

GRADUATE SCHOOL Health and Drug Sciences

Méthodes de caractérisation des interfaces

Interfaces fluides

Jean-Philippe Michel Institut Galien Paris-Saclay

Monocouches à l'interface air-liquide

- Adsorption à l'interface air/liquide
 - Films monomoléculaires de Gibbs
 - Adsorption d'un soluté amphiphile à l'interface air/liquide



- Films monomoléculaires de Langmuir
 - Etalement d'une substance insoluble à l'interface



3

Monocouches à l'interface air-liquide

- Adsorption à l'interface air/liquide
 - Films monomoléculaires de Gibbs
 - Adsorption d'un soluté amphiphile à l'interface air/liquide

- Films monomoléculaires de Langmuir
 Etalement d'une substance inseluble à l'ir
 - Etalement d'une substance insoluble à l'interface







- En fonction de leur concentration...
 - De la monocouche aux micelles



- Notion de CMC
 - Formation des micelles = solubilisation des molécules de TA

Phase isotrope



- Détermination de la CMC des tensioactifs ioniques
 - Par conductimétrie



L. Mokrushina et al., Fluid Phase Equilibria 194-197 (2002) 1077-1087

• Détermination de la CMC par fluorescence

Quenching de la fluorescence du pyrène



X-Z. Ren et al. Colloids Surf. A. 100 (1995) 165-172

- Détermination de la CMC par mesure de tension superficielle
 - Tension superficielle dynamique (DST)
 - Donne une information sur le comportement immédiat des surfactants
 - Ne prend pas en compte la diffusion, ni le réarrangement
 - Méthode de l'anneau de du Noüy
 - Méthode de la lame de Wilhelmy
 - Méthode du volume de goutte

- Détermination de la CMC par mesure de tension superficielle
 - Tension superficielle à l'équilibre (EST)
 - Donne des informations sur la capacité tensioactive maximale du surfactant
 - Sa valeur est déterminée en enregistrant la valeur de tension superficielle en fonction du temps.
 - Méthode de la lame de Wilhelmy
 - Méthode de la goutte pendante/émergente

Méthode de la lame de Wilhelmy



Effet de la température sur la tension superficielle

$$\mathcal{G}(T) = \mathcal{G}(T_0) \Big[1 - b \Big(T - T_0 \Big) \Big]$$

- Eau: γ = 72,0 mN/m à 25° C; γ = 72,8 mN/m à 20° C



Source: Handbook of Physics, 1975

• Effet des sels sur la tension superficielle



Figure 5. Surface tension measurements of water and a sodium chloride solution with a concentration of 1 M.

M. Hoorfar et al, Langmuir 22 (2006) 52-56

Détermination de la tension superficielle d'équilibre

Exemple: Triton X100



Plus la concentration est élevée, plus l'équilibre est atteint rapidement

Détermination de la concentration micellaire



- Formes des micelles
 - Micelles sphériques



- Micelles cylindriques

heptaethylene glycol monotetradecyl ether



 Relation entre concentration du TA et dimension des micelles



Assemblage micellaire du SDS à la concentration de 50, 100, 200 et 250 mM

Plus la concentration en SDS augmente au-delà de la cmc, plus les structures grossissent et s'allongent.

 Relation entre concentration en sel et forme des micelles de SDS



A. Chaudhuri et al. BBRC, 390 (2009) 728-732

- Relation entre CMC et assemblages complexes de tensioactifs
 - Notion de double CMC



SM. Gruner PNAS 82 (1985) 3665 D. Myers *in* Surfactant Science & Technology, VCH, NY, 1992

- Structure chimique des TA et organisation supramoléculaire
 - Relation entre paramètre d'empilement critique et formation des structures micellaires

$$CPP = \frac{v_h}{a_0 l_c}$$

 a_0 = aire moyenne par tête l_c = longueur de la chaine v_h = volume chaine hydrocarbonée



MiDiFABS, vol 4, 2005



Revenons à la mesure de tension superficielle



• Exemples de comportements interfaciaux



Effet d'impuretés sur l'évaluation de la CMC

 La solubilisation d'impuretés dans les micelles provoque une augmentation de la tension superficielle.



R. Rodriguez et al. Eur. J. Pharm. Biopharm., 20 (2003) 429-438

Pouvoir tensioactif

- Efficacité (*effectiveness* au sens de *puissance*): l'intensité de l'abaissement de la tension superficielle à la CMC ($\Delta\gamma$ ou π_{cmc})
- **Efficience** (*efficiency*, efficacité au sens de *rendement*)
 - la valeur du logarithme négatif de la concentration nécessaire pour abaisser la tension superficielle de 20 mN/m: $pC_{20} = -\log C_{20}$



Méthodes de la goutte

- volume de goutte, forme de goutte
 - Formation progressive de la goutte de la phase 1 à la sortie d'un capillaire plongé dans la phase 2.



- Méthodes fondées sur l'équation de Laplace
 - Pour une goutte sphérique: $P_{\text{int}} P_{ext} = \frac{2g}{R}$
 - P_{int}-P_{ext} est la différence de pression mesurée entre l'int. et l'ext. de la goutte
 - R est le rayon de courbure
 - Pour une goutte non sphérique, de rayons de courbure R_1 et R_2 :

$$P_{\text{int}} - P_{ext} = \mathcal{G}_{\dot{e}}^{\mathcal{R}} \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \overset{\ddot{o}}{\varnothing}$$



- Méthode du volume de goutte
 - Tension interfaciale dynamique



$$g_i = \frac{v(r_1 - r_2)g}{pd}$$

Mesure de très faibles tensions interfaciales

- Méthode de la goutte tournante
 - Mesure de tensions interfaciales de l'ordre de 10 à 10⁻⁵ mN/m
 - Application à la formulation de microémulsions
 - Injection d'une gouttelette d'huile dans un tube capillaire horizontal contenant la phase aqueuse et pouvant tourner autour de son axe



Evolution de la gouttelette lors de la rotation du tube

VONNEGUT

Mesure de très faibles tensions interfaciales

Tensiomètre à goutte tournante



Mesure de très faibles tensions interfaciales

Tensiomètre à goutte tournante









Méthode de la goutte pendante

- Permet de mesurer la tension superficielle en fonction de la géométrie d'une goutte.
- La goutte formée est soumise à deux forces
 - Celle qui résulte de la gravité
 - Celle qui résulte de la tension superficielle
- qui lui imposent une géométrie particulière, reliée par la loi de Laplace à la tension superficielle



 $\Delta P_{(t)} = \frac{2\gamma_{(t)}}{R}$

- Méthode de la goutte pendante
 - Lorsque le liquide émergeant est pur:
 - $\gamma = \text{constante} = \gamma_{\text{équi}}$
 - Lorsque le liquide contient un tensioactif, le transfert de ce tensioactif affecte la tension interfaciale
 - a: état initial de la goutte
 - b: expansion rapide de la goutte
 déplétion en tensioactif
 - c: adsorption du tensioactif



Application à la formulation

 Effet de tensioactifs sur l'interface dichlorométhaneeau



Détermination des propriétés visco-élastiques de l'interface



$$E = \frac{dg}{d\ln A}$$

Elasticité de Gibbs

 La méthode consiste à imposer une variation périodique (sinusoïdale) de l'aire de l'interface dA (t)

Déformation de l'aire de l'interface: dA_0/A

$$\Delta A(t) = \Delta A_0 \cos \omega t$$
$$\Delta \gamma(t) = \Delta \gamma_0 \cos \omega t + \delta$$

$$E' = \frac{A\Delta\gamma_0}{\Delta A_0} \cos\delta \quad E'' = \frac{A\Delta\gamma_0}{\Delta A_0} \sin\delta$$



Monocouches à l'interface air-liquide

Adsorption à l'interface air/liquide

Films monomoléculaires de Gibbs

• Adsorption d'un soluté amphiphile à l'interface air/liquide



- Films monomoléculaires de Langmuir
 - Etalement d'une substance insoluble à l'interface





Irving Langmuir 1881-1957

- Films monomoléculaires formés de molécules insolubles
 - Exemples: cholestérol, phospholipides, acides et alcools gras, acide polylactique ou copolymère lactique-glycolique

$$\mathsf{P} = \mathcal{G}_{H_2O} - \mathcal{G}_F$$

Répulsion entre molécules (expansion)



Attraction entre molécules
Monocouches de Langmuir

- Changement d'état physique au sein d'une monocouche
 - Evolution de la pression de surface et de l'aire occupée par les molécules dans des conditions de compression dynamique

Barrière de compression



Mesure dynamique de la pression de surface

Balance à film de Langmuir





Mesure dynamique de la pression de surface

Balance à film de Langmuir



Isotherme π - A

Transition LE-LC



- Formation de petits domaines cristallins de 100 Å de diamètre (nucléation)
 - Co-existence des domaines cristallins avec des domaines fluides
- Augmentation progressive des domaines cristallins (1 mm de diamètre)
- Fusion des domaines (10 mm) lors de la transition LC-phase solide

Isotherme π - A

Effet de la température



MacDonald RC, in Vesicles (Ed. M. Rosoff), Dekker, NY. pp.3-48, 1996



Bordi F. et al, Colloids Surf B. 61 (2008) 304-310

Isothermes π - A

Absence de transition et différences de compressibilité latérale



HE. Ries & H. Swift. Colloids Surf, 40 (1989) 145-165

HE. Ries & H. Swift. JCIS 89 (1982) 245-256

Facteurs déterminant le type de monocouche

- Nature de la partie hydrophobe
 - Acide gras CH₃(CH₂)_nCOOH

π **[mN/m]**



Area [A²/molecule]



Gaines Jr, Insoluble monolayers at liquid-gas interfaces, 1966.

- Effet du groupement polaire
 - Solvatation
 - OH: expansion de la monocouche
 - COOH: condensation de la monocouche

- Charge électrique
 - expansion de la monocouche

• Effet du groupement polaire

- Cas des bolaamphiphiles
 - 1 queue hydrophobe pour 2 têtes polaires
 - Film dans l'état liquide expansé
 - » L'aire occupée par les molécules limite la condensation



- Effet de la nature de la sous-phase
 - Diminution du pH:
 - Film d'acides carboxyliques
 - » Condensation du film

- Film d'amines
 - » Expansion du film



- Effet de la nature de la sous-phase
 - Présence d'un sel de calcium
 - Film d'acide carboxylique
 - » Complexation des groupements acides
 - Condensation de la monocouche
 - Présence de NaCl
 - Réduction de la répulsion électrostatique entre les groupes polaires



Effet de la nature de la sous-phase





```
Température : 22 \pm 1° C
```

pH (eau) : 6.5 pH (HEPES): 6.5



HEPES: 4-(2-hydroxyethyl)-1piperazineethane sulfonic acid

Adsorption à l'interface air/liquide: films mixtes

Composants n'interagissant pas entre eux



A. Kasselouri et al. JCIS 180 (1996) 384-397

Adsorption à l'interface air/liquide: films mixtes

Composants n'interagissant pas entre eux

- ségrégation



llôts ou ségrégation complète

$$\Delta A^{exc} = A_{12} - (X_1A_1 + X_2A_2) = 0$$

$$\Delta G^{exc} = \int_0^{\pi} \Delta A^{exc} d\pi = 0$$

$$\Delta G^{mix} = \Delta G^{exc} + RT(X_1lnX_1 + X_2lnX_2)$$

$$= RT(X_1lnX_1 + X_2lnX_2)$$



Adsorption à l'interface air/liquide: films mixtes



Interaction attractive $\Delta G^{exc} < 0$, $\Delta G^{mix} < 0$

Interaction répulsive $\Delta G^{exc} > 0, \ \Delta G^{mix} < 0 \text{ ou}$ $\Delta G^{exc} > 0, \ \Delta G^{mix} > 0$



Adsorption à l'interface air/liquide: films mixtes



Composants miscibles

A. Kasselouri et al. JCIS 180 (1996) 384-397

Exemple d'analyse d'un système



X = fraction molaire

Aire du mélange théorique

$$A_{12}^{th\acute{e}orique} = X_1 A_1 + X_2 A_2$$

 $X_2 = 1 - X_1$

Dans l'exemple, 3 fractions molaires:

L'aire d'excès peut être négative ou positive

Exemple d'analyse d'un système

Interprétation: les aires expérimentales suivent-elles la règle d'additivité?



Molar fraction of compound 1

Le trait pointillé représente l'aire théorique, calculée selon la règle d'additivité

Cas 1: les points expérimentaux se placent au-dessus de la droite théorique: $\Delta A^{exc} > 0$. La monocouche est plus expansée qu'elle ne devrait: empêchement géométrique ou répulsion entre les molécules?

Cas 2: les points expérimentaux se placent en-dessous de la droite théorique: : $\Delta A^{exc} < 0$. La monocouche est plus condensée qu'elle ne devrait: est-ce dû à une meilleure organisation géométrique (paramètre d'empilement), ou à une attraction entre les molécules ?

• Exemple d'analyse d'un système

Interprétation: Les ΔA^{exces} positifs ou négatifs sont-ils dus à l'organisation géométrique ou à une interaction favorable ou défavorable entre les constituants du mélange?

Pour répondre à la question, il faut calculer l'énergie libre (Gibbs) d'excès, pour différentes pressions: si $\Delta G_{exc} > 0$, l'interaction est défavorable (interactions répulsives), $\Delta G_{exc} < 0$, l'interaction est favorable (interactions attractives).

$$\mathsf{D}G_{exc\dot{e}s}^{\rho} = \int_{0}^{\rho} (A_{12}^{Exp} - X_{1}A_{1} - X_{2}A_{2})d\rho$$

A noter, les notions de répulsion et attraction ne sont pas forcement associées ici à des interactions de type électrostatique.

• Exemple d'analyse d'un système

Dans l'exemple ci-dessous, la substance active (DCTN) en mélange avec un phospholipide (DOPC) forme des monocouches très expansées (à gauche). Cependant, le calcul de $\Delta G^{excès}$ (à droite) montre que l'interaction n'est pas répulsive; Au contraire, elle est légèrement attractive à toutes les pressions et toutes les fractions molaires.



• Exemple d'analyse d'un système

L'énergie libre de mélange est la somme de l'énergie libre d'excès et de l'énergie libre du mélange idéal. Pour que deux composants soient considérés miscibles, l'énergie libre de mélange doit être négative. Elle peut l'être même si $\Delta G^{excès}$ est positif.

$$\mathsf{D}G_{m}^{\rho} = \int_{0}^{\rho} (A_{12}^{Exp} - X_{1}A_{1} - X_{2}A_{2})d\rho + RT(X_{1}\ln X_{1} + X_{2}\ln X_{2})$$

DCTN et DOPC sont miscibles.



Filho et al. Colloids Surf. A. 358 (2010) 42-49

Isothermes π - A

Module de compressibilité (1/C_s)



Surface pressure (mN/m)

Techniques couplées à la balance de Langmuir



Analyse morphologique des monocouches

Microscopie à l'angle de Brewster

- Fondée sur la propriété de réflectivité de la lumière à l'interface



Analyse morphologique des monocouches



Analyse structurale des monocouches

Diffraction des rayons X à incidence rasante



Application à l'absorption d'un API

- Analyse structurale de la monocouche
 - Phospholipide-porphyrine

Monocouche (π=15 mN/m)	Position Q (nm ⁻¹)	$\frac{I_{MIXTURE}}{I_{DSPC}}$	FWHM <i>w</i> (nm ⁻¹)
DSPC	14.54	1	0.09
DSPC/ <i>m-</i> THPP	Disparition du pic de diffraction	-	-
DSPC/ <i>m</i> -TPP(Glu) ₄	14.58	0.03	0.11



Application à l'interaction API-CD

• Complexation du rétinol par la β-cyclodextrine



A. Angelova et al. J. Colloid Interface Sci. 212 (1999) 280-285

Méthodes de transfert de monocouches sur support

- Prélèvements Langmuir-Blodgett
 - Transferts de monocouches ou sur support solide



Prélèvement vertical





mesure des angles de contact SEM-TEM STM-AFM Ellipsométrie FTIR QCM-D





Méthodes de transfert de monocouches sur support

Prélèvements Langmuir-Schaefer

 Transferts de monocouches ou de multicouches sur support solide



Microbalance à cristal de quartz (QCM-D)



Microbalance à cristal de quartz (QCM-D)



Interaction entre des liposomes portant des molécules glycoconjuguées et la concanavaline A



Microbalance à cristal de quartz (QCM-D)

Interaction entre des liposomes portant des molécules glycoconjuguées et les cellules cibles



A. Makky, K. Daghildjian et al. BBA 1818 (2012) 2831-2838

Méthodes de caractérisation des films LB

mesure des angles de contact SEM-TEM STM-AFM



Interface supérieure-air épaisseur film: 0,3μm (taille image 50μm)



Monocouche smectique sur substrat MoS₂ (taille image: 14nm x 14nm)

J.P. Michel, thèse 2002

Ellipsométrie FTIR Réflexion des neutrons/RX ...

O. Freudenthal, thèse 2016

Méthodes de caractérisation des films LB

Exemples de morphologies observées avec l'AFM

- Bicouches planes formées à partir de liposomes



C. Thorne, stage M2



POPC-Cholesterol-stéarylamine-DSPE-PEG (5%) (7:2:1)