

Table des matières

Table des matières	3
Introduction générale	6
Chapitre I : Etude bibliographique	7
I. Les matériaux mésoporeux	8
I. 1. Historique	9
I. 2. Classement.....	9
I. 2. 1. M41S.....	10
I.2. 2. FSM-16.....	10
I. 2. 3. SBA-15.....	10
I. 2. 4. MMS.....	11
I. 2. 5. PCH.....	12
I. 3. 6. SMS.....	12
I. 3. Mécanismes de formation.....	13
I. 4. Interactions.....	14
II. Les tensioactifs	15
II.1. Qu'est-ce qu'un tensioactif ?	16
II. 2. Classification.....	17
II.2.1. La nature de leur tête polaire.....	17
a. Les tensioactifs non ioniques.....	17
b. Les tensioactifs anioniques.....	17
c. Les tensioactifs cationiques.....	17
d. Les tensioactifs amphotères.....	18
II.2.2. La longueur de la partie lipophile.....	18
II.2.3. Leur origine, naturelle ou synthétique.....	18
III. Les Phospholipides	19
III.1. Qu'est-ce qu'un phospholipide?.....	19
III.2. Classification.....	19
III.2.1. Glycérophospholipides.....	19
III.2.2. Phosphosphingolipides	21
III.3. Sources des phospholipides.....	21
III.4. Facteurs influençant les structures de phase des membranes lipidiques.....	23
III.4.1. Structure chimique.....	23
III.4.2. Température, pression et PH.....	24
III.4.3. Le solvant.....	25

IV. Position de l'étude	26
V. Références bibliographiques	27
Chapitre II : Matériel et méthodes de caractérisation	30
I. Synthèse des mésophases	31
I.1. Réactifs	31
I.2. Méthodes.....	32
I.3. Nomenclature des échantillons et conditions de synthèse.....	33
II. Activation des matériaux mésoporeux – Calcination	34
III. Méthodes de caractérisation	35
III.1. DRX.....	35
III.2. Analyse thermogravimétrique ATG.....	36
III.3. L'adsorption/ désorption d'azote à 77K.....	37
III.3.1. Les différents types d'isotherme de physisorption.....	38
III.3.2. Calcul du volume poreux (mésoporeux).....	40
III.3.3. Calcul de la surface spécifique : la théorie BET.....	41
III.3.4. Calcul de la surface – Courbe t.....	43
a. Isotherme de référence expérimentale pour le tracé de la courbe t.....	45
b. Courbe de référence théorique pour le tracé de la courbe t	45
c. Utilisation de la courbe t.....	46
III.3.5. Calcul de la taille des pores.....	46
a. Méthode de Gurvitch.....	46
b. Méthodes dérivées de l'équation de Kelvin.....	47
III.4. Microscopie à balayage (MEB).....	47
III.5. Spectrométrie de masse (MS).....	48
Conditions d'analyse.....	48
V. Références bibliographiques	49
Chapitre III : caractérisation des phospholipides utilisés	51
I. Identification des phospholipides par spectroscopie de masse	52

I.1. Phospholipides de référence	52
I.1.1. Phosphatidylcholine (PC)	52
I.1.2. Phosphatidylethanolamine (PE)	54
I.1.3. L'acide phosphatidyque (PA)	55
I.2. Phospholipides divers	57
I.2.1. Effet de la pureté	58
I.2.2. Effet de la source	62
I.2.3. Effet de l'hydrogénation	67
II. Références bibliographiques	71
Chapitre IV : Optimisation des conditions de synthèse des matériaux	72
I. Effet du temps de condensation	73
II. Effet de la nature du solvant	74
II.1 Les synthèses avec 5 % de lécithine.....	79
II.2 Les synthèses avec 12 % de lécithine.....	84
III. Effet de la concentration du phospholipide	87
III.1. Les synthèses au rapport $\text{EtOH}/(\text{EtOH}+\text{H}_2\text{O}) = 0.9$	87
III.2. Les synthèses avec un rapport $\text{EtOH}/(\text{EtOH}+\text{H}_2\text{O})$ entre 0.6 et 0.4.....	90
IV. Références bibliographiques	95
Chapitre V : Effet des différents phospholipides	96
I. Effet de la pureté de la phosphatidylcholine	97
II. Effet de la source de phosphatidylcholine	102
III. Effet de l'hydrogénation	105
IV. Références bibliographiques	112
Conclusion générale	113
Références bibliographiques	116

Le mémoire est divisé en cinq chapitres :

- dans le premier chapitre, nous présentons une synthèse bibliographique portant sur les matériaux poreux organisés et leurs différents modes d'obtention, ainsi que sur les propriétés des phospholipides, que nous avons choisis comme agents structurants de la silice,
- le deuxième chapitre est consacré à la description de différentes installations utilisées, les protocoles d'essais et techniques de caractérisations employées ; ainsi que les propriétés des supports et des précurseurs utilisés,
- le troisième chapitre est dédiée à une étude expérimentale systématique portant sur la caractérisation par spectroscopie de masse des phospholipides utilisés, choisis de par leur différentes sources d'origine, degrés de pureté et taux d'hydrogénation,
- le quatrième chapitre est dédié à l'étude de l'effet de différents paramètres de synthèse sur la formation et les propriétés de silices mésoporeuses structurées par les phospholipides,
- dans le cinquième et dernier chapitre, nous avons présenté de nombreux essais portant sur l'élaboration de silices mésoporeuses synthétisées en présence de différents phospholipides.

Une conclusion générale résumera les avancées permises par notre étude.

Chapitre I : Etude bibliographique

Dans ce premier chapitre, nous présenterons une synthèse bibliographique en commençant par les procédés classiques de formulation des matériaux mésoporeux, suivie par définition et classification des tensioactifs utilisés comme agent structurant de ces derniers. Ensuite, nous aborderons les définitions et compositions des phospholipides qui sont utilisés comme tensioactifs pour structurer les matériaux mésoporeux.

I. Les matériaux poreux

Comme leur nom l'indique, les matériaux inorganiques poreux sont composés d'atomes liés les uns aux autres de façon à former des interstices. Le diamètre (\emptyset) de ces derniers permet de faire une première classification des matériaux en trois catégories selon la classification de IUPAC (l'International Union of Pure and Applied Chemistry) [1]. Les différentes classes sont: macroporeux ($\emptyset > 500 \text{ \AA}$), mésoporeux ($20 < \emptyset < 500 \text{ \AA}$) et microporeux ($\emptyset < 20 \text{ \AA}$). Mais à l'intérieur même de chacune de ces subdivisions, il existe de nombreux autres points permettant de distinguer entre les différents matériaux. Pour n'en citer que quelques uns, nous avons :

- la composition inorganique (ex : AlPO_4 , GaPO_4 , SiO_2 , ...).
- le degré d'ordre (les matériaux peuvent être amorphes, semi cristallins, cristallins).
- la structure géométrique lorsque le matériau est ordonné (ex : cubique, hexagonale, lamellaire).
- la forme des pores (ex : sphères, canaux).

L'étude présentée dans ce manuscrit concerne la synthèse et la caractérisation des matériaux mésoporeux. Il nous apparaît donc nécessaire de situer ce travail par rapport à la vaste recherche actuelle sur les solides mésostructurés. Dans la première partie de ce chapitre, nous allons commencer par rappeler l'histoire de ces matériaux, leurs synthèses puis leurs applications.

I. 1. Historique

La première synthèse de matériaux mésoporeux ordonnés a été décrite en 1971, par Chiola et al. [2], dans un brevet sur la synthèse de silice à faible densité réalisée par hydrolyse et condensation du tétraéthylorthosilicate (TEOS) en présence d'un tensioactif cationique. Cependant, à cause d'un manque d'analyses, les propriétés notables de ces composés ne sont pas remarquées [3]. Au début des années 90, le groupe japonais de Kuroda réussit à synthétiser un matériau mésoporeux à partir d'une argile nommé Kanémite possédant des couches de silices lamellaires [4, 5]. L'échange ionique entre les ions alcalins de l'argile et les molécules tensioactives, molécules hydrophobes pourvues d'une tête hydrophile chargée positivement, permet la réorganisation des couches de silices en structures hexagonales ordonnées. En 1992, une équipe de recherche de la compagnie Mobil Oil a réalisé des études détaillées sur la synthèse et la caractérisation de certains matériaux mésoporeux par procédé sol-gel. [6, 7].

Depuis leur développement, les matériaux mésoporeux, sont devenus un domaine de recherche très actif en regard de leurs applications potentielles dans différents domaines.

I. 2. Classement

Jusqu'ici, plusieurs familles des matériaux mésoporeux ont été synthétisées.

I.2.1. M41S :

Les chercheurs de *Mobil Research and Development Corporation* [6, 7] parviennent à synthétiser la famille des matériaux mésoporeux ordonnés de composition SiO_2 avec des diamètres de pores compris entre 1,5 nm et 10 nm. Selon les produits de départ et la variation des conditions de synthèse, différents matériaux mésoporeux (Figure I.1) avec une structure ordonnée sont formés:

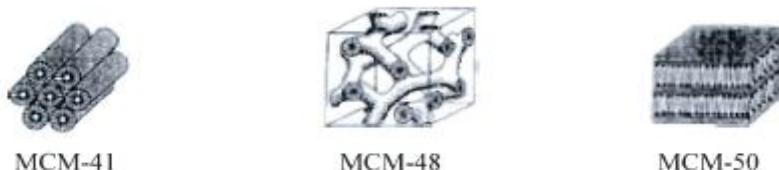


Figure (I.1) : Structure des principaux membres de la famille M41S

- MCM-41 : structure hexagonale avec des pores unidimensionnels.
- MCM-48 : structure cubique avec un système de pores tridimensionnel.
- MCM-50 : structure lamellaire .

I.2.2. FSM-16 : (folded sheet materials)

En **1993**, *Inagaki* décrit l'interaction des couches d'un acide silicique cristallin, la kanemite ($\text{NaHSi}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dans un travail sur la méthode de synthèse des matériaux mésoporeux [5, 8]. L'échange ionique de cations de sodium par les cations organiques comme l'alkyltriméthylammonium suivi par une calcination donne lieu à la formation d'une phase hexagonale bien ordonnée. La formation se fait par condensation des couches polysilicates pour former une structure poreuse représentée schématiquement dans la figure (I.2).

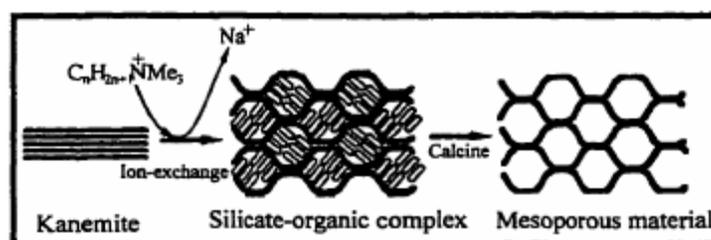


Figure (I. 2): Représentation schématique de la formation du FSM-16.

I.2.3. SBA-15: (Santa Barbara Amorphous)

En **1998** *Stucky* [9] a découvert un nouveau matériau mésoporeux hexagonal synthétisé avec P123[EO20-PO70-EO20], figure (I.13), qui présente des parois plus épaisses (31 et 64 Å) [10], des pores plus larges ($>50\text{Å}$) [11] et une grande stabilité thermique et hydrothermique comparé au M41S [12].

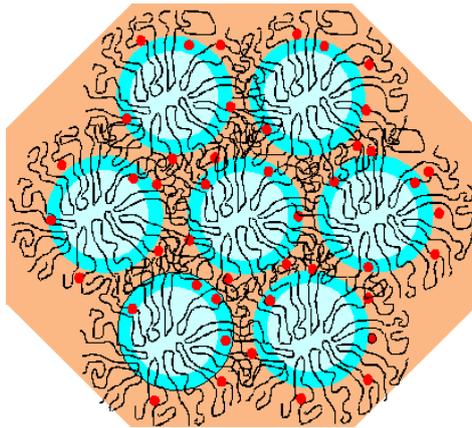


Figure (I. 3): Représentation schématique de la structure des matériaux de type SBA-15.

I.2.4. MMS : (mesoporous molecular sieves)

En 1994, *Pinnavaia* en utilisant le tensioactif dodécylamine a synthétisé une nouvelle famille nommée MMS qui contient deux types de matériaux mésoporeux siliciques (hexagonal mesoporous materials HMS et Michigan State University Materials MSU) [13] selon une interaction de type S0I0. Cette synthèse implique des conditions neutres utilisant une amine organique non protonée ou un tensioactif oligomérique non ionique (S0) comme agent structurant. Il faut noter que dans de telles conditions les deux espèces, organique et inorganique, ne sont pas strictement neutres. Les liaisons hydrogène sont intégrées par l'attraction entre charge partielle inorganique et espèces organiques. Le matériau MMS a des parois des pores plus épaisses, une stabilité thermique plus élevée et une taille cristalline plus petite que MCM-41.

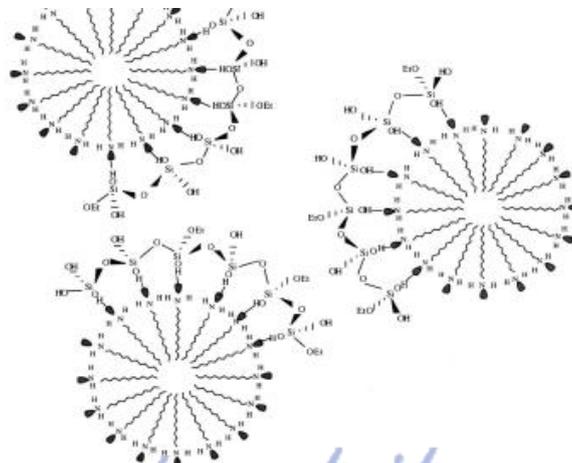


Figure (I. 4): Représentation schématique de la structure des matériaux de type HMS.

1.2.5. PCH : (porous clay heterostructures)

En 1995, *Pinnavaia* [14] a utilisé l'agent structurant CTABr, la dodécylamine et la saponite pour synthétiser un nouveau matériau mésoporeux nommé PCH [15] figure (I.5).

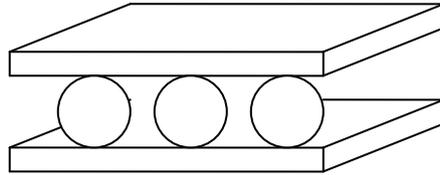


Figure (I. 5): Représentation schématique de la structure des matériaux de type PCH.

1.2.6. SMS: (Sponge mesoporous silica)

La première synthèse de ce type de matériaux a été publiée en 2005 par **A. Galarneau** (Equipe MACS, Université de Montpellier 2), par utilisation d'une micelle mixte lécithine/dodécylamine en milieu eau/éthanol qui a permis l'obtention d'une structure cubique (figure I.6) [16-18].

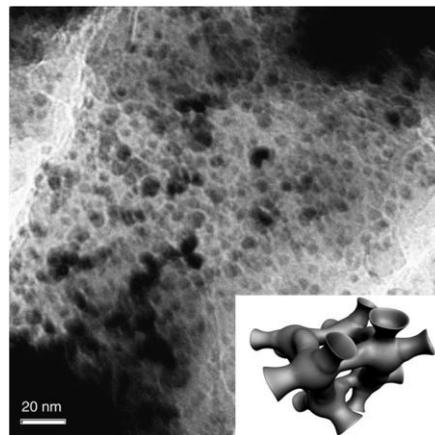


Figure (I. 6): Photo MET représentant la structure cubique. En encadré : représentation schématique de la structure des pores des SMS.

I. 3. Mécanismes de formation

En 1971, Chiola et al. [2] décrivaient le premier brevet sur la synthèse de silice à faible densité réalisée par hydrolyse et condensation du tétraéthylorthosilicate (TEOS) en présence d'un tensioactif cationique. Cependant, à cause d'un manque d'analyses, les propriétés notables de ces composés ne sont pas remarquées [3].

En 1992, les chercheurs de Mobil ont réalisé des études détaillées sur la synthèse et la caractérisation de certains matériaux mésoporeux [6, 7]. Des matériaux de symétrie hexagonale (MCM-41), cubique (MCM-48) et lamellaire (MCM-50) ont été obtenus par l'assemblage d'une phase inorganique (silicate) et d'une phase organique micellaire dans des conditions hydrothermiques. Les tensioactifs, organisés sous forme de micelles, jouent le rôle d'agent structurant et la partie inorganique interagit à l'interface des micelles dispersées en solution. Lors de la condensation, les micelles s'allongent et s'agrègent pour former un réseau ordonné. La phase organique est ensuite éliminée par calcination à 550°C, ce qui permet de libérer la porosité.

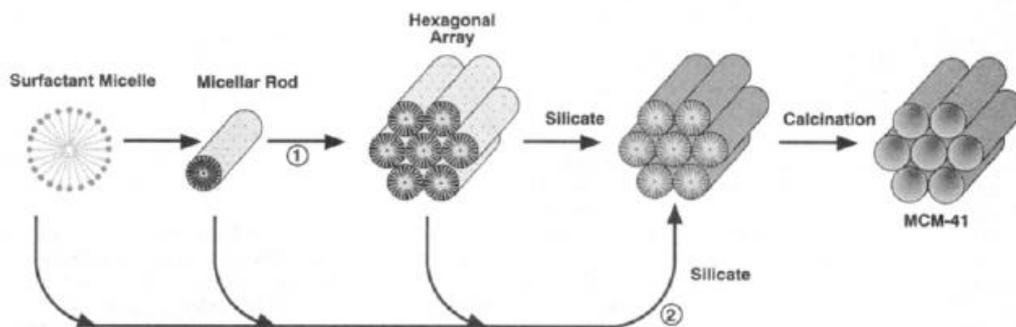


Figure (I. 7): Mécanisme de synthèse de la MCM-41 proposé par Mobil [6].

La figure (I.7), représente les deux mécanismes de synthèse proposés par les chercheurs de Mobil en se basant sur la chimie du tensioactif : (1) la mésophase liquide est formée avant l'addition des espèces silicatées ; (2) le silicate influence la formation de cette phase cristal-liquide. Le mécanisme LCT (Liquid Crystal Templating) propose que la silice mésoporeuse se forme à l'intérieur d'une phase cristal liquide. Le point important est que les micelles, et non les molécules isolées, agissent en tant que précurseurs à la formation de la mésostructure. Le produit obtenu possède un squelette silicaté vide; la condensation du silicate n'est pas le facteur dominant dans la formation de la structure mésoporeuse.

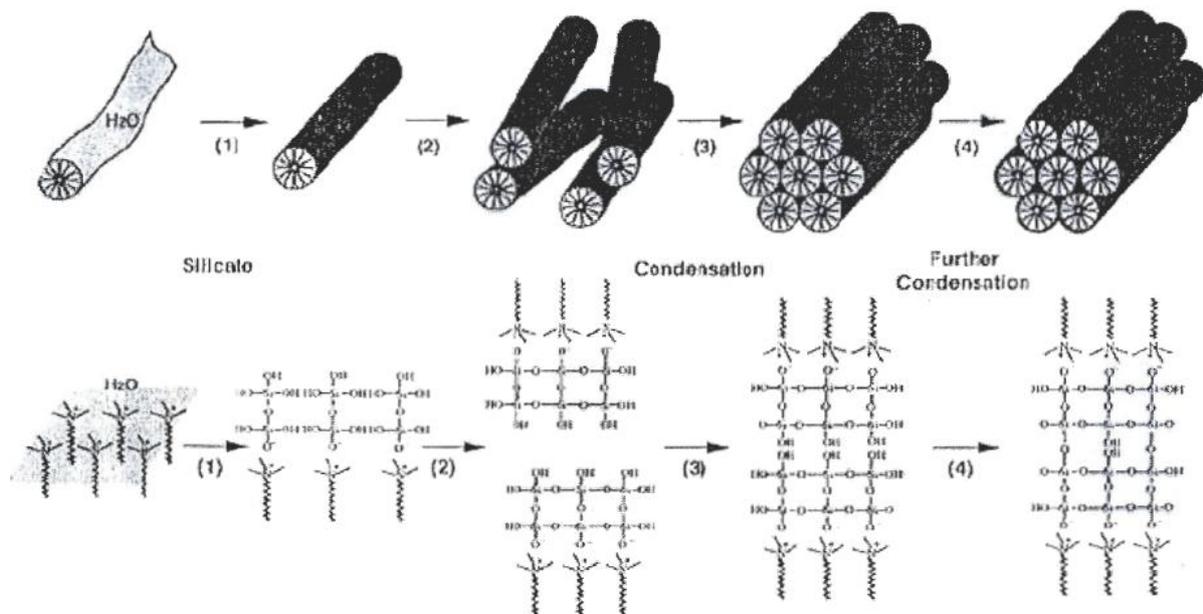


Figure (I. 8): Mécanisme de synthèse de la MCM -41 proposé par Davis et al.[19]

Selon Davis et al. (figure (I.8)) [19], des micelles cylindriques se forment au hasard, puis, au contact d'oligomères de silicates, elles conduisent à la formation de micelles cylindriques isolées, entourées de deux ou trois couches de silice. La condensation basique entre silicates de cylindres voisins explique l'arrangement hexagonal des cylindres. Un temps ou une température de synthèse plus élevés favorisent la condensation des silanols et ainsi améliore la stabilité du matériau.

Le groupe de Stucky [20] a étudié divers tensioactifs (cationiques, anioniques, à deux chaînes hydrocarbonées hydrophobes et de zwitterions) et a élaboré un mécanisme d'autoassociation des précurseurs de silice et des molécules de tensioactifs au cours duquel une phase lamellaire apparaît, puis se transforme progressivement en une phase hexagonale.

I.4. Interactions

La condition fondamentale de construction de ces matériaux est l'existence d'une interaction entre le gabarit et le précurseur inorganique. Les matériaux ainsi obtenus diffèrent selon la nature du tensioactif, en particulier s'il s'agit de molécules de tensioactif chargées ou non. Ainsi les interactions entre le tensioactif (noté S) et les silanols de surface (notés I) seront de type électrostatique dans le cas d'une molécule de tensioactif chargée (Figure (I.9)) :

- (S⁻, I⁺) : on utilise des tensioactifs anioniques qui interagissent avec des espèces inorganiques cationiques pour diriger la structure.

- (S^+ , X^- , I^+) : les molécules tensioactives dirigeant la structure et les espèces inorganiques sont chargées positivement et des anions assurent le couplage électrostatique entre elles.
- (S^- , X^+ , I^-) : inverse du cas précédent.
- (S^0 , I^0) : on utilise un gabarit neutre, par exemple des amines primaires, ce qui offre l'avantage de pouvoir travailler à pH neutre. L'interaction entre le matériel inorganique et le gabarit se fait alors par l'établissement de liaisons de Van der Waals et de liaisons H.

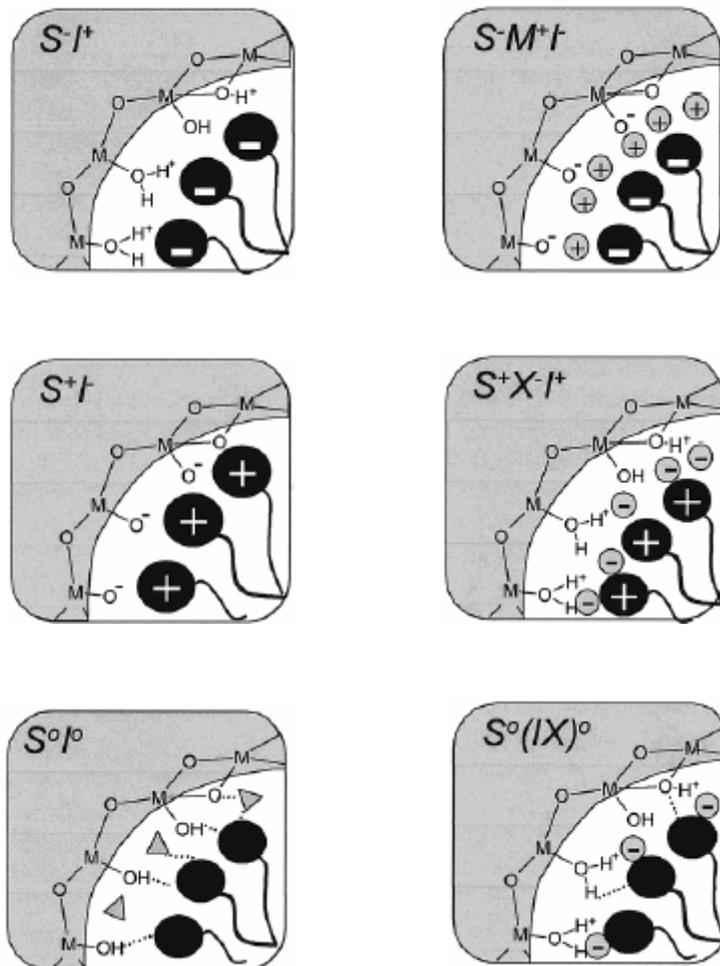


Figure (I. 9): Représentation schématique des différentes interfaces silice-tensioactif.

II. Les tensioactifs

Le plus ancien tensioactif est le savon. Les premiers utilisateurs de savon auraient été les Sumériens (les enceins iraqiens) en 2500 av. J.C. Ils fabriquaient les pains de savon à

partir d'huiles végétales ou animales, de cendre d'os ou de bois et d'extraits de plantes parfumées. A partir des années 50, le savon se voit remplacé par des tensioactifs de synthèse dans les formulations détergentes.

II.1. Qu'est-ce qu'un tensioactif ?

Les tensioactifs sont des molécules organiques amphiphiles, comportant deux parties bien distinctes : une tête polaire hydrophile, qui présente une forte affinité pour les molécules d'eau et une queue apolaire hydrophobe (lipophile), que les molécules d'eau ont plutôt tendance à fuir (figure (I.10)). La tête hydrophile est généralement constituée d'un ion ou d'un groupement possédant un moment dipolaire et la queue hydrophobe d'une ou de plusieurs chaînes aliphatiques. Lorsqu'elles se trouvent à l'interface eau- air, les molécules amphiphiles ont tendance à diriger leur tête hydrophile vers l'eau et leur queue hydrophobe vers l'air, ce qui a pour conséquence de modifier l'énergie de l'interface.

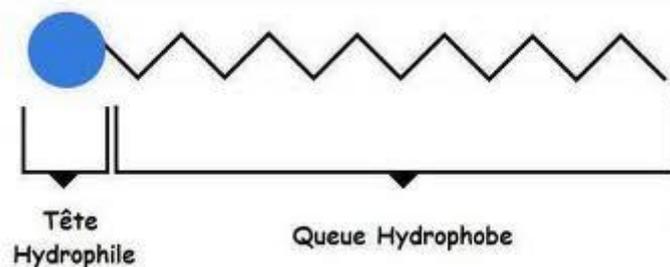


Figure (I. 10): Schéma simplifié d'un tensioactif.

Suivant le choix du tensioactif, différentes structures peuvent être obtenues. Cependant, les interactions entre la source de silice (I) et l'agent structurant (S) peuvent être de trois natures différentes :

- Interactions électrostatiques

Tensioactif et phase inorganique ionique de charges opposées S^+I^- [21] et S^-I^+ [6]. Tensioactif et phase inorganique avec la même charge, il y a intercalation d'un contre- ion du tensioactif dans le système $S^+X^-I^+$ et $S^-X^+I^-$ [8].

- Interactions par liaisons hydrogènes

Tensioactif non ionique et phase inorganique alkoxyde (S^0I^0) [22]. Tensioactif neutre (amine) et phase inorganique alkoxyde (N^0I^0) [23, 24]

- Interactions par liaisons covalentes

Synthèse d'un précurseur organique contenant une longue chaîne hydrophobe avant la réaction de condensation [25].

II.2. Classification.

Il existe différentes classifications possibles des tensioactifs en fonction de :

- La nature de leur tête polaire
- La longueur de la partie lipophile
- Leur origine, naturelle ou synthétique.

II.2.1. La nature de leur tête polaire : non ionique, anionique, cationique ou amphotère

a. Les tensioactifs non ioniques ne forment pas d'ions en solution dans l'eau, leur solubilité est due à la présence de motifs polaires (éthylène glycol par exemple). Ils sont souvent utilisés en formulation avec des tensioactifs ioniques et sont souvent moins toxiques. Ils sont souvent utilisés comme détergents.

b. Les tensioactifs anioniques sont les premiers à avoir été synthétisés et ils sont surtout les plus utilisés dans le monde [26]. Ces molécules se dissocient en un anion amphiphile, et un cation qui est en général un métal alcalin ou un ammonium quaternaire. Ces agents de surface représentent plus de la moitié de la production de tensioactifs dans le monde en raison de leurs utilisations dans le domaine de la détergence [27, 28], comme savon ou comme moussant et dispersant. De plus ils rentrent dans les ingrédients de base des produits d'hygiène et cosmétiques [29].

c. Les tensioactifs cationiques se dissocient en solution aqueuse en un cation organique, et un anion généralement de type halogénure. La grande majorité de ces surfactifs sont des composés azotés de type sel d'amine grasse ou d'ammonium quaternaire. Ces surfactifs sont beaucoup plus chers à fabriquer que les précédents, et de ce fait on ne les utilise que dans des applications particulières qui font appel à leur propriété bactéricide, ou à leur capacité de s'adsorber facilement sur des substrats biologiques ou inertes possédant une charge négative. Cette adsorption en fait d'excellents agents antistatiques, hydrophobants et mêmes inhibiteurs

de corrosion, utilisés dans les produits tant industriels que d'usage domestique. Ils sont plus chers car leur production et les réactifs mis en œuvre ont un coût plus élevé.

d. Les tensioactifs amphotères : sont chargés à la fois négativement et positivement, ce sont des molécules zwitterioniques [30]. Suivant le pH du milieu ils se comportent comme un tensioactif cationique ou anionique. Ils sont moins agressifs et moins irritants sur le plan biologique. Ils sont utilisés comme détergents ou produits d'hygiène plus délicats par exemple pour les peaux sensibles.

II.2.2. La longueur de la partie lipophile qui permet de classer les tensioactifs en agents mouillants (C8-C10), détergents (C12-C16), émulsionnants ou adoucissants (C18-C22).

II.2.3. Leur origine, naturelle ou synthétique.

Avec la demande mondiale croissante sur les tensioactifs, il est nécessaire de développer de nouvelles sources répondant aux nouveaux besoins et exigences des industriels, qui donnent des tensioactifs disponibles, performants à coût réduit, produits écoresponsables ayant un impact réduit sur l'environnement.

Parmi les tensioactifs naturels les plus développés actuellement sont ceux dérivés de sucres tels que les alkylpolyglucosides (APG). Du fait de la source de la partie hydrophile, ces tensioactifs sont principalement non ioniques. Il y a aussi les lécithines qui sont constituées de mélanges de fractions de phosphatides obtenus au moyen de procédés physiques à partir de substances alimentaires d'origine végétale ou animale. Dans le domaine industriel, la lécithine est essentiellement extraite de plantes oléagineuses, essentiellement la fève de soja (1.6 à 3g/100g) et des œufs (1.6g/100g), dans une moindre mesure des grains de colza ou de tournesol, beaucoup plus rarement du lait.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés par les phospholipides comme tensioactifs naturels, et plus précisément les phospholipides d'œufs et ceux de soja.

III. Les Phospholipides

III.1. Qu'est-ce qu'un phospholipide?

La découverte de la lécithine par Vauquelin remonte au XIX^{ème} siècle quand des lipides contenant du phosphore ont été décrits dans le tissu neural. Ce n'est que quelques décennies plus tard que Gobley a isolé du jaune d'œuf une substance dotée de propriétés émulsifiantes, qu'il appellera lécithine (du grec lekitos, qui signifie jaune d'œuf). Aujourd'hui, la lécithine peut désigner deux choses : d'abord la lécithine, aussi connue sous le nom de phosphatidylcholine (PC), qui désigne une classe de phospholipides (PL), au même titre que la phosphatidyléthanolamine (PE). Mais la lécithine désigne aussi plus fréquemment un mélange de différentes classes de PL provenant de différentes sources.

III.2. Classification

On trouve deux types de PL : les glycérophospholipides (glycéroPL) et les phosphosphingolipides. La différenciation entre ces deux classes se fait par la nature du squelette de base : soit le glycérol, soit la sphingosine.

III.2.1. Glycérophospholipides

Les glycéroPL (figure I.11 et tableau 1) sont des molécules amphiphiles, constituées du Glycérol, AG, acide phosphorique et une autre molécule (sérine, choline, alcool, ...).

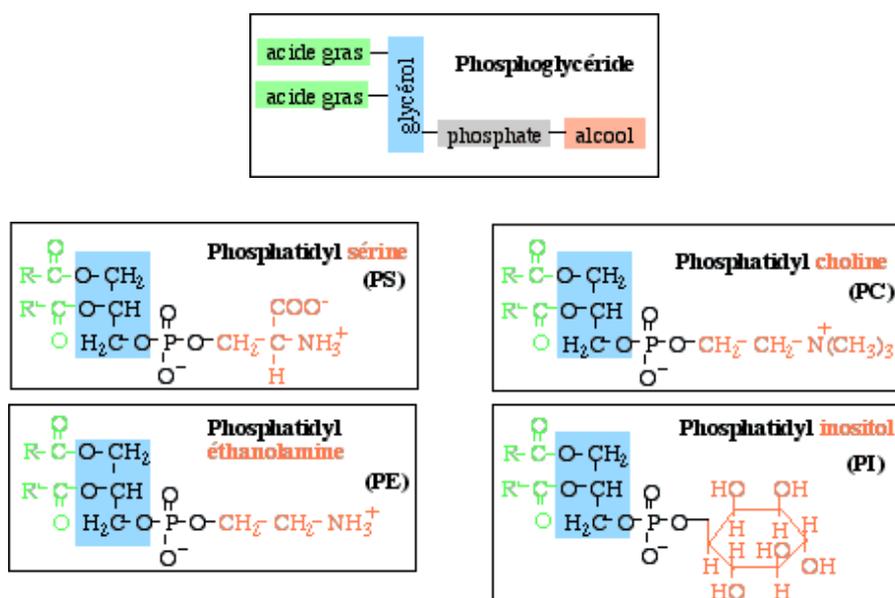


Figure (I. 11): Représentation schématique des Glycérophospholipides

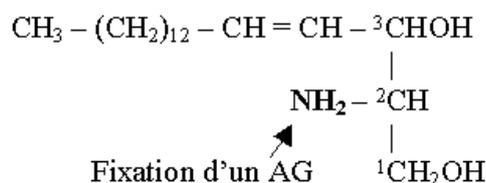
Tableau 1 : Classification des glycéroPL [31]

Substituant HO-X		GlycéroPL	
Nom	Formule	famille	Symboles
Sérine	$- \text{CH}_2 - \underset{\text{COO}^-}{\text{CH}} - \text{NH}_3^+$	Phosphatidylsérines	PS
Ethanolamine	$- (\text{CH}_2)_2 - \text{NH}_3^+$	Phosphatidyléthanolamines Cépalines	PE
Choline	$- (\text{CH}_2)_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	Phosphatidylcholines Lécithine	PC
Myo-inositol		Phosphatidylinositols Inositides	PI
Glycérol	$- \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{OH}) - \text{CH}_2 - \text{OH}$	Phosphatidylglycérols	PG

III.2.2. Phosphosphingolipides

Ce sont des amides de la sphingosine qui se forment par liaison du carboxyle de l'AG sur le -NH₂ de la sphingosine (figure I.12).

AG + NH₂ de la sphingosine



Sphingosine

Figure (I. 12): Représentation schématique du Sphingosine.

III.3. Sources des phospholipides

Les PL sont des constituants très importants au niveau des membranes cellulaires. Ils sont présents aussi bien chez les animaux que chez les végétaux. Comme ils sont essentiels à la vie, on les retrouve dans les organes vitaux, tels que le cerveau, le foie et les reins chez les animaux et dans les racines, les graines et les noix chez les végétaux. La source végétale la plus fréquente de lécithine est le soja qui fournit plus de 90% des lécithines végétales, cependant, d'autres sources sont aussi parfois utilisées telles que le colza, le maïs ou les graines d'arachides. En ce qui concerne les lécithines d'origine animale, c'est la lécithine d'œuf qui est la plus répandue, même si d'autres sources comme le lait ou les tissus cérébraux ont pu être mises en évidence (Tableau 2) [31]. Les lécithines végétales contiennent en majorité PC, PE et PI. D'autres familles de PL comme PS peuvent être présentées mais généralement en faible quantité. En revanche, les lécithines d'origine animale sont, en général plus riches en PC (c'est le cas de la lécithine d'œuf) et contiennent de la SM, qui est une famille de PL que l'on ne retrouve que dans les sources d'origine animale. Les tissus cérébraux sont les sources qui contiennent la plus grande variété de classe de PL.

Tableau 2: composition en PL de différentes sources (en % molaire) [31]

Classe de PL	Lécithine de Soja	Lécithine de Colza	Lécithine d'arachide	Lait	Lécithine d'oeuf	Tissus cérébraux
PC	23	37	23	34	75	22
PE	24	30	8	33	19	35
PI	21	13	17	5	2	2
PA	5	-	2	-	-	1
PS	2	-	-	3	-	19
SM	-	-	-	25	4	16
Phytoglycolipides	13	20	38	-	-	-
Autre PL	12	-	12	-	-	2

- : non détecté

Les lécithines se différencient donc par le type et le pourcentage relatif des familles de PL qu'elles contiennent, mais la nature des AG portés par ces PL est également un facteur de différenciation (Tableau 3). En effet, les lécithines végétales sont d'une manière générale plus riches en acides linoléique (18 :2) et α -linoléique (18 :3) ainsi qu'en AG saturés. Dans les lécithines animales, les acides palmitique (16 :0) et stéarique (18 :0) sont beaucoup plus abondants que les AG polyinsaturés. L'acide arachidonique (20 :4) quant à lui, est d'une manière générale, uniquement présent dans les lécithines animales [31].

Tableau 3: Composition en acides gras de certaines sources de PL (% molaire) [31]

AG	Lécithine de Soja	Lécithine de colza	Lécithine d'arachide	Lécithine d'œuf
Palmitique (16 :0)	14	10	7	39
Stéarique (18 :0)	4	2	3	10
Oléique (18 :1)	11	44	45	31
Linoléique (18 :2)	64	36	22	15
α -linoléique (18 :3)	7	8	-	-
Arachidique (20 :0)	-	-	23	-
Arachidonique (20 :4)	-	-	-	5

- : non référencé

Différents degrés de pureté peuvent être obtenus au cours des procédés de synthèse des PL, les produits non raffinés contiennent plusieurs classes de PL, notamment PC, PE, PS et PI combinés à d'autres substances comme les glycolipides ou les lipides neutres [31]. En fonction du degré de pureté, la lécithine est obtenue sous différentes formes physique (poudre, granules ou pâte) et avec des pourcentages variables de PC entre 20 et 95%. Le procédé d'obtention de la lécithine d'œuf est basé sur les mêmes principes que celui des lécithines végétales.

III.4. Facteurs influençant les structures de phase des membranes lipidiques.

Les membranes lipidiques peuvent former une variété de ~~différents~~ structure des cristaux liquides lyotropes, tel que la structure hexagonale normale « H_1 » ; lamellaire « L_α » et hexagonal inversée « H_{11} » (figure (I.13)).

La phase structurale formée par les phases lipidiques est affectée par différents facteurs : (1) la structure chimique et les propriétés d'hydratation des lipides, (2) les paramètres thermodynamiques tel que la température, la pression et le pH et (3) le solvant.

III.3.1. Structure chimique [35]

La polarité a une grande importance dans la structure des phases formées par des molécules lipidiques. En conditions physiologiques, les lipides les moins hydratés (PE, MGlcDG,..) forment des phases hexagonales normales ou inverses, alors que les lipides les plus hydratés (PC, PS, PG..) forment des phases lamellaires.

La structure des chaînes hydrocarbonées des lipides influe aussi sur la structure des phases. En général, la température de formation d'une phase inversée non lamellaire diminue avec la longueur de la chaîne, et aussi quand les doubles liaisons ou les branches du méthyle sont introduites dans les chaînes et quand un ester lié au glycérol est remplacé par un éther.

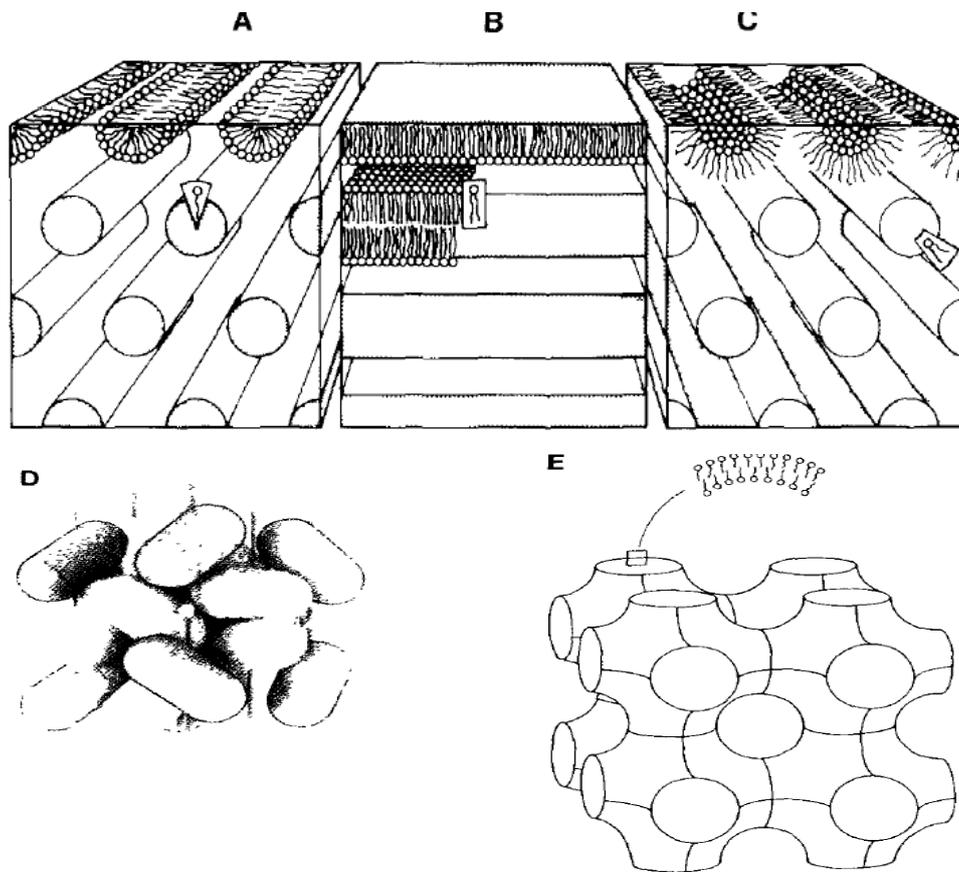


Figure (I. 13): Structure des différentes phases des cristaux liquides des membranes lipidiques (A) hexagonal normale « H_1 » ; (B) lamellaire « L_α » ; (c) hexagonal inversée « H_{II} » les figures A, B et C [32].

(D) phase cubique formée par des anisométrique micelles [33].

(E) phase cubique bicontinue formée par des unités lamellaires [34]

III.3.2. Température, pression et pH [35]

Une diminution de température affecte l'équilibre de phase des membranes lipide-eau, du en général à une transition d'une phase lamellaire à une phase normale ou reverse. Une diminution de la pression hydrostatique a un faible effet.

La structure des phases formées par des lipides ioniques peut être affectée par la valeur du pH car à pH acide, une transition de phase du lamellaire à l'hexagonal inverse est observée.

Pour les lipides zwitterioniques tel que le PE, la transition est observée quand la valeur de pH varie d'alcaline au neutre. Pour les lipides anioniques PS, PG et PA, la transition

est observée quand le pH varie du neutre à l'acide, dans cette même variation de pH le PE transforme à une phase hexagonale inverse.

III.3.3. Le solvant

L'étude du diagramme ternaire du système lipides- Ethanol- Eau a montré la présence de trois états distincts : (1) solution claire, (2) gel et (3) suspension de liposomes, le gel est facilement distingué de l'état liquide par sa grande viscosité et sa capacité d'avoir une forme, la suspension des liposomes a aussi une apparence laiteuse très caractéristique.

Sur le diagramme ternaire (figure I.14), on observe que le mélange lipides- Ethanol- Eau contient des billes formées par des lipides et 20-50% de la masse d'eau forment un gel visqueux, l'hydratation de ce gel résulte d'une formation de liposomes avec des morphologies variées selon le type des lipides. Dans le cas d'une forte hydratation, la quantité d'éthanol est insuffisante pour maintenir l'interdigitation des lipides [36].

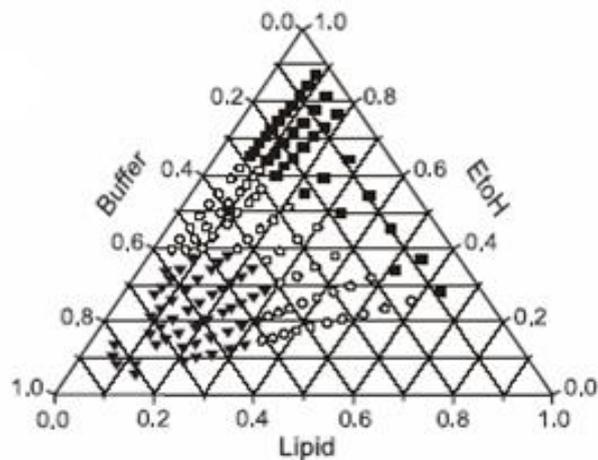


Figure (I. 14): Diagramme tertiaire: mélange eau/éthanol/POPC (1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylcholine).

(■) Solution; (o) gel; (▼) liposomes.[36]

IV. Position de l'étude

Notre objectif est de réaliser des matériaux mésoporeux en utilisant les phospholipides en tant que tensioactifs naturels afin d'étudier les interactions silice-phospholipides qui ont été précédemment démontrées avec l'enrobage de liposomes par une couche de silice (liposils) [37].

La caractérisation des phospholipides utilisés par LC-MS, RMN est très indispensable pour connaître leur composition afin de comprendre les variations en fonction des sources (œuf et soja).

Différents types des phospholipides vont être ciblés afin d'obtenir des matériaux mésoporeux avec des structures et textures différentes. Avant d'étudier l'influence de la nature du PL, plusieurs paramètres pouvant aussi influencer la structure des matériaux mésoporeux vont être étudiés, tels que le temps d'agitation, l'effet du solvant (le pourcentage eau/ Ethanol) et la quantité de PL. Ceci va nous permettre de déterminer le domaine de formation des différentes phases obtenues à partir de phospholipides plus économiques (lécithine de soja). La caractérisation des mésophases par les méthodes typiques de la physicochimie des matériaux (DRX, adsorption d'azote, microscopie...) va représenter le sujet principal de cette étude.

V. Références bibliographiques

- [1] www.iupac.org
- [2] V.Chiola, J.E. Ritsko, C. D. Vanderpool, *Process for producing low-bulk density silica*. US Patent N° 3 556 725, 1971.
- [3] F. Di Renzo, H. Cambon, R. Dutartre, *A 28-years-old synthesis of micelle-templated mesoporous silica*. *Microporous Materials*, 10 (1997) 283-286.
- [4] T. Yanagisawa, T. Shimizu, K. Kuroda, C. Kato, *The preparation of alkyltrimethylammonium-kanemite complexes and their conversion to microporous materials*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 63 (1990) 988-992.
- [5] S. Inagaki, Y. Fukushima, K. Kuroda, *Synthesis of Highly Ordered Mesoporous Materials from a Layered Polysilicate*, *Journal of the Chemical Society Chemical Communications* (1993) 680-682.
- [6] C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, J.C. Vartuli, J.S. Beck, *Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism*, *Nature* 359 (1992) 710- 712.
- [7] J.S. Beck, J.C. Vartuli, W.J. Roth, M.E. Leonowicz, C.T. Kresge, K.D. Schmitt, C.T.W. Chu, D.H. Olson, E.W. Sheppard, S.B. McCullen, J.B. Higgins, J.L. Schlenker. *A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates*. *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 10834-10843.
- [8] R.Ryoo, J.M.Kim, C.H.Ko and C.H.Shin. *Disordered Molecular Sieve with Branched Mesoporous Channel Network*. *J.Phys.Chem.*, 100 (1996) 17718-17721.
- [9] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B.F. Chmelka, G.D. Stucky. *Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures*. *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 6024-6036.
- [10] S.S.Kim, W.Zhang and T.Pinnavaia, *Ultrastable Mesostructured Silica Vesicles*. *Science*, 282 (1998) 1302-1305.
- [11] J.Y.Ying, C.P.Mehnert and M.S.Worg, *Synthesis and Applications of Supramolecular-Templated Mesoporous Materials*. *Angew. Chem.Int.Ed.*, 38 (1999) 56-77.
- [12] D. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G.H. Frederickson, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores*. *Science* 279 (1998) 548-552.

- [13] Y. Mori, T.J. Pinnavaia, *Optimizing Organic Functionality in Mesoporous Silica: Direct Assembly of Mercaptopropyl Groups in Wormhole Framework Structures*. *Chemistry of Materials* 13 (1994) 2173-2178.
- [14] T.J. Pinnavaia, 1995. *Nanoporous Layered Materials*. ACS Advances in Chemistry Series. 245 (1995) 283-300.
- [15] A. Galameau, A. Barodawalla, T.J. Pinnavaia, *Porous clay heterostructures formed by gallery-templated synthesis*, *Nature* 374 (1995) 529-531
- [16] M. Mureseanu, A. Galarneau, G. Renard, F. Fajula. *A New Mesoporous Micelle-Templated Silica Route for Enzyme Encapsulation*. *Langmuir* 21 (2005) 4648-4655.
- [17] A. Galarneau, G. Renard, M. Mureseanu, A. Tourrette, C. Biolley, M. Choi, R. Ryoo, F. Di Renzo, F. Fajula, *Synthesis of sponge mesoporous silicas from lecithin/dodecylamine mixed-micelles in ethanol/water media: a route towards efficient biocatalysts*. *Microporous and Mesoporous Materials* 104 (2007) 103–114
- [18] A. Galarneau, F. Sartori, M. Cangiotti, T. Mineva, F. Di Renzo, M. F. Ottaviani, *Sponge Mesoporous Silica Formation Using Disordered Phospholipid Bilayers as Template*. *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 2140–2152.
- [19] C.Y. Chen, S.L. Burkett, H.X. Li, M.E. Davis. *Studies on mesoporous materials II. Synthesis mechanism of MCM-41*. *Microporous Materials* 2 (1993) 27-34
- [20] Q. Huo, D.I. Margolese, U. Ciesla, D.G. Demuth, P. Feng, T.E. Gier, P. Sieger, A. Firouzi, B.F. Chmelka, F. Schüth, G.D. Stucky. *Organization of Organic Molecules with Inorganic Molecular Species into Nanocomposite Biphase Arrays*. *Chem. Mater.* 6 (1994) 1176-1191.
- [21] S. Che, A.E. Garcia-Bennett, T. Yokoi, S. Sakamoto, H. Kunieda, O. Terasaki, T. Tatsumi, *A novel anionic surfactant templating route for synthesizing mesoporous silica with unique structure*. *Nature Materials* 2 (2003) 801-805.
- [22] S. Bagshaw, E. Prouzet, T.J. Pinnavaia, *Templating of Mesoporous Molecular Sieves by Nonionic Polyethylene Oxide Surfactants*. *Science*, 269 (1995) 1242-1244.
- [23] P.T. Tanev, T.J. Pinnavaia, *A neutral templating route to mesoporous molecular sieves*. *Science*, 259 (1995) 865-867.
- [24] W.Z. Zhang, T.R. Pauly, T.J. Pinnavaia. *Chem. Mater.* 13 (2001) 987.
- [25] D.M. Antonelli, J.Y. Ying, *Synthesis of a Stable Hexagonally Packed Mesoporous Niobium Oxide Molecular Sieve Through a Novel Ligand-Assisted Templating Mechanism*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35 (1996) 426-430.

- [26] A. Behler, M. Bierman, K. Hill, H.C. Raths, M.E. Saint Victor, G. Uphues. *Industrial Surfactant Syntheses*. Surfactant Science Series 100 (2001) 1-44.
- [27] Sovostianoff. *Informations Chimie* 293 (1988) 135.
- [28] B.F. Greek, *Chemical & Engineering News* 28 (1990) 25.
- [29] C. Vaution, *Les agents de surface. Classification*, en F. Puisieux, M. Seiller (Eds.), *Les Systèmes Dispersés I. Agents de Surface et Émulsions*. Paris : Lavoisier 1983, pp. 5–50.
- [30] R.G. Laughlin, *J. Soc. Cosmet. Chem.* 32 (1981) 371.
- [31] F. Chaussot, *Lécithine, métabolisme et nutrition*, Paris : Lavoisier 2008.
- [32] L. Rilfors, G. Lindblom, A. Wieslander, A. Christiansson, *Biomembranes*, 12 (1984) 205.
- [33] P.-O. Eriksson, G. Lindblom and G. Arvidson, *NMR Studies of 1-Palmitoyllysophosphatidylcholine in a Cubic Liquid Crystal with a Novel Structure*, *J. Phys. Chem.* 89 (1985) 1050-1053.
- [34] G. Lindblom, L. Rilfors, *Cubic phases and isotropic structures formed by membrane lipids - possible biological relevance*. *Biochim. Biophys. Acta*, 988 (1989) 221-256.
- [35] G. Lindblom, L. Rilfors. *Non-lamellar phases formed by membrane-lipids*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 41 (1992) 101-125.
- [36] A. Polozova, X. Li, T. Shangguan, P. Meers, D. R. Schuette, N. Andob, S. M. Gruner, W. R. Perkins, *Formation of homogeneous unilamellar liposomes from an interdigitated matrix*. *Biochim. Biophys. Acta* 1668 (2005) 117-125.
- [37] S. Bégu, R. Durand, D. A. Lerner, C. Charnay, C. Tourné-Péteilh. J. M. Devoisselle. *Preparation and characterization of siliceous material using liposomes as template*. *Chemical Communications* (2003) 640-641.

Chapitre II : Matériel et méthodes de caractérisation

Nous allons présenter dans ce chapitre les méthodes de synthèse, les réactifs utilisés ainsi que les techniques d'analyses physico-chimiques utilisées pour la caractérisation de nos échantillons.

I. Synthèse des mésophases

I.1. Réactifs

Dans le tableau ci-dessous sont référencés les différents réactifs utilisés lors de la synthèse des échantillons et pour leur caractérisation.

Tableau II.1. Réactifs utilisés au cours de ce travail.

Réactifs	SYMBOLE	SOURCE	PURETE	FOURNISSEUR
	EtOH	-	99.9	Carlo Erba
	Eau distillée			
	TEOS	-	98	Aldrich
	NaF		99	Aldrich
Phospholipides pour synthèse	Phosphatidylcholine (PC)	Œuf	60	Sigma
	Phosphatidylcholine (PC)	Soja	50	Acros
	S-45	Soja	45	Lipoid
	S-75	Soja	75	Lipoid
	S-75-3	Soja	75	Lipoid
	S-100	Soja	100	Lipoid
	S-100-3	Soja	100	Lipoid
	E-100	Œuf	100	Lipoid
Phospholipides pour caractérisation	EPC3	Œuf	100	Lipoid
	Phosphatidylethanolamine	Ovine Brain		Sigma
	Phosphatidylcholine (hydrogéné).	Œuf	98 %	Sigma
	Phosphatidic acid	Œuf	98 %	Sigma
	Lisophosphatidylcholine	Œuf	(type 1)	Sigma
	Phosphatidylethanolamine	Soja	98% (type 4)	Sigma

I.2. Méthodes

Toutes les synthèses ont été effectuées selon le même protocole (Figure II.1).

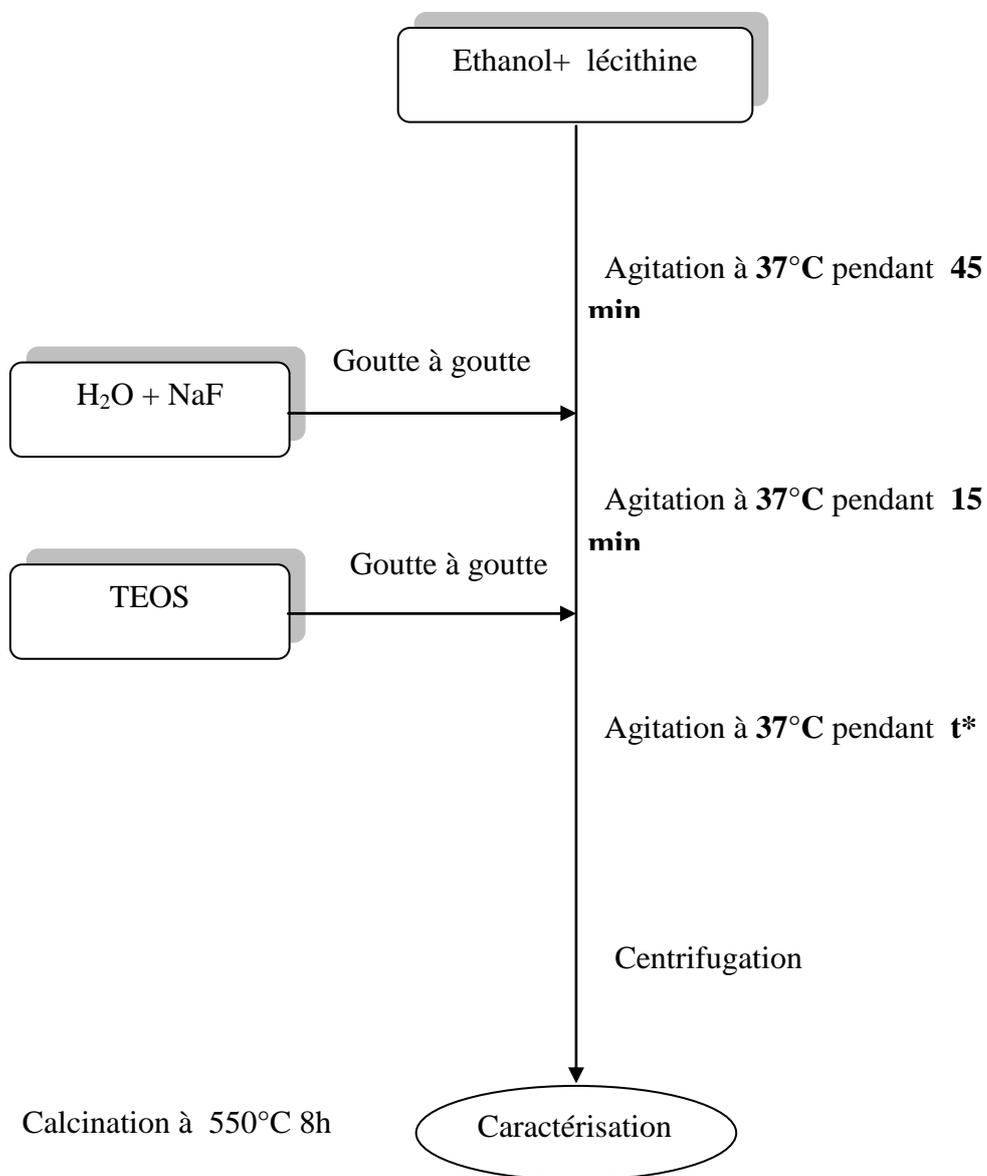


Figure II.1. *Protocole de synthèse des mésophases.*

* : voire tableau II.2.

I.3. Nomenclature des échantillons et conditions de synthèse

Les dénominations des échantillons avec les conditions de synthèse : masse des réactifs et temps d'agitation sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.2 : Dénomination et mode de préparation des échantillons

Dénomination	PL utilisées	Masses des réactifs					Temps d'agitation (h)
		TEOS(g)	PL (g)	NaF(mmol)	H ₂ O(g)	EtOH(g)	
NTO 2	PC œuf	5.74	2	0.1	6.85	26.17	0,25
NTO 6	PC œuf	5.74	2	0.1	6.85	26.17	4
NTO 32	PC œuf	5.74	4	0.1	6.85	26.17	4
NTO 33	PC œuf	5.74	2	0.1	17.66	19.75	4
NTO 34	PC œuf	5.74	4	0.1	17.66	19.75	4
NTO 35	PC œuf	5.74	8	0.1	17.66	19.75	4
NTO 36	PC œuf	5.74	2	0.1	24	13.03	4
NTO 37	PC œuf	5.74	4	0.1	24	13.03	4
NTO 38	PC œuf	5.74	8	0.1	24	13.03	4
NTO 50	S45	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 51	S75	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 52	S75-3	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 53	S100	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 54	S100-3	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 55	EPC-3	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 56	E100	5,74	2	0.1	17,66	19,75	4
NTO 57	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	0,25 (15 min)
NTO 58	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	0,42 (25 min)
NTO 59	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	4
NTO 65	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	0,25 (15 min)
NTO 66	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	0,42 (25 min)
NTO 67	PC Soja	5.74	2	0.1	17.66	19.75	4
NTO 87	PC œuf	1.4	1	0.034	1.94	14.6	4
NTO 88	PC œuf	1.4	1	0.034	6.6	10	4
NTO 89	PC œuf	1.4	1	0.034	10.6	6.8	4
NTO 90	PC œuf	1.9	1.36	0.046	0.83	6.5	4
NTO 91	PC œuf	1.63	1.17	0.04	3	3.17	4
NTO 92	PC œuf	0.7	0.5	0.017	2	0.7	4
NTO 93	PC œuf	1.4	1	0.04	0.1	1	4
NTO 94	PC œuf	1	0.71	0.024	1.2	0.78	4
NTO 103	PC Soja	1.4	1	0.034	1.94	14.6	4
NTO 104	PC Soja	1.4	1	0.034	6.6	10	4
NTO 105	PC Soja	1.4	1	0.034	10.6	6.8	4
NTO 106	PC Soja	1.9	1.36	0.046	0.83	6.5	4
NTO 107	PC Soja	1.63	1.17	0.04	3	3.17	4
NTO 108	PC Soja	0.7	0.5	0.017	2	0.7	4
NTO 108	PC Soja	0.7	0.5	0.017	2	0.7	4
NTO 110	PC Soja	1	0.71	0.024	1.2	0.78	4

II. Activation des matériaux mésoporeux – Calcination

L'utilisation des phospholipides comme tensioactifs est la principale différence entre la synthèse de nos mésophases et les synthèses des autres matériaux mésoporeux. L'interaction entre la partie organique et la partie minérale conduit à la formation de mésophases ordonnées. Afin d'obtenir des matériaux poreux, il faut libérer la porosité des matériaux en éliminant le tensioactif ; cette élimination peut se faire soit par extraction des tensioactifs à l'aide d'un solvant [1] soit par calcination [2]. Cette dernière favorise la condensation de la silice et la contraction du réseau inorganique. Dans notre étude, on a éliminé la composante organique par calcination.

La calcination des matériaux mésoporeux synthétisés est réalisée sous air dans un four à moufle avec une montée en température de $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ jusqu'à la température de calcination de 580°C pendant 8 heures (Figure II.2).

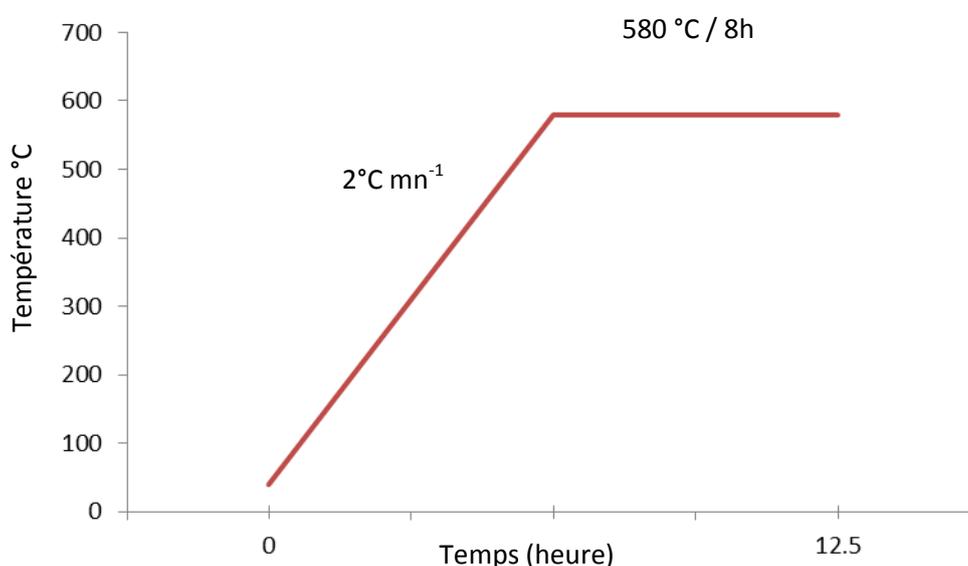


Figure II.2. Le programme de montée en température utilisé pour la calcination des matériaux mésoporeux.

III. Méthodes de caractérisation

III.1. DRX

Les rayons X ont été découverts en [1895](#) par le physicien allemand [Wilhelm Röntgen](#), qui a reçu pour cela le premier [prix Nobel de physique](#). Il les nomma ainsi car ils étaient d'une nature inconnue. La diffraction des rayons X est une technique basée sur la mesure de l'angle de diffraction lié au vecteur d'onde diffractée dans une famille de plans parallèles (Figure II.3).

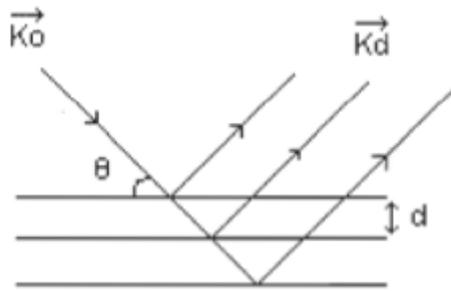


Figure II.3. Schéma d'une onde diffractée

Les familles de plans de diffraction sont répertoriées selon les indices de Miller (hkl). La distance réticulaire associée à une famille de plans est reliée à l'angle de diffraction par la loi de Bragg:

$$\lambda = 2 * d_{hkl} \sin \theta$$

où λ est la longueur d'onde du faisceau incident en Angstrom (Å),

d_{hkl} est distance réticulaire en Angstrom (Å),

θ est l'angle de Bragg en radian (rad).

Cette étude a été réalisée au laboratoire sur un diffractomètre Bruker D8 Advance, piloté par un logiciel EVA, utilisant la radiation $K\alpha$ du cuivre ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) (40 kV, 40 mA), avec géométrie Bragg-Brentano et détecteur rapide Lynx Eues. Les spectres ont été enregistrés pour 2θ compris entre $0,5^\circ$ et 6° par pas de $0,02^\circ 2\theta$.

Préparation des échantillons :

L'échantillon de poudre finement broyée est étalé sur un support de façon à obtenir une surface plane et lisse. La plaquette ainsi obtenue est placée sur le porte-échantillon.

Dispositif expérimental :

Les matériaux mésostructurés sont caractérisés par diffraction des rayons X aux bas angles. En effet, pour des angles 2θ de diffraction inférieurs à 5° , les distances caractéristiques seront supérieures à $d=1,8$ nm. Les diffractogrammes de rayons X des matériaux mésoporeux présentent un nombre de raies variables en fonction de la structure du réseau poreux du matériau. Ainsi, les valeurs des distances inter-réticulaires permettent de vérifier que les diffractogrammes sont caractéristiques des symétries des systèmes étudiés.

- Si absence de pic de diffraction (« pic de Bragg ») aux petits angles, absence de mésostructure.
- Si le diffractogramme comporte un seul pic, ce dernier peut correspondre à une mésostructure désordonnée (phase vermiculaire par exemple).
- Si plusieurs pics de diffraction, on peut suggérer qu'une mésostructure est présente dans le matériau. Selon l'indexation des pics, il sera aisé de les attribuer à telle ou telle phase (hexagonale, lamellaire ou cubique) voire à un mélange de plusieurs phases.

III.2. Analyse thermogravimétrique ATG

L'analyse thermogravimétrique permet de mesurer les pertes de masse engendrées par un traitement thermique sous flux de gaz. Cette étude a été réalisée au laboratoire MACS sur un appareil NETZSCH TG 209C. Elle consiste à chauffer l'échantillon de 25°C à 900°C sous flux d'air avec une vitesse de montée en température est de 10°C par minute. Cette analyse permet d'estimer les quantités d'eau et de composés organiques présents dans le matériau.

Préparation des échantillons :

10 à 20 mg de chaque matériau sont nécessaires, on le dispose dans un creuset en céramique.

Dispositif expérimental :

- $T < 100-110^\circ\text{C}$: Déshydratation.
- $110^\circ\text{C} < T < 550^\circ\text{C}$: Décomposition de l'agent structurant organique.
- $T > 550^\circ\text{C}$: La perte de masse est due à la perte d'eau par déshydroxylation de la surface.

III.3. Isotherme d'adsorption d'azote à 77K

Les isothermes d'adsorption/désorption d'azote à 77K permettent de caractériser les propriétés texturales des matériaux, telles que la taille des pores, la distribution de la taille des pores, la surface spécifique et le volume poreux. Les isothermes d'adsorption/désorption d'azote ont été réalisées au laboratoire MACS en utilisant un appareil Micromeritics TriStar.

Préparation des échantillons :

Les échantillons calcinés sont préalablement dégazés à 250°C pendant au moins 5 h. Les mesures sont effectuées sur une quantité de solide de $(30 \pm 0,1)$ mg.

Dispositif expérimental :

L'adsorption d'azote sur une surface se fait par physisorption des molécules d'azote sur le support. Le processus est réversible en fonction de la pression. De ce fait, une isotherme d'adsorption/désorption sera représentée par un volume de gaz adsorbé en fonction de la pression relative (p/p°) comprise entre 0 et 1 (Figure II.4).

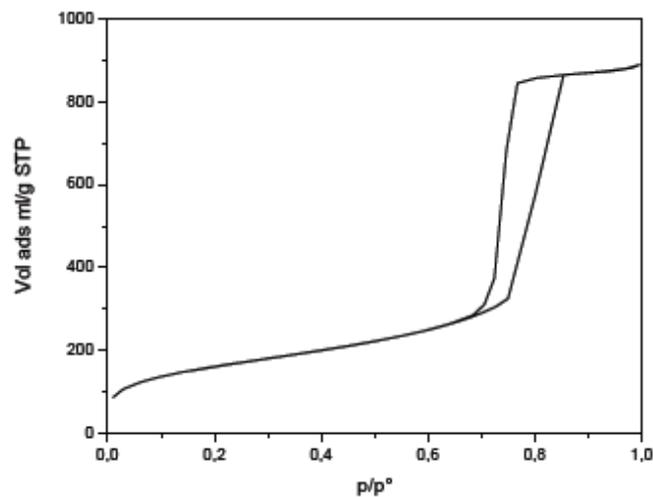


Figure (II.4) : Isotherme d'adsorption/désorption d'azote à 77K d'un MTS mésoporeux de type SBA-15. Isotherme de Type IV selon la classification de Brunauer présentant une hystérésis de Type A selon la classification de De Boer.

Cette isotherme comprend différentes zones pour différents rapports (p/p°) :

- $p/p^\circ < 0,65$: Adsorption monocouche-multicouche sur la totalité de la surface du matériau. Cette zone nous renseigne sur la surface totale du matériau. Pour des

matériaux microporeux, le remplissage des micropores par l'azote se produit à p/p° inférieur à 0,05 et rend impossible la mesure précise de la surface.

- $0,7 < p/p^\circ < 0,85$: Remplissage des pores par condensation capillaire. L'ensemble des pores d'un même diamètre est rempli à même pression partielle. Pour une distribution étroite de pores, ce phénomène se traduit par une marche abrupte dans l'isotherme. La position de cette marche nous renseigne sur la taille des pores.
- $p/p^\circ > 0,85$: L'adsorption se poursuit sur la surface encore accessible, c'est à dire la surface externe.

III.3.1. Les différents types d'isotherme de physisorption

Il y a plusieurs types d'isothermes d'adsorption, elles caractérisent la porosité du matériau (non poreux, microporeux, mésoporeux ou macroporeux). Ces isothermes sont regroupées dans la classification BDDT (Brunauer, Deming, Deming et Teller) présentée ci-dessus.

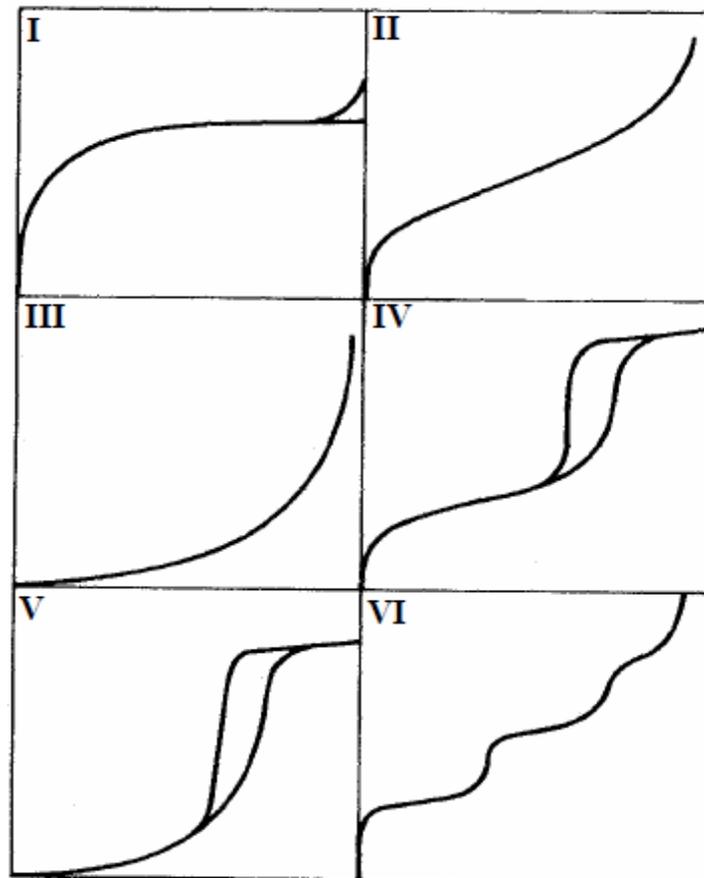


Figure (II.5) : Classification BDDT des isothermes d'adsorption-désorption selon IUPAC.

Chaque type d'isotherme représente une catégorie structurale du matériau, établie selon la dimension des pores. Il est couramment admis que :

- L'isotherme de type I caractérisée par une saturation rapide de l'adsorbant malgré l'augmentation de pression, est associée aux matériaux microporeux.
- L'isotherme de type II est au contraire caractérisée par un palier de saturation qui n'est jamais atteint. Cette isotherme est caractéristique des matériaux macroporeux, matériaux à la surface desquels la couche qui est adsorbée s'épaissit progressivement. On parle alors d'adsorption multimoléculaire.
- Le type IV est caractérisé par une rapide augmentation de la quantité d'azote adsorbé pour les pressions relatives faibles. On observe un palier de saturation de dimension variable, qui correspond à un phénomène de condensation capillaire. Aux pressions relatives plus élevées, l'augmentation de la quantité d'azote adsorbée correspond à une adsorption de type multimoléculaire. Ce type d'isotherme est obtenue avec des adsorbants mésoporeux dans lesquels l'adsorbât se condense par capillarité (phénomène irréversible) et on note la présence d'un phénomène d'hystérésis (la courbe de désorption ne suit pas celle d'adsorption).
- Les isothermes d'adsorption de type III et V sont beaucoup plus rares. Elles diffèrent des isothermes de type II et IV aux faibles pressions par un changement de courbure au début de l'isotherme d'adsorption. Ce phénomène est associé aux faibles interactions adsorbant/adsorbat et observé dans le cas de l'adsorption de vapeur d'eau par une surface hydrophobe.

Si le matériau est mésoporeux, on constate lors de la désorption, l'apparition d'un décalage entre les pressions relatives apparaît (isotherme de Type IV). La différence de pression entre le remplissage d'un pore et sa vidange est due à l'énergie nécessaire pour former un ménisque dans un pore plus important que celle qu'il faut pour le détruire. La désorption est un phénomène à l'équilibre alors que la condensation dans les pores nécessite la création de centre de nucléation de la phase liquide et est donc hors équilibre. Cette boucle d'hystérésis ainsi obtenue rend compte de la forme des pores. De Boer a classé les différentes morphologies de pores en fonction de 5 types d'hystérésis. Cette classification a été remodelée par l'IUPAC en 1985 en 4 types d'hystérésis (figure II.6).

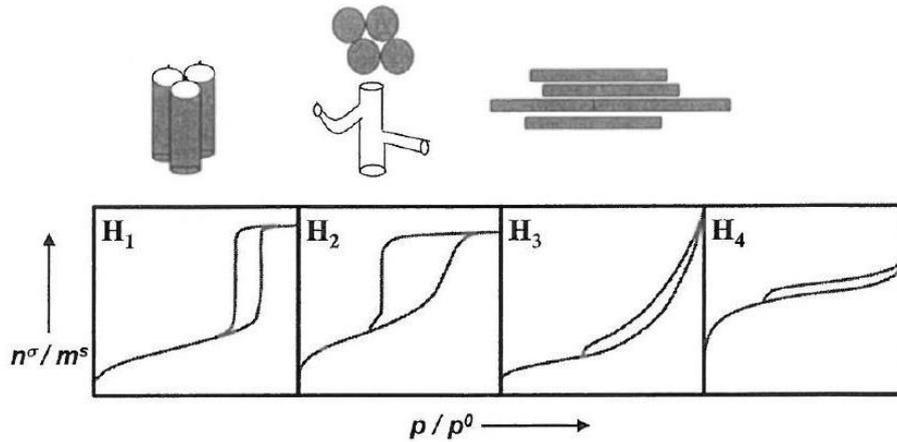


Figure (II.6) : Classification des hystérésis pour l'adsorption/désorption de gaz.

III.3.2. Calcul du volume poreux (mésoporeux)

Le volume poreux (V_p) peut être calculé à partir de l'isotherme d'adsorption/désorption d'azote d'après le volume gazeux V_{ads} obtenu à la fin du remplissage des pores (après la marche). L'isotherme nous permet d'évaluer le volume total adsorbé (Figure II.7). Cette méthode ne tient pas compte de l'adsorption sur la surface externe de l'échantillon et une méthode améliorée est présentée dans le paragraphe III.3.4.

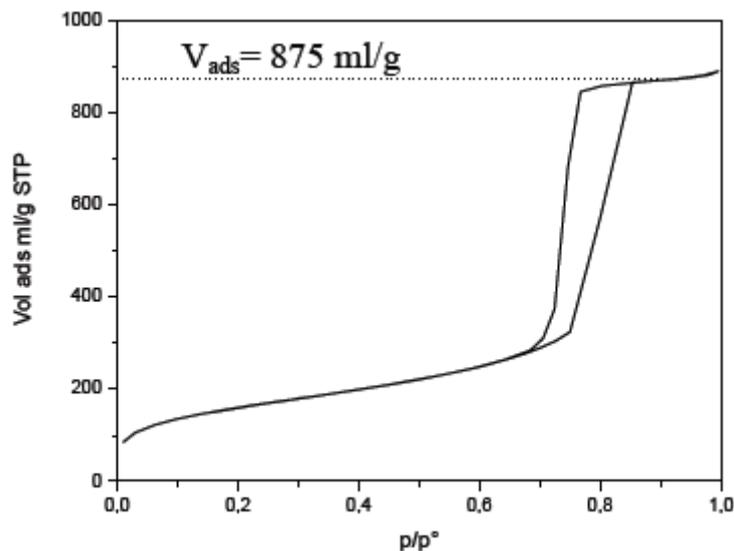


Figure (II.7): Evaluation du volume adsorbé directement à partir de l'isotherme.

Le volume adsorbé mesuré lors de l'analyse est un volume gazeux dans les conditions STP (conditions standards de température et de pression) qu'il faut transformer en

un volume hydraulique (ml/g). Le calcul permettant d'obtenir la valeur du volume poreux (V_p) à partir du volume gazeux (V_{ads}) est :

$$V_p(\text{ml/g}) = V_{ads} * (\rho_g / \rho_l)$$

$$\text{Ou } V_p(\text{ml/g}) = V_{ads} / 646,8$$

Où ρ_g et ρ_l sont les masses volumiques de l'adsorbat, respectivement à l'état gazeux et liquide. Pour l'azote à 77K $\rho_g / \rho_l = 1,547 \cdot 10^{-3}$. La valeur 646,8 étant le rapport entre le volume de l'azote liquide et le volume de l'azote gazeux avec :

$$\rho_{N_2 \text{ Liq}} = 0,808$$

$$\rho_{N_2 \text{ Gaz}} = MN_2 / 22,414$$

$$MN_2 = 28 \text{ g/mol}$$

De ce fait, si le solide ne présente pas de microporosité, le volume poreux ainsi calculé sera le volume mésoporeux (V_m).

III.3.3. Calcul de la surface spécifique : la théorie BET

Cette théorie a été formulée en 1938 par Brunauer, Emmet et Teller afin de formaliser les phénomènes d'adsorption multicouches sur une surface [3]. Cette théorie décrit la surface comme un ensemble de sites d'adsorption possédant la même énergie d'adsorption. Chaque molécule adsorbée joue le rôle d'un nouveau site d'adsorption dans la couche suivante. L'adsorption est donc décrite comme un remplissage de différentes couches de sites d'adsorption possédant deux niveaux d'énergie d'adsorption : E_1 pour les sites d'adsorption de la surface (correspondant à la monocouche ou première couche) et E_L pour les sites de toutes les couches suivantes. Cette théorie aboutit alors à l'équation (1) suivante (équation de BET) [4] :

$$\frac{\frac{P}{P^0}}{V_{ads} \left(1 - \frac{P}{P^0}\right)} = \frac{C-1}{V_m C} \frac{P}{P^0} + \frac{1}{V_m C} \quad (1)$$

Où V_m = volume de la monocouche

C = coefficient BET, C_{BET}

Le volume de la monocouche V_m permet de calculer la surface spécifique et le coefficient C_{BET} est un indicateur de polarité de surface. La valeur du coefficient C_{BET} correspond en première approximation à l'équation (2) suivante :

$$C_{BET} = \exp\left(\frac{E_I - E_L}{RT}\right) \quad (2)$$

Où E_I = énergie d'adsorption de la première couche

E_L = l'énergie d'adsorption des couches suivantes qui est attribuée à l'énergie de liquéfaction de l'azote

L'application de l'équation BET est couramment utilisée pour calculer la surface spécifique d'un solide. La zone de validité de l'équation est limitée à l'adsorption monocouche multicouche. Ce domaine est souvent décrit dans la littérature comme correspondant à $0,05 < P/P^0 < 0,35$. En pratique, il est souvent nécessaire de réduire ce domaine à 0,1-0,3. Cette équation est de la forme $Y = AX + B$ avec :

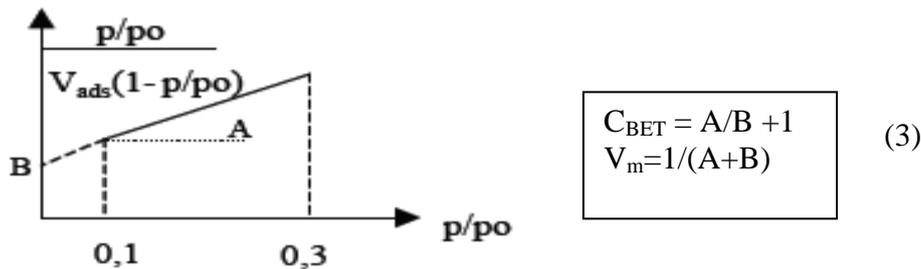
$$Y = (P/P^0)/(V_{ads}(1-(P/P^0)))$$

$$X = (P/P^0)$$

$$A = (C-1)/(V_m \cdot C)$$

$$B = 1/(V_m \cdot C)$$

Le tracé de l'équation (1) ci-dessus en fonction de P/P^0 donne une droite quand le modèle BET est vérifié:



L'ordonnée à l'origine B et la pente A de la droite donnent les valeurs de C_{BET} et V_m . Dans la suite de l'étude, les résultats issus de ces calculs ne seront donnés que pour des coefficients de régression linéaire R supérieurs à 0,9999. En effet, une faible déviation sur la droite peut entraîner une grande variation de C_{BET} . Pour un calcul précis de C_{BET} , pour chaque isotherme il a été utilisé l'intervalle de pression donnant le meilleur coefficient de régression linéaire.

Le calcul de la surface BET (S_{BET}) à partir du volume de la monocouche (V_m) est le suivant :

$$S_{BET} = \frac{V_m A_m N_A}{V_{N_2}} \quad (4)$$

V_{N_2} = volume molaire de l'azote (22,4 l)

N_A = nombre d'Avogadro ($6,022 \cdot 10^{23}$)

A_m = surface recouverte par une molécule d'azote (0,162 nm²)

Il faut noter que la surface recouverte par une molécule d'azote adsorbée dépend fortement de l'interaction entre la molécule et la surface [5]. Cette valeur classique est de 16,2 Å². Sur une surface où l'interaction avec la molécule d'azote est forte, A_m sera pris égal à 13,5 Å². La surface ainsi calculée sera notée S^* .

L'interaction de l'azote avec la surface pourra être quantifiée par la valeur de C_{BET} , qui dépend de l'énergie d'adsorption de l'azote sur cette surface. L'énergie d'interaction avec la surface peut comprendre différents termes correspondant aux différents types d'interaction. L'énergie d'une molécule d'azote à une distance z de la surface peut être décomposée ainsi [6]:

$$\Phi(z) = \Phi D + \Phi R + \Phi P + \Phi F\mu + \Phi FQ$$

Avec $\Phi D + \Phi R$ qui dérivent des forces "dites" de dispersion, à la fois attractives (ΦD) et répulsives à très courte distance (ΦR), décrites par le potentiel de Lennard-Jones

ΦP traduit la polarité induite par une surface polaire sur la molécule

$\Phi F\mu$ traduit l'interaction entre une surface polaire et une molécule polaire

ΦFQ traduit l'interaction quadripolaire.

La molécule d'azote possédant un moment quadripolaire mais pas de dipôle permanent, seul $\Phi F\mu$ n'existe pas dans le cas présent.

La variation de C_{BET} et de l'énergie d'adsorption peut donc nous renseigner sur la nature de la surface et notamment sur le recouvrement de surface obtenu par fonctionnalisation : un bon recouvrement de surface avec des molécules organiques va changer la nature des interactions mises en jeu avec l'azote. La surface sera beaucoup moins polaire et les termes ΦP et ΦFQ vont diminuer fortement ou disparaître. De même, plusieurs ouvrages ont montré que l'énergie de dispersion ($\Phi D + \Phi R$) diminue avec le recouvrement de surface [7, 8]. Un bon recouvrement de surface entraînera une diminution de Φ donc de E_1 et de C_{BET} . Classiquement pour une interaction forte avec la surface comme pour une surface de silice hydroxylée, $C_{BET}=100$ et, pour une interaction faible avec la surface comme pour une surface de silice recouverte d'une couche dense d'organique, $C_{BET}=20$.

III.3.4. Calcul de la surface – Courbe t

Cette courbe consiste à porter le volume de gaz en fonction de l'épaisseur moyenne de la multicouche d'azote (notée t) : $V_{\text{ads}} \text{ (ml/g STP)} = f(t \text{ (Å)})$

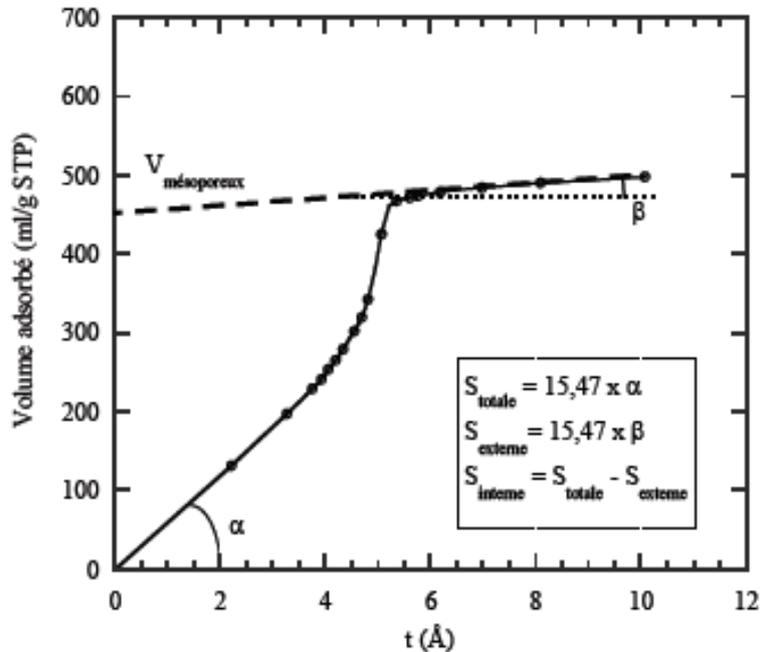


Figure (II.8) : Courbe t typique d'un MTS mésoporeux.

Sur la Figure II-8 est présentée la courbe t typique d'un MTS silicique mésoporeux. Aux faibles valeurs de t, la courbe est linéaire et passe par l'origine, montrant ainsi l'absence de microporosité. Les évolutions linéaires pour de faibles et de grandes valeurs de t correspondent à une adsorption multicouche sans phénomène de condensation capillaire. Le volume adsorbé est proportionnel à l'épaisseur d'azote et à la surface recouverte. La surface mise en jeu est proportionnelle à la pente de la courbe moyennant une constante permettant la correction de densité de l'azote entre l'état gazeux et condensé. On obtient ainsi la surface totale pour des faibles valeurs de t par $S_{\text{totale}} = 15,47 \alpha$ et la surface externe après la condensation capillaire par $S_{\text{externe}} = 15,47 \beta$. L'extrapolation de la droite donnant la surface externe à $t = 0$ permet de connaître le volume mésoporeux exact, en éliminant la contribution du volume d'azote adsorbé sur la surface externe pour les faibles valeurs de t. Si le solide est microporeux ou présente une microporosité associée à une mésoporosité, la courbe t ne passe pas par l'origine. L'extrapolation de cette droite à $t = 0$ permet cette fois de connaître le volume microporeux.

L'avantage du tracé de la courbe t est qu'elle permet de distinguer la surface externe de la surface interne et de mettre en évidence la présence de microporosité. Si nous ne sommes pas certains que les solides analysés par adsorption/désorption d'azote à 77K soient uniquement mésoporeux, le tracé de la courbe t nous permettra de justifier ou non le calcul de la surface effectué par la théorie BET.

Le tracé d'une courbe t nécessite une courbe de référence pour effectuer la transformation de la pression relative en épaisseur d'azote. Cette courbe de référence peut être théorique ou expérimentale. De ce fait, toute la difficulté réside dans l'obtention d'une fonction permettant à partir des données expérimentales ou théoriques de convertir P/P^0 en t en tenant compte de la surface étudiée.

a. Isotherme de référence expérimentale pour le tracé de la courbe t

Afin de rendre compte des interactions entre l'azote (adsorbat) et le support (adsorbant) pour le calcul de l'épaisseur de la couche d'azote en fonction de la pression relative, les chercheurs utilisent des solides de référence. Au laboratoire, la plupart des analyses effectuées en adsorption/désorption d'azote à 77K se font sur des surfaces siliciques. De ce fait, quoi de plus naturel que de choisir une silice non-poreuse comme solide de référence. Cependant dans la littérature, il existe déjà des références. En effet Sing *et al.* [9] proposent d'utiliser un solide silicique afin d'estimer l'épaisseur de la couche adsorbée en fonction de la pression relative. Au laboratoire, nous avons choisi, une silice non poreuse de type Aérosil 200 comme référence.

b. Courbe de référence théorique pour le tracé de la courbe t

La modélisation de l'épaisseur de la couche d'azote peut être obtenue par différentes équations :

Le modèle Harkins et Jura :
$$t = \sqrt{\frac{13,99}{0,34 - \log\left(\frac{P}{P^0}\right)}}$$

Le modèle de Halsey :
$$t = 3,54 \left(\frac{-5}{\ln(P/P^0)} \right)$$

Le modèle Frankel, Halsey et Hill (FHH) : $t = 3,54 \left(\frac{-P}{\ln P/P^0} \right)^{1/S}$

On constate que le modèle de Halsey est un cas particulier du modèle FHH dans lequel $b =$ paramètre énergétique pour l'adsorption de la monocouche et S compris entre 2 et 3 ou plus bas pour des surfaces non polaires

c. Utilisation de la courbe t

En théorie la surface spécifique calculée par la théorie BET est valable pour des matériaux présentant une isotherme de type IV. Lorsque les solides présentent des isothermes de type I dont la porosité est à la limite de la mésoporosité, il sera intéressant de savoir si la surface accessible est une surface provenant d'une microporosité ou bien une surface externe.

III.3.5. Calcul de la taille des pores

a. Méthode de Gurvitsch

Si la porosité est due à des mésopores cylindriques, l'expression mathématique reliant le diamètre moyen D (nm) des pores au volume et à la surface des pores est la suivante:

$$D = \frac{4V}{S} 10^3$$

Avec $V =$ volume mésoporeux (ml/g)

$S =$ surface spécifique (m²/g)

Avec une approche similaire, si la porosité est engendrée par un agrégat de sphères, l'expression mathématique suivante nous renseignera sur le diamètre moyen des sphères D (μm) :

$$D = \frac{6}{S\rho}$$

$S =$ surface spécifique (m²/g)

$\rho =$ masse volumique du matériau (g/cm³)

Il faut garder à l'esprit que les résultats donnés par ce type de méthode sous-entendent que les particules ou les pores sont uniformes. Dans le cas contraire il s'agira d'une évaluation moyenne.

b. Méthodes dérivées de l'équation de Kelvin

L'équation de Kelvin définit la pression de condensation capillaire dans les pores pour une transition liquide-vapeur (soit pour l'azote une pression relative supérieure à 0,43). Cette équation ne tient pas compte du film d'adsorbât présent à la surface des pores avant la condensation capillaire, et sous-estime ainsi la taille des pores. Barret, Joyner et Halenda (BJH) [10] ont affiné le modèle en additionnant l'épaisseur du film adsorbé au diamètre de pore. Plusieurs modèles ont été proposés pour l'évaluation de cette épaisseur (Halsey [11] ou Harkins et Jura [12]). Mais tous ces modèles sous-estiment encore le diamètre des pores [13] car ils ne tiennent pas compte des interactions entre les molécules adsorbées et les parois du pore, ni des effets de courbure à l'intérieur du pore. Deux paramètres supplémentaires ont été introduits par Broekhoff et De Boer [14] pour affiner le modèle sur ces deux points. Ils ont d'abord défini une épaisseur d'équilibre de la couche adsorbée tenant compte de la courbure du pore. Puis ils ont ajouté un terme de variation d'enthalpie libre du système au cours de l'ajout de molécules de liquide. Les diamètres de pores évalués par cette méthode (notée par la suite BdB) sont en accord avec les valeurs obtenues par la méthode 4V/S [13]. La méthode BdB tenant en compte la courbe de désorption de l'isotherme sera donc la méthode utilisée par défaut dans cette étude pour le calcul de diamètre de pores des SMS.

III.4. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les analyses ont été effectuées au service de la Plateforme Analytique Commune (PAC) du Pôle Chimie Balard sur un microscope HITACHI S4800 à effet de champ.

Préparation des échantillons :

Quelques mg des matériaux, sous forme de poudre, sont fixés sur un plot en aluminium puis métallisés au platine avant d'être placés dans le microscope.

Dispositif expérimental :

Les techniques de microscopie électronique sont des méthodes de caractérisation directe des matériaux mésoporeux à la différence des techniques précédemment présentées qui nécessitent une exploitation des données. La Microscopie électronique à balayage est une technique qui permet de visualiser directement la morphologie des particules. Elle consiste à

balayer la surface d'un échantillon à l'aide d'un faisceau d'électrons de très haute énergie. L'interaction entre les électrons et le matériau conduit à l'émission d'électrons rétrodiffusés, de rayons X ainsi que d'électrons secondaires. Ces derniers sont de faible énergie et proviennent des régions superficielles de l'échantillon, ils sont donc sensibles à la topographie du matériau. Ces électrons sont envoyés vers un détecteur qui transmet le signal à un écran dont le balayage est synchronisé avec le balayage de l'échantillon. Le contraste de l'image traduit le relief de l'échantillon. Ces électrons secondaires permettent ainsi la reconstruction d'une image agrandie de la surface.

III.5 Spectrométrie de masse (MS)

La spectrométrie de masse est un outil de choix pour l'analyse des lipides, en raison de la grande sensibilité et de la sélectivité des appareils, du couplage possible avec la chromatographie liquide, de l'accès aux structures moléculaires fines mais aussi de la gamme étendue de polarité analysable. Un spectromètre de masse est composé d'une source d'ionisation, d'un analyseur ainsi que d'un détecteur. La source produit des ions gazeux à partir des molécules introduites et celles-ci sont ensuite séparées en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) dans l'analyseur, avant d'être acheminées vers le détecteur. La nature de la source d'ionisation utilisée dépend des caractéristiques physicochimiques des molécules étudiées.

Conditions d'analyse

Les analyses sont effectuées sur un spectromètre de masse Micromass Q-ToF (Waters, 2001) équipé d'une source ESI. Le spectre de masse est enregistré en mode positif, entre 50 et 1500 Da. La tension de capillaire est de 3000 V et la tension de cône de 30 V.

IV. Références bibliographiques

- [1] C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, J.C. Vartuli, J.S. Beck, *Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism*. Nature, 359 (1992) 710-712.
- [2] P.T. Tanev, T.J. Pinnavaia, *A neutral templating route to mesoporous molecular sieves*. Science, 259 (1995) 865-867.
- [3] S. Brunauer, P.H. Emmet, E. Teller, *Adsorption of Gases in Multimolecular Layers*. Journal of the American Chemical Society, 60 (1938) 309-319.
- [4] F. Rouquerol, J. Rouquerol, K. Sing, *Adsorption by powders and porous solids - Principle, methodology and applications*. 1999, San Diego: Academic Press.
- [5] L. Jelinek, E.S. Kovats, *True surface areas from nitrogen adsorption experiments*. Langmuir, 1994. **10**: p. 4225-4231.
- [6] S.J. Gregg, K.S.W. Sing, *Adsorption, surface area, and porosity*. 1982, London: Academic Press.
- [7] E. Papirer, H. Balard, *Surface energy of silicas*, in *The surface properties of silicas*, A.P. Legrand, Editor. 1998, Wiley: Chichester. p. 315-364.
- [8] E. Papirer, H. Balard, C. Vergelati, *Surface energetics of silica Investigation by inverse gas chromatography*, in *Adsorption on silica surfaces*, E. Papirer, Editor. 2000, Marcel Dekker, Inc.: New York. p. 205-241.
- [9] M.R. Bhambhani, P.A. Cutting, K.S. Sing, D.H. Turk. *Analysis of Nitrogen Adsorption Isotherms on Porous and Nonporous Silicas by the BET and α_s Methods*. J. Colloid Interface Sci., 38 (1972) 109-117.
- [10] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P. Halenda, *The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms*. Journal of the American Chemical Society, 73 (1951) 373-380.
- [11] G.D. Halsey, *The role of surface heterogeneities in adsorption*. Advances in Catalysis, 4 (1952) 259-269.
- [12] W.D. Harkins, G. Jura, *An absolute method for the determination of the area of a finely divided crystalline solid*. Journal of the American Chemical Society, 66 (1944) 1362-1366.

- [13] A. Galarneau, D. Desplandier, R. Dutartre, F. Di Renzo, F. *Micelle-templated silicates as a test bed for methods of mesopore size evaluation*. *Microporous and Mesoporous Materials*, 27 (1999) 297-308.
- [14] J.C.P. Broekhoff, J.H. De Boer, *Studies on pore systems in catalysts - XIII. Pore distributions from the desorption branch of a nitrogen sorption isotherm in the case of cylindrical pores*. *Journal of Catalysis*, 10 (1968) 377-390.

Chapitre III : Caractérisation des phospholipides utilisés

Le but de ce chapitre est de quantifier et caractériser les différents types de phospholipides. Pour cela, nous avons choisi la spectroscopie de masse comme technique de caractérisation.

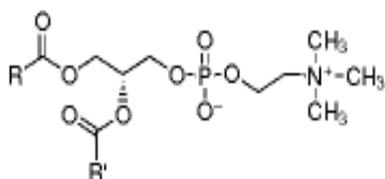
I. Identification des phospholipides par spectroscopie de masse

Pour identifier les phospholipides de différentes sources et différents degrés de pureté, on a commencé par les phospholipides purs puis on a caractérisé les mélanges des phospholipides.

I.1. Phospholipides de référence

Vu le prix élevé des phospholipides purs, ils ont été utilisés seulement pour la caractérisation et non pas pour les synthèses. Les phospholipides de référence utilisés sont : phosphatidylcholine (PC) d'oeuf, phosphatidylethanolamine (PE) et l'acide phosphatidique (PA) (Sigma).

I.1.1. Phosphatidylcholine (PC)



R1, R2= acides gras

Figure I.1 : Formule chimique de PC

La phosphatidylcholine est un cation moléculaire protoné dû à la charge positive formée par l'ammonium quaternaire ; il sera donc détecté par un mode ionique positif. En mode positif, la PC donne un ion abondant et caractéristique à m/z 183,1 qui correspond à la phosphocholine et un ion d'intensité double à m/z 282,3, correspondant à l'acide oléique (18:1), ce qui montre qu'une partie significative de la phosphatidylcholine a été dégradée, ou bien dans le stockage du produit ou bien dans les conditions d'ionisation utilisées. Ceci est confirmé par les ions à m/z 620,2 et 694,2, qui correspondent aux acides phosphatidiques PA

(14:0, 16:0) et PA (16:0, 18:1). On observe cependant aussi les espèces moléculaires à m/z 782,5 (PC (16 :0, 18 :0)), m/z 790,5 (PC (18 :0)) et m/z 818,6 (PC (18 :0,20 :0)).

On remarque aussi que le spectre est pollué par des ions à m/z 149, 177, 223,1, 371,1, 445,1, et 519,1, typique d'une huile de pompe polydiméthylsiloxane.

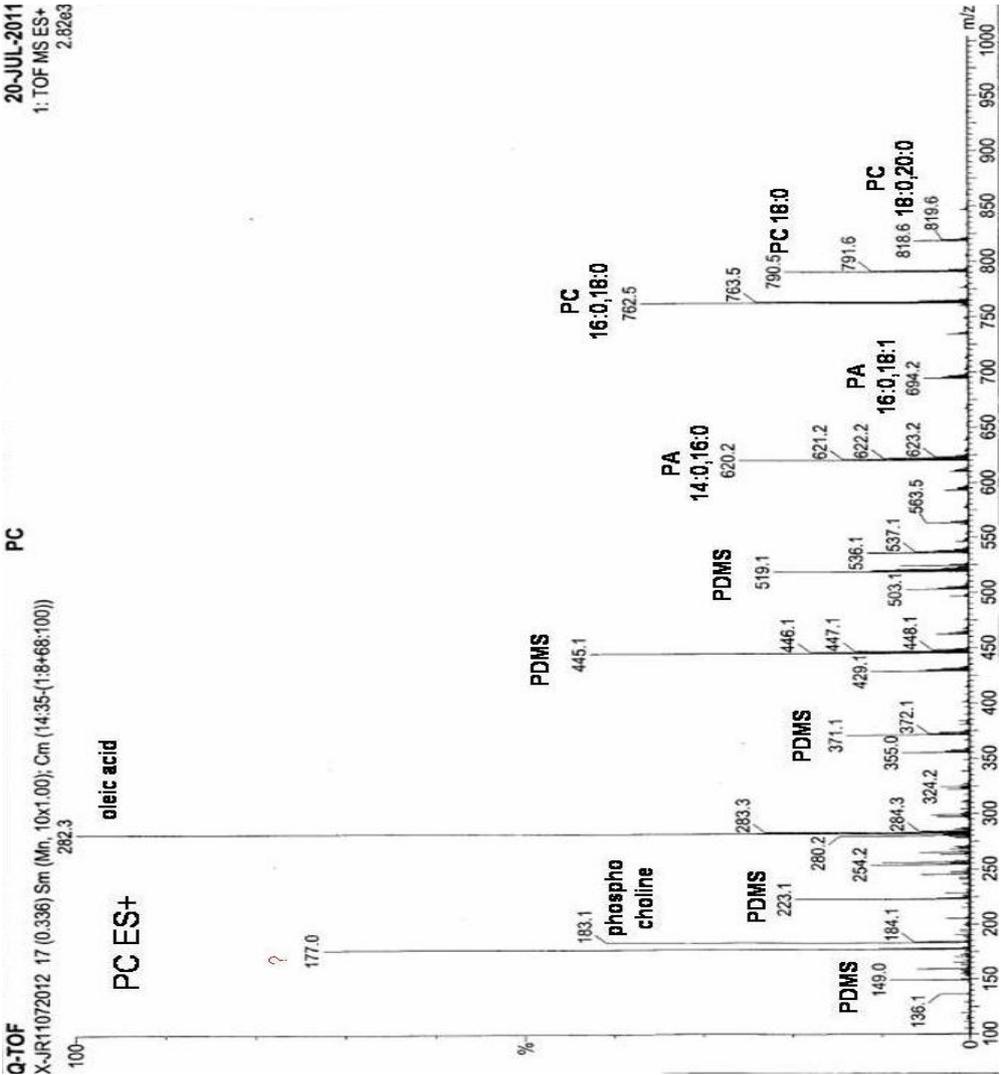


Figure (III. 1) : Spectres obtenus en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1000 de la PC.

I.1.2. Phosphatidylethanolamine (PE)

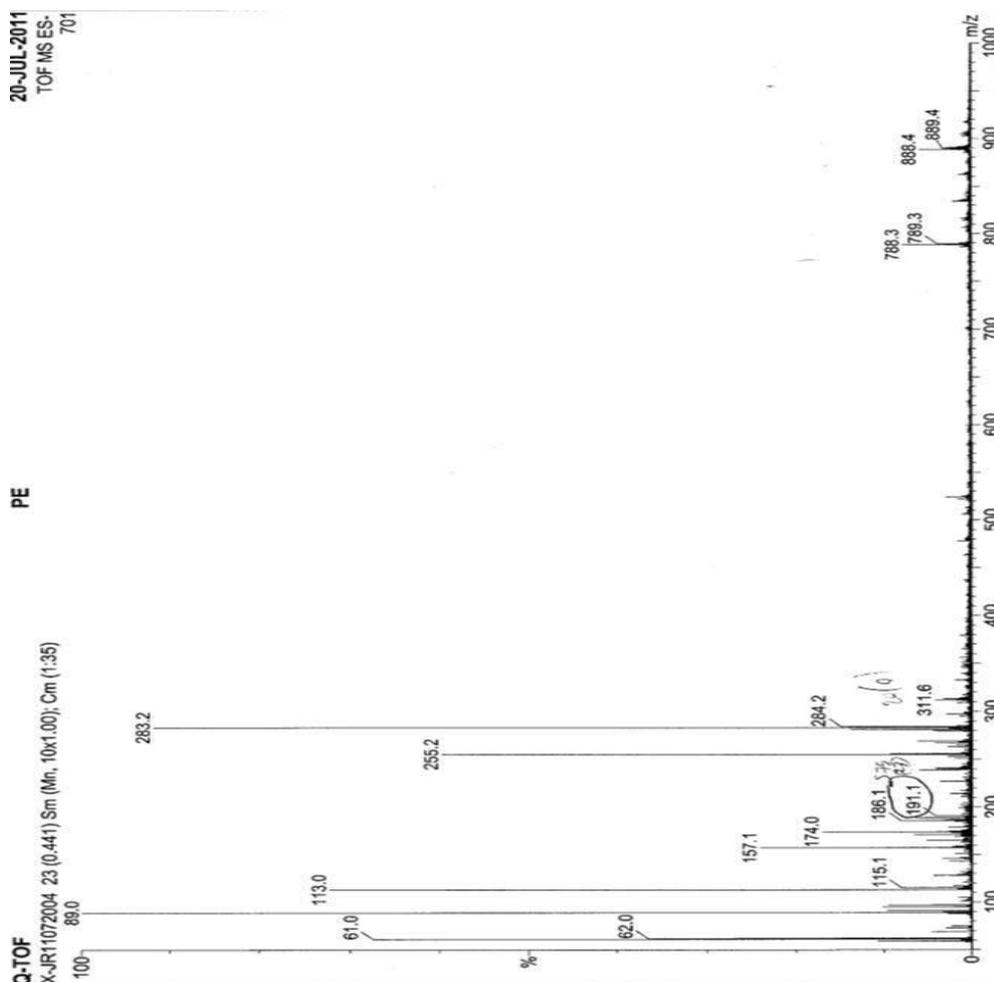
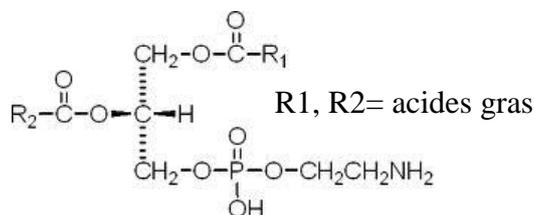


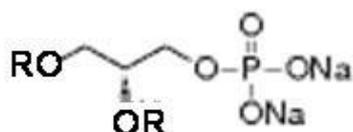
Figure (III. 2) : Spectres obtenus en TOF-MS en mode négatif entre m/z 100 et 1000 de phosphatidylethanolamine extraite de cerveau ovin.

Nous avons analysé deux échantillons de PE (Sigma-Aldrich) qui diffèrent par leur source, cerveau ovin ou grains de soja. Le spectre en ionisation négative de la PE d'origine animale (Fig. III.2) présente les pics intenses de la choline à m/z 89 et des acides palmitique (16:0) et stéarique (A 18:0) à m/z 255,2 et 283,2. Des faibles pics d'espèces moléculaires sont observés à m/z 788,3 et 888,4, correspondant aux PE : PE (20:4) et PE (22:0, 24:0). Ce résultat suggère que, dans ce cas, les liaisons esters des acides gras à chaîne moins longue ont été

dégradées préférentiellement. On peut remarquer que la présence d'acides gras saturés à très longue chaîne (22:0 et 24:0) correspond à l'origine du produit déclarée par le fabricant (cerveau ovin), puisque des acides gras de cette longueur ne sont communs que dans les lipides du cerveau ou du lait [1].

Le spectre en ionisation négative de la PE de soja (Fig. III.3) diffère du spectre précédent en présentant l'ion à 279,9 m/z typique de l'acide linoléique (A 18:2) et les ions moléculaires à 714,3 et 738,3 m/z correspondant à la PE 16:0,18:3 et à la PE 18:2,18:3. En effet, les acides gras les plus présents dans la PE de soja sont l'acide linoléique (A 18:2) pour 65 %, l'acide palmitique (A 16:0) pour 18 % et l'acide linoléique (A 18:3) pour 7 % [1].

II.1.3. L'acide phosphatidyque (PA)



Le spectre de l'acide phosphatidyque issu de lécithine d'oeuf présente des signaux importants de produits de dégradation à m/z 255,2 (acide palmitique, A 16:0) et 281,2 (acide oléique, A 18:1) ainsi que des signaux plus faibles à m/z 283,2 (acide stéarique, A 18:0) et 303,2 (acide arachidonique, A 20:4). Des ions correspondants à des produits de rupture d'une seule liaison ester apparaissent à m/z 409,1 (acide lysophosphatidyque LPA 16:0) et 435,1 (LPA 18:1) et, d'intensité plus faible, 437,2 (LPA 18:0). L'ion moléculaire le plus intense est observé à m/z 673,3 (acide phosphatidyque PA 16:0,18:1), accompagné d'ions à m/z 699,3 (PA 18:1 ou PA 18:0,18:2), 701,3 (PA 18:0) et 723,3 (PA 18:0,20:4).

On remarque que les acides gras observés correspondent à ceux attendus pour un produit de la lécithine d'oeuf, pour laquelle la distribution d'acide gras est de 33% acide palmitique (A 16:0), 32 % acide oléique (A 18:1), 17 % acide linoléique (A 18:2), 12 % acide stéarique (A 18:0), 3 % acide arachidonique (A 20:4).

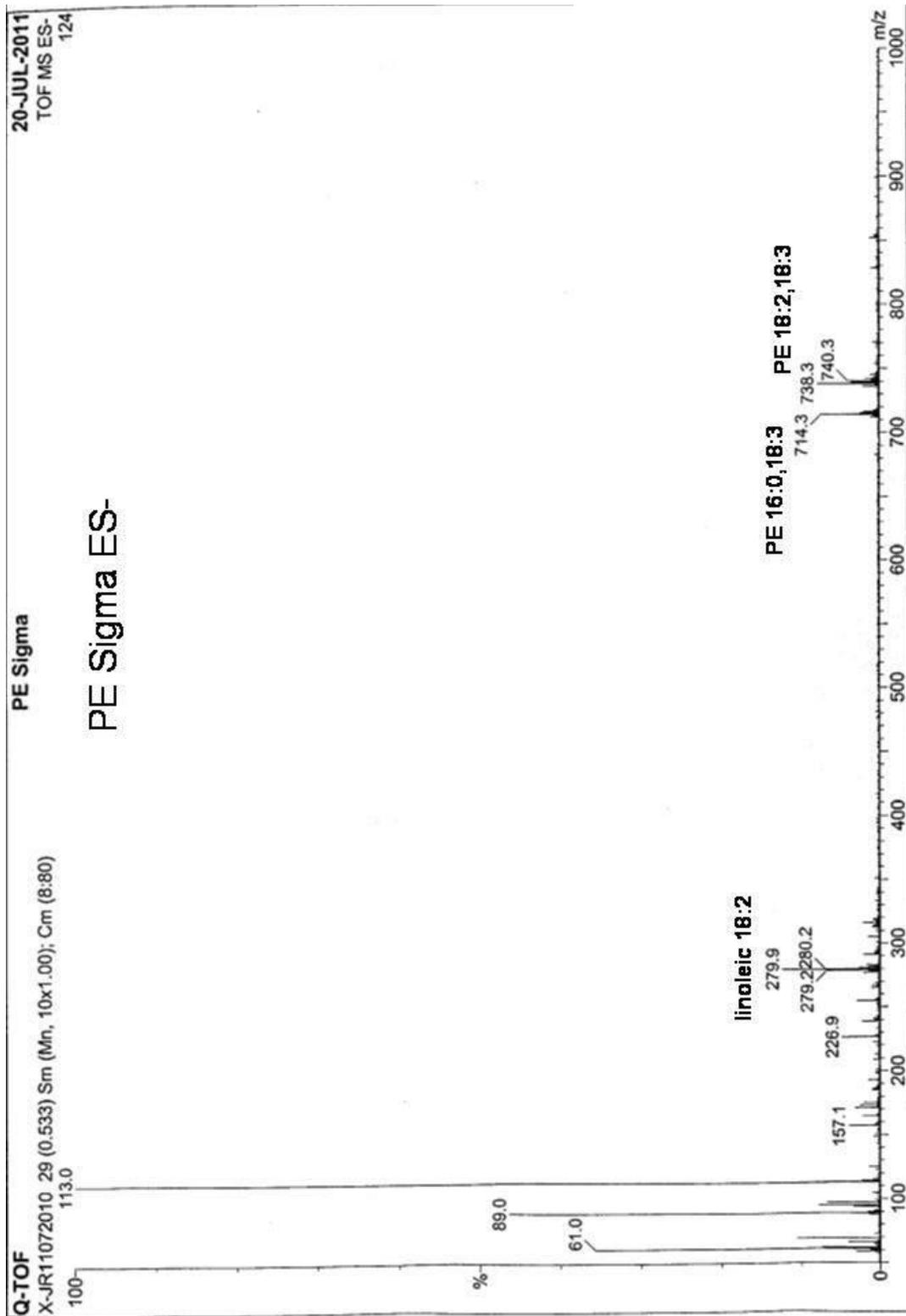


Figure (III.3) : Spectres obtenus en TOF-MS en mode negatif entre m/z. 100 et 1000 de phosphatidylethanolamine de soja.

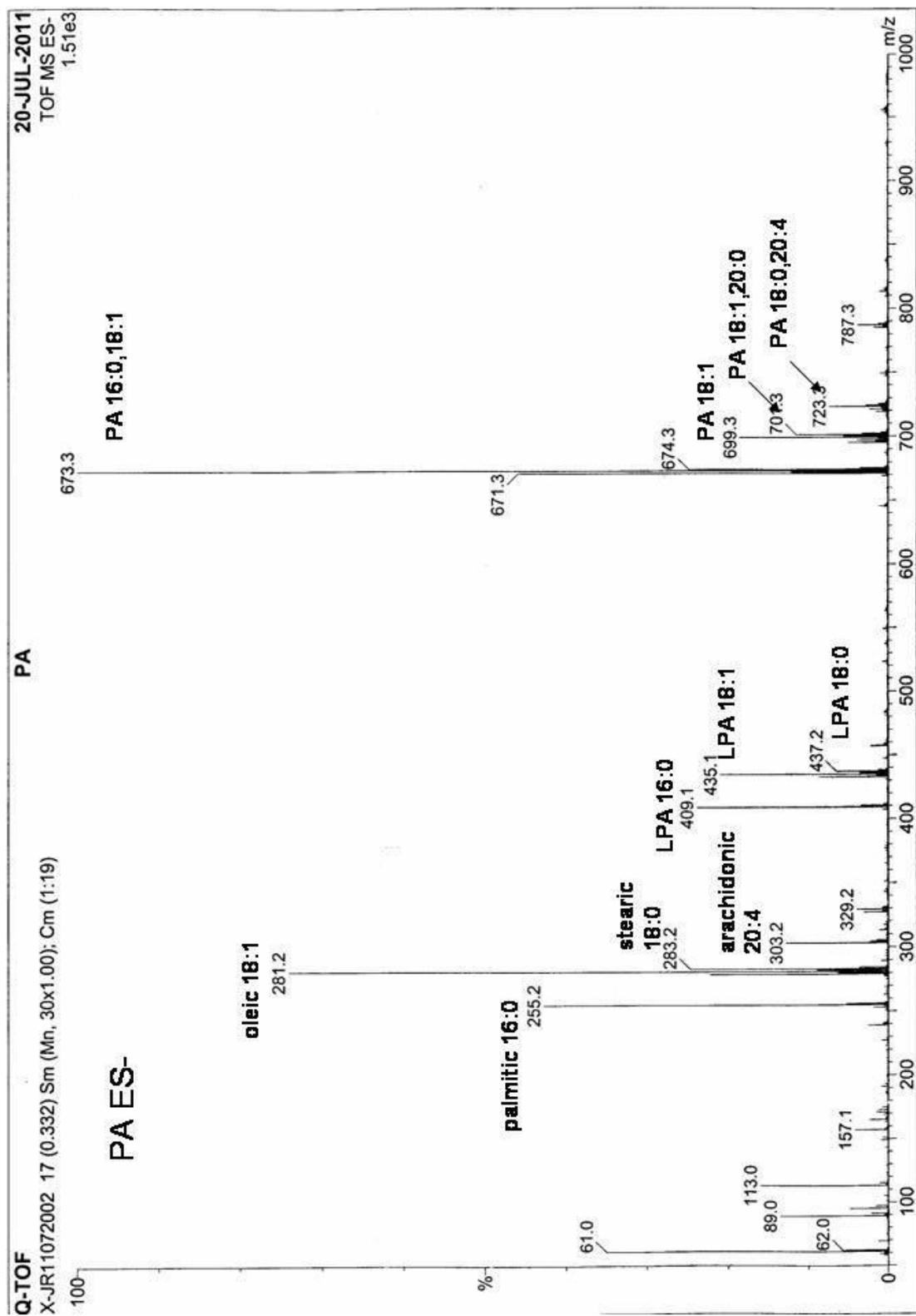


Figure (III. 4) : Spectres obtenus en TOF-MS en mode négatif entre m/z 00 et 1000 de l'acide phosphatidique.

I.2. Phospholipides divers

Pour mieux comprendre les résultats obtenus dans le cinquième chapitre « effet des différents phospholipides » concernant les différents matériaux mésoporeux obtenus par

utilisation des phospholipides variés, il sera très important de connaître la composition exacte de chaque phospholipide. Nous allons donc pour chacun vérifier leur composition en fonction des degrés de purification, l'influence que peut avoir l'origine du produit (fournisseur) et enfin l'effet de l'hydrogénation.

I.2.1. Effet de la pureté

Trois lécithines de soja à différents degrés de purification (S45 au 45 %, S75 au 75 %, S100 au 100 %) ont été fournies par Lipoid. Les spectres de masse à ionisation positive correspondants sont présentés dans les figures III.5, III.6 et III.7. On peut remarquer que ces spectres présentent nettement moins de signaux correspondants à des produits de dégradation des lécithines, probablement à cause d'une meilleure conservation des échantillons.

Tableau III.1. Composition des lécithines de soja à différents niveaux de purification

		S45	S75	S100
Phosphatidyl cholines		0.75	0.94	0.98
Lysophosphatidyl cholines		0.13	0.05	0.01
Phosphatidyl ethanolamines		0.10	0.02	0.01
Lysophosphatidyl ethanolamines		0.02	0.00	0.00
palmitique	16:0	0.14	0.12	0.16
stearique	18:0	0.01	0.00	0.01
oleique	18:1	0.16	0.17	0.19
linoléique	18:2	0.52	0.50	0.46
linoléinique	18:3	0.15	0.22	0.16
gadoléique	20:1	0.00	0.00	0.01
gadoléinique	20:2	0.00	0.00	0.01
saturés		0.16	0.12	0.17
insaturés		0.84	0.88	0.83

L'identification des ions présents et la mesure de l'intensité de leurs signaux nous ont permis d'établir la composition des trois lécithines de soja, qui est reportée dans le Tableau III.1 sous forme de fractions molaires.

On remarque que les lysophosphatidylcholines et les phosphatidyléthanolamines, présentes au 13 % et 10 % dans la S45, diminuent au cours de la purification, en laissant dans l'échantillon S100 les phosphatidylcholines pures à 98 %.

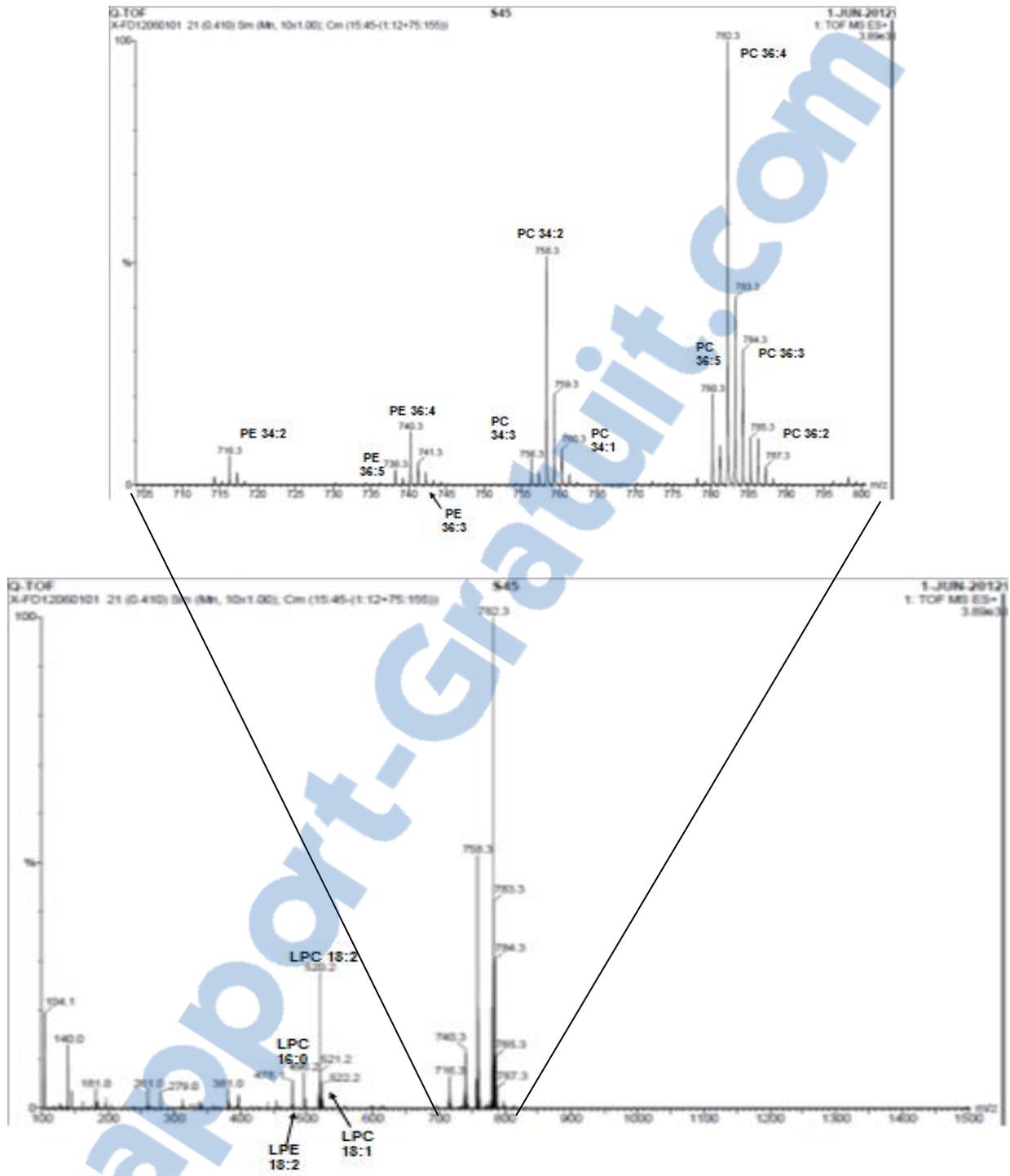


Figure (III. 5) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1000 de la S45.

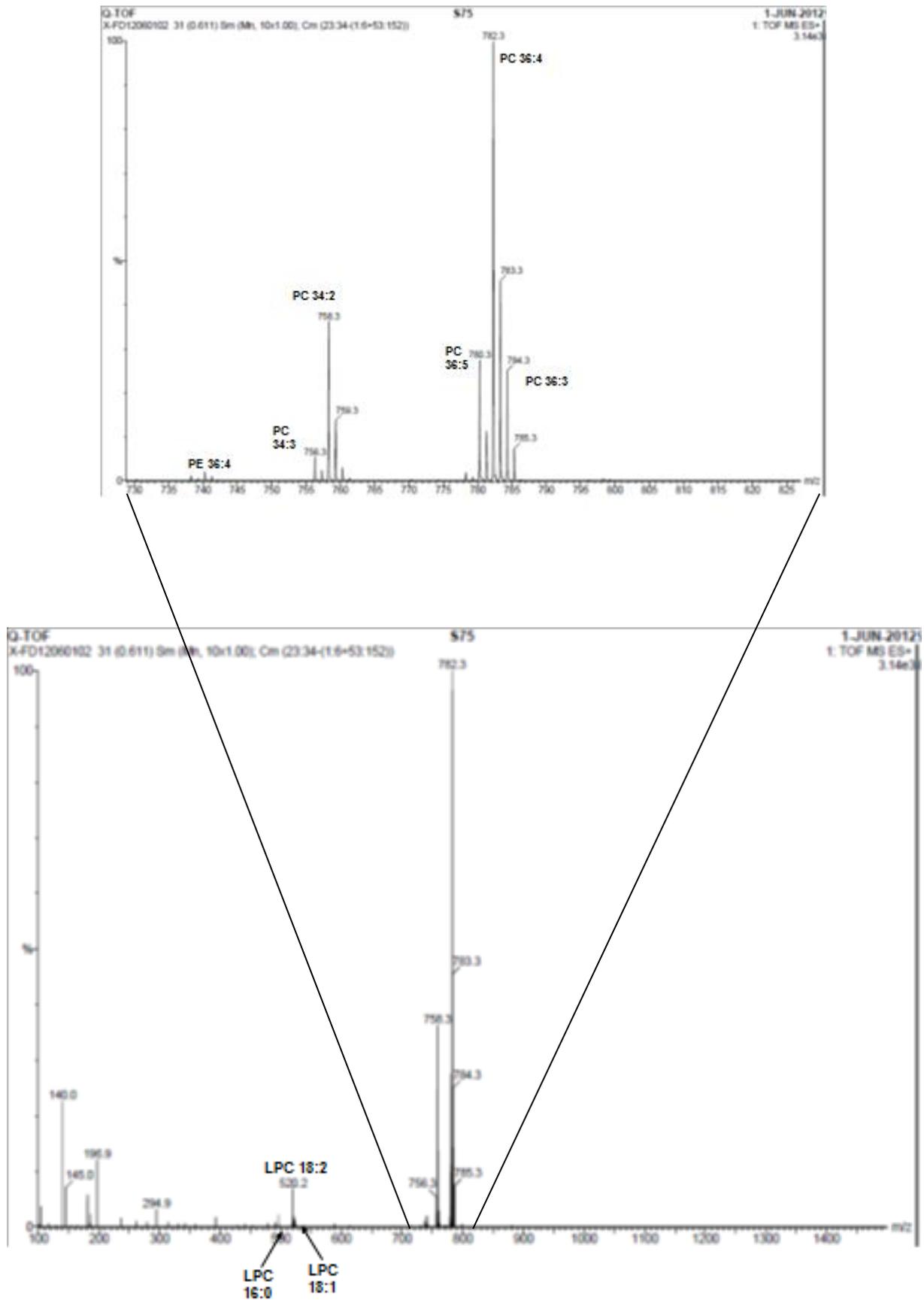


Figure (III. 6) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1000 de la S75.

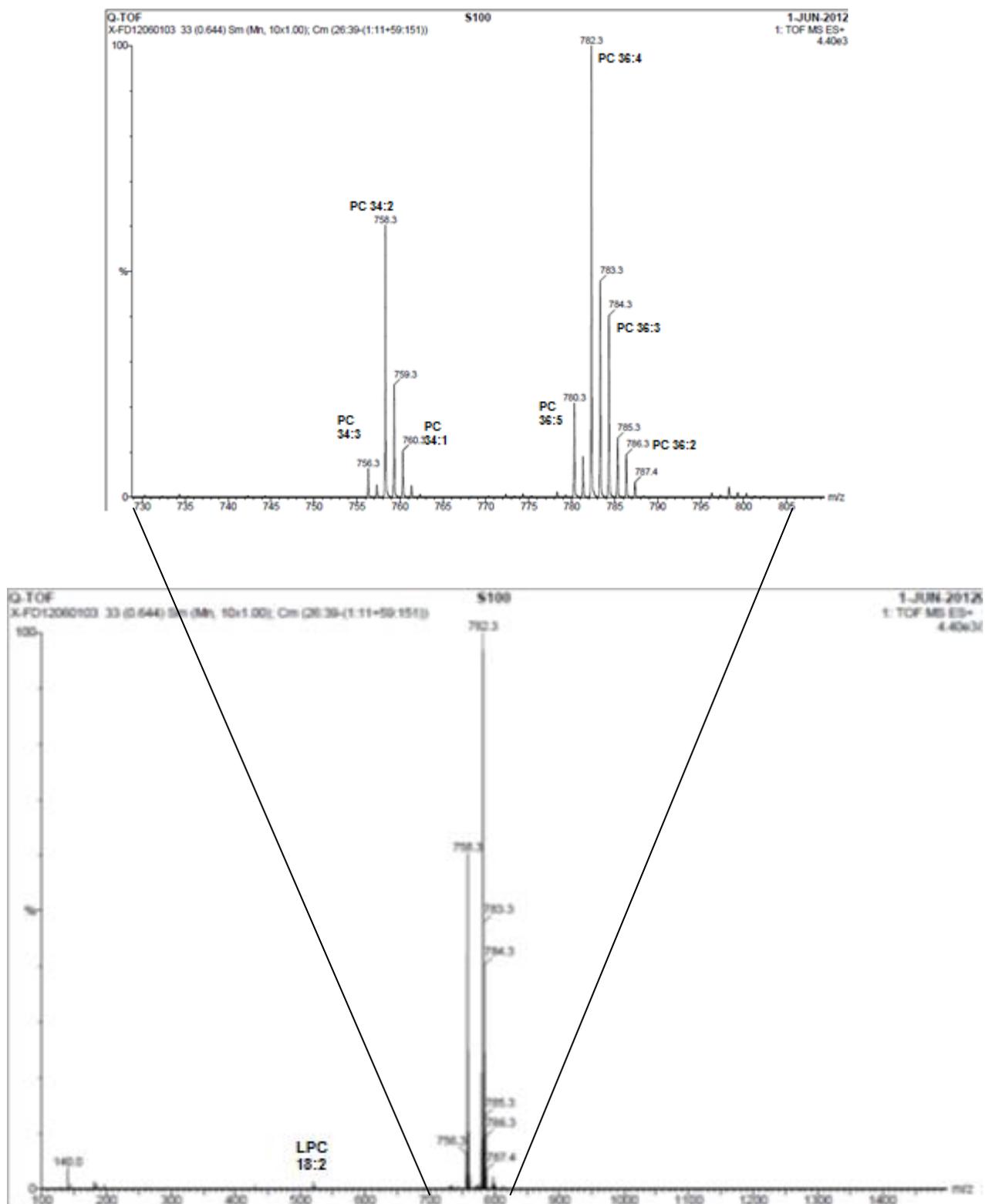


Figure (III. 7) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1000 de la S100.

Quels peuvent être les effets du degré de pureté sur les propriétés physiques des couches lipidiques? L'effet sur la courbure des membranes est probablement peu important, puisque la tendance à la courbure spontanée positive des lysophosphatidylcholines peut être compensée par la forte tendance aux courbures spontanées négatives des phosphatidyléthanolamines [2]. La présence de ces composantes pourrait avoir un effet sur la rigidité de la membrane. On peut remarquer que la présence des PE augmente la température de fusion des couches lipidiques [3], tandis que les lysophosphatidylcholines ne baissent cette température que quand elles sont présentes en concentration supérieure à 40 % dans la lécithine [4].

La purification ne change pas de façon significative la distribution des acides gras. La distribution des acides gras dans la lécithine de soja S100 est assez proche de la distribution relevée dans la littérature [1] : acide linoléique (A 18:2) 63 %, acide palmitique (A 16:0) 15 %, acide oléique (A 18:1) 11 %, acide linoléique (A 18:3) 6 %, acide stéarique (A 18:0) 4 %.

II.2.2. Effet de la source

Nous avons comparé la composition de la lécithine d'oeuf purifiée E-100 par Lipoïd avec deux lécithines commerciales : une lécithine de soja Acros (S-Acros), une lécithine d'oeuf Aldrich (E-Aldrich). Leurs spectres de masse à ionisation positive sont reportés dans les figures III.8, III.9 et III.10. Leur composition est donnée dans le tableau III.2, où la composition de la lécithine Lipoïd S45 est aussi reprise à titre de comparaison.

Tableau III.2. Composition de lécithines de sources différentes

		S-Acros	S45	E-Aldrich	E-100
Phosphatidyl cholines		0.73	0.75	0.87	0.97
Lysophosphatidyl cholines		0.12	0.13	0.09	0.01
Phosphatidyl ethanolamines		0.11	0.10	0.01	
Lysophosphatidyl ethanolamines		0.03	0.02	0.01	
Phosphatidyl inositol				0.01	0.01
Spyngomyosides				0.01	
Palmitique	16:0	0.13	0.14	0.34	0.35
palmitoléique	16:1			0.01	0.01
stearique	18:0	0.01	0.01	0.17	0.10
oleique	18:1	0.17	0.16	0.23	0.26
linoléique	18:2	0.53	0.52	0.20	0.23
linoléinique	18:3	0.16	0.15	0.02	0.02
arachidonique	20:4			0.04	0.04
saturated		0.14	0.17	0.51	0.45
unsaturated		0.86	0.83	0.49	0.55

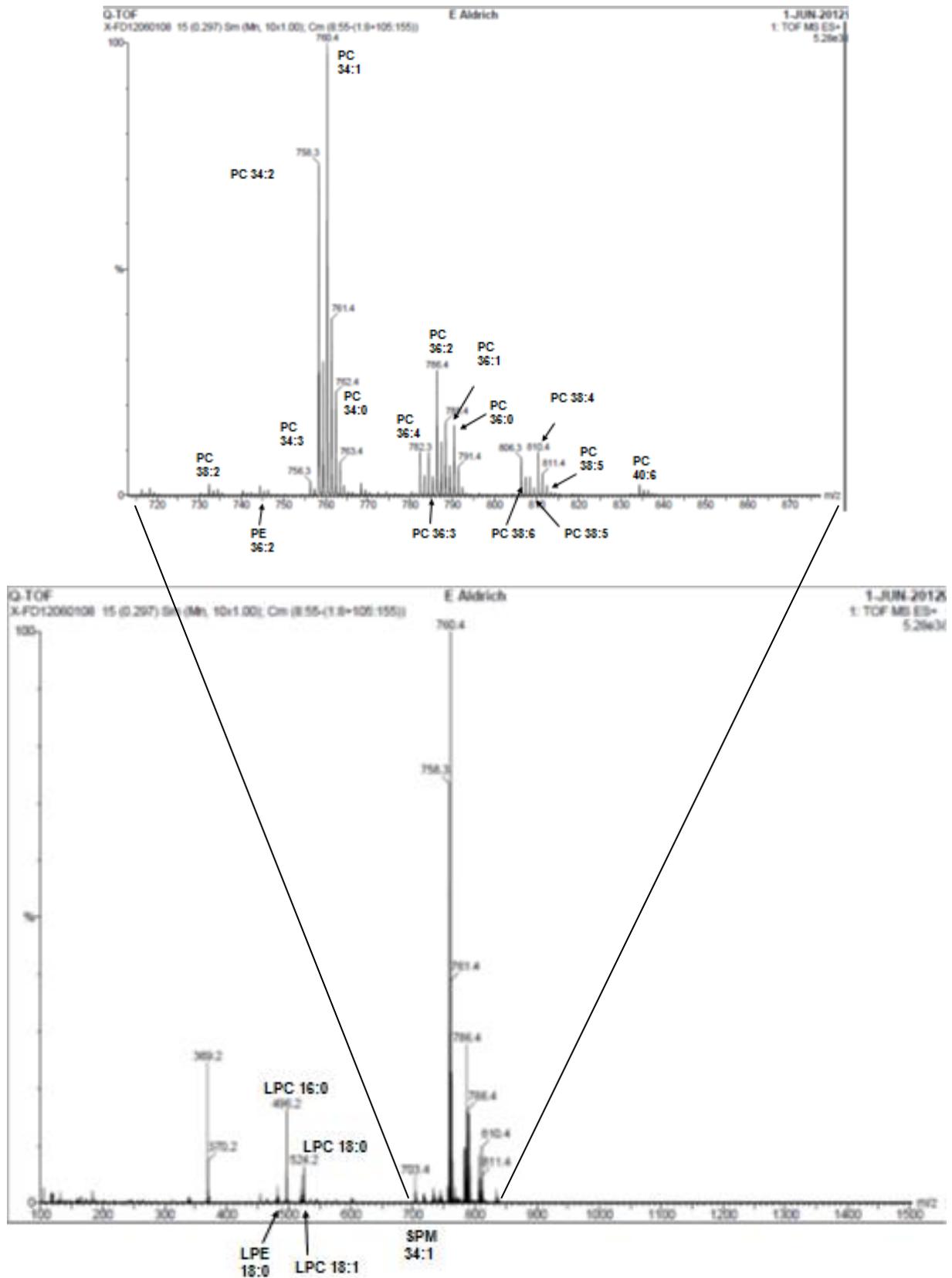


Figure (III. 9) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1400 de la E Aldrich.

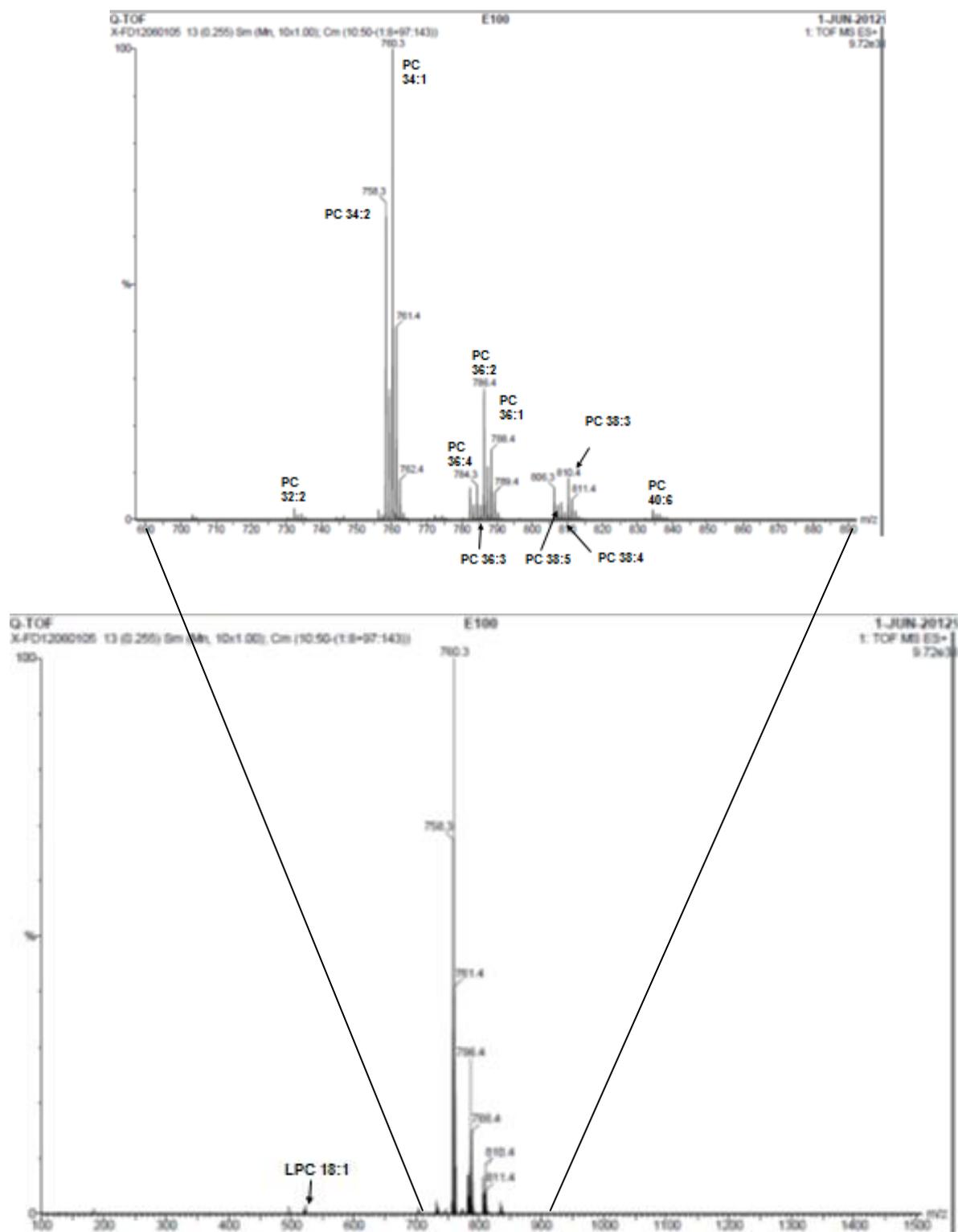


Figure (III. 10) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1500 de la E100.

On remarque que la lécithine de soja Acros a une composition extrêmement proche de la S45 Lipoid. En effet, on obtient les mêmes résultats avec les deux lots de lécithine.

La lécithine d'œuf a une composition bien différente de la lécithine de soja. En effet, la lécithine d'œuf technique de Sigma-Aldrich présente le 87 % de PC et le 9 % de lysoPC. D'autres composantes sont présentes en très petite quantité : la PE 18:1, la lysophosphatidylethanolamine LPE 18:0, le phosphatidylinositol PI 16:0,18:2 et PI 16:0,18:1, et la sphingomyéline.SPM 16:0,18:1. La lécithine Sigma-Aldrich a déjà été partiellement purifiée, puisque les phospholipides du jaune d'œuf présentent une composition de 75 % en PC, 19 % en PE, 2 % en PI et 4 % sphingomyélines [5]. La lécithine E-100 de Lipoid atteint une fraction de 98 % de PC, essentiellement par l'extraction des LPC.

Les acides stéariques (A 18:0) et oléiques (A 18:1) sont les composants principaux des chaînes acyliques des PE de jaune d'œuf [1], en bon accord avec les espèces que nous avons observées dans les PE et LPE. La lécithine purifiée de Lipoid contient 35 % acide palmitique (A 16:0), 26 % acide oléique (A 18:1), 23 % acide linoléique (A 18:0), 10 % acide stéarique (A 18:0) et 4 % acide arachidonique (A 20:4), en bon accord avec la composition de littérature : 34 % acide palmitique (A 16:0), 29 % acide oléique (A 18:1), 16 % acide linoléique (A 18:0), 14 % acide stéarique (A 18:0) et 4 % acide arachidonique (A 20:4) [6].

II.2.3. Effet de l'hydrogénation

Les spectres de masse en ionisation positive des lécithines hydrogénées de jaune d'œuf (EPC3) et de soja (S100H ou S100-3) fournies par Lipoid sont reportés en figure III.11 et III.12. Leur composition est donnée dans le tableau III.3, comparée avec la composition des lécithines non hydrogénées correspondantes, E-100 et S-100.

Dans le cas de l'hydrogénation de la lécithine de jaune d'œuf, nous constatons que les acides gras présents sont hydrogénés à 99 %. On observe l'apparition des lysophosphatidylcholine LPC 16:0 et LPC 18:0. On peut penser que le traitement d'hydrogénation a aussi conduit à la rupture de quelques liaisons esters dans les phosphatidylcholines. Une fraction importante de sphingomyéline SPM 16:0, 18:0 est mesurée ce qui indique que la lécithine de départ de l'hydrogénation de la EPC-3 était différente de la lécithine E-100, qui ne contient qu'une petite fraction de sphingomyéline SPM 16:0, 18:1..

Dans le cas de la lécithine de soja, l'hydrogénation de la S100H est complète. Elle a évidemment subi un traitement d'hydrogénation très poussé, qui a causé l'effet collatéral important de la rupture de presque la moitié des liaisons esters de la lécithine de départ. En effet, la S100H présente le 76 % molaire de LPC.

Tableau III.3. Composition de lécithines pures et lécithines hydrogénées.

		E-100	EPC-3	S100	S100H
Phosphatidyl cholines		0.97	0.78	0.98	0.24
Lysophosphatidyl cholines		0.01	0.12	0.01	0.76
Phosphatidyl ethanolamines				0.01	
Phosphatidyl inositol		0.01			
Sphingomyelines			0.10		
palmitique	16:0	0.35	0.47	0.16	0.19
palmitoléique	16:1	0.01			
stearique	18:0	0.10	0.51	0.01	0.74
oleique	18:1	0.26		0.19	
linoléique	18:2	0.23	0.01	0.46	
linoléénique	18:3	0.02		0.16	
arachidique	20:0		0.01		0.07
gadoléique	20:1			0.01	
gadoléénique	20:2			0.01	
arachidonique	20:4	0.04			
saturés		0.45	0.99	0.17	1.00
insaturés		0.55	0.01	0.83	

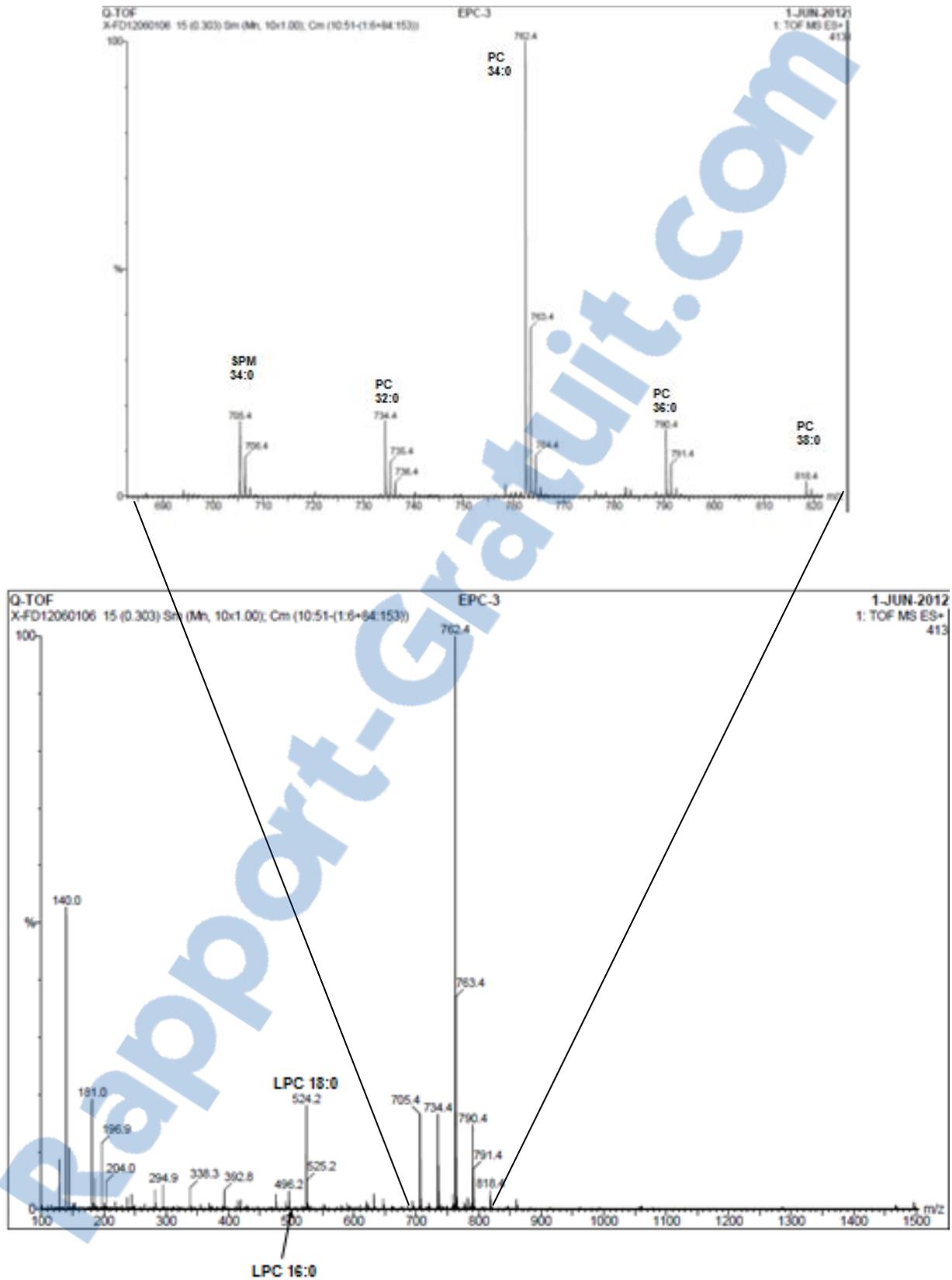


Figure (III. 11) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1500 de la lécithine de jaune d'oeuf hydrogénée EPC-3.

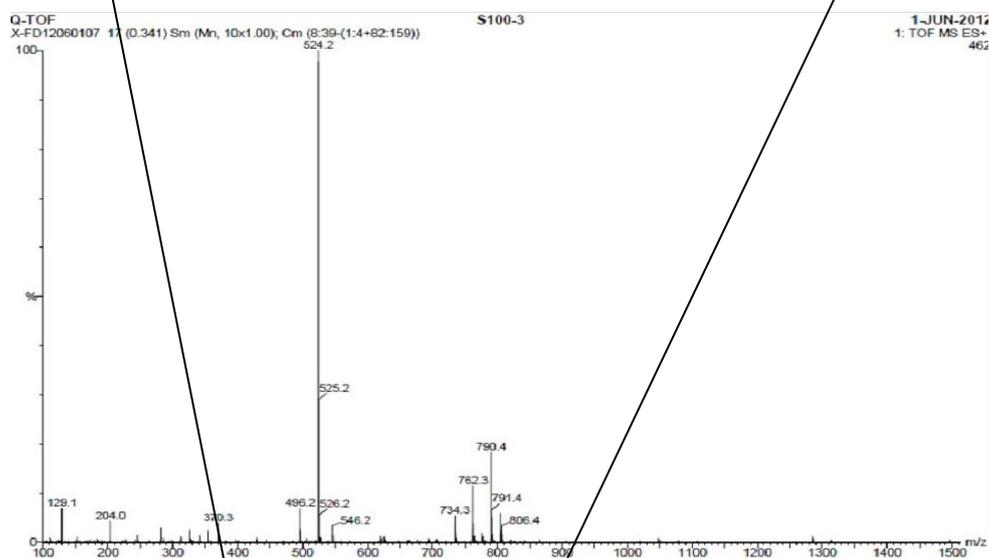
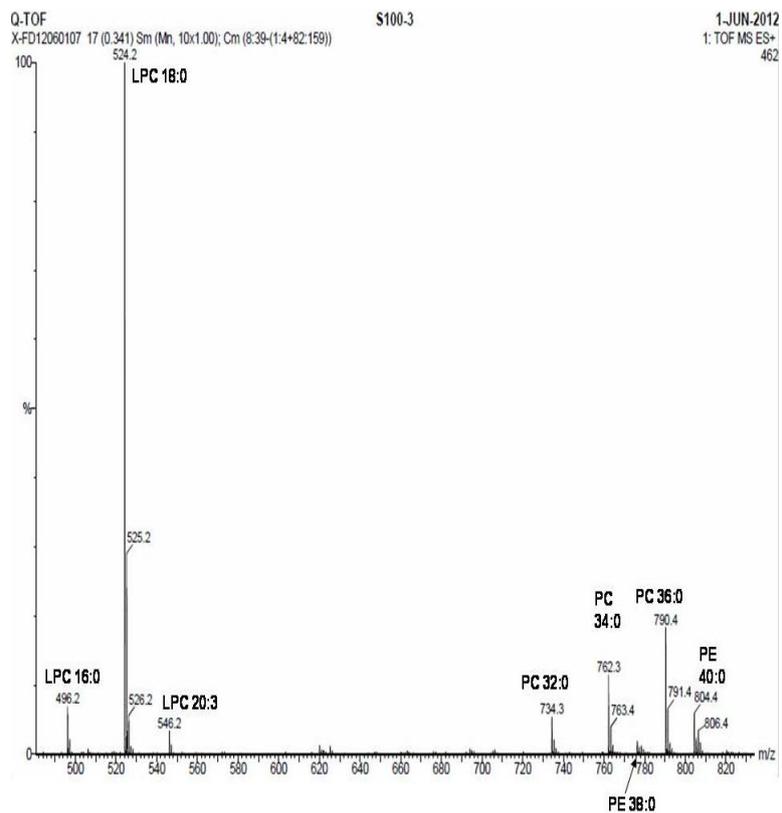


Figure (III. 12) : Spectre obtenu en TOF-MS en mode positif entre m/z 100 et 1500 de la lécithine de soya hydrogénée S100-H.

II. Références bibliographiques

- [1] *Fatty Acid Distribution - Tissue Types*. Avanti Polar Lipid Inc. Site web consulté en 2013.
- [2] N. Fuller, R.P. Rand, *The Influence of Lysolipids on the Spontaneous Curvature and Bending Elasticity of Phospholipid Membranes*, *Biophys. J.* 81 (2001) 243.
- [3] Lipid Thermotropic Phase Transition Database - NIST Standard Reference Database 34.
www.lipidat.tcd.ie
- [4] W.E. Klopfenstein, B. de Kruffy, A.J. Verkleij, R.A. Demel, L.L.M. van Deenen, *Differential scanning calorimetry of mixtures of lecithin, lysolecithin and cholesterol*. *Chem. Phys. Lipids* 13 (1974) 215-222.
- [5] J. Le Grandois. *Caractérisation et stabilité des sources de phospholipides polyinsaturés à intérêts nutritionnels*. Thèse. Université de Strasbourg, 2009.
- [6] J. Le Grandois, E. Marchioni, M. Zhao, F. Giuffrida, S. Ennahar, F. Bindler. *Investigation on natural phosphatidylcholine sources: separation and identification by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS²) of molecular species*. *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 6014-6020.

Chapitre IV : Optimisation des conditions de synthèse des matériaux

Le but et l'originalité de notre travail consistent à synthétiser des matériaux mésoporeux en utilisant les phospholipides (PL) comme tensioactifs. Pour cela, nous avons ciblé deux types des phospholipides décrits dans le chapitre III (lécithine de jaune d'œuf et lécithine du soja) pour optimiser les conditions de synthèse. Plusieurs paramètres pouvant influencer la structure des mésoporeux, tels que le temps d'agitation et l'effet du solvant (le rapport eau/ éthanol) et la quantité du PL qui ont été testés au cours de cette étude.

Dans le but de rendre utilisable ce texte pour la future activité du laboratoire, certaines synthèses sont indiquées avec une double numérotation : celle de cette thèse (NTOA#) et la numérotation générale du laboratoire de synthèse minérale de l'équipe MACS.

IV.I. Effet du temps de condensation

Nous avons étudié l'effet du temps de mûrissement en présence de lécithine de soja à un rapport de masse EtOH/(H₂O+EtOH) = 0.53. La composition du milieu de synthèse et le temps de condensation des différentes préparations sont donnés dans le tableau IV.1. Les solides obtenus ont été caractérisés par diffraction des rayons X avant et après calcination à 580°C (Fig. IV.1), mais aussi en volumétrie d'adsorption d'azote sur les solides calcinés (Fig. IV.2 et IV.3) et en thermogravimétrie (Fig. IV.4). Les résultats sont regroupés dans le tableau IV.2.

Tableau IV.1. Conditions de synthèse pour étudier l'effet du temps de condensation

PL utilisé	Masses des réactifs				
	TEOS(g)	PL (g)	NaF(mmol)	H ₂ O(g)	EtOH(g)
Lécithine de Soja Acros	5.74	2	0.1	17.66	19.75
Temps d'agitation	1 ^{ère} Synthèse		2 ^{ème} Synthèse*		
	Nom 1	Nom 2	Nom 1	Nom 2	
15 min	NTOA057	6295	NTOA065	6303	
25 min	NTOA058	6296	NTOA066	6304	
4 h	NTOA059	6297	NTOA067	6305	

* : La reproductibilité à été vérifiée par une deuxième synthèse.

Dans les diffractogrammes (Fig. IV.1) de tous les échantillons avant calcination, on observe un seul pic assez large, qui se déplace de 5 à 5,7 nm et devient plus intense avec l'augmentation du temps de mûrissement. A la calcination, tout ordre à longue distance disparaît et on ne remarque aucun pic dans le diffractogramme.

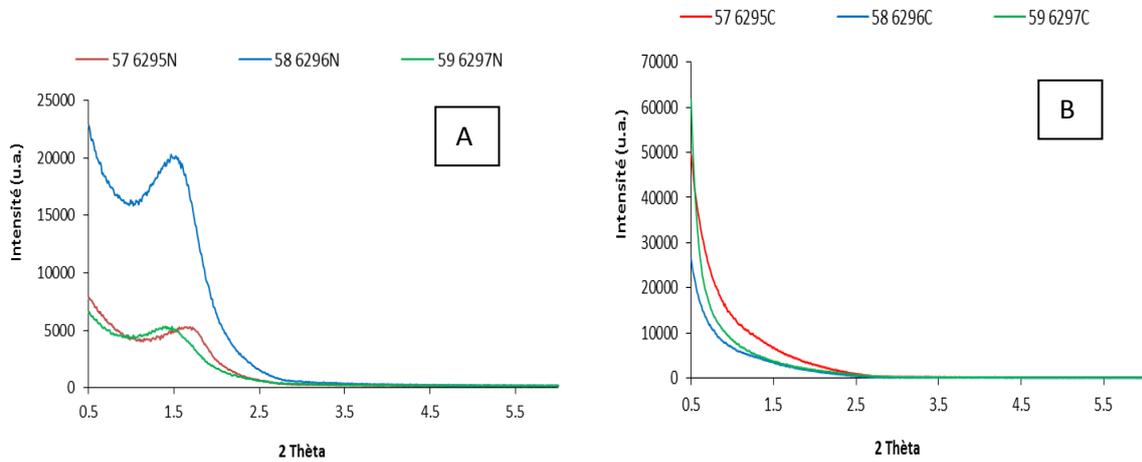


Figure (IV.1) : *Diffractogrammes des rayons X des matériaux A : non calcinés, B : calcinés*

Les isothermes d'adsorption d'azote (Fig. IV.2) montrent que les échantillons calcinés, malgré la perte d'ordre observée par DRX, présentent une certaine porosité, résultat de l'effondrement de la structure ordonnée initiale. La surface spécifique, reportée dans le tableau IV.2, augmente de 15 à 50 m² g⁻¹ avec l'augmentation du temps de mûrissement.

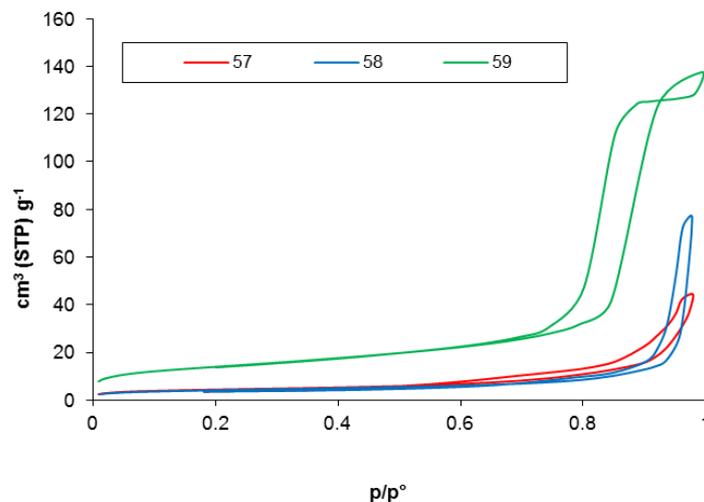


Figure (IV.2) : *Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux calcinés.*

La méthode DFT appliquée selon les corrélations de Neimark et Ravikovitch [1] nous permet de calculer la distribution de taille des pores. Les distributions de taille des mésopores calculées sur la base de la courbe de désorption de l'isotherme sont reportées en Fig. IV.3 et le centre des distributions est reporté dans le tableau IV.2.

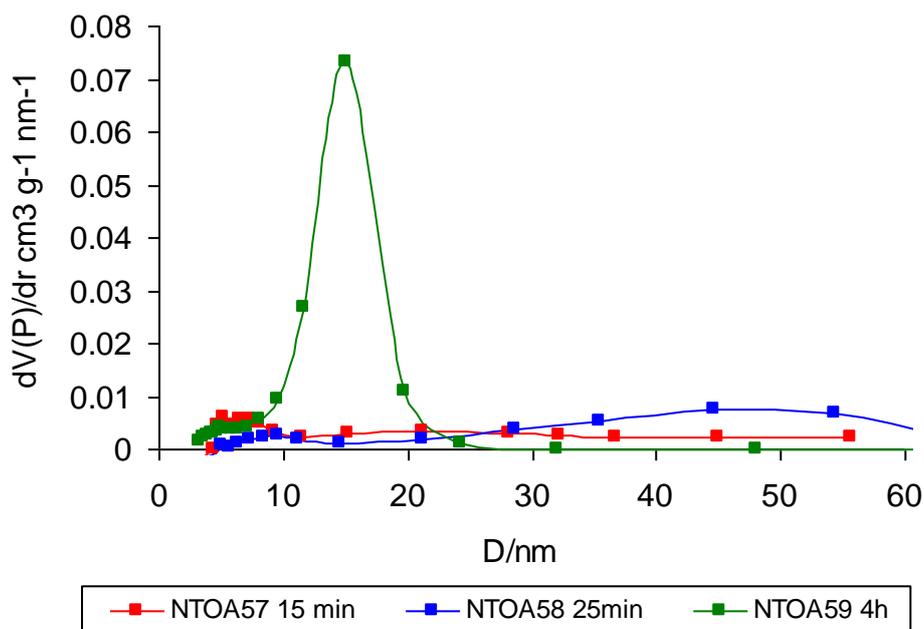


Figure (IV.3) : *Distribution de taille des pores dans les matériaux calcinés.*

Le tracé de la distribution de taille des mésopores a été fait jusqu'à un diamètre de 60 nm dans la Fig IV.3 mais il est vrai que traditionnellement, on définit le domaine des mésopores comme celui des pores ayant un diamètre compris entre 2 et 50 nm [2]. En effet, cette définition était basée sur la mesure de la taille des pores par la méthode BJH [3], simple application de l'équation de Kelvin. Il a été montré ensuite que la méthode BJH sous-évalue de façon significative la taille des pores [1, 4]. Nous nous sommes donc sentis autorisés à étendre le domaine de mesure traditionnel de l'adsorption d'azote jusqu'à un diamètre d'au moins 60 nm.

La distribution de taille des mésopores est toujours bimodale, avec des tailles des pores très étalées aux temps de mûrissement les plus courts. Toutefois, à 4h de condensation, on observe une porosité à distribution plus étroite, centrée sur un diamètre de 15 nm mais

aucune porosité avec une taille comparable à la distance caractéristique de la diffraction n'est observée sur le matériau avant calcination. On en déduit que le type de porosité observé est le résultat d'une réorganisation profonde du solide au cours de la calcination.

La thermogravimétrie (ATG) nous permet d'évaluer la teneur en organique du solide. Les courbes ATG représentées en Fig. IV.4 présentent une première perte de masse irrégulière à une température inférieure à 80°C. Cette perte de masse correspond à une évaporation de solvant d'un échantillon mal essoré et nous ne l'avons pas considérée significative dans l'analyse de la composition du matériau. Deux pertes de masse successives, centrées sur 325 et 550°C, correspondent à la dégradation de la lécithine en deux étapes. On remarque quelques différences par rapport à la dégradation thermique de la lécithine de soja en absence de silice [5]. Le pic à 325°C est à une température plus basse que celle du pic à 380-400°C observé en absence de silice, probablement à cause d'une meilleure accessibilité à l'oxygène d'un matériau plus dispersé. Le deuxième pic, assez étalé, est à une température plus élevée que celle de la perte de masse observée autour de 450 °C en absence de silice. En effet, la température de 550 °C est très proche de la température de 530 °C observée pour le dernier pic de décomposition de la lécithine impliquée dans des nanocomposites avec des sels de lanthanides [6]. Nous en concluons que la stabilisation à plus haute température des produits intermédiaires de dégradation de la lécithine est due à leur interaction avec la silice.

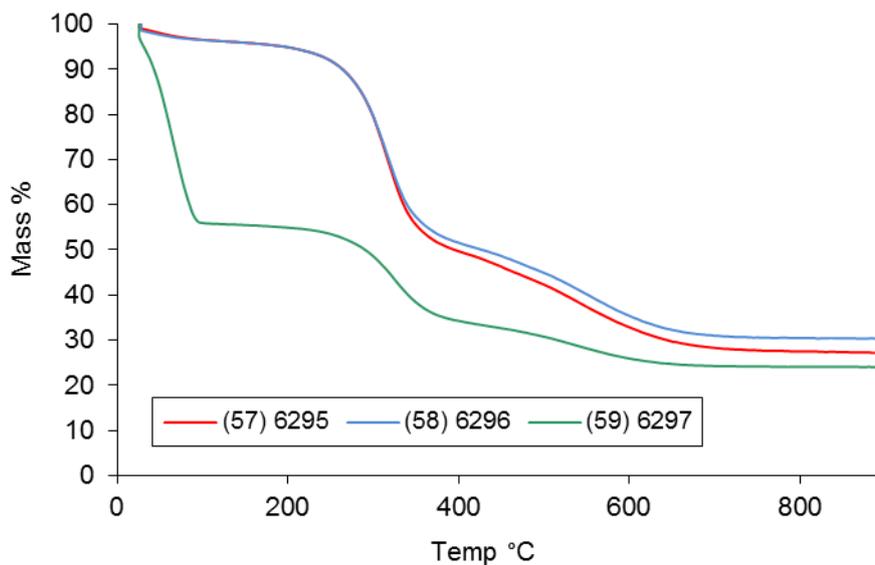


Figure (IV.4) : Analyse thermogravimétrique des matériaux

Dans l'évaluation quantitative de l'organique et de la silice à partir de la courbe TG, il faut tenir compte du fait que les phosphates de la lécithine restent intégralement dans le solide après combustion de l'organique. Si on appelle Δm la perte de masse après 200 °C, la masse de lécithine présente dans l'échantillon sera $m(\text{lécithine}) = \Delta m + m(\text{phosphate})$. Si MP est la masse molaire du phosphate (96) et ML est la masse molaire de la lécithine, la masse de phosphate dans l'échantillon peut être évaluée comme $m(\text{phosphate}) = \Delta m \cdot (1 - MP/ML)$. La masse de silice dans l'échantillon correspond à $m(\text{silice}) = m(\text{finale}) - m(\text{phosphate})$.

Les rapports entre masse de silice et masse d'organique dans l'échantillon peuvent ainsi être évalués et leurs valeurs sont reportées dans le tableau IV.2. On observe que la teneur de silice dans l'échantillon augmente avec le temps de mûrissement. Ceci nous permet de conclure que, bien qu'une phase ordonnée soit déjà présente après un quart d'heure de mûrissement (comme indiqué par la DRX), sa stabilisation n'a lieu que progressivement, au fur et à mesure que la teneur de silice augmente dans l'échantillon.

Tableau IV.2. Caractérisation des matériaux synthétisés à temps de mûrissement différents

éch.	calciné						de synthèse		
	synthèse	XRD		SBET	VmésO	diamètre	masse	rendement	
	minutes	2 θ	d/nm	m ² g ⁻¹	cm ³ g ⁻¹	nm	SiO ₂ /org	Si	lécithine
57	15	1.76	5.0	16	0.046	6.5+21	0.34	0.09	0.33
58	25	1.56	5.7	15	0.078	9+46	0.17	0.17	0.53
59	240	1.54	5.7	51	0.182	4.8+15	0.40	0.46	0.69

IV.II. Effet de la nature du solvant :

Nous avons ensuite essayé de déterminer l'influence du rapport eau/éthanol dans le milieu de synthèse en nous inspirant du travail de A. Polozova, chercheuse industrielle collaborant avec le groupe de Walter Perkins à la Cornell University, qui a tracé un diagramme de phase de la phosphatidylcholine PC (16:0, 18:1) dans les solutions eau-éthanol (Fig. 1.14) [7]. Ces auteurs ont trouvé que la PC, complètement dissoute à haute teneur en éthanol, formait dans les solutions hydroalcooliques de composition intermédiaire un gel lamellaire qui se désagrégait en liposomes pour des fractions d'éthanol inférieures à 0.4. Notre question était alors : jusqu'à quel point ces observations s'appliquent à un système

lécithine/silice en milieu hydroalcoolique? Les conditions de synthèse des composites de lécithine de jaune d'œuf-silice sont indiquées dans la figure IV.5 et dans le tableau IV.3.

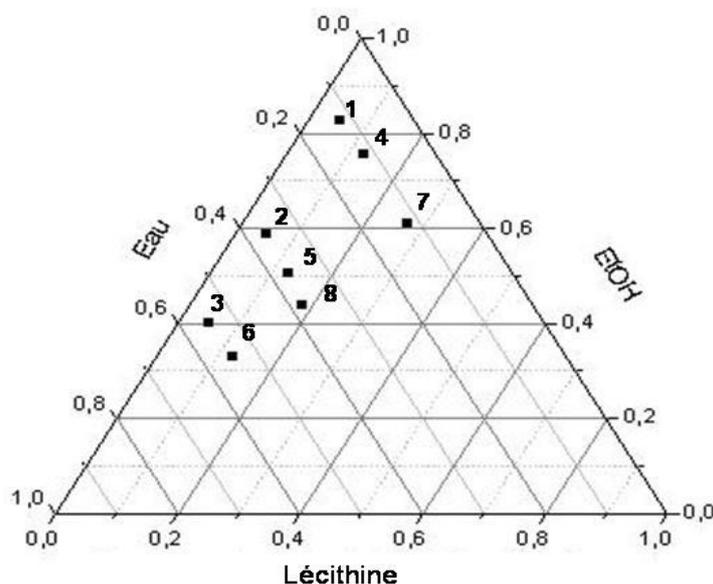


Figure (IV.5) : Position de la composition des préparations dans le diagramme ternaire (masses) lécithine de jaune d'œuf-eau-éthanol.

Tableau (IV.3) : Nomenclature des échantillons (pour tous : mûrissement 4 h, TEOS/phospholipide = 5 (mol/mol), NaF/Si = 0.005 (mol/mol))

N° sur diag	Nom	Numérotation	Lec % (masse)	EtOH% (masse)	H ₂ O% (masse)	EtOH/(H ₂ O+EtOH) (masse)
1	NTOA087	6325	0,052	0,828	0,119	0.88
	NTOA095	6333				
2	NTOA088	6326	0,052	0,586	0,362	0.60
	NTOA096	6334				
3	NTOA089	6327	0,050	0,402	0,548	0.39
	NTOA097	6335				
4	NTOA090	6328	0,126	0,755	0,119	0.89
	NTOA098	6336				
5	NTOA091	6329	0,128	0,504	0,368	0.52
	NTOA099	6337				
6	NTOA092	6330	0,125	0,331	0,544	0.26
	NTOA100	6338				
7	NTOA093	6331	0,272	0,609	0,120	0.91
	NTOA101	6339				
8	NTOA094	6332	0,187	0,436	0,377	0.40
	NTOA102	6340				

IV.II.1. Les synthèses avec 5 % de lécithine.

Un premier balayage du diagramme de phase a été effectué avec 5 % de lécithine dans le milieu, en changeant le rapport EtOH/(H₂O+EtOH) de 0.39 (NTOA089) à 0.88 (NTOA087).

Les diffractogrammes des échantillons frais et calcinés sont donnés dans la figure IV.6 et les résultats sont indiqués dans le tableau IV.4. Les échantillons de synthèse présentent un seul pic, qui augmente d'intensité et se déplace de 6 à 5.5 nm quand le rapport EtOH/(H₂O+EtOH) passe de 0.39 à 0.88. Avec la calcination à 580°C, le pic virtuellement disparaît pour la plus faible teneur en alcool, tandis qu'il reste dans la même position et augmente d'intensité à la plus haute teneur en alcool. L'augmentation d'intensité des pics de diffraction après calcination est un phénomène connu dans le cas des silices mésoporeuses et correspond à l'augmentation du contraste avec l'élimination du structurant [8].

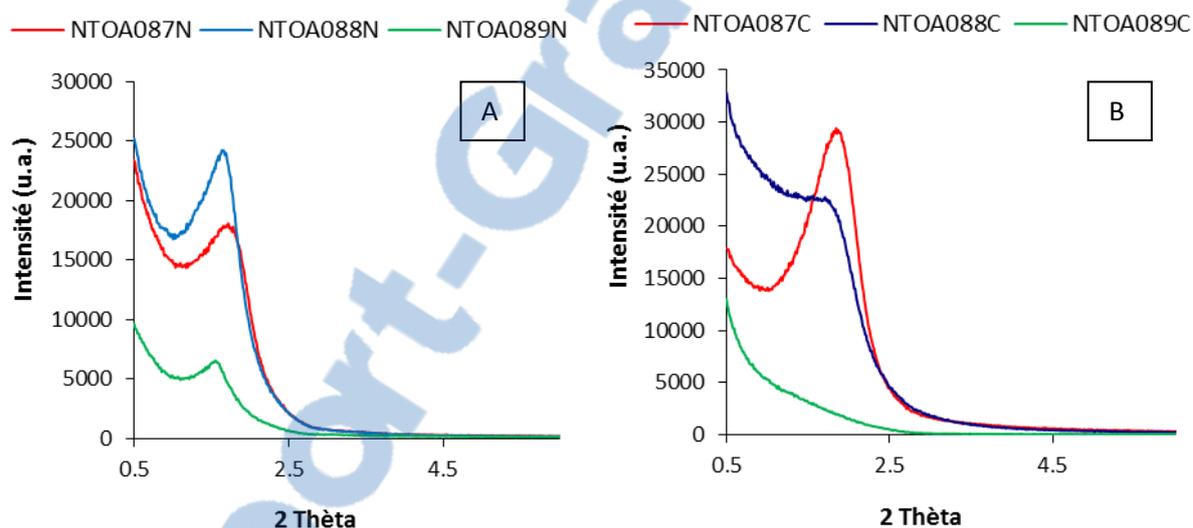


Figure (IV.6) : *Diffractogramme des rayons X des matériaux A : non calcinés, B : calcinés*

La synthèse NTOA089, à basse teneur en alcool, a été effectuée dans les mêmes conditions que les synthèses précédentes pour vérifier l'effet du temps de condensation (paragraphe IV.I), dans lesquelles l'ordre à longue distance était aussi perdu pendant la calcination. Il semble que les synthèses à plus haute teneur en alcool apportent une meilleure stabilité à la structure silicique qui reste en place après calcination.

La figure IV.7 représente les courbes d'adsorption-désorption d'azote des échantillons synthétisés à différents teneurs en alcool. Les distributions de taille des pores et les données texturales correspondantes sont données dans la figure IV.7 et dans le tableau IV.4.

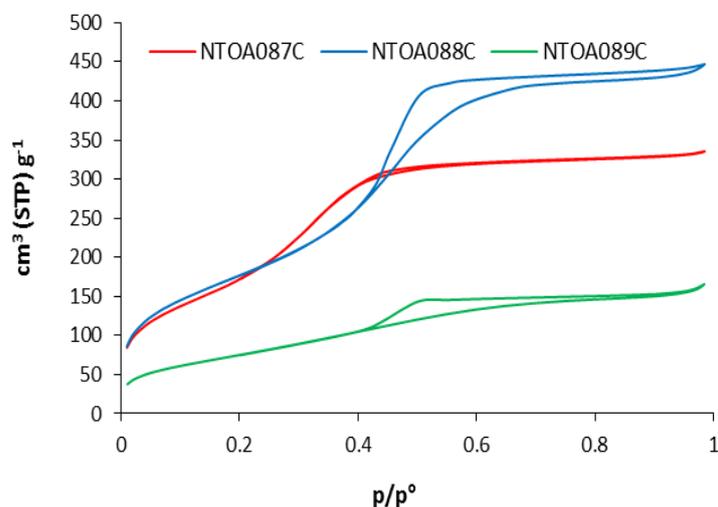


Figure (IV.7) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux

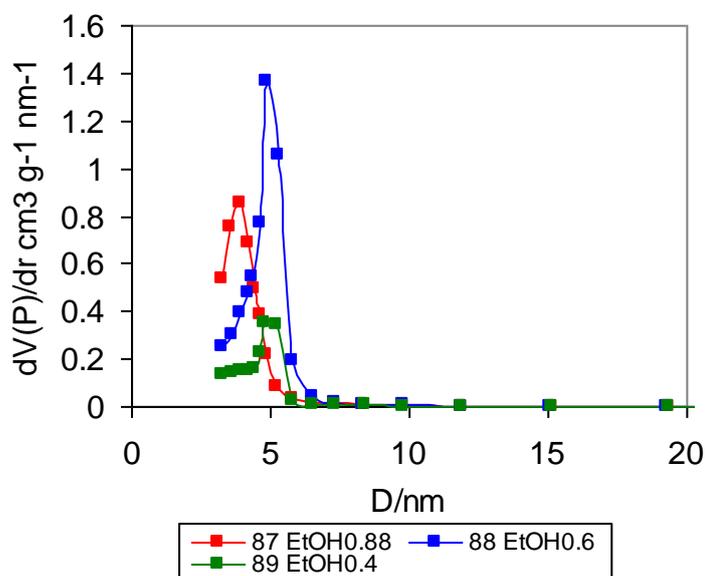


Figure (IV.8) : Distribution de taille des pores des matériaux sur la base de la branche de désorption de l'isotherme

Tous les matériaux présentent une isotherme de type IV, typique des matériaux mésoporeux. Le centre de la distribution de taille des pores passe d'environ 5 nm à environ 4 nm avec l'augmentation de la teneur en alcool. On remarque que cette évolution, ainsi que les

valeurs absolues de taille des pores, sont en bon accord avec les données de diffraction des rayons X. Ceci suggère que ces matériaux calcinés ont conservé l'ordre à longue distance du composite silice-phospholipide. Les isothermes de Fig. IV.7 ne présentent pas la porosité de plus grande taille non reliée à la structure du composite non calciné et observée dans les échantillons à basse teneur en alcool synthétisés en présence de lécithine de soja.

Tableau (IV.4) : Paramètres structuraux et texturaux déterminés par DRX et adsorption d'azote

NTOA	masse récupérée (g)	Avant calcination		après calcination					
		2 θ (deg)	d (nm)	2 θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	Vmésos (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)
87	0,56	1,57	5.6	1,62	5.5	628	0.49	3,5	3,9
88	0,91	1,61	5.5	1,6	5.5	663	0.55	4,2	4,9
89	1,1	1,5	5.9	1,48	6.0	284	0.21	3,8	4,8

Le volume poreux, de 0.21 cm³ g⁻¹ à faible teneur d'alcool, augmente de façon significative avec le taux d'éthanol, jusqu'à un maximum de 0.55 cm³ g⁻¹ pour un rapport de masse EtOH/(H₂O+EtOH) de 0.6. On constate que la masse des composites récupérée augmente significativement avec la diminution de la teneur en éthanol dans le milieu, en bon accord avec la solubilité importante de la lécithine dans l'alcool.

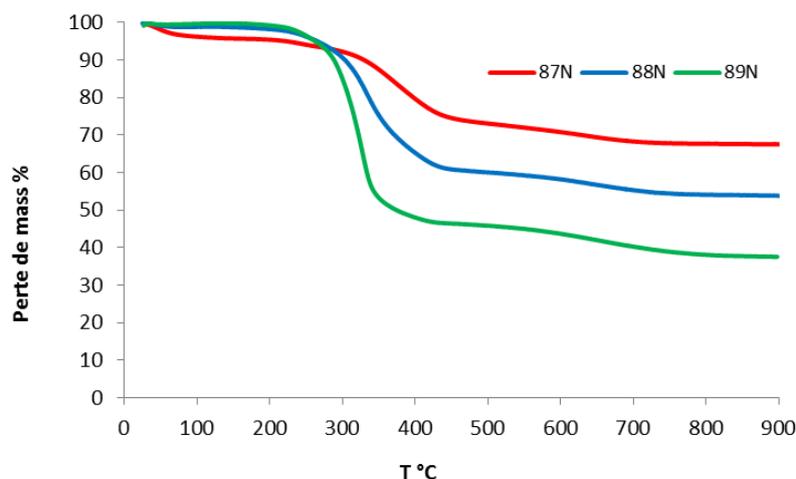


Figure (IV.9) : Analyse thermogravimétrique des matériaux

Les courbes thermogravimétriques des composites sont présentées en figure IV.9 et les données de composition qui en sont dérivées sont reportées dans le tableau IV.5. L'incorporation de silice dans le composite augmente de façon très importante avec la teneur en éthanol. En effet, l'échantillon synthétisé avec une fraction d'éthanol 0.39 présente un rapport silice/organique 0.40, tandis que la synthèse à fraction d'éthanol 0.88 amène à un rapport silice/organique presque 2. Cet effet contribue probablement à la plus grande stabilité thermique des échantillons synthétisés avec une forte teneur en alcool. Une plus grande quantité de silice correspond à une plus grande épaisseur des parois siliciques qui séparent les agrégats d'organique dans les composites, ce qui entraîne une meilleure stabilité à la calcination [9]. Des parois trop épaisses, comme dans le cas de l'échantillon synthétisé à la plus haute teneur en éthanol, augmentent le dénominateur dans l'expression du volume poreux (volume des pores/masse du solide) et baisse la valeur du volume poreux [10], en justifiant l'optimum de volume poreux à $\text{EtOH}/(\text{H}_2\text{O}+\text{EtOH}) = 0.6$.

Tableau (IV.5) : Composition des produits déterminée par analyse thermogravimétrique et par spectroscopie EDX.

NTOA	EtOH/(H ₂ O+EtOH) masse en synthèse	SiO ₂ /organique masse ex ATG	Si/P moles ex TG	Si/P moles ex EDX
87	0.88	1.97	24	32
88	0.60	0.90	11	12
89	0.39	0.40	4.9	5.1

La quantité de phosphore résiduel après calcination a été mesurée par spectroscopie EDX. Les données sont présentées dans le tableau IV.5, où elles sont comparées à la quantité de phosphore présente dans les échantillons de synthèse, évaluée par thermogravimétrie comme décrit dans le paragraphe IV.I. A l'exception de la donnée avec plus haut rapport Si/P, dans laquelle les erreurs de détermination de la petite quantité de phosphore sont probablement plus importantes, on observe un excellent accord entre les deux types de mesures. Ceci confirme que la totalité du phosphore est généralement retenue dans le matériau au cours de la calcination. Une comparaison intéressante est possible entre l'échantillon NTOA089, à base de lécithine d'œuf, et l'échantillon NTOA059 (paragraphe IV.I), synthétisé dans les mêmes conditions à partir de lécithine de soja. Les deux échantillons

de synthèse présentent un composite bien structuré avec un pic de diffraction près de 6 nm et présentent le même rapport de masse 0.4 entre silice et lécithine, suggérant qu'un même type de composite est formé avec lécithine de soja et lécithine d'œuf. La différence entre les deux échantillons est révélée par la calcination. L'échantillon préparé avec lécithine de soja présente des pores de 15 nm non reliés à la structure du composite de synthèse, tandis que l'échantillon structuré par lécithine d'œuf présente des pores de 5 nm, bien corrélés à la structure du composite initial. Il semble que, à parité de conditions de synthèse, la synthèse avec lécithine d'œuf exerce un effet stabilisant sur la structure de la charpente inorganique.

La morphologie des composites est déterminée en utilisant la microscopie électronique à balayage, dont les clichés sont reportés dans les figures IV.10, IV.11 et IV.12, correspondant à des teneurs d'alcool décroissant dans la synthèse.

Les échantillons à plus haute teneur en alcool (Fig. IV.10 et IV.11) ont une morphologie en sphères microniques partiellement agglomérées. Dans le cas de l'échantillon à teneur d'alcool intermédiaire (Fig. IV.11), le cœur des billes semble présenter une structure lamellaire. L'échantillon à plus basse teneur en alcool (Fig. IV.12) présente une morphologie fractale, correspondant à l'agrégation de structures non isométriques de taille inférieure à 30 nm.

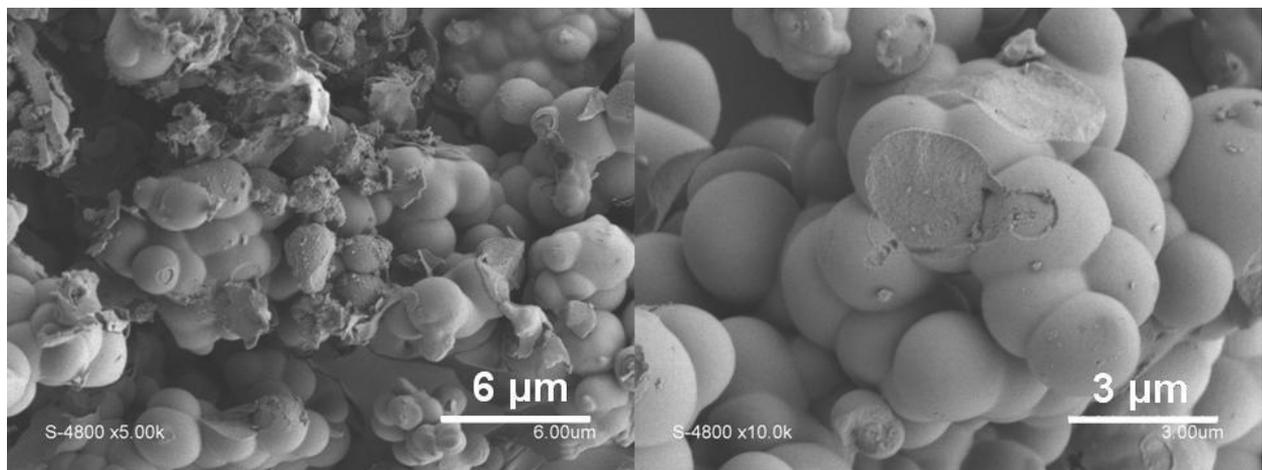


Fig. IV.10. Clichés MEB de l'échantillon NTOA087, synthétisé à 5 % lécithine, 83 % éthanol, 12 % eau

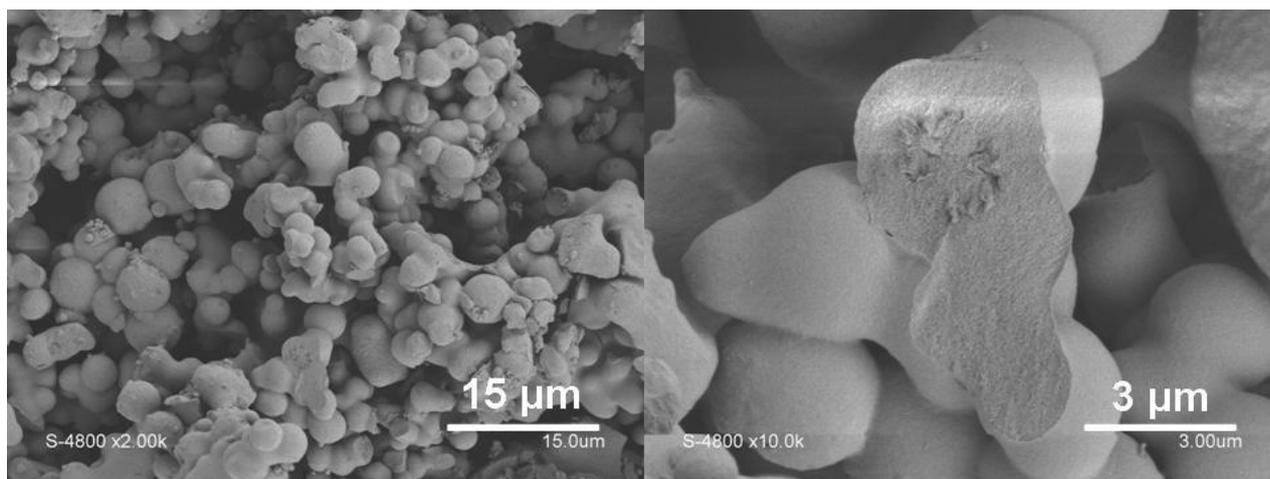


Fig. IV.11. Clichés MEB de l'échantillon NTOA088, synthétisé à 5 % lécithine, 59 % éthanol, 36 % eau

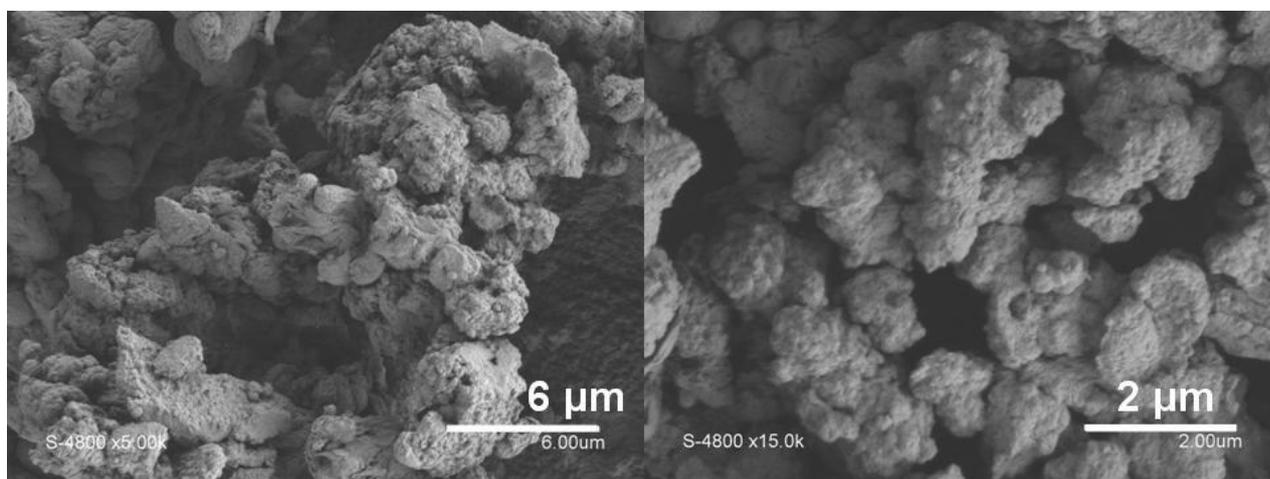


Fig. IV.12. Clichés MEB de l'échantillon NTOA089, synthétisé à 5 % lécithine, 40 % éthanol, 55 % eau

IV.II.2. Les synthèses avec 12 % de lécithine.

Les synthèses à un taux de lécithine d'œuf plus élevé (fraction de masse 0.12) ont couvert le domaine de teneur en éthanol $\text{EtOH}/(\text{EtOH}+\text{H}_2\text{O})$ de 0.26 (échantillon NTOA092) à 0.89 (échantillon NTOA090).

Les diffractogrammes des échantillons de synthèse, reportés en Figure IV.9, montrent des pics moins bien définis que pour les synthèses à plus faible teneur en lécithine. La position du pic (voir tableau IV.6), autour de 6 nm pour les échantillons à plus haute teneur en éthanol, est autour de 8 nm pour l'échantillon synthétisé à $\text{EtOH}/(\text{EtOH}+\text{H}_2\text{O}) = 0.26$.

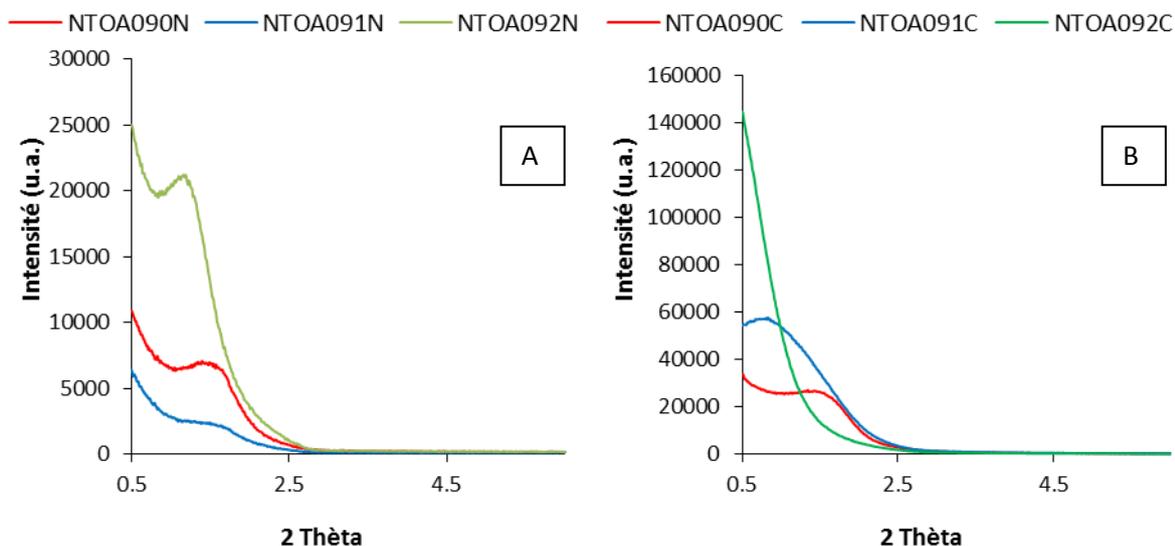


Figure (IV.13) : *Diffractogramme des rayons X des matériaux A : non calcinés, B : calcinés*

A la calcination, le seul pic stable est celui de l'échantillon synthétisé avec la plus haute teneur d'alcool. Dans le cas de l'échantillon NTOA091, synthétisé avec une fraction d'éthanol EtOH/(EtOH+H₂O) proche de 0.5, le pic mal défini près de 12 nm ne semble pas confirmé dans la réplique de la synthèse.

Les isothermes d'adsorption d'azote sur les solides calcinés sont reportées en figure IV.14, les distributions de taille des pores correspondantes sont reportées en figure IV.15 et les données texturales dérivées sont données dans le tableau IV.6.

Tableau (IV.6) : *Paramètres structuraux et texturaux déterminés par DRX et adsorption d'azote*

	masse (g)	Avant calcination		après calcination					
		2 θ (deg)	d (nm)	2 θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	V _{més} (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)
90	1,86	1,4	6.3	1,34	6.6	485	0.47	4,1	4,9
91	6,9	1,36	6.5	0,74	11.9	412	0.43	4,8	5,2
92	10,1	1,09	8.1			225	0.43	8,5	8,4

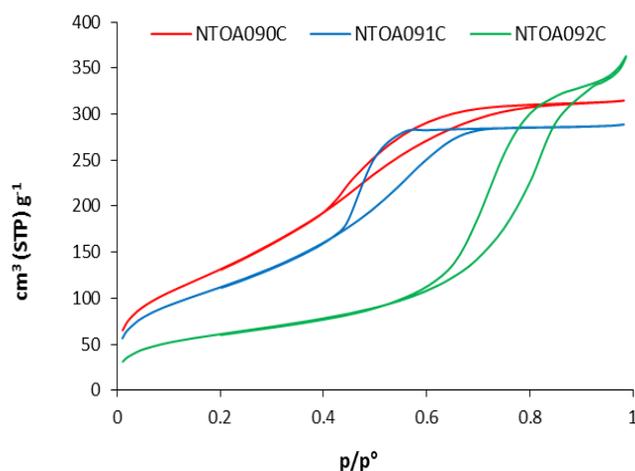


Figure (IV.14) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux

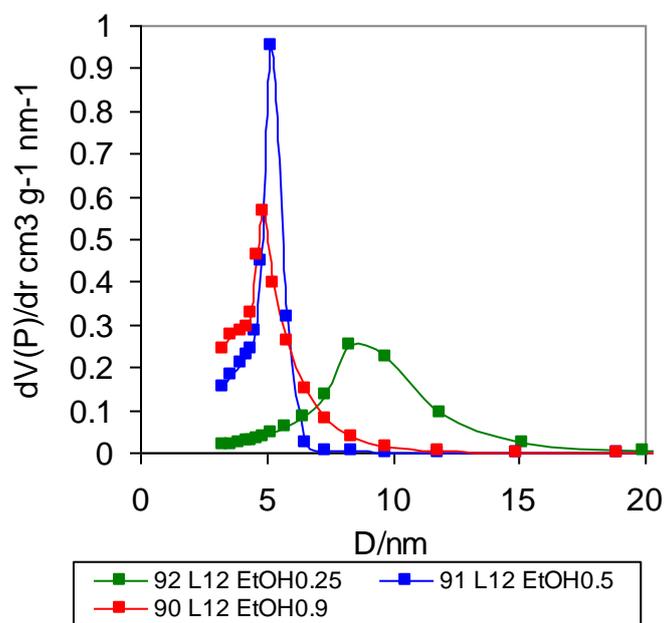


Figure (IV.15) : Distribution de taille des pores à partir de la branche de désorption des isothermes d'adsorption d'azote.

Les trois échantillons présentent des volumes poreux proches de $0.45 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ mais leurs porosités sont très différentes : les échantillons à plus haute teneur d'alcool présentent des pores d'environ 5 nm, tandis que l'échantillon synthétisé à la plus faible teneur en éthanol présente une distribution de taille des pores étalée et centrée autour de 8 nm. Dans tous les cas, la taille des pores semble contenir une partie de l'information trouvée dans la DRX des précurseurs non calcinés, qui présentent des modules périodiques qui vont de 6 à 8 nm quand la teneur d'alcool diminue.

La thermogravimétrie des échantillons est présentée en figure IV.16 et les données de composition dérivées sont reportées dans le tableau IV.7. On constate encore une fois que le rapport silice/organique est plus élevé pour les synthèses en milieu plus alcoolique, en bon accord avec la solubilité élevée de la lécithine dans l'éthanol.

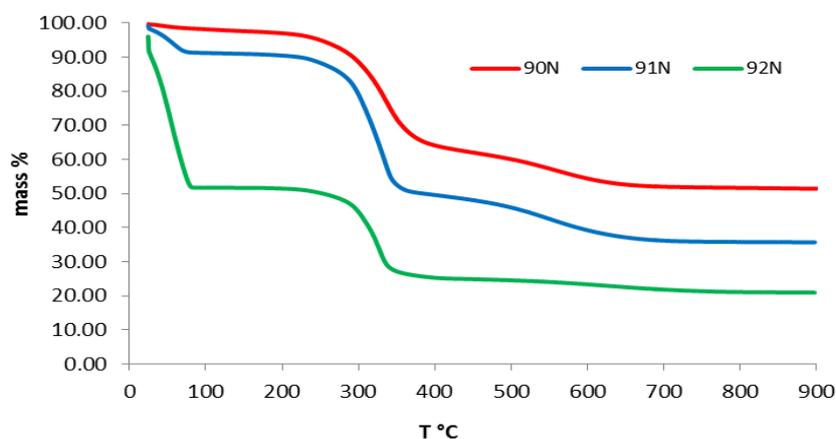


Figure (IV.16) : Analyse thermogravimétrique des matériaux

Tableau (IV.7) : Composition des produits déterminée par analyse thermogravimétrique.

NTOA	EtOH/(H ₂ O+EtOH) masse en synthèse	SiO ₂ /organique masse ex ATG
90	0.89	0.86
91	0.52	0.44
92	0.26	0.47

IV.III. Effet de la concentration du phospholipide.

IV.III.1. Les synthèses au rapport EtOH/(EtOH+H₂O) = 0.9.

A haute teneur en alcool, la teneur en lécithine des synthèses NTOA087, NTOA090 et NTOA093 varie de 0.05 à 0.12 et à 0.27. Les diffractogrammes des solides non calcinés de la figure IV.17, dont les informations sont résumées dans le tableau IV.8, montrent un pic bien défini qui se décale de 5.6 à 6.7 nm avec l'augmentation de la teneur en lécithine.

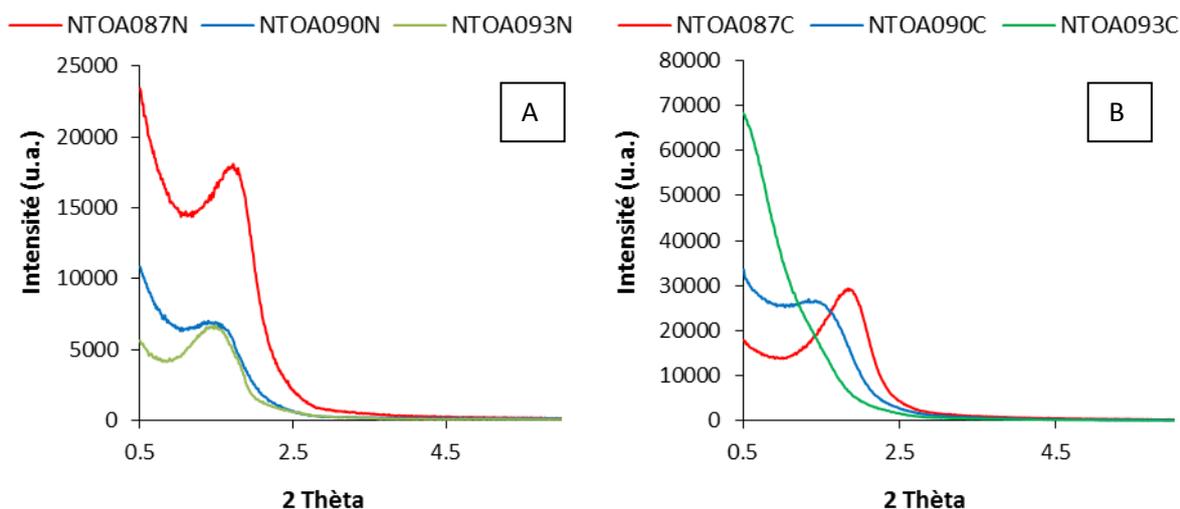


Figure (IV.17) : *Diffractogramme des rayons X des matériaux A : non calcinés, B : calcinés*

A la calcination, les échantillons aux plus faibles teneurs en lécithine conservent le pic de diffraction du précurseur non calciné, tandis que l'échantillon à plus haute teneur en lécithine a perdu tout ordre à longue distance.

Les isothermes d'adsorption d'azote des matériaux calcinés sont données en figure IV.18 et les distributions de taille des pores correspondantes en figure IV.19. Les données texturales obtenues sont reportées dans le tableau IV.8. A l'augmentation de la teneur en lécithine, la taille des pores augmente régulièrement, en passant de 4 à 6 nm avec l'augmentation de la teneur en lécithine de 0.05 à 0.27 %. Au même temps, le volume poreux diminue légèrement, en passant de 0.5 à 0.4 cm³ g⁻¹.

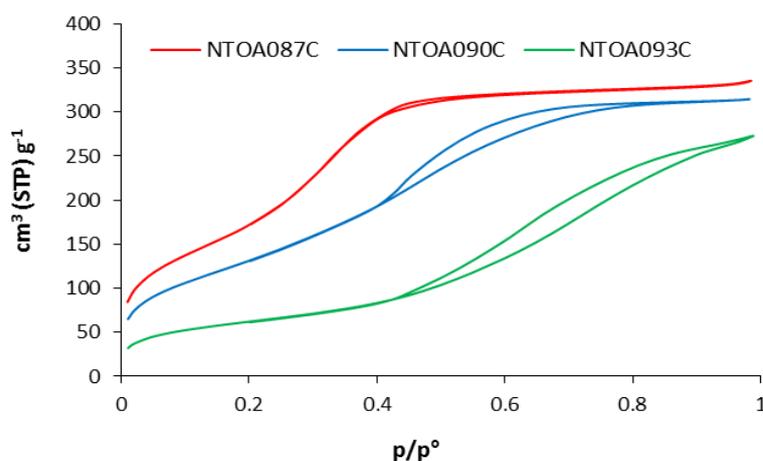


Figure (IV.18) : *Isotherme d'adsorption d'azote des matériaux*

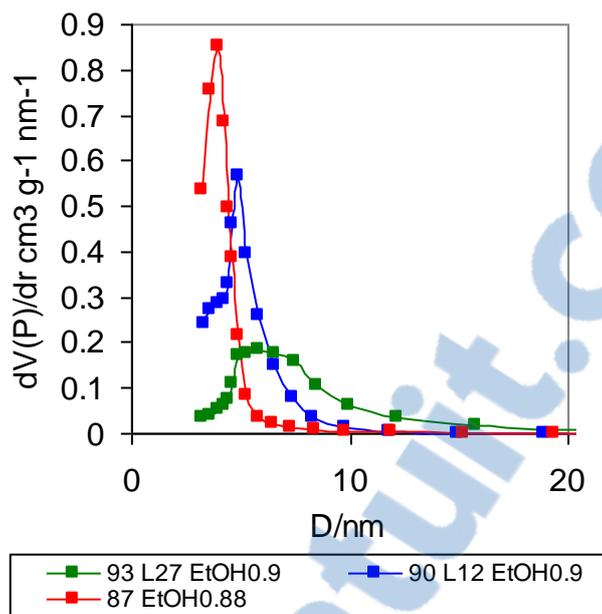


Figure (IV.19) : Distributions de taille des pores sur la base de la courbe de désorption des isothermes à l'azote

Les courbes thermogravimétriques des échantillons sont reportées en figure IV.20 et les données de composition qui en sont déduites sont données dans le tableau IV.9. Le rapport silice/organique dans les composites diminue de presque 2 à 0.5 avec l'augmentation de la teneur en lécithine dans le milieu.

Tableau (IV.8) : Paramètres structuraux et texturaux déterminés par DRX et adsorption d'azote

	masse (g)	Avant calcination		après calcination					
		2 Θ (deg)	d (nm)	2 Θ (deg)	d (nm)	SBET ($\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$)	$V_{\text{més}}\text{o}$ ($\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}$)	D Ads (nm)	D dés (nm)
87	0,56	1,57	5.6	1,62	5.5	628	0.49	3,5	3,9
90	1,86	1,4	6.3	1,34	6.6	485	0.47	4,1	4,9
93	8,32	1,31	6.7			230	0.39	5,0	5,8

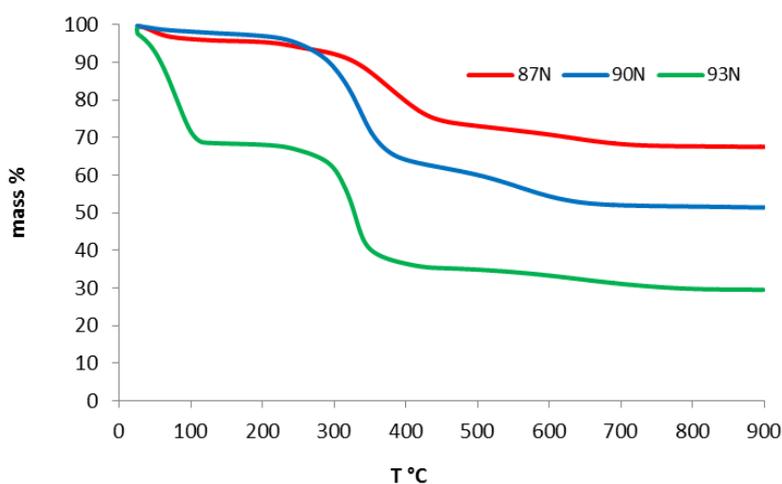


Figure (IV.20) : Analyse thermogravimétrique des matériaux

Tableau (IV.9) : Composition des produit finaux déterminée par analyse thermogravimétrique.

NTOA	fraction de masse de lécithine en synthèse	SiO ₂ /organique masse ex ATG
87	0.05	1.97
90	0.12	0.86
93	0.27	0.53

IV.III.2. Les synthèses avec un rapport EtOH/(EtOH+H₂O) entre 0.6 et 0.4.

Dans nos préparation aux teneurs d'alcool intermédiaires, l'augmentation de la fraction de masse de lécithine de 0.05 à 0.19 est accompagnée d'une diminution du rapport de masse EtOH/(EtOH+H₂O) de 0.6 à 0.4.

Les diffractogrammes des échantillons de synthèse et calcinés sont reportés en figure IV.21 et les données structurales correspondantes sont reportées dans le tableau IV.10. Avec l'augmentation de la teneur en lécithine, le paramètre de maille des précurseurs non calcinés augmente de 5.5 à 7 nm mais l'intensité des pics diminue de façon importante.

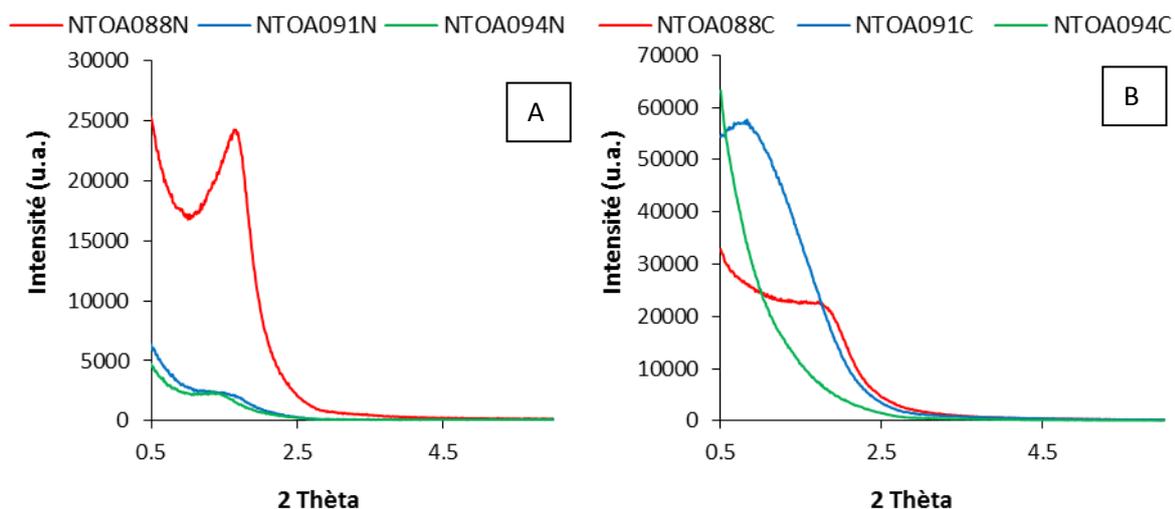


Figure (IV.21) : *Diffractogramme des rayons X des matériaux A : non calcinés, B : calcinés*

Dans les échantillons calcinés, l'ordre à longue distance est perdu avec l'augmentation de la fraction de lécithine et la diminution de la fraction d'alcool dans le milieu de synthèse.

Les isothermes d'adsorption d'azote des échantillons sont données en figure IV.22, les distributions de taille des pores correspondantes sont reportées en figure IV.23 et les données structurales obtenues sont dans le tableau IV.10. Le diamètre des pores augmente de 4,9 à 7.4 nm avec la teneur en lécithine, en bon accord avec les données de diffraction. Au même temps, cependant, la distribution de taille des pores s'étale et le volume poreux diminue de 0.55 à 0.30 cm³ g⁻¹.

Tableau (IV.10) : *Paramètres structuraux et texturaux déterminés par DRX et adsorption d'azote*

	Masse (g)	Avant calcination		après calcination					
		2 θ (deg)	d (nm)	2 Θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	Vméso (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)
88	0,91	1,61	5.5	1,6	5.5	663	0.55	4,2	4,9
91	6,9	1,36	6.5	0,74	11.9	412	0.43	4,8	5,2
94	14,9	1,28	6.9			160	0.30	6,5	7,4

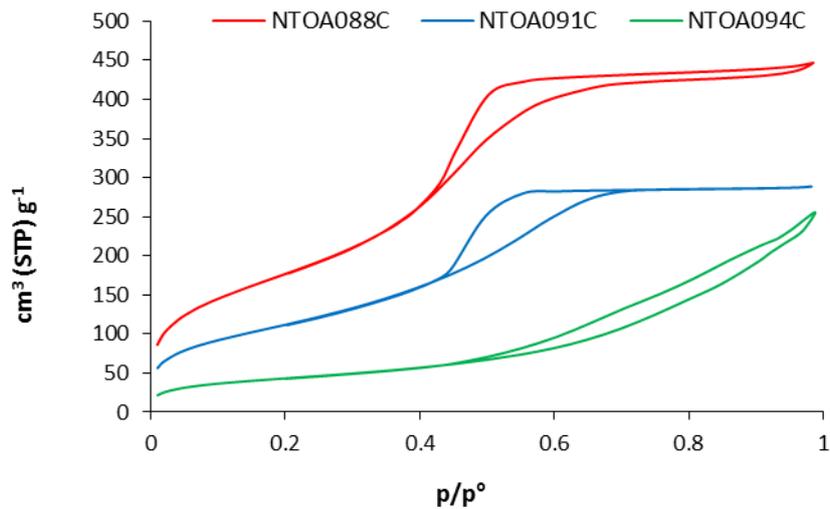


Figure (IV.22) : Isotherme d'adsorption d'azote des matériaux

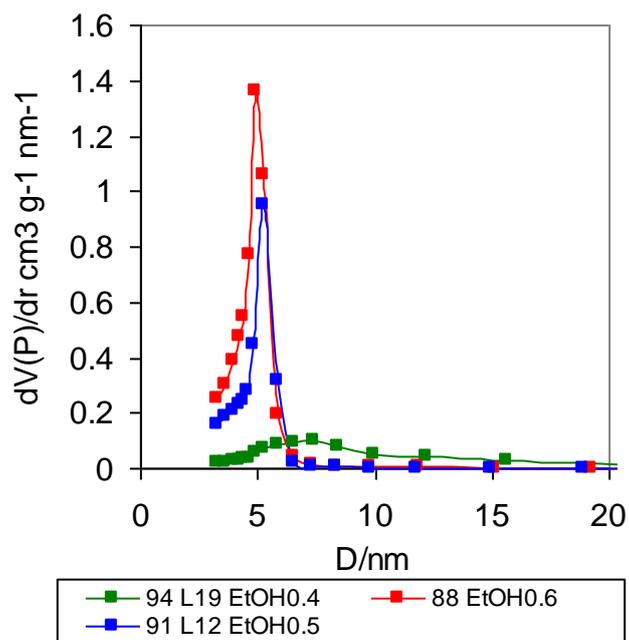


Figure (IV.23) : Distributions de taille des pores sur la base de la courbe de désorption des isotherme à l'azote

Les analyses thermogravimétriques des échantillons sont reportées en figure IV.24 et les données de composition obtenues par thermogravimétrie et spectroscopie EDX sont reportées dans le tableau IV.11.

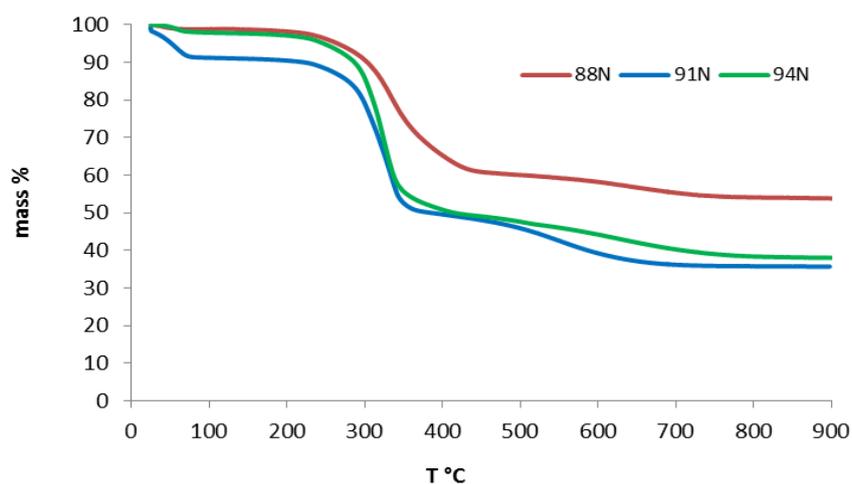


Figure (IV.24) : Analyse thermogravimétrique des matériaux

La teneur en silice des matériaux diminue avec l'augmentation de la teneur en lécithine dans le milieu de synthèse, comme déjà observé pour les synthèses à teneur en alcool plus élevée.

Tableau (IV.11) : Composition chimique des produit finaux déterminée par analyse thermogravimétrique et spectroscopie EDX.

NTOA	EtOH/(H ₂ O+EtOH) masse en synthèse	fraction de masse de lécithine en synthèse	SiO ₂ /organique masse ex ATG	Si/P moles ex TG	Si/P moles ex EDX
88	0.60	0.05	0.90	11	12
91	0.50	0.12	0.44	5.4	5.7
94	0.40	0.19	0.43	5.3	6.5

Les clichés de microscopie électronique des composites sont reportées dans les figures IV.25, IV.26 et IV.27. Avec l'augmentation de la teneur en lécithine et la diminution de la teneur en alcool, on observe le passage d'une morphologie de billes microniques à des agrégats de nanoparticules. Cet effet a déjà été observé avec la diminution de la teneur d'éthanol dans les milieux de synthèse.

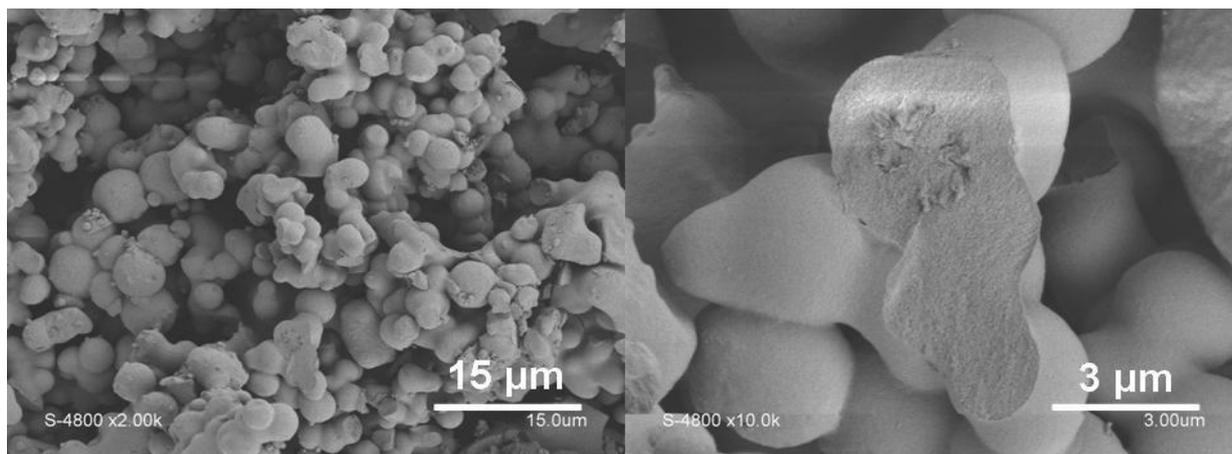


Figure IV.25. Clichés MEB de l'échantillon NTOA088, synthétisé à 5 % lécithine, 59 % éthanol, 36 % eau

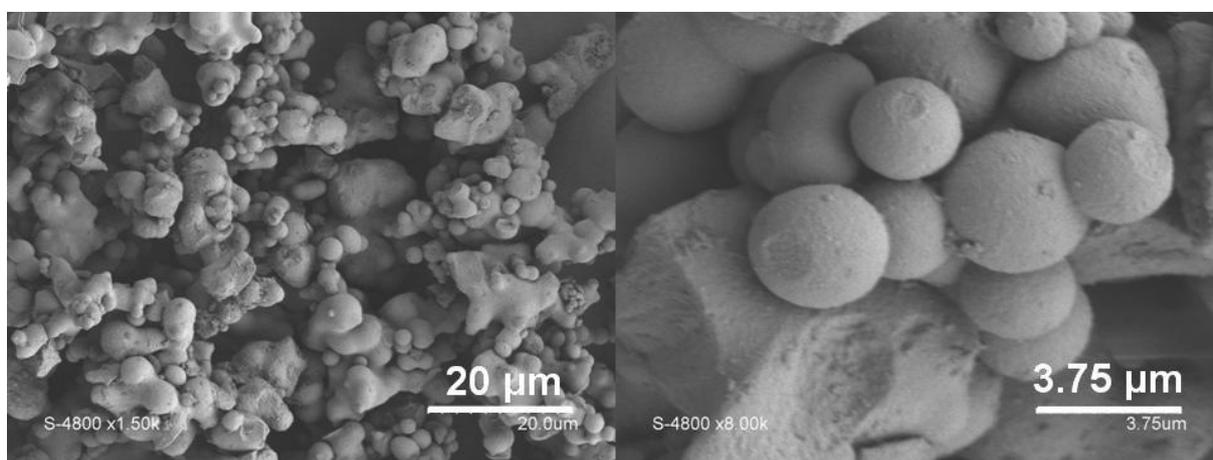


Figure IV.26. Clichés MEB de l'échantillon NTOA091, synthétisé à 13 % lécithine, 50 % éthanol, 37 % eau

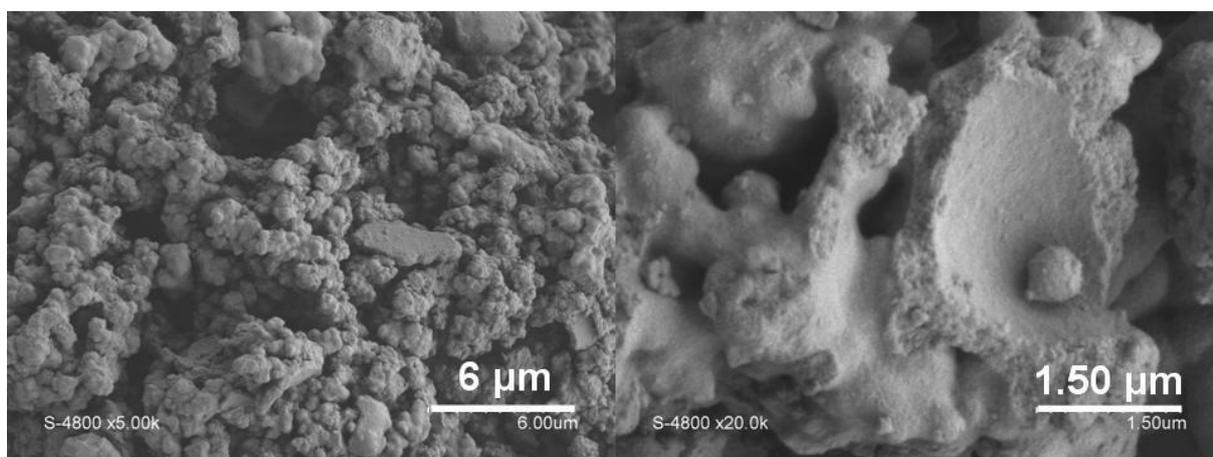


Figure IV.27. Clichés MEB de l'échantillon NTOA094, synthétisé à 19 % lécithine, 44 % éthanol, 37 % eau

IV. Références bibliographiques

- [1] A.V. Neimark, P.I. Ravikovitch, *Capillary condensation in MMM and pore structure characterization*. Microporous and Mesoporous Materials, 44 (2001) 697-707.
- [2] K.S.W. Sing. *Reporting physisorption data for gas/solid systems*. Pure and Applied Chemistry, 54 (1982) 2201—2218.
- [3] E.P. Barrett, L.G. Joyner, and P. Halenda, *The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms*. Journal of the American Chemical Society, 73 (1951) 373.
- [4] A. Galarneau, D. Desplandier, R. Dutartre, and F. Di Renzo, F. *Micelle-templated silicates as a test bed for methods of mesopore size evaluation*. Microporous and Mesoporous Materials, 27 (1999) 297-308.
- [5] R.A. Ross, R. Lemay, and A.M. Takacs, *The thermal decomposition of granular and fluid soybean lecithins*. Canadian Journal of Chemical Engineering, 63 (1985) 639-644.
- [6] G.Y. Hong, J.L. Zhang, and Q. Gao. *Synthesis of EuF₃ nanowires in soybean lecithin*. Acta Physico-Chimica Sinensis, 26 (2010) 695-700.
- [7] A. Polozova, X. Li, T. Shangguan, P. Meers, D. R. Schuette, N. Andob, S. M. Gruner, W. R. Perkins, *Formation of homogeneous unilamellar liposomes from an interdigitated matrix*. Biochimica Biophysica Acta, 1668 (2005) 117-125.
- [8] F. Kleitz, W. Schmidt and F. Schuth. *Evolution of mesoporous materials during the calcination process: structural and chemical behavior*. Microporous and Mesoporous Materials, 44 (2001) 95-109.
- [9] N. Coustel, F. Di Renzo and F. Fajula, *Improved stability of MCM-41 through textural control*. Journal of the Chemical Society. Chemical Communications (1994) 967-968.
- [10] F. Di Renzo, A. Galarneau, P. Trens, N. Tanchoux and F. Fajula, *Confinement at nanometer scale: why and how?* Studies in Surface Science and Catalysis, 142 (2002) 1057-1066.

Chapitre V : Effet des différents phospholipides

Après avoir examiné l'influence des conditions de synthèse des matériaux en utilisant deux types de lécithines commerciales, dans ce chapitre on a utilisé différents phospholipides, décrits dans le chapitre III, pour étudier l'effet de la pureté et de l'hydrogénation des phospholipides sur la structure des matériaux obtenus.

Dans toutes les synthèses de ce chapitre, le système de synthèse prévoyait le 5 % de phospholipides ($PL/(PL+H_2O+EtOH) = 0.05$), un rapport de masse $EtOH/(EtOH+H_2O) = 0.53$, un rapport molaire $TEOS/phospholipide = 0.10$ et 4 heures de mûrissement à 37 °C.

V.I. Effet de la pureté de la phosphatidylcholine

Dans cette partie on a utilisé trois types des phospholipides appartenant à la même source (grain de soja), avec différents degrés de pureté. Ils sont définis par le fabricant (Lipoid) comme lécithines de soja au 45, 75 et 100%. Les diffractogrammes des solides formés sont reportés dans la figure V.1 et les paramètres correspondants dans le tableau V.1..

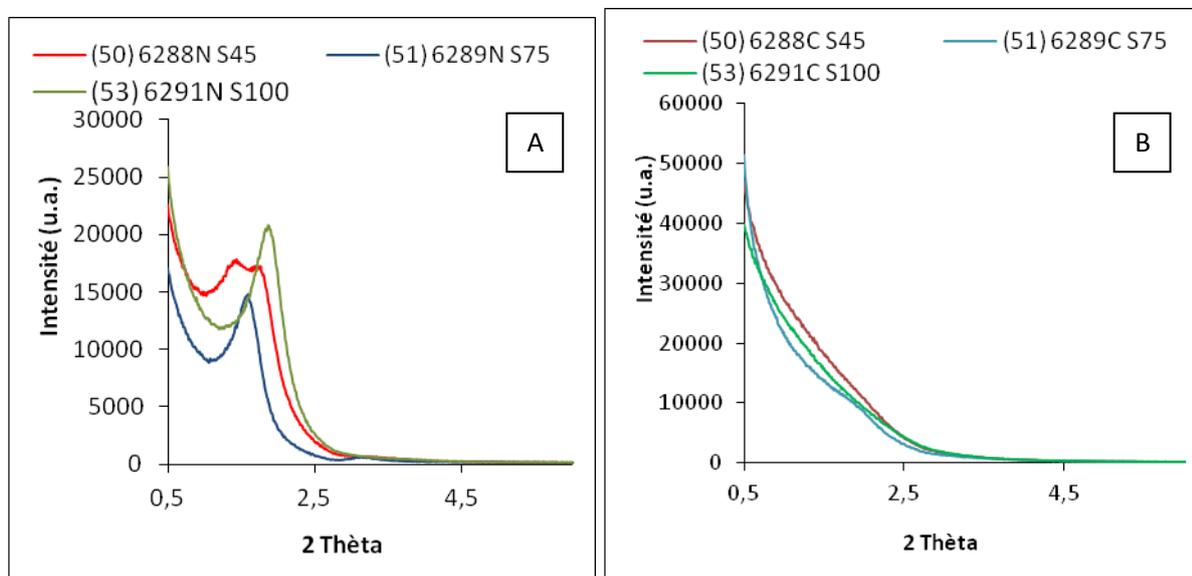


Figure (V. 1) : *Diffractogrammes des rayons X des matériaux A : non calcinés et B : calcinés, obtenus avec S-45, S-75 et S100.*

Dans la région des bas angles 2θ entre 0,5 et 6, les diffractogrammes DRX des matériaux obtenus confirment qu'on a obtenu des mésostructures pour les trois échantillons. Au delà des pics principaux à angles inférieures à $2^\circ 2\theta$, tous les échantillons présentent des

traces de pics harmoniques à distance interplanaire double, ce qui suggère la présence de structures lamellaires. Le diffractogramme est plus complexe dans le cas de l'échantillon synthétisé à partir de lécithine S45 : au delà du pic à 5.2 nm, qui peut être attribué à une phase lamellaire de par la présence d'un pic harmonique à 2.6 nm, le diffractogramme présente autre pic à 6.5 nm. Nous verrons que ce diffractogramme, suggérant la présence de deux phases différentes dans l'échantillons, trouvera une explication dans la morphologie des solides formés.

La calcination fait perdre tout ordre à longue distance aux échantillons.

Tableau (V.1) : Paramètres structuraux et texturaux d'échantillons préparés avec lécithines de soja à différents degrés de pureté.

NTOA	lécithine	Avant calcination		après calcination				composition ex ATG
		2 θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	Vmésos (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)	SiO ₂ /lécithine (masse)
50	S45	1.36 1.71 3.34	6.5 5.2 2.6	320	0.28	3.6	5.0	0.83
51	S75	1.60 3.17	5.6 2.8	268	0.23	3.9	5.2	0.88
53	S100	1.90 3.60	4.7 2.4	490	0.29	3.2	4.6	0.60

L'étude texturale par adsorption d'azote à 77°K (figure V.2 et tableau V.1) montre que tous les échantillons ont une adsorption dans une porosité inférieure à 4 nm. Cette adsorption est très étalée et ne donne pas lieu à une marche d'adsorption nette, correspondant à une taille des pores définie. L'échantillon synthétisé avec lécithine S100 ne montre pas de porosité de taille plus importante, tandis que les isothermes des autres échantillons continuent à une pression relative supérieure à 0.45, en assumant une forme de type IV, d'après la classification de l'IUPAC caractéristique des matériaux mésoporeux. On remarque que, dans la branche d'adsorption de l'isotherme, il manque une marche définie de condensation capillaire, ce qui fait classer le cycle d'hystérésis des échantillons synthétisés avec S45 et S75 comme type H4, typique de mésopores en fente. La condensation dans les pores a lieu sur un

domaine très large de pression relative et la désorption n'a lieu que quand la pression redescend à la limite de stabilité du ménisque de l'azote condensé dans les pores.

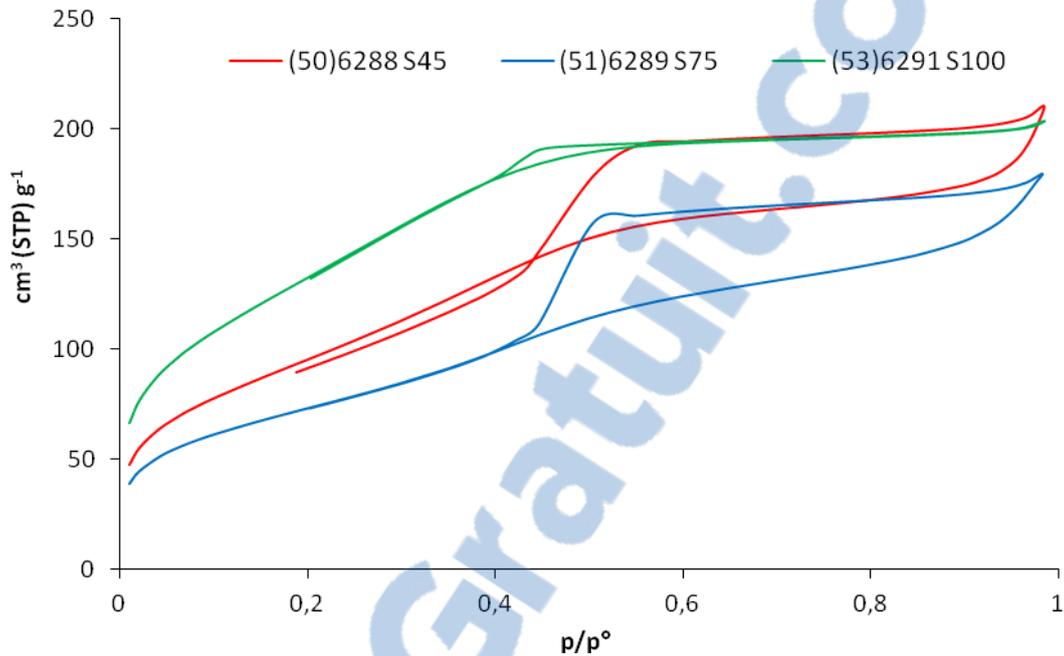


Figure (V.2) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux obtenu avec S45, S75 et S100.

On aurait donc deux types de porosité : une mésoporosité de petite taille présente dans tous les échantillons et une mésoporosité de taille plus grande dont le type d'hystérésis suggère une organisation lamellaire du matériau.

Les analyses thermogravimétrique des matériaux synthétisés avec les phospholipides de Soja de différents degrés de pureté sont reportées dans la figure V.3.

La composition qui peut être déduite des courbes de thermogravimétrie est reportée dans le tableau V.1 et montre que la teneur en silice de l'échantillon synthétisé avec S1000 est inférieure à celle des autres échantillons.

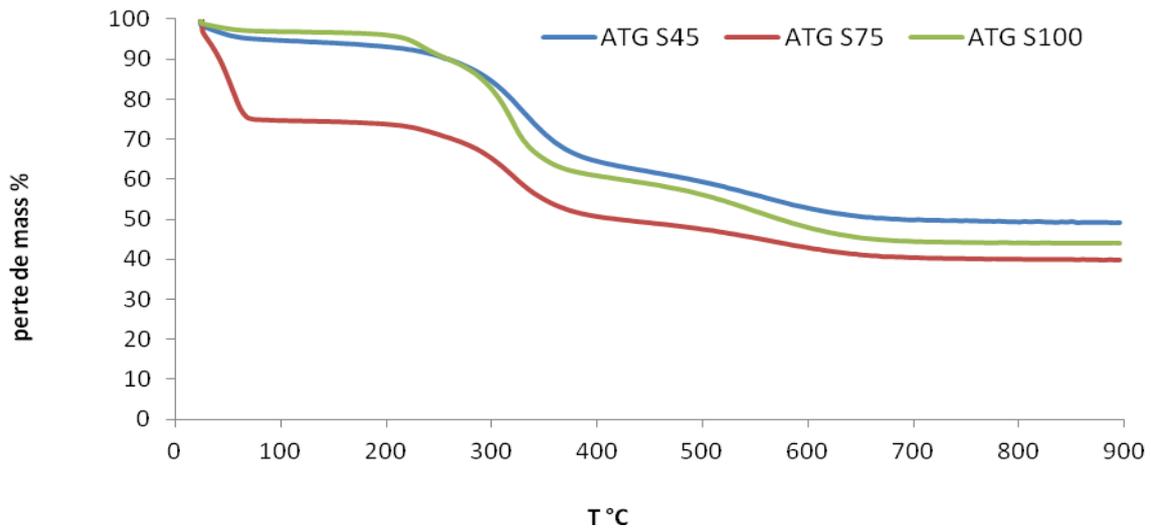


Figure (V.3) : Analyse thermogravimétrique des matériaux obtenus avec S45, S75 et S100.

Les clichés de microscopie électronique à balayage reportés dans les figures V.4, V.5 et V.6 nous montrent une organisation de tous les échantillons en sphères microniques partiellement agglomérées. La taille moyenne des sphères diminue progressivement de 3 à 1 micromètre en passant de la lécithine S45 à la lécithine S100. Un changement significatif est aussi observé dans la structure interne des sphères. Dans le cas du composite formé à partir de lécithine S45, les sphères présentent un noyau à l'apparence lamellaire entouré d'une couronne de matériau plus compact. Les sphères formées en présence de lécithine S75 et S100 semblent entièrement composées d'un agrégat compact de lamelles, dans lequel des cavités se sont ouvertes, probablement pendant le séchage des échantillons à l'air ou dans la préparation des échantillons pour la microscopie, ou encore sous le vide de la chambre du microscope.

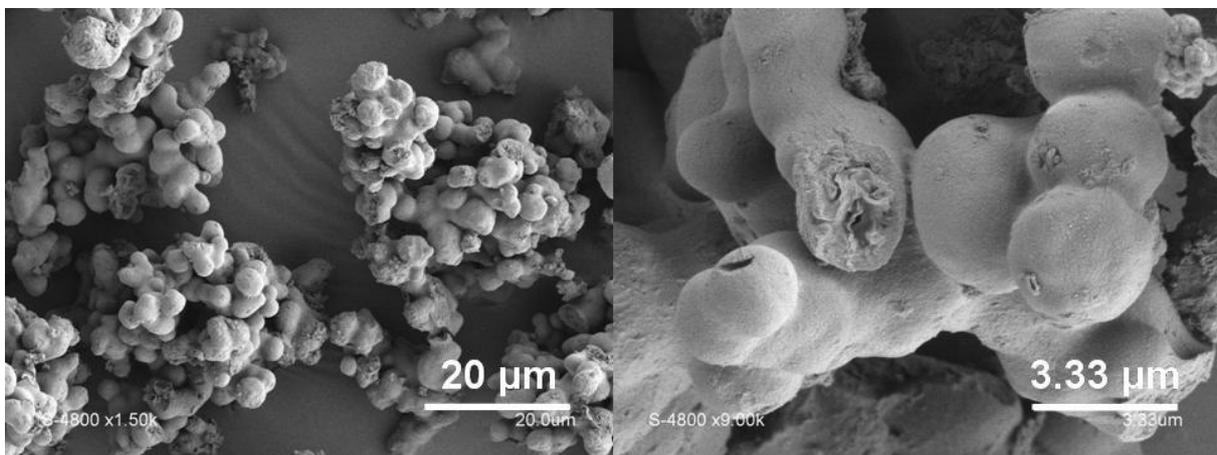


Figure (V.4) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA050, synthétisé en présence de lécithine de soja S45.

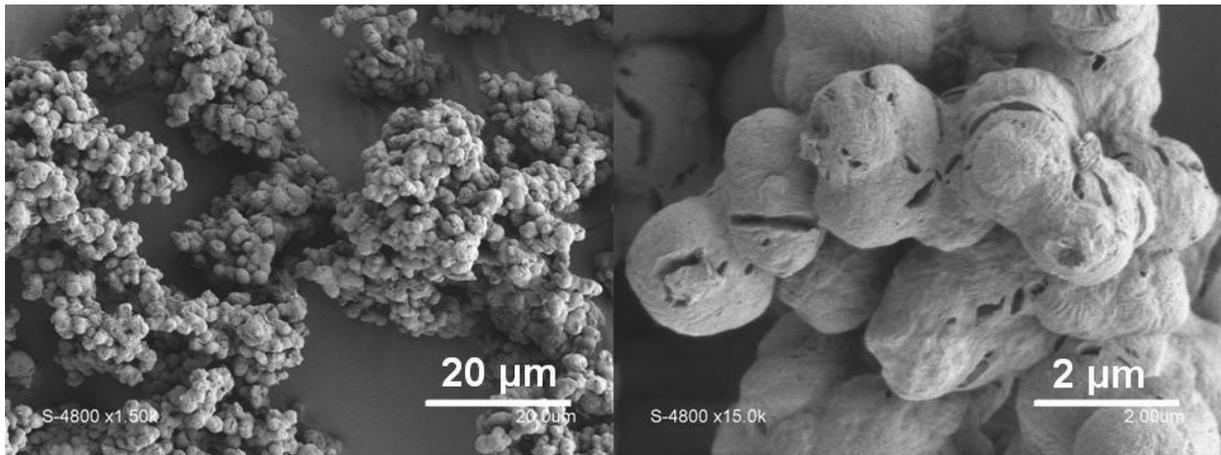


Figure (V.5) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA051, synthétisé en présence de lécithine de soja S75.

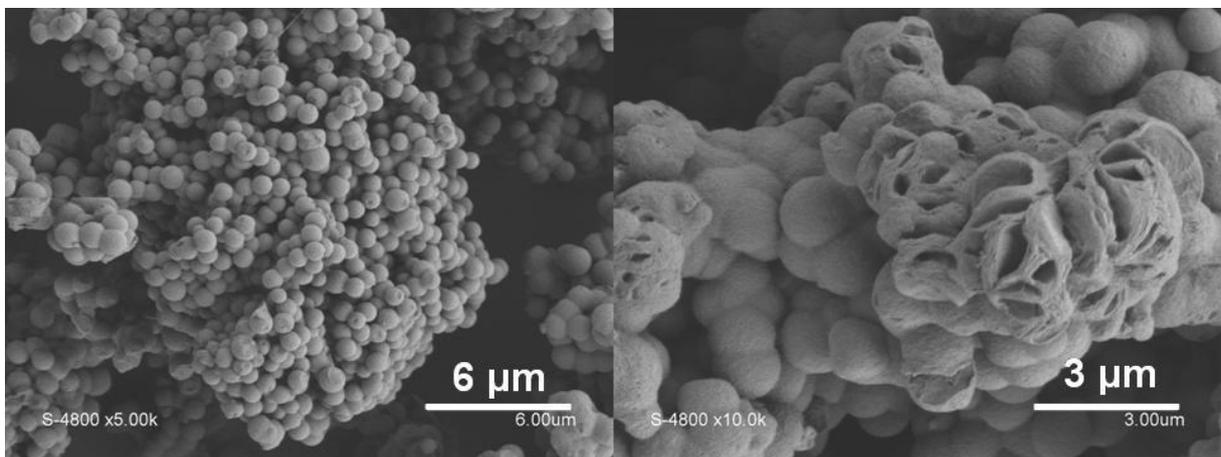


Figure (V.6) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA053, synthétisé en présence de lécithine de soja S100.

L'hétérogénéité de morphologie entre coeur et couronne dans le cas du solide préparé avec lécithine S45 n'est pas sans rappeler la présence de deux phases distinctes dans le diffractogramme du solide. Il semble raisonnable de penser que le coeur et le bord des sphères se soient formés en phases successives lors de la synthèse et que la présence de deux phases traduit une transformation incomplète d'une phase dans l'autre.

V.II. Effet de la source de phosphatidylcholine

Dans cette partie, on a utilisé deux types des phospholipides nominalement purs mais de deux sources différentes, l'un obtenu à partir de grains de soja (S100) et l'autre à partir de jaune d'œuf (E100).

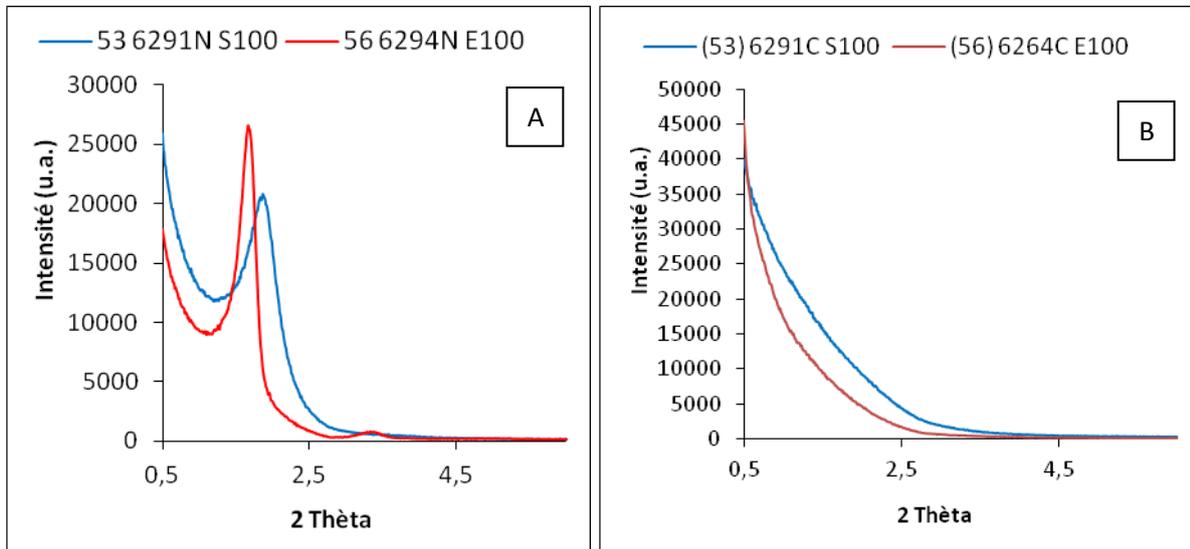


Figure (V.7) : *Diffractogrammes des rayons X des matériaux A : non calcinés et B : calcinés obtenue avec E100 et S100.*

Les diffractogrammes des rayons X des matériaux obtenus sont reportés en figure V.7 et les données correspondantes sont présentées dans le tableau V.2. Les échantillons synthétisés avec les deux types de lécithines présentent des couples de pics harmoniques, qui suggèrent une structure lamellaire. Le second pic est particulièrement évident dans le cas de la synthèse à la lécithine d'œuf.

Les isothermes d'adsorption d'azote des deux échantillons sont reproduites en figure V.8 et les données correspondantes sont présentées dans le tableau V.2. L'adsorption dans l'échantillon synthétisé avec la lécithine de soja a déjà été discutée au paragraphe V.1. L'adsorption d'azote de l'échantillon synthétisé avec la lécithine d'œuf purifiée ne montre pas de marche de condensation bien définie et présente une isotherme de type IV, typique de porosité en fente.

Tableau (V.2) : Paramètres structuraux et texturaux d'échantillons préparés avec lécithines d'oeuf et de soja purifiées.

NTOA	lécithine	Avant calcination		Après calcination				Composition ex ATG
		2 θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	Vmésos (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)	SiO ₂ /lécithine (masse)
56	E100	1.69 3.40	5.2 2.6	150	0.12	3.5	5.2	0.55
53	S100	1.90 3.60	4.7 2.4	490	0.29	3.2	4.6	0.60

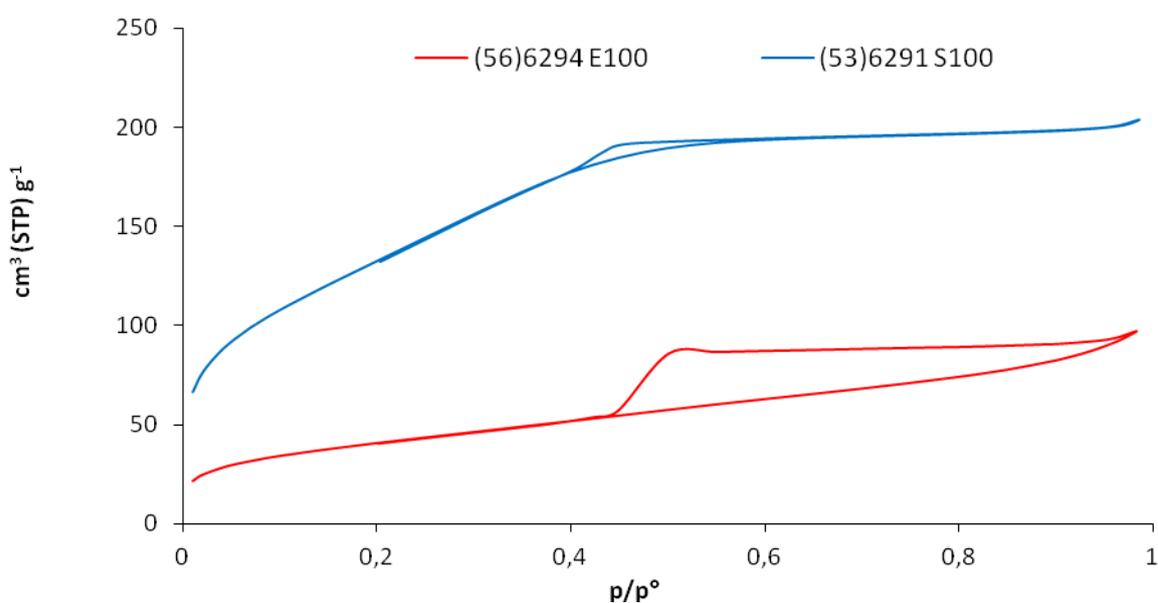


Figure (V.8) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux obtenus par E100 et S100.

La surface spécifique et le volume des pores obtenus en utilisant la lécithine de soja sont plus élevés par rapport à ceux obtenus avec la lécithine d'œuf.

Les courbes thermogravimétriques des deux échantillons, reportées en figure V.9, n'indiquent pas une grande différence de rapport silice/organique dans les deux échantillons, comme indiqué dans le tableau V.2. La similitude entre les deux courbes s'est fondée sur l'hypothèse de considérer la perte de solvant initial comme dépendant du séchage non contrôlé de l'échantillon, sans que cela ait des implications structurales.

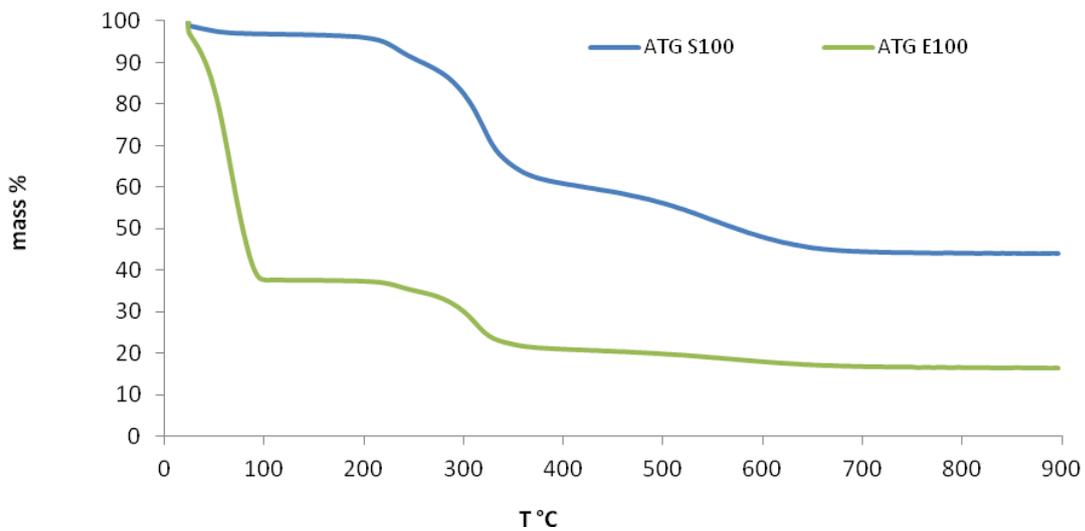


Figure (V.9) : Analyse thermogravimétrique des matériaux obtenus avec E100 et S100.

La microscopie électronique à balayage de l'échantillon synthétisé avec la lécithine d'oeuf est reportée en figure V.10 et elle peut être utilement comparée aux micrographies de l'échantillon synthétisé avec lécithine de soja, reportées dans la figure V.6. On retrouve une morphologie en sphères d'environ 1 micromètre, formées par un conglomérat assez compact de feuilletés désordonnés.

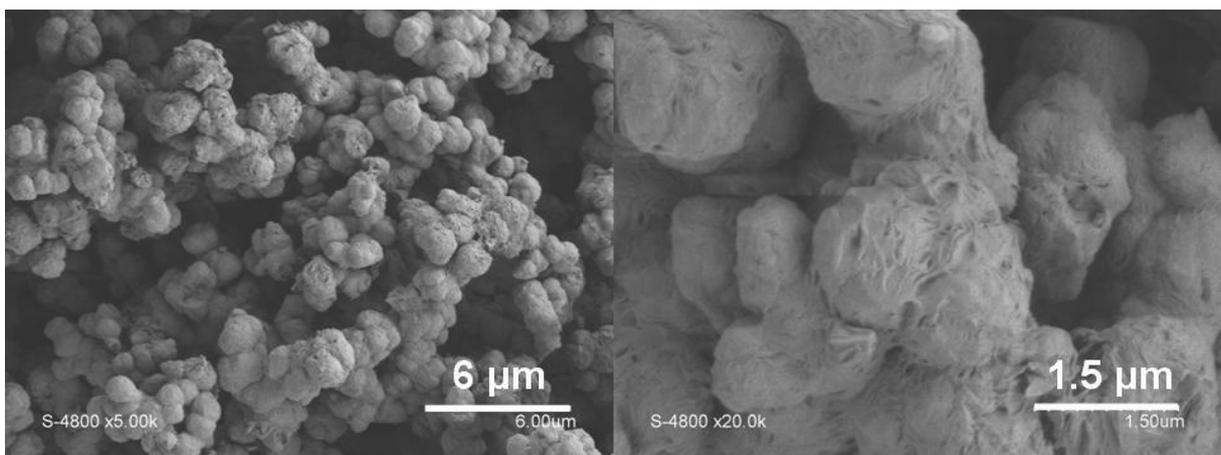


Figure (V.10) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA056, synthétisé en présence de lécithine de jaune d'oeuf E100.

III. Effet de l'hydrogénation

Les phospholipides hydrogénés sont utilisés dans cette partie en vue de les comparer avec d'autres du même degré de pureté et de la même source pour étudier l'effet de l'hydrogénation.

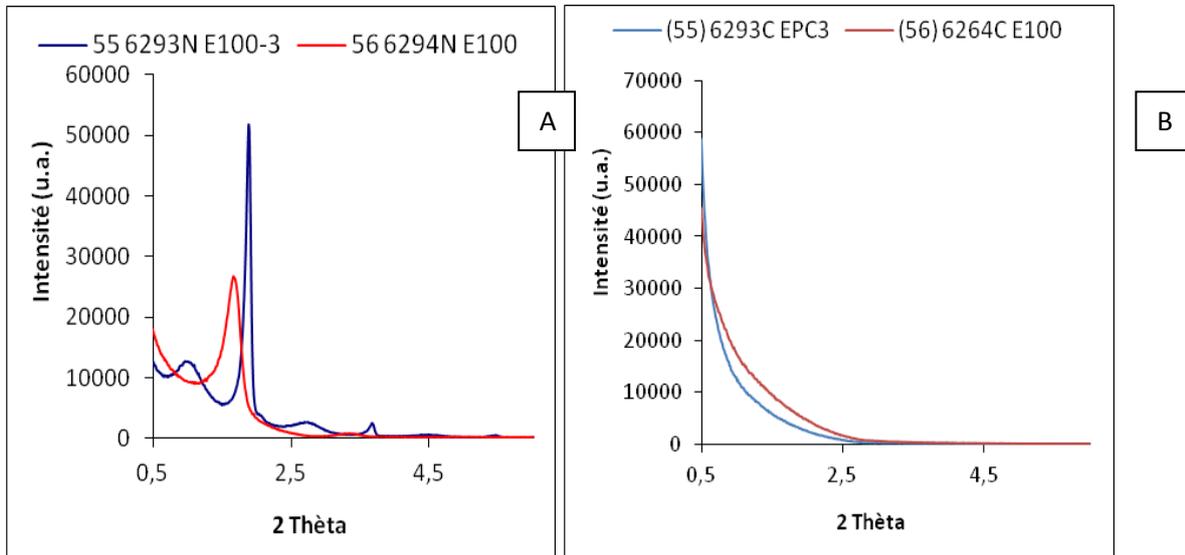


Figure (V.11) : *Diffraction des rayons X des matériaux A : non calcinés et B : calcinés obtenue avec E100 et E100-3.*

Les diffractogrammes des solides obtenus avec la lécithine d'oeuf purifiée, hydrogénée et non hydrogénée, sont reportés dans la figure V.11. Nous avons déjà vu que le solide synthétisé avec lécithine d'oeuf E100 présente les pics d'une structure lamellaire. Le solide synthétisé avec la lécithine hydrogénée EPC3 présente un diffractogramme plus complexe, avec deux pics fins à 4.7 et 2.4 nanomètres, typiques d'un composé lamellaire, et deux pics étalés centrés à 8.5 et 3.2 nanomètres.

Aucune de ces structures n'est stable à la calcination. De plus, la présence de plusieurs phases n'a aucun effet positif sur la porosité des échantillons calcinés, dont les isothermes à l'azote sont reportées en figure V.12. Nous avons déjà vu au paragraphe V.2 que le solide formé avec lécithine d'oeuf E100 présente une surface spécifique de $150 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ et l'isotherme typique d'un solide lamellaire. Le solide formé avec la lécithine hydrogénée EPC3 présente une surface spécifique de $50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ et ne présente aucune porosité structurale. En effet, son volume poreux correspond à une mésoporosité désordonnée centrée à 40 nm, probablement d'origine intergranulaire.

Tableau (V.3) : Paramètres structuraux et texturaux d'échantillons préparés avec lécithines d'oeuf purifiées, hydrogénée (EPC3) et non hydrogénée (E100).

NTOA	lécithine	Avant calcination		Après calcination				Composition ex ATG
		2 θ (deg)	d (nm)	SBET ($m^2 g^{-1}$)	Vmésos ($cm^3 g^{-1}$)	D Ads (nm)	D dés (nm)	SiO ₂ /lécithine (masse)
56	E100	1.69 3.40	5.2 2.6	150	0.12	3.5	5.2	0.55
55	EPC3	1.04 1.89 2.77 3.69	8.5 4.7 3.2 2.4	58	0.24	40	40	0.14

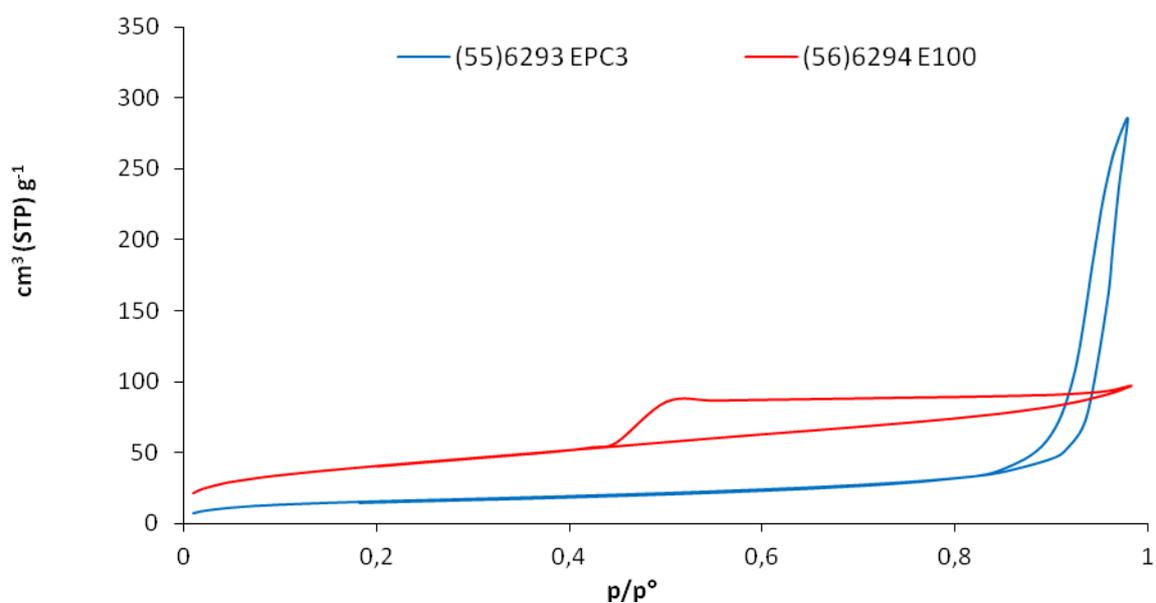


Figure (V.12) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux obtenus avec E100 et EPC3.

Les courbes thermogravimétriques des deux échantillons sont reportées dans la figure V.12. On remarque que les deux analyses commencent par des pertes importantes de solvant au début du chauffage. Le rapport silice/organique, reporté dans le tableau V.3, est particulièrement faible pour l'échantillon formé en présence de lécithine hydrogénée.

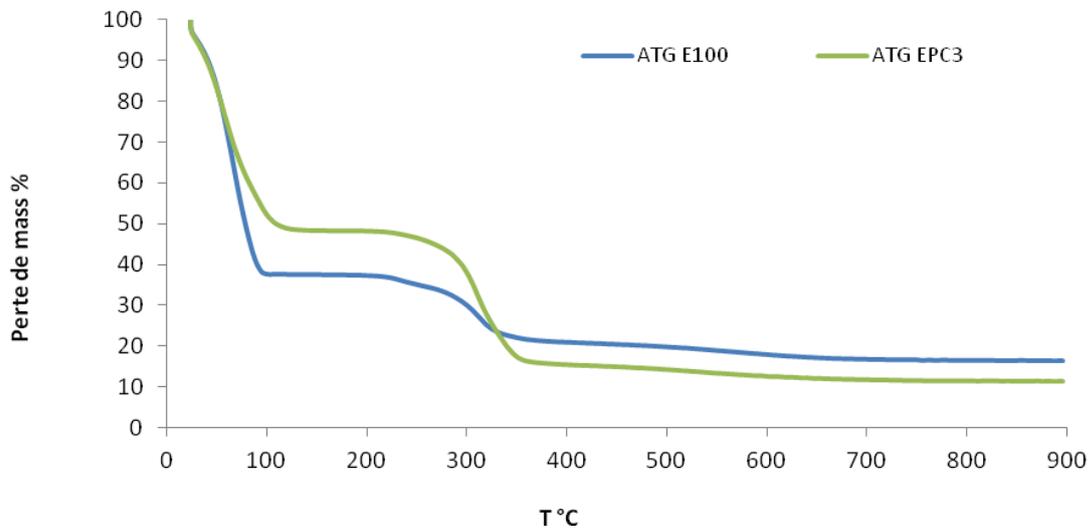


Figure (V.13) : Analyse thermogravimétrique des matériaux obtenus avec E100 et EPC3.

La morphologie de l'échantillon formé en présence de lécithine hydrogénée, dont les micrographies sont présentées dans la figure V.14, est complètement différente des structures sphérique observées dans les solides formés à partir de lécithines non hydrogénées. La morphologie observée consiste en un agrégat compact de structures lamellaires macroscopiques.

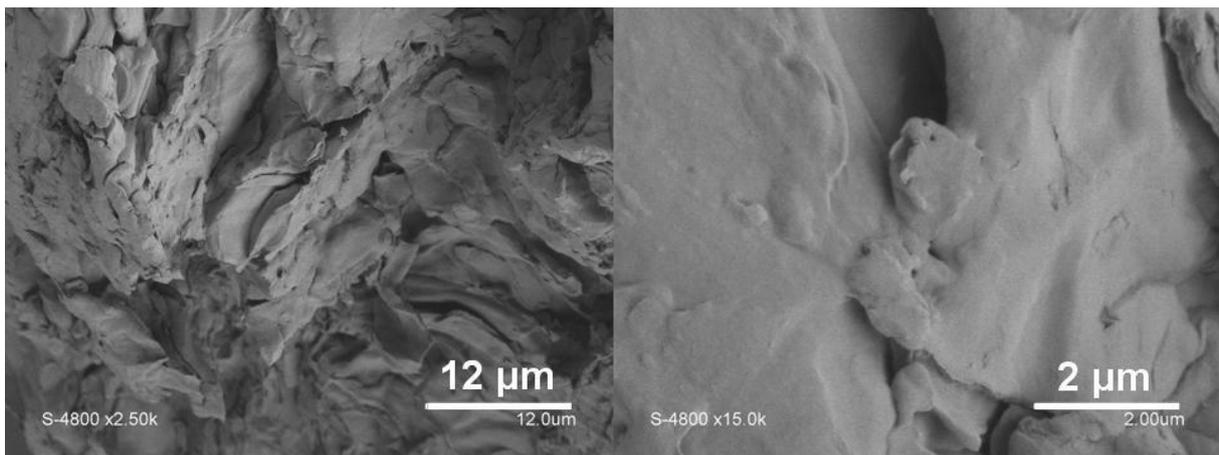


Figure (V.14) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA055, synthétisé en présence de lécithine de jaune d'oeuf hydrogénée EPC-3.

Nous avons fait pour la lécithine de soja la même comparaison entre solides formés avec lécithines hydrogénée et non hydrogénée. Les diffractogrammes des deux types de solides, montrés dans la figure V.15, rappellent de près les différences observées dans le cas des lécithines d'oeuf hydrogénée et non hydrogénée. En effet, le solide formé avec lécithine de soja hydrogénée présente un diffractogramme très proche de celui du solide formé avec lécithine d'oeuf hydrogénée, en présentant deux pics harmoniques fins à 4.2 et 2.1 nanomètres et deux bosses étalées à 7.6 et 2.8 nanomètres (tableau V.4).

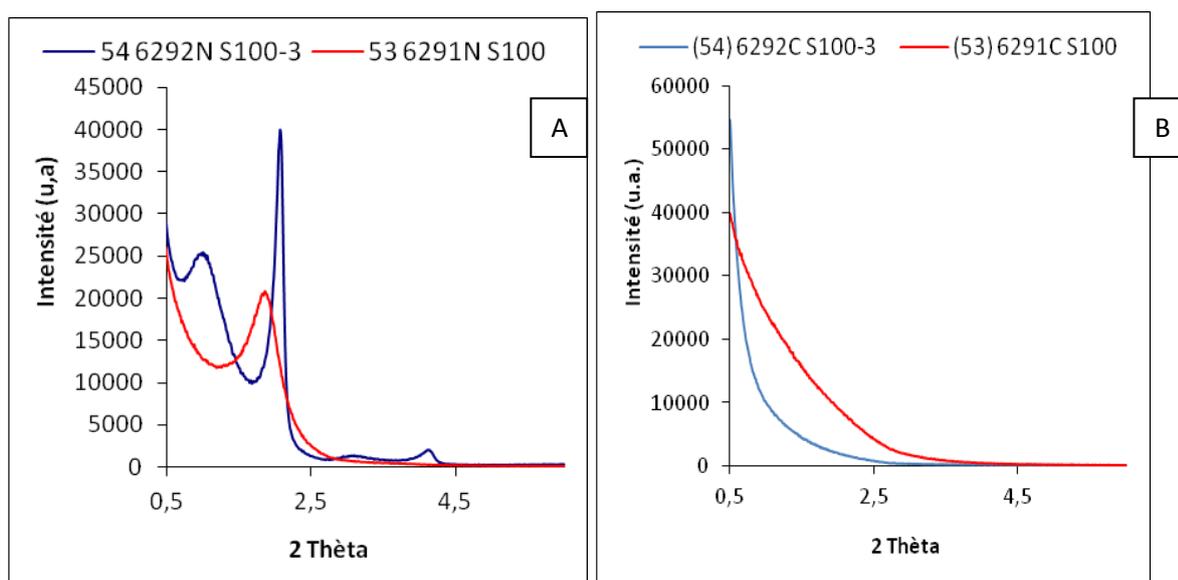


Figure (V.15) : Diffractogrammes des rayons X des matériaux A : non calcinés et B : calcinés obtenue avec S100 et S100-3.

Tableau (V.4) : Paramètres structuraux et texturaux d'échantillons préparés avec lécithines de soja purifiées, hydrogénée (S100-H) et non hydrogénée (S100).

NTOA	lécithine	Avant calcination		Après calcination				Composition ex ATG
		2 θ (deg)	d (nm)	SBET (m ² g ⁻¹)	Vmésos (cm ³ g ⁻¹)	D Ads (nm)	D dés (nm)	SiO ₂ /lécithine (masse)
53	S100	1.90 3.60	4.7 2.4	490	0.29	3.2	4.6	0.60
54	S100-H	1.16 2.12 3.13 4.23	7.6 4.2 2.8 2.1	97	0.61	38	40	0.15

De la même façon, l'isotherme du solide formé avec lécithine S100-3, montrée dans la figure V.16, ne présente pas de marche de condensation avant l'adsorption dans un système de grands mésopores, probablement interparticulaires, de taille moyenne proche de 40 nm.

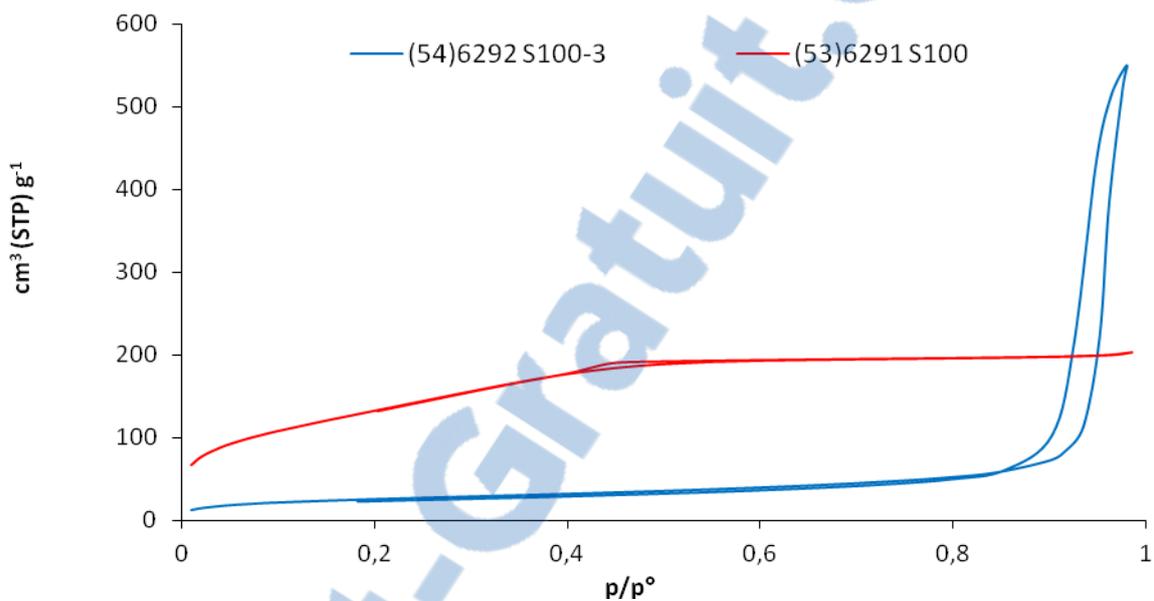


Figure (V.16) : Isothermes d'adsorption d'azote des matériaux obtenus avec S100 et S100-3.

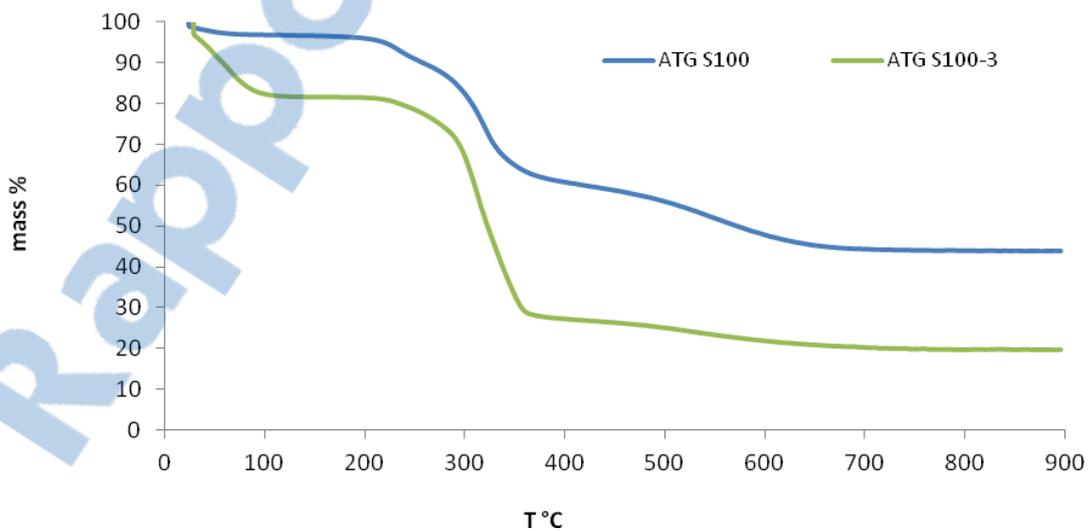


Figure (V.17) : Analyse thermogravimétrique des matériaux obtenus par S100 et S100-3.

La thermogravimétrie de l'échantillon synthétisé avec lécithine de soja hydrogénée, dont la courbe est montrée dans la figure V.17, indique un très faible rapport silice/organique (tableau V.4), comme nous avons vu pour le solide formé avec lécithines d'oeuf hydrogénée.

Aussi les morphologies des solides formés avec les deux lécithines hydrogénées sont proches, comme il est témoigné par les micrographies de l'échantillon formé en présence de lécithine de soja hydrogénée (figure V.18), qui montrent un agrégat compact de structures lamellaires parallèles.

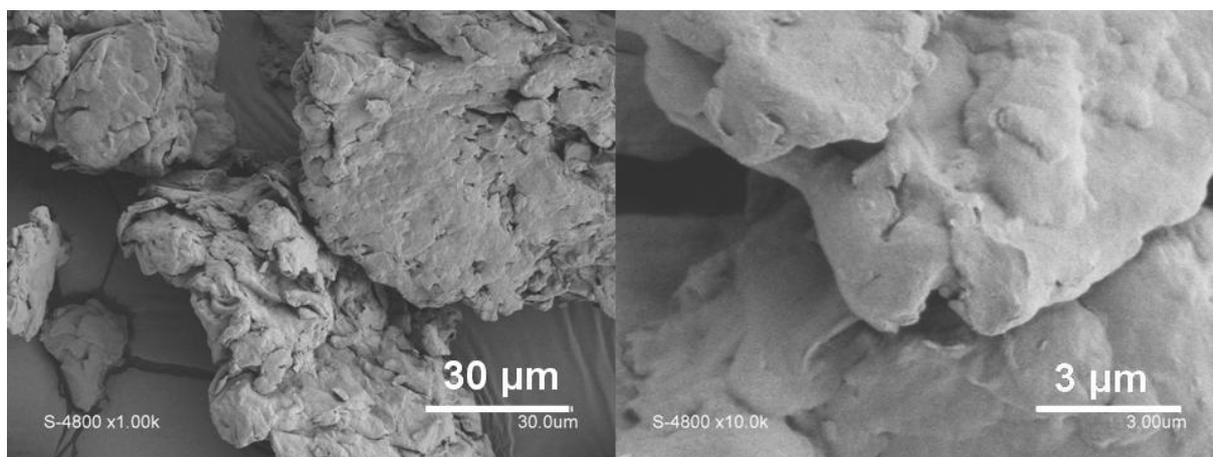


Figure (V.18) : Clichés de microscopie électronique à balayage de l'échantillon NTOA054, synthétisé en présence de lécithine de soja hydrogénée S100-H.

Il apparaît clairement que l'utilisation de lécithines hydrogénées aboutit à des composites très différents de ceux formés dans d'autres conditions. Les différences tiennent à la morphologie (agrégats lamellaires au lieu de sphères), la diffraction des rayons X (structure plus complexes, mixte entre une phase lamellaire et des structures désordonnées) et la composition, avec une très faible incorporation de silice.

Il semble logique de chercher à justifier ces différences par des variations de propriétés physiques du phospholipide induites par l'hydrogénation. On remarque d'abord que les phospholipides saturés présentent une température de transition gel-cristal liquide bien plus élevée que les lipides insaturés correspondants. par exemple, la PC(16:0, 18:1) palmitoyl-oléylphosphatidylcholine, composante principale de la lécithine d'oeuf, présente une température de transition de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$, tandis que son homologue hydrogéné, la PC(16:0,18:0),

présente une température de transition de 49 °C [1]. Ceci implique que, dans nos conditions de préparation à 37 °C, les lipides hydrogénés sont au dessous de leur température de transition, donc à l'état gel. Il semble donc que les lipides à l'état cristaux liquides soient les seuls qui peuvent donner lieu aux structures mixtes avec la silice. On pourrait relier cet effet à l'observation que seulement des lipides en état cristaux liquides peuvent former des liposomes [2], en suggérant que la disposition à la fusion des bicouches soit une condition nécessaire à la formation de mésophases mixtes silice-lipide.

Nous avons d'ailleurs remarqué dans le chapitre III que le processus d'hydrogénation a induit la rupture d'une fraction importante des liaisons esters des lipides, en engendrant des quantités importantes de lysophosphatidylcholines : le 78 % molaire pour la EPC-3 et le 24 % molaire pour la S100-H. De telles quantités de lysophosphatidylcholine pourraient induire une courbure positive des bicouches de phospholipides. La courbure positive est en général considérée comme un élément défavorable à la fusion et à l'hémifusion des bicouches [3, 4]. Cela pourrait justifier l'absence de structures stables à la calcination dans les synthèses avec lécithines hydrogénées.

On remarque d'ailleurs que des multiples structures complexes (micelles, empilements de bicelles [5], mésophases hexagonales [6]) ont été obtenues par évaporation de solutions hydroalcooliques de lysophosphatidylcholines. Il serait intéressant d'attribuer la multiplicité de structures observées par diffraction à une pluralité de mésophases d'un mélange de lipides incluant de la lysophosphatidylcholine. Pour cela, il serait nécessaire d'envisager un fractionnement du système au cours de la synthèse, qui pourrait être lié à une interaction différentielle avec la silice en formation. Un phénomène de ce type pourrait justifier la très faible incorporation de silice dans le système. On remarque que le fractionnement de systèmes lipidiques adsorbés en fonction de la courbure d'un support silicique est un domaine de recherche récent en plein essor [7].

IV. Références bibliographiques

- [1] Lipid Thermotropic Phase Transition Database - NIST Standard Reference Database 34.
www.lipidat.tcd.ie
- [2] P.L. Ahl, W.R. Perkins, *Interdigitation-fusion liposomes*, *Methods in Enzymology* 367 (2003) 80-98
- [3] L. V. Chernomordik, M. M. Kozlov, J. Zimmerberg, *Lipids in biological membranes fusion*. *Journal of Membrane Biology* 146 (1995) 1-14.
- [4] L. Yang, H.W. Huang, *Observation of a Membrane Fusion Intermediate Structure*, *Science* 297 (2002) 1877-1879.
- [5] J.R. Harris. *A negative staining study of natural and synthetic L- α -lysophosphatidylcholine micelles, macromolecular aggregates and crystals*, *Micron and Microscopica Acta*, 7 (1986) 289-305.
- [6] D.R. Dunphy, T.M. Alam, M.P. Tate, H.W. Hillhouse, B. Smarsly, A.D. Collord, E. Carnes, H.K. Baca, R. Kohn, M. Sprung, J.Wang, C.J. Brinker, *Characterization of Lipid-Templated Silica and Hybrid Thin Film Mesophases by Grazing Incidence Small-Angle X-ray Scattering*, *Langmuir* 25 (2009) 9500–9509.
- [7] D. A. Walker, E. K. Leitsch, R. J. Nap, I. Szleifer, B.A. Grzybowski, *Geometric curvature controls the chemical patchiness and self-assembly of nanoparticles*, *Nature Nanotechnology* 8 (2013) 676–681.

Conclusion générale

La formation de mésophases mixtes silice-phospholipides reste un phénomène étonnant. La formation des mésophases tensioactif-silice, responsables de la formation des structures mésoporeuses bien connues de la famille M41s, est basée sur l'utilisation de tensioactifs à forte courbure positive. Au contraire, les phosphatidylcholines sont bien connues pour avoir une forte tendance à former des bicouches à courbure neutre. Ceci est d'ailleurs à la base de la structure des membranes biologiques dont notre existence dépend.

Pourtant, l'utilisation de la lécithine d'oeuf comme structurant a permis la synthèse des silices mésoporeuses SMS (sponge mesoporous silicas), présentant des réseaux mésoporeux isométriques d'une taille des pores caractéristique en bon accord avec l'épaisseur des bicouches de phospholipides [1-5].

La formation de ces mésophases mixtes a été différemment justifiée par l'action du milieu hydroalcoolique utilisé ou par la présence d'amines à longue chaîne comme cotensioactif. En effet les deux paramètres peuvent engendrer une courbure positive des couches de phospholipides, par l'expansion de la surface des têtes polaires induite par l'alcool [6, 7] ou par la diminution du paramètre g d'Israelachvili induite par la solubilisation de l'amine dans le lipide [8].

L'utilisation d'amines grasses dans la formation de mésophases silice-phospholipide en milieu hydroalcoolique a été d'ailleurs proposée comme modèle de la silicification naturelle dans les diatomées [9, 10]. D'ailleurs, des mésophases mixtes silice-lipide à symétrie hexagonale ont été effectivement formées en utilisant des lysophosphatidylcholines ou des phosphatidylcholines à chaîne courte, caractérisées par une courbure spontanée positive [11-13]. Des mésophases mixtes hexagonales incluant des phosphatidylcholine à longue chaîne ont aussi pu être obtenues en rajoutant des cotensioactifs capables d'induire une courbure positive [14, 15].

Nous avons montré que la présence de cotensioactifs aminés n'est pas nécessaire à la formation de mésophases isométriques silice-lécithine. Nous pouvons d'ailleurs nous

demander si la formation de mésophases mixtes isométriques suit le même mécanisme proposé pour la formation des phases hexagonales avec tensioactif à courbure spontanée positive.

En effet il est généralement admis que la formation de phases isométriques à partir de structures lamellaires passe par un mécanisme d'hémifusion qui implique un intermédiaire à rayon de courbure négatif [16, 17]. A confirmation de cela, on constate que les cotensioactifs qui induisent une courbure spontanée positive inhibent la fusion des membranes, tandis que les cotensioactifs qui induisent une courbure négative la favorisent [18].

Parmi ces additifs, les alcools à courte chaîne présentent un comportement particulier : ils augmentent l'espacement des têtes polaires des phospholipides, ainsi favorisant une courbure positive, mais favorisent la fusion des membranes. Ce comportement a été attribué à la déstabilisation par l'alcool de la surface polaire de la couche de phospholipide, ce qui favoriserait la création d'un pont entre les bicouches, étape fondamentale de l'hémifusion [16]. On peut, de plus, remarquer que l'étape intermédiaire à courbure négative n'est indispensable que pour une hémifusion donnant origine à une phase hexagonale. Au contraire, l'intermédiaire pour passer de la structure lamellaire à une phase bicontinue isométrique présente côte à côte des parties à courbure positive et à courbure négative, la courbure moyenne étant neutre, comme dans la phase isométrique finale.

Le rôle de la silice est d'ailleurs aussi fondamentale dans la formation et la stabilisation de la mésophase mixte. La morphologie des solides mixtes formés est particulièrement intéressante. Des sphères microniques de taille assez homogène ne correspondent pas à la morphologie attendue pour le gel lamellaire du système lécithine-eau-alcool dans les conditions de synthèse utilisées [19]. La morphologie en sphères est probablement le résultat d'un processus de nucléation-croissance initié par l'hydrolyse du TEOS. Il est intéressant d'observer que, dans les préparations à teneur d'éthanol variable, des grains nettement plus petits sont formés dans le milieu moins alcoolique, où l'on peut s'attendre que l'hydrolyse du TEOS soit plus rapide et la nucléation-croissance se transforme en une précipitation rapide. Tout cela suggère que la présence de la silice ait un rôle central dans la formation d'une mésophase isométrique.

On remarque aussi que cette phase semble avoir une composition variable en fonction des équilibres avec la solution environnante, comme suggéré par la diminution de la fraction

d'organique dans le solide et la diminution du rendement de précipitation à l'augmentation de la fraction d'éthanol, donc à l'augmentation de la solubilité de la lécithine.

Le rapport silice/organique dans le solide a un rôle essentiel dans la stabilité de la fraction silicique au moment de l'élimination du structurant organique par traitement oxydant en température. Il est clair que les solides les plus riches en silice, formés en présence de concentrations d'alcool plus élevées, présentent une meilleure stabilité thermique et une porosité plus importante.

Plusieurs éléments suggèrent d'ailleurs que la formation de la phase isométrique passe par plusieurs étapes, qui peuvent ne pas être achevées au même niveau dans des parties différentes des grains de précipité. Des transformations incomplètes d'un intermédiaire lamellaire dans la phase isométrique peuvent justifier des observations de microscopie et des hystérésis d'isothermes compatibles avec des structures coeur-couronne. Un avancement progressif de l'hémifusion avec la condensation de la fraction silicique du matériau semble l'explication la plus convaincante du phénomène.

Le rôle de la condensation des précurseurs siliciques dans l'induction de la courbure approprié à la formation des MCM-41 en présence de tensioactifs cationiques a bien été démontré [20] et le rôle clé d'un phénomène analogue dans la formation des SMS en présence de phospholipides [4] nous conforte dans la conviction de l'universalité de la chimie-physique de l'autoassemblage.

Références bibliographiques

- [1] M. Mureseanu, A. Galarneau, G. Renard, F. Fajula. *A New Mesoporous Micelle-Templated Silica Route for Enzyme Encapsulation*. *Langmuir* 21 (2005) 4648-4655.
- [2] A. Galarneau, M. Mureseanu, S. Atger, G. Renard, F. Fajula, *Immobilization of lipase on silicas. Relevance of textural and interfacial properties on activity and selectivity*. *New Journal of Chemistry* 2006, 30, 562–571
- [3] A. Galarneau, G. Renard, M. Mureseanu, A. Tourrette, C. Biolley, M. Choi, R. Ryoo, F. Di Renzo, F. Fajula, *Synthesis of sponge mesoporous silicas from lecithin/dodecylamine mixed-micelles in ethanol/water media: a route towards efficient biocatalysts*. *Microporous and Mesoporous Materials* 104 (2007) 103–114
- [4] A. Galarneau, F. Sartori, M. Cangiotti, T. Mineva, F. Di Renzo, .M. F. Ottaviani, *Sponge Mesoporous Silica Formation Using Disordered Phospholipid Bilayers as Template*. *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 2140–2152.
- [5] P. Laveille, L. Truong Phuoc, J. Drone, F. Fajula, G. Renard, A. Galarneau, *Oxidation reactions using air as oxidant thanks to silica nanoreactors containing GOx/peroxidases bienzymatic systems*. *Catalysis Today* 157 (2010) 94–100..
- [6] S. J. Slater, C. Ho, F. J. Taddeo, M. B. Kelly, C. D. Stubbs, *Contribution of Hydrogen Bonding to Lipid-Lipid Interactions in Membranes and the Role of Lipid Order: Effects of Cholesterol, Increased Phospholipid Unsaturation, and Ethanol*, *Biochemistry* 32 (1993) 3714-3721.
- [7] A.A. Gurtovenko, J. Anwar. *Interaction of Ethanol with Biological Membranes: The Formation of Non-bilayer Structures within the Membrane Interior and their Significance*. *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 1983–1992.
- [8] J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell, B.W. Ninham, *Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers*. *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*. 72 (1976) 1525-1568.
- [9] J.Y. Shi, Q.Z. Yao, X.M: Li, G.T. Zhou, S.Q. Fu, *Controlled morphogenesis of amorphous silica and its relevance to biosilicification*, *American Mineralogist*, 97, (2012) 1381–1393.

- [10] J.Y. Shi, Q.Z. Yao, X.M. Li, G.T. Zhou, S.Q. Fu, *Formation of Asymmetrical Structured Silica Controlled by a Phase Separation Process and Implication for Biosilicification*, PLOS ONE 8 (2013) e61164.
- [11] H. K. Baca, C. Ashley, E. Carnes, D. Lopez, J. Flemming, D. Dunphy, S. Singh, Z. Chen, N. Liu, H. Fan, G. P. Lopez, S. M. Brozik, M. Werner-Washburne, C.J. Brinker. *Cell-Directed Assembly of Lipid-Silica Nanostructures Providing Extended Cell Viability*. Science 313 (2006) 337-341.
- [12] H.K. Baca, E. Carnes, S. Singh, C. Ashley, D. Lopez, C.J. Brinker, *Cell-Directed Assembly of Bio/Nano Interfaces—A New Scheme for Cell Immobilization*. Accounts of Chemical Research 40 (2007) 836–845.
- [13] D.R. Dunphy, T.M. Alam, M.P. Tate, H.W. Hillhouse, B. Smarsly, A.D. Collord, E. Carnes, H.K. Baca, R. Kohn, M. Sprung, J. Wang, C.J. Brinker, *Characterization of Lipid-Templated Silica and Hybrid Thin Film Mesophases by Grazing Incidence Small-Angle X-ray Scattering*, Langmuir 25 (2009) 9500–9509.
- [14] D. R. Dunphy, F L. Garcia, Z. Jiang, J. Strzalk, J. Wang, C. J. Brinker. *X-Ray characterization of self-assembled long-chain phosphatidylcholine/bile salt/silica mesostructured films with nanoscale homogeneity*. Chemical Communications 47 (2011) 1806–1808.
- [15] P. Mohanty, J. Lee, K.J. Glover, K.I. Landskron, *Discoid Bicelles as Efficient Templates for Pillared Lamellar Periodic Mesoporous Silicas at pH 7 and Ultrafast Reaction Times*, Nanoscale Research Letters 6 (2011) 61.
- [16] A. Chanturiya, E. Leikina, J. Zimmerberg, L.V. Chernomordik, *Short-Chain Alcohols Promote an Early Stage of Membrane Hemifusion*, Biophysical Journal 77 (1999) 2035-2045.
- [17] L. Yang, H.W. Huang, *Observation of a Membrane Fusion Intermediate Structure*, Science 297 (2002) 1877-1879.
- [18] T. J. McIntosh, K. G. Kulkarni, S. A. Simon, *Membrane Fusion Promoters and Inhibitors Have Contrasting Effects on Lipid Bilayer Structure and Undulations*. Biophysical Journal 76 (1999) 2090–2098.

- [19] A. Polozova, X. Li, T. Shanguan, P. Meers, D. R. Schuette, N. Andob, S. M. Gruner, W. R. Perkins, *Formation of homogeneous unilamellar liposomes from an interdigitated matrix*. *Biochim. Biophys. Acta* 1668 (2005) 117-125.
- [20] A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, L. Mollo, B. Fubini, M.F. Ottaviani, *Kinetics of formation of micelle-templated silica mesophases monitored by electron spin resonance*. *Journal of Colloids and Interface Science*, 201 (1998) 105-117.