, 19}. This behavior was not observed for all other systems, only because the melting temperature was in such cases higher than the maximal temperature we have presently investigated by SANS. Since all our dispersions become transparent at a given 'high' temperature (see the values for each counter-ion in the supporting information section, Table 3.1), we conclude that micelles are formed when tubes melt for all the counter-ions used here.

3.5 Discussion

Our results show that with all hydroxylalkylamine salts of 12-hydroxy-stearic acid used, we can produce multilayer tubes. All counter-ions give stable tubes when kept at room temperature with time, except for C4b and C6, which transit to twisted ribbons upon resting after an elapsed time of a few hours. Upon heating, all systems yield tubes with a temperature-tunable diameter. The nature of the counter-ion strongly modifies the temperature at which the tube diameter increases. Using DSC, we show here that this phenomenon is not correlated with a thermal event since no peak was observed at the corresponding temperature (Figure 3.3 and 3.4). Conversely, both the sharp peak in the case of C2, C3 and C3c and the first broad endothermic peak, which are observed from C3 to C6 and for C3b and C4b, cannot be attributed to any structural changes, neither at a local scale, as shown by SANS, nor at microscopic scales. In the literature, broad DSC peaks have also been recorded in related fatty acid systems and the authors suggested that those peaks resulted from a complex process that involves the neutralization of the carboxylic group²⁷. The same process may possibly occur here. It must be mentioned that fatty acids and the hydroxyl-alkylamine are respectively weak acid and base. Then, there is a coexistence of fatty acids under their carboxylic (COOH) and carboxylate (COO^- , ethanolamine salt) forms. Since the dissociation

constant changes with temperature, the COO^-/COOH ratio would change upon heating.

At contrast, the second high temperature broad peak is clearly well correlated with the melting of the tubes (see Supporting Information section, Figure 3.9). By phase contrast microscopy and DSC, we showed that the nature of the counter-ion strongly modifies the tube melting temperature : the higher the hydrophobicity, the lower the melting temperature. Increasing the hydrophobicity of the counter-ion is already known to affect the electrostatic interactions between the counter-ion and the amphiphile which in turn play a role in the melting of the lattice²⁸. This is in accordance with the formation of micelles above the melting temperature.

We expected that the increase of the tube diameter would arise from the swelling of the bilayers (increase of the interlayer spacing). By coupling microscopic observations and SANS data, we clearly see that the variation of the tube diameter cannot be correlated with structural parameters of the system such as the bilayer thickness or the interlayer spacing. We even show that the variation of the tube diameter may occur with bilayers embedded in their gel (L_β) or in their fluid (L_α) phase.

However, there is one feature that is very well correlated with the variation of the tube diameter with the temperature : the flattening of the Bragg peaks occurs at $T_{\odot\uparrow}$. Our fitting procedure using the Caillé parameter which accounts for the dynamics of the bilayer does nevertheless not allow a further understanding of the variation of the tube diameter. The flattening of the Bragg peaks is directly correlated to the increase of the tube diameter. A rigorous analysis of the lineshape clearly shows, at $T = T_{\odot\uparrow}$, an increase of the Caillé parameter (η) while the number of layers remains constant. This result clearly indicates that the elastic properties of the bilayer stack are strongly modified at that temperature, the stack becoming much softer.

3.6 Conclusions and perspectives

Although there still remain some points to clarify for a full understanding of the thermal behavior of the tubes, our results are of interest for both a fundamental and an application point of view. In particular, the possibility of tuning the state of the bilayer at room temperature by varying the nature of the counter-ion is of particular interest. The SANS data clearly show that for several hydroxylalkylamines (see Figure 3.4 and 3.6), the bilayer thickness is consistent with fatty acids embedded in a gel phase at room temperature. For others, the transition probably occurs at a lower temperature since the thickness is markedly reduced. This is of interest since the permeability of the bilayers strongly depends on its gel or fluid state²⁶. Moreover, the use of tubes having bilayers embedded in a gel state is probably more suitable for materials chemistry since the tubes are then more rigid³.

Another point of interest in such systems is that the interlayer spacing can be tuned by both the temperature and the nature of the counter-ion in a range varying from 240 Å to 450 Å. Such an interlayer spacing is rather large for a system made of ionic amphiphiles but

this should enable loading and release of drugs inside the multilayer structure as a function of the temperature⁶.

An additional interesting feature for various applications and for our understanding of the formation of tubes is that in our system, tubes melt into micelles at high temperature. Such a transition should help us in the future to determine the different kinetic pathways which occur for the self-assembly of tubes. In most other cases reported to date⁹, the bilayers of the tubes are in their gel (L_β) state and heating is accompanied by the transition to the fluid (L_α) state together with a structural change since vesicles are formed⁹. Then, our present system may be of interest for testing various models that have been described in the literature¹².

Altogether, our present findings show that the astonishing behavior that consists of the variation of the diameter of the tubes with the temperature cannot be explained with the usual variation of intrinsic parameters as the bilayer thickness. We believe that chirality might be involved in this phenomenon and we are further purifying both enantiomers of 12-hydroxy stearic acid to check whether this behavior still occurs when there are pure.

Author contributions

A.L FAMEAU designed research, performed research, analyzed data and contributed to write the paper.

3.7 Supplementary information

3.7.1 Phase contrast microscopy data

Counter-ion	Melting temperature (°C)
C2	70
C3	67
C3b	70
C3c	80
C4	65
C4b	61
C5	62
C6	45

TABLE 3.1 – Evolution of the tube melting temperature as determined by optical microscopy (disappearance of tubes), for all counter-ions.

Counter-ion	$T_{\varnothing\uparrow}$ (°C)	$T_{\varnothing\downarrow}$
C2	48	56
C3	42	52
C3b	40	50
C3c	48	58
C4	34	46
C4b	32	47
C5	32	39
C6	30	37

TABLE 3.2 – Temperature at which the tube diameter increases, $T_{\varnothing\uparrow}$, and further decreases, $T_{\varnothing\downarrow}$, as a function of the counter-ion. Those data were obtained by optical microscopy.

3.7.2 DSC data

Counter-ion	Temperature maximum first peak (°C)	Enthalpy first peak (kCal/mol)	Temperature maximum second peak (°C)	Enthalpy second peak (kCal/mol)
C2	45.6	0.11	70.6	3.47
C3	35.4 (broad peak at 25 °C)	52	63.9	1.05
C3b	30.7	0.1	65.8	3.1
C3c	38.9	0.1	72.8	4.8
C4	28.8	1.86	63.5	1.71
C4b	43.5	1.1	58.2	0.9
C5	28.8	2.04	58.9	1.2
C6	30	1.35	55.25	1.24

TABLE 3.3 – Evolution of the enthalpy for all the counter-ions.

3.7.3 SANS data

Temperature (°C)	C2	C3	C4	C5	C6
24	349	330	339	341	303
29	369	317	299	299	278
33.5	378	299	285	279	277
38	378	292	287	274	272
42	378	299	273	272	271
45.5	369	265	259	267	
48	349	262	257	267	
52	306	253	253	267	
55.5	287	247	250	263	
61	258	241	244		
66	247				

TABLE 3.4 – Evolution of the interlayer spacing (determined from the position of the Bragg peaks by SANS) as a function of the temperature for counter-ions from C2 to C6. Data are given in Å.

Temperature (°C)	C3b	C3c	C4b
19	334	345	392
23	336	374	400
26	357	367	405
30	378	376	383
35	410	395	372
40	374	419	288
45	336	445	279
51	295	410	269
56	271	353	
61	261	300	
66	241	254	

TABLE 3.5 – Evolution of the interlayer spacing (determined from the position of the Bragg peaks by SANS) as a function of the temperature for 1-amino-2-propanol (C3b), 3-amino-1,2-propanediol (C3c) and 2-amino-1-butanol (C4b). Data are given in Å.

Temperature (°C)	C2	C3	C4	C5	C6
24	42	32	27	28.5	28
29	40	24	25.5	26	27
33.5	41	26	23	25	27
38	40	24	22.5	25	27
42	40	24	22.5	25	27
45.5	35	22	23	25.5	
48	28	22	22.5	25	
52	26	22.5	22.5	25	
55.5	25	23	23.5	25	
61	22.5	23	23.5		
66	22.5				

TABLE 3.6 – Evolution of the bilayer thickness (determined in the Porod regime from SANS data) as a function of the temperature for counter-ions from C2 to C6. Data are given in Å.

Temperature (°C)	C3b	C3c	C4b
19	40	40	28
23	38	40	28
26	38	38	28
30	38	38	28
35	38	38	27
40	36	38	27
45	30	36	27
51	26	36	27
56	25	35	
61	25	32	
66	27	25	

TABLE 3.7 – Evolution of the bilayer thickness (determined in the Porod regime from SANS data) as a function of the temperature for 1-amino-2-propanol (C3b), 3-amino-1,2-propanediol (C3c) and 2-amino-1-butanol (C4b). Data are given in Å.

Temperature (°C)	C2	C3	C4
29	0.045	0.055	0.1
33.5			0.1
38			0.1
42	0.045	0.1	0.15
45.5		0.07	
48	0.09	0.07	0.08
52	0.045	0.07	
55.5	0.045		

TABLE 3.8 – Evolution of the Caillé parameter as a function of the counter-ion and the temperature.

Temperature (°C)	C3b
30	0.03
40	0.03
45	0.065
51	0.025
56	0.025

TABLE 3.9 – Evolution of the Caillé parameter as a function of the temperature in the case of C3c.

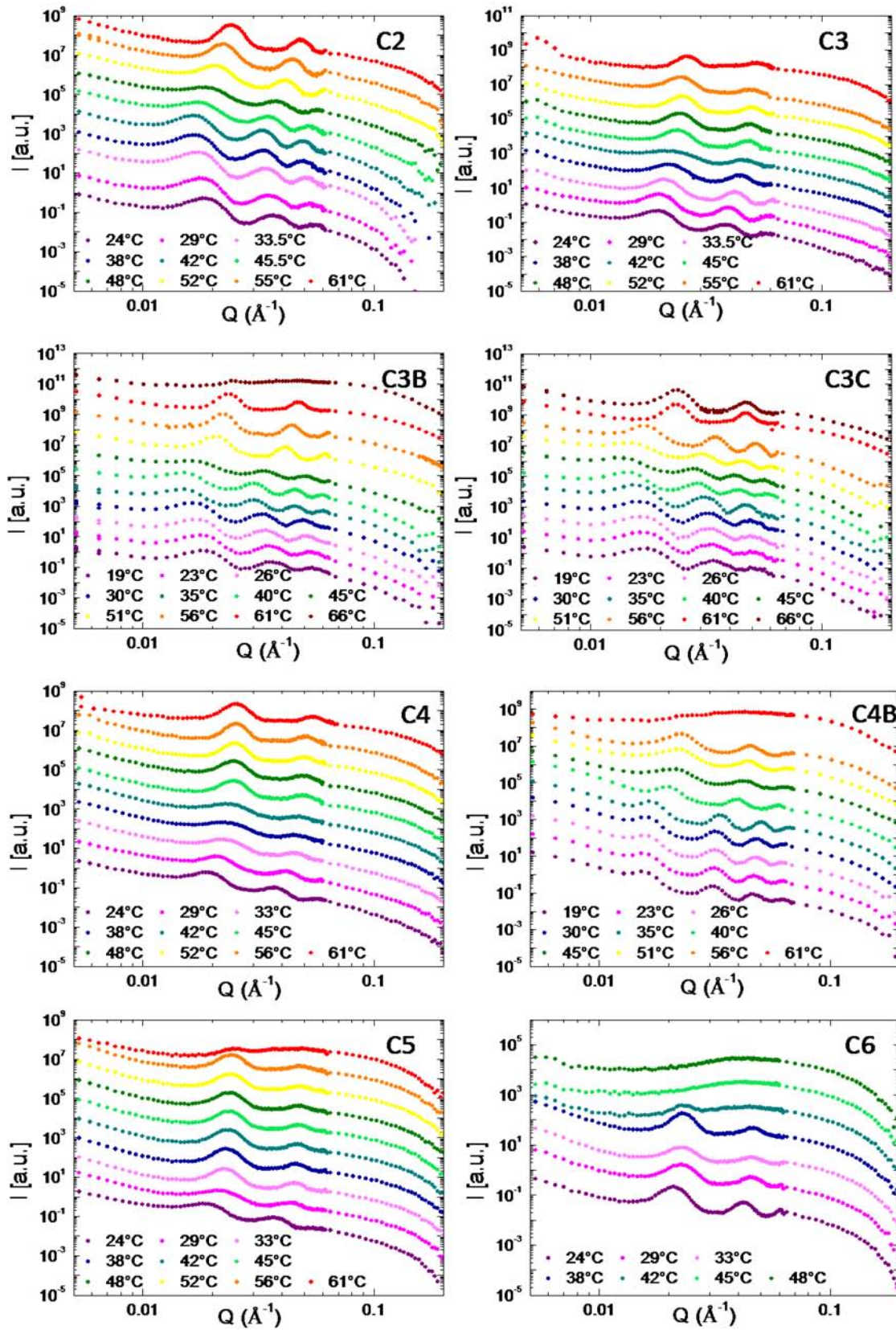


FIGURE 3.7 – SANS data for all counter-ions (as indicated on the graph) as a function of the temperature.

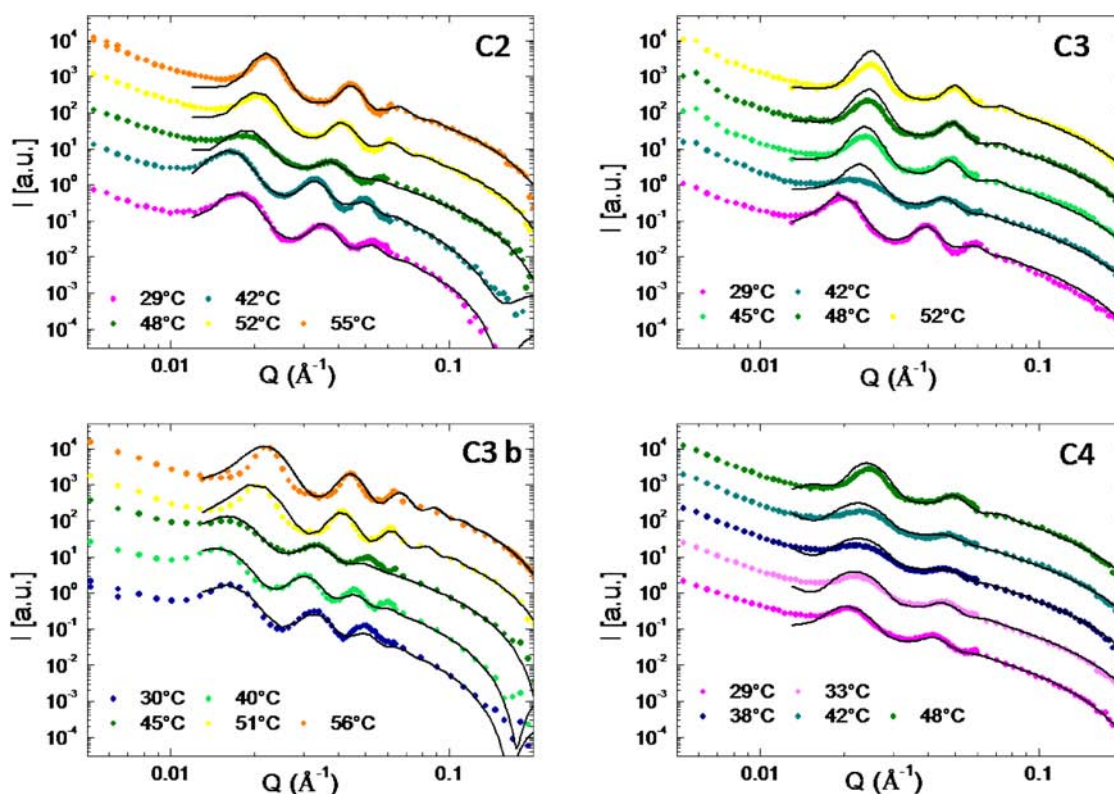


FIGURE 3.8 – SANS data for C2, C3, C3 b and C4 as a function of the temperature (as indicated on the graph). The black line corresponds to the best fit according to the model discussed in the paper.

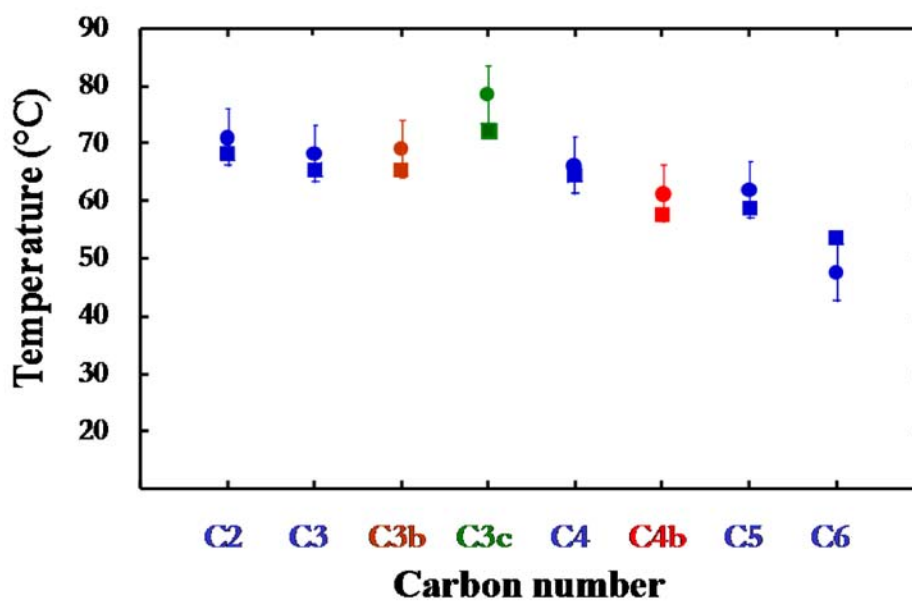


FIGURE 3.9 – Comparison between the tube melting temperature and the second broad peak temperature obtained in DSC as a function of the hydroxylalkylamine chain length (carbon number)

Bibliographie

- [1] H. Matsui and G. E. Douberly. Organization of peptide nanotubes into macroscopic bundles. *Langmuir*, 17(25) :7918–7922, 2001.
- [2] V. Chupin, J. A. Killian, and B. de Kruijff. Effect of phospholipids and a transmembrane peptide on the stability of the cubic phase of monoolein : Implication for protein crystalization from a cubic phase. *Biophysical Journal*, 84(4) :2373–2381, 2003.
- [3] N. Kameta, H. Minamikawa, M. Masuda, G. Mizuno, and T. Shimizu. Controllable biomolecule release from self-assembled organic nanotubes with asymmetric surfaces : pH and temperature dependence. *Soft Matter*, 4(8) :1681–1687, 2008.
- [4] M. Genty, G. Couarraze, R. Laverranne, C. Degert, L. Navailles, T. Gulik-Krzywicki, and J. L. Grossiord. Characterization of a complex dispersion of multilamellar vesicles. *Colloid and Polymer Science*, 282(1) :32–40, 2003.
- [5] O. Diat and D. Roux. Preparation of monodisperse multilayer vesicles of controlled size and high encapsulation ratio. *Journal De Physique II*, 3(1) :9–14, 1993.
- [6] T. Shimizu, M. Masuda, and H. Minamikawa. Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chemical Review*, 105(4) :1401–1443, 2005.
- [7] Q. M. Ji, R. Iwaura, and T. Shimizu. Regulation of silica nanotube diameters : Sol-gel transcription using solvent-sensitive morphological change of peptidic lipid nanotubes as templates. *Chemistry of Materials*, 19(6) :1329–1334, 2007.
- [8] M. S. Spector, J. V. Selinger, A. Singh, J. M. Rodriguez, R. R. Price, and J. M. Schnur. Controlling the morphology of chiral lipid tubules. *Langmuir*, 14(13) :3493–3500, 1998.
- [9] J. V. Selinger and J. M. Schnur. Theory of chiral lipid tubules. *Physical Review Letters*, 71(24) :4091–4094, 1993.
- [10] P. Terech, N. M. Sangeetha, B. Deme, and U. Maitra. Self-assembled networks of ribbons in molecular hydrogels of cationic deoxycholic acid analogues. *Journal of Physical Chemistry B*, 109(25) :12270–12276, 2005.
- [11] A. Brizard, C. Aime, T. Labrot, I. Huc, D. Berthier, F. Artzner, B. Desbat, and R. Oda. Counterion, temperature, and time modulation of nanometric chiral ribbons from gemini-tartrate amphiphiles. *Journal of the American Chemical Society*, 129(12) :3754–3762, 2007.
- [12] J.V. Selinger, M.S. Spector, and J.M. Schnur. Theory of self assembled tubules and helical ribbons. *Journal of physical Chemistry*, 105(30) :7157–7169, 2001.
- [13] W. Helfrich. Elastic properties of lipid bilayers : theory and possible experiments. *Z Naturforsch*, 28 :693–703, 1973.

-
- [14] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [15] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [16] A. L. Fameau, B. Houinsou-Houssou, B. Novales, L. Navailles, F. Nallet, and J. P. Douliez. 12-hydroxystearic acid lipid tubes under various experimental conditions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(1) :38–47, 2010.
- [17] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.
- [18] J. P. Douliez, L. Navailles, and F. Nallet. Self-assembly of fatty acid-alkylboladiamine salts. *Langmuir*, 22(2) :622–627, 2006.
- [19] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [20] J. P. Douliez, L. Navailles, F. Nallet, and C. Gaillard. Self-assembly of unprecedented swollen multilamellar twisted ribbons from a racemic hydroxy fatty acid. *Chemphyschem*, 9(1) :74–77, 2008.
- [21] F. Nallet, R. Laversanne, and D. Roux. Modeling x-ray or neutron-scattering spectra of lyotropic lamellar phases - interplay between form and structure factors. *Journal De Physique II*, 3(4) :487–502, 1993.
- [22] E. Evans and W. Rawicz. Entropy-driven tension and bending elasticity in condensed-fluid membranes. *Physical Review Letters*, 64(17) :2094–2097, 1990.
- [23] B. M. Discher, Y. Y. Won, D. S. Ege, J. C. M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, and D. A. Hammer. Polymersomes : Tough vesicles made from diblock copolymers. *Science*, 284(5417) :1143–1146, 1999.
- [24] H. E. Warriner, S. L. Keller, S. H. J. Idziak, N. L. Slack, P. Davidson, J. A. Zasadzinski, and C. R. Safinya. The influence of polymer molecular weight in lamellar gels based on peg-lipids. *Biophysical Journal*, 75(1) :272–293, 1998.
- [25] C. R. Safinya, E. B. Sirota, D. Roux, and G. S. Smith. Universality in interacting membranes - the effect of cosurfactants on the interfacial rigidity. *Physical Review Letters*, 62(10) :1134–1137, 1989.
- [26] P. Hoyrup, J. Davidsen, and K. Jorgensen. Lipid membrane partitioning of lysolipids and fatty acids : Effects of membrane phase structure and detergent chain length. *Journal of Physical Chemistry B*, 105(13) :2649–2657, 2001.
- [27] S. Zhu, P. D. A. Pudney, M. Heppenstall-Butler, M. F. Butler, D. Ferdinando, and M. Kirkland. Interaction of the acid soap of triethanolamine stearate and stearic acid with water. *Journal of Physical Chemistry B*, 111(5) :1016–1024, 2007.
- [28] B. F. B. Silva and E. F. Marques. Thermotropic behavior of asymmetric chain length catanionic surfactants : The influence of the polar head group. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290(1) :267–274, 2005.

CHAPITRE IV

L'évolution de la structure des tubes multilamellaires en solution en fonction de la température a été étudiée finement dans les chapitres précédents. L'objectif de ce présent chapitre est de caractériser la structure à l'interface entre l'air et une solution de tubes et de déterminer s'il existe des corrélations entre la structure en solution et à l'interface. Les questions auxquelles nous cherchons à répondre sont les suivantes :

- Quelle est la structure adoptée à l'interface par les tubes multilamellaires ?
- Peut-on générer des interfaces à propriétés modulables en fonction de la température à partir des tubes multilamellaires ?

Pour cela, nous avons couplé la tensiométrie à goutte pour avoir des informations sur la cinétique d'adsorption à cette interface et la réflectivité de neutrons qui est une technique très bien adaptée à l'étude de la structure formée à l'interface par des tensioactifs. L'ensemble des travaux a été réalisé à partir de tubes multilamellaires formés à partir de l'acide gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion.

Les résultats de tensiométrie à goutte ont montré que la structure présente à l'interface permet de diminuer significativement la tension interfaciale. La réflectivité de neutrons, réalisée sur une interface plane modèle, nous a permis de montrer que de façon surprenante les tubes s'adsorbent à l'interface air/eau avec la même structure et le même comportement en fonction de la température que pour des tubes en solution, excepté à 50 °C. A cette température en solution, le diamètre des tubes est maximal, ainsi les tubes adsorbés à l'interface fusionnent pour former des phases lamellaires. De façon similaire aux tubes en solution, les transitions structurales des tubes à l'interface sont complètement réversibles. Ainsi, la structure de la couche interfaciale peut être facilement *modulée* en jouant sur une contrainte *externe* : la température.

Chapitre 4

Adsorption of multilamellar tubes with a temperature tunable diameter at the air/water interface.

Anne-Laure Fameau ^{1,2}, Jean-Paul Douliez ¹, François Boué ², Frédéric Ott ² and Fabrice Cousin ²

1) UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages Inra, rue de la Géraudière, 44316 Nantes, France.

2) Laboratoire Léon-Brillouin, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, France.

Submitted to Journal of Colloid and Interface Science

4.1 Abstract

The ethanolamine salt of the 12-hydroxy stearic acid is known to form tubes having a temperature tunable diameter. Here, we study the behavior of those tubes at the air/water interface by using Neutron Reflectivity. We observed that tubes indeed adsorbed at this interface below a fatty acid monolayer and exhibit the same temperature behavior than in bulk. There is however a peculiar behavior at around 50 °C for which the increase of the diameter of the tubes at the interface yields an unfolding of those tubes into a multilamellar layer. Upon further heating, the tubes re-fold and their diameter re-decrease after what they melt as observed in the bulk. All structural transitions at the interface are nevertheless shown to be quasi-completely reversible. This provides to the system a high interest for its interfacial properties because the structure at the air/water interface can be tuned easily by the temperature.

4.2 Introduction

Fatty acids and their hydroxylated derivatives are of interest from materials science to soft matter because they are sustainable generic molecules¹⁻³. Their main drawback for applications comes from their lack of solubility in aqueous media. However, it has been demonstrated recently that with the help of specific counter-ions (choline⁴, tetrabutylammonium hydroxide⁵, ethanolamine⁶, lysine⁷), the dispersion in water of long chain saturated fatty acids and their hydroxylated derivatives becomes possible, making them good candidates as new green detergents.

For the 12-hydroxy-stearic acid in the presence of ethanolamine as the counter-ion, a very original supramolecular assembly is obtained : fatty acid salts are forming concentric stacked bilayers that are rolled up to form the walls of tubes of a micron size⁶. The system has thus a hierarchical spatial structure, as it is made at local scale of fatty acids bilayers of $\approx 3-4$ nm separated by a water layer of a few tens of nm whereas at larger scale the rolling of the lamellar phases create very long tubes, with a diameter of the order of the $0.6 \mu\text{m}$ and a length of around $10 \mu\text{m}$. Interestingly, if the self assembly of tubes has been already widely observed using various surfactants⁸⁻¹², such tubes made of 12 hydroxy stearic acid exhibit a remarkable additional behavior since the outer tube diameter can be increased by a factor ≈ 10 in a span of a few degrees. The diameter of the tubes has a value of around $0.6 \mu\text{m}$ from 20°C to 47°C , a temperature at which it starts to increase to reach a maximum value of $5 \mu\text{m}$ at 50°C . Then, it decreases again upon a further increase of temperature¹³. Finally, at 70°C , the solution becomes isotropic and no more tubes are longer observed, a disappearance probably linked to the melting of tubes into micelles. At a local scale, the interlamellar spacing also changes with temperature but do not follow the same trends as the diameter. It slightly increases from 35 nm at 20°C to 38 nm at 45°C and drops down to ≈ 27 nm at 60°C . This could be related to the thermodynamical (L_β) gel/ (L_α) fluid transition of the fatty chains, measured at 46°C by calorimetry¹⁴ : up to 45°C , the bilayer thickness is about 40 \AA , which corresponds to twice the length of the fatty acid chain in its extended conformation, showing that the fatty acids are embedded in a gel bilayer phase (L_β) while it decreases drastically down to a value of 23 \AA above 50°C , a thickness markedly lower, meaning that the fatty acids are in fluid phase (L_α). Besides their temperature properties, these tubes can also survive to important changes of various experimental parameters such as pH and salt¹⁴. This provides them an evident potential interest in medical applications, for encapsulation and control release¹⁵, or in material science for templating^{16, 17}. The solutions of tubes have also enhanced interfacial properties : they exhibit better foaming and emulsifying properties when the fatty chains are assembled in tubes rather than micelles¹⁸.

The understanding of such peculiar interfacial behavior is not trivial and raises the following questions : Are the tubular structures stable at a water/hydrophobic interface (*e.g.* air in the case of foams) ? Or, more generally, what is the relation between the structure of the fatty chains in bulk solution and the structure of the fatty chains at a water/hydrophobic interface ? These are the questions we address in this paper by presenting an exhaustive study of the structural behavior of a solution of ethanolamine salt of 12-hydroxy-stearic acid at the air/water interface by coupling surface tension measurements and Neutron Reflectivity

(NR). Indeed, it has been demonstrated that NR is a powerful technique for the study of surfactant adsorption for various interfacial architectures such as surfactants¹⁹⁻²⁵, monolayers, lamellar phases in the vicinity of the interface²⁶ or multilamellar vesicles²⁷.

4.3 Materials and methods

4.3.1 Sample preparation

12-hydroxy stearic acid (Sigma-Aldrich, 99 % purity) was weighted accurately in a test tube in which ultra pure water was added to reach a concentration of 10 mg/mL (1 %). Then, we incorporated to reach equivalence (12-hydroxy stearic acid/counter-ion molar ratio $R=1/1$), the desired volume of a 1 M stock solution of the counter-ion, 2-amino-1-ethanol (Sigma-Aldrich, 99 % purity). The mixture was heated at 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. Prior to use, each sample was heated at 80 °C for 15 min and cooled at room temperature. For the specular neutron reflectivity experiments, the sample was prepared in 3 different mixtures of H₂O/D₂O : 40 %H₂O/60 %D₂O, 20 %H₂O/80 %D₂O and 100 % D₂O.

4.3.2 Specular Neutron Reflectivity

Specular neutron reflectivity (SNR) experiments were carried out on the horizontal time-of-flight reflectometer EROS at the Laboratoire Léon Brillouin (CEA Saclay, France). The horizontal collimated beam is deflected by a neutron supermirror by an angle of 0.75 ° on the sample to collect data at a fixed incidence angle of 1.5 °. With a neutron white beam covering wavelengths from 3 to 25 Å, the accessible Q-range is 0.01 - 0.1 Å⁻¹.

The sample was placed in a sealed cell, with two quartz windows allowing the passage of neutrons, avoiding the exchange of D₂O with H₂O from atmosphere. Measurements were performed at ambient pressure. The temperature of the cell was precisely fixed by a circulating circuit connected with a thermalized Lauda bath. Prior to each measurement, the sample was rest for 30 minutes to reach equilibrium. The acquisition of the SNR data was then recorded for 6 hours with slices of 1 hour.

Most of the experiments were performed during a first series of experiments where the data were acquired by a 1-D detector. It appeared afterwards that there was an intense off-specular scattering in the system that could perturb the determination of the specular scattering. In order to circumvent this difficulty, we performed afterwards some experiments with a 2-D detector to discriminate between specular and diffuse scattering. For lack of beamtime only one sample has been measured with the 2-D detector. The intense diffuse scattering raises the question of the exact determination of the specular scattering because this latter may be contaminated if it is integrated over a too large surface of the detector²⁸. This is illustrated in Figure 4.9 that compares 3 different areas of integration of the specular signal of a solution at 10 mg/ml in pure D₂O, with respective thicknesses of 5 mm, 10 mm and 20 mm (see Supplementary Information). While they show the same characteristic fringes, the reflectivity increases when the integration area increases, and progressively deviates from the Fresnel curve as off-specular signal it integrated in the specular window (Figure 4.9). It appears that the choice of the integration area does change neither the shape nor the intensity of the

fringes. In such a representation, the additional diffuse scattering increases the level of the baseline of the whole curve above the Fresnel reference curve. When the integration window is properly defined the SNR curve follows the Fresnel decay in Q^{-4} . We compare also in Figure 4.10 the results obtained with the 1-D detector, which has a thickness of 10 mm. It clearly appears that it slightly integrates too much diffuse scattering (its level is of the order of the 2^{nd} integration on the 2-D detector). This moderate excess of scattering however does not prevent a correct qualitative interpretation of the data obtained with the 1-D detector.

The reflectivity curves corresponding to the analytical models presented within the text are calculated by the optical matrix method with a slicing of the scattering length density profiles in slabs of 10 Å. The experimental resolution of the spectrometer was taken into account in the calculation. The calculation of the Scattering Length Density (SLD) N_b of 12-hydroxy stearic acid gives $-0.28 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ with a molar density of 300 g/mol. The respective SLD of the 3 different H_2O/D_2O mixtures are $3.61 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ for 40 % H_2O /60 % D_2O , $4.8 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ for 20 % H_2O /80 % D_2O and $6.3 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ for 100 % D_2O .

4.4 Results and Discussion

We present here the Specular Neutron Reflectivity (SNR) measurements performed at the air/water interface on solution of fatty acid tubes to determine the corresponding interfacial structure of the fatty acids chains. We have chosen to work at a solution concentration of 10 mg/ml (with a molar ratio of 1/1), a concentration for which there are tubes with a temperature tunable diameter in bulk solution that was used for the previous study in bulk for which where one¹⁴.

Prior to SNR experiments, we have performed dynamic surface tension measurements to determine the characteristic time taken by the fatty chains to reach a stable structure at equilibrium at the air/water interface. The results, shown in Figure 4.8 of the Supporting Information, shows that the system is close to equilibrium after ≈ 5 seconds. The evolution of the surface tension in the early 5 seconds suggests that the structure at equilibrium is different from a simple layer of fatty acids monomers at the air/water interface. When we performed the SNR measurements, the solution of tubes was placed in the measurement cell and the samples were let to rest for 30 minutes before starting data acquisition (see Materials and Methods). The system was thus at equilibrium during the experiments (see supporting Information).

4.4.1 Raw data at 20 °C

The curve of Figure 4.1a shows the data obtained for a solution in pure D_2O , heated at 20 °C out of beam and deposited on the preheated cell at the same temperature (see Materials and Methods section). It is compared with the Fresnel curve that corresponds to the pure air/ D_2O interface. The same results are also displayed in the Fresnel representation ($R(Q)Q^4$ versus $f(Q)$) in Figure 4.1b, which enables to focus on the scattering coming only from the layer present at the interface by compensating the Q^{-4} scattering decay from the pure air/water interface. The displayed curve is the sum of 6 spectra (6 hours). Indeed, 6

consecutive spectra (not shown) have been recorded kinetically by slices of one hour up to a total duration of 6 hours. They were all similar, confirming that the structures adsorbed at the interfaces are stable with time. It immediately appears that there are regular interference fringes in the specular signal, reflecting that there is a large layer of fatty acid materials at the interface. The raw 2-D spectra reveal that there is also a high diffuse scattering (see Supporting Information). This intense diffuse scattering may come from large spatial heterogeneities on the surface, from the presence of large adsorbed tubes or possibly from the fluctuations of the adsorbed architectures at the interfaces. Please, note that no structural ordering at large scale was observed from these off-specular scattering. As explained in the Materials and Methods section, this diffuse scattering does not allow the exact determination of the specular scattering, in particular with the 1-D detector. It nevertheless not hampers the exploitation of all of the data presented in this paper which were obtained with the 1-D detector because we will further show that the useful information is derived from the shape and the positions of the fringes and that the extra diffuse scattering can be taken into account.

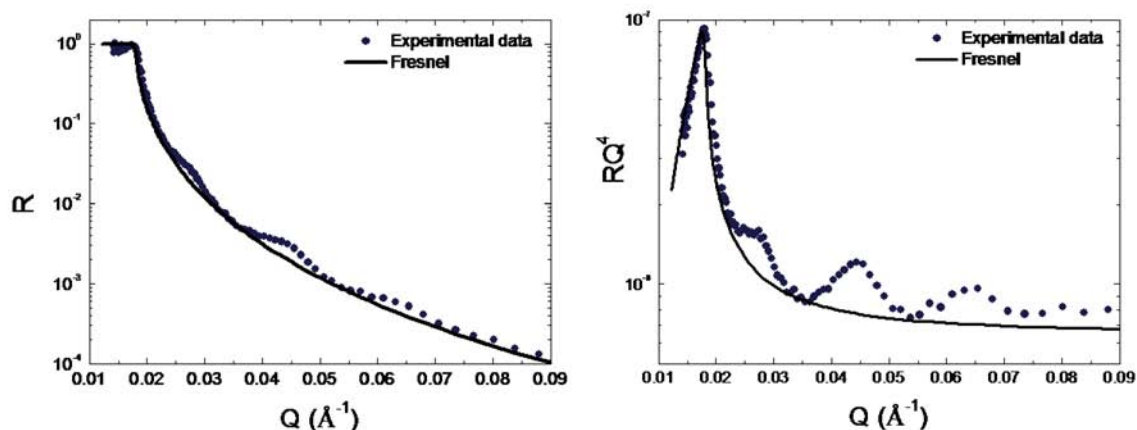


FIGURE 4.1 – Specular Neutron Reflectivity results of a solution of fatty acids (10 mg/ml) at 20 °C at the air/water interface. The solid line is a calculation of the Fresnel reference SNR of a pure air/D₂O interface. (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4R(Q)$ versus $f(Q)$.

A calculation of the thickness of the fatty chain layer from the d-spacing of the interference fringes ($d \approx 2\pi/\Delta Q$) gives $d \approx 300 \text{ \AA}$, which is of the order of the interlamellar spacing as measured in the bulk solution (340 Å from SANS experiments⁶). Then, the SNR signal may arise from the surface scattering of fatty acid materials and/or from the intense SANS scattering of the tubes in solution below the interface. In order to discriminate between these two possibilities we have performed the same experiments at 20 °C with 3 different H₂O/D₂O compositions of the aqueous solvent. The SNR curves are compared in Figure 4.11 in the Supporting Information Section. Their shapes are very similar, displaying some fringes that have the same d-spacing and the same amplitude. However, from one sample to another, the fringes are all shifted by a value equal to the critical wave vector Q_c corresponding to the water composition. If the signal was due to bulk scattering, the Q -position of the fringes would have been constant with the water composition, only the amplitude of the fringes would have changed. Then, the difference observed between the data for the 3

H₂O/D₂O contrasts unambiguously prove that the scattering indeed arises from a surface scattering of fatty acid materials. It remains however possible that a small remaining part of the measured scattering comes from SANS.

4.4.2 Modeling of the SNR data at 20 °C

In order to fit our SNR data, we used various models of fatty acid arrangements at the air/water interface. We limit here this modeling to the results of the 2-D detector integrated with the lower surface area (see Materials and Methods), for which the effects of the off-specular scattering do not perturb too much the SNR data. First, since the surface scattering comes from fatty acid materials adsorbed at the air/water interface, the simplest model to be tested is the presence of a single monolayer of thickness 21 Å which stands for the length of the 12-hydroxy stearic acid in its extended conformation (Figure 4.2.c). Clearly, Figures 4.2.a and 4.2.b show that the fit with such a small thickness does not reproduce the fringes experimentally observed.

Second, another possible model of arrangement at the interface is the stacking of lamellar bilayers in the plane perpendicular to the interface. This behavior has already been observed in the literature on lamellar phases of C₁₀SO₃Na/C₁₂E₅ mixtures²⁶ or on multilamellar vesicles of DDAB²⁷. Here, it could occur from the unfolding of the tubes induced by the planar surface into such an 'opened' structure. This would result in a stacking of lamellar bilayers, with an interlamellar spacing close to the one observed for tubes in bulk, *i.e.*, 270 Å (Figure 4.2.d). Such a layered model give rises to nice regular very large interferences fringes, due to the high change of neutron refractive index between the hydrogenated bilayer and D₂O, as observed by Salamat *et al.*²⁶ and Mc Gillivray *et al.*²⁷ or shown by the simulations of Figures 4.2.a and 4.2.b ($d = 270$ Å). Though such model would correctly model the Q-position of the fringes, it is not consistent with our measurements because it completely overestimates the intensity of the fringes amplitudes. The only possibility to get such weak fringes with a lamellar stacking would come from strong fluctuations of the membranes²⁶. But the fluctuations in bulk are weak in our system, as proved by SANS⁶, mainly because the fatty acid bilayers are embedded in a gel (L_β) phase at that temperature. Moreover, the loosening of the fringes would increase with temperature, while the reverse is observed (see Figure 4.3.a of section 4.4.3). The possibility of adsorption of multilamellar vesicles can also be dismissed because there is no transition from tubes to vesicles for 12 hydroxy stearic fatty acids in bulk solution. When such vesicles-tubes transition is observed, it is associated with the (L_β)/(L_α) transition of the chains¹⁶. In the case of 12 hydroxy stearic fatty acids, multilamellar tubes are observed whether the chains are in the L_β gel phase or in the L_α fluid phase¹⁴.

We will then assume that the fringes come from the presence of multi-lamellar tubes adsorbed at the air/water interface, adsorbed on a fatty acid monolayer at the surface (see Figure 4.2.e). The theoretical approach of the modeling of the SNR corresponding to such structure is presented in Appendix 1. It involves the same geometrical parameter as observed in bulk⁶ (see Figure 4.2.e), *i.e.*, an interlamellar spacing, d , a bilayer thickness, e , a tube diameter, D , with a number N of bilayers per tube and a given surface density Φ_S . N is assumed to lie between 3 and 5 from the analysis of TEM pictures and from the thickness of Bragg peaks observed in some SANS experiments of tubes in bulk⁶. The thickness, t , of the

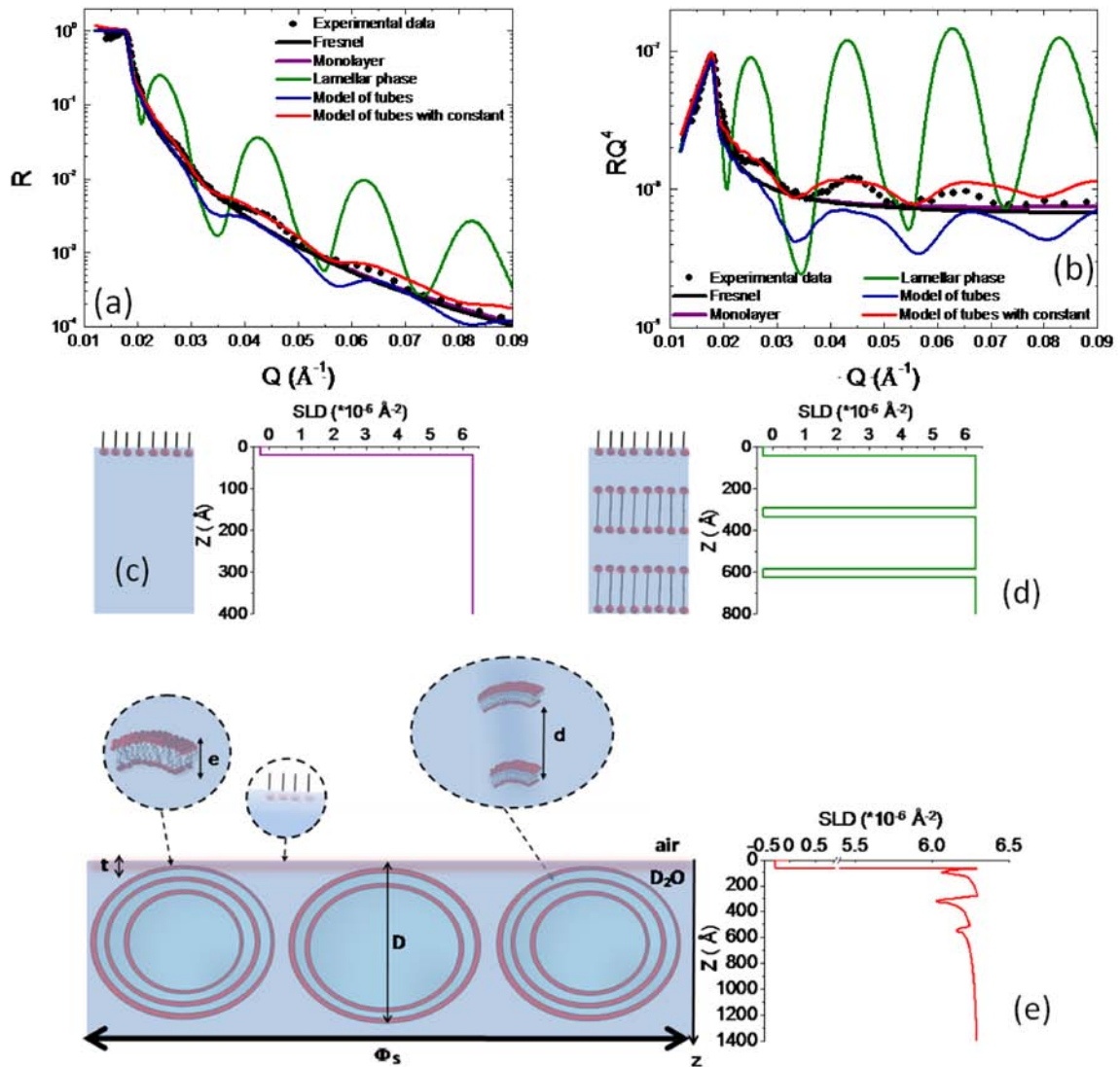


FIGURE 4.2 – Comparison of the SNR results of a solution of fatty acids at 20°C with a monolayer of fatty acids, a lamellar phase and with the model of tubes adsorbed at the interface as described in the text with or without a constant in Q^{-4} . (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4 R(Q)$ versus $f(Q)$. (c) The SLD profile used from the calculation of a fatty acid monolayer. (d) The SLD profile used from the calculation of a fatty acid lamellar phase. (e) Description of the model of tubes adsorbed at the interface with the parameters described in the text with the corresponding SLD profile.

monolayer is fixed to 21 Å. In the model we do not consider any additional signal to take into account the remaining background coming from the off-specular scattering.

We present the SNR curve corresponding to such a calculated profile for the following experimental parameters : $t = 21$ Å ; $d = 270$ Å ; $e = 41$ Å, $D = 6000$ Å ; $N = 2$ (70 %) and $N=3$ (30 %) and $\Phi_S \approx 0.8$. It fits rather well the data and the shape of the SNR experimental curve. However it remains below the level of the experimental SNR curve (see Figure 4.2.a and Figure 4.2.b). We attribute this feature to the perturbative additional background arising from some remaining weak SANS scattering from the bulk solution because its influence appears as a change of baseline on the Fresnel representation of Figure 4.1.b, thus like an additional scattering that decays thus like Q^{-4} at large Q , as obtained in SANS in the Porod regime. Thus if one adds to the calculated SNR curve a kQ^{-4} term, where k is a variable constant, to roughly take into account this perturbative scattering, we recover the level of the experimental curve. Please however note that this crude additional treatment of background alters the shape of the calculated SNR curve because it has of course larger effects on the minima of the fringes than on their maxima. We are conscious that our fit is performed with a large number of parameters. It is by the way easily possible to get a perfect fit of the data by a minimization of the χ^2 using a free set of parameters with free variation. However, we now discuss the impact of the different parameters on the SNR curve allowing testing our model. For the sake of clarity, fits using this model obtained by varying the different parameters are shown in the supplementary information section (Figure 4.12) but we only report here the main results.

- First, the thickness of the fatty acid monolayer at the interface has been varied but does not change the overall aspect of the fit. However, we can reasonably assume it is of the order of 21 Å since it corresponds to the length of the fatty acid in its extended conformation. An accurate determination is in principle possible, even for small thicknesses, since it fixes the global envelop of the SNR curve, independently from the other parameters. However, this would imply to get a very confident fitting of the shape of the curve at large Q , at which the diffuse scattering strongly perturbs here the data.
- Second, for physical reasons, we assume that the bilayer thickness in the tubes, e , must not be considered as a free parameter and we have thus imposed the value of 41 Å. This stands for the value measured by SANS for tubes in bulk since fatty acids are embedded in their gel phase (L_β) at 20 °C⁶.
- Third, the interlamellar spacing, d , is the most influent parameter because it defines the Q -position of the fringes. Then, it can be confidently determined from them and was further fixed to 270 Å.
- Then, the number of bilayers per tubes, N , influences the whole SNR fitting curve. The best fit is obtained for a mixing of tubes, 30 % having 3 bilayers and 70 %, only 2 bilayers. For N up to 3, one obtains additional oscillation superimposed to the interferences fringes which can be assigned to Bragg peaks coming from the interlamellar distance. For higher values of N , one observes additional fringes arising from the characteristic thickness of the whole tube wall, *i.e.*, the distance between the most outer

bilayer and the most inner bilayer layer of a tube.

- Also, the exact value of the tube diameter D has a weak importance, only its range of order has a real influence on the SNR fitting curve. As long as the tube diameter is both : (i) high enough compared to the interlamellar spacing, d , and (ii) low enough to consider that the bilayers are bent (D typically of the order of the micrometer). Indeed, for D too high, the fitting curve is that obtained for a multilamellar arrangement at the interface what has been shown to yield too intense interferences fringes. We took here a value of 6000 Å, as obtained from TEM pictures⁶, but we have checked that values in the range 5000 Å - 8000 Å, within the errors bars of TEM, do not noticeably modify the SNR fitting curves.
- Finally, $\Phi_S \approx 0.8$ obviously only plays on the amplitudes of the fringes. So, we have thus imposed the value of 0.8.

Thus such a modeling of the experimental data is in accordance with the presence of the multi-lamellar tubes, of same dimensions than in bulk solution, adsorbed at the air/water interface with a high packing. This high off-specular scattering we obtain is due to the presence of such tubes at the surface. SNR appears here as a powerful technique to determine their interlamellar spacing d from the positions of the fringes. Indeed, even if the multi-lamellar tubes essentially contains water ($\Phi_{fc}(z')$ is at maximum 0.05 out of the surface), the jump in neutron refractive index between a bilayer of hydrogenated fatty acid and the deuterated solvent is so large that the fringes remain visible in the SNR curve.

4.4.3 Evolution of the SNR data with temperature for in-cell heating

We present in this section the evolution of the SNR experimental data with temperature. First, the solution of tubes was deposited at 20 °C and heated directly within the measurement cell. The results are shown in Figure 4.3. They have been all obtained with the 1-D detector and we propose only a qualitative description based on the Q-position and on the amplitudes of the fringes.

At 40 °C, the SNR curve has a very similar shape as the one obtained at 20 °C. The fringes are slightly shifted towards low Q, indicating an increase of the interlamellar spacing d , similar to what was observed for the tubes in bulk solution^{14, 18}.

At 50 °C, the structural behavior at the air/water interface completely changes. We recall that this temperature is the one for which, in bulk, the tube diameter increases drastically (from 0.6 μm at 40 °C up to 5 μm at 50 °C¹³). At this temperature, the spectra recorded every 30 min evolved with time (during the first 5 hours) showing that the system has not reached equilibrium after 30 minutes (see Figure 4.3c). This behavior was not observed for the other temperatures. After 1 hour, one observed strong marked fringes on the experimental curve which then resembles the SNR curve we have obtained with a model of flat stacked bilayers at the interface (see Figure 4.2a) and observed on lamellar systems by others^{26, 27}. Here a perfect fit is obviously not possible because the system has evolved during the recording, *i.e.*

the SNR provides the averaged structure of the system that was not at equilibrium. However the shape prompts us to assume such stacking. We measured on that experimental curve an interlamellar spacing deduced from the position of the interferences fringes and found a value (averaged thus on one hour) of around 300 Å. After 2 and 3 hours, the interferences fringes are even much marked (higher intensity) and were shifted toward larger wave vectors (Figure 4.3c). For these two set of data, the interlamellar spacing has decreased down to around 260 Å. At longer times, the fringes go on shifting towards large Q, until they vanish progressively (Figure 4.3c). It is likely that the slow kinetic of the progressive decrease of the interlamellar spacing induces a large polydispersity on the spacing on the lamellar phases on the surface. The progressive disappearance of the fringes comes probably from the formation of surface domains with different interlamellar spacing on the surface and thus the experimental measured SNR curve, averaged on the whole surface, is a linear combination of different SNR curves with marked fringes.

In the meantime, the critical wavenumber Q_c is shifted towards the low Q indicating that the SLD of the semi-infinite medium beneath the surface (in practice, the first thousands of Angströms) is no longer the one of the D₂O solvent only. A shift towards the low Q means lowering of the SLD : there must be a huge enrichment of fatty acid materials over these first thousands of Angströms beneath surface. More quantitatively, from the position of Q_c (0.015 \AA^{-1}) we get the value of the SLD after 5 hours ($4.35 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$), corresponding to a fatty acid materials fraction around 0.29 %. It is thus likely that the tubes have unfolded and coalesced to form an ordered lamellar phase stacked below the interface, oriented parallel. This finding is coherent with our previous observations in the bulk for a concentrated solution of tubes⁶. Indeed, we had shown that for a 100 mg/mL concentrated solution of tubes, the diameter increases upon heating but do not reach a maximal value as observed for a lower concentration (10 mg/mL, as used here). Rather, the diameter of the tubes indeed increases but then, the tubes 'coalesce' to form a multilamellar phase. Interestingly, upon a further heating, the tubes re-folded and their diameter decreased again. One can assume that the concentration of tubes in our present experiment at the interface is high enough to reproduce this phenomenon and that the tubes also coalesce at the interface to form flat stacked multilamellar bilayers. The decrease of the interlamellar spacing as a function of time corresponds to a dehydration between the bilayers and then, an enrichment of fatty acids at the interface. There are at least several tens of bilayers in this lamellar phase, contrary to the case of the tubes in which only 3 to 5 bilayers are involved.

At 60 °C, the behavior in bulk solution is known to be close to the one observed at 40 °C, *i.e.*, the tube diameter has decreased back, probably to its initial value¹³. At the interface, one recovers a SNR curve exhibiting all the features observed at 20 °C. This suggests that multilamellar tubes are again adsorbed at the interface and that the overall behavior as a function of the temperature is similar at the interface or in the bulk. The lamellar phases at the surface observed at 50 °C have thus re-swollen and form again tubes adsorbed at the interface. The fringes are largely shifted towards the large Q compared to the results at 20 °C and 40 °C, indicating that the interlamellar spacing d has decreased, exactly as observed for the tubes in bulk solution^{14, 18}. This behavior as a function of the temperature supports our model in which tubes are indeed adsorbed at the interface.

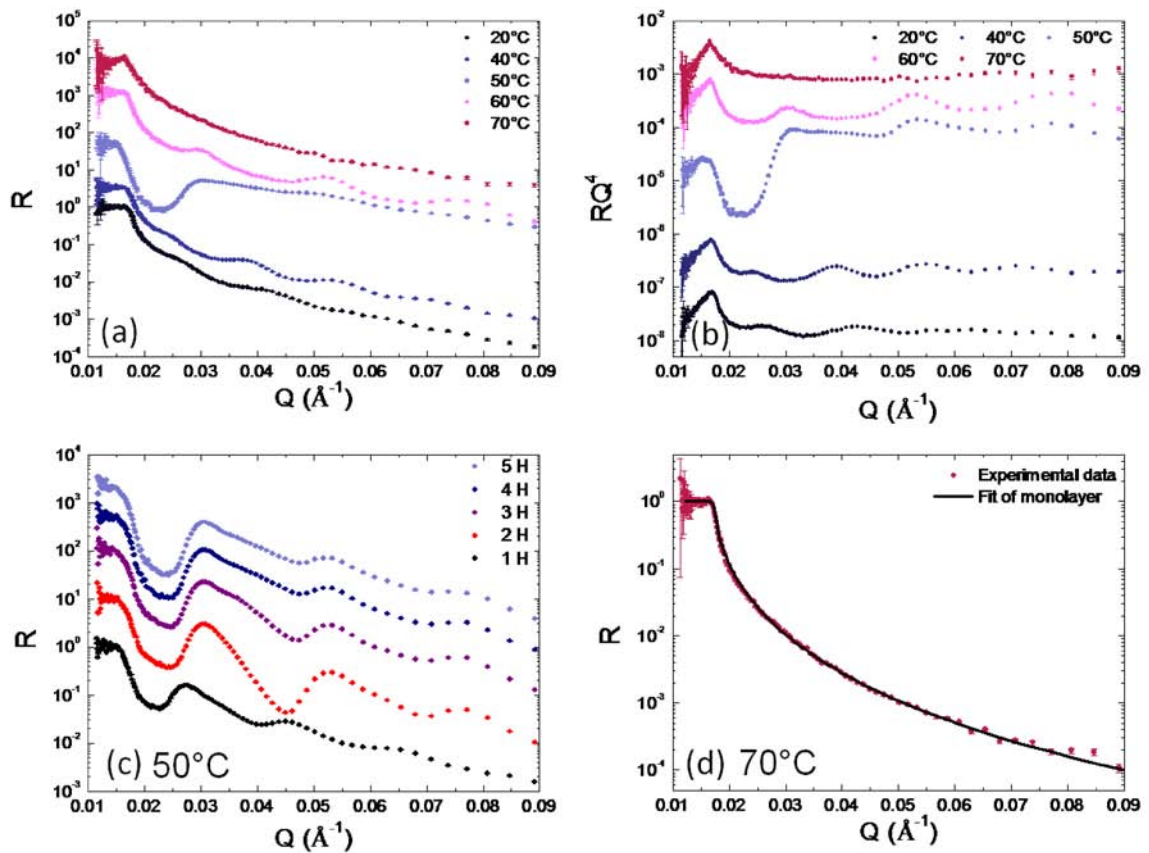


FIGURE 4.3 – Evolution with temperature of the SNR curve of a solution of fatty acids at 10 mg/ml in pure D₂O if the solution of tubes is heated in-situ in the cell. (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4 R(Q)$ versus $f(Q)$. The data are shifted in intensity for the sake of clarity. (c) Kinetic evolution of the spectra at 50 °C (each curve corresponds to a recording of one hour). (d) Fit of the experimental SNR at 70 °C by a single monolayer of fatty acids.

Finally, at 70 °C, the fringes completely vanish. At this temperature, it has been shown that tubes no longer survive in bulk solution¹³, suggesting their melting into micelles. The disappearance of the fringes would thus come from the melting of the tubes at the air/water interface, letting just of single monolayer of fatty acids. To test this hypothesis, we have checked by SANS that micelles are indeed formed at 70 °C. The results are presented in Supporting Information in Figure 4.13. Since there are no longer tubes at the surface, the diffuse scattering has disappeared. The experimental SNR data can then be perfectly modeled by a fatty chains single monolayer, and the expected thickness of 21 Å is obtained (Figure 4.3d).

4.4.4 Reversibility of the structural transitions with temperature

In order to test the reversibility of the observed variations, the temperature has been decreased from 60 °C down to 40 °C, and then heated again up to 70 °C, with one measurement

every 10 °C. Results are presented in Figure 4.4. For a given temperature, there are only slight differences between the results corresponding to the first increase of temperature, the decrease of temperature and the second increase of temperature. All structural transitions at the air/water interface are then quasi-completely reversible!

It is not easy to attribute the small differences between the curves to a real change in structural behavior, rather than structural changes induced by the experimental protocol chosen. In particular, the sample has been left for more than 70 hours within the cell (6 hours per measurement at a given temperature and 30 minutes for a temperature change and its equilibrium), mainly at rather high temperature, which results in the formation of a lot of D₂O vapor within the cell. As D₂O is a strong neutron scatterer, this vapor may alter a bit the quality of the data.

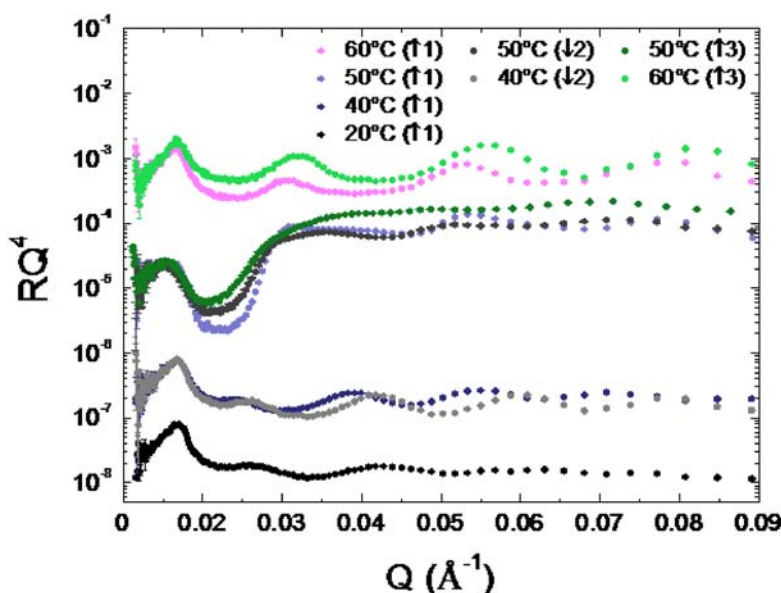


FIGURE 4.4 – Comparison between the evolutions of the SNR curves of a solution of fatty acids at 10 mg/ml in pure D₂O if the solution of tubes is heated directly in-situ in the cell measurement during two successive increases of the temperature ((1) first increase, (2) decrease and (3) second increase). The data are shifted in intensity for the sake of clarity.

4.4.5 Influence of the thermal history of the sample

The results of the previous section have shown that the structural behavior of the tubes at the air/water interface is very similar to the one in bulk solution, except the specific behavior at 50 °C. A series of experiment was done with the sample thermalized *ex-situ* out of the measurement cell at the desired temperature. Then, this heated sample has been deposited in the pre-heated measurement cell allowing testing the influence of the thermal history of the sample on the arrangements of fatty acids at the surface. The results are gathered Figure 4.5 on which are superimposed the data of the previous section. Whatever the temperature, the results from the *in-situ* heating protocol and from the deposit at desired temperature

protocol are identical! This definitely proves that the rearrangements of the structure of the tubes at the air/water interface are completely driven by the structural behavior of the tubes in bulk, except for the specific behavior at the interface at 50 °C.

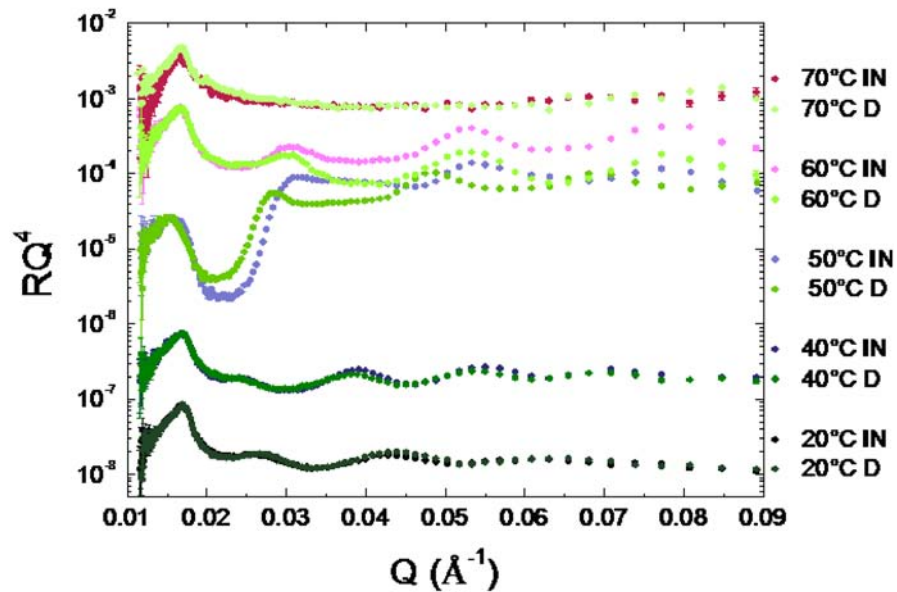


FIGURE 4.5 – Evolution of the SNR curve of a solution of fatty acids at 10 mg/ml in pure D₂O if the solution of tubes is heated directly *in-situ* in the cell measurement during experiments with temperature (IN) or if the solution of tubes is heated *ex-situ* out of the measurement cell at the desired temperature, prior to the deposit in the pre-heated measurement cell (D). The data are shifted in intensity for the sake of clarity.

4.4.6 Surface behavior *versus* bulk behavior

All the results from SNR unambiguously prove that the multi-lamellar tubes of fatty acid chains are present at the air/water interface, whereas one could have expected an 'unfolding' of the tubes induced by the hydrophobic planar air/water interface. The lack of history-dependence of the structures at the air/water interface, and the fact that the structure in bulk and at the air/water interface follows the same trends, suggest that the surface structure is driven by the bulk structure. Remarkably, the interlamellar spacing d has exactly the same values, within the experimental errors, in bulk solution^{6, 14, 18} and at the air/water interface, as shown by Figure 4.6. The values of d reported for the air/water interface have been obtained from simulations of pure lamellar phases at the interface, which gives exactly the same interlamellar spacing as in tubes when their minima match the ones of the fringes (see Figure 4.2b), as most experiments have been performed with the 1-D detector that do not allow an unambiguous modeling with tubes. The value at 50 °C corresponds to the one of the planar stacked lamellar phase measured during the first hour of measurement for such a temperature. The bulk values of d are obtained from the positions of the Bragg peaks of the SANS experiments^{6, 13, 14, 18}. The interlamellar spacing follows the same trends in bulk

and at the air/water interface, confirming from a quantitative point of view the narrow link between surface and bulk.

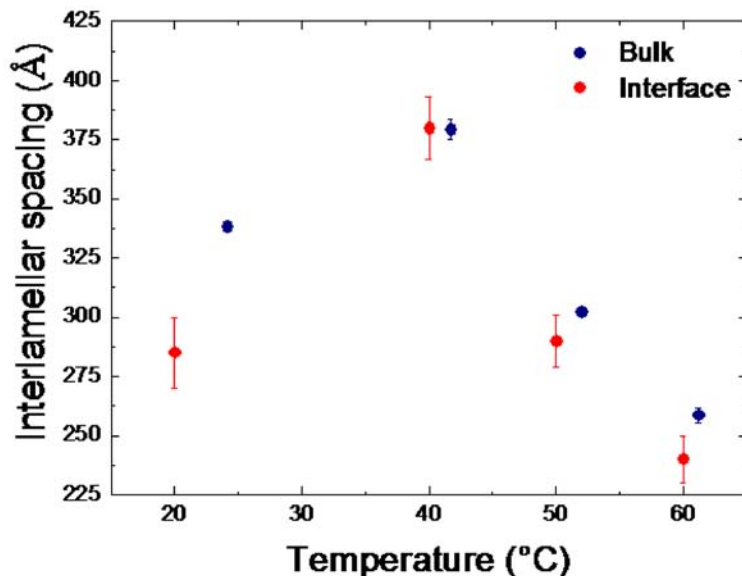


FIGURE 4.6 – Comparison between the evolution with temperature of the interlamellar spacing of tubes either in bulk or at the air/water interface.

4.5 Conclusion

We have shown here by specular neutron reflectivity that multilamellar tubes of ethanolamine salt of the 12-hydroxy stearic acid adsorb at the air/water interface. Similarly to what observed in bulk solution, the tubes have a temperature tunable diameter at the interface. Moreover, they have almost the same temperature dependence than in bulk. We have pointed a peculiar behavior around 50 °C at which the tubes unfold and coalesce to form a multilamellar phase at the interface. It is also remarkable that this set of structural transitions at the interface is also quasi-completely reversible at surface as in bulk, whether the temperature is increased or decreased. The complete structural behavior of the tubes at the interface and in bulk solution is summarized in Figure 4.7. Finally, let us remark that the tuning of the structure of the multilamellar tubes at the interface by the temperature provides to the system exceptional potential for its interfacial properties (foams and emulsions).

Author contributions

A.L FAMEAU designed research, performed research, analyzed data and contributed to write the paper.

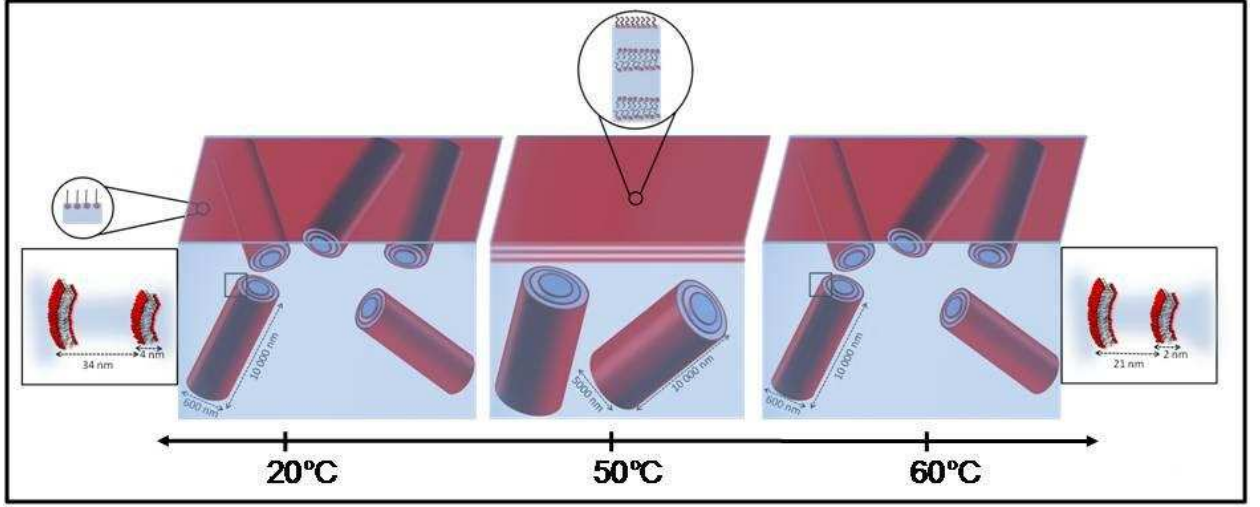


FIGURE 4.7 – Structural behavior of the tubes in bulk and at the air/water interface as a function of the temperature.

4.6 Appendix 1 : Theoretical Scattering Length Density profile of multilamellar tubes adsorbed on a planar interface

We define the zero position of the z -axis perpendicular to the surface at the ordinate corresponding to the contact between the monolayer and the tubes. Φ_S is defined as the surface fraction occupied by tubes of diameter D at $z = D$, *i.e.* Φ_S is 1 if all tubes are in contact. The volume fraction of fatty chains only due coming to the sole tubes $\Phi_{fc-tubes}(z)$ writes :

$$\Phi_{fc-tubes}(z) = \Phi_S \sum_{n=0}^{n=N-1} [A_n(z) - B_n(z)]$$

where $A_n(z)$ and $B_n(z)$ correspond respectively to the outer position and inner position of the n^{th} bilayer in the tubes, starting from the surface. We have thus $A_n(z) = 0$ for $z < nd$;

$$A_n(z) = \left(\left(\frac{D}{2} - nd \right)^2 - \left| z - \left(\frac{D}{2} \right) + nd \right|^2 \right)^{1/2} \quad \text{for } nd < z < D - nd$$

$$A_n(z) = 0 \quad \text{for } z > D - nd;$$

and

$$B_n(z) = 0 \quad \text{for } z < nd + e$$

$$B_n(z) = \left(\left(\frac{D}{2} - nd - e \right)^2 - \left| z - \left(\frac{D}{2} \right) + nd + e \right|^2 \right)^{1/2} \text{ for } nd + e < z < D - nd - e$$

and $B_n(z)=0$ for $z > D - nd - e$;

Thus if we define z' by $z - t$ ($z' = 0$ at the air/monolayer), the volume fraction of fatty chains $\Phi_{fc}(z')$ in the plane perpendicular to the interface becomes :

$$\Phi_{fc}(z')=1 \text{ for } z' < t; \Phi_{fc}(z')=\Phi_{fc-tubes}(z) \text{ for } t < z' < D + t; \Phi_{fc}(z')=0 \text{ for } z' > D + t;$$

And the SLD profile becomes $N_b(z')$:

$$N_b(z') = N_{b-fc}\Phi_{fc}(z') + N_{b-solv}(1 - \Phi_{fc}(z'))$$

where N_{b-fc} and N_{b-solv} are respectively the scattering length density of the fatty acid and of the solvent.

4.7 Supporting Information

4.7.1 Surface tension measurements

We first study the behavior of a solution made of tubes (1 mg/mL fatty acids) at the air/water interface by dynamic surface tension measurements. In the 'blank' experiment, a bubble of pure water yields an expected constant value as a function of time of 72.5 mN/m proving the good quality of our surface tension measurements (see Figure 4.8). Moreover, one obtained the same result with a diluted solution of pure ethanolamine (at a concentration of that used for the solution of tubes) showing that the counter-ion has no surface activity during that time of the experiment. In the case of the solution made of fatty acid tubes, the kinetic curve presents three distinct regimes, showing that the diffusion of the surfactants towards the interface and their reorganization at the surface involves several processes. First, there is an immediate and fast decrease of the tension surface which occurs during the formation of the bubble since the initial value is 54 mN/m. Note that quantitative measurements cannot be performed for a time smaller than 1 s. This first decrease is assigned to the adsorption of fatty acids monomers, which either coexist in the bulk solution with the tubes or result from the unfolding of tubes. The surface tension slightly decreases down to ≈ 50 mN/m at 3 seconds. Then, there is a break of slope in the curve and a strong decrease of the surface tension down to 38 mN/m after 5 seconds. Then, the surface tension is further more or less stable up to 100 seconds and decreases slightly to reach a value of 30 mN/m after 10000 s may be due to some rearrangements at the interface.

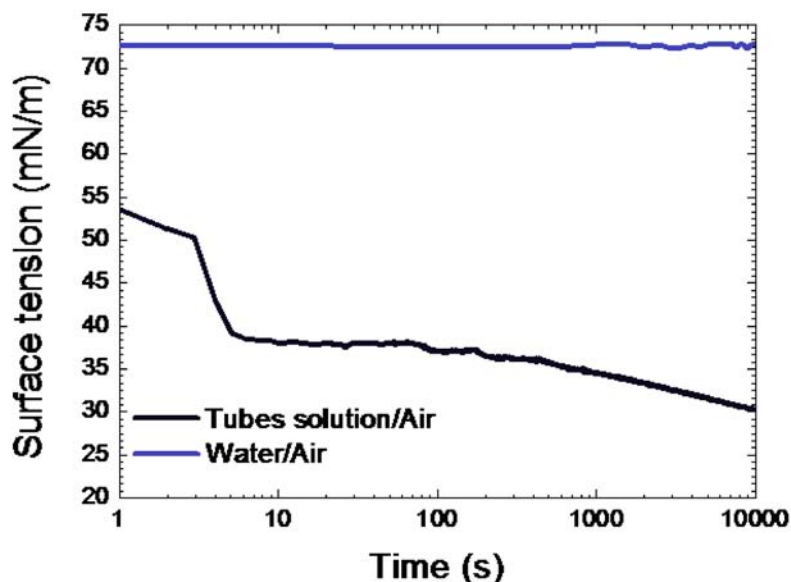


FIGURE 4.8 – Dynamic surface tension measurements of 12-hydroxy stearic acid salt at the air/water interface (1 mg/ml) at 20 °C compared with the one of a pure air/water interface.

4.7.2 Influence on the area of integration of the specular signal on the 2-D detector compared with the 1-D detector.

We show in Figure 4.10 the raw data of the scattering on the 2-D detector of multilamellar tubes at the air-water interface in reflectivity geometry. The only procedure that has been applied on the data is the division of the spectrum by the direct white beam to take into account of the maxwellian distribution of the wavelengths's flux of the incoming white beam. The spectrum is asymmetric in the x direction because a pixel does not correspond to a constant Q_x wavevector. The size of a pixel is $5*5 \text{ mm}^2$. We clearly observe a very intense diffuse scattering. 3 different areas of integration of the specular signal are shown in the Figure 4.10 that corresponds to respective thicknesses of 1 pixel, 2 pixels or 4 pixels. The specular neutron reflectivity curves of Figure 4.9 have been obtained with theses 3 zones.

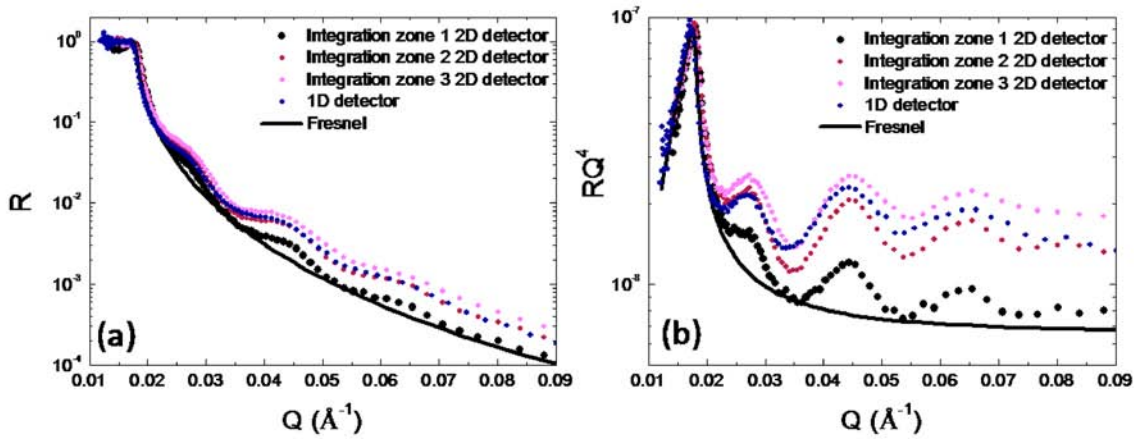


FIGURE 4.9 – Comparison of the SNR results of a solution of fatty acids at 20 °C measured either with a 1-D detector or with the 2-D detector (with 3 different integration areas, see Main Text and Supplementary Information). The solid line is a calculation of the Fresnel reference SNR of a pure air/D₂O interface. (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4R(Q)$ versus $f(Q)$

For the two largest ones, some off-specular signal is integrated, interfering with the exact determination of the specular scattering. For comparison we provide the results obtained with the 1-D detector, which has a thickness of 10 mm. It clearly appears that it integrates too much diffuse scattering because its level is of the order of the 2nd integration on the 2-D detector.

4.7.3 SNR with 3 different H₂O/D₂O compositions experiments to discriminate between surface and bulk scattering.

In order to determine if the signal measured in SNR arise from the surface scattering of fatty acid materials and/or from the intense SANS scattering of the tubes in solution below the interface, we have performed different experiments at 20 °C (1 mg/mL fatty acids) and with 3 different H₂O/D₂O compositions of the aqueous solvent (40 %H₂O/60 %D₂O, 20 %H₂O/80 %D₂O and 100 %D₂O). The results are displayed in Figure 4.11a and Figure 4.11b. They show $R(Q)Q^4$ versus $f(Q-Q_c)$ where Q_c is the critical wave vector corresponding

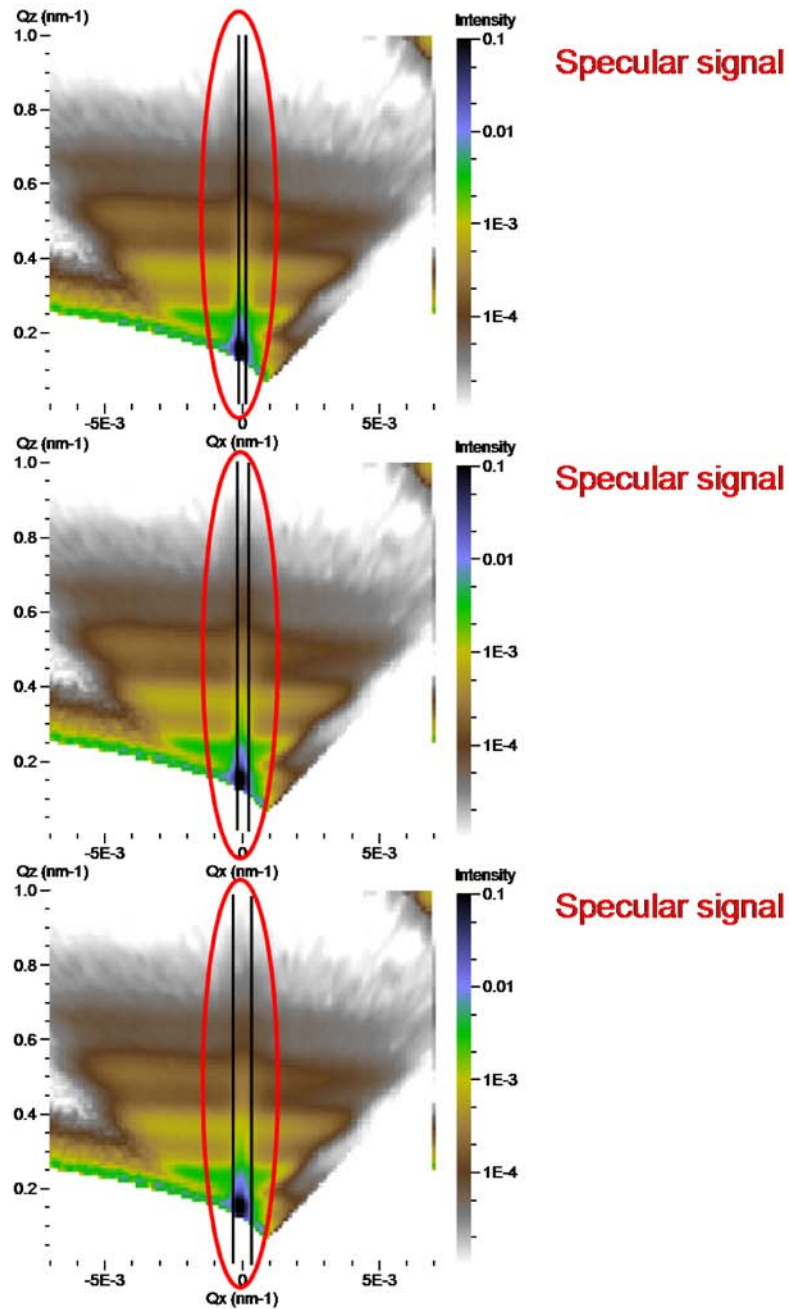


FIGURE 4.10 – Off-specular data of the scattering on the 2-D detector of multilamellar tubes at the air-water interface in reflectivity geometry. (a) Integration of specular signal with 1 pixel. (b) Integration of specular signal with 2 pixels. (c) Integration of specular signal with 4 pixels.

to each air/mixture of H₂O/D₂O (respectively $Q_c = 1.35 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ for 40 %H₂O/60 %D₂O, $Q_c = 1.63 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ for 20 %H₂O/80 %D₂O and $Q_c = 1.82 \cdot 10^{-2} \text{ \AA}^{-1}$ for 100 %D₂O). The shapes of the curves are very similar, with some fringes that have the same d-spacing and the same amplitude, but from one sample to another, the fringes are all shifted by a value equal to the critical wave vector Q_c corresponding to the water composition. Thus a $Q-Q_c$ shift of the data, as shown in Figure 4.11b brings back the fringes at the same abscissa.

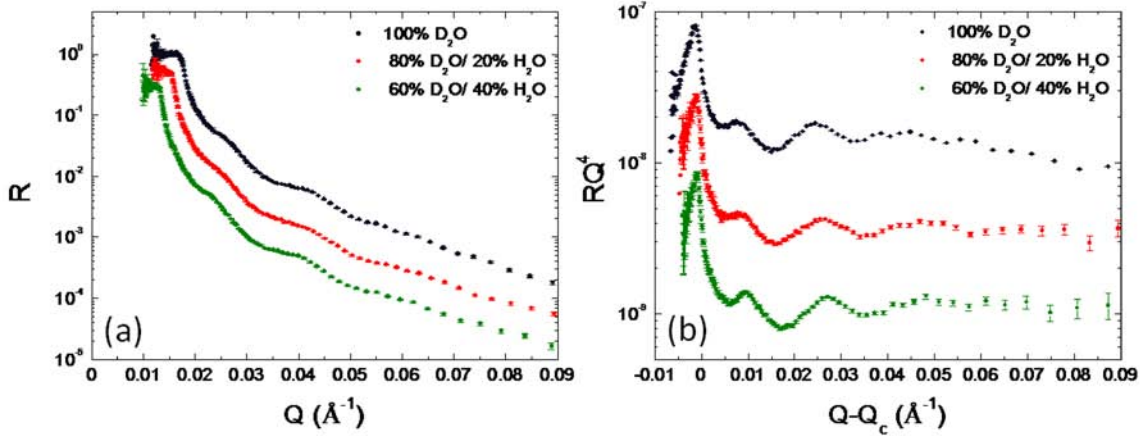


FIGURE 4.11 – Comparison of the SNR results of a solution of fatty acid tubes at 20 °C for 3 different H₂O/D₂O compositions of the aqueous solvent (measurements with the 1-D detector). (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4R(Q)$ versus $f(Q-Q_c)$. The data are shifted in intensity for clarity.

4.7.4 Influence of the different geometric parameters of the model of multilamellar tubes adsorbed on a planar interface on the Specular Neutron Reflectivity curve

In the main text, we model the experimental SNR curve with tubes adsorbed on the monolayer at the interface with same geometrical parameter as observed in bulk. This model depends on the following parameters : Interlamellar spacing d , bilayer thickness e , tube diameter D , with a number N of bilayers by tube, and a given surface density Φ_S . We show here the impact of the different parameters on the SNR curve to demonstrate that we can get a real confidence in our physical description of the data as a model of tubes adsorbed on the surface. We present here different calculations of tubes adsorbed at the interface where each parameters is varied independently from the others in order to show the influence of a variation of each parameter on the resulting SNR curve.

In the Figure 4.12a, we show the effect of the number of bilayer by tubes N . Clearly, it appears that from $N=3$, we have no longer tiny interferences fringes. In the Figure 4.12b, we show the effect of the interlamellar spacing d . This parameter fixes unambiguously the Q -position of the minima of the fringes. In Figure 4.12c, we show the influence of the surface density of tubes Φ_S . This parameter only plays a role on the amplitude of the fringes. Finally, in the Figure 4.12d, we show the influence of the addition of an additional perturbative

background with a kQ^{-4} term, where k is a variable constant that can take into account some remaining SANS scattering in the Porod regime. It appears that the model of tubes matches very well the shape of the experimental SNR curve but it remains below the level of the experimental SNR curve in a Fresnel representation. This perturbative background enables to recover the level of SNR of the experimental curve. However, this rude additional treatment alters the shape of the calculated SNR curve because it has a more important weight for the minima of the fringes than for the maxima.

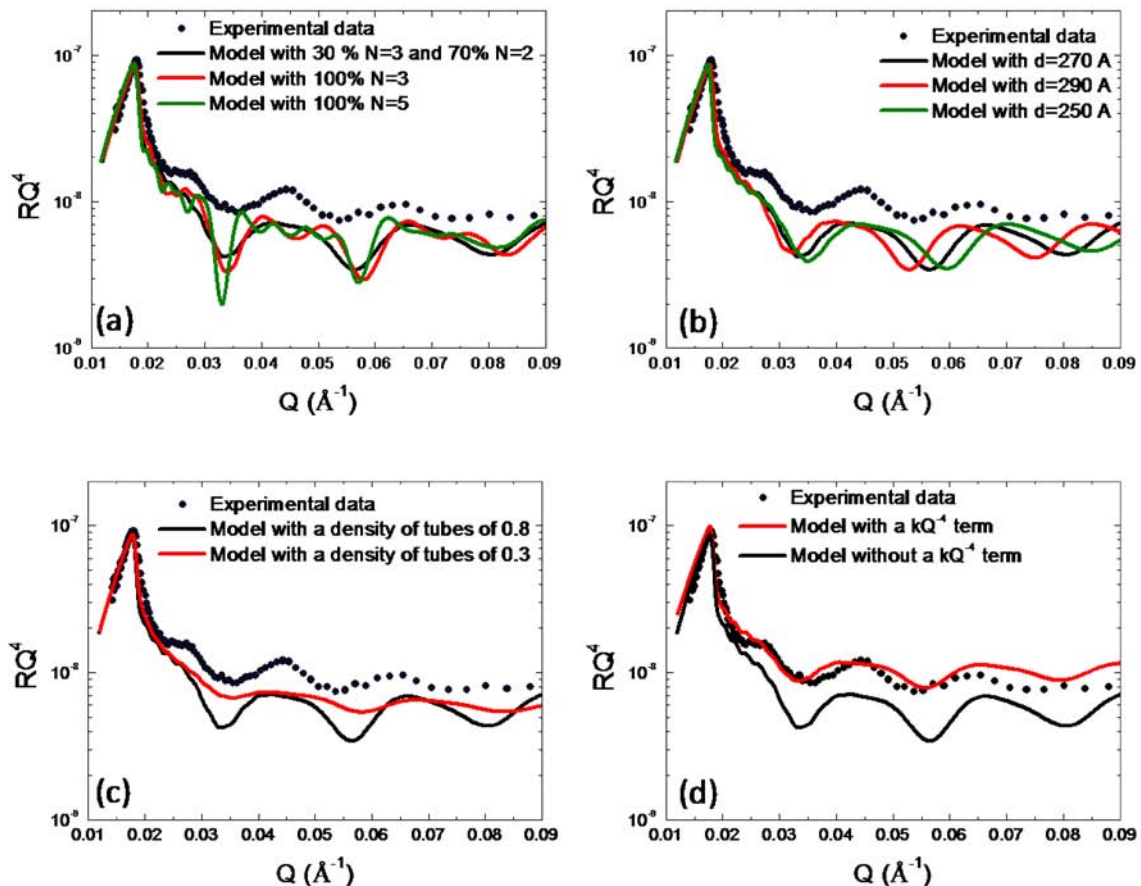


FIGURE 4.12 – Comparison of the SNR results of a solution of fatty acids at 20 °C with a monolayer of fatty acids, with the model of tubes adsorbed at the interface as describes in the paper by varying separately each parameter independently. (a) Effect of the number of bilayer by tubes N . (b) Effect of the value of the interlamellar spacing. (c) Effect of the given surface density of tubes Φ_S . (d) Effect of the addition of a perturbative background kQ^{-4} term that takes into account some remaining SANS perturbative background.

4.7.5 SANS of ethanolamine salt of 12-hydroxystearic acid solution at 70 °C : formation of micelles

Small-angle neutron scattering (SANS) experiments were performed at LLB on spectrometer PAXY. We use two configurations to get a Q -range lying between 0.005 \AA^{-1} and 0.4 \AA^{-1} (4 \AA at 1.4 m and 8 \AA at 6.7 m). The neutron beam was collimated by appropriately

chosen neutron guides and circular apertures, with a beam diameter at the sample position of 7.6 mm. The neutron wavelength was set to the desired value with a mechanical velocity selector ($\Delta\lambda/\lambda \approx 0.1$). The samples, prepared with deuterated water, were held in flat quartz cells with a 2 mm optical path, and temperature-controlled by a circulating fluid to within ± 0.2 °C. The azimuthally-averaged spectra were corrected for solvent, cell and incoherent scattering, as well as for background noise. The general theory for fitting the SANS data can be found in the literature²⁹. We complete here the results previously obtained by SANS in bulk^{6, 14, 18} on the tubes made of 12-hydroxystearic acid with the ethanolamine as counter-ion in order to understand the disappearance of tubes in optical microscopy at 70 °C. The result is presented in Figure 4.13. At large q , the scattering curve scatters like q^{-4} , which is typical from a Porod behavior that corresponds to the surface scattering of dense 3-D objects. It can be fitted in the Porod region with a form factor $P(q)$ of a sphere with a radius of about 22.5 Å (with a polydispersity of 0.35). It unambiguously confirms the formation of micelles at such a temperature, as previously suggested in ref⁸ from the disappearance of tubes in optical microscopy. At intermediate q around 0.04 \AA^{-1} , there is a broad correlation peak. Finally, at low q , there is a decrease of the scattering when going towards low q , showing that the system has a low isothermal compressibility. Such low compressibility, associated with the correlation peak, arises from a structure factor $S(q)$ associated with a homogeneous dispersion of a repulsive negative system. As they are charged, micelles strongly electrostatically repel over large distances. This structure factor does not prevent the determination of the micelles radius from the form factor because, for centrosymmetrical objects like spheres, $I(q) \propto P(q)S(q)$ and $S(q) \approx 1$ at large q . The position of the correlation peak at 0.04 \AA^{-1} , which corresponds in real space to the mean distance between micelles with a homogeneous dispersion, enables to recover the value of the radius of the micelles.

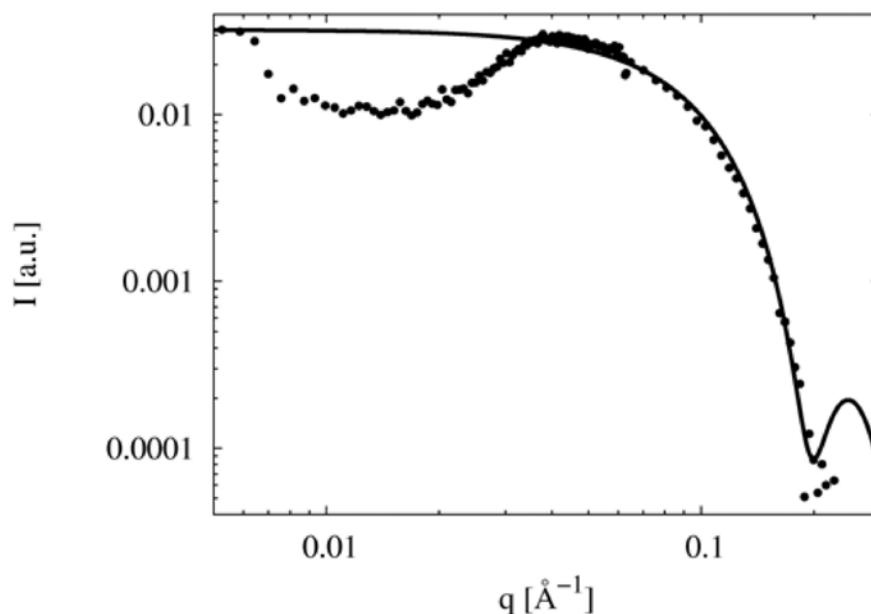


FIGURE 4.13 – SANS intensity profile for the ethanolamine salt of 12-hydroxystearic acid at 70 °C. The black line corresponds to the form factor of a sphere with a radius of about 22.5 Å.

Bibliographie

- [1] A. Heredia. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1620 :1–7, 2003.
- [2] J. F. Villena, E. Dominguez, and A. Heredia. Monitoring biopolymers present in plant cuticles by ft-ir spectroscopy. *Journal of Plant Physiology*, 156(3) :419–422, 2000.
- [3] J. Graca, L. Schreiber, J. Rodrigues, and H. Pereira. Glycerol and glyceryl esters of omega-hydroxyacids in cutins. *Phytochemistry*, 61(2) :205–215, 2002.
- [4] R. Klein, D. Touraud, and W. Kunz. Choline carboxylate surfactants : biocompatible and highly soluble in water. *Green Chemistry*, 10(4) :433–435, 2008.
- [5] R. Zana. Partial phase behavior and micellar properties of tetrabutylammonium salts of fatty acids : Unusual solubility in water and formation of unexpectedly small micelles. *Langmuir*, 20(14) :5666–5668, 2004.
- [6] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [7] B. Novales, A. Riaublanc, L. Navailles, B. H. Houssou, C. Gaillard, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly and foaming properties of fatty acid-lysine aqueous dispersions. *Langmuir*, 26(8) :5329–5334, 2010.
- [8] P. Terech, A. de Geyer, B. Struth, and Y. Talmon. Self-assembled monodisperse steroid nanotubes in water. *Advanced Materials*, 14(7) :495–497, 2002.
- [9] P. Terech, N. M. Sangeetha, S. Bhat, J. J. Allegraud, and E. Buhler. Ammonium lithocholate nanotubes : stability and copper metallization. *Soft Matter*, 2(6) :517–522, 2006.
- [10] P. Pescador, N. Brodersen, H;A. Scheidt, M. Loew, G. Holland, N. Bannert, J. Lieb-scher, A. Herrmann, D. Huster, and A. Arbuzova. Microtubes self-assembled from a cholesterol-modified nucleoside. *Chem Commun*, 46(29) :5358–5360, 2010.
- [11] P. Terech, N. M. Sangeetha, B. Deme, and U. Maitra. Self-assembled networks of ribbons in molecular hydrogels of cationic deoxycholic acid analogues. *Journal of Physical Chemistry B*, 109(25) :12270–12276, 2005.
- [12] R. Oda, I. Huc, M. Schmutz, S.J. Candau, and F.C. MacKintosh. Tuning bilayer twist using chiral counterions. *Nature*, 399(6736) :566–569, 1999.
- [13] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.

-
- [14] A. L. Fameau, B. Houinsou-Houssou, B. Novales, L. Navailles, F. Nallet, and J. P. Douliez. 12-hydroxystearic acid lipid tubes under various experimental conditions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(1) :38–47, 2010.
- [15] N. Kameta, H. Minamikawa, M. Masuda, G. Mizuno, and T. Shimizu. Controllable biomolecule release from self-assembled organic nanotubes with asymmetric surfaces : ph and temperature dependence. *Soft Matter*, 4(8) :1681–1687, 2008.
- [16] T. Shimizu, M. Masuda, and H. Minamikawa. Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chemical Review*, 105(4) :1401–1443, 2005.
- [17] Q. M. Ji, R. Iwaura, and T. Shimizu. Regulation of silica nanotube diameters : Sol-gel transcription using solvent-sensitive morphological change of peptidic lipid nanotubes as templates. *Chemistry of Materials*, 19(6) :1329–1334, 2007.
- [18] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [19] I. Tucker, J. Penfold, R. K. Thomas, and D. J. Tildesley. Interplay between the surface adsorption and solution-phase behavior in dialkyl chain cationic-nonionic surfactant mixtures. *Langmuir*, 25(7) :3924–3931, 2009.
- [20] A. J. Jackson, P. X. Li, C. C. Dong, R. K. Thomas, and J. Penfold. Structure of partially fluorinated surfactant monolayers at the air-water interface. *Langmuir*, 25(7) :3957–3965, 2009.
- [21] T. Vongsetskul, D. J. F. Taylor, J. Zhang, P. X. Li, R. K. Thomas, and J. Penfold. Interaction of a cationic gemini surfactant with dna and with sodium poly(styrene sulpho-nate) at the air/water interface : A neutron reflectometry study. *Langmuir*, 25(7) :4027–4035, 2009.
- [22] J. Penfold. Neutron scattering for surface characterization. *Current Science*, 78(12) :1458–1466, 2000.
- [23] J. R. Lu, R. K. Thomas, and J. Penfold. Surfactant layers at the air/water interface : structure and composition. *Advances in Colloid and Interface Science*, 84(1-3) :143–304, 2000.
- [24] J. Penfold and R. K. Thomas. The application of the specular reflection of neutrons to the study of surfaces and interfaces. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2(6) :1369–1412, 1990.
- [25] J. Penfold, R. K. Thomas, E. Simister, E. Lee, and A. Rennie. The structure of mixed surfactant monolayers at the air-liquid interface, as studied by specular neutron reflection. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2 :SA411–SA416, 1990.
- [26] G. Salamat, R. de Vries, E. W. Kaler, S. Satija, and L. P. Sung. Undulations in salt-free charged lamellar phases detected by small angle neutron scattering and neutron reflectivity. *Langmuir*, 16(1) :102–107, 2000.
- [27] D. J. McGillivray, R. K. Thomas, A. R. Rennie, J. Penfold, and D. S. Sivia. Ordered structures of dichain cationic surfactants at interfaces. *Langmuir*, 19(19) :7719–7726, 2003.
- [28] M. Rauscher, H. Reichert, S. Engemann, and H. Dosch. Local density profiles in thin films and multilayers from diffuse x-ray and neutron scattering. *Physical Review B*, 72(20), 2005.

- [29] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.

CHAPITRE V

Dans les chapitres précédents, nous avons déterminé l'évolution de la structure des tubes multilamellaires en solution et à l'interface en fonction de la température. Dans ce présent chapitre, les propriétés moussantes des tubes multilamellaires sont caractérisées. Le but est d'examiner si la structure des tubes en solution et à l'interface, que nous pouvons contrôler à l'aide de la température, peuvent permettre la maîtrise des propriétés moussantes. En effet, les propriétés des mousses sont gouvernées à la fois par les propriétés des films minces qui les constituent et qui sont formés de deux interfaces en regard (cf. Chapitre 1) et par la phase continue présente dans les bords de Plateau. L'objectif de cette partie est donc de répondre aux questions suivantes :

- Quelle est la structure des tubes multilamellaires au sein de la mousse (film mince et bords de Plateau) ?
- Quel est le rôle joué par cet assemblage dans la stabilisation de la mousse ?
- Peut-on générer des mousses à propriétés modulables sous l'action de la température à partir de cet assemblage ?

Afin de comprendre comment est stabilisée la mousse produite à partir de ce système, nous avons étudié celle-ci à différentes échelles caractéristiques : au niveau macroscopique, au niveau du film interfacial isolé modèle et au sein des bords de Plateau. Pour cela, nous avons couplé des techniques de microscopie optique, de balance à film mince et de diffusion de neutrons aux petits angles. Ces éléments d'informations obtenus aux différentes échelles permettent de comprendre comment est stabilisée la mousse à température ambiante et quelle est la structure adoptée par les tubes multilamellaires au sein de celle-ci. La stabilité de la mousse a été ensuite caractérisée en fonction de la température.

Nous avons démontré que les films de la mousse sont uniquement stabilisés par les monomères d'acides gras sous forme d'une couche dense quasi-solide ce qui contribue à limiter le mûrissement et la coalescence, augmentant ainsi la stabilité de la mousse. D'autre part, la présence d'une forte quantité de tubes dans les bords de Plateau forme un réseau de type gel limitant le drainage et ralentissant fortement la déstabilisation de la mousse. Ainsi, les tubes d'acides gras permettent d'obtenir des mousses *extrêmement* stables dans le temps à température ambiante contrairement aux tensioactifs classiques.

De plus, à hautes températures, la transition de tubes à micelles au sein de la mousse entraîne la déstabilisation de celle-ci. Ainsi, en modifiant la structure de l'assemblage *in situ* dans les bords de Plateau à l'aide de la température, il est possible de modifier la stabilité des mousses. Nous avons donc réussi à générer à partir des tubes multilamellaires des mousses dont la stabilité est modulable sous l'action de la température.

Chapitre 5

Smart foams : switching reversibly between ultrastable and unstable foams

Anne-Laure Fameau ^{1,2}, Arnaud Saint Jalmes ³, Fabrice Cousin ², Bérénice Houinsou-Houssou ¹, Bruno Novales ¹, Laurence Navailles ⁴, Frédéric Nallet ⁴, Cédric Gaillard ¹, François Boué ² and Jean-Paul Douliez ¹

- 1) Biopolymères Interactions Assemblages Inra, rue de la Géraudière, 44316 Nantes, France.
- 2) Laboratoire Léon-Brillouin, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, France.
- 3) Université Rennes 1, Institut Physique de Rennes, CNRS UMR 6521,35000 Rennes, France.
- 4) Université de Bordeaux, centre de recherche Paul-Pascal - CNRS, 115 avenue du Docteur-Schweitzer, 33600 Pessac, France.

Submitted to *Angewandte Chemistry*

5.1 Abstract

We report the production of an ultrastable aqueous foam made of tubular self assemblies of a hydroxyl fatty acid. That fatty acid readily goes to the interface where it forms a solid stable film preventing coalescence of bubbles and gas diffusion. The foam stability is also ensured by the presence of the tubes within the Plateau borders limiting drainage. Upon heating, those tubes transit to micelles at a given temperature at which the foam stability dramatically decreases. This is a versatile and simple way to produce temperature tuneable foams.

5.2 Introduction

From materials chemistry to soft matter and daily life, foams are edifices of outstanding importance. They can be used as sacrificial templates for the production of macroporous materials^{1, 2}, in food and cosmetics or for a large variety of other applications³⁻⁶.

Although a strong effort has been made for understanding the aging of foams⁷ and consequently for increasing their stability and properties *via* their chemical formulation⁸⁻¹⁰, there still does not exist a system which would exhibit high foamability in parallel with drastic reductions of the aging processes, leading to huge lifetimes. An *optimal* foam would be made from solutions of foam stabilizers which could move rapidly and readily at the interface (foamability) and subsequently produce an irreversibly adsorbed elastic layer at that interface, resisting to compression and thus limiting film breaking and gas diffusion (coalescence and coarsening). In addition, those ideal foams stabilizers should contribute to limit drainage in the Plateau borders, kinetically increasing the foam stability. Up to now, it remains difficult to conciliate both the foamability and the resultant foam stability, as optimizing one reduces the other.

For instance, partially hydrophobic solid particles allow the formation of very long-living foams^{11, 12} (over weeks) by forming a very solid layer at the interface, which annihilate the foam coarsening. But the liquid drainage is usually not stopped in these solid-stabilized foams though, the addition of more hydrophilic particles could limit the liquid drainage *via* their accumulation in the liquid channels, the so called Plateau borders. But these solutions of solid particles yield the production of a limited amount of foam (poor foamability). Their adsorption dynamic is slow and the adsorption barriers are high. Thus a high energy is required to produce uncontrolled limited amount of foam. Solid particles also present the strong inconvenient that they may aggregate in water and the foaming solution is not stable in time (sonication procedure prior the formation of the foam is usually required).

By contrast, low molecular weight surfactants can more readily adsorb at the interface. However, they do not yield sufficiently solid film and film breaking or coarsening may occur more easily. For instance, SDS, CTAB or lauryl ether sulphate, which are the most common used surfactants have a good foamability, but produce foams with a stability that does not exceed a few ten minutes. Proteins solutions provide foams in between these two extremes, but often with still low foamability and aging not drastically reduced when compared to surfactant foams¹³⁻¹⁶.

Thus, it remains to discover a system providing both high foamability and arrest of aging. Although those properties are of strong importance, an additional very attractive feature of foams would be the possibility of tuning the foam stabilisation/destabilisation by a simple external trigger. Indeed, in some cases, good foam stability is initially required but the foam should be finally voluntarily destructed. This is the case for instance for recovering radioactive materials or in various washing processes. The first attempt to produce responsive foams have been realized using latex particles¹⁷ increasing the pH by dropping diluted NaOH on the foam. However, such a drastic destabilizing procedure has the strong disadvantage that foams cannot be longer re-formed, except if one further re-decreases the pH of the solution what may not be satisfactory in many applications. Tuning the foamability (but not the foam

stability) has been achieved by the temperature or UV irradiation¹⁸. If some results start to be collected on responsive surfactants or gels (with reversible effects)¹⁹, almost nothing has been found yet with foams.

Here, we report sustainable system which gathers a good foamability and an outstanding foam stability which can then be readily tuned to weak foam stability by temperature. To achieve this goal, we use as foam stabilizer a surfactant system made of the 12 hydroxy stearic acid (12-HSA). Fatty acids exhibit low surface tension^{20, 21} and have promising surface properties²². Moreover, the 12-HSA is known to form highly elastic layers at an air/water interface (and even crystalline structures at high surface concentrations) because of strong intermolecular interactions induced by hydrogen bonding between hydroxyl groups²¹. Indeed, fatty acids are the model systems for investigating the properties of insoluble Langmuir interfacial monolayers^{23, 24}. The use of fatty acid would allow us to significantly increase the foam stability by limiting film breaking and gas diffusion. However, the main problem is that fatty acids are insoluble or crystallise in water hampering their use as surface active agents²². To tackle this problem, one of our major achievement was to successfully disperse 12-HSA in water using an organic counter-ion (ethanolamine or hexanolamine) : under such conditions, one obtains self assemblies of multilayer tubes of 10 μm length and 600 nm diameter^{25, 26}. The role of the architecture supramolecular assembly was evidenced by the switching of the ethanolamine counter-ion to tetrabutyl-ammonium that yields micelles instead of tubes and exhibit unstable foams²⁶. Besides, it is known that those tubes melt into micelles at a temperature which can be tuned by the nature of the counter-ion²⁷. Hence, we show here that the melting of tubes under micelles upon heating allows us tuning the foam stability by modifying the temperature.

We first describe the foamability and the outstanding foam stability of that system at room temperature, establishing the link with the supramolecular assembly (tubes) in water. We further show how to destabilize that foam by simply heating the foam and how it is related at local scale to the transition from tubes to micelles.

5.3 Materials and methods

5.3.1 Sample preparation

Fatty acid and hydroxylated fatty acid (Sigma Aldrich, 75 % purity) were weighed exactly in a tube and ultra pure water was added so that the concentration was varied from 10 mg/mL (1 %) to 40 mg/mL (4 %). Then, we incorporated the desired volume of a 1 M stock solution of the counter-ion (ethanolamine or hexanolamine) to reach equivalence (12-hydroxy stearic acid/counter-ion molar ratio $R=1/1$). The mixture was heated at 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. Prior to use, each sample was heated at 80 °C for 15 min and cooled at room temperature.

5.3.2 Small-angle neutron scattering (SANS)

Small-angle neutron scattering (SANS) experiments were performed at Laboratoire Léon-Brillouin (laboratoire mixte CEA/CNRS, Saclay, France) on spectrometer PAXY. The neu-

tron beam was collimated by appropriately chosen neutron guides and circular apertures, with a beam diameter at the sample position of 7.6 mm. The neutron wavelength was set to 4.5 or 13.5 Å with a mechanical velocity selector ($\Delta\lambda/\lambda \approx 0.1$), the 2D detector (128x128 pixels, pixel size 5x5 mm²) being positioned at 4.55 m and 1 m. The scattering wave vector, Q , then ranges from typically 0.005 to 0.3 Å⁻¹, with a significant overlap between the two configurations. The samples, prepared with deuterated water, were held in flat quartz cells with a 2 mm optical path, and temperature-controlled by a circulating fluid to within ± 0.2 °C. The azimuthally-averaged spectra were corrected for solvent, cell and incoherent scattering, as well as for background noise. The general theory for fitting the SANS data can be found in the literature²⁸ and our present data were fitted with models which were previously described for other fatty acid systems^{25, 26, 29}.

For those experiments, we used the following procedure for obtaining foams : it involves two syringes in which the first syringe contains the initial tubes solution and the second the air, both being connected by a small plastic connector. Pushing alternatively the plungers of both syringes several times yields ultrastable foams which can be used to fill the flat quartz cells with a 2 mm optical path

5.3.3 Preparation of foams

(i) Foams were produced and characterized with a FOAMSCAN developed by IT CONCEPT (Longessaigne, FRANCE). Foam is generated in a glass column (21 mm in diameter) by sparging N₂ gas through a fixed volume (12 mL) of the aqueous phase (fatty acid dispersion) *via* a porous glass filter (pore size 10-14 μm). With this instrument, the foam formation and stability can be determined by conductivity and optical measurements. The flow rate was fixed at 35 mL/min. All foams were allowed to reach a final volume of 45 mL after which the gas-flow was stopped and the evolution of the foam was analyzed. The foam volume was determined with a CCD camera (Sony Hexwave HAD). The liquid volume in the foam was assessed by mean of conductivity measurements along the foam column.

(ii) Hand Shaking : Foam samples were prepared by vigorous hand shaking of cylindrical plastic containers (30 mm internal diameter, 120 mm height) filled with 15 mL of fatty acids dispersion during 30 seconds.

5.4 Results and discussion

5.4.1 Foams at room temperature

We produced foams using the multilamellar tubular system (Figure 5.1) either by hand-shaking (HS-foams) or by using a Foamscan apparatus (F-foams) (providing bubbles of diameter between 50 to 100 microns in case of good foaming solution). The stability of HS-foams was evaluated over 6 months by comparing photos taken at different times (Figure 5.1). Foams were shown to be outstandingly stable (over weeks) suggesting us to describe them as 'ultrastable' foams. To our knowledge, such foam lifetimes obtained using amphi-

philes are unprecedented and has only be observed up to now, when using solid particles^{11, 12}.

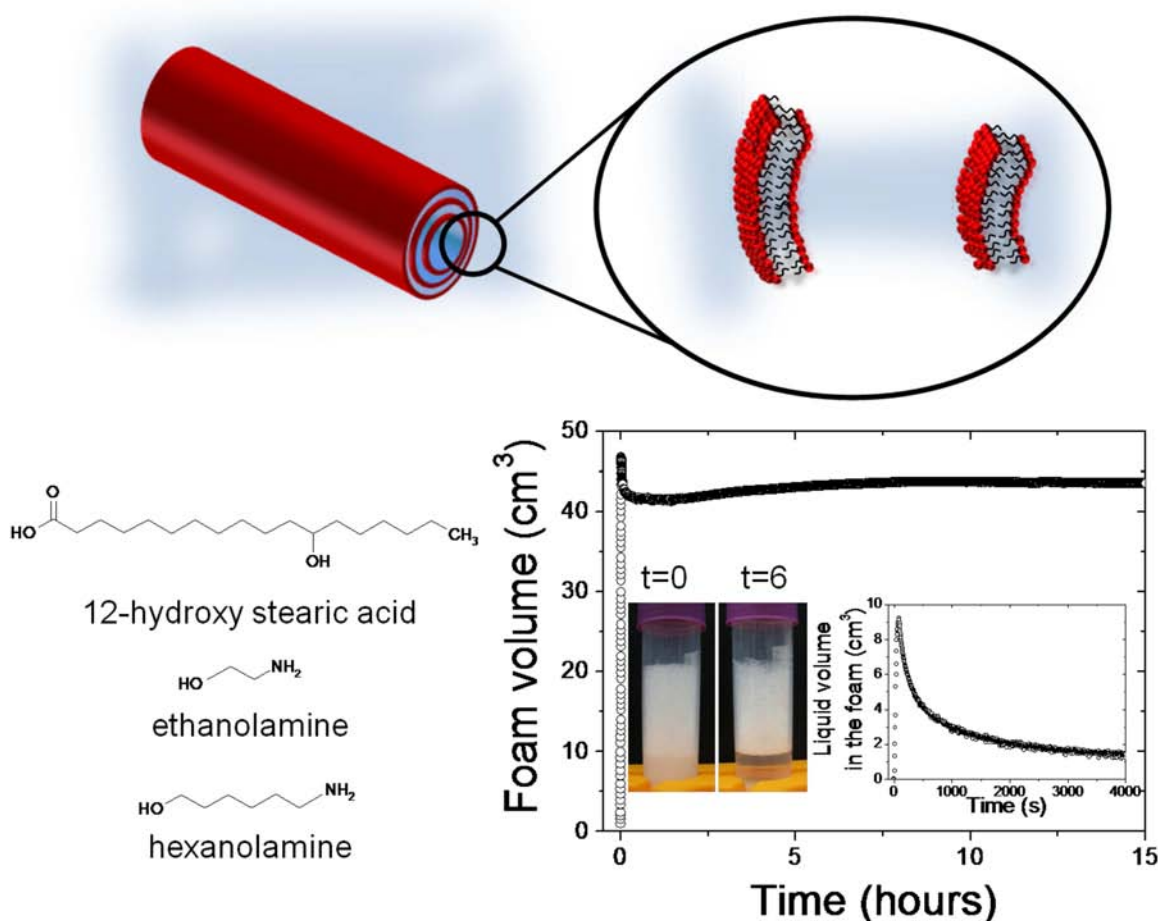


FIGURE 5.1 – Top : Schematic representation of the multilayer tubes. Bottom : (left) Chemical structure of the 12-hydroxy stearic acid and the counter-ions used. (right) Foaming properties as recorded by the Foamscan apparatus in the system 12-HSA/ethanolamine at 10 mg/mL fatty acids. Using this instrument, F-foams are produced by bubbling gas (flow rate= 35mL/mn) in the solution containing tubes *via* a porous glass filter (pore size 10-14 μm) this creates bubbles of diameter between 50 to 100 microns. A maximal foam volume is fixed and reached at about 78 s. Then, the gas flow is stopped and the foam volume is determined by a CCD camera. The evolution of the foam liquid as a function of time is shown in the inset. In the inset, photos of HS-foams taken at different time as indicated on the right in the system 12-HSA/ethanolamine at 40 mg/mL fatty acids. The turbid tubular solution which has drained is visible in the lower part of the sample tube (white culot). Clearly, images at 6 months interval are rather similar showing that our foams are 'ultrastable'.

The foaming properties were further studied on a shorter period of time, (15 hours, still strikingly long when compared to surfactant foams) using F-foams (Figure 5.1). Producing foams by this procedure allows a quantitative description of that edifice in terms of how much foam volume is produced (foamability), how wet it is initially and how this foam ages. The foamability was found to be optimal since all the gas was encapsulated in the foam at the end of bubbling (see details in supporting information). The foam also entrapped large amount of liquid : at the end of bubbling, the average liquid fraction was around 20 %, which

correspond to relatively wet foam. The fact that the produced foams are wet means that the bubble size has remained small and constant during the production : this shows that no bubble coalescence occurs, even at short times during bubbling. Interfaces are thus optimally and extremely rapidly covered, just like for a very good low molecular weight surfactant solution. Once the foam is produced, its high stability was confirmed because the foam volume remained constant over the period studied and the bubble size did not change. However, the foam drained within 30 minutes. It is worth noting that it remains some liquid within the structure : about 5 % in average over the foam column. Then, the foam is mainly optimized in terms of no film breaking nor coarsening, but less efficient for a full drainage reduction.

At this stage, one needs to determine the origins of this outstanding stability, and how this is connected to the supramolecular assemblies. The remaining presence of tubes in the foam was first confirmed by confocal microscopy using a hydrophobic fluorescent probe inserted into the multilamellar tubes. One clearly observed the rod like structures between the air bubbles (Figure 5.2). This shows that although some tubes unfolded upon foam formation (shearing) allowing free monomers which moved at the interface, they are still present in the foam liquid channels (Plateau borders). Here, it must be noted that the length of the tubes is reduced in the foam compared to the bulk solution (Figure 5.2 A and B). This probably occurred during foam formation.

The structure of the supramolecular assembly of fatty acids at the local scale was probed by Small angle Neutron Scattering (SANS). The experiments were carried directly on the foam, and compared with the initial tubes solution (stock solution) and the liquid solution which drained after foaming (Figure 5.2). In the case of foams, it was first checked by contrast variation that the recorded scattering corresponded to SANS scattering and not to neutron reflectivity, as observed in other systems³⁰ (see supporting information Figure 5.5). The three azimuthally-averaged spectra were clearly similar. They show Bragg peaks at the same Q-position. Those peaks stand for the multilamellar arrangement of the fatty acid bilayers within the tubes²⁵. The only difference in the case of the foam is the Q^{-4} scattering decay at low Q which accounts for the Porod surface scattering of the large bubbles of the foam. This also confirms the presence of tubes in the foam channels. Although their length may have changed in the foam, the tubes are still composed of multilamellar fatty acid bilayers exhibiting similar properties than in the stock solution.

Other important information on this foam structure have to be collected at the scale of the lamellae which separates two bubbles in contact. Figuring out the mechanisms governing the stability of this thin lamellae is crucial for explaining why bubbles coalesce or not, and how gas diffuses from small bubble to large bubbles (coarsening).

We have performed experiments with a 'thin film balance' apparatus³¹ and have found that the lamellae separating the bubble are made of a thin central part (with thickness of a few tens of nm) surrounded by a large meniscus, connecting the lamellae to the much wider Plateau borders (see supporting information Figure 5.6). The existence of this central and uniform thin part of the lamellae (corresponding to what is called a 'black film'³¹) indicates that there is always a contact region between bubbles from which the tubes are expelled. The tubes appears to be collected and jammed within the surrounding meniscus : indeed, this

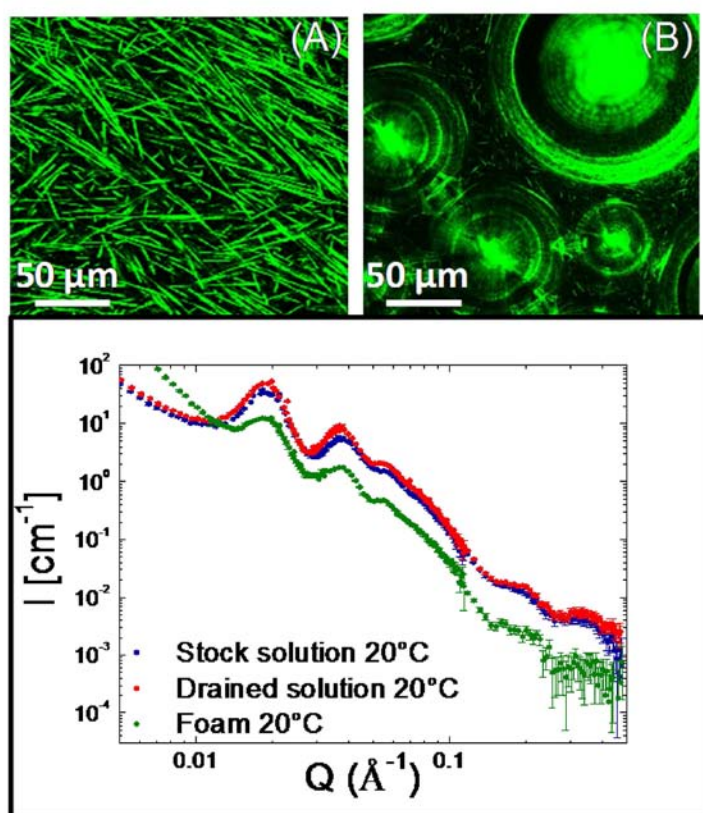


FIGURE 5.2 – (Top) confocal microscopy images of a bulk solution of tubes (A) and a foam (B) which was deposited on glass lamellae and further covered with a glass plate using a spacer between them. 12-HSA was mixed with 0.01 % of a hydrophobic fluorescent probe (Red Nile) in a solvent mixture which was further evaporated. Further addition of ethanalamine and water (plus freeze-thawing cycles) yielded tubes. (Bottom) SANS data recorded for the foam, the stock solution and the liquid solution which drained after foaming.

transition zone, connecting the films to the Plateau borders is much extended than what is usually found for surfactant foams (see the details in the supporting information 5.6 picture).

This specific structure of the lamellae separating the bubble turns out to be quite efficient for the huge reduction of the foam aging. First, the thin central part of the lamellae is made of two repulsing interfacial layers on which only free monomers of 12-HSA are adsorbed. These layers are most likely within a condensed-like state with the alkyl chains in close packing. It is well known that the presence of fatty acids adsorbed at an interface provide interfacial layers of high dilational moduli E reaching easily hundreds of mN/m as the molecules are insoluble^{21, 23, 24}.

Moreover, it is also known that hydroxylated fatty acids can pack at interface even more than usual fatty acids²¹. Such high dilational moduli (or low compressibility) is indeed a main reason why coarsening is almost stopped : the Gibbs criterion states that coarsening stops if $E > \gamma$, where γ is the surface tension. In fact, if the bubble interfaces cannot be continuously compressed, the smallest bubble cannot vanish towards the largest ones, and coarsening is blocked^{4, 6, 7}.

Secondly, coarsening and lamellae ruptures are also limited because the area of the thin contact part between bubbles (through which most of the gas diffusion occurs) is small, due to the presence of the tubes in the menisci which make these menisci thicker and wider than usual.

Adding the fact that the tubes can be jammed within the Plateau borders (at least, at the latest stages of drainage when the borders are already well shrunk) completes the picture which explains rather well the surprising long lifetime of these foams. We have thus here a first system, which foams easily, and which does not coarsen nor collapse because of an optimal arrangement of monomers and tubes within the foam structures.

5.4.2 Foams as a function of the temperature

Foams were further heated and their stability was assessed. It must be recalled that the multilamellar tubes exhibit a variation of their diameter (from 600 nm to 5 μm) at a given temperature denoted $(T_{\odot\uparrow})$ ²⁷, and further melt into micelles at T_m . Moreover, the temperature at which those phenomena occur depends on the nature of the counter-ion. $T_{\odot\uparrow}$ and T_m are 48 °C and 70 °C for the ethanolamine salt (respectively, 35 °C and 60 °C for the hexanolamine salt).

HS-foams made with the ethanolamine salt were still remarkably stable up to two weeks at 60 °C (respectively 50 °C for the hexanolamine salt, see supporting information 5.7). That high stability was quantitatively evidenced on the F-Foams (Figure 5.3). Note that the variation of the tube diameter upon heating does not strongly influence the foam stability. SANS data at those different temperatures were also similar in the foam, the stock solution and the liquid solution which drained after foaming (see supporting information 5.8). This shows that tubes are always present in foams and have the same behaviour as in bulk solution. However, at a temperature above that of the melting of the tubes, the foam could still be produced but was no longer stable as the foam volume quickly decreased with time (Figure 5.3).

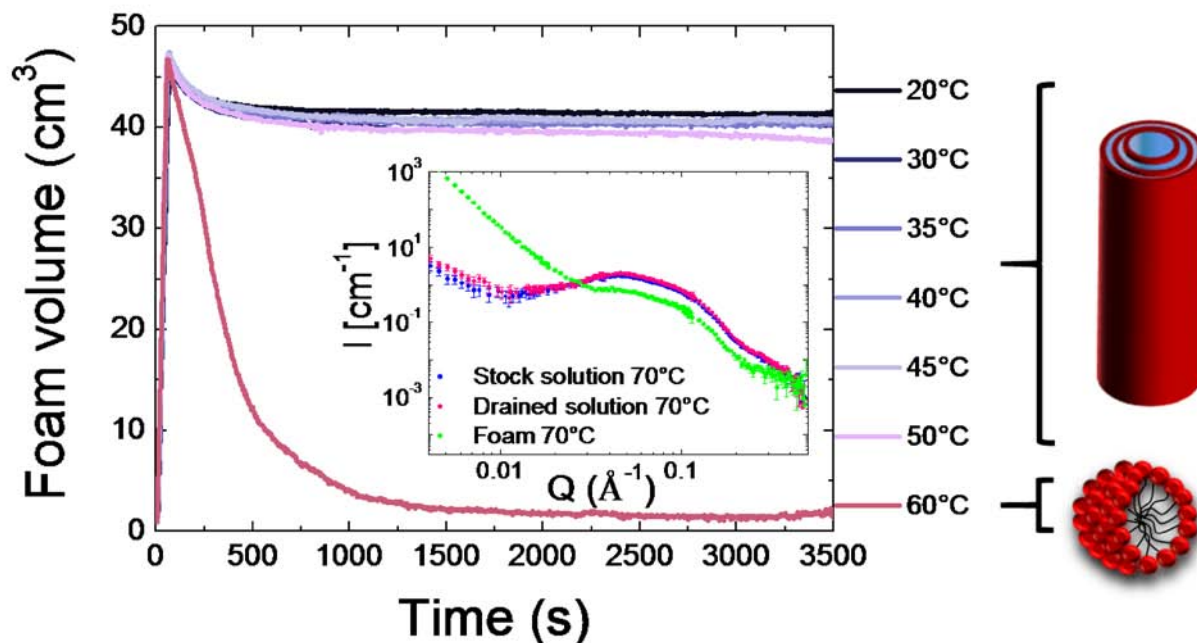


FIGURE 5.3 – Evolution of the foam volume as a function of time in F-foams at different temperatures indicated on the right. Here, one has chosen the 12-HSA/hexanolamine system for experimental reasons because tubes melt at a lower temperature for that system. In the inset, SANS data at 70 °C (in the 12-HSA/ethanolamine system) showing that micelles are formed at that temperature in both the foam and the aqueous solutions (drained and stock).

Destabilisation occurred in only 15 minutes as observed on the HS-foams placed in an oven at 60 °C (see photos, supporting information 5.9). This effect is dramatic since the destabilisation passes from two weeks to few minutes in only few degrees. This event occurs exactly at the tube/micelle transition in both foams made of the ethanolamine and hexanolamine salts. The SANS data above that transition show that micelles (which have replaced tubes) are indeed present in solution but also in the foam (Figure 5.3).

Here, we can only speculate on the origins of foam destabilization. Many effects which can lead to film rupture and foam collapse can occur, as listed below. Lamellae and foams are fragile and brittle edifices especially if the interfacial layers are solid-like as expected here. So, when the temperature is raised, interfacial flows, changes in the shape of the film and meniscus around them must be triggered, easily leading to the lamellae rupture. We also believe that above the tube/micelle transition, the interfacial layers becomes softer and less condensed because of faster exchanges of monomers between the interface and the micelles than between the interface and the tubes. Also, the micelles are probably more labile than tubes. Lastly, fatty acids become more soluble at high temperature. Altogether, this leads to a rapid and efficient foam destabilization.

5.4.3 Tunable foams

This offers us a versatile and simple way to produce temperature tuneable foams. The triggering of the foam stability by the temperature is illustrated in Figure 5.4. Initial stable foam made with the hexanolamine salt at 20 °C has a given constant foam volume which markedly decreases when the temperature is raised up to 60 °C (Figure 5.4, left). Obviously, the foam is dramatically destabilized at that temperature in agreement with our previous experiments (Figure 5.3). Remarkably, decreasing back the temperature to 20 °C is accompanied by a sudden stop of the decrease of the foam volume which becomes constant again as a function of time.

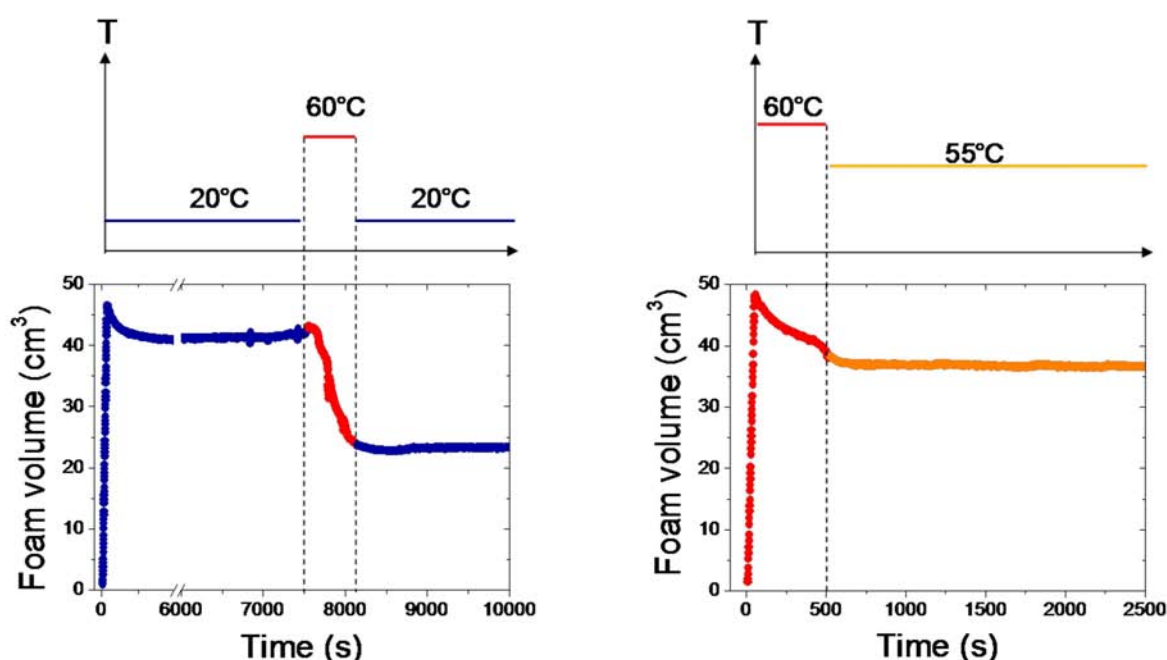


FIGURE 5.4 – Evolution of the foam volume as a function of time and the temperature (in the 12-HSA/hexanolamine system). The foams were produced at a given temperature. During the course of the experiment, the temperature was varied at a time and temperature indicated by an arrow.

If the foam is produced at high temperature it is not stable what is evidenced by the quick decrease of the foam volume (Figure 5.4, right). However, here again lowering the temperature to 55 °C, a temperature at which the tubes are reformed, enables to recover a very stable foam. An additional increase of the temperature yields the complete destruction of the foam as illustrated in additional curves showing the evolution of the foam stability upon changing the temperature (see supporting information 5.10). Altogether, this suggests that tubes reformed in the foam upon cooling, as observed in the bulk when crossing the tubes-micelles transition, allowing recovering the stabilisation of the foam. This almost instantaneous phenomenon yields a complete reversibility to the system. Moreover, the foam can also be regenerated (when it has been destabilised at high temperature) by a simple re-injection of gas in the column below the temperature at which tubes melt into micelles.

5.5 Conclusion

In terms of foam stability, this system made of multilamellar tubes of 12-hydroxystearic acid combines the advantages of both the solid particles and the amphiphiles, since those fatty acids readily and quickly go at the interface but also produce solid layers which cannot be indefinitely compressed. In addition, the tubes allow preventing the flows in the menisci surrounding the films, and reduce the drainage flows.

Of particular interest is that the phase transition of tubes into micelles upon heating yields tuneable foams which can then be destabilised in a few minutes. Moreover, since no additives are used for the destabilisation procedure, the (destabilised) foams can be regenerated immediately by bubbling again at a temperature below the tubes-micelles transition. This system is unique compared to other amphiphile-forming tubes which generally melt into vesicles³².

Moreover, the multilamellar tubes can survive to various changes of physico-chemical parameters³³. It can be used in large amount at low cost in various conditions. 12-hydroxy stearic acid is a generic molecule of better availability than phospholipids or even proteins that results from the hydrogenation of a sustainable material, *i.e.*, ricinoleic acid. Altogether, this shows that foams can be triggered by a simple parameter, the temperature, by using a thermo sensitive, rather simple and versatile green system what should be of strong interest for many applications. Moreover, because the tube/micelle transition can be tuned by the nature of the counter-ion²⁷, one could design similar systems, the foams of which could be destabilized at a given desired temperature.

Author contributions

A.L FAMEAU designed research, performed research, analyzed data and contributed to write the paper.

5.6 Supporting Information

5.6.1 Calculation of the amount of gas incorporated in the foam

The flow rate in the foamscan apparatus was of 35 mL/min and since we fix the maximum foam volume to 45 mL, that fixed volume is reached in 77 s. In our curves (see main text Figure 5.1), that fixed foam volume is reached in 78 s meaning that all the gas has been incorporated into the foam.

5.6.2 Experiments with 3 different H₂O/D₂O compositions experiments to discriminate between surface and bulk scattering

In order to determine if the signal measured in SANS arise from the surface scattering of the bubbles and/or from the SANS scattering of the tubes in the foam, we have performed different experiments at 20 °C and with 3 different H₂O/D₂O compositions of the aqueous solvent to produce the foam (40 % H₂O/60 %D₂O, 20 % H₂O/80 %D₂O and 100 % D₂O). The results are displayed in Figure 5.5. The shapes of the curves are very similar and the Bragg peaks are at the same Q-position. If the signal was due to the reflectivity scattering, the Q-position of the fringes would have been changed with the water composition. Then, the results observed for the data for the 3 H₂O/D₂O contrasts unambiguously prove that the scattering indeed arises from SANS scattering of tubes located in the Plateau borders.

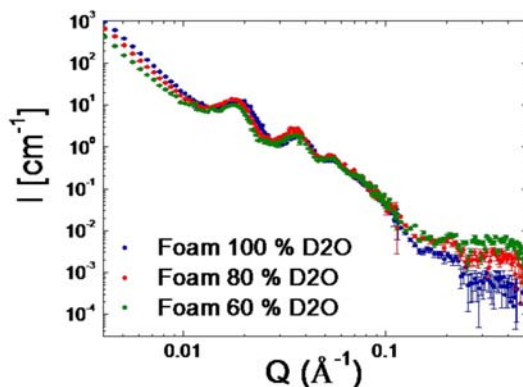


FIGURE 5.5 – Comparison of the SANS results of foams at 20 °C for 3 different H₂O/D₂O compositions of the aqueous solvent. The data are shifted in intensity for clarity.

5.6.3 Thin film balance experiment

The 'thin film balance' apparatus allows studying a single foam lamellae held horizontally through a hole made on a solid support. The support, acting as a fluid reservoir and mimicking a Plateau border, is here a glass capillary tube (scheludko-like device)³¹. The support, with initially a large fluid drop holding inside the hole, is placed inside a pressurized box. As the pressure is increased, the drop inside the hole thins down, eventually providing a flat

film, corresponding to a film between two bubbles inside a foam. Microscopy and interferometry can then be done to visualize the film texture and to measure its thickness³¹. On the picture 5.6, one can see that there is a central very thin region, from which the tubes are expelled. These tubes are most likely collected and blocked inside the surrounding meniscus; the latter is actually, comparatively to usual surfactant solutions, much extended radially (or in other words, the thin film has a smaller than usual area).

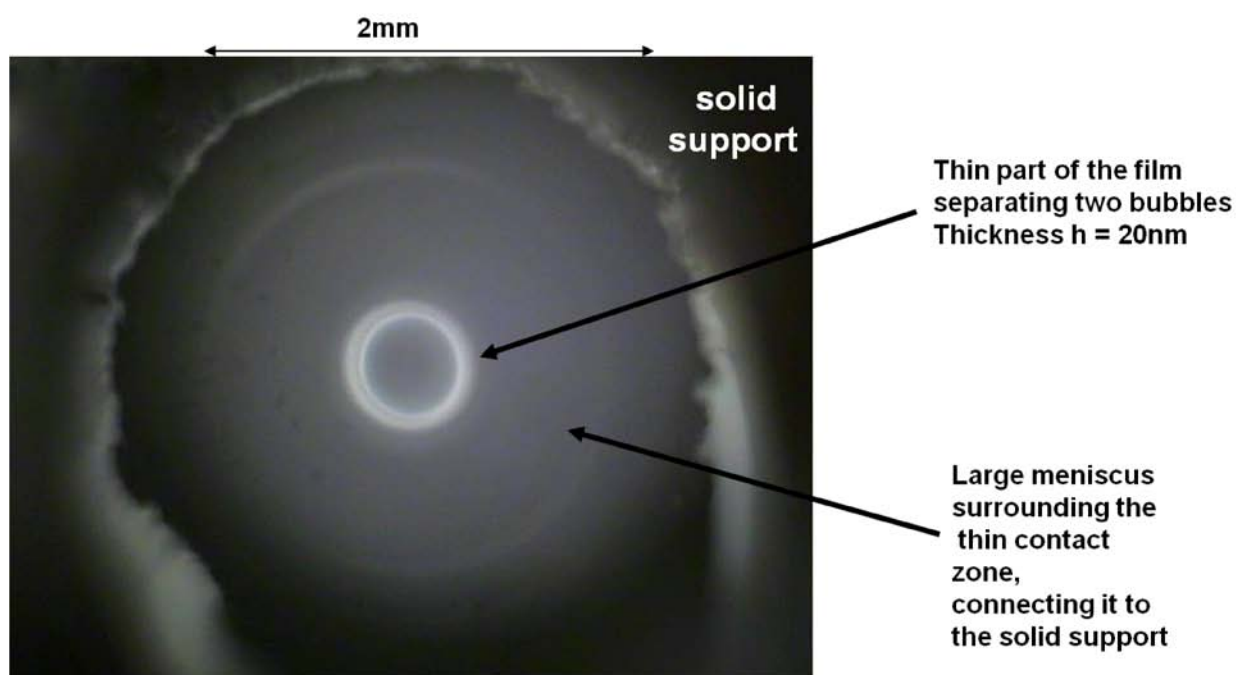


FIGURE 5.6 – Film obtained with the Thin Film Balance using the system 12-HSA/ethanolamine at 10 mg/mL fatty acids at 20 °C.

5.6.4 Hand-shaking foam stability for the system 12-HSA/ethanolamine at 60 °C

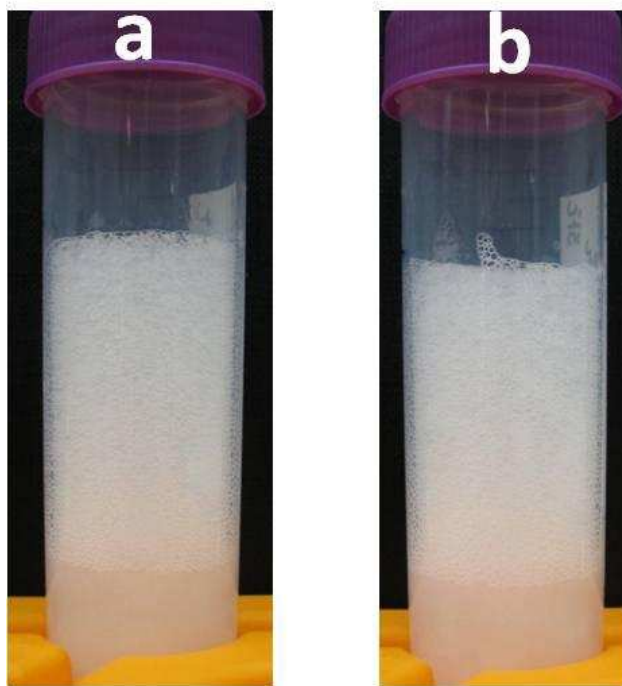


FIGURE 5.7 – Photos of HS-foams for the system 12-HSA/ethanolamine at 10 mg/mL fatty acids at 60 °C.
(a) : photo just after foaming, (b) : photo taken after two weeks.

5.6.5 SANS additional data

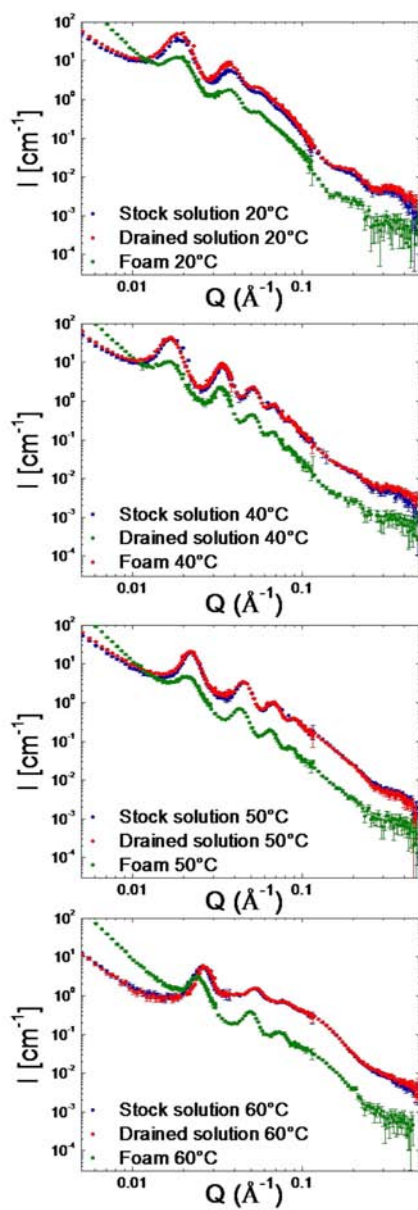


FIGURE 5.8 – SANS data recorded for the foam, the stock solution and the liquid solution which drained after foaming as a function of the temperature.

5.6.6 Hand-shaking foam stability for the system 12-HSA/hexanolamine at 60 °C

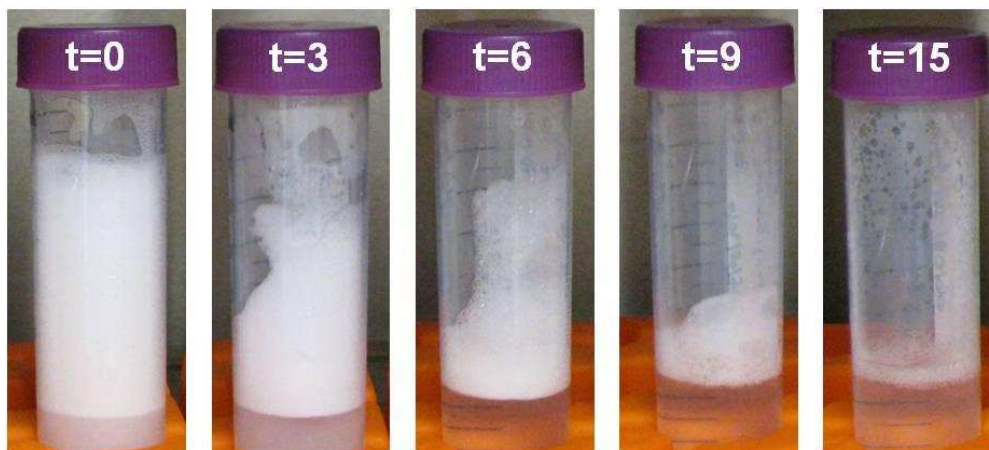


FIGURE 5.9 – Photos of HS-foams taken at different time as indicated on the top of the photo in the system 12-HSA/hexanolamine at 10 mg/mL fatty acids at 60 °C. The time is given in minutes. The time $t=0$ corresponds to that just after the foam has been manually produced at 20 °C and then placed in an oven at 60 °C.

5.6.7 Foam stability as a function of time and temperature

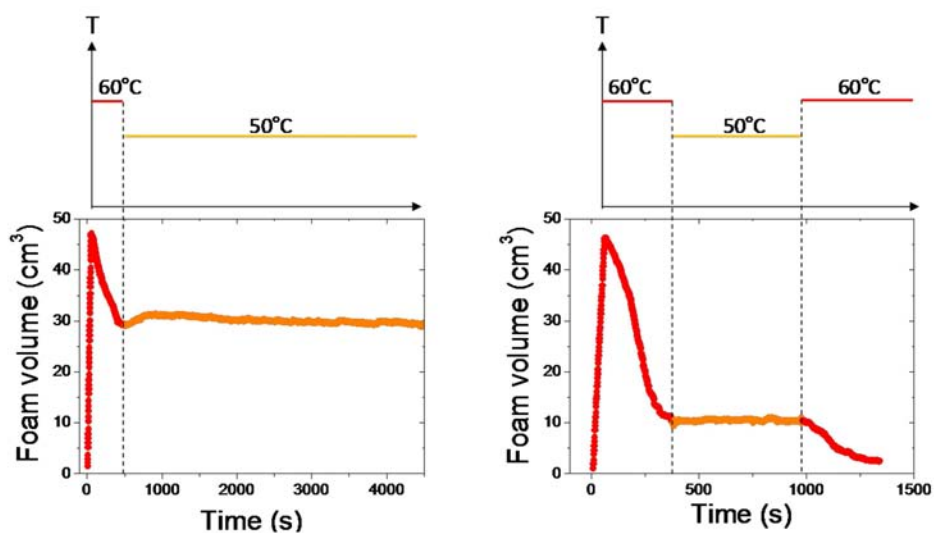


FIGURE 5.10 – Evolution of the foam volume as a function of time and the temperature (in the 12-HSA/hexanolamine system). The foams were produced at a given temperature which was varied during the course of the experiment as indicated by an arrow and the upper scheme.

Bibliographie

- [1] N. J. Shirtcliffe, G. McHale, M. I. Newton, and C. C. Perry. Intrinsically superhydrophobic organosilica sol-gel foams. *Langmuir*, 19(14) :5626–5631, 2003.
- [2] F. Carn, H. Saadaoui, P. Masse, S. Ravaine, B. Julian-Lopez, C. Sanchez, H. Deleuze, D. R. Talham, and R. Backov. Three-dimensional opal-like silica foams. *Langmuir*, 22(12) :5469–5475, 2006.
- [3] R. J. Pugh. Foaming, foam films, antifoaming and defoaming. *Advances in Colloid and Interface Science*, 64 :67–142, 1996.
- [4] D. Weaire and S. Hutzler. *The Physics of Foams*. Oxford, 1999.
- [5] D. Exerowa, P.M. Kruglyakov, and R. Möbius. *Foam and foam films*. Miller, Amsterdam, elsevier edition, 1998.
- [6] I. Cantat, S. Cohen-Addad, F. Elias, F. Graner, R. Höhler, O. Pitois, F. Rouyer, and A. Saint-Jalmes. *Les mousses : structure et dynamique*. Editions belin, collection echelles edition, 2010.
- [7] A. Saint-Jalmes. Physical chemistry in foam drainage and coarsening. *Soft Matter*, 2 :836–849, 2006.
- [8] M. Vignes-Adler and D. Weaire. New foams : Fresh challenges and opportunities. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 13(3) :141–149, 2008.
- [9] A. Salonen, M. In, J. Emile, and A. Saint-Jalmes. Solutions of surfactant oligomers : a model system for tuning foam stability by the surfactant structure. *Soft Matter*, 6(10) :2271–2281, 2010.
- [10] R. M. Guillermic, A. Salonen, J. Emile, and A. Saint-Jalmes. Surfactant foams doped with laponite : unusual behaviors induced by aging and confinement. *Soft Matter*, 5(24) :4975–4982, 2009.
- [11] R. G. Alargova, D. S. Warhadpande, V. N. Paunov, and O. D. Velev. Foam superstabilization by polymer microrods. *Langmuir*, 20(24) :10371–10374, 2004.
- [12] A. C. Martinez, E. Rio, G. Delon, A. Saint-Jalmes, D. Langevin, and B. P. Binks. On the origin of the remarkable stability of aqueous foams stabilised by nanoparticles : link with microscopic surface properties. *Soft Matter*, 4(7) :1531–1535, 2008.
- [13] A. Saint-Jalmes, M. L. Peugeot, H. Ferraz, and D. Langevin. Differences between protein and surfactant foams : Microscopic properties, stability and coarsening. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 263(1-3) :219–225, 2005.

-
- [14] S. Tcholakova, N. D. Denkov, and A. Lips. Comparison of solid particles, globular proteins and surfactants as emulsifiers. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(12) :1608–1627, 2008.
- [15] A. H. Martin, K. Grolle, M. A. Bos, M. A. Stuart, and T. van Vliet. Network forming properties of various proteins adsorbed at the air/water interface in relation to foam stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 254(1) :175–183, 2002.
- [16] B. M. Discher, Y. Y. Won, D. S. Ege, J. C. M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, and D. A. Hammer. Polymersomes : Tough vesicles made from diblock copolymers. *Science*, 284(5417) :1143–1146, 1999.
- [17] B. P. Binks, R. Murakami, S. P. Armes, S. Fujii, and A. Schmid. pH-responsive aqueous foams stabilized by ionizable latex particles. *Langmuir*, 23(17) :8691–8694, 2007.
- [18] A. Salonen, D. Langevin, and P. Perrin. Light and temperature bi-responsive emulsion foams. *Soft Matter*, 6(21) :5308–5311, 2010.
- [19] J. Eastoe and A. Vesperinas. Self-assembly of light-sensitive surfactants. *Soft Matter*, 1(5) :338–347, 2005.
- [20] X. Y. Wen, J. Lauterbach, and E. I. Franses. Surface densities of adsorbed layers of aqueous sodium myristate inferred from surface tension and infrared reflection absorption spectroscopy. *Langmuir*, 16(17) :6987–6994, 2000.
- [21] K. S. Yim, B. Rahaii, and G. G. Fuller. Surface rheological transitions in langmuir monolayers of bi-competitive fatty acids. *Langmuir*, 18(17) :6597–6601, 2002.
- [22] K. Golemanov, N. D. Denkov, S. Tcholakova, M. Vethamuthu, and A. Lips. Surfactant mixtures for control of bubble surface mobility in foam studies. *Langmuir*, 24(18) :9956–9961, 2008.
- [23] R. M. Kenn, C. Bohm, A. M. Bibo, I. R. Peterson, H. Mohwald, J. Alsnielsen, and K. Kjaer. Mesophases and crystalline phases in fatty-acid monolayers. *Journal of Physical Chemistry*, 95(5) :2092–2097, 1991.
- [24] I. R. Peterson and R. M. Kenn. Equivalence between 2-dimensional and 3-dimensional phases of aliphatic chain derivatives. *Langmuir*, 10(12) :4645–4650, 1994.
- [25] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [26] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [27] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [28] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.
- [29] J. P. Douliez, L. Navailles, and F. Nallet. Self-assembly of fatty acid-alkylboladamine salts. *Langmuir*, 22(2) :622–627, 2006.
- [30] M. A. V. Axelos and F. Boue. Foams as viewed by small-angle neutron scattering. *Langmuir*, 19(17) :6598–6604, 2003.

- [31] V. Bergeron. Forces and structure in thin liquid soap films. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 11(19) :R215–R238, 1999.
- [32] T. Shimizu, M. Masuda, and H. Minamikawa. Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chemical Review*, 105(4) :1401–1443, 2005.
- [33] A. L. Fameau, B. Houinsou-Houssou, B. Novales, L. Navailles, F. Nallet, and J. P. Duouliez. 12-hydroxystearic acid lipid tubes under various experimental conditions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(1) :38–47, 2010.

CHAPITRE VI

Chapitre 6

Synthèse : propriétés des tubes en solution, à l'interface air/eau et dans la mousse.

Dans ce chapitre, nous allons reprendre les principaux résultats obtenus dans les parties précédentes. La majeure partie des travaux de cette thèse a été basée sur l'étude de tubes multilamellaires ayant un diamètre variable avec la température formés à partir de l'acide gras 12-hydroxy stéarique et l'éthanolamine comme contre-ion. En effet, cet assemblage regroupe des caractéristiques intéressantes : c'est une molécule tensioactive qui s'assemble en solution et qui répond à un stimulus externe (la température). Ainsi, ces tubes d'acides gras semblaient bien adaptés à l'étude du lien entre la structure d'un assemblage en solution et ses propriétés interfaciales dans le but d'obtenir des mousses aux propriétés modulables sous l'effet d'un stimulus.

6.1 Etude des tubes en solution

6.1.1 Quelle est l'origine de la variation du diamètre des tubes en fonction de la température ?

En se référant aux travaux précédents sur ce système (section 1.2.2), le premier objectif de ce travail a été d'étudier l'origine de l'augmentation du diamètre des tubes ainsi que la formation des tubes multilamellaires en solution aqueuse en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu. Le but était de mettre en évidence les conditions pour lesquelles les tubes multilamellaires se forment en solution. Il est en effet indispensable de connaître précisément la structure des agrégats en solution en fonction des conditions expérimentales pour pouvoir ensuite caractériser leurs propriétés interfaciales. Ce travail a fait l'objet de deux publications (Chapitre 2 et Chapitre 3).

Les tubes multilamellaires d'acide gras 12-hydroxystéarique ont un diamètre variable avec la température. A 20 °C, le diamètre des tubes est de 0.6 μm . A 47 °C, le diamètre des tubes augmente jusqu'à atteindre une valeur de 5 μm et rediminue ensuite à partir de

55 °C (Figure 6.1). Pour des raisons de clarté, la température pour laquelle le diamètre des tubes commence à augmenter sera notée $T_{\odot\uparrow}$ dans le reste de la discussion. L'enthalpogramme d'une solution de tubes à 10 mg/mL avec un rapport molaire 1/1 montre un pic endothermique fin à 48 °C et un large pic endothermique à 70 °C avec un léger épaulement commençant à 30 °C (Figure 6.1). En couplant les résultats obtenus en microscopie et en analyse thermique différentielle (ATD), on peut voir que l'augmentation du diamètre des tubes semble être couplée avec le premier pic fin endothermique détectée en ATD. Nous supposons que le pic endothermique observé sur l'enthalpogramme correspondait à la transition entre la phase gel (L_{β}) et la phase fluide (L_{α}) des bicouches. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons utilisé la DNPA comme cela avait été fait dans les études précédentes (section 1.2.2) à 41.7 °C ($T < T_{\odot\uparrow}$) et à 51.9 °C ($T > T_{\odot\uparrow}$). La figure 6.1 montre les profils d'intensité obtenus pour les deux températures. Dans les deux cas, un spectre de diffusion avec trois pics de Bragg exactement situés en Q_0 , $2 Q_0$ et $3 Q_0$ est observé. Ce résultat est similaire à celui observé précédemment à température ambiante¹ et montre que, dans les deux cas, les tubes sont formés par un empilement périodique de phase lamellaire. A partir de la position des pics de Bragg, l'espace de répétition correspondant à une bicouche d'acides gras et une lamelle d'eau a été déterminée pour les deux températures. Elle est de 350 Å à 41.7 °C et de 300 Å à 51.9 °C. Il y a donc une diminution de l'espace interlamellaire entre ces deux températures.

Nous avons ensuite mesuré l'épaisseur des membranes *via* un paramétrage de l'intensité diffusée par un facteur de forme modèle dans la représentation de Porod (Figure 6.1). Ainsi, à 41.7 °C, l'épaisseur de la membrane est de 40 Å et de 27 Å à 51.9 °C. En comparant ces résultats avec ceux précédemment obtenus à température ambiante¹, on en déduit que de 20 °C à 41.7 °C, la taille de la bicouche reste constante autour de 40 Å. La longueur de la chaîne de l'acide stéarique dans sa conformation toute étendue est d'environ 21 Å. L'épaisseur de la bicouche obtenue à 41.7 °C ($T < T_{\odot\uparrow}$) est donc égale à environ deux fois la valeur de la longueur de la chaîne de l'acide stéarique dans sa conformation tout étendue. On en déduit que, toutes les chaînes alkyles des acides gras sont en conformation *trans*, c'est à dire en phase gel (L_{β}) jusqu'à cette température. Ensuite au-dessus de 50 °C, l'épaisseur de la bicouche diminue nettement pour atteindre 27 Å. La valeur obtenue est nettement inférieure à deux fois la longueur de la chaîne carbonée de l'acide gras dans sa conformation tout étendue. On en conclut que les chaînes alkyles sont dans un état fluide désordonné (L_{α}). Cette diminution de l'épaisseur de la bicouche est due à la transition des chaînes alkyles d'acides gras de la phase gel (L_{β}) à la phase fluide (L_{α}). De plus, cette faible épaisseur suggère que les chaînes alkyles sont probablement interdigitées. Ainsi, les données obtenues confirment qu'en dessous du pic obtenu en ATD, les bicouches d'acides gras sont en phase gel (L_{β}) et qu'au-dessus du pic de transition les bicouches d'acides gras sont en phase fluide (L_{α}). Ce pic endothermique correspond donc à la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches.

L'augmentation du diamètre des tubes semble donc être corrélée avec la transition de phase des bicouches ainsi qu'avec une modification de l'espace interlamellaire.

D'autre part, la température pour laquelle les tubes disparaissent pour donner une solution complètement isotrope est d'environ 70 °C. Celle-ci correspond à la température pour

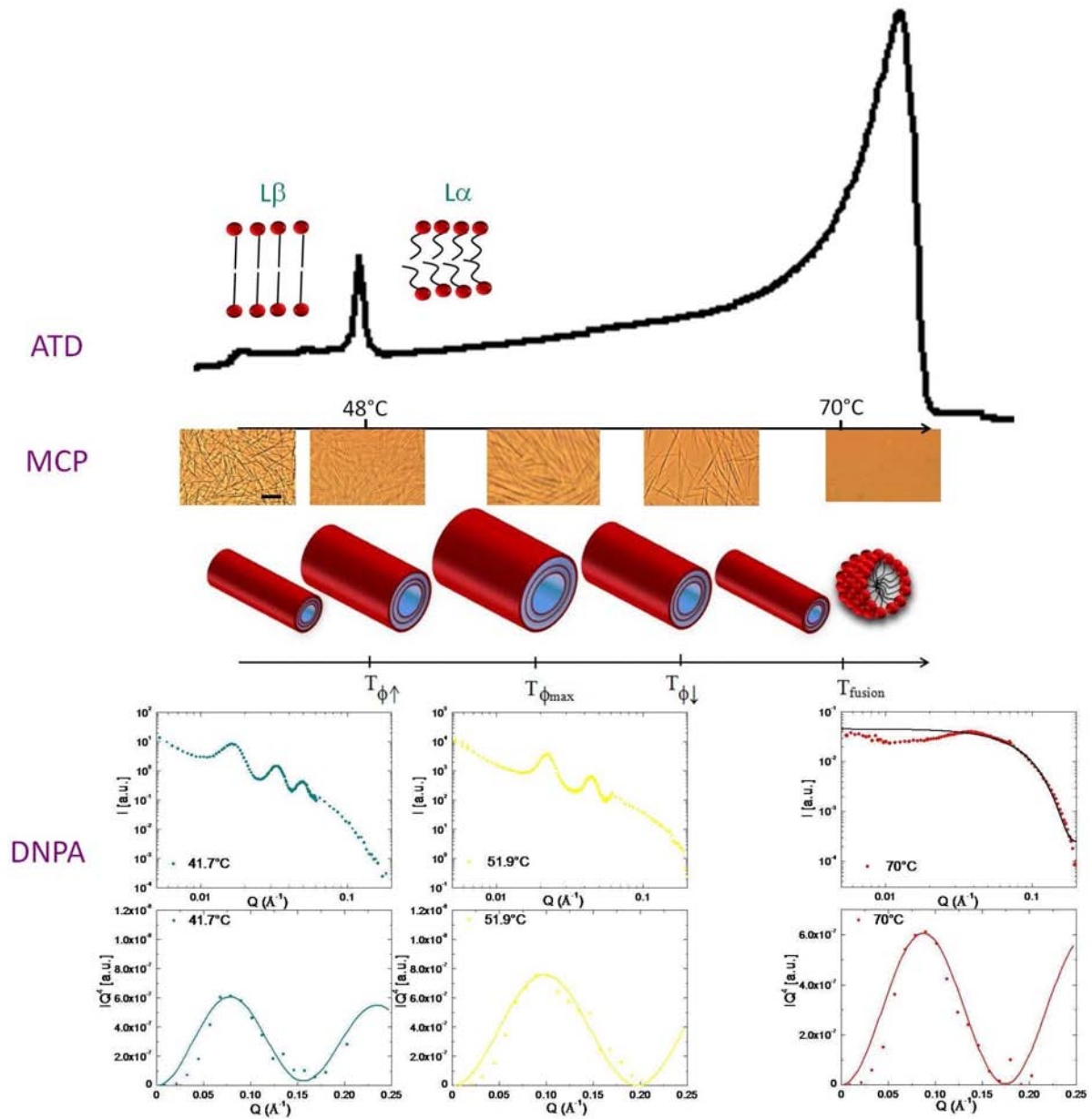


FIGURE 6.1 – Données obtenues pour le système de tubes d'acide gras 12-hydroxy stéarique avec le 2-amino-1-éthanol comme contre-ion à 10 mg/mL : enthalpogramme obtenu par ATD, images de MCP en fonction de la température (la barre d'échelle représente 10 μm), représentation schématique du comportement des tubes avec la température et les spectres d'intensités de diffusion obtenus par DNPA, à 41.7 °C, à 51.9 °C et à 70 °C et en représentation de Porod. La ligne correspond au meilleur ajustement des données obtenues avec le modèle utilisé.

laquelle un pic large est observé en ATD. Pour savoir quel assemblage est formé au dessus de cette température de transition, des expériences de DNPA ont été réalisées sur une solution à 70 °C. Le spectre de diffusion obtenu montre un signal modéré aux petits vecteurs de diffusion avec un large pic de corrélation situé à 0.04 \AA^{-1} (Figure 6.1). Enfin, aux grands vecteurs de diffusion, l'intensité diffusée diminue avec une pente qui décroît en Q^{-4} . En utilisant la représentation de Porod ($IQ^4=f(Q)$), une oscillation est observée aux grands vecteurs de diffusion. Nous avons alors, modélisé cette oscillation avec un facteur de forme de sphères polydisperses. Le rayon obtenu pour ces micelles est de 22.5 \AA (avec une polydispersité de 0.35). La diminution d'intensité de diffusion observée aux petits angles est due à l'existence d'interactions répulsives entre ces micelles. Ceci est en accord avec la présence de charges positives à la périphérie de chaque micelle créant une répulsion électrostatique. D'autre part, à partir de la position du pic de corrélation, la distance moyenne entre deux micelles voisines (distance entre deux micelles= $2\pi/Q_0$) est évaluée à 157 \AA environ.

Au vu des résultats, il semble qu'il y ait un lien entre l'augmentation du diamètre des tubes et la transition entre la phase gel (L_β) et la phase fluide (L_α) des bicouches. Des expériences préliminaires au laboratoire² avaient montré que la nature du contre-ion entraînait une modification importante de $T_{\odot\uparrow}$ et de la température de fusion. Nous avons donc décidé d'étudier un large ensemble de systèmes formant des tubes à partir de l'acide gras 12-hydroxystéarique et ayant potentiellement un comportement différent vis-à-vis de la température, dans le but de comprendre plus précisément les phénomènes liés à l'augmentation du diamètre des tubes.

6.1.2 Est-ce que l'hypothèse formulée précédemment se vérifie avec d'autres systèmes formant des tubes multilamellaires ayant un diamètre variable avec la température ?

Dans le but de tester l'hypothèse émise dans la partie précédente sur le lien entre l'augmentation du diamètre des tubes et la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches, nous avons décidé de choisir huit contre-ions pour obtenir des tubes ayant potentiellement des propriétés différentes vis-à-vis de la température. Tous ces contre-ions sont des hydroxylalkyles amines différant soit par le nombre de carbones, soit par la position du groupement hydroxyle ou amine, soit par le nombre de groupements hydroxyles (Figure 6.2). Comme dans la partie précédente, des techniques permettant d'avoir des informations à l'échelle macroscopique et microscopique ont été couplées. A l'aide de la MCP, nous avons constaté que chaque système formait des tubes à température ambiante. $T_{\odot\uparrow}$ et la température de fusion de chaque système ont été évaluées par cette technique. Ensuite, les enthalpogrammes ont été déterminés pour vérifier notre hypothèse de départ. Par ailleurs des données de diffusion de neutrons nous ont permis d'obtenir des informations sur les variations de l'espace interlamellaire et d'épaisseur de bicouches pour chaque système en fonction de la température.

6.1.2.1 Etude des systèmes par microscopie à contraste de phase

Pour des raisons de clarté, chaque contre-ion est désigné par une abréviation (voir Figure 6.2). Pour chaque système, le diamètre des tubes varie à une $T_{\odot\uparrow}$ donnée, puis le diamètre atteint sa valeur maximale et rediminue avant que les tubes fusionnent sous forme de micelles de la même manière que précédemment observé pour C2². Lorsque l'on trace l'évolution de $T_{\odot\uparrow}$ en fonction de la nature du contre-ion, on observe une diminution de $T_{\odot\uparrow}$ avec l'augmentation de la longueur de la chaîne carbonée (Figure 6.3). La présence de deux groupements hydroxyles sur la chaîne carbonée du contre-ion modifie fortement $T_{\odot\uparrow}$.

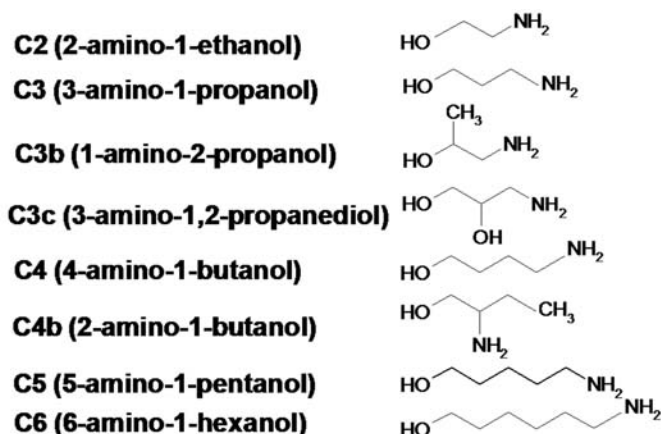


FIGURE 6.2 – Structure chimique des contre-ions utilisés.

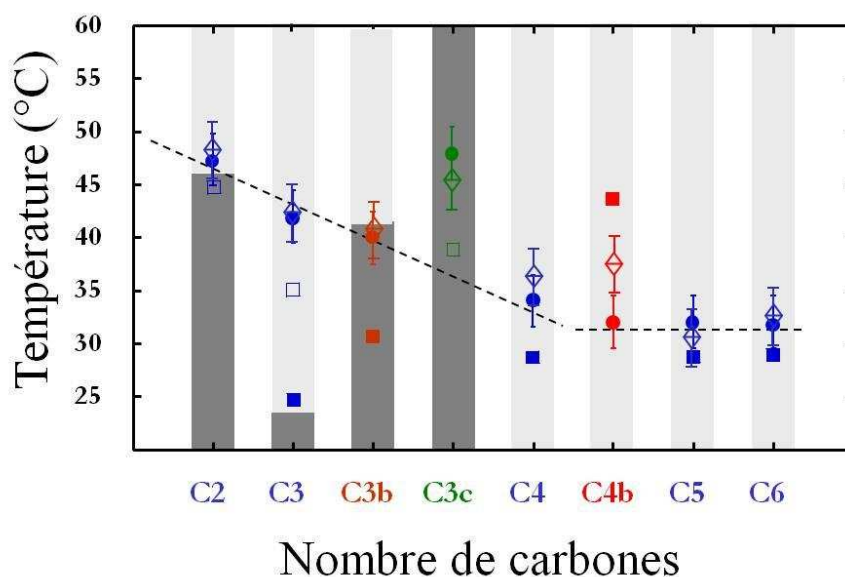


FIGURE 6.3 – Température des différents événements enregistrés dans cette étude en fonction de la nature du contre-ion. • : $T_{\odot\uparrow}$ déterminée par MCP, ■ : température du premier pic déterminé par ATD, □ : température du pic fin détecté par ATD, ◇ : température pour laquelle il y a un aplatissement des pics de Bragg. Les zones grises correspondent à la phase gel (L_{β}) (gris foncé) et la phase fluide (L_{α}) des bicouches déterminées par le changement d'épaisseur de bicouches par DNPA.

6.1.2.2 Détermination des enthalpogrammes

Les enthalpogrammes sont présentés sur la figure 6.4. A hautes températures, pour chaque système, le pic correspondant à la fusion des tubes sous forme de micelles est bien corrélé avec les températures obtenues par MCP. A plus basses températures, pour C3 et C3c, nous observons la présence d'un pic fin comme dans le cas de C2, mais à des températures plus faibles. Par contre, pour tous les autres systèmes le pic fin n'est plus observé et on observe l'apparition d'un pic plus large. Ce pic large ne correspond pas à un événement thermique observé en MCP (Figure 6.3). Pour ces systèmes, lorsque l'on compare les températures de ce large pic déterminées sur l'enthalpogramme avec $T_{\text{O}\uparrow}$ déterminée par MCP, celles-ci ne coïncident pas toujours (Figure 6.3). Cela signifie que l'hypothèse de départ formulée avec C2 n'est pas valable pour les autres systèmes formant des tubes. De plus, sur plusieurs enthalpogrammes l'absence du pic fin assimilé à la transition entre la phase gel (L_{β}) et la phase fluide (L_{α}) dans le cas de C2, suggère l'absence de cette transition dans ces systèmes.

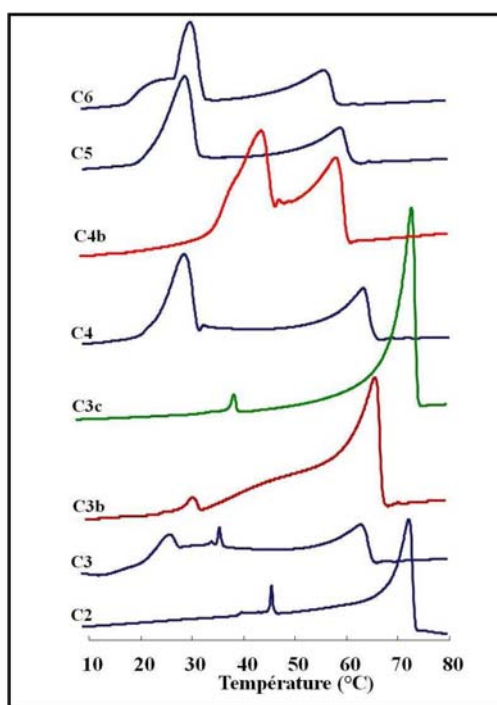


FIGURE 6.4 – Enthalpogrammes obtenus avec les différents systèmes formant des tubes. La nature du contre-ion est indiquée sur la gauche de chaque courbe.

6.1.2.3 Etude des systèmes par DNPA

Pour vérifier l'hypothèse de l'absence de la transition entre la phase gel et la phase fluide pour certains systèmes, nous avons utilisé la DNPA pour déterminer les variations d'épaisseur des bicouches en fonction de la température. Par ailleurs, nous avons déterminé l'évolution de l'espace interlamellaire en fonction de la température pour chacun des systèmes. Sur la figure 6.6 est tracée l'évolution de l'épaisseur des bicouches en fonction de la température pour chaque contre-ion. Pour C3b, l'épaisseur de la bicouche est stable autour de 38 Å de

20 °C à 40 °C, puis une nette diminution de l'épaisseur de la bicouche est observée pour atteindre une valeur de 25 Å à 50 °C. Pour cet échantillon, la transition entre la phase gel et la phase fluide est donc bien observée, tout comme pour C2 et C3C. Pour tous les autres échantillons, seulement une diminution de l'épaisseur de la bicouche est observée sur la gamme de température étudiée. De plus, l'épaisseur de la bicouche à 20 °C est nettement inférieure à celle d'une bicouche en phase gel (L_β), les bicouches sont donc déjà en phase fluide à cette température. Ceci suggère que cette transition se produit à plus basse température. L'absence de pic fin sur les enthalpogrammes de ces systèmes provient bien du fait que, sur la gamme de température étudiée, les bicouches sont déjà en phase fluide.

Par ailleurs, lorsque l'on regarde l'évolution de l'espace interlamellaire en fonction de la température (Figure 6.6) pour chaque système, le comportement diffère en fonction du contre-ion. Pour C2, C3b et C3c sur la gamme de températures étudiée, l'espace interlamellaire augmente pour atteindre une valeur maximale puis rediminue, à des températures différentes suivant le contre-ion. Pour tous les autres contre-ions, l'espace interlamellaire diminue avec la température. Ceci prouve que l'augmentation du diamètre des tubes n'est pas non plus corrélée avec une augmentation de l'espace interlamellaire.

Par contre, pour chaque système, un aplatissement des pics de Bragg se produit à une température précise et, en-dessous et au-dessus de cet aplatissement, les pics redeviennent relativement fins. Un exemple est donné pour C2 sur la figure 6.5. La comparaison entre cette température d'aplatissement des pics de Bragg avec $T_{\odot\uparrow}$ montre que les deux températures sont sensiblement identiques (Figure 6.3).

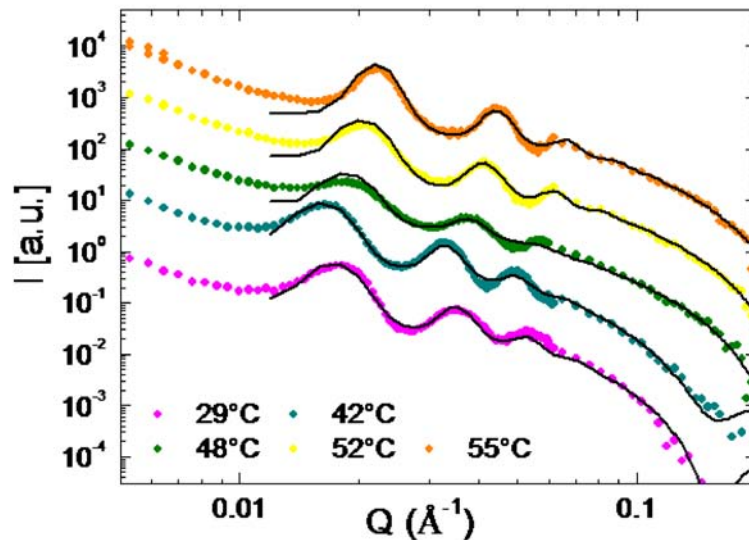


FIGURE 6.5 – Evolution de l'intensité diffusée pour le système acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine (C2) comme contre-ion. Les données ont été décalées en intensité par souci de clarté. La ligne correspond au meilleur ajustement des données en accord avec le modèle décrit dans le chapitre 3.

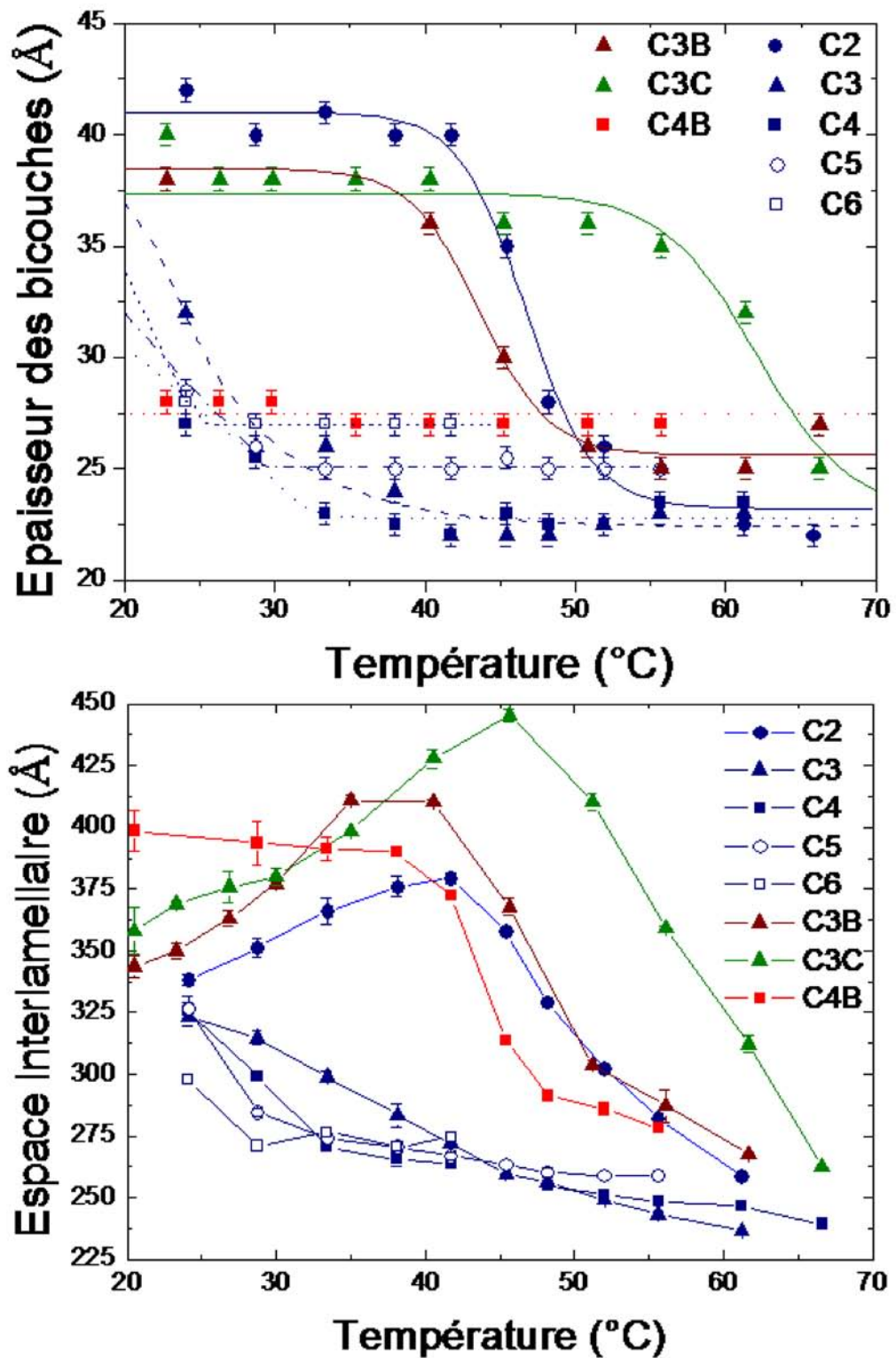


FIGURE 6.6 – Evolution de l'épaisseur des bicouches et de l'espace interlamellaire en fonction de la température pour chaque système.

Un tel aplanissement peut avoir plusieurs origines : soit une augmentation des fluctuations des membranes, soit une diminution de la quantité de bicouches empilées dans les parois des tubes. Afin d'expliquer de façon satisfaisante cette observation, nous avons utilisé un modèle pour ajuster les courbes de diffusion avec un facteur de structure prenant en compte le nombre de couches et le paramètre de Caillé (traduisant les ondulations thermiques des membranes) permettant de déterminer les fluctuations thermiques des bicouches.

Pour tous les systèmes testés, nous avons remarqué une augmentation forte du paramètre de Caillé à la température pour laquelle les pics de Bragg sont aplanis, indiquant que les propriétés élastiques de l'empilement des bicouches sont fortement modifiées à cette température. L'empilement des bicouches est moins rigide. Cela peut être dû soit à un affaiblissement des interactions entre les bicouches adjacentes, soit à une augmentation de la flexibilité de la bicouche, soit à une combinaison des deux effets. Au dessus de la température pour laquelle les pics de Bragg sont aplanis, le paramètre de Caillé retrouve une valeur faible proche de celle observée avant l'aplanissement du pic. Ce phénomène est donc bien corrélé avec l'augmentation du diamètre des tubes signifiant que cette variation du diamètre des tubes est accompagnée d'un changement dans la dynamique des bicouches.

6.1.2.4 Conclusion

Grâce à ce travail, nous avons pu observer que l'augmentation du diamètre des tubes est un phénomène complexe qui n'est relié ni à la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches, ni à une augmentation de l'espace interlamellaire. La dynamique des bicouches change cependant fortement au moment de l'augmentation du diamètre des tubes. Ainsi, comme nous venons de démontrer que ce phénomène n'est pas lié directement à la variation de paramètres intrinsèques, nous pensons que des phénomènes liés à la chiralité peuvent être impliqués. En effet, il est connu que la chiralité joue un rôle sur la formation et les propriétés des tubes³.

Cette étude a néanmoins permis de montrer qu'en jouant simplement sur la nature du contre-ion, la formation de tubes avec des caractéristiques variées était possible. Par exemple, des tubes peuvent être obtenus à température ambiante avec des bicouches soit en phase gel, soit en phase fluide. De la même manière, l'espace interlamellaire peut être varié suivant la nature du contre-ion et de la température entre 240 Å et 450 Å. Un des intérêts majeurs de ces résultats provient du fait que $T_{\odot\uparrow}$ et la température de fusion des tubes peuvent être modifiées de façon significative en jouant simplement sur la nature du contre-ion.

6.1.3 Dans quelles conditions physico-chimiques se forment les tubes ?

Comme nous avons pu le voir dans le chapitre 1, les tubes multilamellaires d'acide gras 12-hydroxystéarique ont été étudiés seulement dans des conditions précises. Or, il est connu que les assemblages de tensioactifs dépendent des conditions physico-chimiques du milieu. Nous avons donc voulu déterminer pour quelles conditions physico-chimiques les tubes se forment. Pour cela, nous avons testé l'effet de différents paramètres tels que : l'ajout de sel

(NaCl), d'éthanol, l'ajout d'autres acides gras, la concentration, le pH et le rapport molaire sur la formation des tubes d'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine (C2) comme contre-ion.

6.1.3.1 Effet du pH

La solubilité des acides gras ainsi que la formation d'assemblages sont fortement dépendantes du pH du milieu qui modifie le rapport protonation/ionisation du groupement carboxylique de l'acide gras^{4, 5}. Le pH d'une solution de tube d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL avec un rapport molaire de 1 est de 9.8. Cette solution sera désignée dans le reste de la discussion comme la solution mère. Le pH de la solution mère a été diminué par ajout progressif d'acide chlorhydrique. Des tubes avec les mêmes propriétés vis-à-vis de la température que ceux de la solution mère ont été observés par microscopie à contraste de phase (MCP) jusqu'à un pH de 8.8. Grâce à l'ATD, nous avons pu remarquer que la transition entre la phase gel et la phase fluide n'était pas modifiée dans cette gamme de pH. Le pic correspondant à la fusion des assemblages est quant à lui déplacé vers les plus hautes températures et atteint la température de fusion de l'acide gras protoné pur (75 °C). En-dessous d'un pH de 8.8, des cristaux d'acides gras sont observés dans la solution.

Ensuite, par ajout de soude, le pH de la solution mère a été progressivement augmenté. Jusqu'à un pH égal à 10.6, la formation de tubes à diamètre variable est possible. Cependant, $T_{\odot\uparrow}$ est modifiée. Ainsi, une augmentation du pH s'accompagne d'une augmentation de $T_{\odot\uparrow}$. Le pic de transition que nous avons attribué à la transition entre la phase gel et la phase fluide est lui aussi déplacé vers les plus hautes températures par augmentation du pH. Par ailleurs, une diminution de la température de fusion est observée aussi bien en MCP qu'en ATD lorsque le pH augmente.

Ainsi, la formation de tubes à diamètre variable est possible d'un pH de 8.8 jusqu'à un pH de 10.6 (Figure 6.7). En dessous et au-dessus de cette gamme de pH, des cristaux d'acides gras se forment. Le rapport *groupement carboxylate/groupement carboxylique* est déterminant.

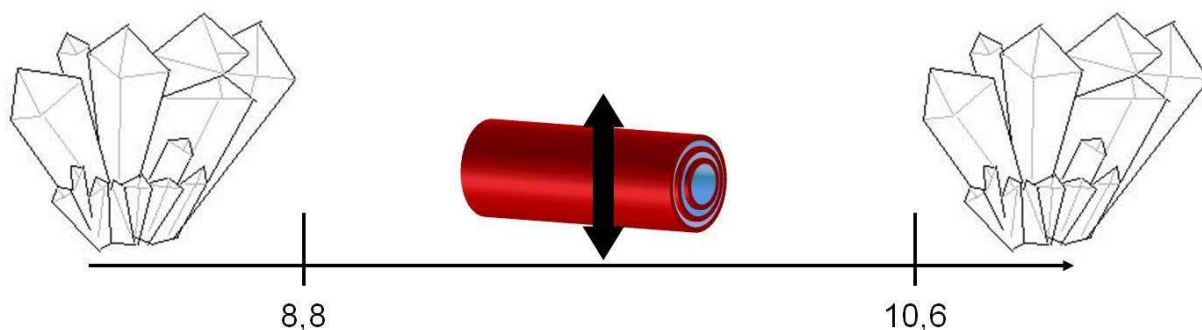


FIGURE 6.7 – Schéma représentant la gamme de pH pour laquelle la formation des tubes à diamètre variable est possible.

6.1.3.2 Effet de la concentration en acides gras

Dans les systèmes lipidiques, il est connu que la concentration en acides gras influence la formation et la stabilité des assemblages⁶. Ainsi, nous avons déterminé les concentrations en acides gras pour lesquelles la formation de tubes à diamètre variable était possible.

Des tubes sont clairement observés à partir d'une concentration en acides gras de 3 mg/mL. Le diamètre des tubes varie clairement à partir de 10 mg/mL jusqu'à 40 mg/mL. Au-dessus de 100 mg/mL, les tubes ne se forment plus, les acides gras s'assemblent sous la forme de bicouches. Par ailleurs, cette augmentation de la concentration en acides gras s'accompagne d'une augmentation de la viscosité de la solution, ce qui donne un gel à partir de 300 mg/mL. L'augmentation de la concentration en acides gras entraîne une légère diminution de $T_{\odot\uparrow}$ et de la température de fusion. En modifiant la concentration en acides gras, il est donc possible de moduler facilement ces deux températures de quelques degrés Celsius.

6.1.3.3 Effet du rapport molaire

Jusqu'à présent les tubes ont été obtenus avec à une équivalence molaire ($R=1/1$) entre la quantité d'acides gras 12-hydroxy stéarique et le contre-ion éthanolamine. Cependant, il existe dans la littérature de nombreux exemples qui montrent, que suivant le rapport molaire des assemblages différents peuvent être obtenus⁷⁻¹⁰. Lorsque l'on augmente la quantité molaire de contre-ions, des tubes à diamètre variable sont observés jusqu'à un rapport de $2/3$, c'est à dire en excès de contre-ions (Figure 6.8). La température de fusion des tubes diminue avec une augmentation de la quantité de contre-ions tandis que $T_{\odot\uparrow}$ reste identique à celle obtenue pour la solution mère ($R=1/1$). Lorsque la quantité molaire de contre-ions se situe entre un rapport molaire de $2/3$ et de $1/5$, les tubes se forment toujours mais leur diamètre ne varie plus avec la température. Lorsque l'on augmente la quantité de contre-ions qui est une base faible, on augmente aussi le pH de la solution. Il y a donc un effet combiné de ces deux paramètres qui joue sur le rapport *groupement carboxylate/groupement carboxylique* des acides gras dans l'assemblage.

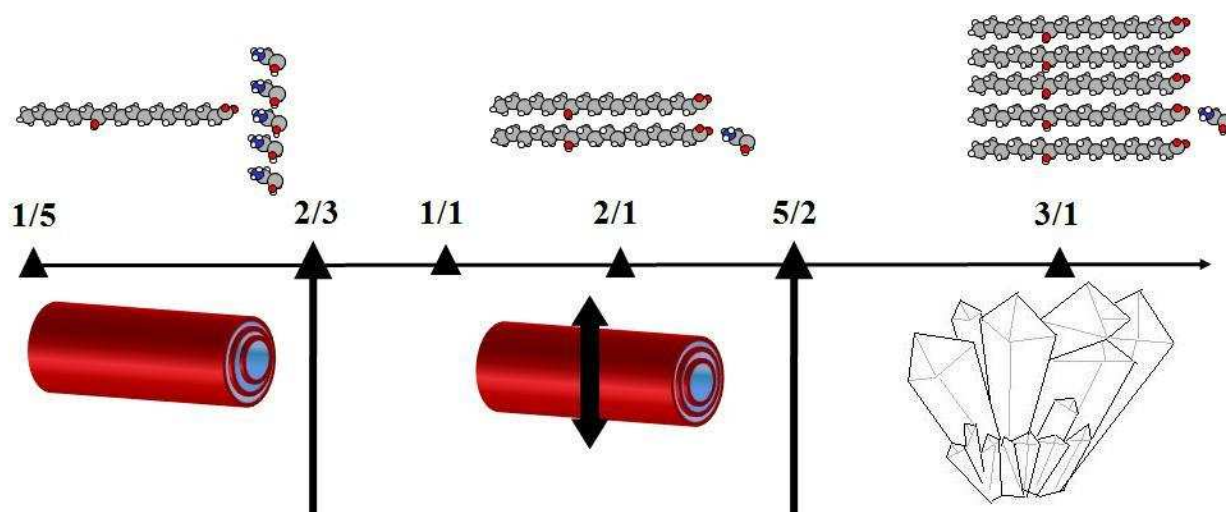


FIGURE 6.8 – schéma représentant l'effet du rapport molaire sur la formation des tubes à diamètre variable.

Lorsque l'on augmente la quantité molaire d'acides gras, des tubes à diamètre variable se

forment jusqu'à un rapport molaire de 5/2. La température de fusion diminue avec l'augmentation de la quantité d'acides gras, cependant $T_{\odot\uparrow}$ reste identique à celle de la solution mère. Au-dessus de ce rapport, les acides gras cristallisent en solution, la quantité de contre-ions n'est plus assez suffisante pour les disperser. Une grande majorité d'acides gras reste sous la forme acide carboxylique, insoluble en solution aqueuse.

6.1.3.4 Effet de l'ajout de NaCl

Les études précédentes sur ce système avaient montré que les bicouches étaient très rigides à température ambiante en association avec des interactions fortes dans l'empilement lamellaire. Nous avons donc décidé de jouer sur la force ionique à l'aide de NaCl de manière à voir l'effet sur la formation des tubes. Jusqu'à 60 mM de NaCl ajouté dans la solution mère (33 mM d'acides gras), la formation de tubes à diamètre variable est observée. L'ajout de NaCl entraîne une augmentation progressive de $T_{\odot\uparrow}$ et de la température de fusion. Ceci peut provenir du fait que le sodium rentre en compétition avec l'éthanolamine en tant que contre-ion. Or, il est connu que les températures de transition dépendent fortement du contre-ion utilisé⁶. Au-dessus de 60 mM, des cristaux d'acides gras sont observés en solution. Cette cristallisation provient sûrement elle aussi de la compétition entre les deux contre-ions, puisque le sel de sodium de l'acide gras 12-hydroxystéarique est connu pour cristalliser à température ambiante.

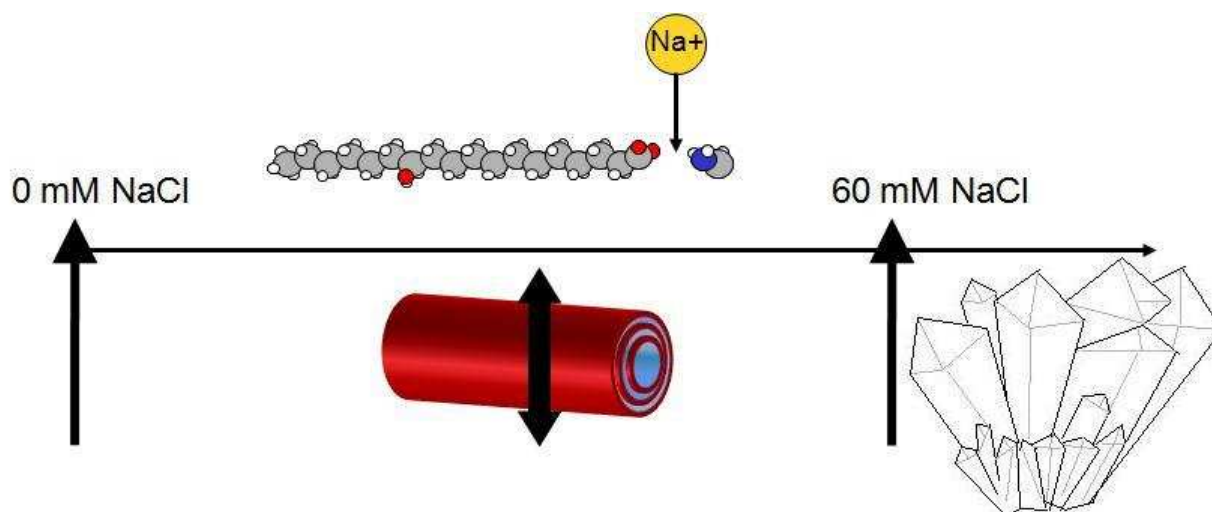


FIGURE 6.9 – Schéma représentant l'effet de la force ionique sur la formation des tubes à diamètre variable.

6.1.3.5 Effet de l'ajout d'éthanol

D'autre part, nous avons testé l'ajout d'éthanol dans une solution mère de tubes. En effet, il est connu dans la littérature que l'éthanol en petite quantité peut jouer le rôle de co-surfactant dans les bicouches lipidiques¹¹. A forte quantité, l'éthanol permet de disperser les lipides. Jusqu'à 4.7 % en volume d'éthanol ajouté, les tubes ont un diamètre variable avec les mêmes caractéristiques vis-à-vis de la température que les tubes contenus dans la solution mère. Ensuite, jusqu'à 16 % en volume, les tubes sont toujours présents en solution mais leur

diamètre ne varie plus. Ceci suggère que l'éthanol a peut-être pénétré dans les membranes pour jouer le rôle de co-surfactant, comme décrit dans plusieurs études^{11, 12} et modifie ainsi les propriétés des tubes vis-à-vis de la température. Pour des quantités plus importantes, on observe l'apparition progressive d'autres objets en coexistence avec les tubes : des filaments, des rubans torsadés et quelques cristaux d'acides gras. La solution devient complètement limpide à partir de 44 % en volume d'éthanol ajouté suggérant que tous les acides gras sont dispersés sous la forme de micelles ou de monomères.

6.1.3.6 Dopage des tubes avec d'autres lipides

Pour finir, nous avons ajouté en petite quantité d'autres molécules telles que, l'acide palmitique, le 12-hydroxystéarol (alcool analogue à l'acide gras 12-hydroxystéarique) et du 1,2-dimyristol-sn-glycérol-3-phosphocholine (DMPC) qui est un phospholipide. Dans certains cas, des molécules étrangères peuvent s'incorporer à l'intérieur des bicouches et, dans d'autres cas, elles déstabilisent complètement l'assemblage. Prenons l'exemple du dopage avec l'acide palmitique. Celui-ci en présence du contre-ion éthanolamine forme des membranes¹³. Cette solution d'acide palmitique avec l'éthanolamine comme contre-ion a été ajoutée progressivement à la solution mère de tubes. Les clichés de MCP montrent la présence de tubes à diamètre variable jusqu'à un ajout égal à 30 % en volume de la solution d'acide palmitique, mais pas la présence de membrane. Pour des quantités supérieures d'acide palmitique, des cristaux apparaissent. Des observations similaires ont été faites avec le dopage par d'autres molécules (voir chapitre 2). Ceci suggère que des molécules étrangères peuvent s'insérer en petite quantité au sein des bicouches des tubes. Par contre, lorsque la quantité ajoutée est trop importante, ces molécules étrangères déstabilisent complètement les tubes.

6.1.3.7 Conclusion

Grâce à cette étude exhaustive, nous avons pu montrer que les tubes à diamètre variable peuvent se former pour différentes conditions expérimentales. Nous avons maintenant une bonne connaissance en solution des propriétés des tubes vis-à-vis de nombreux paramètres physico-chimiques. De plus, $T_{\odot\uparrow}$ et la température de fusion des tubes peuvent être légèrement modifiées en jouant simplement sur : la concentration en acides gras, le pH, le rapport molaire, la force ionique et l'ajout d'autres molécules.

6.2 Etude de la structure présente à l'interface

Après l'étude approfondie de ce système en solution, nous avons étudié finement les propriétés interfaciales des tubes. Pour déterminer la structure adoptée par les tubes aux interfaces, nous avons focalisé notre étude sur le système de tubes formés par l'acide gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion (C2). Ce travail a fait l'objet d'une publication (Chapitre 4). Pour étudier la structure présente à l'interface air/eau dans le cas d'une solution de tubes, nous avons couplé la tensiométrie à goutte avec la réflectivité de neutrons qui est une technique très bien adaptée à l'étude de l'adsorption de tensioactifs sous différentes architectures : monocouche, phase lamellaire et vésicules multilamellaires¹⁴⁻¹⁹.

6.2.1 Détermination de la cinétique d'adsorption

La tensiométrie à goutte en mode goutte pendante nous a permis d'évaluer la cinétique d'adsorption à l'interface air/eau d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion. La cinétique a été réalisée à 20 °C pendant 10 000 s pour une concentration de 1 mg/mL (Figure 6.10). La courbe d'adsorption montre trois étapes distinctes. Une diminution rapide de la tension de surface est observée dans les premiers instants pour atteindre une valeur d'environ 54 mN/m, puis une deuxième diminution est observée quelques secondes après et la tension de surface atteint une valeur de 38 mN/m. Ensuite, on observe une légère diminution de la tension de surface durant le temps de l'expérience jusqu'à 30 mN/m au bout de 10 000 s. La première diminution est probablement due à l'adsorption des monomères d'acides gras présents en solution en coexistence avec les tubes puisque ces molécules tensioactives de faibles masses moléculaires sont connues pour diffuser et s'adsorber rapidement à l'interface. Ensuite, soit des réarrangements se produisent, soit une autre structure vient s'adsorber à l'interface. Les résultats montrent que la structure présente à l'interface permet de diminuer significativement la tension interfaciale et que l'équilibre est quasi atteint au bout de 5 minutes. Pour caractériser finement la structure présente à l'interface, nous avons utilisé la réflectivité de neutrons sur une interface plane modèle entre l'air et la solution de tubes.

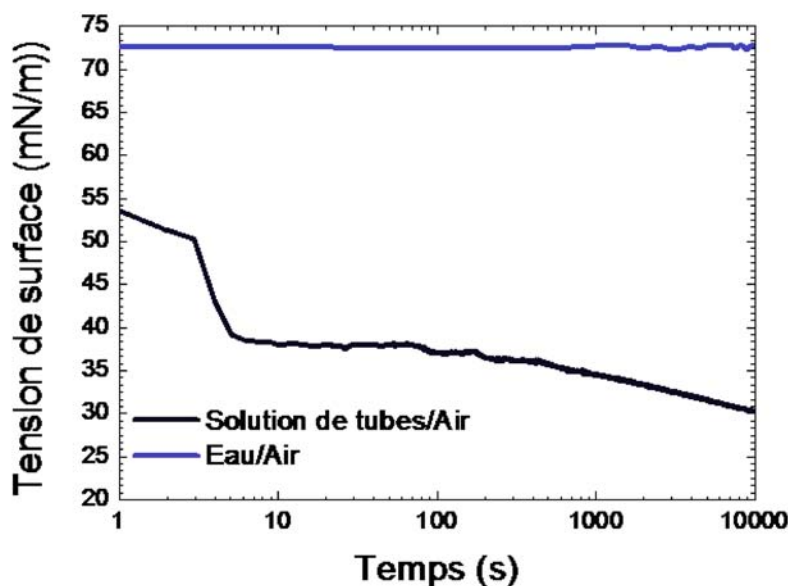


FIGURE 6.10 – Cinétique d'adsorption d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 20 °C avec une concentration de 1 mg/mL comparée avec l'interface pure air/eau.

6.2.2 Expériences de réflectivité de neutrons à 20 °C

Sur la figure 6.11 est présentée la courbe de réflectivité obtenue pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à une concentration

de 10 mg/mL à 20 °C, comparée à la représentation de Fresnel qui correspond à une interface pure air/D₂O. Des acquisitions ont été réalisées toutes les heures. Les courbes obtenues sont toutes identiques, ce qui prouve que la structure adsorbée à l'interface est stable avec le temps. Sur la courbe, il apparaît que le signal spéculaire présente des franges d'interférences, montrant qu'une structure large est présente à l'interface.

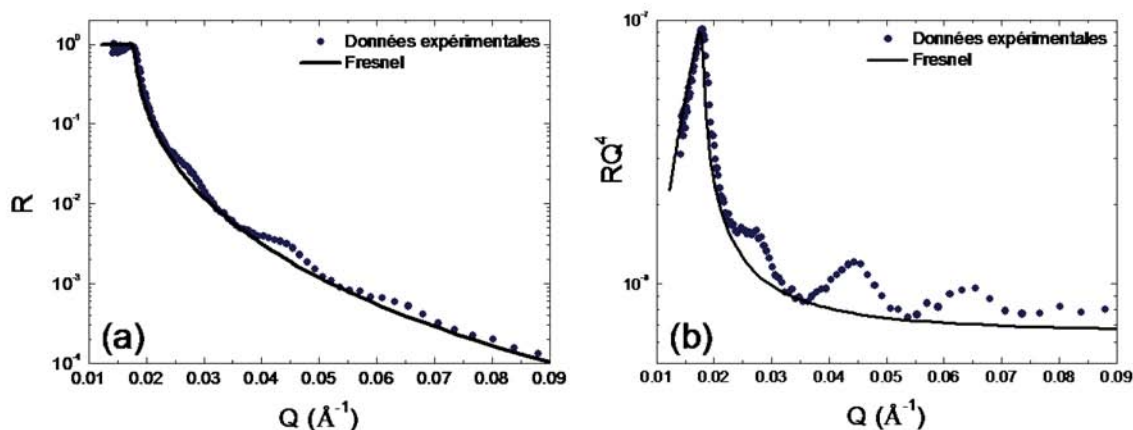


FIGURE 6.11 – Spectre de réflectivité de neutrons d'une solution de tubes d'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C à l'interface air/eau. La ligne noire correspond à la représentation de Fresnel qui correspond à une interface pure air/D₂O. (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4 R(Q)$ versus $f(Q)$.

Par ailleurs, le spectre mesuré sur un détecteur 2D révèle la présence d'un fort signal diffus hors spéculaire. Cette intense diffusion diffuse peut provenir soit de grandes hétérogénéités spatiales sur la surface, soit de la présence des tubes adsorbés. A cause de cette diffusion diffuse, la détermination exacte de la réflexion spéculaire n'est pas possible lorsque des mesures sont effectuées avec un monodétecteur. Néanmoins, cela n'empêche pas l'exploitation des données, puisque l'information utile provient dans notre cas de la forme et de la position des franges d'interférences.

L'épaisseur de la structure présente à l'interface s'obtient à partir de l'espacement entre les franges d'interférences ($d \approx 2\pi/\Delta Q$) et donne une valeur d'environ 300 Å. Cette valeur est du même ordre de grandeur que la valeur de l'espace interlamellaire mesurée précédemment pour des tubes en solution (340 Å à 25 °C à partir des données de DNPA). Cette similitude avec les résultats obtenus précédemment en solution pose la question de l'origine du signal obtenu : soit le signal provient de la réflectivité d'une structure d'acides gras présente à la surface et/ou soit d'un intense signal de diffusion aux petits angles des tubes présents en solution sous l'interface.

Pour pouvoir discriminer entre ces deux hypothèses, des mesures ont été réalisées à 20 °C en variant le contraste du solvant avec 3 rapports différents de composition du solvant (H₂O/D₂O). En effet, si le signal provient de la diffusion aux petits angles, les courbes doivent être identiques au niveau de la position des franges et seule l'amplitude sera alors modifiée d'un cas à l'autre. Les courbes obtenues pour les trois contrastes sont présentées sur la figure 6.12 a. La forme des courbes est très similaire avec des franges qui ont la même amplitude et un espace entre franges identique pour les trois compositions de solvant. De

plus, ces franges sont exactement décalées, d'un échantillon à l'autre, d'une valeur correspondant au vecteur de diffusion critique (Q_c) qui dépend seulement de la composition du solvant (rapport H_2O/D_2O). Ainsi, en représentant les données obtenues après soustraction à chaque vecteur de diffusion de la valeur du vecteur de diffusion critique, les franges d'interférences se retrouvent à la même abscisse (Figure 6.12 b). Ceci prouve de manière non ambiguë que le signal de diffusion obtenue provient du signal de réflectivité de la structure présente à l'interface. Néanmoins, il est possible qu'une légère partie du signal collecté provienne de la diffusion aux petits angles des tubes en solution.

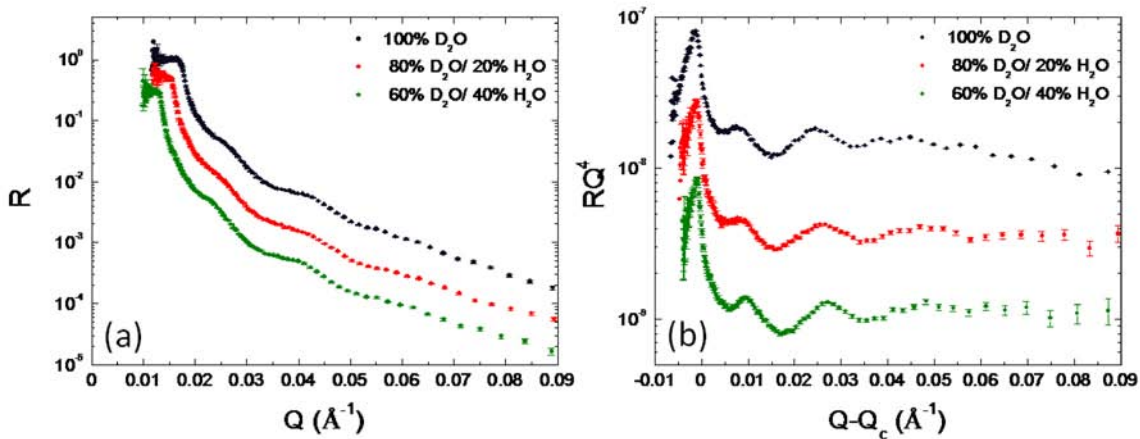


FIGURE 6.12 – Comparaison des spectres de réflectivité de neutrons d'une solution de tubes d'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C à l'interface air/eau pour les trois contrastes différents. (a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; (b) $Q^4R(Q)$ versus $f(Q-Q_c)$. Les données sont décalées en intensité pour des raisons de clarté.

Pour connaître la structure présente à l'interface, nous avons ajusté la courbe de réflectivité obtenue à partir de différents modèles de structures possibles présentes à l'interface air/eau dans le cas d'acides gras^{19, 20}. Les modèles couramment rencontrés dans la littérature de phases lamellaires et de monocouches présentes à l'interface ne permettent pas d'ajuster la courbe expérimentale. Au vu de ces résultats et de la similitude entre l'épaisseur de la couche mesurée à l'interface et l'espace interlamellaire des tubes en solution, nous avons développé un modèle basé sur l'adsorption de tubes à l'interface air/eau ayant les mêmes dimensions caractéristiques que les tubes en solution mesurées précédemment (Figure 6.13). Les résultats de tensiométrie semblent montrer la présence d'une monocouche d'acides gras à l'interface. Le modèle comporte donc une monocouche d'acides gras à l'interface air/eau sur laquelle des tubes viennent s'adsorber. Ce modèle est décrit en détails dans le chapitre 4. Ses paramètres géométriques du modèle sont : la présence d'une monocouche d'épaisseur t , l'espace interlamellaire d , l'épaisseur de la bicouche e , le diamètre du tube D , le nombre de bicouches par tubes N ainsi que la densité de surface de tubes Φ_S . Le meilleur ajustement de la courbe est obtenu pour ces valeurs de paramètres : $t = 21 \text{ \AA}$; $d = 270 \text{ \AA}$; $e = 41 \text{ \AA}$; $D = 6000 \text{ \AA}$; $N = 2$ (70 %) et $N=3$ (30 %); et $\Phi_S \approx 0.8$. Le modèle ajuste bien la forme de la courbe et la position des franges d'interférences (Figure 6.13).

Le modèle permet un très bon ajustement de la courbe expérimentale montrant sans ambiguïté que les tubes sont adsorbés à l'interface air/eau avec les mêmes caractéristiques que les tubes en solution. Ainsi, le fort signal de diffusion hors spéculaire obtenu provient de la présence des tubes à l'interface. L'effet des différents paramètres du modèle sur la courbe de réflectivité a été décrit dans le chapitre 4. Le paramètre le plus important dans notre cas est l'espace interlamellaire d , puisqu'il fixe la position en Q des franges d'interférences. De cette manière, l'espace interlamellaire des tubes adsorbés à l'interface peut être facilement déterminé à partir de la position des franges d'interférences.

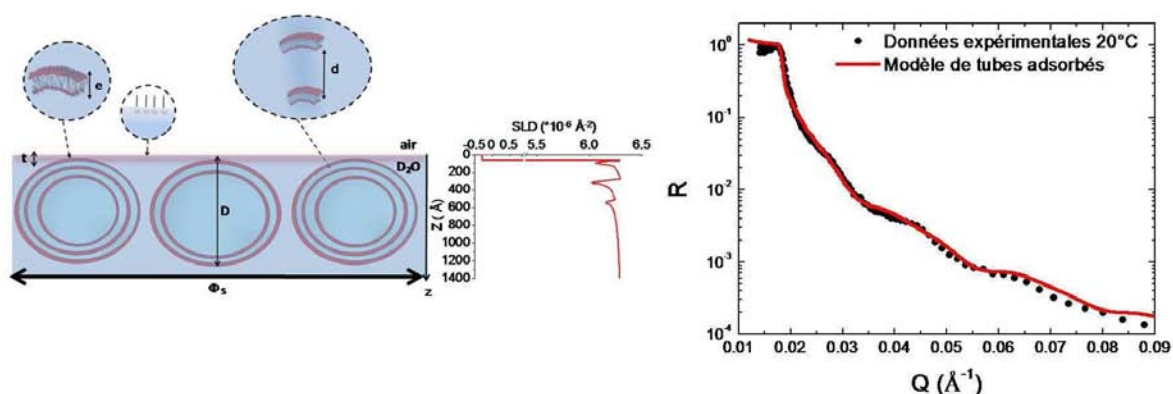


FIGURE 6.13 – Modèle de tubes adsorbés à l'interface air/eau avec le profil de la densité de longueur de diffusion en fonction de la distance à la surface correspondant. Comparaison du spectre de réflectivité de neutrons d'une solution de tubes d'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C à l'interface air/eau, avec ce modèle.

6.2.3 Expériences de réflectivité de neutrons en fonction de la température *in situ*

Comme nous avons pu le voir dans les sections précédentes, l'espace interlamellaire des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion varie avec la température. Une manière simple de savoir si le comportement des tubes adsorbés à l'interface est semblable à celui des tubes en solution est de réaliser des expériences de réflectivité en température à l'interface air/eau et de regarder l'évolution de la position en Q des franges d'interférences.

Pour cela, nous avons déposé l'échantillon dans la cuve de mesure à 20 °C et nous l'avons chauffé à la température désirée (chauffage *in situ* de l'échantillon dans la cellule de mesure). Tous les résultats présentés ci-après ont été obtenus avec un monodétecteur. Ainsi, le signal mesuré intègre, en plus de la réflectivité spéculaire, une forte composante hors spéculaire. Il est donc impossible d'ajuster quantitativement le modèle de tubes à ces courbes expérimentales. Néanmoins, une description qualitative des courbes expérimentales basée sur la détermination de la position en Q des franges d'interférences est possible.

Les résultats obtenus pour toutes les températures sont présentés sur la figure 6.14. A 40 °C, la courbe de réflectivité a une forme très similaire à celle obtenue précédemment à 20 °C. Cependant, à 40 °C, les franges d'interférences sont décalées vers les plus petits vecteurs de diffusion, indiquant que l'espace interlamellaire d , a augmenté de la même manière qu'observé précédemment en solution pour ce système (voir section 6.1.2).

A 50 °C, le comportement à l'interface air/eau change de façon drastique. A cette température, les spectres obtenus évoluent avec le temps montrant que le système n'est pas à l'équilibre contrairement aux observations précédentes réalisées à 20 °C et 40 °C (Figure 6.14c). Après une heure à 50 °C, des franges d'interférences très marquées apparaissent sur la courbe expérimentale. Cette courbe de réflectivité est très semblable à une courbe de réflectivité de phase lamellaires adsorbées à l'interface. Il nous est impossible de modéliser cette courbe puisque, le système évoluant rapidement dans le temps, la courbe mesurée est une moyenne temporelle d'une courbe de réflectivité en évolution. Néanmoins, la forme de la courbe déjà observée par d'autres auteurs dans le cas de phases lamellaires adsorbées à l'interface air/eau sur d'autres systèmes renforce l'idée de la formation de phases lamellaires pour cette température^{19, 20}.

Sur la courbe correspondant à la première heure d'acquisition, nous avons déterminé à partir des franges d'interférences un espace interlamellaire entre ces phases lamellaires adsorbées d'environ 300 Å. Après deux et trois heures d'acquisition, les franges deviennent de plus en plus marquées en intensité et la position des franges en Q se déplace vers les plus grands vecteurs de diffusion, ce qui montre que l'espace interlamellaire diminue (260 Å après trois heures d'acquisition). Ensuite les franges d'interférences continuent de se déplacer vers les plus grands vecteurs de diffusion puis disparaissent progressivement. Il est probable que la diminution progressive de l'espace interlamellaire ne se fait pas de façon homogène sur toute la surface de l'échantillon, ce qui induit une polydispersité importante de la structure à l'interface. La disparition progressive des franges d'interférences provient donc probablement de la formation de domaines à l'interface avec des phases lamellaires ayant des espaces interlamellaires différentes. Comme la mesure de la courbe expérimentale de réflectivité fait une moyenne sur toute la surface, la courbe expérimentale obtenue est une combinaison linéaire des différentes courbes de réflectivité de phases lamellaires avec des espaces interlamellaires différentes.

Dans le même temps, le vecteur de diffusion critique Q_c se déplace vers les petits vecteurs de diffusion indiquant que la densité de longueur de diffusion N_b du milieu semi-infini en dessous de la surface n'est plus égale à celui du D_2O . Un tel déplacement du vecteur de diffusion critique vers les petits vecteurs de diffusion signifie que le N_b moyen au voisinage de l'interface (typiquement dans les premiers milliers d'angströms) a diminué. Ceci n'est possible que dans le cas d'un fort enrichissement en acides gras sous la surface. Nous avons évalué quantitativement ce changement de N_b à partir de la position de Q_c (0.015 \AA^{-1}), ce qui donne une valeur de N_b d'environ ($4.35 \cdot 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$) après 5 heures d'acquisition. Cette valeur de N_b correspond à une fraction d'acides gras d'environ 30 % dans le milieu sous la surface. Il y a donc un enrichissement très fort en acides gras sous l'interface. Il faut rappeler qu'à 50 °C le diamètre des tubes en solution est proche de sa valeur maximale. A l'interface, les résultats obtenus suggèrent que les tubes ont fusionné, ce qui a induit leur dépliement qui a ensuite mené à la formation de phases lamellaires très denses à la surface. Des résultats

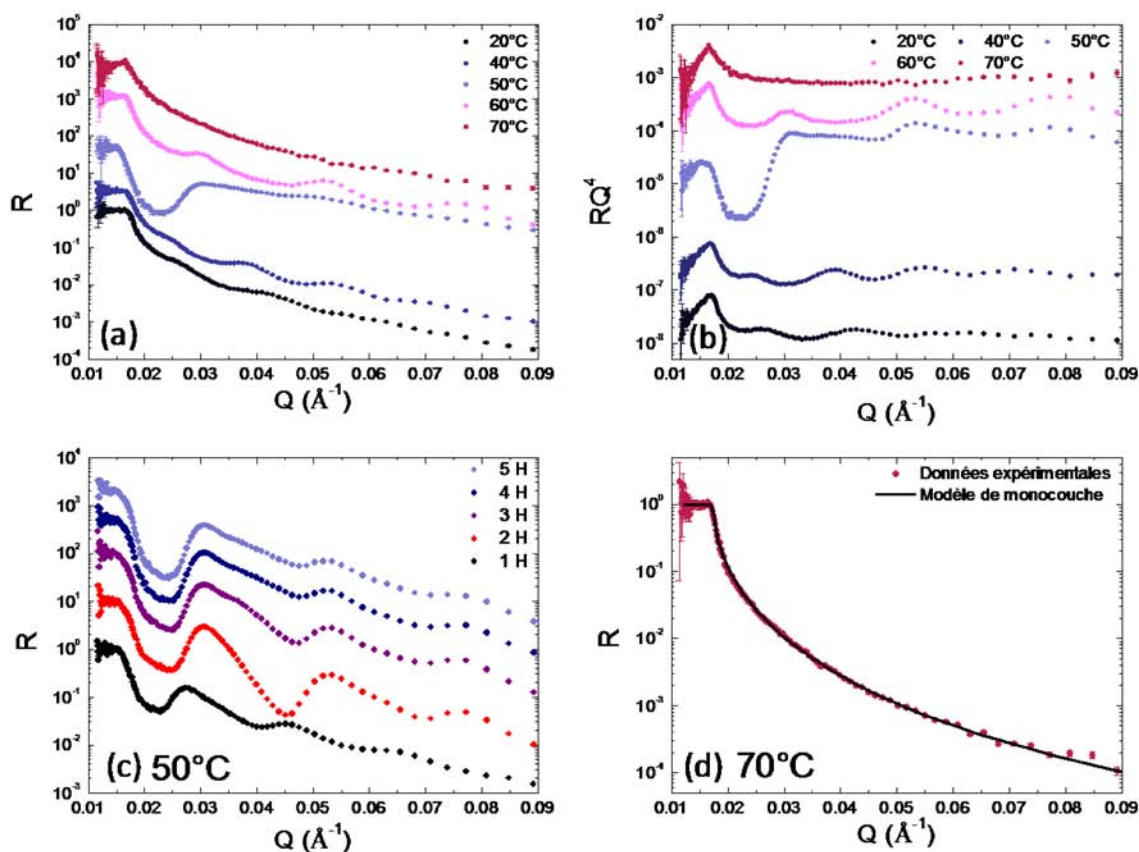


FIGURE 6.14 – Evolution en fonction de la température des spectres de réflectivité de neutrons d’une solution de tubes d’acide gras 12-hydroxystéarique avec l’ethanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à l’interface air/eau chauffé *in situ* dans la cellule. a) $R(Q)$ versus $f(Q)$; b) $Q^4 R(Q)$ versus $f(Q)$. Les données sont décalées en intensité pour des raisons de clarté. (c) Evolution du spectre de réflectivité à 50 °C (chaque courbe correspond à une acquisition d’une heure). (d) Ajustement de la courbe de réflectivité obtenue à 70 °C par une monocouche d’acides gras.

similaires ont été observés en solution à 50 °C pour des solutions de tubes à 100 mg/mL. En effet, à cette concentration en solution, le diamètre des tubes augmente à 50 °C et les tubes fusionnent pour former une phase lamellaire, puis si l'on continue à chauffer, les tubes se reforment et leur diamètre diminue. On peut supposer que la concentration en tubes à l'interface à 50 °C est suffisante pour reproduire ce phénomène déjà observé en solution à 100 mg/mL. L'augmentation de la concentration en tubes à l'interface entraînerait la formation de phases lamellaires. Par ailleurs, la diminution de l'espace interlamellaire à 50 °C en fonction du temps provient d'une déshydratation entre les bicouches et donc entraîne un enrichissement en acides gras à l'interface. Dans ces phases lamellaires il y a au moins une dizaine de bicouches, contrairement aux tubes dans lesquels le nombre de bicouches est plus faible.

A 60 °C, les tubes en solution ont un diamètre très proche de celui des tubes à 40 °C. Seul l'espace interlamellaire diminue fortement entre ces températures. A l'interface, la courbe de réflectivité obtenue est très semblable à celles obtenues à 20 °C et 40 °C. Ceci montre que, de façon étonnante, les tubes sont de nouveau adsorbés à l'interface. Les phases lamellaires présentes à l'interface à 50 °C se sont donc réorganisées pour reformer des tubes à l'interface. De plus, les franges d'interférences sont décalées vers les grands vecteurs de diffusion en comparaison avec celles obtenues à 40 °C, indiquant que l'espace interlamellaire a diminué à 60 °C, exactement de la même façon que pour les tubes en solution.

A 70 °C, les franges d'interférences disparaissent et la courbe de réflectivité obtenue est facilement ajustée avec une monocouche d'acides gras présente à l'interface air/eau (Figure 6.14d). En solution à cette température, les tubes fusionnent sous forme de micelles. Il n'y a donc plus de tubes en solution, et donc plus de tubes à l'interface ce qui explique la disparition des franges d'interférences et la présence d'une monocouche pour stabiliser l'interface. La disparition des tubes a entraîné la disparition du signal diffus hors spéculaire, ce qui rend la modélisation des données acquises avec le monodétecteur de nouveau possible.

Tous les résultats de réflectivité obtenus en température confortent l'idée que des tubes sont réellement adsorbés à l'interface air/eau. Le comportement des tubes adsorbés à l'interface est très similaire à celui des tubes en solution en fonction de la température, excepté le comportement spécifique à 50 °C.

6.2.4 Réversibilité des transitions structurales avec la température

Il est connu que les transitions obtenues pour les tubes en solution vis-à-vis de la température sont complètement réversibles. Nous avons donc décidé de tester la réversibilité des transitions en fonction de la température dans le cas de tubes adsorbés à l'interface.

Dans ce but, après une première montée en température de 20 °C à 60 °C, nous avons diminué la température jusqu'à 40 °C et nous avons de nouveau chauffé jusqu'à 60 °C. Les résultats sont présentés sur la figure 6.15. Pour une température donnée, de faibles différences sont observées lors de ces cycles de température. Les différences ne sont sûrement pas dues à un réel changement de la structure mais proviennent plutôt du protocole expérimental

choisi. En effet, l'échantillon a été déposé dans la cellule de mesure à 20 °C, puis a subi tous ces cycles de température, ce qui correspond à plus de 70 heures dans la cellule de mesure. Ceci entraîne la formation de vapeur de D₂O dans la cellule de mesure et, comme le D₂O diffuse fortement les neutrons, cela altère légèrement la qualité des résultats. Ainsi, toutes les transitions structurales à l'interface sont quasi-réversibles comme en solution !

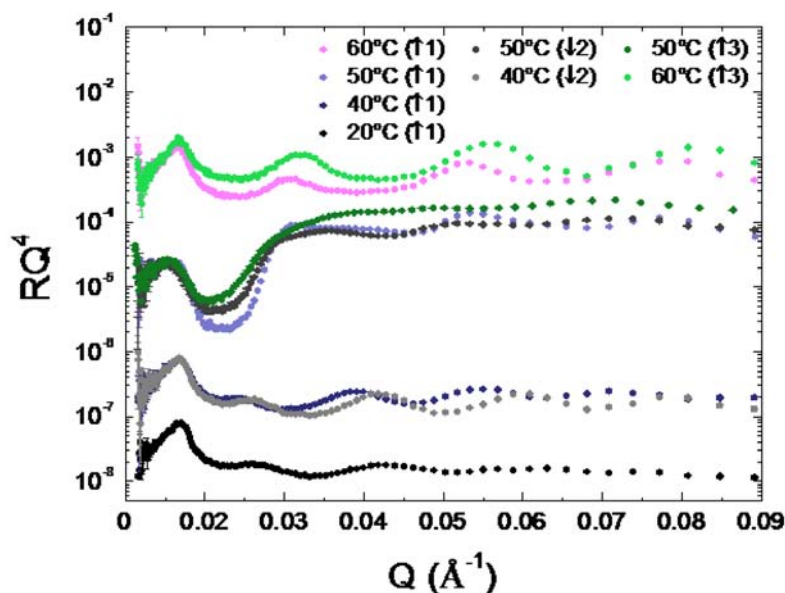


FIGURE 6.15 – Comparaison des spectres de réflectivité de neutrons d'une solution de tubes d'acide gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à l'interface air/eau pendant deux montées successives de la température ((1) première montée, (2) descente et (3) deuxième montée). Les données sont décalées en intensité pour des raisons de clarté.

6.2.5 Influence de l'histoire thermique de l'échantillon

Dans les expériences précédentes, l'échantillon a été chauffé *in situ* dans la cellule de mesure. Pour tester l'influence de l'histoire thermique de l'échantillon sur la structure formée à l'interface air/eau, nous avons réalisé une autre série d'expériences en introduisant directement à la température étudiée la solution de tubes dans la cellule de mesure préchauffée à la température désirée. La figure 6.16 présente les résultats obtenus avec ce protocole et les résultats obtenus précédemment. Quelle que soit la température, les résultats sont identiques entre les deux protocoles (chauffage *in situ* de l'échantillon ou chauffage *ex situ*). Ceci prouve sans ambiguïté que la structure formée à l'interface ne provient pas de réarrangements structuraux au cours du temps. La structure des tubes à l'interface air/eau est liée aux modifications structurales des tubes en solution.

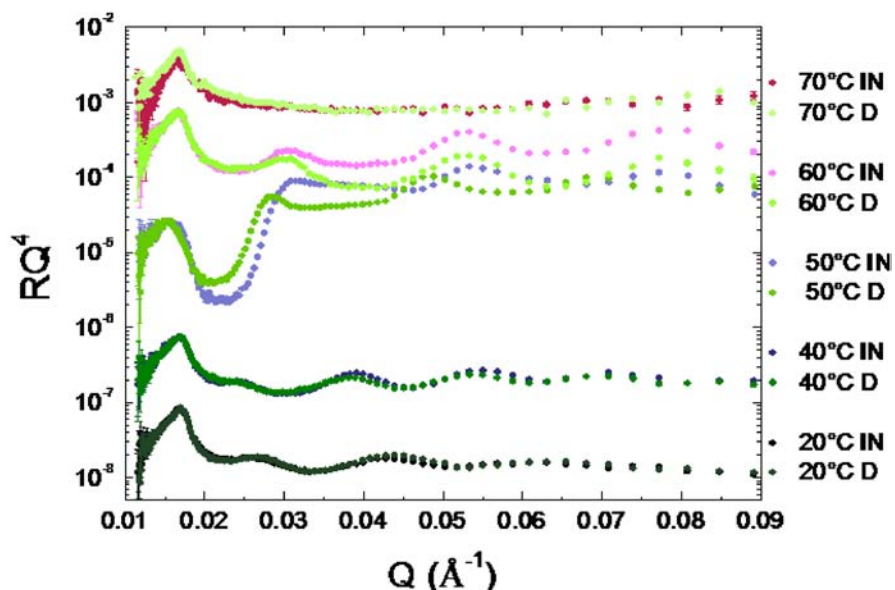


FIGURE 6.16 – Comparaison des spectres de réflectivité de neutrons en fonction de la température d’une solution de tubes d’acide gras 12-hydroxystéarique avec l’éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à l’interface air/eau dans le cas du chauffage *ex situ* (D) de l’échantillon ou du chauffage *in situ* dans la cellule de mesure (IN). Les données sont décalées en intensité pour des raisons de clarté.

6.2.6 Comparaison entre le comportement à l’interface des tubes et en solution

Tous nos résultats ont montré que les tubes étaient adsorbés à l’interface air/eau et que le comportement à l’interface suivait les mêmes tendances que celles observées pour les tubes en solution vis-à-vis de la température, à part le comportement particulier à 50 °C. La figure 6.17 représente l’évolution de la l’espace interlamellaire pour des tubes en solution et pour des tubes adsorbés à l’interface. A 50 °C, l’espace interlamellaire sur le graphique correspond à celui obtenu après une heure d’acquisition. De façon remarquable, l’espace interlamellaire pour des tubes en solution et pour des tubes adsorbés à l’interface est exactement le même en fonction de la température. Ceci confirme que la structure des tubes adsorbés à l’interface est reliée à la structure des tubes en solution.

6.2.7 Conclusion

La réflectivité de neutrons spéculaire sur une solution de tubes d’acides gras 12hydroxystéarique avec l’éthanolamine comme contre-ion a permis de montrer que ces tubes s’adsorbaient à l’interface air/eau. Par ailleurs, les tubes adsorbés à l’interface ont le même comportement vis-à-vis de la température que les tubes en solution, excepté un comportement spécifique à l’interface à 50 °C. En effet, à cette température à l’interface, les tubes se déplient et fusionnent pour former des phases lamellaires denses. De façon remarquable, toutes les transitions structurales des tubes adsorbées à l’interface sont réversibles de la même manière qu’en solution.

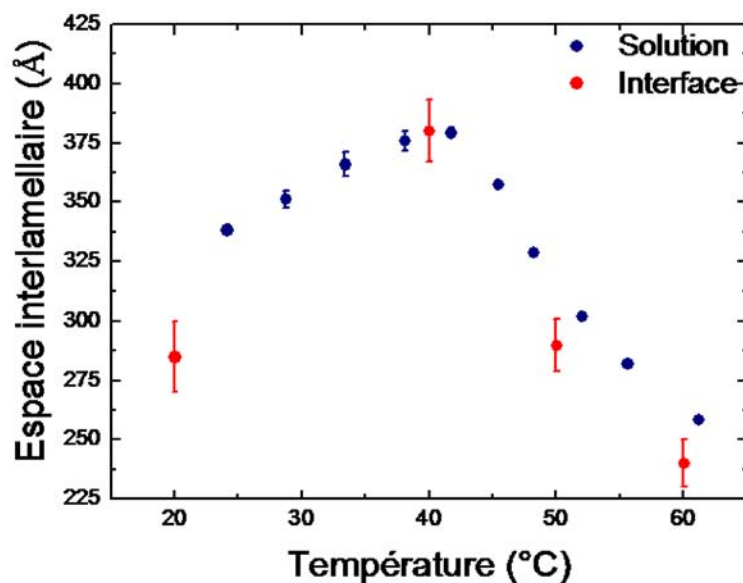


FIGURE 6.17 – Evolution de l'espace interlamellaire en fonction de la température dans le cas de tubes en solution et dans le cas de tubes adsorbés à l'interface air/eau.

Ainsi en couplant une étude structurale fine en solution de cet assemblage avec une étude aux interfaces, nous avons pu montrer l'impact de la structure en volume sur les propriétés interfaciales. Par ailleurs, ces résultats à l'interface montrent que la structure de la couche interfaciale peut être facilement modulée en jouant sur la température de la même manière qu'en solution, ceci donne à ce système un potentiel exceptionnel au niveau des propriétés interfaciales.

Au vu de ces résultats, nous avons donc étudié ensuite la production de mousses à partir de ce système dans le but d'obtenir des mousses stimulables sous l'effet d'une contrainte externe, qui dans notre cas est la température.

6.3 Etude des propriétés moussantes des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique à température ambiante

6.3.1 Propriétés moussantes d'une solution de tubes par bullage

Les propriétés moussantes des solutions de tubes d'acides gras ont été étudiées tout d'abord sur des mousses modèles générées par bullage à l'aide du Foamsan (Annexe D). La formation de la mousse a été caractérisée par le temps de formation défini comme le temps pour lequel le volume de mousse fixé est atteint. La stabilité de la mousse a été suivie en fonction du temps par l'évolution du volume de mousse. Le volume final de liquide dans les mousses a également été déterminé. Toutes les mousses ont été obtenues à partir de solutions

de tubes dont la concentration en acides gras est de 10 mg/mL.

Le temps de formation des mousses obtenues dans les conditions suivantes (V_{mousse} à atteindre=45 mL, débit=35 mL/min) à partir des solutions de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec les huit contre-ions utilisés dans la section 6.1.2 est d'environ 80s (± 2 s) (Figure 6.18). La moussabilité est optimale puisque tout le gaz injecté par bullage dans la solution de tubes est incorporé. De plus, toutes ces mousses présentent le même aspect visuel à la fin du bullage : petites bulles homogènes d'environ 100 μm de diamètre. Nous attribuons cette très bonne moussabilité à l'adsorption rapide des monomères d'acides gras présents en coexistence avec les tubes en solution aux interfaces créées lors du bullage.

L'évolution en fonction du temps du volume de mousse pour toutes les solutions de tubes est la même. Un exemple est reportée sur la figure 6.18a dans le cas d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion. Les mousses sont très stables, puisque le volume de mousse à la fin de l'expérience, à savoir après 4000 s, est encore supérieur à 40 mL. Au niveau macroscopique, l'aspect de la mousse ainsi que la taille des bulles ne changent pas entre le début et la fin de l'expérience, indiquant qu'il n'y a ni mûrissement, ni coalescence (Figure 6.18a). La figure 6.18b représente un exemple d'évolution du volume de liquide dans la mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion. Les résultats sont identiques pour toutes les mousses. A la fin du bullage, pour toutes les mousses le volume de liquide incorporé dans la mousse est de 9 mL (± 0.4) ce qui correspond à une fraction de liquide d'environ 20 %. La mousse incorpore donc une quantité importante de liquide. Une diminution rapide du volume de liquide dans la mousse est observée durant 1000 s, puis le drainage ralentit et est bloqué à la fin de l'expérience. La quantité finale de liquide dans la mousse est d'environ 2 mL (± 0.3). La mousse est donc relativement humide (environ 4.5 % d'humidité).

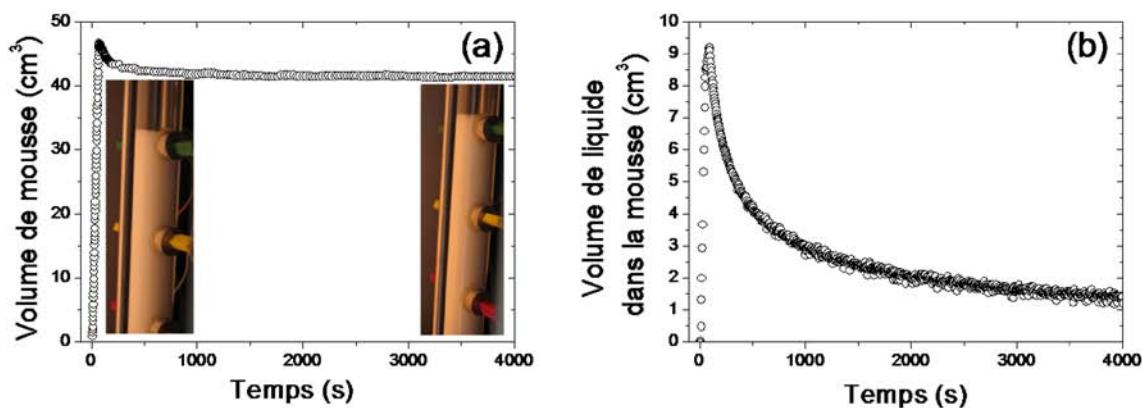


FIGURE 6.18 – (a) Evolution du volume de mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C. Photographies de la mousse juste après arrêt du bullage et après 4000 s. (b) Evolution du volume de liquide dans la mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C.

D'autre part, sur des temps beaucoup plus longs nous n'observons pas de variation du

volume de mousse en fonction du temps, ni de changement d'aspect macroscopique de la mousse (Figure 6.19). Ces mousses semblent donc très stables quel que soit le système utilisé du moment que des tubes sont présents dans la solution. Ces mousses sont donc très différentes de celles obtenues avec des tensioactifs classiques (SDS, CTAB etc.) qui se déstabilisent au bout de quelques dizaines de minutes.

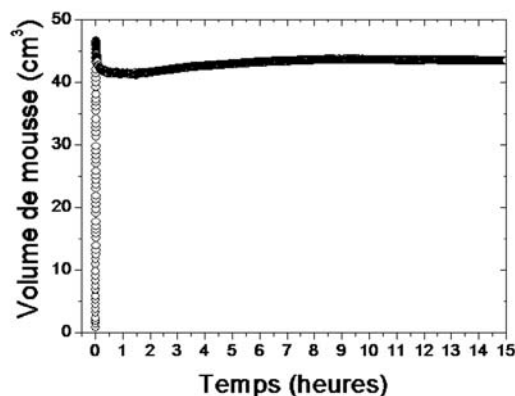


FIGURE 6.19 – Evolution du volume de mousse sur des temps très longs pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C.

Des clichés de microscopie à contraste de phase ont été réalisés sur des mousses. Les images montrent la présence de tubes dans le liquide entourant les bulles (Figure 6.20). Il reste donc une quantité importante de tubes après la formation de la mousse. Les tubes ne sont pas détruits par le bullage. Ils participent probablement à la stabilisation des mousses.

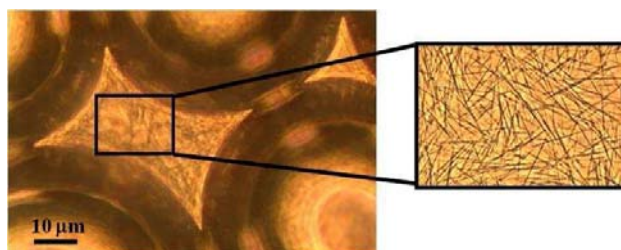


FIGURE 6.20 – Image de microscopie à contraste de phase d'une mousse obtenue pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C.

6.3.2 Etude des films minces par la balance à film

Pour comprendre finement le mécanisme de stabilisation de ces mousses par les tubes, une étude aux différentes échelles de la mousse a été réalisée. Comme nous l'avons vu dans la section précédente, les tubes s'adsorbent à une interface modèle air/eau. Néanmoins, la taille caractéristique des tubes (de l'ordre du micromètre) est nettement supérieure à celle des films noirs communs (10 à 80 nm). Pour savoir si ces objets de grandes tailles sont ou non présents dans les films interbulles, des expériences sur des films isolés avec une balance à film ont été réalisées.

Un film obtenu avec une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C pour une pression imposée de 260 Pa est présenté sur la figure 6.21. Son aspect est homogène et sa couleur uniforme, ce qui signifie que ce film est d'épaisseur constante. Cette uniformité est la signature d'une pression constante à travers tout le film et laisse supposer qu'un état d'équilibre est atteint. Comme le film est parfaitement homogène, nous pouvons conclure sans ambiguïté possible que les tubes ne sont pas présents dans les films isolés. Il est très probable qu'il en soit de même dans les mousses : les films seraient donc stabilisés par les monomères d'acides gras et les tubes présents dans les bords de Plateau. De plus, le diamètre du film observé lors de ces expériences est beaucoup plus petit que dans le cas des tensioactifs habituels (SDS, CTAB) avec la même fraction liquide signifiant que le film mince est entouré de ménisques épais remplis de tubes qui relient les films à la frontière du bord de Plateau.

Dans la littérature, le comportement de l'acide gras 12-hydroxy stéarique à l'interface air/eau a été étudié à l'aide d'une balance de Langmuir²¹. Les auteurs ont montré que cet acide gras peut former une couche très dense à la surface du fait de liaisons hydrogènes entre les molécules. De plus, la monocouche formée est très élastique. Ainsi, le film interbulle est stabilisé par une couche dense d'acides gras 12-hydroxystéarique ce qui permet de freiner les phénomènes de mûrissement et de coalescence permettant ainsi de stabiliser la mousse.

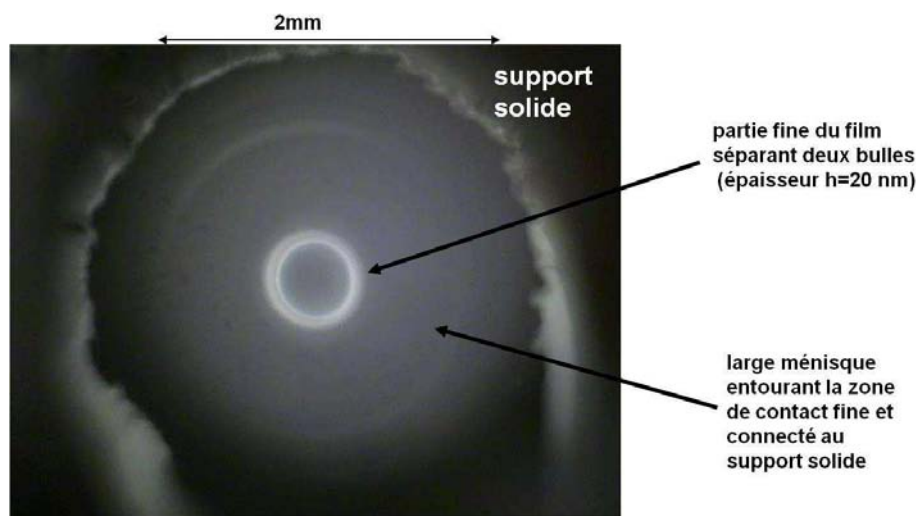


FIGURE 6.21 – Exemple de film interfacial obtenu pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL à 20 °C pour une pression appliquée de 260 Pa.

6.3.3 Etude de la structure des tubes *in situ* dans les bords de Plateau par DNPA

Pour connaître la structure des tubes *in situ* dans les bords de Plateau de la mousse, des expériences de DNPA ont été réalisées directement sur des mousses. Dans cette première série d'expériences, nous avons travaillé à température ambiante et comparé la structure des tubes de la solution que nous avons utilisée pour fabriquer la mousse, avec la structure des tubes dans la mousse et dans le liquide drainé.

Tout d'abord, nous avons utilisé la méthode de variation de contraste afin de déterminer si le signal de diffusion obtenu provenait principalement de la diffusion aux petits angles des tubes présents en solution dans les bords de Plateau ou du signal de réflectivité de la mousse. Pour cela, nous avons produit des mousses avec des solutions de tubes avec différentes compositions de solvant (rapport H₂O/D₂O) de manière à varier le contraste. En effet, comme nous l'avons présenté dans la section 6.2.2, le signal de réflectivité est sensible à la densité de longueur de diffusion du solvant, ce qui entraîne un déplacement du vecteur de diffusion critique en fonction de la teneur en H₂O du solvant.

La figure 6.22 a présente les résultats obtenus dans les trois contrastes. Les courbes ont une forme identique, avec les pics de Bragg placés exactement au même endroit, seule l'intensité de diffusion diminue du fait de l'augmentation de la teneur en eau légère dans la composition du solvant, ce qui diminue le contraste entre l'eau et les acides gras. Ceci montre que le signal obtenu provient donc bien de la diffusion aux petits angles des tubes présents dans les bords de Plateau. Les courbes de diffusion obtenues pour la solution de tubes initiale, la mousse et le liquide drainé sont présentées sur la figure 6.22 b. Les spectres de diffusion sont quasiment identiques, ce qui prouve que la structure des tubes dans les bords de Plateau et dans le liquide drainé est la même que pour la solution de tubes initiale : même espace interlamellaire ($330 \text{ \AA} \pm 10$) et même épaisseur de bicouche ($40 \text{ \AA} \pm 1$). Aux petits angles, sur la courbe de diffusion de la mousse, l'intensité diffusée décroît selon une pente en Q^{-4} , ce qui est caractéristique d'une interface abrupte. Ceci provient de la diffusion par les bulles constituant la mousse.

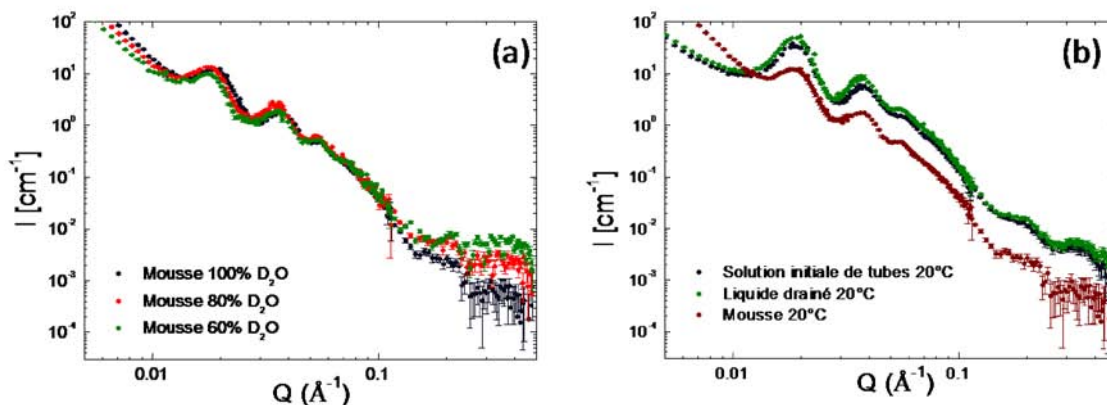


FIGURE 6.22 – (a) Comparaison entre les spectres de diffusion obtenues par DNPA sur une mousse produite à partir d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion dans trois contrastes différents. Les courbes ont été décalées en intensité pour montrer que les trois courbes sont parfaitement superposables. (b) Comparaison entre les spectres de diffusion obtenues par DNPA sur une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion, sur la mousse correspondante et sur le liquide drainé dans la mousse à 20 °C.

6.3.4 Expériences de drainage forcé

La présence des tubes dans les bords de Plateau de la mousse étant attestée, des expériences de drainage forcé ont été effectuées afin de déterminer si la présence des tubes dans les bords de Plateau de la mousse influençait l'écoulement forcé d'un liquide et, si oui, de quelle manière. Pour ce faire, une petite quantité d'eau a été rajoutée à la mousse par le haut de la colonne. De façon surprenante, le liquide rajouté dans la mousse s'écoule uniquement dans les tous premiers centimètres de la mousse. Ensuite, l'écoulement se bloque. Ainsi, les tubes présents dans la mousse empêchent l'écoulement du liquide en formant un réseau de type gel dans la phase continue de la mousse.

6.3.5 Etude de la stabilité de la mousse sur des temps longs

Pour suivre la stabilité et l'évolution de la mousse sur des temps plus longs, des mousses ont été produites par agitation manuelle à partir d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion. L'acide gras utilisé dans ce cas-ci a une pureté de 70 % contrairement à l'acide gras utilisé précédemment car il est moins onéreux. Ceci entraîne un léger changement des températures de transition des tubes. Dans un tube cylindrique en plastique, 15 mL de solution de tubes ont été introduits et agités à la main pendant 30 secondes. Ces mousses ont ensuite été conservées à 25 °C et leur évolution a été suivie. Différentes concentrations en acides gras (de 5 mg/mL à 40 mg/mL) ont été testées de manière à voir l'influence de la concentration en tubes sur la stabilité des mousses. Dans tous les cas, les mousses subsistent plusieurs mois, on peut donc les qualifier de très stables. Par exemple, à une concentration de 5 mg/mL, le volume de mousse ne change pas pendant 2 mois et est stable autour de 18 mL de mousse. Pendant plus d'un mois, l'aspect macroscopique de la mousse ne change pas comme illustré sur la figure 6.23 a. Puis, petit à petit, du mûrissement est observé en haut de la mousse, suivi ensuite d'une diminution du volume de mousse du fait de la coalescence. Au bout de 4 mois, il subsiste environ 2 mL de mousse. Nous avons observé que plus la concentration en acides gras augmentait, plus la mousse était stable sur des périodes longues. Ainsi, pour des mousses produites à partir d'une solution de tubes à 40 mg/mL, le volume de mousse de départ était de 25 mL, et, au bout de 6 mois, le volume de mousse et l'aspect macroscopique de celle-ci n'ont presque pas changé (Figure 6.23 b).

6.3.6 Conclusion

Des mousses incroyablement stables sont obtenues grâce à la fois à la couche dense et élastique formée par les monomères d'acides gras à l'interface limitant ainsi les phénomènes de mûrissement et de coalescence et à la fois à la présence des tubes dans les bords de Plateau et dans les ménisques formant un réseau de type gel dans la phase continue qui limite le drainage. Ce système rassemble donc tous les avantages d'une mousse de particules solides avec une très bonne stabilité en bloquant les mécanismes de déstabilisation de la mousse ainsi que les avantages des mousses de tensioactifs puisque la moussabilité est optimale.

6.3. ETUDE DES PROPRIÉTÉS MOUSSANTES DES TUBES D'ACIDES GRAS
12-HYDROXYSTÉARIQUE À TEMPÉRATURE AMBIANTE

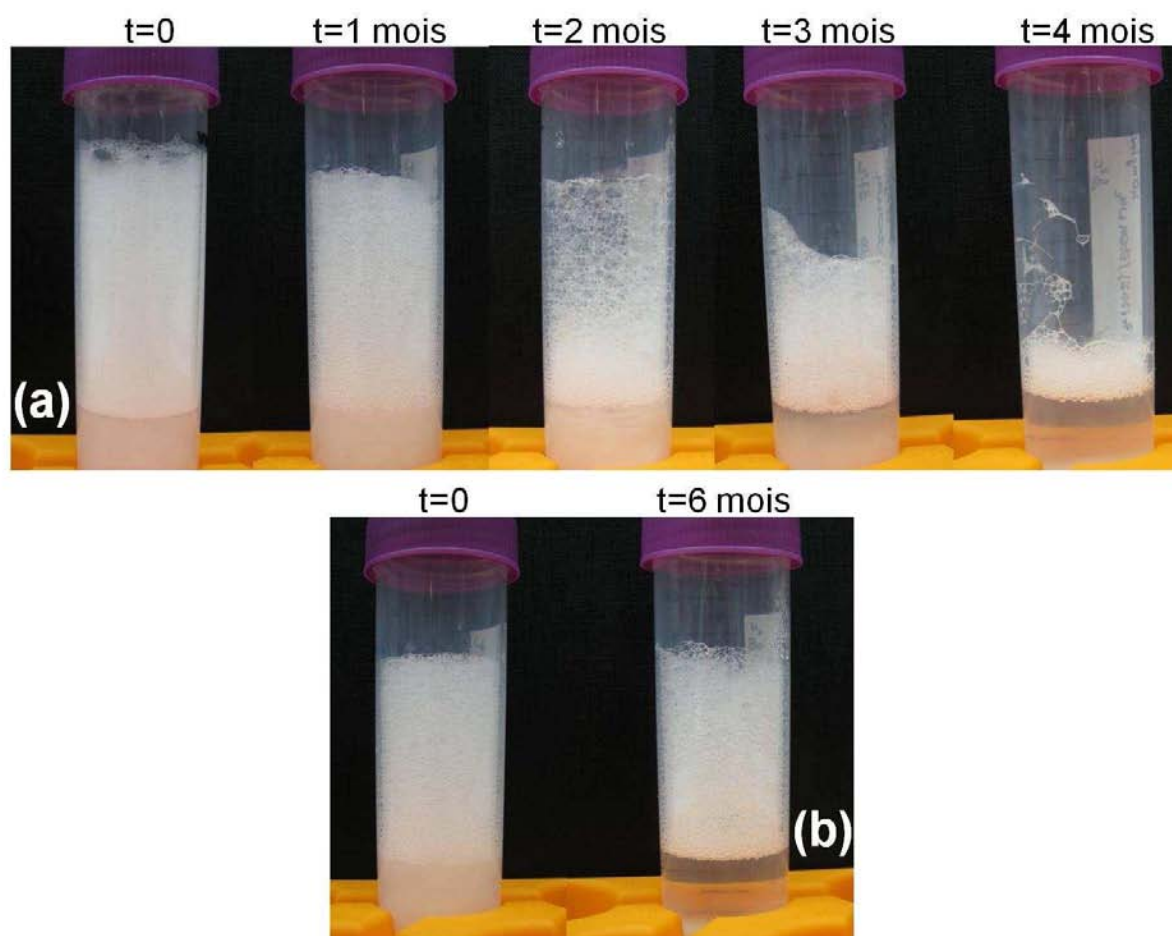


FIGURE 6.23 – (a) mousse produite à partir d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion à 5 mg/mL conservée à 25 °C. (b) mousse produite à partir d'une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec le 2-amino-1-ethanol comme contre-ion à 40 mg/mL conservée à 25 °C.

6.4 Etude des propriétés moussantes des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique en fonction de la température

Lors de l'étude des tubes en solution (section 6.1), nous avons déterminé précisément pour chaque système formant des tubes la gamme de températures pour laquelle les tubes sont présents en solution, ainsi que la température précise de fusion des tubes sous forme de micelles. Au vu de ces résultats, nous avons décidé de produire des mousses à différentes températures pour étudier l'effet de la température sur la stabilité des mousses.

6.4.1 Formation et stabilité des mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique en fonction de la température par bullage

Tout d'abord, nous avons effectué une série d'expériences à l'aide du Foamscan en utilisant une colonne thermostatée. Pour des raisons expérimentales liées à l'appareil, il est impossible de chauffer à plus de 65 °C. Nous avons donc choisi un système dont la température de transition de tubes à micelles est inférieure à cette température seuil imposée par le dispositif expérimental. Le système étudié est une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique (70 % de pureté) avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion à 10 mg/mL. Ce système forme des tubes et transite sous forme de micelles à 60 °C.

L'échantillon a été chauffé *in situ* dans la colonne du Foamscan, et la mousse a été formée lorsque la solution de tubes avait atteint la température désirée. Les résultats sont présentés sur la Figure 6.24. Dans tous les cas, les mousses se forment très facilement avec le même aspect macroscopique à la fin du bullage (petites bulles fines d'environ 100 μm) (Figure 6.24). Ainsi, quelle que soit la température, la solution de tubes possède une très bonne moussabilité. Le volume de mousse reste stable durant toute l'expérience de 20 °C à 50 °C. Pour cette gamme de température, des tubes sont présents en solution et sont donc présents dans la mousse (ceci a été confirmé par microscopie à contraste de phase). Par ailleurs, l'aspect visuel des mousses ne change pas entre le début et la fin de l'expérience. Par contre, à 60 °C, le volume de mousse diminue très rapidement du fait d'une coalescence rapide au sein de la mousse. A cette température en solution, les tubes ont fusionné sous forme de micelles. Il n'y a donc plus de tubes en solution et donc plus de tubes dans la mousse. Les micelles d'acides gras 12-hydroxy stéarique ne permettent donc pas d'obtenir des mousses stables, comme cela a déjà été montré dans le cas de micelles du même acide gras avec le contre-ion TBAOH¹³.

6.4.2 Formation et stabilité des mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique en fonction de la température par agitation manuelle

Pour suivre la stabilité et l'évolution du volume de mousse sur des temps plus longs, des mousses par agitation manuelle ont été produites à partir du système acide gras 12-hydroxy

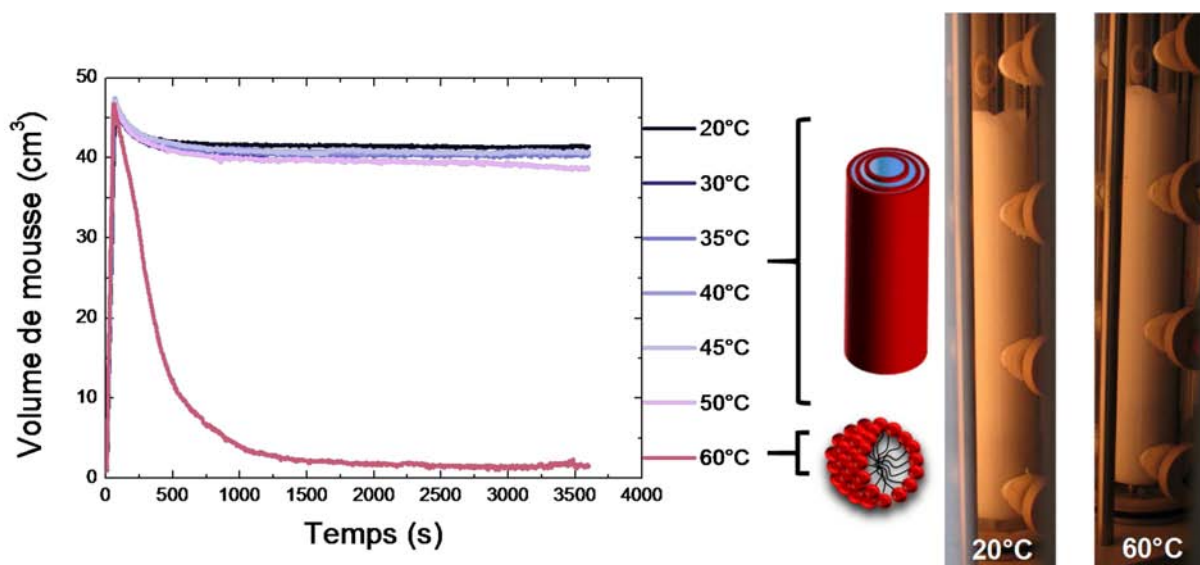


FIGURE 6.24 – Evolution du volume de mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion à 10 mg/mL à différentes températures. A droite du graphique sont présentées des photographies de mousse juste après formation à 20 °C et à 60 °C.

stéarique avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion, à la température étudiée (25 °C, 50 °C et 60 °C) puis placées dans des étuves à la température désirée, comme montré précédemment à température ambiante. A 25 °C, le volume de mousse est stable autour de 30 mL de mousse pendant 2 mois. Cependant après un mois et demi, l'aspect macroscopique de la mousse commence à changer. Puis, petit à petit, du mûrissement est observé en haut de la mousse, suivi par une diminution très lente du volume de mousse du fait de la coalescence (cf. résultats précédents à température ambiante). Au bout de 6 mois, le volume de mousse est de 22mL, les bulles ont une taille très importante du fait d'un fort mûrissement. A 50 °C, le volume de mousse est stable pendant deux semaines autour de 30 mL, puis diminue pour atteindre une valeur de 5 mL au bout de trois semaines. Par contre, à 60 °C, la mousse se déstabilise très rapidement et disparaît complètement après 15 minutes de conservation à 60 °C (Figure 6.25). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus précédemment avec le Foamscan, confirmant que la présence de tubes dans la solution que l'on souhaite faire mousser est essentielle à la stabilisation de la mousse. Par ailleurs, il est important de noter ici que des mousses peuvent être stables même à des températures élevées (50 °C).

Le même type d'expériences a été réalisé à partir d'un autre système formant des tubes : l'acide gras 12-hydroxystéarique (70 % de pureté) avec l'éthanolamine comme contre-ion à 10 mg/mL. Ces tubes ont une transition de tubes à micelles à 70°C. Des résultats similaires ont été obtenus : la mousse se déstabilise très rapidement à 70 °C en l'absence de tubes en solution, alors que des mousses stables pendant plus de deux semaines peuvent être obtenues à 60 °C lorsque des tubes sont présents dans la solution de départ.

Il apparaît clairement que la présence de tubes est un paramètre clé dans la stabilisation des mousses.

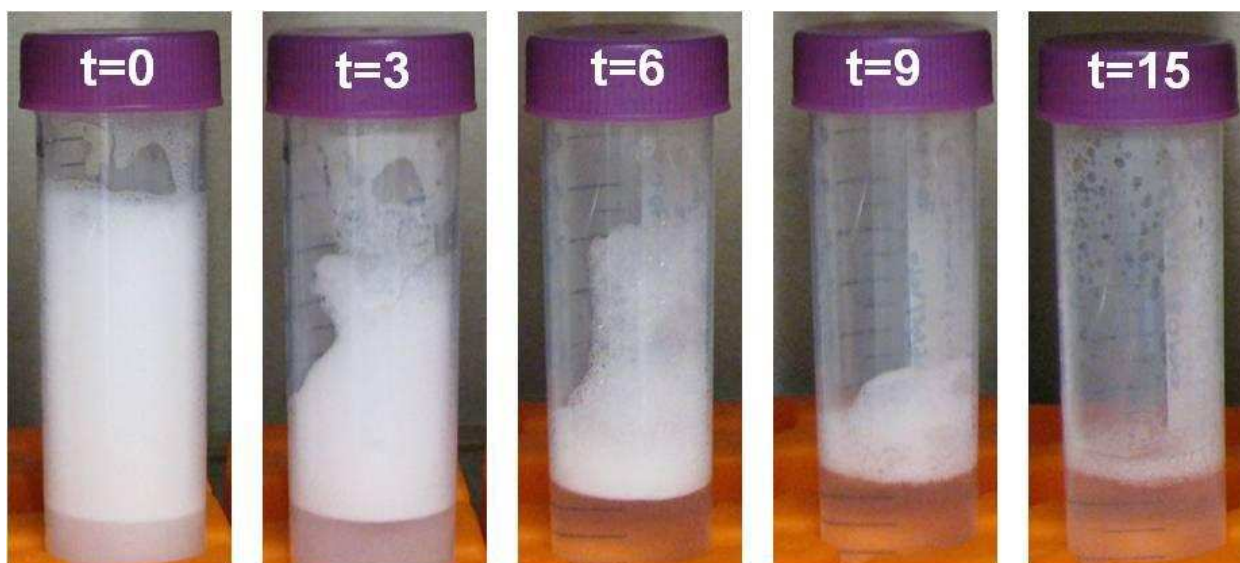


FIGURE 6.25 – Evolution du volume de mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion à 10 mg/mL à 60 °C. Le temps indiqué sur chaque photo est en minutes.

Au vu de ces résultats, d'autres types d'expériences ont été effectuées. Elles consistent à produire les mousses à partir d'une solution de tubes à 20 °C puis de placer ces mousses à différentes températures (25 °C, 50 °C, 60 °C et 70 °C). Des résultats identiques à ceux décrits précédemment ont été obtenus : si, dans la gamme de température étudiée des tubes sont présents en solution, les mousses sont stables ; par contre, si la mousse est conservée à une température supérieure à la température de fusion des tubes sous forme de micelles, alors la mousse se déstabilise en quelques minutes. Ceci suggère que les tubes présents en quantité importante dans les bords de Plateau de la mousse produite à température ambiante fusionnent sous forme de micelles *in situ* dans la mousse à une température égale à la température de fusion des tubes en solution. (voir section 6.1).

6.4.3 Etude de la structure des tubes *in situ* dans les bords de Plateau par DNPA en fonction de la température

Pour vérifier l'hypothèse de formation de micelles *in situ* dans la mousse, des expériences de DNPA ont été réalisées directement sur des mousses de la même façon que précédemment mais cette fois-ci à toutes les températures. Une mousse a été produite à 20 °C à partir de l'acide gras 12-hydroxystéarique avec le 2-amino-1-ethanol comme contre-ion à 10 mg/mL. Cette mousse a été conservée à 60 °C pendant une heure, puis la température a été augmentée à 70 °C. Une disparition très rapide des pics de Bragg est observée sur le spectre de diffusion de la mousse dès les trois premières minutes d'acquisition (Figure 6.26a). Au bout de 5 minutes d'acquisition, un spectre typique de micelles sphériques est obtenu aussi bien dans la mousse que dans la solution initiale et dans le liquide drainé (Figure 6.26b). Ceci prouve que les tubes peuvent fusionner *in situ* dans les bords de Plateau de la mousse. La disparition des tubes au profit des micelles entraîne une destruction du réseau de type gel formé par les

tubes dans les bords de Plateau, le drainage qui était jusqu'alors bloqué, est réactivé, tout comme la coalescence. La reprise de ces phénomènes de déstabilisation de la mousse entraîne la destruction très rapide de celle-ci.

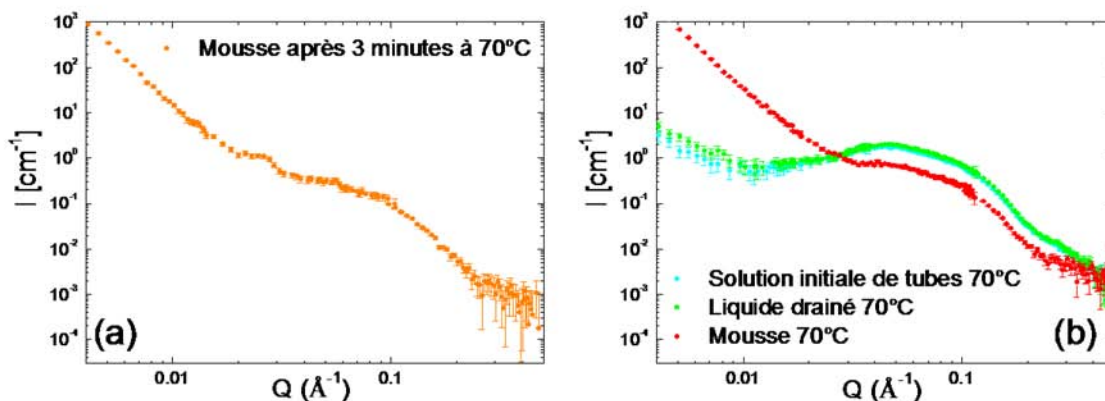


FIGURE 6.26 – (a) Spectre de diffusion obtenues par DNPA sur une mousse produite à partir d’une solution de tubes d’acides gras 12-hydroxystéarique avec le 2-amino-1-ethanol comme contre-ion au bout de 3 minutes à 70°C . (b) Comparaison entre les spectres de diffusion obtenues par DNPA sur une solution de tubes d’acides gras 12-hydroxystéarique avec le 2-amino-1-ethanol comme contre-ion, sur la mousse correspondante et sur le liquide drainé dans la mousse au bout de 5 minutes à 70°C .

6.4.4 Stabilité des mousses de tubes d’acides gras 12-hydroxy stéarique lors de cycles de température

A partir de ces résultats, nous avons décidé de tester la possibilité de moduler la stabilité de la mousse en jouant simplement sur la température, ce qui entraîne une modification de la structure de l’assemblage *in situ* dans les bords de Plateau.

Ces expériences ont été réalisées à l’aide du Foamscan et de la colonne thermostatée. Le système étudié est une solution de tubes d’acides gras 12-hydroxystéarique (70 % de pureté) avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion à 10 mg/mL . Nous rappelons que ce système forme des tubes et transite sous forme de micelles à 60°C .

Tout d’abord, nous avons produit une mousse à 20°C à partir de cette solution de tubes. A cette température, le volume de mousse est stable (Figure 6.27 a). La température a été augmentée très rapidement à 60°C et on observe que le volume de mousse diminue fortement à cette température du fait de la coalescence. Avant la destruction totale de la mousse, la température a été rediminuée à 20°C . De façon remarquable, le volume de mousse se stabilise de nouveau. La coalescence très forte observée à 60°C est complètement interrompue à 20°C . De la même façon, nous avons produit une mousse à 60°C qui se déstabilise très rapidement (Figure 6.27b). Puis, la température a été diminuée de 5°C pour atteindre une température de 55°C . On observe alors que le volume de mousse reste stable de nouveau en fonction du temps avec un arrêt complet des phénomènes de déstabilisation de la mousse.

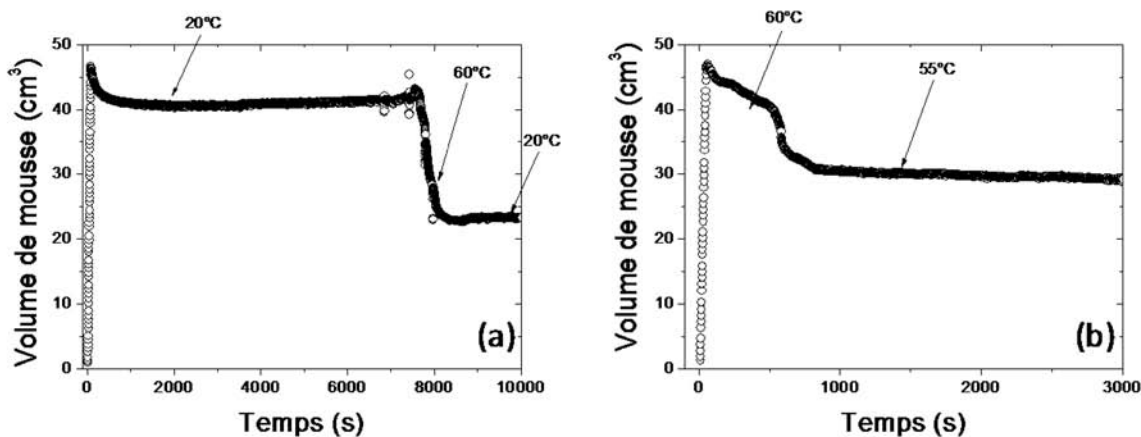


FIGURE 6.27 – Evolution du volume de mousse en fonction du temps pour une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec le 6-amino-1-hexanol comme contre-ion à 10 mg/mL : (a) cycle : 20 °C à 60 °C à 20 °C. (b) cycle : 60 °C à 55 °C.

De façon remarquable, la stabilisation et la déstabilisation de la mousse peuvent être contrôlées très facilement en jouant sur l'assemblage présent dans les bords de Plateau : micelles ou tubes. Ainsi, la transition à l'échelle microscopique entre les tubes et les micelles a un effet très marquée à l'échelle macroscopique sur l'évolution du volume de mousse. Les mousses réalisées à partir des tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique sont donc thermosensibles !

6.4.5 Etude de la structure des tubes *in situ* dans les bords de Plateau par DNPA lors de cycles de températures

Pour avoir des informations plus fines sur l'évolution de la structure des tubes au sein de la mousse lors des cycles de températures, nous avons réalisé des expériences de DNPA sur une mousse lors d'une montée en température de 20 °C à 60 °C, puis une descente en température jusqu'à 40 °C. Les spectres de diffusion obtenus sont présentés sur la Figure 6.28.

Pour chaque température, nous avons comparé le spectre de diffusion de la mousse avec celui du liquide drainé et de la solution de tubes initiale. Pour la montée en température, les spectres de diffusion sont quasiment identiques pour les trois échantillons pour une température donnée. Les transitions structurales des tubes dans la mousse sont donc identiques à celles des tubes en solution et des tubes dans le liquide drainé. Les mêmes observations sont faites sur les spectres obtenus lors de la descente en température. Lorsque l'on compare les spectres de diffusion de la solution de tubes initiale, de la mousse et du liquide drainé correspondant à la montée en température avec les spectres obtenus lors de la descente en température, on observe qu'ils sont identiques. Ceci montre que les changements structuraux des tubes dans la mousse sont exactement les mêmes que pour ceux des tubes en solution et sont de plus complètement réversibles. Ainsi, en jouant sur la structure des tubes *in situ* dans la mousse grâce à la température, il est facile de moduler les propriétés des mousses.

6.4. ETUDE DES PROPRIÉTÉS MOUSSANTES DES TUBES D'ACIDES GRAS 12-HYDROXYSTÉARIQUE EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

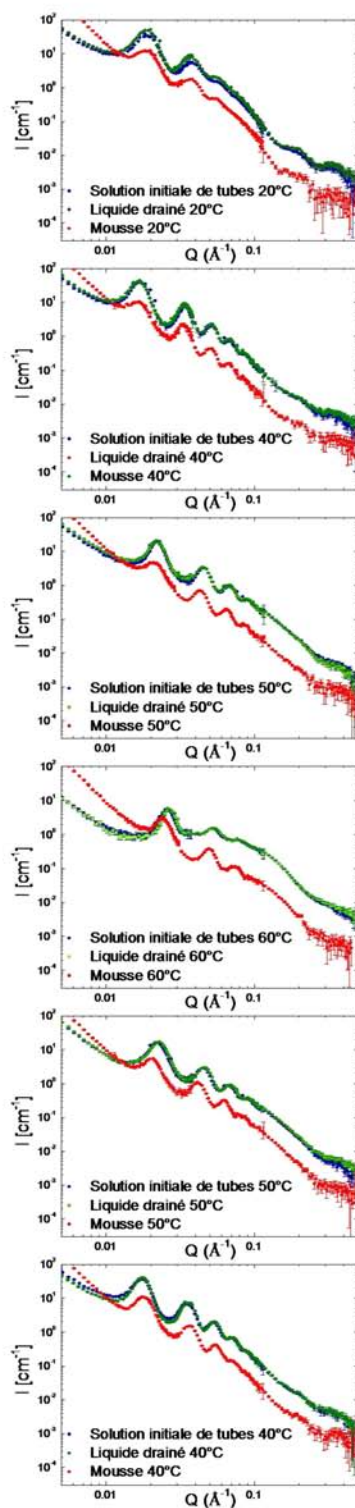


FIGURE 6.28 – Comparaison entre les spectres de diffusion obtenus par DNPA sur une solution de tubes d'acides gras 12-hydroxystéarique avec le 2-amino-1-ethanol comme contre-ion, sur la mousse correspondante et sur le liquide drainé dans la mousse lors de l'augmentation et de la diminution en température.

Par ailleurs, la mousse formée à partir du liquide drainé a exactement les mêmes propriétés moussantes que la solution initiale. Cela s'explique par le fait que la structure des tubes dans le liquide drainé est la même que celle des tubes de la solution initiale (Figure 6.28). Ainsi, on peut détruire la mousse à hautes températures, diminuer la température de manière à former à nouveau les tubes dans le liquide drainé et reformer une mousse avec les mêmes propriétés que celle produite initialement.

6.4.6 Conclusion

De façon surprenante, les tubes d'acides gras permettent d'obtenir des mousses stables sur des périodes de temps extrêmement longues à température ambiante contrairement aux tensioactifs classiques. De plus, ces mousses sont thermosensibles et c'est la première observation à notre connaissance de la possibilité de stabiliser/déstabiliser une mousse très facilement en jouant sur un stimulus externe sans changer la composition du système.

Les mousses de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique ont donc de nombreux avantages :

- elles sont produites à partir de biomolécules,
- la méthode pour produire les tubes d'acides gras est simple et reproductible,
- la moussabilité est optimale du fait de la coexistence de monomères d'acides gras en solution avec les tubes qui s'adsorbent rapidement aux interfaces,
- les mousses sont stables sur des temps très longs à température ambiante du fait de la présence d'un réseau de type gel formé dans les bords de Plateau par les tubes et par la stabilisation des films par les monomères qui forment une couche très dense avec une forte élasticité à l'interface,
- les mousses sont thermosensibles.

6.5 Conclusions générales : lien 3D, 2D et propriétés moussantes

La comparaison de l'évolution de l'espace interlamellaire de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique avec l'éthanolamine comme contre-ion, en solution à l'interface et dans les mousses montre que la structure des tubes est la même dans les trois cas avec un comportement similaire vis-à-vis de la température (Figure 6.29).

La stabilité des mousses obtenues à partir des tubes est modulable en jouant simplement sur la température qui modifie l'assemblage présent dans les bords de Plateau : micelles ou tubes. En effet, ces changements de l'assemblage supra-moléculaire de tubes à micelles à l'échelle microscopique en volume et aux interfaces, entraînent des modifications importantes visibles à l'échelle macroscopique de la mousse (évolution du volume de mousse). Or, nous avons montré qu'en jouant sur certains paramètres physico-chimiques et sur la nature du contre-ion, la température de fusion des tubes sous forme de micelles est modifiée. Ainsi, il

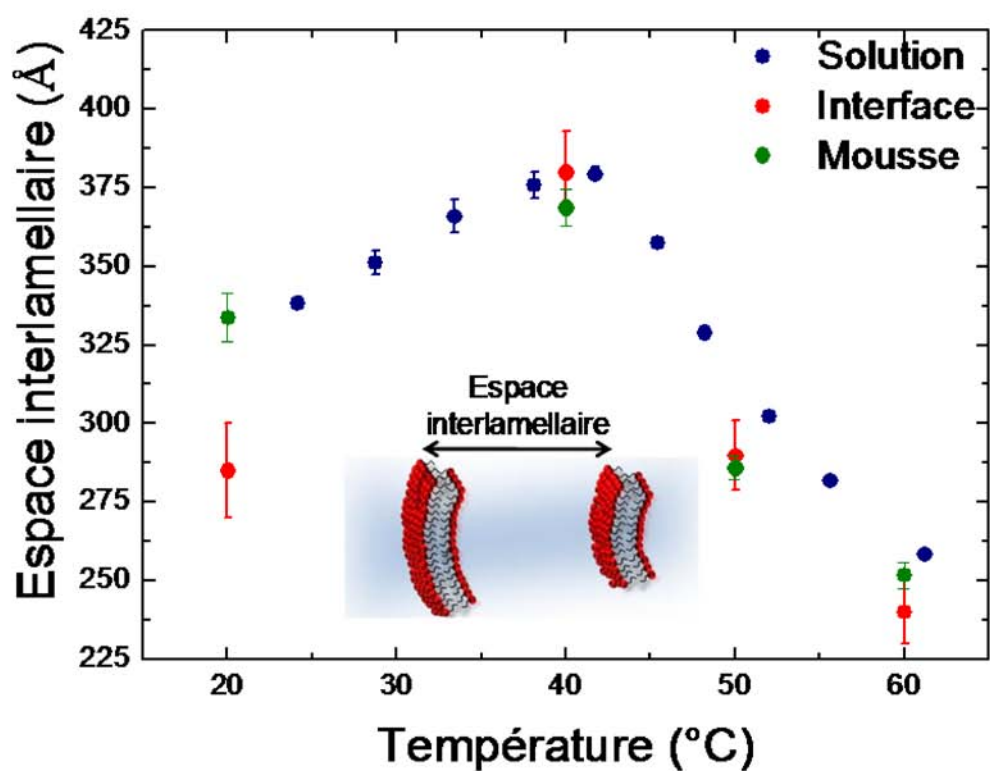


FIGURE 6.29 – Evolution de l'espace interlamellaire pour les tubes en solution, à l'interface air/eau et dans la mousse en température.

est possible de modifier très facilement les propriétés des mousses en jouant sur la température et les conditions du milieu.

De plus, nous avons étudié seulement l'effet d'une transition sur les propriétés mousantes : la transition de tubes sous formes de micelles à hautes températures. Or, nous savons que le diamètre des tubes varie avec la température en solution. De plus, nous avons vu grâce à la DNPA, qu'au sein des mousses la structure des tubes varie de la même façon qu'en solution. Il faudrait donc étudier l'effet de ce phénomène au sein de la mousse en analysant finement la stabilité de la mousse à une température légèrement inférieure à $T_{\odot\uparrow}$, à $T_{\odot\uparrow}$ et à la température pour laquelle le diamètre est maximal.

Bibliographie

- [1] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [2] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [3] J. V. Selinger and J. M. Schnur. Theory of chiral lipid tubules. *Physical Review Letters*, 71(24) :4091–4094, 1993.
- [4] D. P. Cistola, J. A. Hamilton, D. Jackson, and D. M. Small. Ionization and phase-behavior of fatty-acids in water - application of the gibbs phase rule. *Biochemistry*, 27(6) :1881–1888, 1988.
- [5] K. Fontell and L. Mandell. Phase-equilibria and phase-structure in the ternary-systems sodium or potassium octanoate octanoic-acid water. *Colloid and Polymer Science*, 271(10) :974–991, 1993.
- [6] C.L. Apel, D.W. Deamer, and M.N. Mautner. Self-assembled vesicles of monocarboxylic acids and alcohols : conditions for stability and for the encapsulation of biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1559(1) :1–9, 2002.
- [7] M. Dubois, T. Gulik-Krzywicki, B. Deme, and T. Zemb. Rigid organic nanodisks of controlled size : A catanionic formulation. *Comptes Rendus De L'Academie Des Sciences Serie Ii Fascicule C-Chimie*, 1(9) :567–575, 1998.
- [8] M. Dubois, B. Deme, T. Gulik-Krzywicki, J.C. Dedieu, C. Vautrin, S. Desert, E. Perez, and T. Zemb. Self-assembly of regular hollow icosahedra in salt-free catanionic solutions. *Nature*, 411(6838) :672–675, 2001.
- [9] M. Dubois, V. Lizunov, A. Meister, T. Gulik-Krzywicki, J. M. Verbavatz, E. Perez, J. Zimmerberg, and T. Zemb. Shape control through molecular segregation in giant surfactant aggregates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42) :15082–15087, 2004.
- [10] T. Zemb, M. Dubois, B. Deme, and T. Gulik-Krzywicki. Self-assembly of flat nanodiscs in salt-free catanionic surfactant solutions. *Science*, 283(5403) :816–819, 1999.
- [11] E. S. Rowe. Lipid chain-length and temperature-dependence of ethanol phosphatidylcholine interactions. *Biochemistry*, 22(14) :3299–3305, 1983.
- [12] Q. M. Ji, R. Iwaura, and T. Shimizu. Regulation of silica nanotube diameters : Sol-gel transcription using solvent-sensitive morphological change of peptidic lipid nanotubes as templates. *Chemistry of Materials*, 19(6) :1329–1334, 2007.

-
- [13] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [14] I. Tucker, J. Penfold, R. K. Thomas, and D. J. Tildesley. Interplay between the surface adsorption and solution-phase behavior in dialkyl chain cationic-nonionic surfactant mixtures. *Langmuir*, 25(7) :3924–3931, 2009.
- [15] J. Penfold. Neutron scattering for surface characterization. *Current Science*, 78(12) :1458–1466, 2000.
- [16] J. R. Lu, R. K. Thomas, and J. Penfold. Surfactant layers at the air/water interface : structure and composition. *Advances in Colloid and Interface Science*, 84(1-3) :143–304, 2000.
- [17] J. Penfold and R. K. Thomas. The application of the specular reflection of neutrons to the study of surfaces and interfaces. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2(6) :1369–1412, 1990.
- [18] J. Penfold, R. K. Thomas, E. Simister, E. Lee, and A. Rennie. The structure of mixed surfactant monolayers at the air-liquid interface, as studied by specular neutron reflection. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2 :SA411–SA416, 1990.
- [19] D. J. McGillivray, R. K. Thomas, A. R. Rennie, J. Penfold, and D. S. Sivia. Ordered structures of dichain cationic surfactants at interfaces. *Langmuir*, 19(19) :7719–7726, 2003.
- [20] G. Salamat, R. de Vries, E. W. Kaler, S. Satija, and L. P. Sung. Undulations in salt-free charged lamellar phases detected by small angle neutron scattering and neutron reflectivity. *Langmuir*, 16(1) :102–107, 2000.
- [21] K. S. Yim, B. Rahaii, and G. G. Fuller. Surface rheological transitions in langmuir monolayers of bi-competitive fatty acids. *Langmuir*, 18(17) :6597–6601, 2002.

CHAPITRE VII

Pour obtenir d'autres éléments d'informations sur le lien entre la structure des assemblages en volume avec leurs propriétés moussantes et émulsifiantes, une étude impliquant d'autres assemblages a été réalisée. L'objectif de chapitre est tout d'abord de générer d'autres assemblages d'acides gras en solution, et ensuite de caractériser leurs propriétés interfaciales, moussantes et émulsifiantes dans le but de les comparer en fonction de la nature de l'assemblage et de l'acide gras.

Pour cela, nous avons réalisé des dispersions d'acides gras en présence de soude et de chlorhydrate de guanidine, connu pour disperser l'acide myristique en solution aqueuse tout en empêchant sa cristallisation à température ambiante. Nous avons utilisé trois acides gras à longues chaînes saturés (acide myristique, acide palmitique et l'acide stéarique) et deux acides gras hydroxylés (acide 12-hydroxy stéarique et l'acide junipérique). Tout d'abord, les assemblages formés en solution sont caractérisés en couplant la résonance magnétique nucléaire et la diffusion de neutrons aux petits angles. Ensuite, les propriétés interfaciales sont déterminées à l'aide la tensiométrie à goutte sur des interfaces modèles. La stabilité des émulsions a été déterminée à l'aide de la granulométrie laser et de la diffusion de la lumière. Les propriétés moussantes ont été évaluées en termes de moussabilité et de stabilité à l'aide d'une colonne à mousse.

Dans un premier temps, nous avons confirmé que la présence de soude et de chlorhydrate de guanidine permet de disperser les acides gras à longues chaînes et dérivés hydroxylés en solution et empêche leur cristallisation. Tous ces acides gras s'assemblent sous forme de membranes en solution, excepté l'acide gras 12-hydroxy stéarique qui forme des tubes. Dans un second temps, nous avons observé que pour un même assemblage (phases lamellaires), les propriétés moussantes et émulsifiantes dépendent de la nature de l'acide gras (longueur de la chaîne carbonée et présence ou non d'un groupement hydroxyle). De plus, les solutions d'acide gras 12-hydroxy stéarique sous forme de tubes forment des mousses et des émulsions plus stables que lorsque les acides gras sont sous forme de phases lamellaires.

Chapitre 7

Self assembly, foaming and emulsifying properties of sodium alkyl carboxylate/guanidine hydrochloride aqueous mixtures.

Anne-Laure Fameau ^{1,2}, Bérénice Houinsou-Houssou ¹, Jorge Luis Ventureira ³, Laurence Navailles ⁴, Frédéric Nallet ⁴, Bruno Novales ¹ and Jean-Paul Douliez ¹

1) Biopolymères Interactions Assemblages Inra, rue de la Géraudière, 44316 Nantes, France.

2) Laboratoire Léon-Brillouin, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, France.

3) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina.

4) Université de Bordeaux, centre de recherche Paul-Pascal - CNRS, 115 avenue du Docteur-Schweitzer, 33600 Pessac, France.

Accepted in Langmuir

7.1 Abstract

Unsaturated fatty acids may be extracted from various agricultural resources and are widely used as soaps in the industry. However, there also exist a large variety of saturated and hydroxy fatty acids in nature but their metal salts crystallise at room temperature in water, hampering their use in biological and chemical studies or for industrial applications. Addition of guanidine hydrochloride (GuHCl) to sodium salt of myristic acid has been shown to prevent its crystallization in water forming stable flat bilayers at room temperature. Herein, we extend this finding to two other saturated fatty acids (palmitic and stearic acids) and two hydroxyl fatty acids (juniperic and 12 hydroxy stearic acids) and study more deeply (by using small angle neutron diffraction) the supramolecular assemblies formed in both saturated and hydroxyl fatty acid systems. In addition, we take the advantage that crystallization no longer occurs at room temperature in the presence of GuHCl to study the foaming and emulsifying properties of those fatty acid dispersions. Briefly, our results show that all fatty acids, even juniperic acid which is a bola lipid are arranged in a bilayer structure which may be interdigitated. Depending on the nature of the fatty acid, the systems exhibit good foamability and foam stability (except for juniperic acid) and emulsion stability was good. Those findings should be of interest for using saturated long chain (and hydroxyl) fatty acids as surfactants for detergency or even materials chemistry.

Keywords : Fatty acids, self assembly, bilayers, tube, foam, emulsion, interface.

7.2 Introduction

The use of agricultural resources for industrial purposes will undoubtedly be one of the major challenges of the 21st century, both from the energy point of view (by contributing to the replacement of fossil fuels) and with respect to non-energy uses, resulting from the availability of organic « biosynthons » to the chemicals industry. Our work on dispersions of saturated fatty acids and hydroxylated derivatives forms part of these efforts in that it seeks to demonstrate the potential contribution these biological compounds of plant origin could make as a new class of green surface active agents.

However, soaps of long chain saturated fatty acids (carboxylic acids) are restricted as surfactants because of their low solubility in water at room temperature. Indeed, whereas they can form micelles at high temperature, they crystallize below a given temperature which is known as the Krafft point^{1, 2}. For instance, sodium myristate crystallizes below 45 °C. An alternative, which is commonly used to date, is to chemically modify the fatty acids to increase their amphiphilicity and make them more soluble in water³. However, this requires additional organic chemical steps what may be in some cases detrimental for industrial applications. Then, there has been a strong interest for varying the nature of the counter-ion allowing dispersing fatty acids at room temperature or less⁴. Firstly, tetrabutyl ammonium hydroxide (TBAOH) has been successfully used as a counter-ion (instead of sodium) allowing the formation of stable micelles even for very long chain carboxylic acids^{5, 6}. In the same way, choline which is a biological natural chemical has been employed for dispersing fatty acids^{7, 8}. Other amines combined (via ion-pairing) with saturated fatty acids were also shown to yield a large polymorphism but the mixtures finally crystallised upon resting^{9, 10}. For instance, we obtained unstable flat membranes or vesicles with saturated fatty acids using ethanolamine or lysine as a counter-ion^{10, 11}.

However, fatty acids are generally obtained by saponification of natural oil (triglycerides), *i.e.*, they are available under the form of metal (Na^+ or K^+) carboxylates (soaps). Then, dispersing fatty acids under this soap form would be of more practical value. Indeed, ion-pairing with TBAOH, ethanolamine or other any amine as counter-ion would require that the soap be previously acidified to yield carboxylic fatty acids (COOH group).

Interestingly, in a preliminary study, we have shown that addition of guanidine hydrochloride (GuHCl) to the sodium salt of myristic acid (see Figure 7.1 for the chemical structure of the various components used here) prevent its crystallization¹². One observed peculiar phase behaviour since flat membranes formed at room temperature which transited at a given temperature to original anastomosis-like superstructures. Here, we extend this study only at room temperature using two saturated fatty acids (palmitic and stearic acids) and two hydroxyl fatty acids, namely, juniperic and 12 hydroxy stearic acids (see Figure 7.1). Moreover, those systems are studied by using small angle neutron scattering (SANS) in order to get valuable information on the fatty acid assemblies obtained at room temperature in the presence of GuHCl. Together with solid state NMR results, it provides information on the fatty acid arrangement within the edifices.

It has been outlined in the literature that fatty acids are potentially promising surface active agents but their low solubility at room temperature requires performing studies at high temperature or in mixtures with other surfactants¹³. Then, we take the advantage that the dispersions in the presence of GuHCl are stable at room temperature (no longer crystallize) to study their interfacial, foaming and emulsifying properties.

7.3 Materials and methods

7.3.1 Sample preparation

Fatty acid and hydroxylated fatty acid (Sigma Aldrich, 99 % purity) were weighed exactly in a tube and ultra pure water was added so that the concentration was 10 mg/mL (1 %). Then, the desired volumes of 1 M stock solutions of sodium hydroxide (Fishers Scientific, 97 % purity) and of guanidium hydrochloride (GuHCl; Sigma-Aldrich, 99 % purity) prepared in ultra pure water were incorporated to reach equivalence (fatty acid/counter-ion/GuHCl molar ratio $R=1/1/1$). The mixture was melted at 80 °C for 15 min until all components were dispersed and then vigorously vortexed. Prior to being used, each sample was heated at 80 °C for 15 min and cooled at room temperature.

7.3.2 Phase-contrast microscopy

Phase-contrast microscopy was used to investigate the variation of the tube diameter as a function of temperature (20-80 °C). Microscopy observations were carried out at 20x magnification using an optical microscope in the phase-contrast mode (Nikon Eclipse E-400, Tokyo, Japan) equipped with a 3-CCD JVC camera allowing digital images (768 x 512 pixels) to be collected. A drop of the lipid dispersion (about 20 μ L) was deposited onto the glass-slide surface (76 x 26 x 1.1 mm, RS France) and covered with a coverslide (20 x 20 mm, Menzel-Glaser, Germany). The glass-slides were previously cleaned with ethanol and acetone.

7.3.3 Solid state NMR

Deuterium solid state NMR experiments were performed on a 400 MHz Bruker spectrometer operating at 61 MHz for deuterium using a static double channel probe. The sample coil of the probe was adapted to load a 7 mm rotor such as those used for magic angle spinning probes equipped with a stretched stator. Typically, lipid dispersions were previously heated to 60 °C and a volume of ca. 500 μ L transferred into the rotor which was sealed and then end-capped. A Hahn quadrupolar echo sequence was used with an inter pulse delay of 40 μ s. Height k points in 1 k accumulations (every 2 s) were done with a 90 ° pulse and spectral width of 5 μ s and 125 kHz, respectively. Free induction decay signal were zero-filled to 16 k points prior to Fourier transform after a broad line exponential multiplication of 10 Hz. For deuterium spectroscopy, the general theory for lipid systems can be found in the literature¹⁴. Briefly, the deuterium NMR signal is composed of doublets with a splitting, $\delta\nu$ which depends on the orientation of the C-D bond with respect to the magnetic field. In an anisotropic but *disoriented* medium, all the orientations are allowed and these doublets

are superimposed to form a powder spectrum having two main peaks with an increased intensity corresponding to the 90 ° orientation, separated by Δv_{90} . The edge of the spectrum corresponds to the 0 ° orientation, with a splitting Δv_0 equal to twice Δv_{90} . In the case of perdeuterated systems, the spectrum is composed by the superimposition of signals from each labeled position.

7.3.4 Small-angle neutron scattering (SANS)

Small-angle neutron scattering (SANS) experiments were performed at Laboratoire Léon-Brillouin (laboratoire mixte CEA/CNRS, Saclay, France) on spectrometer PAXY. The neutron beam was collimated by appropriately chosen neutron guides and circular apertures, with a beam diameter at the sample position of 7.6 mm. The neutron wavelength was set to 3 or 16 Å with a mechanical velocity selector ($\Delta\lambda/\lambda \approx 0.1$), the 2D detector (128x128 pixels, pixel size 5x5 mm²) being positioned at 3.1 m. The scattering wave vector, Q , then ranges from typically 0.005 to 0.3 Å⁻¹, with a significant overlap between the two configurations. The samples, prepared with deuterated water, were held in flat quartz cells with a 2 mm optical path, and temperature-controlled by a circulating fluid to within ± 0.2 °C. The azimuthally-averaged spectra were corrected for solvent, cell and incoherent scattering, as well as for background noise. The general theory for fitting the SANS data can be found in the literature¹⁵ and our present data were fitted with models which were previously described for other fatty acid systems^{9, 16, 17}.

7.3.5 Preparation of o/w emulsions

Emulsions were prepared with 25 vol % n-hexadecane (Sigma Chemicals) as the oil phase and 75 vol % of the aqueous phase (fatty acid dispersion at 44 mM). In all cases, a fixed volume (6 mL) of emulsion was prepared with an ultrasound homogenizer (SONICS Vibra Cell VCX750) at a power level of 40 %, making 3 pulses of 10 s each with a 3 mm diameter probe.

7.3.6 Light scattering measurements

The stability of the emulsions was determined through the use of a vertical scan analyzer Quick Scan (Beckman-Coulter inc., USA). The samples were loaded into a cylindrical glass measurement cell, and the backscattering percentage profiles (%BS) were immediately monitored as a function of the sample height (total height, 73 mm approximatively). Then cells were stored at room temperature and %BS measurements were done as a function of time. Therefore, creaming was determined as a function of time as the mean %BS measured at 20 mm from the bottom of the cell.

7.3.7 Preparation of foams

Foams were produced and characterized with a FOAMSCAN developed by IT CONCEPT (Longessaigne, FRANCE). Foam is generated in a glass column (21 mm in diameter) by sparging N₂ gas through a fixed volume (12 mL) of the aqueous phase (fatty acid dispersion)

1mg/mL (0.1 %) via a porous glass filter (pore size 10-14 μm). With this instrument, the foam formation and stability can be determined by conductivity and optical measurements. The flow rate was fixed at 35 mL/min. All foams were allowed to reach a final volume of 45 mL after which the gas-flow was stopped and the evolution of the foam was analyzed. The foam volume was determined with a CCD camera (Sony Hexwave HAD). The liquid volume in the foam was assessed by mean of conductivity measurements along the foam column.

7.3.8 Surface tension measurements

An automated drop tensiometer (IT-Concept, Longessaigne, France) was used to measure the interfacial tension between hexadecane and water and between air and water. All experiments were performed in the rising bubble configuration. A 15 μL hexadecane drop and a 8 μL air bubble were formed upward at the tip of a U-shaped stainless steel needle immersed in a cuvette filled with the fatty acid/counter-ion solution at 2.10^{-5}M , under gentle stirring, with temperature controlled at 25 $^{\circ}\text{C}$ in all phases. The dynamic tension was followed in time (10000 s in our case) using axisymmetric drop-shape analysis. Image acquisition and regression of the interfacial tension were performed with Windrop software by fitting the Laplace equation to the drop shape.

7.4 Results and discussion

7.4.1 Self-assembly in water

In the present study, all fatty acids (see Figure 7.1) are initially used under their carboxylic (COOH) form and the dispersions are obtained by adding NaOH and GuHCl in an equimolar ratio (see material and methods). Generally, the sodium salt of the fatty acid is first realized ($\text{COO}^{-}/\text{Na}^{+}$) and then, GuHCl is added, but the 3 components can be mixed together in water without changing the phase behavior. Except when mentioned, all systems further studied are sodium salt of fatty acids in the presence of GuHCl . For instance, when we refer to the palmitic acid system, this means the sodium salt of the palmitic (sodium palmitate) in the presence of GuHCl .

We have previously shown for the sodium salt of myristic acid (sodium myristate) that addition of GuHCl prevents its crystallization at room temperature¹². For sodium palmitate and stearate, in the presence of GuHCl , both fatty acids formed turbid solutions at room temperature, the viscosity of which increased with the alkyl chain length. The solutions did not precipitate when kept at 4 $^{\circ}\text{C}$ for more than 6 months showing that the presence of GuHCl also prevented the crystallization of those fatty acids as in the case of myristic acid system¹² and the solutions also appeared as flat membranes by phase contrast microscopy (see Figure 7.3 C). They transited (as viewed by visual inspection) to viscous isotropic solutions at higher temperature and this was probed by DSC as a single peak (see Figure 7.9, supporting information). The transition temperature occurred at 42 $^{\circ}\text{C}$ and 57 $^{\circ}\text{C}$, for palmitic and stearic acid systems, respectively. This increase of the transition temperature is coherent with the increase of the alkyl chain length; however, we presently did not further investigate the 'high' temperature phase.

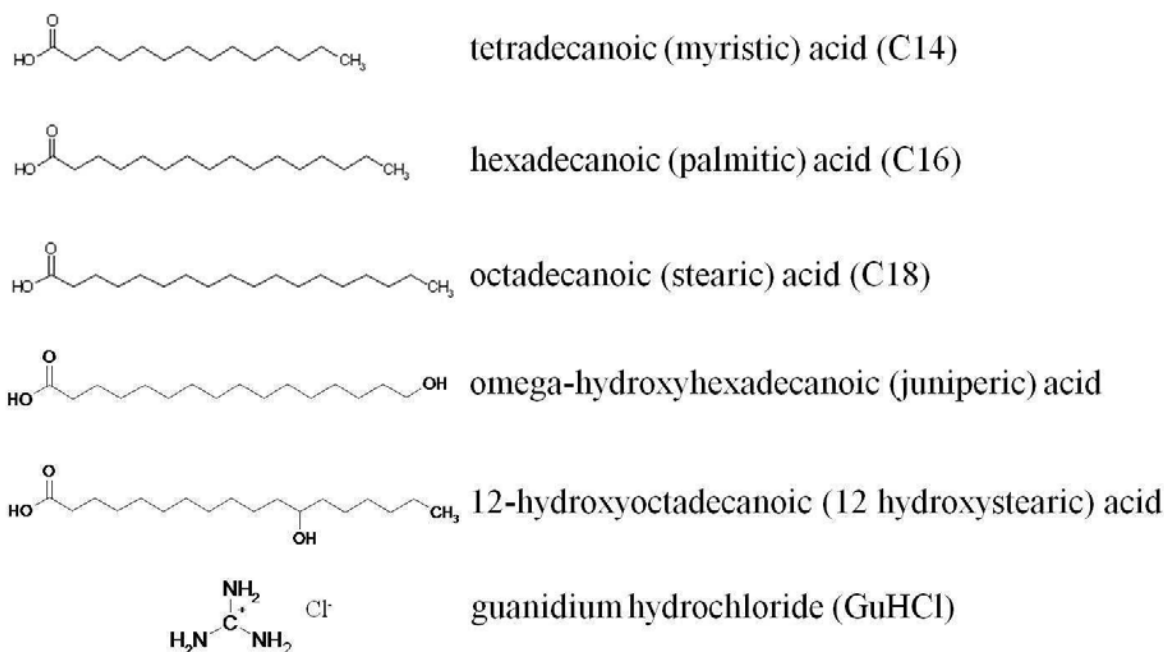


FIGURE 7.1 – Chemical structures and nomenclature of the fatty acids and GuHCl used in the present study.

The solid state NMR spectrum at room temperature of the sample made with the palmitic or stearic acid system was rather similar to that obtained previously for the myristic acid system¹² (see Figure 7.2). An identical spectrum was recorded at different times for samples rested at 4 °C for a prolonged period of time (not shown), showing that the presence of GuHCl indeed prevented the long chain fatty acid crystallization. The spectrum in the case of the palmitic acid system is shown Figure 7.2 and exhibits two large patterns on which two quadrupolar splittings can be measured. The first quadrupolar splitting of about 60 kHz stands for the positions along the chain and the second, at 19 kHz, is associated to the methyl end group. Those values are very close to those obtained for the myristic acid system¹². It shows that the fatty acid alkyl chains are in a stiff (*all-trans*) conformation. However, this also reveals an additional feature that has not been previously commented. For an alkyl chain in an *all-trans* conformation, the plan spanned by the CD₂ makes an angle of 90 ° with respect to the long molecular axis, δ (see Figure 7.2). Then, the two deuteriums along the alkyl chain are oriented at 90 °. It is generally assumed that this long molecular axis is the axis of rotation of the molecule within the bilayer¹⁴. As a consequence, if this axis would be parallel to the normal of the bilayer, n (no tilt, see Figure 7.2), the expected quadrupolar splitting would be half $((3 \cos^2(90^\circ) - 1)/2 = -1/2)$ that of the quadrupolar constant¹⁴ (125 kHz), *i.e.*, 62.5 kHz, close to our experimental value. This argument also holds in the case of the CD₃ groups whom the quadrupolar splitting is already decreased by a factor about 3 because of the axial rotation along the last carbon-carbon bond¹⁸. Then, this means that the alkyl chains are in an *all trans* conformation and in addition, not tilted with respect to the bilayer normal. Indeed, any tilt of δ (of an angle α with respect to the bilayer normal, see Figure 7.2) would decrease the quadrupolar splitting by an additional term of $(3 \cos^2(\alpha) - 1)/2$ ¹⁸.

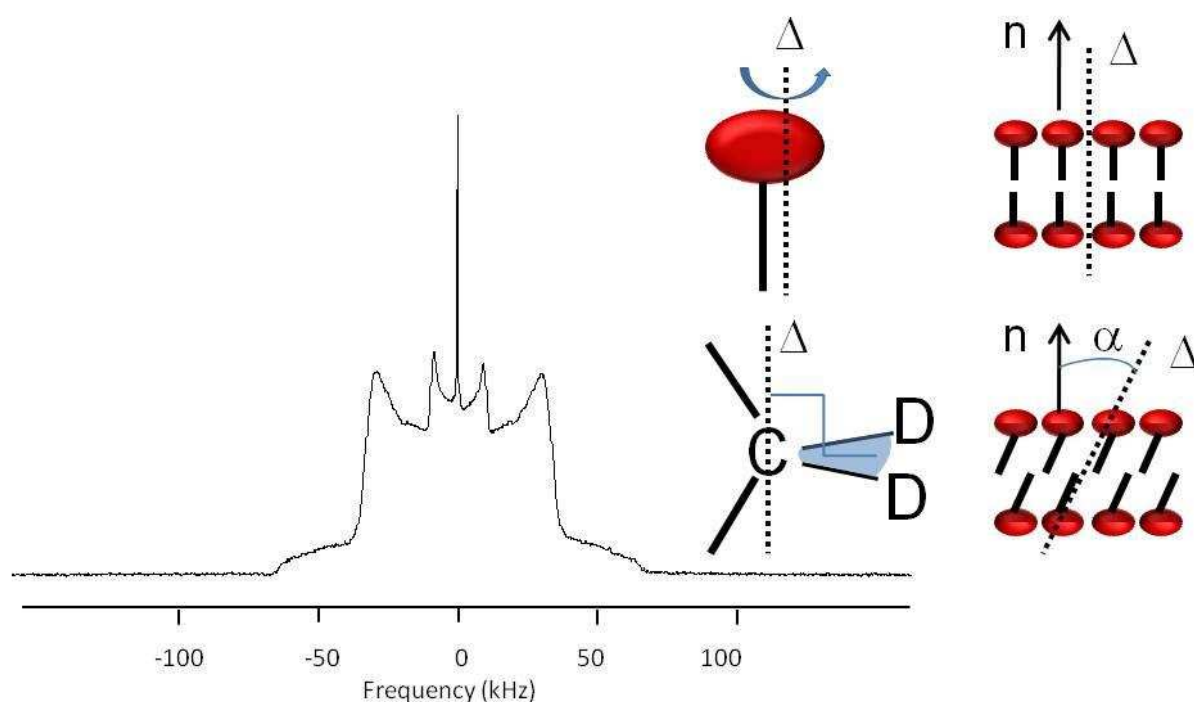


FIGURE 7.2 – Deuterium solid state NMR spectrum for the palmitic acid system. That obtained with the stearic acid system was almost superimposable (not shown). The scheme on the right illustrates the fatty acid long molecular axis, δ , the orientation with respect to the bilayer normal, n , and the conformation of the fatty acid in the bilayers. α would represent the angle of tilt, (see text for details).

We also used juniperic acid and 12-hydroxy stearic acid as hydroxyl fatty acids. Those fatty acids are commercially available under their carboxylic form (COOH) and we then synthesized the sodium salts upon addition of NaOH (molar ratio 1/1). Both salts (in the absence of GuHCl) yielded isotropic solutions in water (at 10 mg/mL) at 80 °C (probably forming micelles) but crystallized upon cooling at room temperature. This was confirmed by visual inspection of the samples and by optical microscopy (Figure 7.3 A and 7.3 B). In the presence of GuHCl (at an equimolar ratio fatty acid : GuHCl : NaOH of 1 : 1 : 1), the sodium salts of juniperic and 12-hydroxy stearic acids did not crystallize any longer, even when stored at 4 °C for 6 months. As observed by phase contrast microscopy, the juniperic acid system formed stable flat membranes similar to those observed with the palmitic acid system (Figure 7.3 C) and for the ethanolamine salt of the juniperic acid in a previous study¹¹. Interestingly, the micrograph of the sample made with the 12-hydroxy stearic acid system shows elongated randomly oriented rods (Figure 7.3D). Once again, this is very similar to what was observed with the ethanolamine salt of that fatty acid^{16, 17, 19}. This strongly suggests that in the present case, 12-hydroxy stearic acid also self assemble into tubular structures. Although we have not confirmed this supposition by higher resolution microscopy (TEM or other), this is clearly further evidenced by SANS. However, we cannot perform solid state NMR using those fatty acids because their deuterated form is not commercially available. DSC was not performed on those samples because the solutions remained turbid upon heating and also because we further investigated those systems only at room temperature.

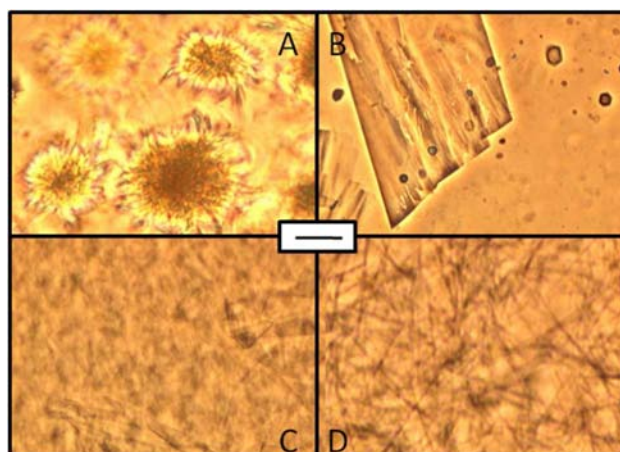


FIGURE 7.3 – micrographs obtained by phase contrast microscopy. A) Crystals of sodium salt of 12 hydroxy stearic acid. B) Crystals of sodium salt of juniperic acid (similar images were obtained for the sodium salt of palmitic acid). C) Membranes obtained with the juniperic acid system (similar images were obtained for the palmitic acid system). D) Tubes obtained with the 12 hydroxystearic acid system. The scale bar represents $10\ \mu\text{m}$.

In order to get more structural information on the assemblies formed in those conditions, we performed small angle neutron scattering experiments (SANS). We report here the data for the palmitic, 12-hydroxystearic and juniperic acids systems (Figure 7.4). For all samples, the spectra are qualitatively very similar. They undergo a strong small-angle scattering signal proportional to Q^{-2} for $Q \rightarrow 0$ and two to three Bragg peaks can be identified at low Q in a ratio $1 : 2$ or $1 : 2 : 3$ ($Q_0, 2Q_0, 3Q_0$). This indicates that periodic multilayer structures are formed in those systems. Bragg peaks are better defined for the tube-forming system using 12 hydroxy stearic acid system but the spectrum was similar to that previously obtained with the ethanolamine salt of that fatty acid¹⁶. We observed faint Bragg peaks for the other two samples, indicating that bilayers exhibit strong thermal fluctuations or that the number of diffracting objects is low. It is possible to describe the main features of the spectra in terms of a simple model of planar membranes of well-defined thickness δ , the membranes being stacked with a period $d=2\pi/Q_0$. The period is $480\ \text{\AA}$, (respectively, $470\ \text{\AA}$ and $340\ \text{\AA}$) for the palmitic acid system, (resp. , juniperic acid and 12-hydroxystearic systems). For the multilamellar tubes obtained with other counter-ions, similar values have been previously reported¹⁶. Such a high capacity of lamellar swelling may be of interest for various applications such as the encapsulation of drugs.

At large Q , in the Porod regime, one probes the surface scattering of the objects and the scattering intensity decays like Q^{-4} . In the so-called Porod representation, where Q^4 times the scattering intensity is displayed as a function of Q (see Figure 7.4), a main oscillation appears, related to the form factor of the bilayer. A fit to this form factor main oscillation yielded a value of the bilayer thickness δ of $33, 34$ and $40\ \text{\AA}$ for the palmitic, juniperic acid and 12 hydroxystearic systems, respectively. For the tubular structures made of 12-hydroxy stearic acid system, such a value of $40\ \text{\AA}$ is consistent with a fatty acid bilayer embedded in a gel L_β phase as was previously observed and commented for the ethanolamine salt of that fatty acid at that temperature¹⁶. We can conclude that the overall structure of the tubes follows that shown Figure 7.5 A on which d and δ are also depicted, *i.e.*, a multilamellar

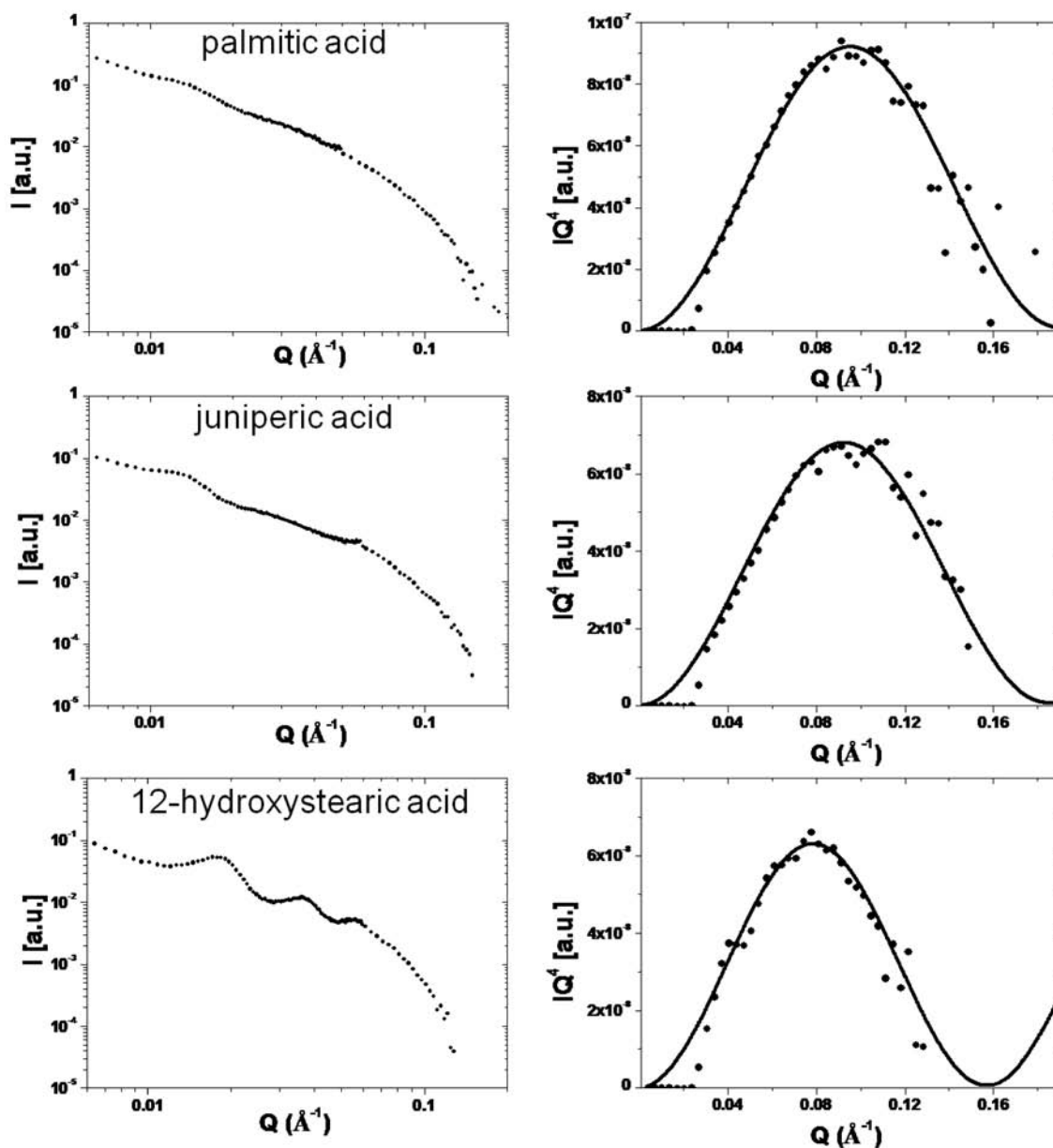


FIGURE 7.4 – SANS intensity profile for the fatty acid systems in the presence of GuHCl. Top : palmitic acid, middle : juniperic acid and bottom : 12 hydroxystearic acid. Both the Porod region (right) and the scattering profile in a logarithmic scale are shown (left). The continuous line corresponds to the model discussed in the material and method section and in the text.

tubular structure. In the case of the palmitic acid system, the value of 33 \AA is significantly lower than twice that of the extended conformation of the fatty acid (19 \AA). Indeed, in a bilayer conformation with alkyl chains embedded in a gel L_β phase (see NMR results), a value of $2 \times 19 = 38 \text{ \AA}$ would be expected (see Figure 7.5 B). Since the NMR data also showed that the chains are not tilted, the single possible conformation is that shown Figure 7.5 B with the alkyl chains interdigitated. Interdigitation of alkyl chains is already known to occur in surfactant systems embedded in a gel L_β phase^{20, 21}. This feature arises mainly because of an increase of the lateral area between the surfactant headgroups, creating a void which can be filled by the alkyl chains of the opposite monolayer.

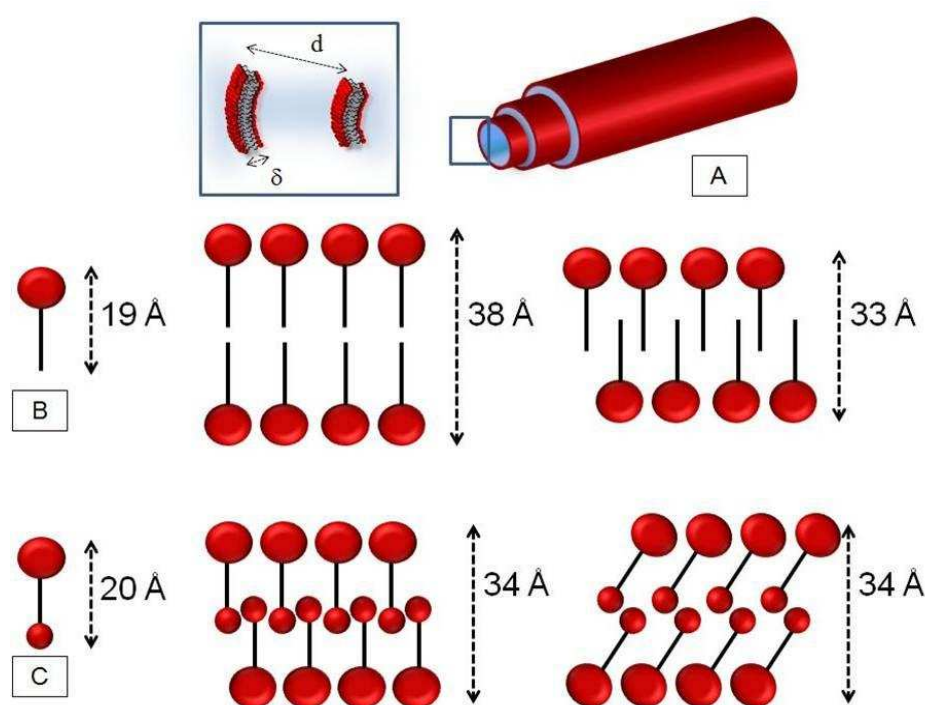


FIGURE 7.5 – Schematic illustration of the fatty acid self assembly of the 12 hydroxy stearic acid (A), palmitic acid (B) and juniperic acid (C) systems. The repeat distance d and the bilayer thickness δ , as measured by SANS, are reported. The multilayer tubular structure in the case of the 12 hydroxy stearic acid system is shown (A). In the case of the palmitic acid system, the sketch shows the untilted bilayer, the thickness of which does not match the SANS measurement (B). The most probable conformation, *i.e.*, interdigitated is shown. In the case of the juniperic acid system, the 'double monolayer' tilted or un-tilted in a tail-to-tail conformation is depicted (C). Other conformations are also possible (see text).

In the case of the juniperic acid system, the situation is peculiar since this fatty acid is known as a bola lipid^{11, 22–26}. Bola lipids are bipolar amphiphiles and, as a consequence, they generally self assemble into monolayers instead of bilayers. Besides, we have shown that the ethanolamine salt of juniperic acid yields flat membranes made of monolayers¹¹. However, the thickness (34 \AA) we have obtained by SANS would be difficult to account for as it is higher than the extended conformation of the fatty acid - about 20 \AA (see Figure 7.5 C). This shows that a bilayer is formed in the present case, probably tilted or interdigitated as previously suggested for palmitic acid. Another possible conformation is also a bilayer but

with their alkyl chains in a fluid L_α phase (not shown 7.5 C). The formation of bilayers in unsymmetrical bola lipids has already been reported²⁶ and may occur via a head-to-tail, tail-to-tail or head-to-head conformation within the bilayer. In that present case, the head is the carboxylic group and the tail is the omega hydroxyl moiety. Note that juniperic acid may also adopt an antiparallel configuration within a given monolayer.

As mentioned in the literature, long chain fatty acids are potentially good surface active agents but their properties at the interfaces can only be studied at high temperature or in mixtures with other surfactants¹³. Then, we take the advantage that stable dispersions of sodium fatty acid salts in water can be produced at room temperature in the presence of GuHCl to study their surface activity.

7.4.2 Adsorption kinetics at the air/water or hexadecane/water interface

The adsorption kinetics of the various systems at the air/water and oil/water interfaces was first studied using drop tensiometry at a given concentration of 0.02 mM. The results of the dynamic surface tension measurements of sodium salt of fatty acid solutions in the presence of GuHCl at the air/water interface are shown in Figure 7.6 A. For C14 (the myristic acid system), one observed the fastest decrease of the surface tension with a value lower than 50 mN/m after 10000 s. For C16 (the palmitic acid system), the adsorption kinetic was slower, but the surface tension reached a similar value than for C14 at the end of the experiment. For C18 (the stearic acid system), we observed no change of the surface tension during 10000 s, meaning that no fatty acid monomers were adsorbed at the interface during this period at that concentration. Then, our measurements showed that the most striking factor influencing the surface tension is the fatty acid chain length. This feature is in good agreement with data obtained with fatty acids salts at higher temperature by surface tension measurements with the pulsating bubble method²⁷⁻²⁹.

Surprisingly, for the 12-hydroxy stearic acid system, the adsorption kinetic was different than from C18. For that hydroxy fatty acid, the adsorption rate was much faster than for C18 and the decrease of the surface tension was in three steps. As shown in the literature from Langmuir isotherm studies, this molecule presents a bi-competitive adsorption between the primary and secondary hydrophilic groups (carboxylic and hydroxyl groups)³⁰. Then, we can hypothesize that the phenomenon observed Figure 7.6 A for that fatty acid may arise from rearrangements of the molecule at the interface upon further adsorption of fatty acids. Moreover for the 12-hydroxy stearic acid system, the surface tension was about 53 mN/m at 10000 s. Thus, the surface tension is much lower with the 12-hydroxy stearic acid system than for C18 (its analog) (see Figure 7.6 A). Those two fatty acids have the same alkyl chain length and differ only by the presence of a hydroxyl group in the alkyl chain (yielding a more hydrophilic molecule). It is known that the surface activity of fatty acid soaps increases with the alkyl chain length but their solubility decreases with the alkyl chain length^{28, 31, 32}. In the present case, the 12 hydroxy stearic acid exhibits the advantage of both a relatively good solubility (because of the presence of the hydroxyl group) and a long alkyl chain length that contribute to increase the surface activity.

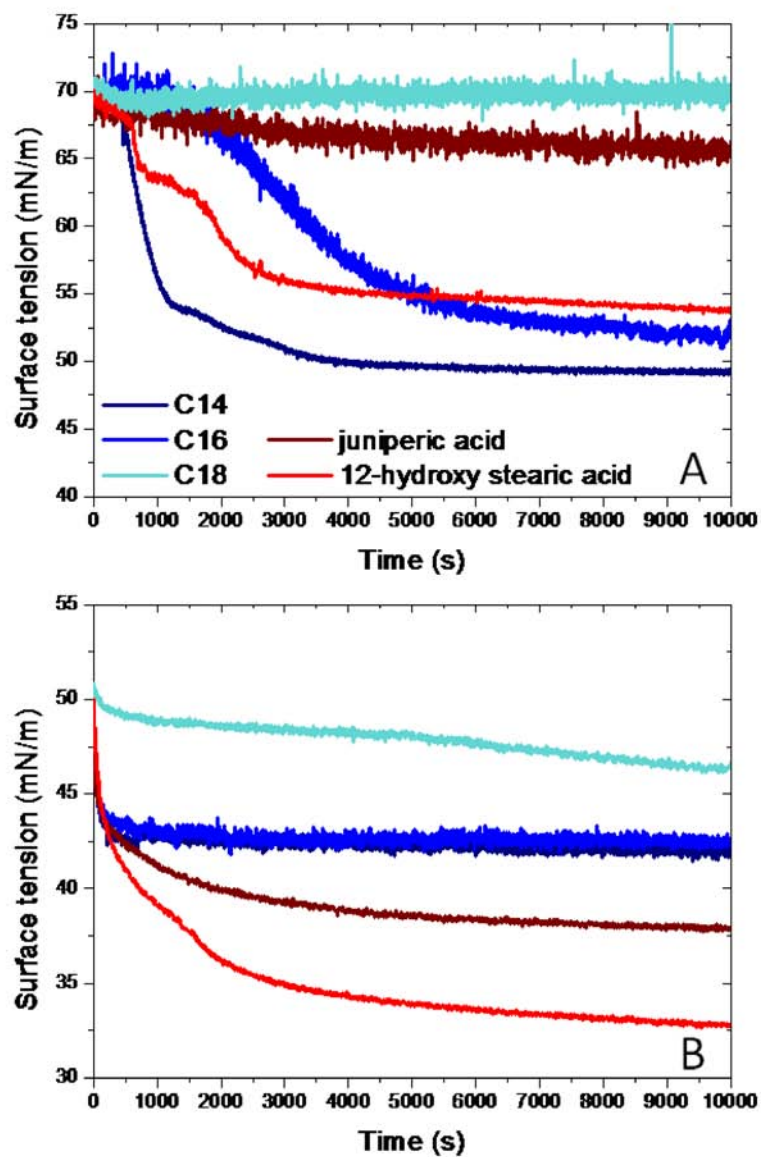


FIGURE 7.6 – A : Dynamic surface tension measurements of fatty acid/NaOH/GuHCl at the air/water interface. B : Dynamic surface tension measurements of fatty acid/NaOH/GuHCl at the hexadecane/water interface.

For the juniperic acid system, the surface tension was about 65 mN/m at 10000 s, in other words, its surface activity is low. By comparison with its C16 analog, this goes against our previous argument based on the relation between the solubility, the alkyl chain length and the surface activity. We could expect that juniperic acid would adopt a U-shape for exposing both the carboxylic and the hydroxyl groups to the water. Such a conformation has already been evidenced from monolayer experiments in the case of bola lipids when they are compressed at the interface³³. However, it represents a high cost of energy for such a fatty acid to freely adopt a U-shape at an interface. In comparison to the 12-hydroxystearic acid, this shows that the position of the hydroxyl group along the alkyl chain is determinant.

The results of the dynamic surface tension measurement of the fatty acid solutions in the presence of GuHCl at the hexadecane/water interface are also shown in Figure 7.6 B. C14 and C16 have similar adsorption kinetics, with a first fast decrease and then a surface tension constant and slightly higher than 40 mN/m. As in the case of the air/water interface, we observed only a very small decrease of the surface tension for C18.

Moreover, at the hexadecane/water interface, we observed that the 12-hydroxy stearic acid system exhibited the fastest decrease of the surface tension, with a value lower than 33 mN/m after 10000 s. That hydroxy fatty acid has a higher surface activity than its homolog, *i.e.*, stearic acid as observed at the air/water interface. Surprisingly, by contrast to what happens at the air/water interface for the 12-hydroxy stearic acid system, the variation of the surface tension occurred in only one step at the hexadecane/water interface. This suggests that the orientation of that fatty acid is different at that interface.

Moreover, somehow unexpectedly, we observed that the surface tension after a period of 10000 s was lower for the juniperic acid system than for its analog C16. This contrast with the results obtained at the air/water interface. We suggest that the hydroxyl group of juniperic acid may have some affinity with the oil component, allowing the fatty acid to stabilize the interface. As mentioned above, it is still unlikely that the juniperic acid adopts a U-shape with both polar heads (carboxylic and hydroxyl groups) in the water and with the alkyl chain facing the oil.

Then, the surface activity depends both on the fatty acid chain length and the presence of a hydroxyl group and the nature of the interface (oil *vs.* air).

7.4.3 Foaming properties

Then, for all fatty acid dispersions, we produced foams and emulsions and their stability was assessed. In the foaming experiment, the foam is generated by bubbling nitrogen until a given foam volume (45 mL) is reached after what bubbling is stopped and the evolution of the foam is recorded as a function of time. The Foamscan apparatus enables to measure the foam volume as well as the liquid volume incorporated into the foam.

The variation of the foam volume with time for all fatty acid systems is shown Figure 7.7A. For all systems, the given volume of 45 mL was reached at about the same time of 75 s. Then, foams can be produced with such systems. However the foam structure as well as the stability strongly differed with the nature of the fatty acid. For C14, the foam was made of small bubbles (see supporting information, Figure 7.10) and the foam volume decreased to reach a final value of 22 mL at the end of the experiment. At that time, a visual observation

revealed that a slight coalescence has occurred in the upper part of the foam, exhibiting a shiny aspect. The liquid volume incorporated in the foam made with C14 at the end of bubbling (75 s) was of 8.5 mL, which corresponded to a liquid fraction of 19 % (Figure 7.7 B). A very fast drainage was observed because the liquid volume (and then the foam volume) decreased during 400 s after what the foam drained more slowly.

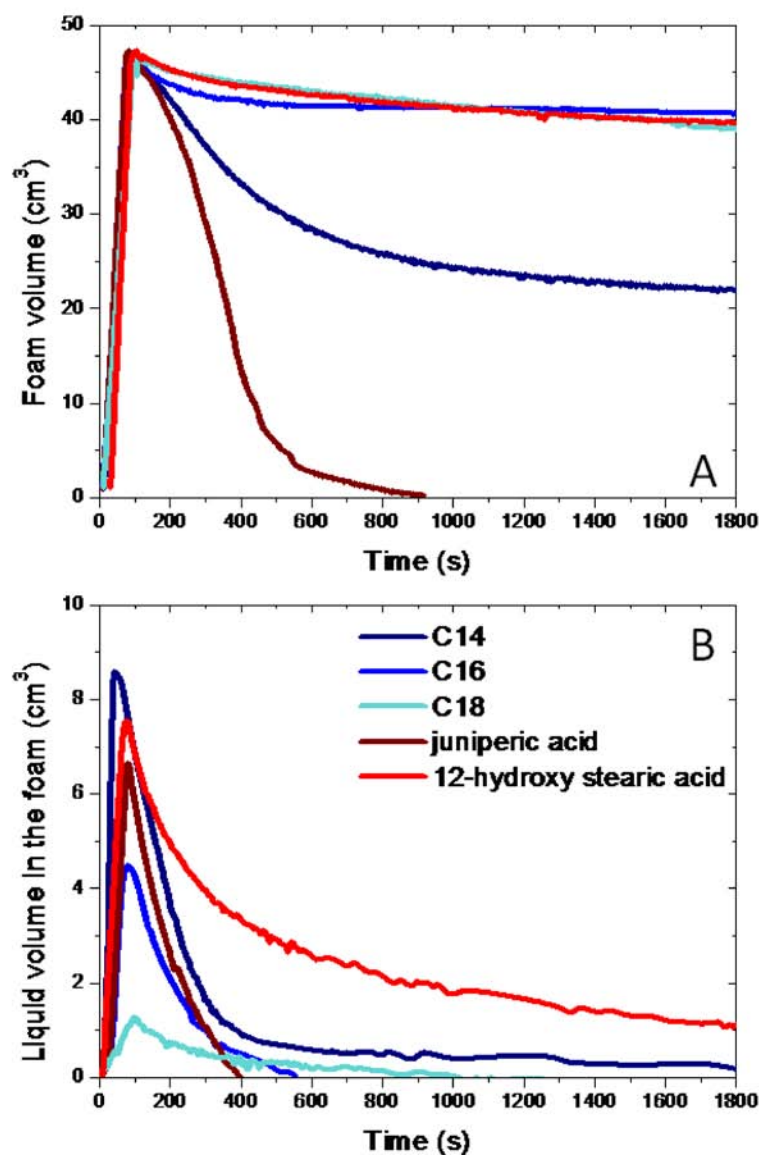


FIGURE 7.7 – A : Evolution of the foam volume for foams made of fatty acid/NaOH/GuHCl at a concentration of 1 g/L. B : Evolution of the liquid volume in the foam for foams made of fatty acid/NaOH/GuHCl at 1 g/L.

For C16, we observed larger bubbles than for C14 (see supporting information, Figure 7.10), but the foam was more stable since the final foam volume observed 30 min after the end of bubbling was still above 40 mL. For this foam, less than 4.5 mL were incorporated into

the foam, a value much lower than for C14, which corresponded to a drier foam containing 10 % of liquid fraction. For C18, the foam volume did not decrease during the experiment but such foam was constituted of very large and inhomogeneous bubbles (see supporting information, Figure 7.10). The liquid volume in this foam was much lower with only 1.3 mL of solution being incorporated during the foaming process, corresponding to very dry foam (less than 2 % of liquid fraction). Our experiments show that the stability and the volume of liquid incorporated into the foam depends on the alkyl chain length. The higher the alkyl chain length, the drier the foam.

The 12-hydroxy stearic acid system gave very stable foam with fine homogeneous bubbles (see supporting information, Figure 7.10) and more than 7.5 mL was incorporated into the foam at the end of bubbling (17 % of liquid fraction). At the end of the experiment, the foam contained more than 1.1 mL of liquid. The 12-hydroxy stearic acid system has a high surface activity (see Figure 7.6 A) which provides extremely stable foams.

Finally, for the juniperic acid system, the foam volume decreased rapidly showing that the foam (although the foam was made of fine homogeneous bubbles, see supporting information, Figure 7.10) was unstable as it disappeared in a few seconds after the end of bubbling. This was due to a fast coalescence of bubbles inside the column. The liquid incorporated into the foam made of juniperic acid at the end of bubbling was of 7 mL (15.5 % of liquid fraction). This result may be correlated with the low surface activity of that fatty acid as measured previously. A good foamability associated with unstable foams may be of practical interest for various applications. For instance, this is a prerequisite in washing (cleaning) processes or even for the nuclear decontamination.

7.4.4 Emulsifying properties

We also produced emulsions for all systems investigated above by sonication (see material and methods). Whatever the fatty acids, emulsions encapsulated all the oil volume during the emulsification process and were stable at room temperature. The observation by optical microscopy just after emulsification of the emulsions showed individual oil droplets dispersed in the aqueous phase (see supporting information, Figure 7.11). For all systems, the initial particle size distributions were monomodal with mean droplet diameters ($d_{4,3}$) of $1.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$. Emulsions were stable as we did not observe any macroscopic changes (no phase separation) during one day. However after 6 days, all emulsions were creamed. This is evident by visual inspection since creaming results from the migration of the emulsion droplets towards the top of the cell and results in a clearing of the lower part of the solution. Coalescence also occurred during that lap of time as a thin layer of oil was also observed at the surface of the sample tubes (see supporting information, Figures 7.11 and 7.12). The mean droplet diameters ($d_{4,3}$) increased to $2.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$, $2.7 \pm 0.4 \mu\text{m}$ and $3.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$, for C14, C16 and C18 respectively. For the hydroxylated fatty acids, the mean droplet diameters ($d_{4,3}$) increased to $2.5 \pm 0.4 \mu\text{m}$ and $2.6 \pm 0.2 \mu\text{m}$, for the 12-hydroxystearic acid and the juniperic acid systems, respectively.

It is well known that creaming can occur very rapidly even if it has no consequence

on the macroscopic aspect of the emulsions. Then, to get more accurate information on the creaming phenomenon, the percentage of backscattering of light profiles (% BS) was measured as a function of time. To evaluate the creaming kinetics of the emulsions, the % BS profiles at 25 °C were analyzed as a function of time during 4500 minutes. Creaming is the consequence of the migration of the emulsion droplets towards the top of the cell and results in a clearing of the lower part of the solution, yielding to a decrease of % BS as illustrated in Figure 7.8. As the % BS was measured at 20 mm from the bottom of the cell, a lag is observed for all systems during a given time and then, a decrease is observed and the % BS reaches a final value at 4500 minutes. We further define that the lower the % BS, the more stable the emulsion. The %BS was about 30% for emulsions made of C18, whereas it was of 39 % for C14 and 42 % for C16. Then, emulsions made with C14 and C16 were more stable than emulsions made with C18. Clearly, the creaming kinetics depended on the chain length in agreement with previous experiments³⁴. Emulsions made with the 12-hydroxystearic and juniperic acids systems were the most stable. During the experiment, the % BS only decreased from 80 % to 55 % and 50 %, respectively. It is interesting to notice that juniperic acid is efficient to stabilize a water/oil interface (emulsions) while it is unable to stabilize an air/water interface (foams). This is in agreement with the surface activity measurement of juniperic acid at the corresponding interfaces (see Figure 7.6B). All these results show that relatively stable emulsion can be produced with these systems. The creaming kinetic depends on the chain length and the presence of a hydroxyl group. Thus, the emulsion stability can be modulated by the nature of the fatty acids. This behavior is in agreement with the behavior observed at the model hexadecane/water interface (see Figure 7.6B).

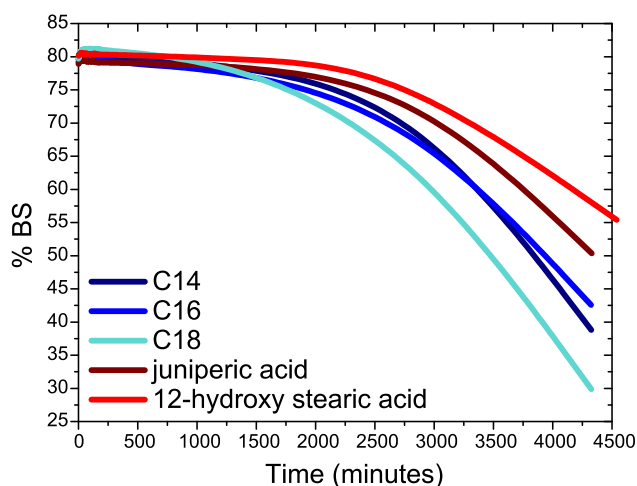


FIGURE 7.8 – Kinetics of creaming (clarification) of the emulsions made with 25 vol % n-hexadecane as the oil phase and 75 vol % of fatty acid/NaOH/GuHCl at 44 mM. % BS was measured at 20 mm from the bottom of the cell at 25 °C.

7.5 Conclusion

In our experimental conditions, the present various fatty acid systems self assembled into bilayers, although in the case of the bola-lipid, juniperic acid. Foams and emulsions were successfully produced at room temperature, the stability of which can be modulated by the nature of the fatty acid. Our present results confirm that the presence of GuHCl is determinant to prevent the crystallization of sodium salts of long chain fatty acids and their hydroxyl derivatives. However, we still have to determine how GuHCl interacts with fatty acids. This finding is unprecedented and should be of interest for further applications aimed at using such fatty acids as surfactants. To date, this is only restricted to unsaturated fatty acids and short chain saturated fatty acids. It is obvious that we should further examine the effect of the nature of other counter-ions (instead of sodium) in such fatty acid containing GuHCl in order to vary the polymorphism. Such systems should find applications in materials chemistry as templates or even in biology, for instance for studying the interaction of fatty acid binding proteins with long chain fatty acids or also in the field of detergency where such fatty acids may be used as green detergents.

Author contributions

A.L FAMEAU designed research, performed research, analyzed data and contributed to write the paper.

7.6 Supplementary information

7.6.1 SI1 DSC Results

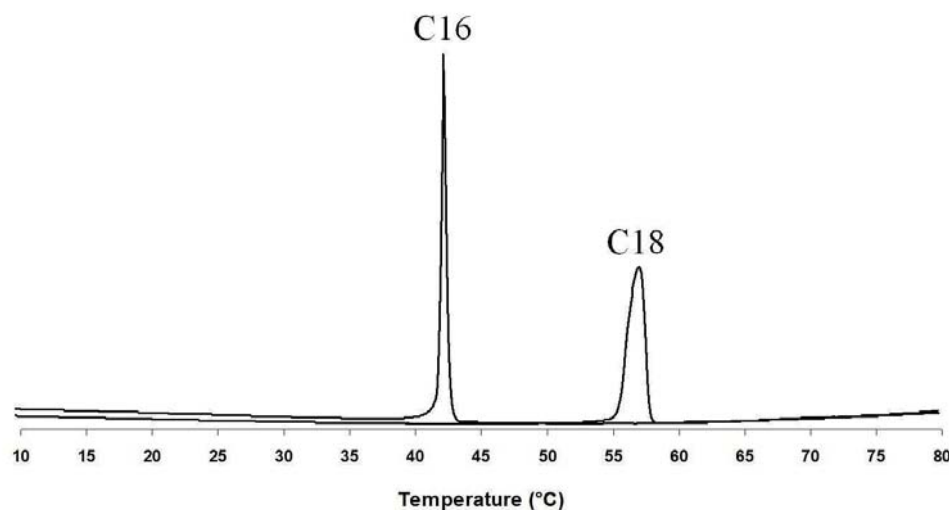


FIGURE 7.9 – Superimposed thermograms (heating curve) of the C16/GuHCl/NaOH and C18/GuHCl/NaOH systems.

7.6.2 SI2 Foams

The shape of the foam, *i.e.*, the size of the bubbles depends on the fatty acid (see main text) used as illustrated in the Figure 7.10.

7.6.3 SI3 Emulsions

The Figure 7.11 shows a micrograph obtained by phase contrast microscopy of an emulsion produced using the C14/GuHCl/NaOH system at a concentration of 44 mM. The micrograph A corresponds to an emulsion just after emulsification. The micrograph B corresponds to the same emulsion after 6 days storage at room temperature. It clearly reveals that coalescence occurred since larger size droplets are observed. This is also evidenced by the increase of the mean droplet diameter (see main text).

The Figure 7.12 shows two sample tubes of an emulsion made of the C14/GuHCl/NaOH system at a concentration of 44 mM just after emulsification (left) and after six days of storage at room temperature (right). On the right, we can clearly see the apparition of a clear aqueous phase due to the creaming of the oil droplets to the top of the sample tube. In addition, a thin layer of oil is visible at the top of this sample tube showing that coalescence also occurred.

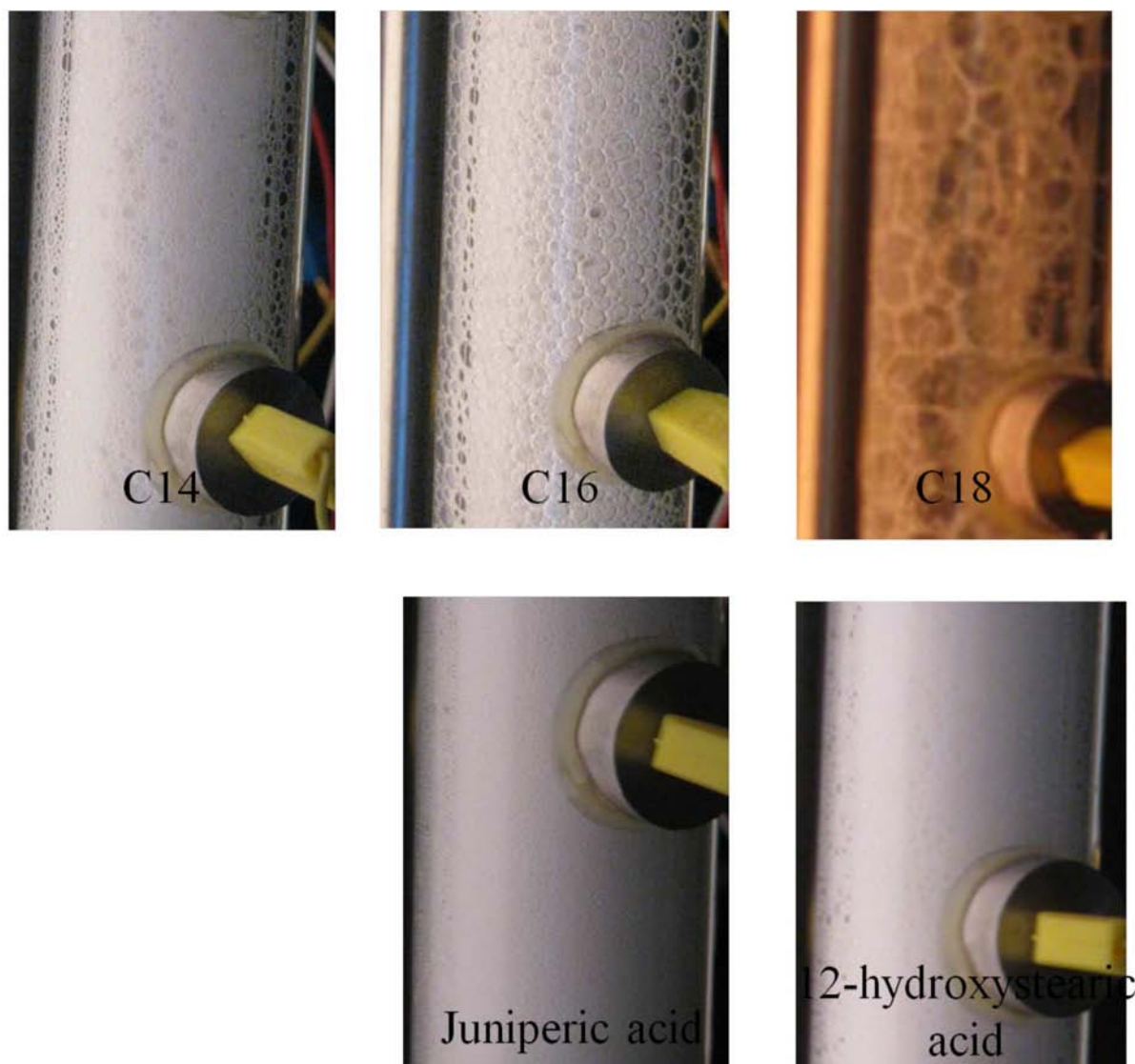


FIGURE 7.10 – Photos recorded for all systems just after the end of bubbling (75 s). The name of the fatty acid is indicated on the photo.

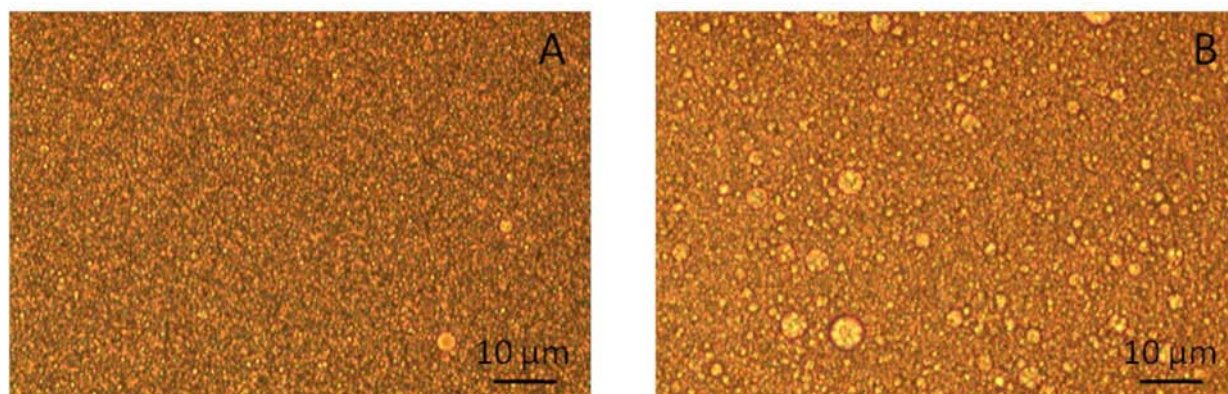


FIGURE 7.11 – Micrographs obtained by phase contrast microscopy for the C14/GuHCl/NaOH system at a concentration of 44 mM : A) just after emulsification, B) after six days.

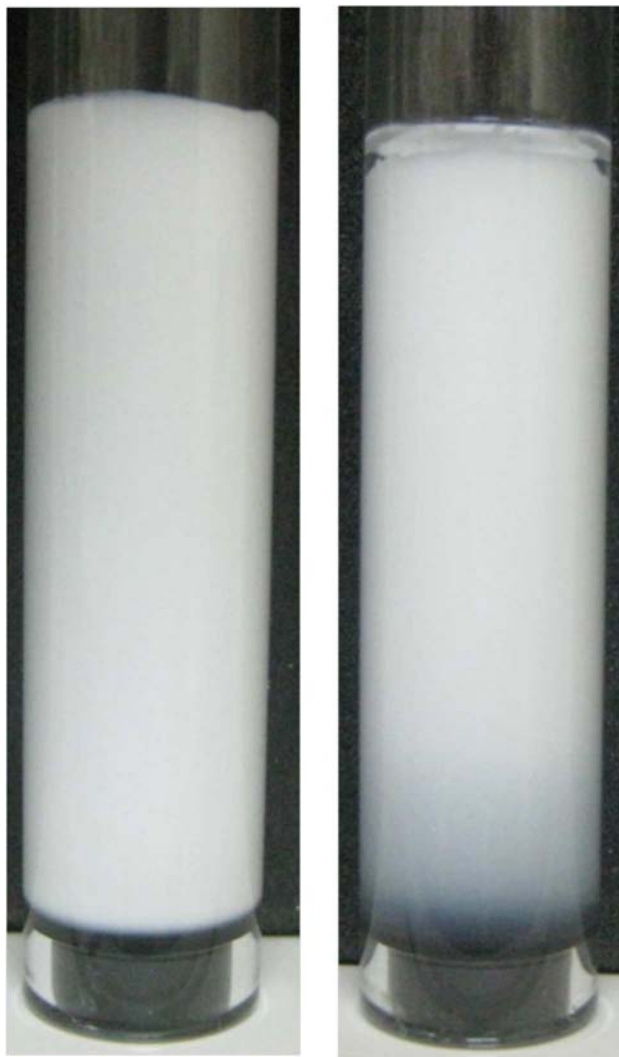


FIGURE 7.12 – Photos recorded for the C14/GuHCl/NaOH system at a concentration of 44 mM : sample tube just after emulsification (left) and for the same emulsion after six days (right).

Bibliographie

- [1] D. P. Cistola, D. Atkinson, J. A. Hamilton, and D. M. Small. Phase-behavior and bilayer properties of fatty-acids - hydrated 1-1 acid soaps. *Biochemistry*, 25(10) :2804–2812, 1986.
- [2] D. P. Cistola, J. A. Hamilton, D. Jackson, and D. M. Small. Ionization and phase-behavior of fatty-acids in water - application of the gibbs phase rule. *Biochemistry*, 27(6) :1881–1888, 1988.
- [3] I. Rico-Lattes, M. Blanzat, S. Franceschi-Messant, E. Perez, and A. Lattes. Catanionic sugar derived surfactants, polymers and dendrimers : from molecules to targeted self-organized systems. *Comptes Rendus Chimie*, 8(5) :807–814, 2005.
- [4] K. Shinoda, A. Carlsson, and B. Lindman. On the importance of hydroxyl groups in the polar head-group of nonionic surfactants and membrane lipids. *Advances in Colloid and Interface Science*, 64 :253–271, 1996.
- [5] R. Zana, J. Schmidt, and Y. Talmon. Tetrabutylammonium alkyl carboxylate surfactants in aqueous solution : Self-association behavior, solution nanostructure, and comparison with tetrabutylammonium alkyl sulfate surfactants. *Langmuir*, 21(25) :11628–11636, 2005.
- [6] R. Zana. Partial phase behavior and micellar properties of tetrabutylammonium salts of fatty acids : Unusual solubility in water and formation of unexpectedly small micelles. *Langmuir*, 20(14) :5666–5668, 2004.
- [7] R. Klein, M. Kellermeier, M. Drechsler, D. Touraud, and W. Kunz. Solubilisation of stearic acid by the organic base choline hydroxide. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 338(1-3) :129–134, 2009.
- [8] R. Klein, D. Touraud, and W. Kunz. Choline carboxylate surfactants : biocompatible and highly soluble in water. *Green Chemistry*, 10(4) :433–435, 2008.
- [9] J. P. Douliez, L. Navailles, and F. Nallet. Self-assembly of fatty acid-alkylboladiamine salts. *Langmuir*, 22(2) :622–627, 2006.
- [10] B. Novales, A. Riaublanc, L. Navailles, B. H. Houssou, C. Gaillard, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly and foaming properties of fatty acid-lysine aqueous dispersions. *Langmuir*, 26(8) :5329–5334, 2010.
- [11] B. Novales, L. Navailles, M. Axelos, F. Nallet, and J. P. Douliez. Self-assembly of fatty acids and hydroxyl derivative salts. *Langmuir*, 24(1) :62–68, 2008.
- [12] J. P. Douliez, B. Houinsou-Houssou, A. L. Fameau, B. Novales, and C. Gaillard. Self assembly of anastomosis-like superstructures in fatty acid/guanidine hydrochloro-

- ride aqueous dispersions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(2) :386–389, 2010.
- [13] K. Golemanov, N. D. Denkov, S. Tcholakova, M. Vethamuthu, and A. Lips. Surfactant mixtures for control of bubble surface mobility in foam studies. *Langmuir*, 24(18) :9956–9961, 2008.
- [14] J. Davis. The description of membrane lipid conformation, order and dynamics by 2h-nmr. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 737(1) :117–171, 1983.
- [15] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.
- [16] J. P. Douliez, C. Gaillard, L. Navailles, and F. Nallet. Novel lipid system forming hollow microtubes at high yields and concentration. *Langmuir*, 22(7) :2942–2945, 2006.
- [17] A. L. Fameau, B. Houinsou-Houssou, B. Novales, L. Navailles, F. Nallet, and J. P. Douliez. 12-hydroxystearic acid lipid tubes under various experimental conditions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341(1) :38–47, 2010.
- [18] J.P. Douliez. Phase behavior of the palmitic acid/palmitin system. a 2h nmr study. *Langmuir*, 20 :1543–1550, 2004.
- [19] J. P. Douliez, B. Pontoire, and C. Gaillard. Lipid tubes with a temperature-tunable diameter. *Chemphyschem*, 7(10) :2071–2073, 2006.
- [20] J. L. Slater and C. H. Huang. Interdigitated bilayer-membranes. *Progress in Lipid Research*, 27(4) :325–359, 1988.
- [21] M. Kranenburg, M. Vlaar, and B. Smit. Simulating induced interdigitation in membranes. *Biophysical Journal*, 87 :1596–1605, 2004.
- [22] J. P. Douliez. Self-assembly of hollow cones in a bola-amphiphile/hexadamine salt solution. *Journal of the American Chemical Society*, 127(45) :15694–15695, 2005.
- [23] A. H. Fuhrhop and T. Y. Wang. Bolaamphiphiles. *Chemical Reviews*, 104(6) :2901–2937, 2004.
- [24] A. Meister and A. Blume. Self-assembly of bipolar amphiphiles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12(3) :138–147, 2007.
- [25] I. Visscher and J. B. F. N. Engberts. Vesicles of mixtures of the bolaform amphiphile sodium di-n-decyl ,-eicosanyl bisphosphate and sodium di-n-decyl phosphate. *Langmuir*, 16(1) :52–58, 2000.
- [26] M. Masuda and T. Shimizu. Lipid nanotubes and microtubes : experimental evidence for unsymmetrical monolayer membrane formation from unsymmetrical bolaamphiphiles. *Langmuir*, 20(14) :5969–5977, 2004.
- [27] C.H. Chang, N.-H.L. Wang, and E.I. Franses. Adsorption dynamics of single and binary surfactants at the air/water interface. *Colloids and Surfaces*, 62(4) :321–332, 1992.
- [28] K. A. Coltharp and E. I. Franses. Equilibrium and dynamic surface tension behavior of aqueous soaps : Sodium octanoate and sodium dodecanoate (sodium laurate). *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 108(2-3) :225–242, 1996.
- [29] X. Y. Wen, J. Lauterbach, and E. I. Franses. Surface densities of adsorbed layers of aqueous sodium myristate inferred from surface tension and infrared reflection absorption spectroscopy. *Langmuir*, 16(17) :6987–6994, 2000.

- [30] K. S. Yim, B. Rahaii, and G. G. Fuller. Surface rheological transitions in langmuir monolayers of bi-competitive fatty acids. *Langmuir*, 18(17) :6597–6601, 2002.
- [31] X. Wen, K.C. McGinnis, and E.I. Franses. Unusually low dynamic surface tensions of aqueous solutions of sodium myristate. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 143(2-3) :371–380, 1998.
- [32] C.H. Chang, K.A. Coltharp, S.Y. Park, and E.I. Franses. Surface tension measurements with the pulsating bubble method. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 114 :185–197, 1996.
- [33] C. D Meglio, S. B Rananavare, S Svenson, and D. H. Thompson. Bolaamphiphilic phosphocholines : Structure and phase behavior in aqueous media. *Langmuir*, 16(1) :128–133, 2000.
- [34] K. Golemanov, S. Tcholakova, N. D. Denkov, and T. Gurkov. Selection of surfactants for stable paraffin-in-water dispersions, undergoing solid-liquid transition of the dispersed particles. *Langmuir*, 22(8) :3560–3569, 2006.

Conclusion

Conclusion

Résultats principaux

Ce travail s'inscrit dans le cadre général de la compréhension du lien entre la structure d'assemblages supramoléculaires en solution et les phénomènes interfaciaux. Pour cela, plusieurs types d'assemblages d'acides gras à longues chaînes et hydroxylés ont été étudiés : des membranes, des micelles et des tubes. L'idée maîtresse de ce travail est qu'une connaissance approfondie de la structure d'un assemblage supramoléculaire sensible à un stimulus externe en solution et aux interfaces pourrait permettre la conception de mousses aux propriétés modulables. Dans ce but, nous nous sommes principalement focalisés sur l'étude des tubes multilamellaires d'acide gras 12-hydroxy stéarique ayant un diamètre variable avec la température, en étudiant la structure de cet assemblage en volume, à l'interface air/eau et dans la mousse.

Le point de départ a été l'étude fine de la structure de l'assemblage en solution dans le but de déterminer de façon précise les conditions physico-chimiques pour lesquelles les tubes multilamellaires d'acide gras 12-hydroxy stéarique se forment en solution. Les résultats obtenus montrent que les tubes à diamètre variable sont obtenus dans des conditions **variées** :

- (i) pour un pH de 8,8 à 10,6
- (ii) pour des concentrations en acides gras de 3mg/mL à 100mg/mL
- (iii) pour un rapport molaire acide gras/contre-ion compris entre 2/3 et 5/2
- (iiii) avec une large gamme de contre-ions. Ceci permet de modifier la température à laquelle le diamètre des tubes augmente, la température de transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches d'acides gras, la température de fusion des tubes sous forme de micelles ou l'espace interlamellaire. Cet espace interlamellaire peut être modulé sur une gamme variant entre 240 Å et 450 Å selon le choix du contre-ion et/ou de la température.

Nous avons par ailleurs montré que l'augmentation du diamètre des tubes en solution n'est ni reliée à la transition entre la phase gel et la phase fluide des bicouches, ni à la variation de l'espace interlamellaire. Par contre, la dynamique des bicouches est fortement modifiée à la température pour laquelle le diamètre des tubes augmente. Ainsi, comme nous avons démontré que ce phénomène n'est pas lié directement aux transitions de phase, nous pensons que des phénomènes liés à la chiralité pourraient être impliqués.

A l'interface air/eau, de façon surprenante, les tubes s'adsorbent à cette interface en

conservant la même structure qu'en solution. Ils gardent également, le même comportement en fonction de la température sauf à la température à laquelle leur diamètre est maximal en solution (50 °C pour le contre-ion ethanolamine avec lequel a été menée l'étude à l'interface), où ils fusionnent alors pour former des phases lamellaires. De la même façon qu'en solution, les transitions structurales des tubes à l'interface sont complètement réversibles. Ainsi, la structure de la couche interfaciale peut être facilement modulée en jouant sur la température, ce qui donne à ce système un potentiel **exceptionnel** au niveau des propriétés interfaciales.

A partir des tubes multilamellaires, des mousses incroyablement stables sur des temps longs sont obtenues à température ambiante contrairement à celles de tensioactifs classiques (SDS, CTAB etc.). Nous avons démontré que cette stabilité exceptionnelle provient de la conjonction de deux phénomènes complémentaires. D'une part, les films de la mousse sont uniquement stabilisés par les monomères d'acides gras sous forme d'une couche dense quasi-solide, ce qui contribue à limiter la diffusion de gaz et la rupture du film, augmentant ainsi la stabilité de la mousse. D'autre part, la mousse est également stabilisée par la présence d'une forte quantité de tubes dans les bords de Plateau qui forment un réseau de type gel qui limite le drainage et ralentit fortement la déstabilisation de la mousse. Ce système rassemble donc tous les avantages d'une mousse de particules solides avec une très bonne stabilité en **bloquant les mécanismes de déstabilisation** de la mousse ainsi que les avantages des mousses de tensioactifs puisque la **moussabilité est optimale**.

Par ailleurs, nous avons utilisé la transition à hautes températures des tubes vers des micelles en volume pour modifier la stabilité des mousses. En effet, nous avons montré que, lorsque les tubes fusionnent pour donner des micelles, le réseau de type gel formé par les tubes dans les bords de Plateau est détruit. Le drainage qui était jusqu'alors fortement ralenti, est réactivé. Le film d'acides gras à l'interface semble fragilisé du fait d'un échange rapide entre les monomères à l'interface et les micelles, ainsi la coalescence des films reprend. Ces phénomènes déstabilisent la mousse et entraînent sa destruction très rapide. Ainsi, en jouant sur la structure de l'assemblage au sein des bords de Plateau à l'aide de la température, il est possible de modifier la stabilité des mousses. Cette **modulation aisée de la stabilité d'une mousse à l'aide d'un stimulus externe** ne modifiant pas la composition du système est un résultat exceptionnel puisqu'il n'avait jamais été obtenu auparavant. Nous avons donc réussi à réaliser des mousses **thermosensibles** !

Par ailleurs, afin d'essayer de décrire les mécanismes liant la structure d'un assemblage en solution avec ses propriétés moussantes et émulsifiantes résultantes dans un cadre plus général, nous avons débuté le même type d'étude avec d'autres assemblages. Nous avons ainsi montré que pour un assemblage donné (phases lamellaires), les propriétés moussantes et émulsifiantes dépendent de la nature de l'acide gras (longueur de la chaîne carbonée et présence ou non d'un groupement hydroxyle). Par exemple, dans le cas de l'acide junipérique, la moussabilité est importante, mais la destruction de la mousse se produit en quelques minutes, contrairement aux mousses produites avec l'acide palmitique qui sont relativement stables.

D'un point de vue fondamental, les travaux de cette thèse apportent donc des éléments

d'informations contribuant à la compréhension du lien entre le polymorphisme en volume et les propriétés interfaciales, moussantes et émulsifiantes : les acides gras assemblés sous forme de micelles ne permettent pas une bonne stabilisation de la mousse, contrairement aux membranes ou aux tubes multilamellaires.

D'un point de vue de l'applicatif, nous avons réussi, à partir d'un assemblage supramoléculaire d'acides gras présentant un comportement singulier vis-à-vis de la température, à produire une mousse « verte » ayant une stabilité modulable sous l'action de la température.

Perspectives

Suite à ce travail nous pouvons envisager d'autres études qui complèteraient ces résultats :

Au niveau de la structure en solution, la compréhension de la variation du diamètre des tubes en fonction de la température n'est toujours pas comprise. Nous pensons que la chiralité doit jouer un rôle non négligeable dans ce phénomène. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait purifier les deux énantiomères de l'acide 12-hydroxy stéarique et vérifier si chacun des deux forment également des tubes à diamètre variable.

Dans l'optique de produire des mousses stimulables à plus basses températures, il faut chercher de nouveaux contre-ions permettant d'obtenir une transition entre les tubes et les micelles plus basses ou alors d'autres assemblages qui transiteraient à des températures inférieures à celles étudiées ici.

De plus, lors de l'étude en solution des tubes, nous avons montré que les tubes se forment pour des conditions physico-chimiques variées (pH, force ionique, concentration en acides gras, etc.). La production de mousses à partir de ces différents systèmes nous permettrait d'étudier l'effet de chacun de ces paramètres sur les propriétés moussantes des tubes dans le but de moduler les propriétés moussantes en fonction des conditions physico-chimiques.

Des expériences au niveau des propriétés émulsifiantes des tubes sont à envisager au vu des résultats obtenus sur les mousses. En effet, des tests préliminaires ont montré que les émulsions produites à partir d'une solution de tubes étaient extrêmement stables sur de longues périodes à température ambiante (plus de deux mois). Aucun phénomène de coalescence et de crémage n'est observé durant cette période. Pour comprendre l'origine de cette stabilité, il serait donc intéressant de reprendre la démarche multi-échelles entreprise dans le cas des mousses. Pour cela, la détermination de la structure adoptée par les tubes à l'interface eau/huile *in situ* dans une émulsion par diffusion de neutron aux petits angles permettrait de connaître précisément la structure de la couche interfaciale. Par ailleurs, suivant les résultats obtenus, l'étude de la stabilité des émulsions en fonction de la température est à envisager.

Pour pouvoir apporter d'autres éléments de compréhension, il sera utile de s'intéresser à d'autres assemblages en solution, pour étudier leurs propriétés interfaciales et les relier aux propriétés moussantes et émulsifiantes résultantes. Comme nous l'avons vu au cours de ce travail, les sels d'acides gras à longues chaînes et hydroxylés de par leur large polymorphisme sont très bien adaptés à cette étude.

ANNEXES

Annexe A

Etude des assemblages en solution

A.1 Préparation des solutions

Toutes les solutions ont été préparées avec de l'eau purifiée par un système de filtration Millipore Milli-Q (18 M Ω). Les réactifs sont de qualité « analyse » (pureté supérieure à 98 % dans tous les cas, sauf pour les mousses où la pureté est de 75 %) de chez Sigma Aldrich. Tous les échantillons ont été globalement préparés de la même façon. Une masse exacte d'acide gras est introduite dans un tube, à laquelle est rajoutée la quantité désirée de contre-ions, puis de l'eau est ajoutée pour atteindre le volume final de solution. La solution obtenue est ensuite vortexée, chauffée entre 70 et 80 °C pendant 15 minutes et si nécessaire plongée quelques instants dans un bain à ultrasons. Pour certains échantillons où la dissolution n'a pas été totale à la fin du chauffage, un ou plusieurs cycles de chauffage-congélation ont été effectués jusqu'à dissolution complète de l'acide gras.

A.2 Caractérisation des assemblages par microscopie à contraste de phase

Un microscope à contraste de phase est un microscope optique qui transforme en niveaux de contraste les différences d'indice de réfraction entre deux structures, lesquelles se traduisent en différences de phase pour les ondes lumineuses les traversant. Il visualise ainsi des structures transparentes quand leur indice de réfraction diffère de celui de leur voisinage. Dans un tel microscope, deux dispositifs, appelés anneaux de phase, sont placés l'un dans le condenseur (le système optique qui focalise la lumière sur l'objet) et l'autre dans l'objectif (Figure A.1). Quand le bord d'une structure produit une diffraction suffisante, la lumière qui le traverse subit un déphasage par rapport aux autres rayons lumineux. Les anneaux filtrent ces rayons déphasés et il en résulte sur l'image un contraste accentué de la structure.

La structure des assemblages ainsi que la variation du diamètre des tubes en fonction de la température (de 20 °C à 80 °C) ont été étudiées à l'aide de l'objectif 20 d'un microscope optique à contraste de phase (Nikon Eclipse E-400, Tokyo, Japan) équipé d'une caméra 3-CCD JVC permettant de collecter des images digitales (768x512 pixels). Une gouttelette de solution aqueuse d'acides gras (environ 20 μ L) est déposée sur une lame de verre (76x26x1.1 mm, RS France) et recouverte à l'aide d'une lamelle (22x22 mm, Menzel-Glaser,

Germany). Chaque lame de verre est nettoyée à l'aide d'éthanol avant chaque utilisation.

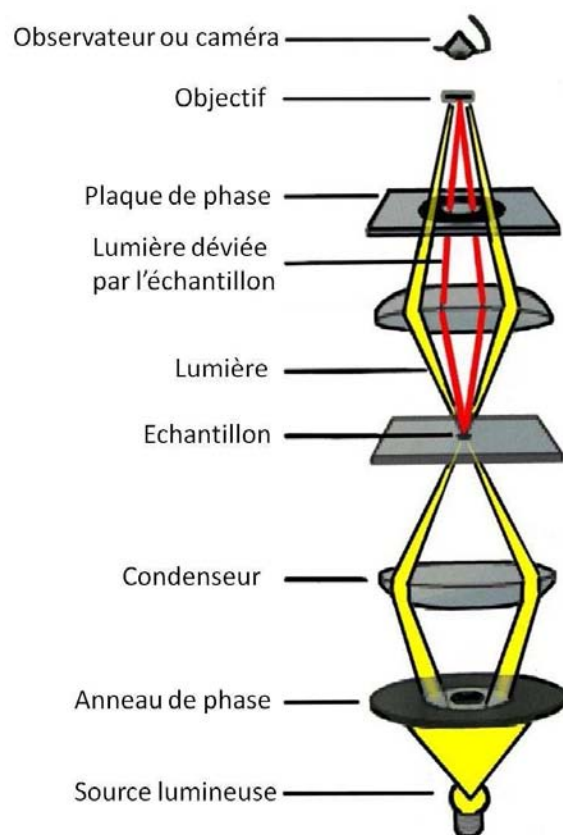


FIGURE A.1 – Principe de la microscopie à contraste de phase.

A.3 Caractérisation des assemblages par analyse thermique différentielle

Le principe de l'analyse thermique différentielle (ATD) est simple : la différence d'énergie fournie entre un échantillon et une référence (eau millipore) chauffés ou refroidis simultanément à la même vitesse est enregistrée en fonction du temps. En l'absence d'événement thermique, les températures de la référence et de l'échantillon augmentent toutes deux linéairement en fonction du temps, leur différence restant quasiment nulle et constante. Lorsqu'un événement thermique affecte l'échantillon, l'appareil lui fournit plus ou moins d'énergie pour maintenir sa température égale à celle de la référence. C'est la différence entre les flux de chaleur fournis à l'échantillon et à la référence, considérée comme un excès ou un déficit de chaleur spécifique qui est enregistrée. Les aires des thermogrammes sont ainsi reliées aux enthalpies des pics des transitions. Une aire positive correspond à un phénomène endothermique (exemple : fusion d'une variété cristalline), une aire négative indique un événement exothermique (exemple : cristallisation ou transition polymorphique). Un pic d'ATD se décrit par des paramètres physiques simples (Figure A.2) :

- La température correspondant à son maximum.

- Les températures de début et de fin de pic.
- L'enthalpie de fusion (en cal/g) représentée par la surface du pic.

Le comportement thermique des échantillons et plus particulièrement les transitions de phase ont été étudiés à l'aide d'un microcalorimètre (MicroCal Incorporated). Une quantité d'environ 0.5 mL de solution d'acides gras chauffée pendant une quinzaine de minutes à 75 °C (± 5 °C) pour effacer le passé thermique est introduite dans la cellule échantillon à l'aide d'une seringue. Environ 0.5 mL d'eau millipore est introduite dans la cellule de référence avec une seringue. Les analyses sont réalisées sous balayage d'un gaz inerte (dans notre cas l'azote), pour éviter toute réaction de l'échantillon étudié avec l'atmosphère du four. Les enregistrements sont effectués de 8 °C à 80 °C avec une vitesse de chauffage de 1 °C/min. L'ensemble des calculs réalisés par l'interface informatique se fait par rapport au thermocouple positionné entre l'échantillon et la référence.

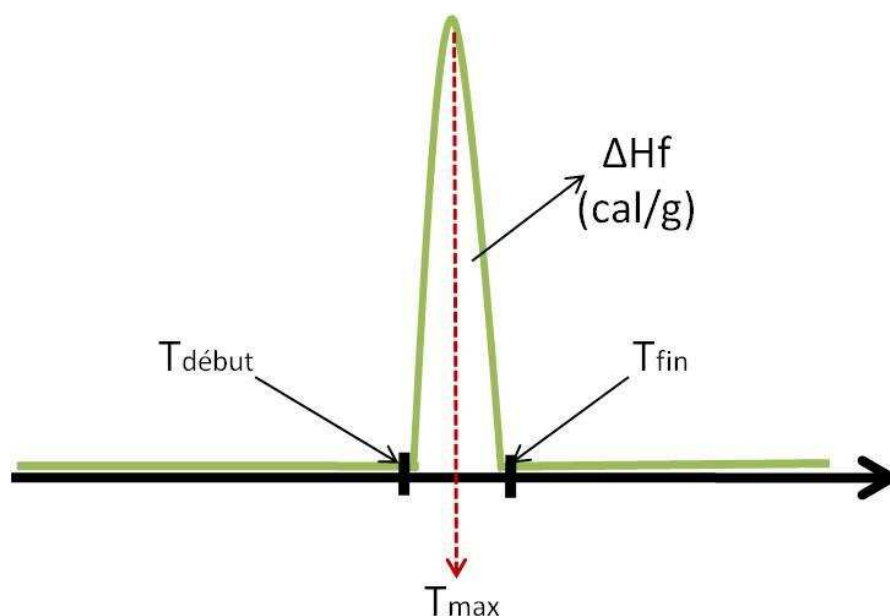


FIGURE A.2 – Thermogramme-modèle d'un corps pur défini par : températures de début et de fin de pic, température maximale, et enthalpie de fusion.

Annexe B

La diffusion des neutrons aux petits angles DNPA

La diffusion de neutrons aux petits angles est une technique particulièrement adaptée à la mesure de la structure des assemblages supramoléculaires en solution et dans les mousses. Cette annexe présente la technique de diffusion des neutrons aux petits angles utilisée lors de ce travail de thèse. Nous allons décrire dans cette partie le principe de la technique, le déroulement d'une expérience et le traitement des données.

B.1 Le neutron et l'interaction neutron/matière

Le neutron a été découvert en 1932 par James Chadwick et a été utilisé pour la première fois comme sonde en 1946 par Clifford Shull. Il est à la fois une onde et une particule (dualité onde-corpuscule) ce qui fait de lui un outil puissant d'investigation. Le neutron est défini par sa longueur d'onde :

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (\text{B.1})$$

où h est la constante de Planck, $m = 1.675 \cdot 10^{-24} \text{g}$ est la masse du neutron et v sa vitesse. Le neutron est également défini par son énergie cinétique :

$$E = \frac{1}{2}mv^2 = \frac{\bar{h}^2}{2m\lambda^2} \quad (\text{B.2})$$

où $\bar{h} = h/(2\pi)$ est la constante réduite de Planck.

Les neutrons couramment utilisés en matière molle sont des neutrons dits *froids* car produits par une source froide et leurs longueurs d'onde sont typiquement comprises entre 3 Å et 25 Å et d'énergies du meV. Les neutrons sont produits par le réacteur Orphée. Ils sont thermalisés par une source froide d'hydrogène liquide ($\approx 20 \text{ K}$), puis transmis par un guide de neutrons jusqu'au spectromètre.

Un faisceau de neutrons monochromatique de longueur d'onde λ est considéré comme une onde plane dont la fonction de propagation peut s'écrire de la forme suivante :

$$\Psi = e^{i(kz-2\pi.\nu.t)} \quad (\text{B.3})$$

où ν est la fréquence de l'onde. Lorsque cette onde interagit avec un atome de l'échantillon, elle est diffusée dans toutes les directions. Cette onde diffusée est sphérique et de même longueur d'onde λ que l'onde incidente (car on supposera la diffusion élastique) et sa fonction d'onde est définie par :

$$\Psi' = -\frac{b}{r} e^{i(k'z-2\pi.\nu.t)} \quad (\text{B.4})$$

La probabilité que le neutron soit diffusé est proportionnelle à la section efficace de diffusion σ qui caractérise la portée des interactions entre le neutron et l'atome. La section efficace de diffusion est définie par :

$$\sigma = 4\pi.b^2 \quad (\text{B.5})$$

avec b la longueur de diffusion de l'atome (en m) et dépend de l'isotope.

Le nombre de neutrons diffusé $I(q)$ par l'échantillon ayant reçu un flux incident $\phi(\lambda)$ sur une surface S située à une distance d (soit un angle solide $\Delta\Omega=S/d^2$) est défini par :

$$I(q) = \phi(\lambda) \frac{d\sigma}{d\Omega} \cdot \Delta\Omega \quad (\text{B.6})$$

où $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ est la section efficace de diffusion différentielle de diffusion. On peut se reporter à la figure B.1. En la divisant par le volume V , elle devient homogène à l'inverse d'une longueur (en cm^{-1}). Ainsi, dans le cas d'objets centrosymétriques au sein d'un solvant, l'intensité diffusée s'exprime de la façon suivante :

$$I(q) = \frac{1}{V} \frac{d\sigma}{d\Omega} \Phi \Delta\rho^2 P(q) S(q) \quad (\text{B.7})$$

où Φ est la fraction volumique en objets diffusants, $\Delta\rho^2$ est le terme de contraste entre le soluté et le solvant, $P(q)$ est le facteur de forme de l'objet et $S(q)$ est le facteur de structure. Le facteur de forme $P(q)$ rend compte de la forme d'un objet et il existe différentes expressions du facteur de forme selon l'objet considéré (sphère dure, chaîne gaussienne ou à volume exclu, phase lamellaire, etc.). Le facteur de structure $S(q)$ permet de caractériser l'état de dispersion des objets dans le milieu où ils se trouvent. Il permet de connaître l'état d'agrégation ou de répulsion ainsi que l'intensité des interactions. En régime dilué, il est égal à 1 car les interactions sont négligeables, ce qui permet de mesurer directement le facteur de forme.

L'ensemble du formalisme et du principe de la diffusion des neutrons aux petits angles a été développé en détail dans différents ouvrages¹⁻³.

B.2 Les mesures

Voyons maintenant comment se déroule une mesure en pratique. Un faisceau de neutrons monochromatique de longueur d'onde λ et collimaté est envoyé sur un échantillon. Les neutrons diffusés dans toutes les directions sont mesurés par un détecteur en fonction de leur angle de diffusion θ , on mesure ainsi la variation de l'intensité diffusée en fonction de cet

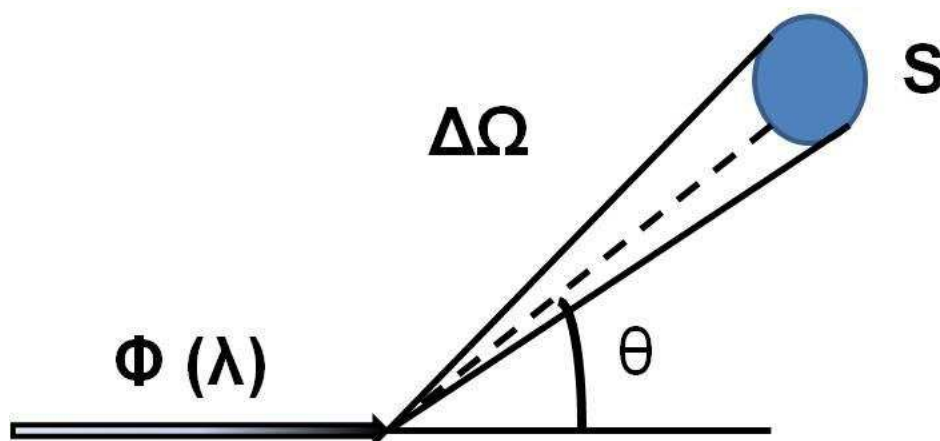


FIGURE B.1 – Section efficace de diffusion.

angle θ . La figure B.2 présente un schéma de principe d'un appareil de diffusion aux petits angles. Un spectromètre est constitué d'un guide à neutrons qui acheminent les neutrons jusqu'à l'appareil, d'un sélecteur qui fixe la longueur d'onde choisie par l'expérimentateur, d'un système de collimation et d'un détecteur. Le détecteur est un croisement de fils horizontaux et verticaux (détecteurs XY). Le détecteur est dans une atmosphère de BF_3 , gaz qui permet de capter les neutrons et de réémettre un gamma qui va créer une différence de potentiel entre les fils et donc être détecté.

L'intensité diffusée dans une direction donnée par le vecteur de diffusion \vec{q} :

$$\vec{q} = \vec{k}_d - \vec{k}_i \quad (\text{B.8})$$

où \vec{k}_d et \vec{k}_i sont respectivement les vecteurs d'onde des faisceaux incident et diffusé.

Le paramètre important est en fait le module du vecteur de diffusion défini par :

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (\text{B.9})$$

Ce vecteur de diffusion va permettre de regrouper sur une même courbe les données obtenues pour un couple (λ, θ) . Pour faire varier les valeurs de q , il est possible de changer la distance échantillon/détecteur ou la longueur d'onde λ . Les longueurs d'onde accessibles sont comprises entre 3.5 Å et 25 Å et les distances sont comprises entre 1 m et 7 m. Pour couvrir une gamme en q la plus large possible il est nécessaire de faire plusieurs configurations, c'est à dire de varier plusieurs fois le couple longueur d'onde/distance. Dans ces conditions, il est alors possible :

- d'étudier des objets de taille $R \approx 1/q$, c'est à dire comprise entre 10 et 1000 Å
- de connaître l'organisation des objets entre eux et de définir des distances caractéristiques d telles que $q = (2\pi/d)$

Pour cette étude nous avons utilisé les spectromètres PAXY et PAXE du LLB à deux ou trois configurations selon les cas.

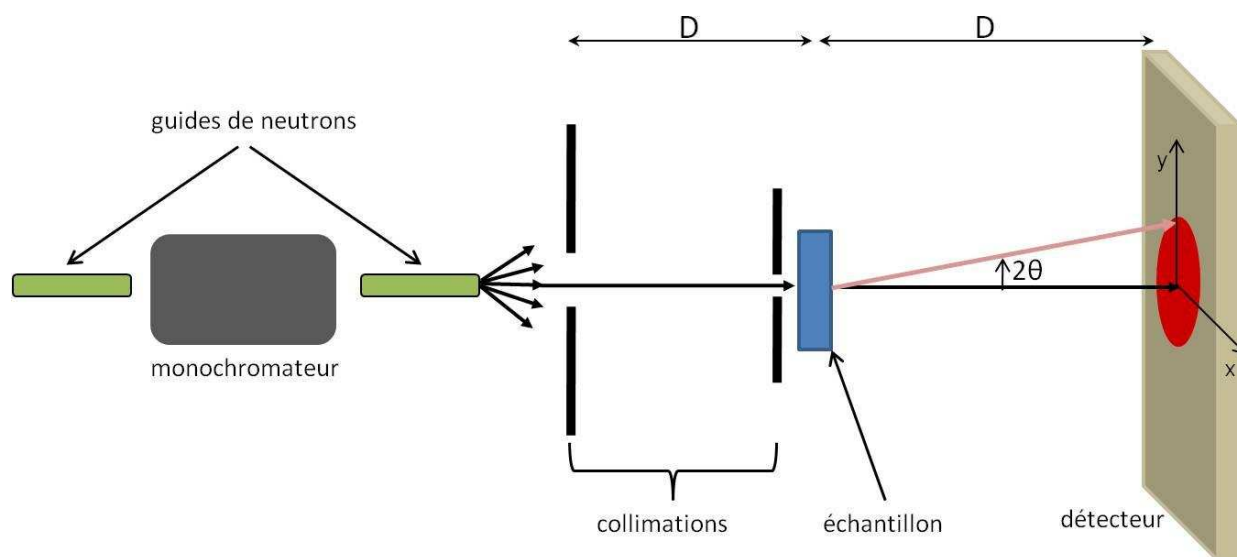


FIGURE B.2 – Schéma d'un spectromètre de diffusion aux petits angles.

B.3 Le traitement des données

Une fois la mesure effectuée, certaines contributions parasites doivent être soustraites à l'intensité brute afin d'obtenir la mesure finale. Il faut soustraire la cellule utilisée (en quartz). L'intensité brute doit, de plus, être normalisée par l'épaisseur e de l'échantillon et la transmission T qui correspond à l'atténuation du faisceau direct passant dans l'échantillon. L'efficacité du détecteur doit ensuite être corrigée en mesurant le spectre de diffusion d'un échantillon incohérent de référence qui est généralement 1 mm d'eau légère.

Cette mesure permet également de calculer le facteur de renormalisation F_{renorm} qui permet d'accéder à des valeurs absolues en intensité (en cm^{-1}). Plus précisément, pour mesurer le facteur de renormalisation, on mesure un échantillon qui diffuse fortement (le graphite) en présence ou non d'un atténuateur puis le faisceau direct. Puis le facteur de renormalisation s'exprime par la relation suivante :

$$F_{renorm} = \frac{\frac{I_{eau}}{e \cdot T} - \frac{I_{CV}}{e \cdot T}}{\frac{S}{d^2} I_0 A \epsilon} \quad (\text{B.10})$$

Ainsi, l'intensité absolue est obtenu par :

$$I_{abs} = F_{renorm} \left(\frac{\frac{I_{ech}}{e \cdot T} - \frac{I_{CV}}{e \cdot T}}{\frac{I_{eau}}{e \cdot T} - \frac{I_{CV}}{e \cdot T}} \right) \quad (\text{B.11})$$

Enfin, il est possible de soustraire le bruit de fond électronique du détecteur en mesurant le spectre d'un fort absorbant de neutrons, le cadmium par exemple.

Lorsque tout ce traitement est fait, il reste à soustraire la partie incohérente du signal qui correspond au signal du solvant pour un échantillon liquide.

B.4 La particularité des neutrons

La particularité de la DNPA réside dans la possibilité de modifier le contraste entre les différents constituants d'un système grâce au marquage isotopique et la substitution entre l'hydrogène (noté H) et le deutérium (noté D).

Le principe de la variation de contraste consiste à remplacer l'hydrogène par le deutérium dont les longueurs de diffusion sont très différentes : $b_H = -3.74 \cdot 10^{-13}$ cm et $b_D = 6.67 \cdot 10^{-13}$ cm. Lorsque l'on a un système qui ne comprend que deux composants, comme un acide gras en solution, le marquage soit de l'acide gras soit du solvant permet d'augmenter le contraste et donc l'intensité diffusée. Dans notre cas, les acides gras utilisés étaient hydrogénés et le solvant utilisé était le D_2O .

La variation de contraste d'un solvant est l'expérience la plus fréquente en DNPA : en mélangeant deux solvants isotopiques on peut faire varier la diffusion moyenne du solvant telle que :

$$x_D b_D + (1 - x_D) b_H = b_{moy} \quad (B.12)$$

Dans un système constitué de plusieurs éléments il est souvent nécessaire d'éteindre la contribution d'un des éléments par un mélange de solvant H et D dont le b_{moy} est égal à la densité de longueur de diffusion de cet élément : on réalise alors l'extinction du signal de cet élément⁴.

B.5 Diffusion aux petits angles des assemblages d'acides gras

Les assemblages supramoléculaires d'acides gras sont mesurés dans un solvant 100 % D_2O afin de maximiser le contraste avec le solvant. Dans le cas des tubes multilamellaires et des phases lamellaires, l'intensité de diffusion $I(Q)$ peut s'écrire comme le produit de trois termes.

Le facteur de forme $P(Q)$ de membranes planes d'épaisseur δ définit par :

$$P(Q) = \frac{\sin^2(Q\delta)/2}{Q^2} \quad (B.13)$$

Le facteur de structure $S(Q)$ d'un empilement 1D prenant en compte les fluctuations thermiques des membranes et la résolution de l'expérience de diffusion, ainsi qu'un terme en $1/Q^2$ en considérant l'orientation aléatoire des membranes⁵. C'est-à-dire :

$$I(Q) \approx \frac{P(Q)S(Q)}{Q^2} \quad (B.14)$$

L'ajustement des données sur toute la gamme de Q à l'aide de ce modèle permet d'obtenir l'estimation de deux paramètres importants dans notre cas : le paramètre de Caillé (η) qui est essentiellement déterminé à partir de la région du spectre où sont localisés les pics de Bragg et l'épaisseur des membranes δ aux grands vecteurs de diffusion, où $S(Q)$ est proche

de 1.

Dans le cas des micelles, nous avons utilisé un facteur de forme correspondant à une sphère de rayon R :

$$P(Q) = \left(\frac{3(\sin(QR)) - QR\cos(QR)}{(QR)^3} \right)^2 \quad (\text{B.15})$$

Dans le domaine de Porod, on observe une diffusion en Q^{-4} typique des interfaces abruptes. Cette expression permet donc de mesurer le rayon de la micelle.

Annexe C

La réflectivité de neutrons

La réflectivité des neutrons est une technique d'étude des surfaces et des interfaces^{6, 7}.

C.1 Principe de la mesure

Cette technique permet de mesurer les épaisseurs et la composition chimique d'une ou plusieurs couches minces à une interface. Les épaisseurs caractéristiques mesurables lors d'une expérience sont comprises entre 1 nm et quelques centaines de nm. Le principe consiste à mesurer le coefficient de réflexion R d'un faisceau de neutrons envoyé en incidence rasante sur la surface que l'on désire étudier (Figure C.1).

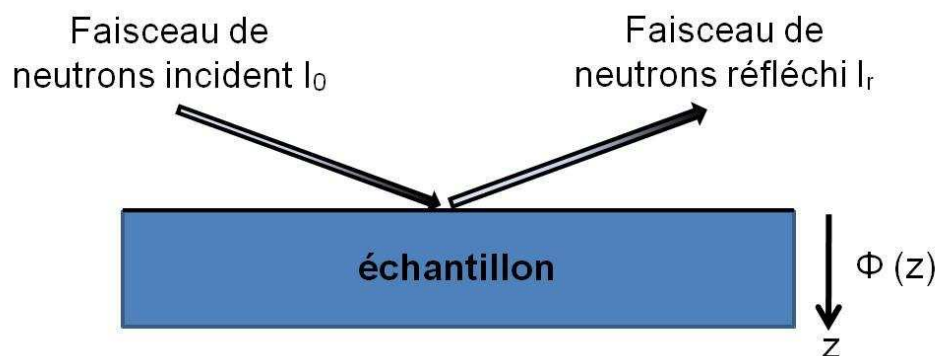


FIGURE C.1 – Principe et fonction de la réflectivité des neutrons.

Une expérience de réflectivité consiste donc à mesurer les intensités incidentes (I_0) et réfléchie (I_r) pour chaque valeur du vecteur de diffusion :

$$q = \frac{2\pi \sin(\theta)}{\lambda} \quad (\text{C.1})$$

Le coefficient de réflexion R est donné par :

$$R = \frac{I_r}{I_0} \quad (\text{C.2})$$

La variation de réflectivité avec q est liée au profil de concentration perpendiculaire à la surface ($\phi(z)$). Si ce profil est représenté par une succession de couches, nous pouvons à l'aide d'un ajustement numérique, déterminer l'épaisseur de chaque couche, sa composition (N_b : densité de longueur de diffusion cohérente) ainsi que la rugosité entre les couches.

Deux types de mesures peuvent être effectués (Figure C.2) :

- Avec un faisceau monochromatique, la longueur d'onde est fixée et les mesures sont effectuées en faisant varier l'angle d'incidence θ .
- Avec un faisceau polychromatique, l'angle d'incidence θ est fixé et les longueurs d'ondes sont variables. Cette technique se nomme « temps de vol ».

C'est la technique de temps de vol que nous avons utilisée pour nos mesures de réflectivité. Cette technique s'appuie sur la relation liant la longueur d'onde λ du neutron au temps mis par le neutron pour parcourir une distance donnée :

$$\lambda = \frac{h}{mL}t \quad (\text{C.3})$$

Avec h , la constante de Planck, m la masse du neutron et t le temps mis par le neutron pour parcourir la distance L .

La séparation des neutrons du faisceau blanc se fait donc en fonction de leur vitesse. Le dispositif comprend un hacheur qui permet de former des impulsions de neutrons polychromatiques. Chaque impulsion est formée au temps $t=0$. La longueur d'onde est déterminée à partir de la mesure du temps mis par le neutron pour parcourir la distance L du hacheur au détecteur. La vitesse de rotation du hacheur est réglée de manière à ce que les neutrons les plus lents d'une impulsion arrivent avant les neutrons les plus rapides de l'impulsion suivante.

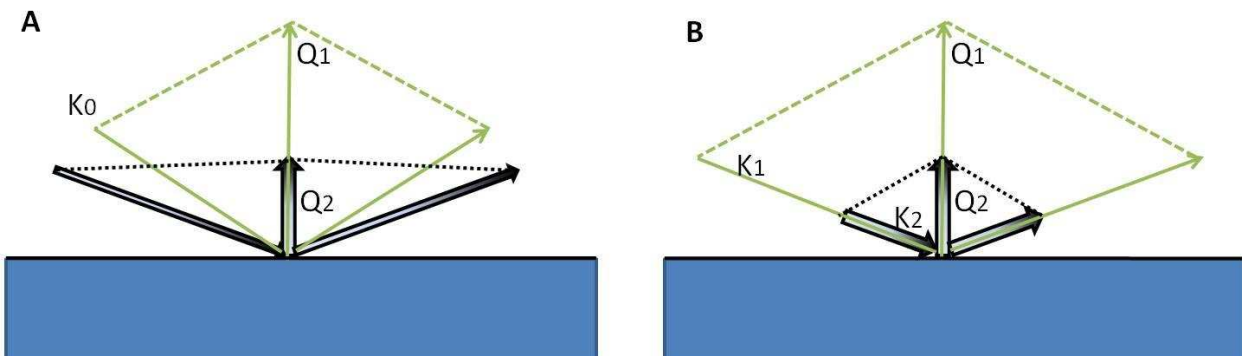


FIGURE C.2 – Principe de la réflectivité de neutrons (A) : mesure à θ variable et λ fixe. (B) temps de vol : mesure à θ fixe et λ variable.

C.2 Appareillage et mode opératoire

C.2.1 Description du spectromètre EROS

La caractérisation de l'interface air/eau de nos échantillons a été effectuée sur le réflectomètre à temps de vol EROS (Etude par Réflectivité de l'Organisation des Surfaces) du hall des guides du réacteur Orphée (CEA Saclay). La Figure C.3 présente un schéma de ce spectromètre. A la sortie du guide de neutrons se trouve un hacheur. Il est constitué d'un disque en matériau absorbant les neutrons et à la périphérie duquel se trouve une fente de taille variable. Le hacheur tourne à une fréquence constante et la fente laisse donc passer des bouffées de neutrons à intervalles de temps réguliers. Le faisceau entre ensuite dans un collimateur par une fente d'entrée et en ressort par une fente de sortie. La taille de ces fentes détermine la résolution angulaire du faisceau. Elle est fixée de façon à obtenir un bon compromis entre flux et résolution. A la sortie du collimateur, un miroir dévié d'un angle $\theta/2$ par rapport à l'horizontal est placé sur le trajet du faisceau. Les neutrons se réfléchissent sur ce miroir et arrivent avec un angle d'incidence θ sur la surface à étudier. Après réflexion, les neutrons traversent un tube sous vide qui évite une trop grande absorption par l'air avant d'être comptabilisés en fonction du temps par le détecteur. Deux détecteurs peuvent être utilisés : un détecteur unidimensionnel ou un détecteur bidimensionnel. La gamme de longueur d'onde accessible est 2.5-25 Å.

C.2.2 Environnement échantillon

Pour étudier la structure présente à l'interface air/eau, une cuve en teflon est remplie de la solution à étudier. Cette cuve est préalablement soigneusement lavée et abondamment rincée à l'eau Milli-Q (18 MΩcm) et séchée. Ses dimensions (15cm × 5cm × 3cm) sont telles que la surface de la solution est plus grande que l'empreinte du faisceau de neutrons incident (déterminée par la taille des fentes et l'angle d'incidence). La cuve en teflon repose sur un support en aluminium. L'ensemble est recouvert de deux couvercles possédant des fenêtres en quartz qui laissent passer les neutrons. Le contrôle de la température est assuré par un bain thermostaté Lauda dont le fluide circule sous le support. La double enveloppe assure ainsi une bonne thermalisation de l'échantillon.

C.3 Les mesures

Dans une expérience de réflectivité, le principe de réglage est simple. On détermine un angle de travail tel que, sur la gamme de longueurs d'onde utilisable, une partie du faisceau soit en réflexion totale. Ceci se fait à l'aide de la formule suivante, avec : θ_c , l'angle critique.

$$\sin\theta_c = \sqrt{\frac{N_b}{\pi}}\lambda \quad (\text{C.4})$$

On ajuste la position de la hauteur du détecteur. Les positions h_0 et h_D du détecteur pour capter les faisceaux respectivement direct et réfléchi sont définies par la relation suivante en fonction de la distance entre l'échantillon et le détecteur (D) :

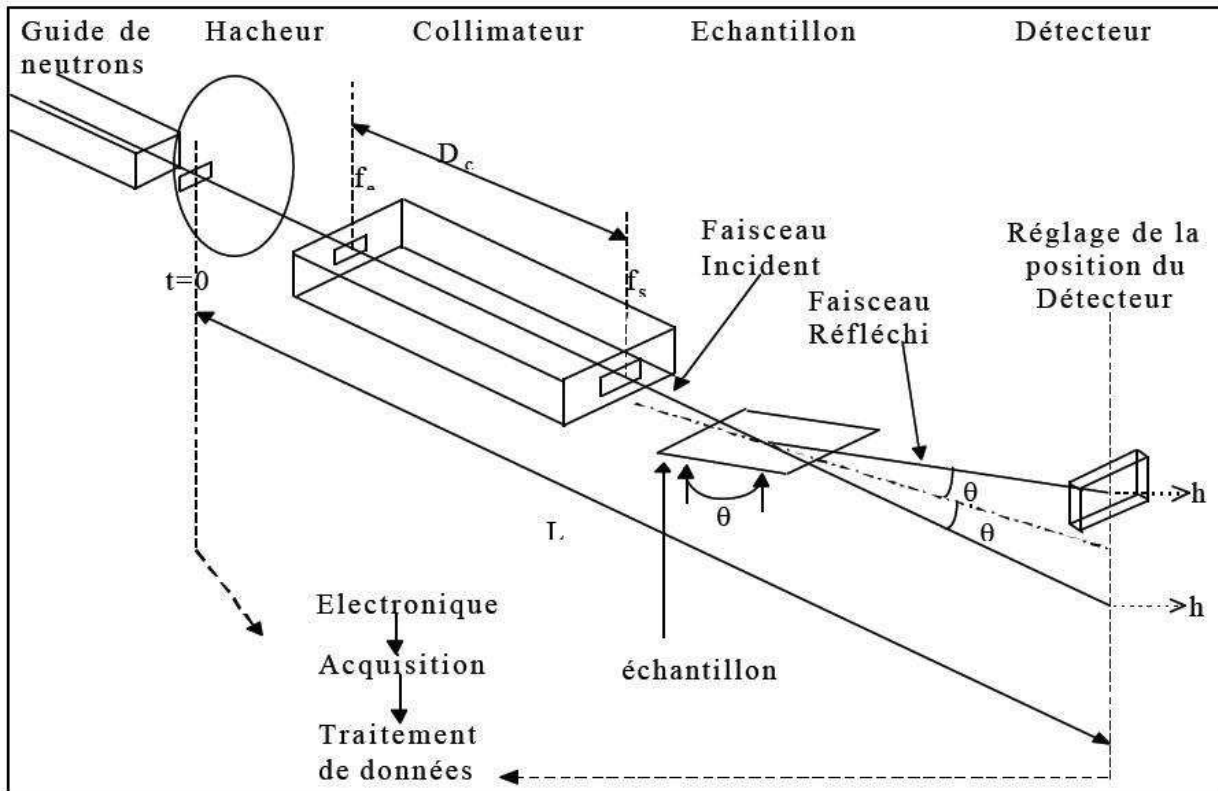


FIGURE C.3 – Schéma du réflectomètre EROS.

$$\tan 2\theta = \frac{h_d - h_0}{D} \quad (\text{C.5})$$

Dans notre cas, il faut aussi dévier le faisceau incident à l'aide d'un miroir de telle sorte qu'il fasse un angle $\theta_{travail}$ avec l'échantillon qui reste ainsi parfaitement horizontal. Lors de nos expériences, le faisceau horizontal et collimaté est dévié à l'aide d'un miroir avec un angle $\theta_{travail}$ de 0.75° et nous avons utilisé un angle d'incidence fixe de 1.5° . La gamme de Q ainsi accessible est comprise entre 0.01 et 0.1 \AA^{-1} .

Une fois l'échantillon placé dans la cellule de mesure et thermostaté, l'intensité du faisceau de neutrons réfléchi est mesurée par cycles de 1 heure sur une durée totale de 6 heures. L'intensité du faisceau incident traversant la cellule de mesure vide est également mesurée pendant au minimum deux heures. Avant le début de chaque mesure, nous avons attendu trente minutes, le temps que l'échantillon atteigne l'équilibre. Pour mesurer le coefficient de réflexion à l'interface air/ D_2O , il faut préalablement mesurer le faisceau incident sans réflexion, qui donne la dispersion en énergie du faisceau incident, puis diviser l'intensité mesurée dans le faisceau réfléchi par ce faisceau incident, et ceci pour chaque valeur de λ .

C.4 Traitement des données

La réflectivité est calculée à partir du profil de concentration d'un système. Le traitement des courbes expérimentales de réflectivité de neutrons pose le problème inverse, à savoir la

détermination d'un profil de concentration connaissant la réflectivité. Ce problème ne peut pas être résolu de manière analytique, il faut procéder à un ajustement numérique : il consiste à calculer la courbe de réflectivité d'un profil donné, proche du système étudié, puis à modifier les différents paramètres jusqu'à ce que la courbe calculée soit la plus proche possible de la courbe expérimentale. La précision d'un tel ajustement est caractérisée par la grandeur χ^2 , liée à la somme des carrés des écarts entre la courbe calculée et la courbe expérimentale : un bon ajustement doit donc correspondre à une valeur minimale du χ^2 . La principale difficulté d'un tel ajustement réside dans le fait que nos systèmes dépendent d'un nombre important de paramètres. L'ajustement des courbes est difficile puisque parfois il fournit plusieurs jeux de paramètres donnant un χ^2 minimal. Il est alors parfois nécessaire de réaliser des expériences avec d'autres techniques pour pouvoir choisir le jeu de paramètres le plus probable d'un point de vue physique ou alors développer soit même des modèles permettant d'ajuster les données. Les différents paramètres d'ajustement numérique pour les systèmes air/D₂O sont : l'épaisseur des couches, la densité de longueur de diffusion de chaque couche et la présence de rugosité entre les couches.

Annexe D

Etude des propriétés moussantes

D.1 Formation des mousses par bullage

Pour nos expériences, les propriétés moussantes ont été étudiées à l'aide d'un appareil appelé FOAMSCAN de la société IT Concept (Longessaigne, France). Cet appareil, dont le schéma est représenté sur la figure D.1, permet de produire des mousses par bullage c'est-à-dire par injection de gaz dans les solutions à étudier puis de mesurer au cours du temps l'évolution de plusieurs paramètres renseignant sur la moussabilité, la stabilité des mousses obtenues ainsi que sur le drainage du liquide par des mesures optiques et conductimétriques.

L'appareil est constitué d'une cuve contenant un fritté de 20 mm de diamètre dans le fond (fritté de porosité de type 4 (10 à 16 μm) de chez SCHOTT) dans laquelle l'échantillon à faire mousser est introduit. Le fritté est relié à un tube d'injection de gaz alimenté par une bouteille d'azote et à un tube d'évacuation. La cuve est surmontée d'une colonne en verre (hauteur : 20 cm et diamètre : 21 mm), détachable et munie de quatre paires d'électrodes situées à différentes hauteurs de la colonne, permettant de mesurer la conductivité en ces points, des électrodes sont également présentes dans la cuve. Une caméra, située dans le même compartiment que la colonne, permet après analyse d'image de déterminer au volume de la mousse. Un ordinateur collecte et stocke toutes les données associées à une expérience.

La première étape du mode opératoire consiste à calibrer le système pour les mesures de conductivité. Pour cela des volumes croissants de la solution moussante à étudier sont ajoutés dans la cuve et à chaque volume ajouté, la conductivité est mesurée. Au total, 12 mL de solution sont introduits dans la cuve à la base de la colonne. On établit ainsi une droite d'étalonnage volume-conductivité. Ensuite, l'injection de gaz commence avec un débit constant (fixé dans nos expériences à 35 mL/min) jusqu'à l'obtention du volume maximum de mousse à atteindre (fixé dans notre cas à 45 mL). Une fois le volume de mousse fixé atteint, l'injection de gaz est arrêtée. L'appareil mesure à tout instant le volume de mousse par des mesures optiques. Le volume total de liquide incorporé dans la mousse à la fin du bullage, puis sa diminution au fur et à mesure du drainage après arrêt du bullage sont mesurés par la variation du volume de liquide résiduel dans la cuve ainsi qu'au niveau des électrodes situées le long de la colonne.

Pour tester l'effet de la température sur les propriétés moussantes, une colonne en verre constituée d'une double enveloppe et reliée à un bain thermostaté a été utilisée. La colonne

a les mêmes dimensions que précédemment et le fonctionnement est identique.

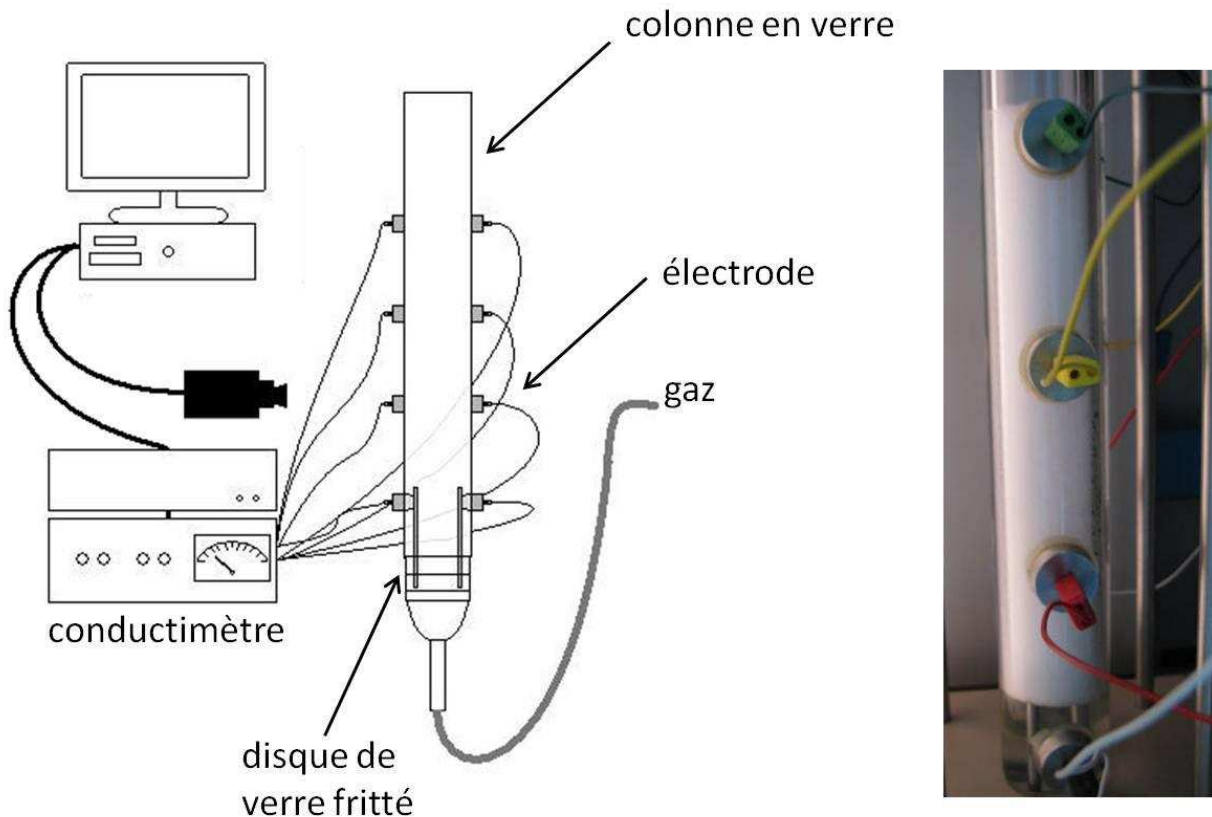


FIGURE D.1 – Schéma du fonctionnement du Foamscan accompagné d'un exemple de mousse formée dans la colonne.

D.2 Formation des mousses par agitation manuelle

Des mousses ont été également produites par agitation manuelle. Pour cela, 15 mL de la solution à faire mousser sont introduits dans un tube cylindrique en plastique de diamètre 3 cm et de 12 cm de hauteur. Le tube est ensuite agité pendant 30 secondes.

D.3 Caractérisation des films interfaciaux par la balance à films

Nous avons utilisé la technique de balance à films (Figure D.2) pour savoir si les tubes multilamellaires étaient présents dans les films minces. Les expériences ont été réalisées au Laboratoire de Physique des Solides (Orsay, France) et à l'Institut de Physique de Rennes (Rennes, France).

La balance à films a été développée par Exerowa et Mysels⁸. Avec cette technique, le film est formé et tenu sur un support horizontal qui consiste en un disque poreux rempli de

D.4. CARACTÉRISATION DE L'INTERFACE PAR LA TENSION MÉTRIE À GOUTTE

solution et percé d'un trou millimétrique (1,4 mm dans notre cas) utilisé pour former le film. Le disque poreux (taille de pores de 10 à 16 μm) est fixé à un tube capillaire courbé et est placé dans une cellule où la pression est contrôlée. Le capillaire sert de réservoir de solution. Des expériences ont été aussi réalisées avec un tube capillaire percé d'un trou millimétrique (1,4 mm dans notre cas) sans disque poreux pour former le film.

Le principe de la mesure est d'éclairer à l'aide d'une source de lumière blanche le film par le haut. Après réflexion par le film en incidence normale, la lumière est transmise d'une part à une caméra CCD reliée à l'ordinateur et d'autre part à une fibre optique située dans l'oculaire du microscope. La partie du signal réfléchi collectée par la caméra permet une visualisation directe du film. Ainsi, il est possible d'apprécier l'homogénéité du film et de voir directement les instabilités. L'autre partie de la lumière réfléchie par le film est filtrée de manière à travailler à longueur d'onde unique. L'intensité de la lumière réfléchie est ensuite récoltée par une fibre optique et amplifiée par un photomultiplicateur. L'épaisseur du film est alors calculée à partir de l'intensité réfléchie récoltée par la technique d'interférométrie.

Dans notre cas, nous cherchions à déterminer si les tubes étaient présents dans les films ou si les films étaient seulement stabilisés par les monomères d'acides gras. Pour discriminer entre ces deux possibilités, des observations directes des films ont été réalisées.

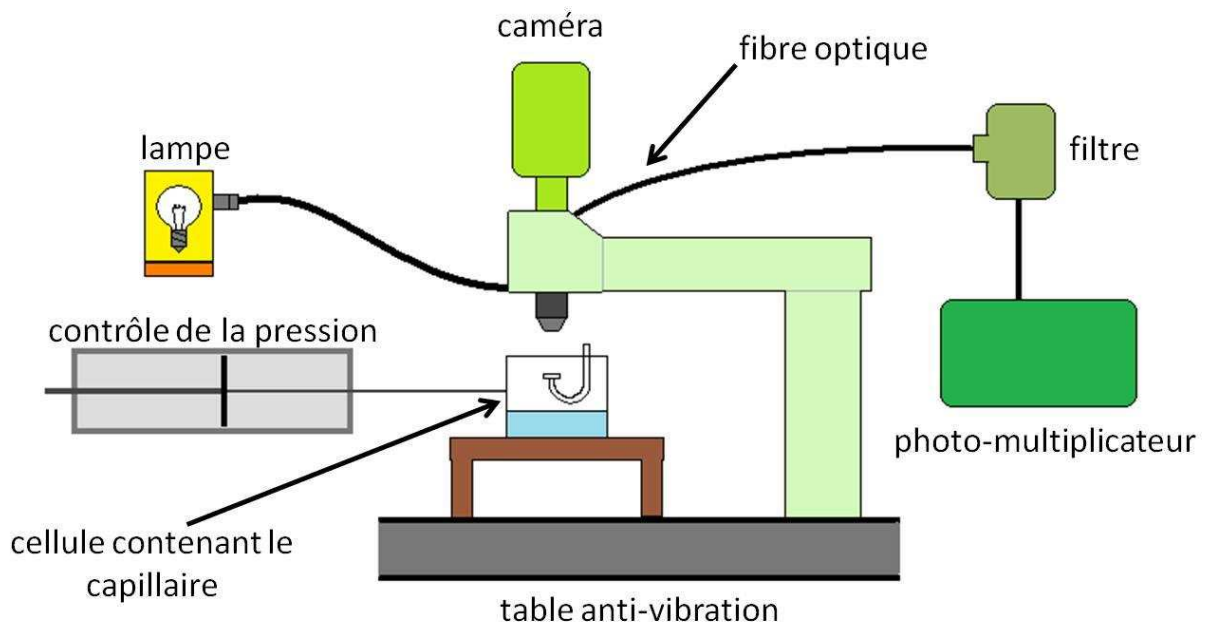


FIGURE D.2 – Représentation schématique de la balance à films.

D.4 Caractérisation de l'interface par la tension métrique à goutte

Le tensiomètre à goutte permet de mesurer la tension interfaciale. La tension de surface est calculée à partir de l'étude du contour d'une goutte présentant une symétrie de révo-

lution. Les mesures de tension de surface ont été réalisées sur un tensiomètre à goutte IT Concept (Longessaigne, France) développé à l'origine par Benjamins *et al.*⁹ dont le schéma est représenté ci-après (Figure D.3). Les échantillons ont été placés dans une cuve en quartz (4 x 2 x 1 cm) et thermostatée à 20 °C ou 25 °C suivant les expériences. La pointe d'une aiguille coudée fixée sur une seringue plonge dans la solution dans le cas de la goutte montante. Dans le cas de la goutte pendante, la pointe d'une aiguille droite fixée à une seringue contenant l'échantillon plonge dans la cuve contenant soit de l'air soit de l'hexadécane. Le tensiomètre a été utilisé en mode goutte montante ou pendante suivant les échantillons. Le volume de la goutte formée est contrôlé avec précision à l'aide d'une vis micrométrique pilotée par le moteur. Une source lumineuse éclaire la goutte dont l'image du profil est projetée sur une caméra reliée à un ordinateur. L'image est numérisée et traitée par le logiciel afin d'analyser le contour de la goutte et de calculer la tension de surface.

Avant chaque mesure, plusieurs réglages sont nécessaires afin de garantir la précision des résultats. La mise au point de l'image de la goutte, la verticalité de la seringue et la calibration de la goutte sont ainsi réglées au préalable. De plus, avant chaque expérience, le matériel utilisé (seringue, aiguille et cuve) doit être soigneusement nettoyé selon le protocole suivant. Le matériel est introduit dans une solution d'Hellmanex à 1 % (solution basique permettant d'éliminer toute trace de tensioactif) pendant 15 minutes à 60 °C. Le matériel est ensuite rincé abondamment à l'eau Millipore. Avant de procéder à la mesure de tension de surface de l'échantillon, une mesure de tension de surface de l'eau Millipore est réalisée de manière à vérifier la propreté du matériel.

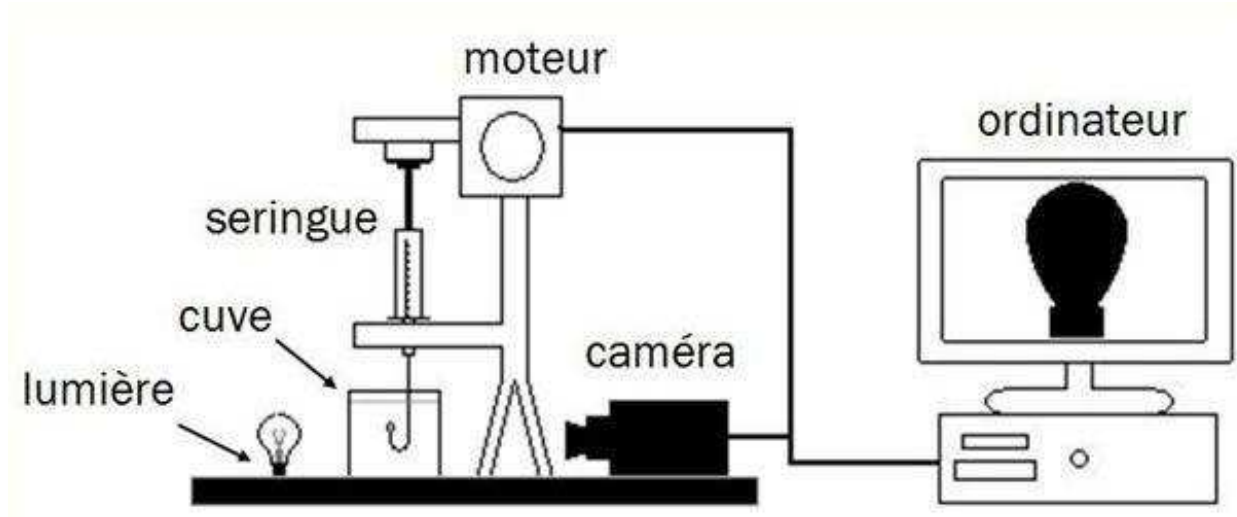


FIGURE D.3 – Représentation schématique du tensiomètre à goutte représenté en goutte montante.

Annexe E

Etude des propriétés émulsifiantes

E.1 Préparation des émulsions

Le modèle d'émulsion de référence dans notre étude est une émulsion huile dans eau avec une fraction volumique de 25 % d'hexadécane (Sigma Chemicals) (constituant la phase huile) et de 75 % de solution aqueuse d'acides gras. L'émulsification est réalisée à l'aide d'un sonicateur (Sonics Vibracell, 20 kHz, 750 W, Sonics & Materials, USA) équipé d'une microsonde de 3 mm de diamètre. Les échantillons sont irradiés en continu avec une puissance de 300 Watts pendant 3 étapes de 10 secondes séparées par 10 secondes de pause pour éviter une élévation trop importante de la température de l'émulsion. Dans tous les cas, 6 mL d'émulsion sont préparés pour être analysés avec le Quicksan.

E.2 Détermination de la taille des gouttelettes d'huile par granulométrie laser

Les émulsions sont analysées à l'aide d'un granulomètre laser MALVERN MASTERSIZER 3600 (Malvern Instruments, Orsay, France). Cet appareil détermine des distributions de tailles de particules allant de 0.1 μm à 600 μm en utilisant la diffraction d'un rayon laser monochromatique ($\lambda=633$ nm).

Selon leur taille, leur forme et leurs propriétés optiques (indices de réfraction de la particule et indice de réfraction du milieu de dispersion), les particules diffractent le rayon incident d'un certain angle θ . L'angle de diffraction est inversement proportionnel au rayon des gouttelettes. Les faisceaux diffractés aux différents angles sont détectés par une série de cellules photoélectriques concentriques. Le signal total, cumulant les signaux recueillis par chacune des cellules photoélectriques, est envoyé vers un ordinateur où il est enregistré et analysé à l'aide du logiciel d'exploitation MALVERN (Figure E.1). Ce logiciel effectue des calculs en boucle de la distribution de tailles pour obtenir le meilleur ajustement entre les valeurs expérimentales d'intensité de lumière aux différents angles et les valeurs prédites par la théorie de Mie.

Plusieurs indices définissent la distribution des tailles des gouttelettes d'huile. Nous détaillons ici l'indice que nous avons décidé d'exploiter, à savoir le diamètre moyen pondéré en volume ($d_{4,3}$, exprimé en μm) :

$$d_{4,3} = \frac{\sum_i n_i d_i^4}{\sum_i n_i d_i^3}$$

où n_i est le nombre de gouttelettes de classe i et d_i le diamètre des gouttelettes de classe i .

En suivant l'évolution de cet indice en fonction du temps, des informations sur la stabilité des gouttelettes de l'émulsion (coalescence) sont obtenues.

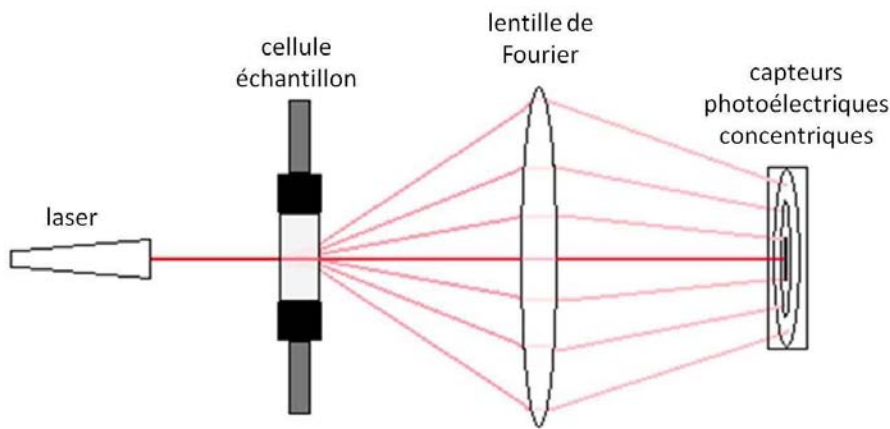


FIGURE E.1 – Schéma du fonctionnement du granulomètre laser.

E.3 Suivi du crémage des émulsions

Nous avons utilisé le Quickscan pour déterminer les cinétiques de crémage des émulsions. Les expériences ont été réalisées au Centro de Investigacion y Desarrollo en Criotecnologia de los Alimentos (La Plata, Argentine).

Le QuickScan (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, USA) est un appareil optique dont l'objectif est de caractériser des dispersions liquides en temps réel (Figure E.2). Il est composé par un capteur optique, une unité d'acquisition qui traite les données et affiche les valeurs de transmission (%T) et de rétrodiffusion en temps réel (%RD). Le principe de fonctionnement est le suivant : l'échantillon à analyser se trouve dans un tube en verre cylindrique de 8 cm avec un fond plat fermé en haut et en bas par des bouchons étanches. La source de lumière est un laser ($\lambda=800$ nm). Deux capteurs optiques synchronisés reçoivent respectivement la lumière transmise (0° , capteur de transmission), et la lumière rétrodiffusée à travers l'échantillon (135° , capteur de rétrodiffusion). L'acquisition des données se fait toutes les 0.5 secondes. Le QuickScan est équipé d'un moteur pas à pas, ainsi la tête de lecture réalise un balayage vertical du tube dans lequel se trouve l'émulsion à analyser. Le QuickScan analyse les variations du flux lumineux transmis ou rétrodiffusé sur la hauteur du tube tous

les 40 μm . L'appareil affiche à chaque instant les courbes relatives du niveau de transmission et de rétrodiffusion en fonction de la hauteur par rapport à la base du tube. Pour une dispersion stable et homogène, les profils montrent un niveau de transmission ou de rétrodiffusion uniforme et invariant dans le temps sur l'ensemble de la longueur de l'émulsion. Une instabilité physico-chimique de l'émulsion (floculation, coalescence) ou une migration des particules (sédimentation, crémage) se traduit par une variation spatiale ou temporelle du flux transmis ou rétrodiffusé par le milieu (Figure E.3). Ainsi, la stabilité des émulsions peut être évaluée.

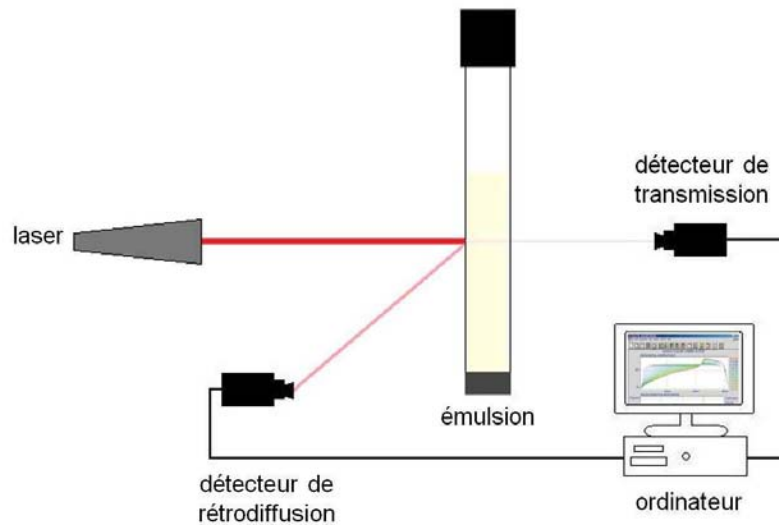


FIGURE E.2 – Schéma du fonctionnement du QuickScan.

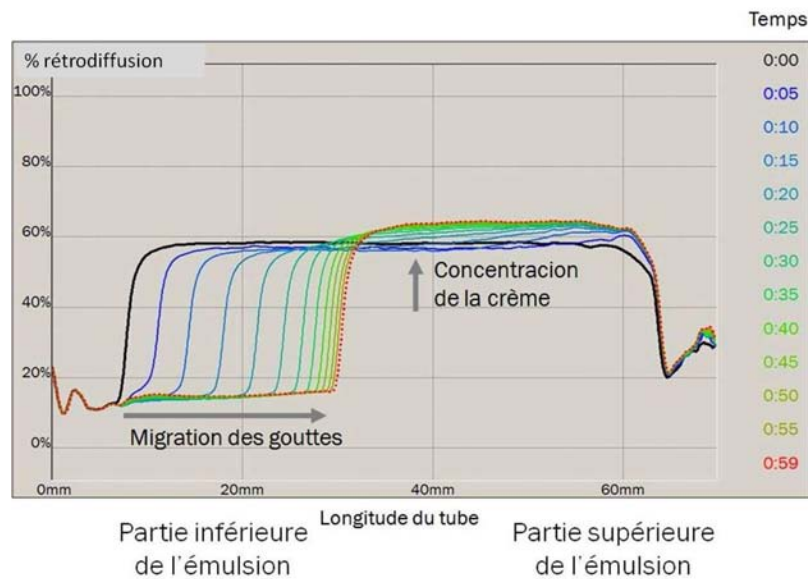


FIGURE E.3 – Profils de rétrodiffusion en fonction de la hauteur de l'échantillon et au cours du temps pour une émulsion type.

Bibliographie

- [1] O. Glatter and O. Kratky. *Small Angle Neutron Scattering*. London, academic press edition, 1982.
- [2] Lairez D. Introduction à la diffusion de neutrons aux petits angles. *Journal de Physique IV*, 103(12) :253–290, 2003.
- [3] Calmettes P. Small angle neutron scattering : sampling method and data processing. *Journal de Physique IV*, 9(10) :83–87, 1999.
- [4] Cotton J.P. Dnpa : introduction et variations sur le contraste. *Journal de Physique IV*, 9(8) :21–49, 1999.
- [5] O. Diat, D. Roux, and F. Nallet. Effect of shear on a lyotropic lamellar phase. *Journal De Physique Ii*, 3(9) :1427–1452, 1993.
- [6] J. Penfold. Neutron scattering for surface characterization. *Current Science*, 78(12) :1458–1466, 2000.
- [7] J. Penfold and R. K. Thomas. The application of the specular reflection of neutrons to the study of surfaces and interfaces. *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2(6) :1369–1412, 1990.
- [8] D. Exerowa, P.M. Kruglyakov, and R. Möbius. *Foam and foam films*. Miller, Amsterdam, elsevier edition, 1998.
- [9] J. Benjamins, A. Cagna, and E. H. LucassenReynders. Viscoelastic properties of triacylglycerol/water interfaces covered by proteins. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 114 :245–254, 1996.

Résumé

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre général de la compréhension de l'impact de la structure d'un assemblage supramoléculaire en solution sur les propriétés interfaciales et moussantes. Dans le contexte actuel de développement durable, nous avons décidé de choisir comme système modèle des assemblages obtenus à partir d'acides gras à longues chaînes et hydroxylés, qui sont des biomolécules végétales peu valorisées.

Tout d'abord, une étude a été menée en solution, à l'interface air/eau et dans les mousses à partir de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique possédant un diamètre variable avec la température. Les propriétés de ces tubes en solution varient en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu. De plus, ils s'adsorbent à l'interface air/eau, avec un comportement similaire aux tubes en solution vis-à-vis de la température. Des mousses très stables sont obtenues à partir de cet assemblage. Il est possible en jouant sur la température de moduler la stabilité des mousses en modifiant la structure de l'assemblage *in situ* dans les bords de Plateau. Il a ainsi été montré que la structure en volume est conservée à l'interface et qu'un contrôle de la stabilité des mousses était possible.

Ensuite, pour obtenir d'autres éléments d'informations sur le lien entre la structure des assemblages en volume avec leurs propriétés moussantes et émulsifiantes, une étude impliquant d'autres assemblages a été amorcée. Il a été mis en évidence que pour un assemblage donné les propriétés moussantes et émulsifiantes dépendent de la nature de l'acide gras.

Mots-clés : acides gras, assemblage supramoléculaire, propriétés interfaciales, mousse, émulsion.

Abstract

This work is part of the general understanding of the impact of the structure of a supramolecular assembly in solution on the interfacial and foaming properties. In the current context of sustainable development, we decided to choose as a model system assemblies produced from long fatty acids chain and hydroxylated derivatives, which are biomolecules from plant origin rarely used.

First, a study was conducted in bulk, at the air/water interface and in foam, using tubes made of 12-hydroxystearic acid which exhibit a temperature tunable diameter. The tubes properties in bulk vary with the physic-chemical parameters. In addition, they adsorb at the air/water interface, with a similar behavior than for tubes in bulk upon heating. Very stable foams are obtained from this assembly. It is possible to modulate the foam stability by adjusting the temperature by modifying the structure of the assembly *in situ* in the Plateau border. It has been shown that the structure in bulk governs the interfacial properties and thus the control of the foaming properties was possible.

Then, to obtain other information about the link between the structure of assemblies in bulk with the emulsifying and foaming properties, a study involving other assemblies has been initiated. Thus, it has been shown that for a given assembly, the foaming and emulsifying properties depend on the nature of the fatty acid.

Keywords : fatty acids, supramolecular assembly, interfacial properties, foam, emulsion.

ASSEMBLAGES D'ACIDES GRAS : DU VOLUME AUX INTERFACES

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre général de la compréhension de l'impact de la structure d'un assemblage supramoléculaire en solution sur les propriétés interfaciales et moussantes. Dans le contexte actuel de développement durable, nous avons décidé de choisir comme système modèle des assemblages obtenus à partir d'acides gras à longues chaînes et hydroxylés, qui sont des biomolécules végétales peu valorisées.

Tout d'abord, une étude a été menée en solution, à l'interface air/eau et dans les mousses à partir de tubes d'acides gras 12-hydroxy stéarique possédant un diamètre variable avec la température. Les propriétés de ces tubes en solution varient en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu. De plus, ils s'adsorbent à l'interface air/eau, avec un comportement similaire aux tubes en solution vis-à-vis de la température. Des mousses très stables sont obtenues à partir de cet assemblage. Il est possible en jouant sur la température de moduler la stabilité des mousses en modifiant la structure de l'assemblage *in situ* dans les bords de Plateau. Il a ainsi été montré que la structure en volume est conservée à l'interface et qu'un contrôle de la stabilité des mousses était possible.

Ensuite, pour obtenir d'autres éléments d'informations sur le lien entre la structure des assemblages en volume avec leurs propriétés moussantes et émulsifiantes, une étude impliquant d'autres assemblages a été amorcée. Il a été mis en évidence que pour un assemblage donné les propriétés moussantes et émulsifiantes dépendent de la nature de l'acide gras.

Mots-clés: acides gras, assemblage supramoléculaire, propriétés interfaciales, mousse, émulsion.

FATTY ACID ASSEMBLIES: FROM BULK TO INTERFACES

This work is part of the general understanding of the impact of the structure of a supramolecular assembly in solution on the interfacial and foaming properties. In the current context of sustainable development, we decided to choose as a model system assemblies produced from long fatty acids chain and hydroxylated derivatives, which are biomolecules from plant origin rarely used.

First, a study was conducted in bulk, at the air/water interface and in foam, using tubes made of 12-hydroxystearic acid which exhibit a temperature tunable diameter. The tubes properties in bulk vary with the physic-chemical parameters. In addition, they adsorb at the air/water interface, with a similar behavior than for tubes in bulk upon heating. Very stable foams are obtained from this assembly. It is possible to modulate the foam stability by adjusting the temperature by modifying the structure of the assembly *in situ* in the Plateau border. It has been shown that the structure in bulk governs the interfacial properties and thus the control of the foaming properties was possible.

Then, to obtain other information about the link between the structure of assemblies in bulk with the emulsifying and foaming properties, a study involving other assemblies has been initiated. Thus, it has been shown that for a given assembly, the foaming and emulsifying properties depend on the nature of the fatty acid.

Keywords: fatty acids, supramolecular assembly, interfacial properties, foam, emulsion.