



**HAL**  
open science

# Émulsions de Pickering stimulables stabilisées par des polymères : élaborations, caractérisations et applications catalytiques et pharmaceutiques

Grégory Douyère

► **To cite this version:**

Grégory Douyère. Émulsions de Pickering stimulables stabilisées par des polymères : élaborations, caractérisations et applications catalytiques et pharmaceutiques. Catalyse. Université de Lille, 2021. Français. NNT : 2021LILUR048 . tel-03613873

**HAL Id: tel-03613873**

**<https://theses.hal.science/tel-03613873v1>**

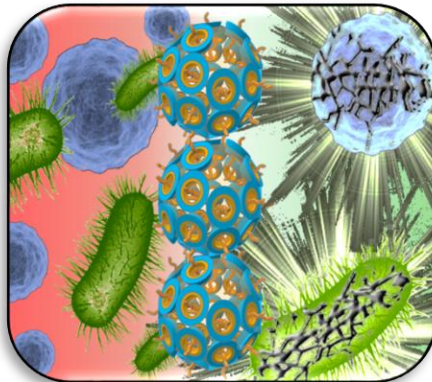
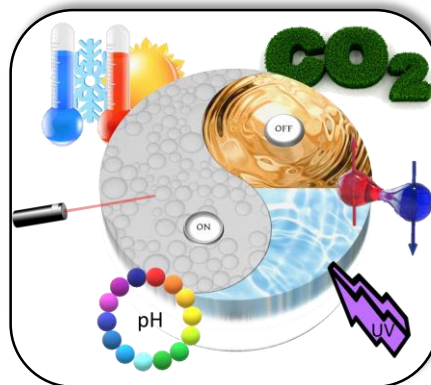
Submitted on 18 Mar 2022

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

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

# Émulsions de Pickering stimulables stabilisées par des polymères : Élaborations, caractérisations et applications catalytiques et pharmaceutiques

Thèse soutenue le 2 Décembre 2021



Grégory DOUYERE

# Université de Lille – Faculté des Sciences et Technologies

## École Doctorale

Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement

Thèse pour obtenir le titre de

**Docteur de l'Université de Lille – Faculté des Sciences et Technologies**

Chimie organique, minérale, industrielle

**Grégory DOUYÈRE**

***Émulsions de Pickering stimulables stabilisées par des polymères :  
Élaborations, caractérisations et applications catalytiques et pharmaceutiques***

Soutenance le 02 Décembre 2021

Thèse dirigée par :

**Prof. Véronique RATAJ, Directrice**

**Dr. HDR Loïc LECLERCQ, Co-Directeur**

### **Membres du Jury**

Pr. Valérie RAVAINÉ	ENSCBP	Rapporteuse
Pr. Michel GRISEL	Université le Havre Normandie	Rapporteur
Pr. Amélie BOCHOT	Université de Paris Saclay	Examinatrice
Pr. Véronique RATAJ	Institut Centrale Lille	Directrice
Dr. HDR Loïc LECLERCQ	Université de Lille	Co-directeur





# Remerciements

---

Ces travaux de recherche ont été financés par la Région Hauts-de-France et l'Université de Lille *via* le laboratoire UCCS (Unité de Catalyse et Chimie du Solide). Les travaux en laboratoire se sont déroulés au sein de l'équipe CİSCO (Colloïdes, Catalyse et Oxydation) au campus Cité Scientifique de l'Université de Lille. Mon aventure dans cette équipe ayant débuté bien avant cette thèse, je souhaite remercier beaucoup de personnes qui m'ont permis à la fois de me lancer dans ce projet mais aussi ceux grâce à qui ces 3 ans resteront gravés dans ma mémoire comme une formidable expérience.

En premier lieu, j'aimerais adresser ma profonde gratitude à ma directrice de thèse, la Professeure Véronique NARDELLO-RATAJ, qui m'a donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Merci de m'avoir fait confiance depuis le début, bien avant la thèse pour les projets que nous avons eus en commun, d'avoir toujours veillé à ce que l'environnement de travail soit propice à la réalisation des travaux. Merci de ton accompagnement tout au long de ces 5 ans, de tes conseils et de ton soutien. Je sais et je me rends compte de tout ce que tu as mis en place pour moi et je t'en remercie grandement.

Je remercie vivement le Dr. HDR Loïc LECLERCQ, co-directeur de ma thèse, pour son aide précieuse et ses suggestions sur ces travaux, mais aussi pour sa disponibilité lorsque j'en avais besoin. Merci également pour les bons moments passés en TP.

Je tiens à remercier les Pr. Valérie RAVAINÉ de l'Université de Bordeaux, et Pr. Michel GRISSEL de l'Université Le Havre, pour avoir accepté d'être membres de mon jury en la qualité de rapporteur, et d'évaluer mes travaux. Merci également à la Pr. Amélie BOCHOT de l'Université Paris-Saclay, de participer à ce jury en tant qu'examinatrice. Merci à vous de prendre de votre temps précieux pour la lecture de ce mémoire.

Je remercie également Céline DELABRE, Ahmed ADDAD, Catherine MÉLIER, Mélanie DUBOIS, Nathalie MOREELS, Alexandre FADEL, et Patrick DAUBIAS, pour m'avoir partagé leur expertise et m'avoir enseigné les bonnes pratiques de laboratoire ou encore l'utilisation de certains appareils et méthodes. Merci également à Marc PERA-TITUS pour le partage de son expertise en chimie catalytique lors de notre courte rencontre.

J'adresse des remerciements particuliers à Christel PIERLOT, Maître de conférences à l'École Centrale Lille, tout d'abord pour nos discussions et débats éclairés sur n'importe quel sujet scientifique, pour ton ouverture d'esprit et ta disponibilité sans pareille. Merci également pour ta profonde gentillesse, de toujours considérer ton prochain comme ton égal. Je m'excuse également d'avoir été le voisin de bureau le plus bruyant que tu aies eu. J'ai toujours énormément apprécié passer du temps avec toi, je trouve que les valeurs que tu prônes et que tu souhaites inculquer se perdent malheureusement, alors que personne n'a autant raison que toi. Tu es une grande source d'inspiration.

Je transmets de chaleureux remerciements à Jean-François DECHEZELLES, Maître de conférences à l'École Centrale Lille, pour tous ses précieux conseils, toujours avisés et réfléchis. Merci d'avoir passé tant de temps avec moi, nos sujets de recherche étaient proches et j'ai trouvé nos débats et échanges passionnants. Merci également pour ta disponibilité, ton humour et ta bonne humeur, j'en garderais un souvenir très heureux.

Je tiens à remercier Mike ORTEGA-VAZ, assistant ingénieur de l'équipe, pour son travail, essentiel au bon fonctionnement du laboratoire. Mais plus qu'un collègue, on a passé beaucoup de temps et de bons moments ensemble depuis que je suis arrivé pour la première fois au laboratoire pour mon stage de M1, merci à toi.

Merci également à Raphaël LEBEUF, Maître de conférences à l'École Centrale Lille pour sa bonne humeur permanente, sa disponibilité sans égale afin de nous aider quel que soit notre problème. Ton humour si particulier me manquera quand même je dois l'avouer.

Je remercie enfin les autres personnels de l'équipe, à savoir Jesús Fermin ONTIVEROS, Marianne CATTE et bien sûr le Pr. émérite Jean-Marie AUBRY, pour leur partage scientifique et les discussions toujours agréables.

Je remercie particulièrement les quelques personnes que j'ai pu rencontrer du laboratoire UMET. Élodie, la gwada, tu as failli être ma femme, mais comme toujours, t'es arrivée en retard. Aditya, tu m'apprends encore aujourd'hui comment boire des bières plus vite que son ombre. Ange, ton sourire et ta joie de vivre m'ont toujours fait passer des moments très agréables avec toi. Charlotte, ou « Mireille », celle qui a eu sa thèse dans un paquet de céréales. Non vraiment, t'as engagé quelqu'un pour rédiger ta thèse avec tous les voyages que t'as fait ? Je pense aussi à Melvin, Louis, Sophie, Manon, Laura et Anne-lise.

J'aimerais à présent adresser de sincères et chaleureux remerciements à tous les autres membres de l'équipe CISCO, qu'ils aient été doctorants auparavant ou qu'ils le soient maintenant, en CDD, en stage ou autre. Les anciens que j'ai connus avant de débiter ma thèse, Bing, Thomas, Estelle, Laura, mon encadrante de stage et fière représentante du Nord, Maxime le viking, Romain le tchatcheur et qui a donné son nom à cette fameuse porte. Bingyu la réservée, mais aussi Corentine, Caroline, Katarina, Teresa, Ingrid, Anne, Julie et Mathilde. Ensuite, viennent ceux déjà partis mais avec qui j'ai pu partager beaucoup de bons moments. Pacaud l'original et incompris, qui était certainement meilleur que Michael Phelps à la nage, et qui nous régalaient avec ses pompes triplement claquées. Florian mon Broux, brun et roux, breton par-dessus tout, j'adorais tes histoires et ton rire, être avec toi me donnait toujours la pêche. Valentin, mon yéti cuistot, hâte de courir les villes avec toi et de partager quelques conettes posés sur nos cayelles sans trouer nos maronnes. Guillaume, alias DJ Lamaille, tes discours et productions sonores me manqueront à coup sûr ! Agathe, ma Gagouthe, toujours rayonnante, surtout le matin, on a passé tant de bons moments entre collègues pour finalement se quitter en tant que vrais amis. Je pense aussi à François, Hanyu, Tiana et Shambo.

Enfin, je remercie grandement toutes les personnes qui m'ont accompagné pendant ma période de thèse au laboratoire, ou qui m'ont connu pendant celle-ci. Lucie, la princesse du

labo (Désolé Agathe, elle fait pire), qui nous a enseigné qu'il fallait profiter du moment présent mais aussi être dans les nuages tout le temps. Valentin, Bardoudou, ton petit Bibou te remercie infiniment pour ta bonne humeur, ton esprit porté sur la chose, sans jamais faire de pauses, SAUF quand tu te plaignais. J'ai aimé être ton préféré ! Adrien, marseillais de sang et corse de cœur, jamais dans l'abus. Ne t'en fais pas, rien n'est mieux que chez toi, sois fier. N'oubliez pas ma supériorité sportive à la salle et prenez-en de la graine ! Jordan, mon petit jojo, le chanteur du labo, jamais à court d'inspiration pour nous chanter quelque chose, même si c'est nul. Yaoyao, tu es arrivée de Chine dans une période si particulière, tu n'as pas pu revoir les tiens depuis si longtemps, j'espère t'avoir apporté un peu de joie de vivre et de réconfort pendant ce temps. Charles, le grand sensible, tu es parti à Avignon mais tu restes dans mon cœur, juste, arrête le foot parce que si c'est pour se blesser à chaque reprise ça ne sert à rien. Les « Chevreuliens », Adeline, tu es enfin partie vivre ton rêve pour faire ta thèse au Havre, je te souhaite de tout mon cœur tout le meilleur, tu le mérites vraiment. Valentin, on n'a pas pu apprendre à bien se connaître, mais nos quelques échanges furent très sympathiques. Chloé, la nerveuse, la nordiste, canalise-toi, et fais ce qui te rend heureuse. Enfin j'ai une pensée particulière pour Sarah-Laure, Estelle, Coline, Andrea, Lee, Claire, Jul mais aussi et surtout ma Roulietta, ma stagiaire à qui j'ai essayé de donner le meilleur de moi-même, pour tirer le meilleur de toi, et que tu surpasses tout le monde ensuite. Tout n'a pas été simple, mais je ressors moi aussi grandi de cette expérience et je suis fier d'avoir partagé ça avec toi.

Plus que de simples amitiés, j'aimerais remercier vivement et de tout mon cœur ceux sans qui ces 3 ans auraient été trop moroses. Mes potos BG rencontrés en formation, William le photographe et Hermann le pompier. Les fajitas avec vous étaient toujours incroyables. Blandine, la Don Juan au féminin, et celle dont les cookies n'ont encore pas eu d'adversaires à leur taille. Chaque moment avec toi était une vraie bouffée d'oxygène, un moment hors du temps. Leila, ma Lélé, un an à peine au labo et tu m'auras tant marqué. Ta gentillesse, ta considération et ta compréhension inégalée des gens ont fait de toi une personne en or pour moi, avec qui j'aime tant passer de temps. Tu m'as beaucoup appris sans t'en rendre compte, je sais que tu as fait de moi quelqu'un de meilleur. J'ai également une pensée pour mes amis bellifontains, Julien l'homme sans sourire, Clément le pilote de l'air (de drones), Anthony, Aurélien, Baptiste, et beaucoup d'autres.

Je ne peux pas passer à côté de mes deux frères, sans qui tous les jours (et surtout les soirs) auraient manqué de pep's. Tristan et Alexandre, vraiment, merci infiniment pour votre présence, votre soutien, votre compréhension, nos clashes sans fins qui en ont saoulés plus d'un, mais on le sait, on n'a qu'une vie, et ensemble on sait qu'on passe la meilleure possible. Plus que des blagues, je veux vous exprimer ce que je pense. On a passé nos 3 ans de thèse ensemble, sans jamais se lâcher. Merci pour les innombrables soirées qui m'ont aidées à oublier les tracas du quotidien, avoir deux amis comme vous c'est rare, et écrire ces quelques lignes me fait me rendre compte de la chance que j'ai. Je vous aime les gars. Je sais que ma vie sera écrite avec vous dorénavant. Merci également à Pauline, qui a été un vrai rayon de soleil et un tourbillon de rires si généreux à chaque fois que l'on s'est vus.



Enfin, mes remerciements s'adressent à toute ma famille qui m'a soutenu depuis le début, qui n'a jamais cessé d'être fière de moi, dans tout ce que j'ai entrepris. Vous me manquez tous tellement au jour le jour. Merci à mes parents pour avoir toujours supporté mes idées et mes ambitions, des sacrifices qu'ils ont fait pour me permettre d'arriver où j'en suis aujourd'hui. Tout ça c'est grâce à vous et je vous en serais toujours reconnaissant. Merci infiniment, pour tout.

# Résumé

---

Les émulsions sont des systèmes micro-dispersés classiquement stabilisés par des molécules tensioactives. En raison de leur impact potentiellement négatif sur l'environnement, les tensioactifs tendent à être remplacés par des particules colloïdales conduisant ainsi aux émulsions de Pickering. Elles, bénéficient aujourd'hui d'un regain d'intérêt notamment dans le domaine de la catalyse. En effet, l'usage de particules répondant à certains stimuli comme le pH ou la température permet de contrôler le type d'émulsion voire sa déstabilisation, ce qui peut présenter un avantage indéniable en fin de réaction. L'objectif de ce travail était donc de développer de nouveaux systèmes d'émulsions de Pickering à base de particules réactives. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à deux types de particules polymériques : la poly(4-vinylpyridine) (P4VP), sensible au pH et au sel, et la polyéthylèneimine (PEI), sensible au pH et à la température. Les émulsions ainsi obtenues en présence de différentes huiles ont été caractérisées et les effets du pH, de la température et de l'ajout de sel ont été étudiés démontrant la réversibilité des systèmes sous l'action de ces stimuli. Dans un second temps, des émulsions aux propriétés antibactériennes, antifongiques et antibiofilms ont été élaborées à partir de l'auto-assemblage de cyclodextrines et d'huiles phytochimiques par le biais de complexes d'inclusion insolubles. Ces émulsions se sont révélées très efficaces dans la lutte contre les agents pathogènes. Finalement, la catalyse interfaciale de Pickering a été appliquée avec succès en vue de la synthèse des acides adipique et subérique en associant le phosphotungstate de tri(dodécyltriméthylammonium)  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ , de la silice greffée avec des groupements alkyles et sulfoniques,  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ , et des sels de phosphate acides en tant que co-catalyseurs. Dans les conditions optimales, une conversion quantitative des oléfines associée à des rendements en acide boostés à 70 et 65 % ont été obtenus en présence de  $Na_2HPO_4$  et  $(C_{12})H_2PO_4$ , respectivement. Ces additifs potentialisent l'auto-assemblage des particules. L'existence de ces systèmes repose sur l'adaptabilité des particules aux environnements particuliers et montre que leurs propriétés physicochimiques peuvent être modulées afin de leur conférer les caractéristiques souhaitées.

**Mots-clés :** Émulsions de Pickering ; Nanoparticules amphiphiles ; Polymères stimulables ; Tectonique colloïdale ; Cyclodextrines ; Catalyse Interfaciale de Pickering

# Abstract

---

Emulsions are micro-dispersed systems conventionally stabilized by surface active molecules. Due to their potentially negative impact on the environment, surfactants tend to be replaced by colloidal particles leading to Pickering emulsions. These emulsions are now enjoying a renewed interest, particularly in the field of catalysis. Indeed, the use of particles responding to specific stimuli such as pH or temperature allows to control the type of emulsion or even its destabilization, which can present an undeniable advantage at the end of a reaction. The objective of this work was therefore to develop new Pickering emulsion systems based on reactive particles. First, we focused on two type of polymeric particles, poly(4-vinylpyridine) (P4VP), sensitive to pH and salt, and polyethyleneimine (PEI), sensitive to pH and temperature. The emulsions obtained in the presence of different oils were characterized and the effects of pH, temperature and salt addition were studied demonstrating the reversibility of the systems under the action of these stimuli. In a second step, emulsions with antibacterial, antifungal and antibiofilm properties were elaborated from the self-assembly of cyclodextrins and phytochemical oils through insoluble inclusion complexes. These emulsions proved to be very effective in the fight against pathogens. Finally, Pickering interfacial catalysis was successfully applied to the synthesis of adipic and suberic acids by combining tri(dodecyltrimethylammonium) phosphotungstate  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ , silica grafted with alkyl and sulfonic groups,  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ , and acidic phosphate salts as co-catalysts. Under optimal conditions, quantitative olefin conversion associated with boosted acid yields to 70 and 65 % were obtained in the presence of  $Na_2HPO_4$  and  $(C_{12})H_2PO_4$ , respectively. These additives potentiate the particles self-assembly. The existence of these systems relies on the adaptability of the particles to specific environments and show that their physicochemical properties can be tuned to confer the desired characteristics.

**Keywords:** Pickering emulsions; Amphiphilic nanoparticles; Stimulable polymers; Colloidal tectonics; Cyclodextrins; Pickering Interfacial Catalysis.

# Table des matières

---

Résumé.....	v
Abstract .....	vi
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Émulsions de Pickering et applications : état de l'art .....</b>	<b>7</b>
<b>I] Théorie et concepts généraux.....</b>	<b>9</b>
I.1 – Généralités : émulsions et tensioactifs .....	9
I.2 – Les émulsions stabilisées par des particules solides .....	10
I.2.a – Présentation des émulsions de Pickering .....	10
I.2.b – Angle de contact.....	11
I.3 – Stabilisation des émulsions de Pickering.....	14
I.3.a – Mécanisme de coalescence limitée .....	14
I.3.b – Interactions entre les particules à l'interface.....	15
I.3.c – Organisation des particules à l'interface .....	17
I.4 – Particules conventionnelles des émulsions de Pickering .....	18
I.4.a – Particules minérales.....	18
I.4.b – Particules organiques .....	19
I.4.c – Particules polymériques.....	20
<b>II] Applications .....</b>	<b>22</b>
II.1 – Domaines d'applications .....	22
II.2 – Libération d'actifs pharmaceutiques.....	23
II.3 – Catalyse en émulsion de Pickering .....	25
II.3.a – Catalyse assistée de Pickering (PAC).....	26
II.3.b – Catalyse interfaciale de Pickering (PIC) .....	26
<b>Objectifs de cette thèse.....</b>	<b>28</b>
<b>Chapitre II : Polymères stimuli-sensibles et émulsions de Pickering .....</b>	<b>29</b>
<b>I] Pickering et polymères : État de l'art.....</b>	<b>31</b>
I.1 – Particules polymériques sensibles au pH .....	31
I.1.a – Types de particules .....	31
I.1.b – Emulsions de Pickering avec des polymères pH-sensibles .....	33
I.2 – Particules polymériques sensibles à la température.....	35
I.3 – Polymères stimuli-sensibles .....	37
I.4 – Cas particulier : Les Émulgels.....	38

<b>II] Émulsions stabilisées par des nanoparticules de poly(4-vinylpyridine) ou P4VP</b> .....	39
II.1 – La poly(4-vinylpyridine) : un polymère ionisable .....	39
II.2 – Préparation des nanoparticules de P4VPH <sup>+</sup> .....	40
II.2.a – Effet du broyage mécanique et de la charge sur la taille .....	40
II.2.b – Taux de protonation .....	44
II.3 – Caractérisations physicochimiques des nanoparticules de P4VP .....	45
II.3.a – Structure des nanoparticules et stabilité à la température .....	45
II.3.b – Mouillabilité et dispersion en solution aqueuse .....	46
II.4 – Elaboration et caractérisations des émulsions à base de P4VPH <sup>+</sup> .....	50
II.4.a – Composition et procédé d'émulsification .....	50
II.4.b – Caractérisations physicochimiques .....	50
II.4.c – Stabilité des émulsions .....	52
II.4.d – Comportement rhéologique.....	54
II.5 – Désstabilisation des émulsions de Pickering et application en synthèse organique .....	55
<b>Conclusions sur ce système</b> .....	57
<b>III] Émulsions stabilisées par des hydrogels de polyéthylèneimine linéaire ou LPEI</b> .....	58
III.1 – La polyéthylèneimine : un polymère polyvalent .....	58
III.2 – Comportement dans l'eau de la LPEI.....	59
III.2.a – Influence du pH.....	59
III.2.b – Influence de la température.....	61
III.2.c – Propriétés rhéologiques des hydrogels .....	63
III.3 – Émulsions à base d'hydrogels de LPEI .....	64
III.3.a – Composition et procédé .....	64
III.3.b – Propriétés physicochimiques.....	65
III.3.c – Mécanisme de stabilisation .....	67
III.3.d – Propriétés rhéologiques et viscoélastiques.....	68
III.4 – Thermoréversibilité des émulsions de Pickering.....	69
III.5 – Réversibilité de l'émulsion par effet pH .....	72
<b>Conclusions sur ce système</b> .....	73
<b>Conclusions</b> .....	74
Partie Expérimentale du Chapitre II .....	77
<b>Chapitre III : Émulsions de Pickering aux propriétés antibactériennes et antimicrobiennes à base de cyclodextrines</b> .....	83
<b>I] Les Cyclodextrines : préambule bibliographique</b> .....	85
I.1 – Synthèse, propriétés et applications .....	85
I.1.a – Présentation .....	85

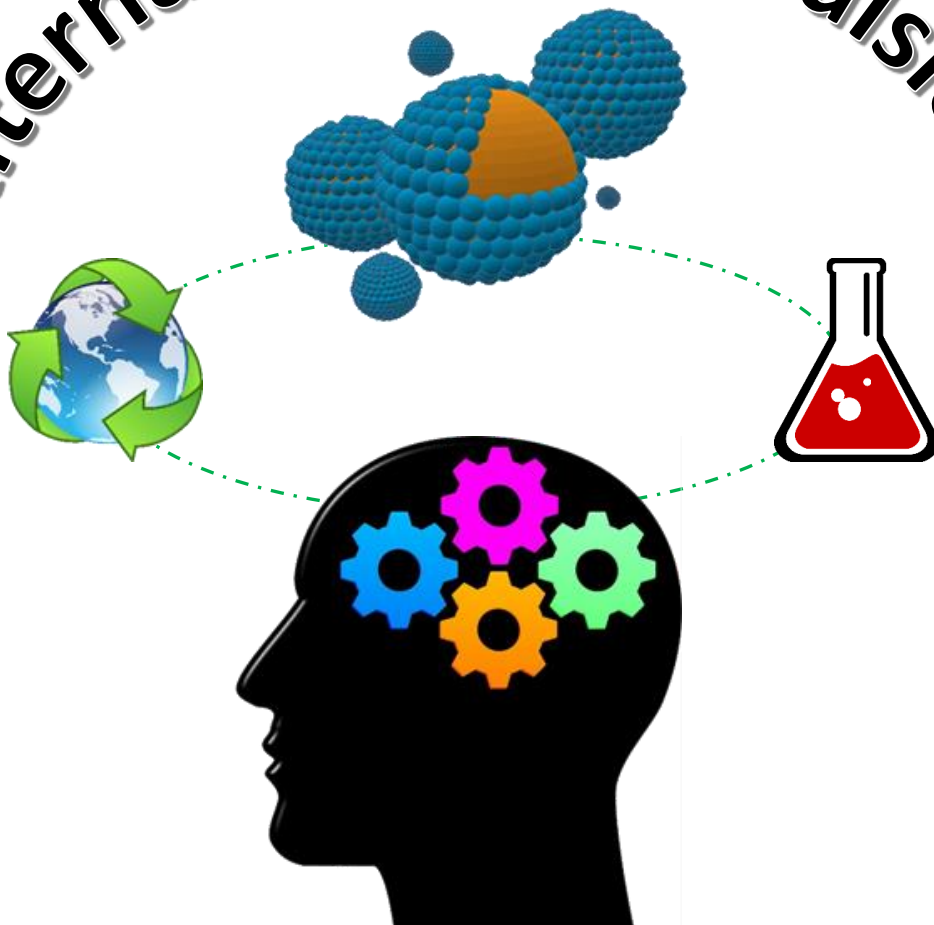
I.1.b – Complexation des cyclodextrines.....	88
I.1.c – Applications des cyclodextrines.....	89
I.2 – Les cyclodextrines et émulsions de Pickering : tectonique colloïdale.....	90
<b>II] Émulsion de Pickering à base de <math>\beta</math>-CD et de carvacrol et terpinène-4-ol.....</b>	<b>92</b>
II.1 – Carvacrol et terpinène-4-ol : des huiles phytochimiques.....	93
II.2 – Caractérisations des complexes d'inclusion .....	93
II.2.a – Stœchiométrie .....	94
II.2.c – Microscopie électronique à balayage .....	96
II.2.d – Stabilité à la température.....	96
II.3 – Caractérisations des émulsions de Pickering.....	97
II.3.a – Composition et procédé d'émulsification .....	97
II.3.b – Caractérisations physicochimiques .....	98
II.3.b – Diagrammes de phase .....	100
II.3.c – Mécanismes de déstabilisation.....	101
II.3.d – Propriétés rhéologiques .....	103
<b>III] Activité antimicrobienne, antibactérienne et antibiofilm des émulsions de Pickering.....</b>	<b>104</b>
III.1 – Activité antimicrobienne .....	104
III.1.a – Résistance bactérienne.....	104
III.1.b – Effet sur les bactéries et les champignons .....	104
III.2 – Activité antibiofilm .....	107
III.2.a – « Biofilm » et résistance .....	107
III.2.b – Effet des formules sur souche Staphylococcus Aureus .....	107
<b>Conclusions .....</b>	<b>110</b>
Partie Expérimentale du Chapitre III .....	111
<b>Chapitre IV : Auto-association d'espèces chimiques et catalyse interfaciale de Pickering (PIC) .</b>	<b>115</b>
<b>I] La Catalyse interfaciale de Pickering .....</b>	<b>117</b>
I.1 – Le concept PIC .....	117
I.2 – Utilisation du peroxyde d'hydrogène comme oxydant vert pour le clivage de la double liaison C=C .....	117
I.3 – Clivage de la double liaison C=C par le peroxyde d'hydrogène.....	119
I.4 – Clivage oxydant en one-pot de la double liaison C=C et étude de l'influence de co-catalyseurs.....	120
<b>II] Élaboration d'émulsions de Pickering à base de nanoparticules de silice et de <math>[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]</math> ...</b>	<b>122</b>
II.1 – Composition des systèmes .....	122
II.1.a – Le polyoxométallate de type Keggin $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ .....	122
II.1.b – Nanoparticules de silices acides amphiphiles .....	123

II.1.c – Arrangement supramoléculaire des composants.....	123
II.2 – Elaboration des émulsions de Pickering.....	124
II.2.a – Composition et procédé d’émulsification .....	124
II.2.b – Effet des POMs sur les caractéristiques des émulsions .....	124
II.2.c – Effet des NPs de silice sur les caractéristiques des émulsions .....	125
II.2.d – Influence de l’association des deux NPs.....	126
II.2.e – Caractérisations et influence des additifs .....	126
<b>III] Clivage oxydant d’oléfines pour la synthèse verte d’acides dicarboxyliques .....</b>	<b>128</b>
III.1 – Cinétique de la réaction en présence de C <sub>12</sub> -POM et d’additifs.....	128
III.2 – Clivage oxydant en one-pot du cyclohexène et du cyclooctène .....	130
III.3 – Influence des additifs sur le clivage oxydant du cyclohexène et du cyclooctène .....	131
<b>Conclusions sur ce système .....</b>	<b>133</b>
<b>IV] Elaboration d’émulsions de Pickering à base de nanoparticules auto-associées de polyéthylèneimine branchée et de polyoxométalates .....</b>	<b>134</b>
IV.1 – Synthèse des nanoparticules auto-assemblées .....	135
IV.2 – Caractérisations des particules .....	136
IV.2.a – Observation en microscopie électronique .....	136
IV.2.b – Influence du ratio BPEI/POM sur le diamètre et le potentiel zêta.....	138
IV.3 – Formation d’émulsions de Pickering en one-pot .....	140
<b>Conclusions sur ce système .....</b>	<b>143</b>
<b>Conclusions .....</b>	<b>144</b>
Partie expérimentale du chapitre IV .....	147
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>151</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>159</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>185</b>
<b>Annexe 1 – Abréviations.....</b>	<b>185</b>
<b>Annexe 2 – Identification des produits.....</b>	<b>188</b>
<b>Annexe 3 – Publication Chapitre II.....</b>	<b>190</b>
<b>Annexe 4 – Publication Chapitre III.....</b>	<b>201</b>
<b>Annexe 5 – Publication Chapitre IV.....</b>	<b>208</b>

# Introduction générale

---

## Alternatives aux émulsions



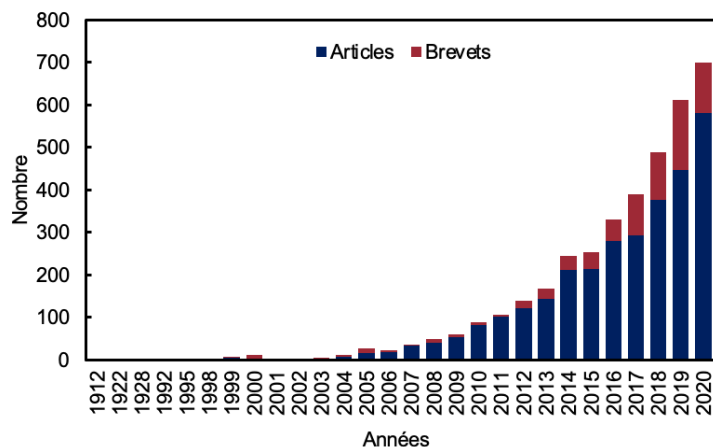




Les émulsions sont omniprésentes dans les produits du quotidien : crèmes, shampoings, démaquillants, bitumes, sauces (vinaigrette, mayonnaise, *etc.*), lait, latex et jusqu'au film hydrolipidique présent sur la peau. Bien qu'homogènes visuellement, les émulsions sont des mélanges hétérogènes métastables, composés de deux liquides initialement non miscibles, ou l'un va être dispersé (phase dispersée) sous forme de gouttelettes dans l'autre (phase continue). Afin d'augmenter la stabilité de ces dispersions liquide/liquide, on utilise classiquement des tensioactifs (ou émulsifiants) ayant à la fois une affinité pour la phase aqueuse et pour la phase organique : on parle de molécules amphiphiles.

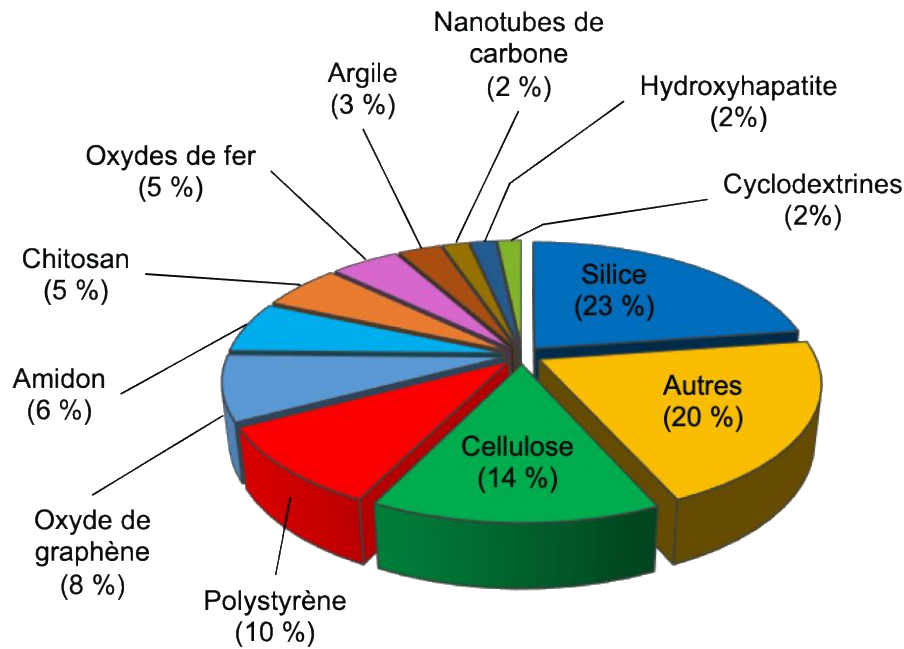
Les tensioactifs sont à la base d'un marché très rentable et fortement développé en raison de leur utilisation dans de nombreux produits et de leur coût de revient parfaitement maîtrisé. Ainsi, il a représenté en 2020 plus de 35 milliards d'euros de chiffre d'affaire (CA) et les estimations tendent vers une augmentation de la demande de 4,5 % par an sur 5 ans, soit 44 milliards d'euros de CA en 2025.<sup>1</sup> Cette croissance est due à la hausse de la population mondiale et à l'augmentation du niveau de vie dans de nombreux pays, notamment en Asie-Pacifique, engendrant ainsi de nouveaux marchés. Cependant, le marché est également dopé de façon indéniable par une plus forte demande de tensioactifs « naturels » et éco-compatibles. En effet, les considérations environnementales incitent les consommateurs (notamment à fort pouvoir d'achat) à se détourner de la pétrochimie pour s'orienter vers l'utilisation de tensioactifs renouvelables, non toxiques et biodégradables. En effet, les tensioactifs synthétiques ou semi-synthétiques sont connus pour engendrer de nombreux effets sur les écosystèmes (incluant les êtres vivants et leur environnement). Ces interactions négatives peuvent se produire au cours de l'ensemble de leur cycle de vie. Ainsi, les humains ne sont pas épargnés : les tensioactifs peuvent provoquer des irritations et des allergies, allant même jusqu'à endommager l'activité enzymatique et donc les fonctions physiologiques de l'organisme.<sup>2</sup> Cette prise de conscience des consommateurs et le cadre législatif mettent sous pression les industriels pour trouver des alternatives plus respectueuses pour les écosystèmes.

Certains industriels (Beiersdorf, L'Oréal, ou encore Syngenta)<sup>3-5</sup> se tournent alors vers ce qu'on appelle les émulsions de Pickering. Introduites par Ramsden en 1903<sup>6</sup> mais reprises par Pickering en 1907,<sup>7</sup> elles sont semblables aux systèmes classiques, mais sont stabilisées par des particules colloïdales. Ces émulsions offrent de nombreux avantages comparés aux systèmes classiques, notamment leur stabilité accrue due à l'adsorption dite irréversible des particules aux interfaces. Les particules utilisées (organiques ou inorganiques) se substituent totalement aux tensioactifs ce qui permet le développement de systèmes respectueux de l'environnement et de l'humain. C'est principalement pour ces raisons que les émulsions de Pickering connaissent un regain d'intérêt croissant depuis le milieu des années 2000 comme le montre la **Figure 0.1**.



**Figure 0.1** : Nombre de publications (bleu) et de brevets (rouge) par année depuis SciFinder® en utilisant le terme "Pickering emulsion" comme mot-clé.

Cependant, les particules ne sont pas exemptes de tout reproche. En effet, les particules utilisées pour stabiliser les émulsions de Pickering (**Figure 0.2**) peuvent présenter des risques toxicologiques notamment lorsqu'elles sont nanométriques.<sup>8</sup> Dans ce contexte, l'utilisation de particules d'origine naturelle, comme le chitosan ou les protéines de soja, peuvent apparaître comme une solution alternative aux nanoparticules, car elles permettent également de stabiliser des émulsions de Pickering.<sup>9</sup> Cependant, leur dégradation rapide au contact de l'eau donne des formules instables. Des polymères sont également utilisés comme le polystyrène par exemple (**Figure 0.2**), mais leur synthèse et leur biodégradabilité sont également critiquables. Si aucun système n'est idéal, l'usage de polymères s'est fait remarquer ces dernières années. En effet, ils ouvrent la voie à des systèmes originaux permettant un contrôle précis des propriétés physicochimiques des émulsions. Certains sont directement greffés sur des particules de silice, initialement trop hydrophile pour stabiliser les émulsions, afin d'équilibrer la balance hydrophile/lipophile, mais aussi pour apporter une gamme de propriétés très large, comme la réponse aux stimuli externes (température, pH, lumière, etc.).<sup>10</sup> Ces propriétés permettent le développement de systèmes intelligents, afin de contrôler la stabilité des émulsions et pouvoir libérer des matières actives à des endroits précis par exemple. Dans une démarche toujours plus simplificatrice, la recherche tente de développer des systèmes avec des polymères capables de stabiliser les émulsions de Pickering eux-mêmes, afin de supprimer les étapes de synthèse de particules greffées, gourmandes en solvants et en énergie.



**Figure 0.2 :** Principales particules solides utilisées dans les émulsions de Pickering selon les publications sur SciFinder®

C'est dans cette démarche que s'inscrit ce travail de thèse, afin de développer des systèmes simples dans leur composition, intelligents, capables de stabiliser de manière efficace les émulsions de Pickering mais aussi de pouvoir les déstabiliser lorsque cela est souhaitable. Ainsi dans le **Chapitre I** de cette thèse, nous rappellerons brièvement les principes de formation des émulsions de Pickering ainsi que les théories et mécanismes de stabilisation, pour finir sur les domaines d'applications qui seront abordés dans les chapitres suivants. Chaque chapitre sera accompagné d'une partie bibliographique qui lui sera propre, pour plus de clarté.

Le **Chapitre II** traitera quant à lui d'une étude systématique sur deux polymères utilisés pour stabiliser des émulsions de Pickering : La **poly(4-vinylpyridine)** réticulée à 2 % avec du divinylbenzène (P4VP), et la **polyéthylèneimine linéaire** (LPEI). Le premier est étudié pour sa sensibilité au pH et au sel, le second pour ses propriétés pH- et thermoréversible. Les particules seront d'abord étudiées sous l'influence de différents paramètres afin d'appréhender leurs propriétés physicochimiques et expliquer les mécanismes à l'origine de l'élaboration des émulsions de Pickering.

Le **Chapitre III** montrera un tout autre système basé sur la chimie supramoléculaire, à base d'un oligomère connu, la  **$\beta$ -cyclodextrine**. L'influence de plusieurs huiles phytochimiques sur les propriétés physicochimiques des complexes d'inclusion formés et des émulsions préparées sera montrée. Enfin, leurs propriétés antibactérienne, antimicrobienne et antibiofilm seront comparées à une crème commerciale pour des applications pharmaceutiques.

Pour terminer, le **Chapitre IV** s'intéressera aux applications catalytiques des émulsions de Pickering avec un système développé en amont au laboratoire, résultant de l'association de **nanoparticules de silice greffées** avec des groupements alkyles et acides sulfoniques

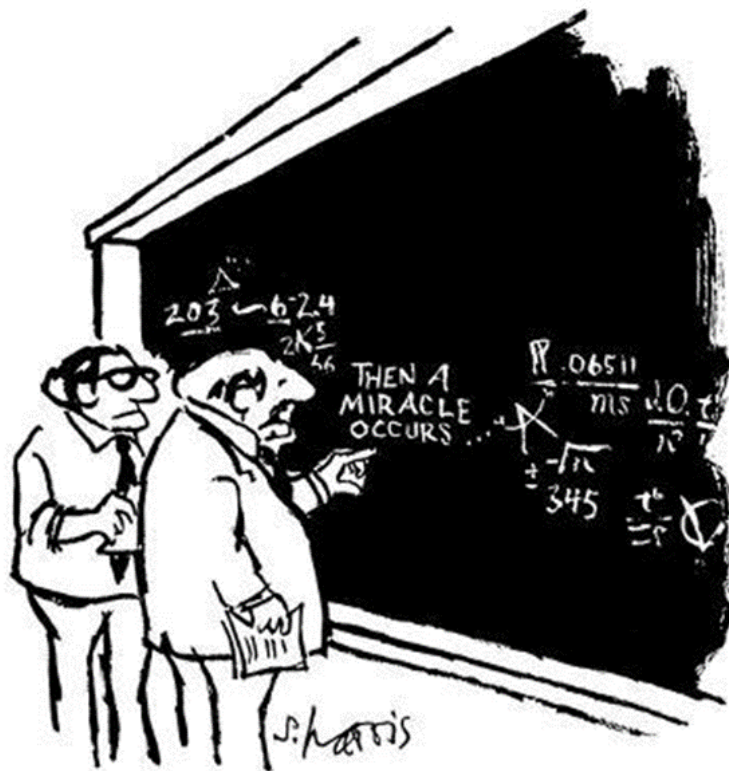
$[\text{C}_{18}/\text{SO}_3\text{H}]\text{@SiO}_2$  avec des nanoparticules de **dodecyltriméthylammonium phosphotungstate**  $[\text{C}_{12}]_3[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]$ , qui permet le clivage oxydant d'oléfines pour une synthèse verte d'acides dicarboxyliques. L'influence de chaque espèce et de l'ajout de co-catalyseurs sur les propriétés physicochimiques des émulsions et sur les rendements obtenus seront analysés. Enfin, les premiers travaux sur le développement d'un nouveau système seront présentés. Celui-ci repose sur l'association spontanée de **polyéthylèneimine branchée (BPEI)** et d'**acide tungstophosphorique  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$** . Le premier est un polycation grâce à sa structure composée d'amines primaires, secondaires et tertiaires, le second est un polyanion. Ils vont ainsi s'auto-assembler *via* des interactions électrostatiques et former des structures capables de stabiliser des émulsions de Pickering.

Enfin, une conclusion générale mettra en exergue les résultats obtenus, leurs intérêts ainsi que les applications potentielles des premiers systèmes. Les questions restées en suspens seront également abordées afin d'ouvrir des perspectives de travaux pour approfondir les connaissances et la compréhension globale des systèmes.

# Chapitre I :

## Émulsions de Pickering et applications : état de l'art

---



**"I think you should be more explicit here in step two."**



Dans ce chapitre, les informations générales des théories abordées dans cette thèse seront présentées. Tout d'abord, une présentation des propriétés particulières des émulsions de Pickering sera développée, comment sont-elles créées et quels éléments permettent leur stabilisation, comparées aux émulsions classiques. Une discussion sera ensuite effectuée sur la physico-chimie des interfaces recouvertes de particules afin de comprendre les mécanismes de stabilisation de ces émulsions. Les particules solides les plus communément utilisées seront ensuite rappelées avec quelques exemples afin d'introduire au lecteur ce qui sera majoritairement discuté dans ce manuscrit, à savoir les particules polymériques et les applications des systèmes développés. Un focus sera fait sur les applications pharmaceutiques et catalytiques. Il est à noter qu'une partie bibliographique spécifique pour chacune des études sera faite au début des chapitres suivants.

## I] Théorie et concepts généraux

### I.1 – Généralités : émulsions et tensioactifs

Lorsque l'on souhaite disperser une phase, sous forme de gouttelettes, dans une autre, cela nécessite un apport d'énergie extérieur afin d'augmenter l'interface. Tout système, quelle que soit sa composition, tend vers un état thermodynamiquement stable. Pour un système biphasique eau/huile, l'état le plus favorable se situe lorsque l'interface entre ces deux liquides est la plus faible. La création de cette interface entre deux milieux non miscibles fait apparaître une force nommée tension interfaciale, notée  $\gamma_{int}$  qui va à l'encontre de cette formation. Il résulte une forte instabilité de ces systèmes dispersés, appelés émulsions. Ainsi, on s'aperçoit que l'élaboration d'une émulsion n'est pas un processus spontané, et que pour créer de l'interface supplémentaire, il faut apporter de l'énergie au système, notamment *via* l'émulsification. Ainsi, l'énergie libre,  $F_s$ , existante à l'interface entre deux milieux, qu'ils soient solides, liquides ou gazeux est fonction, selon Gibbs,<sup>11</sup> de l'aire de contact  $A$  et de la tension interfaciale :

$$F_s = \frac{\partial F}{\partial A} A = \gamma_{int} A \quad (\text{Eq.1.1})$$

On comprend aisément en suivant cette formule qu'il faut diminuer la tension interfaciale si on souhaite obtenir l'énergie libre la plus basse possible pour un système, tout en conservant la quantité d'interface intacte. On peut concevoir la tension interfaciale de deux façons, soit comme une force nécessaire pour augmenter une surface (N/m), ou alors comme l'énergie des molécules positionnées à l'interface d'un liquide (ou d'un solide), par rapport aux molécules à l'intérieur de ce même liquide (J/m<sup>2</sup>).

Afin de diminuer cette tension de surface, on utilise des tensioactifs qui permettent de stabiliser les gouttelettes créées (ou des bulles lors de la formation de mousse). Le choix du tensioactif est alors un paramètre crucial pour maîtriser la nature et les propriétés de l'émulsion produite : *e.g.* afin de prévoir la phase dispersée et continue d'un système après l'émulsification en présence d'un tensioactif donné. Le physicochimiste Bancroft introduit, au début du 20<sup>e</sup>



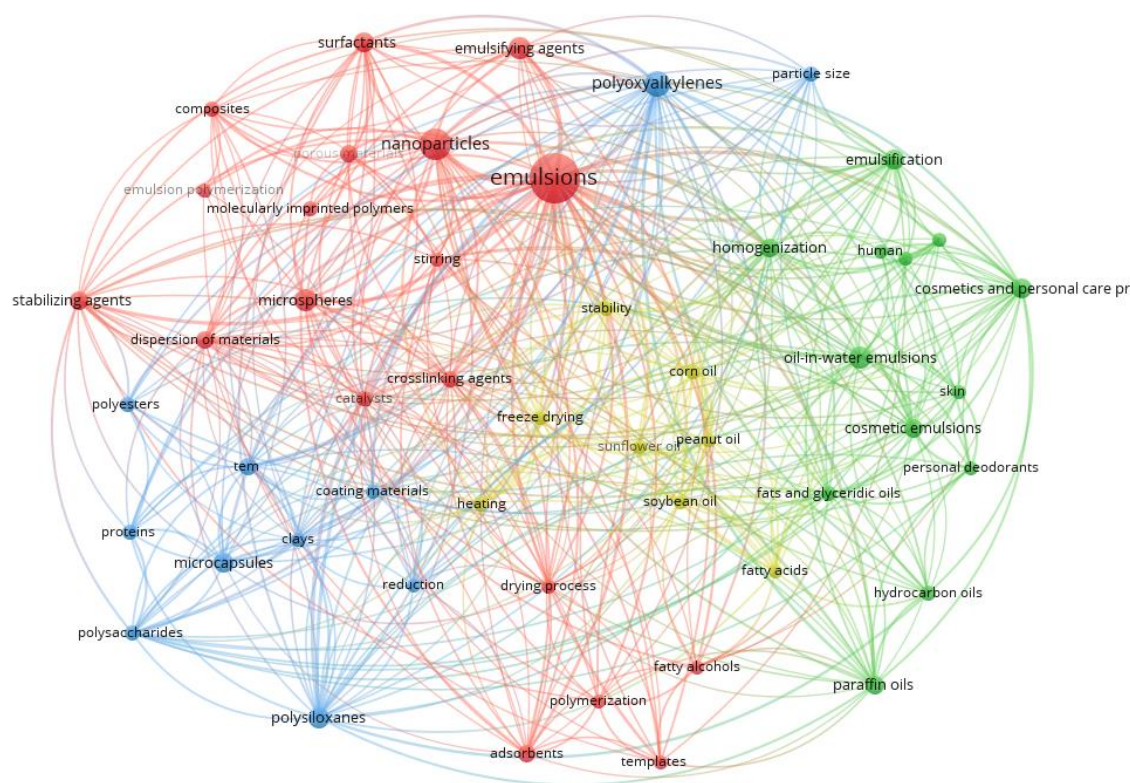
siècle, une règle simple : la phase continue est celle dans laquelle le tensioactif est le plus soluble, même si cette phase est en quantité minoritaire.<sup>12</sup> Afin de quantifier cette affinité du tensioactif, Griffin a proposé en 1949 d'utiliser la méthode HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance).<sup>13</sup> Cette méthode est basée sur la classification des tensioactifs par hydrophilie croissante et ne s'intéresse, une fois encore, qu'à la contribution du tensioactif. La méthode de Griffin est donc basée sur le rapport de la masse molaire de la partie hydrophile sur la masse molaire totale. Le tout étant normé sur une échelle de 0 à 20 (bornes exclues sinon il ne s'agit pas de tensioactifs). Il s'agit d'une valeur adimensionnelle représentant le caractère hydrophile ou hydrophobe de l'émulsifiant à considérer. Théoriquement, si le HLB d'un tensioactif est inférieur à 10, il est hydrophobe et devrait fournir des émulsions eau-dans-huile (E/H), ou inverses. Ceux avec un HLB > 10 favorisent quant à eux la formation d'émulsions directes huile-dans-eau (H/E). Cependant, pour des valeurs de HLB comprises entre 7 et 10, il existe une incertitude quant au sens de l'émulsion. Notons qu'en 1957, Davies améliore la précision du calcul en prenant en compte l'effet des groupements hydrophiles et hydrophobes plus forts et plus faibles.<sup>14</sup> Le HLB est donc un paramètre très utile afin de prévoir le type d'émulsion résultant de l'utilisation d'un tensioactif donné. Cependant, il est possible de stabiliser des émulsions sans tensioactif(s) qui sont alors remplacés par des particules solides.

## I.2 – Les émulsions stabilisées par des particules solides

### I.2.a – Présentation des émulsions de Pickering

Si les tensioactifs s'adsorbent donc à l'interface des deux phases du système considéré, grâce à leur structure amphiphile (tête hydrophile et queue hydrophobe), des particules solides sont également capables de s'adsorber si elles possèdent de bonnes propriétés de mouillage. Ces systèmes, découverts par Ramsden, qui posait encore de nombreuses questions, auxquelles Pickering apportera les réponses un peu plus tard, ainsi qu'une description un peu plus complète, ont ainsi gardé le nom d'émulsions de Pickering.<sup>6,7</sup> De la même façon que les émulsions classiques, ces émulsions peuvent être directes, inverses ou multiples.<sup>15-17</sup>

Une étude bibliométrique basée sur la construction d'une carte conceptuelle nous a permis de mettre en évidence les termes les plus cités dans les articles scientifiques et les brevets associés aux émulsions de Pickering (**Figure 1.1**).



**Figure 1.1 :** Carte conceptuelle réalisée avec les mots clés "Pickering Emulsions".

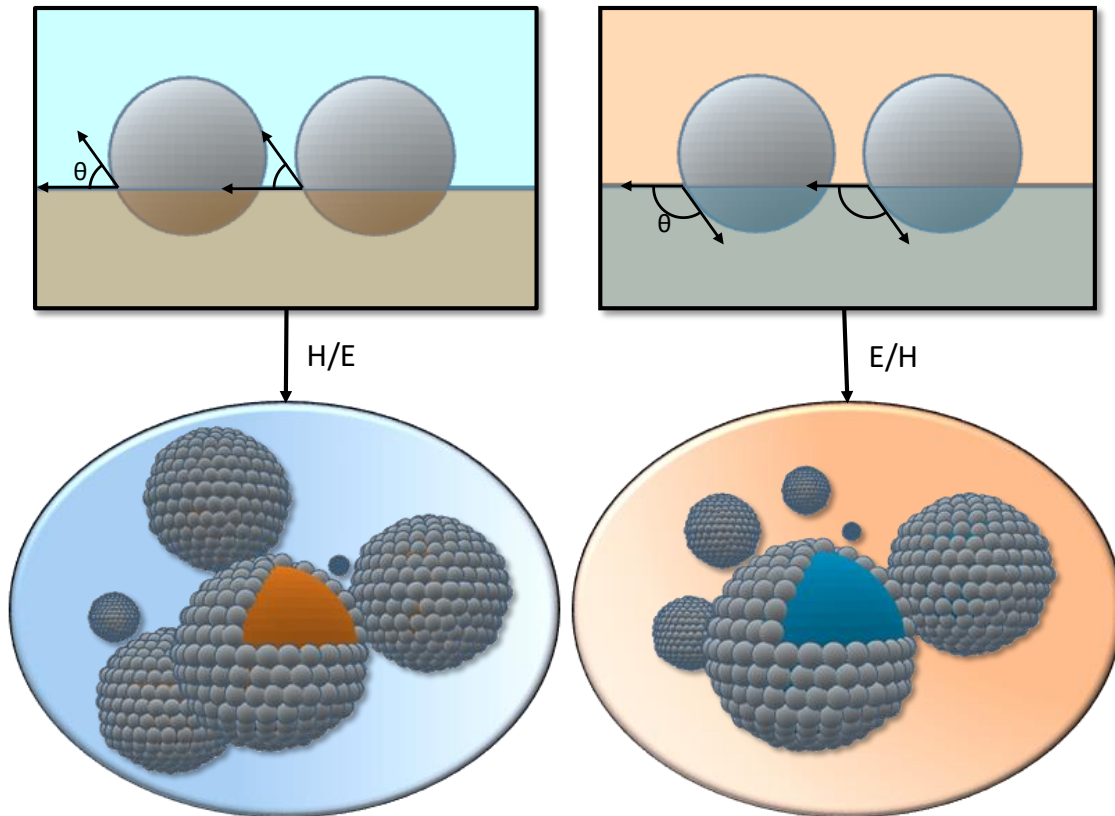
On remarque très clairement ici les intérêts premiers de la recherche autour des émulsions de Pickering. L'objectif premier, pour obtenir les émulsions les plus fines, est l'utilisation de nanoparticules, ou d'autres types de particules, comme les microsphères ou les composites. On y retrouve les particules les plus communément utilisées ; silice, argile, nanotubes de carbone, mais aussi les particules plus naturelles comme les protéines, les polysaccharides, ou encore les polyesters. Beaucoup des huiles utilisées sont également citées comme les hydrocarbures, huiles de paraffine, les acides gras ou encore l'huile de tournesol ou de maïs. Enfin, on retrouve certaines des applications des émulsions de Pickering, avec les émulsions cosmétiques, les soins de la peau ou encore la catalyse.

Bien que découvertes au début des années 1900, les émulsions de Pickering n'ont pas attiré l'attention de la communauté scientifique pendant de longues années. Ce n'est qu'une fois les travaux novateurs de Binks et *al.*<sup>18-20</sup> et de l'entreprise cosmétique allemande Beiersdorf au début des années 2000 que le sujet a connu un regain d'intérêt soudain.<sup>21</sup> Si le HLB permet de prévoir le type des émulsions lors de l'usage de tensioactifs (voir ci-dessus), celles stabilisées par des particules solides utilisent comme paramètre clé l'angle de contact (reflet de la mouillabilité des particules pour les phases considérées).

### 1.2.b – Angle de contact

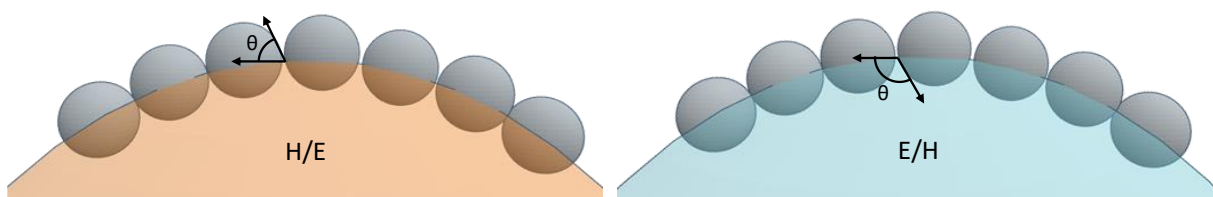
De manière générale, les émulsions de Pickering conservent la plupart des propriétés des émulsions classiques, mais présentent tout de même des différences notables. L'une des plus importantes étant le paramètre influençant l'adsorption à l'interface : pour les particules

colloïdales, on utilise l'angle de contact  $\theta$  à la place du HLB.<sup>22</sup> En effet, dans le cas des émulsions de Pickering, c'est la mouillabilité des particules par la phase aqueuse et huileuse qui permet d'expliquer le type d'émulsion obtenu. Ainsi, en considérant l'angle de contact triphasé d'une particule à l'interface eau/huile mesuré à travers la phase aqueuse, une particule hydrophile aura un angle de contact  $< 90^\circ$ . À l'inverse, une particule hydrophobe aura un angle de contact  $> 90^\circ$ , comme montré sur la **Figure 1.2**.



**Figure 1.2 :** Représentation schématique de l'angle de contact ( $\theta$ ) des NPs adsorbés à l'interface et des émulsions H/E et E/H engendrées.

De la même manière que les tensioactifs, les particules solides suivent un raisonnement similaire à celui de la loi de Bancroft. La phase continue du système sera reconnue comme celle qui disperse le mieux les particules, signe d'une affinité prédominante. Plusieurs modèles ont vu le jour pour expliquer ce phénomène. Le plus communément accepté repose sur l'idée que l'angle de contact des particules à l'interface des gouttelettes créées induisent une courbure spontanée,<sup>23</sup> comme illustré sur la **Figure 1.3**.



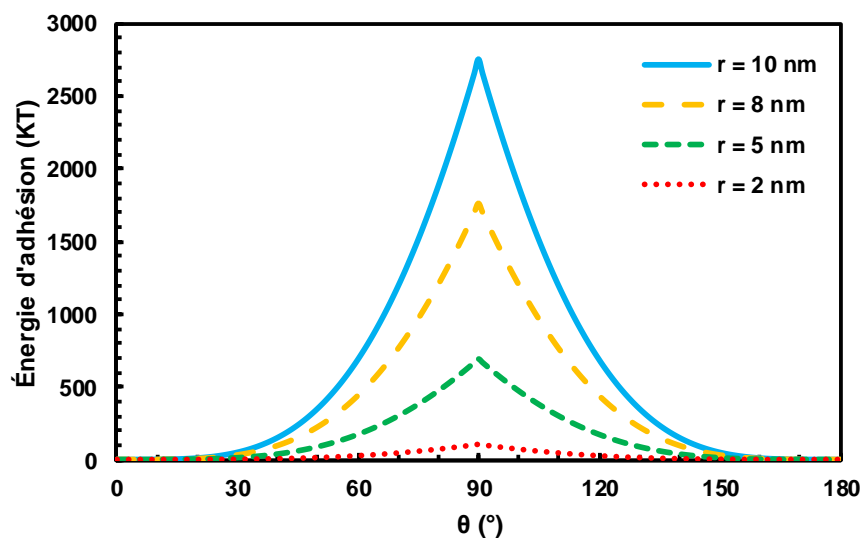
**Figure 1.3 :** Représentation schématique de la courbure spontanée des interfaces en fonction de l'angle de contact formé par les particules adsorbées.<sup>21</sup>

## I.1.c - Energie d'adsorption des particules

Les émulsions de Pickering sont connues pour leur stabilité très importante. Celle-ci est notamment due à la forte adsorption des particules solides à l'interface liquide-liquide, qui résulte en la formation d'une barrière physique luttant contre la déstabilisation. Pour des particules de taille nanométriques (NPs) dont l'influence de la gravité peut être considérée comme nulle, l'énergie d'adsorption peut être décrite comme suit :<sup>22,24,25</sup>

$$\Delta E = \pi r^2 \gamma_{HE} (1 \pm \cos \theta_{HE})^2 \quad (\text{Eq. 1.2})$$

où  $r$  représente le diamètre des particules,  $\gamma_{HE}$  la tension interfaciale entre l'huile et l'eau et  $\theta_{HE}$  l'angle de contact de la particule à l'interface, le signe positif est considéré si on extrait les particules vers la phase huileuse, et devient négatif si l'extraction est vers la phase aqueuse. On comprend donc que plus  $\theta$  se rapproche de  $90^\circ$ , plus  $\Delta E$  sera élevé, et conduira à une émulsion de Pickering stable. Si l'on compare les valeurs de  $\Delta E$  obtenues dans le cas d'émulsions stables, formées par des tensioactifs et des émulsifiants de Pickering, le  $\Delta E$  dans le second cas est généralement supérieur de plusieurs ordres de grandeur (Elle peut atteindre  $106k_B T$ ,  $k_B$  étant la constante de Boltzman et  $T$  la température ambiante). C'est pour cette raison qu'on considère que les particules sont adsorbées de façon irréversible à la surface des gouttelettes. L'influence du rayon et de l'angle de contact sur l'énergie d'adsorption est démontrée sur la **Figure 1.4**, on obtient déjà des valeurs supérieures à  $2700k_B T$  avec des particules de rayon de  $10 \text{ nm}$ ,<sup>22</sup> on peut donc aisément imaginer les valeurs obtenues avec des particules de taille supérieure.



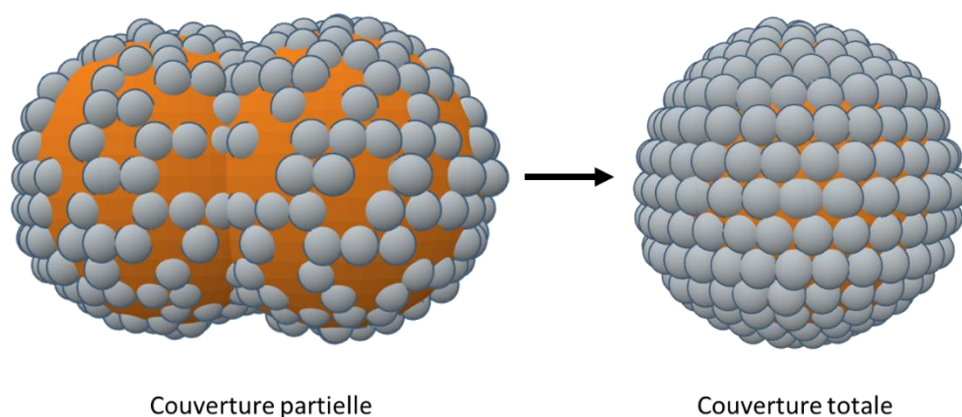
**Figure 1.4 :** Energie requise pour déplacer une particule de rayon  $r$  d'une interface vers une phase volumique en fonction de son angle de contact. Exemple ici pour une tension interfaciale de  $36 \text{ mN/m}$  (eau/toluène) et pour plusieurs tailles de NPs.

### I.3 – Stabilisation des émulsions de Pickering

Bien entendu, l'angle de contact n'est pas le seul critère influençant le type d'émulsion obtenue, ou la taille des gouttelettes. Ainsi, la nature des phases utilisées, la concentration des particules, les volumes respectifs des deux phases en présence ou encore la méthode d'émulsification sont également des paramètres importants. Certains de ces aspects sont développés dans les paragraphes suivants.

#### I.3.a – Mécanisme de coalescence limitée

Hormis ces similarités, les émulsions de Pickering présentent des propriétés différentes par rapport aux émulsions stabilisées par des tensioactifs. Contrairement aux émulsions classiques, où la coalescence entre deux gouttelettes forme une plus large gouttelette de forme sphérique, la fusion de deux gouttelettes dans une émulsion de Pickering peut être stoppée lorsque la totalité de la surface de celle-ci est recouverte de particules. Ce phénomène, décrit pour la première fois en 1954 par R.M. Riley,<sup>26</sup> est nommé la coalescence limitée ou coalescence partielle. Dans une émulsion de Pickering, les gouttelettes sont stabilisées par des particules irrévérablement adsorbées à leur surface. Dans certains cas, après l'émulsification, les gouttelettes ne sont pas entièrement recouvertes de nanoparticules, et sont donc vulnérables à la coalescence. Les NPs ne se détachent pas des gouttelettes qui coalescent et restent attachées à la surface de celles-ci. De cette façon, avec la progression de la coalescence, la couverture de la surface augmente et la coalescence cesse lorsque la couverture est quasi totale (**Figure 1.5**).<sup>27,28</sup>



**Figure 1.5 :** Représentation schématique du processus de coalescence limitée avec une couverture totale des NPs à l'interface est obtenue.

Ce phénomène est la conséquence directe de l'influence de la quantité de NPs introduite et de leur capacité d'adsorption à l'interface.<sup>29</sup> Macroscopiquement, on peut parfois observer des excès de phase aqueuse ou organique exclus de la phase émulsion résultants de cette coalescence. Microscopiquement, ce phénomène se traduit logiquement par une variation de la taille des gouttelettes et se termine lorsque plus aucune variation n'est observée avec le temps.

Pour tenter de quantifier ce phénomène, un paramètre nommé le taux de couverture  $C$ , fut décrit en fonction de la masse des particules  $m_p$  ayant un diamètre  $d_p$  requise pour stabiliser une émulsion avec des gouttelettes de diamètre moyen  $D$  :<sup>30</sup>

$$C = \frac{D m_p}{4V_d \rho_p d_p} \quad (\text{Eq. 1.3})$$

où  $V_d$  est le volume de phase dispersée, et  $\rho_p$  la masse volumique des particules. Le taux de couverture caractérise la densité d'empilement des NPs à l'interface, pour des NPs monodisperses avec un angle de contact de  $90^\circ$  qui forment une monocouche serrée et compacte,  $C$  est égal à 0,9. Par conséquent, lorsque  $C < 0,9$ , il est supposé que les particules forment une couche lâche, tandis que si  $C > 0,9$ , des couches multiples ou des agrégats se forment à l'interface.<sup>31</sup> Des études avec des particules de silice fonctionnalisées ont mis en évidence que ce phénomène résulte en l'obtention d'une distribution de tailles de gouttelettes très resserrée, donnant des émulsions monodisperses.<sup>32-34</sup>

### 1.3.b – Interactions entre les particules à l'interface

Comme pour les tensioactifs, les particules interagissent les unes avec les autres à l'interface en raison de la proximité des molécules, mais leur caractère solide apporte des contributions supplémentaires que nous allons aborder. Une description plus complète des phénomènes est disponible dans les œuvres « *Intermolecular and Surface Forces* » et « *Foundations of Colloid Science* » écrites respectivement par Israelachvili<sup>35</sup> et Hunter.<sup>36</sup>

On recense tout d'abord les interactions de van der Waals (VDW), qui dépendent étroitement de la structure atomique des constituants des particules. Elles sont de trois types, les interactions de Keesom, qui s'exercent entre dipôles permanents, les interactions de Debye, qui se manifestent entre le dipôle induit d'une molécule non polaire et un dipôle permanent et les interactions de London, qui concernent deux dipôles induits et sont toujours présentes. Pour caractériser l'interaction entre deux particules sphériques de rayon  $r$  espacées d'une distance  $d$ , la somme de ces contributions s'écrit :

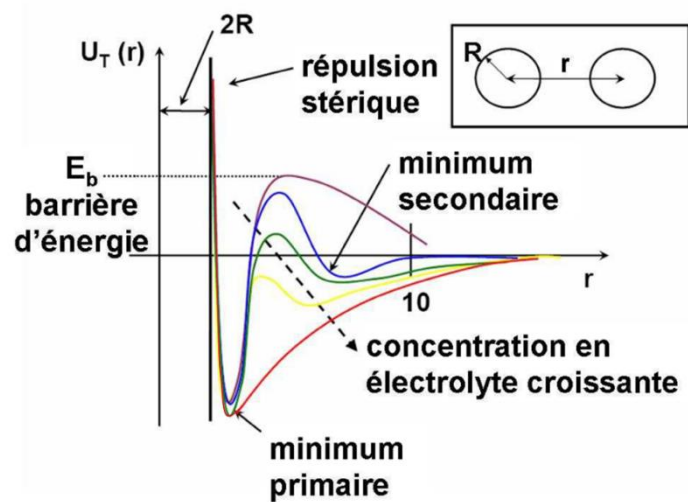
$$U_{tot} = -A \frac{r}{12(d - 2r)} \quad (\text{Eq 1.4})$$

où  $A$  est la constante d'Hamaker<sup>37</sup> qui se calcule en fonction de la polarisabilité et de l'énergie d'ionisation des atomes, donc du milieu dans lequel les particules sont plongées. Elle est positive pour deux particules identiques, et négatives pour deux corps de nature chimique différente. Ces interactions ont une portée de quelques dizaines de nanomètres au maximum.

Les interactions électrostatiques jouent également une part importante dans le processus de stabilisation des émulsions de Pickering. La plupart des particules colloïdales en suspension développent une charge électrostatique en surface, puisqu'elles sont généralement dispersées dans un milieu ionisé, ou certains groupes fonctionnels peuvent être initialement chargés. Ceci forme ce qu'on appelle une double couche électrique avec les contre-ions, dont l'épaisseur est

décrite par l'équation de la longueur de Debye-Hückel ( $\kappa^{-1}$ ).<sup>38</sup> On définit également le potentiel de répulsion électrostatique entre deux particules sphériques colloïdales chargées à partir de l'équation de Poisson-Boltzmann.<sup>39</sup>

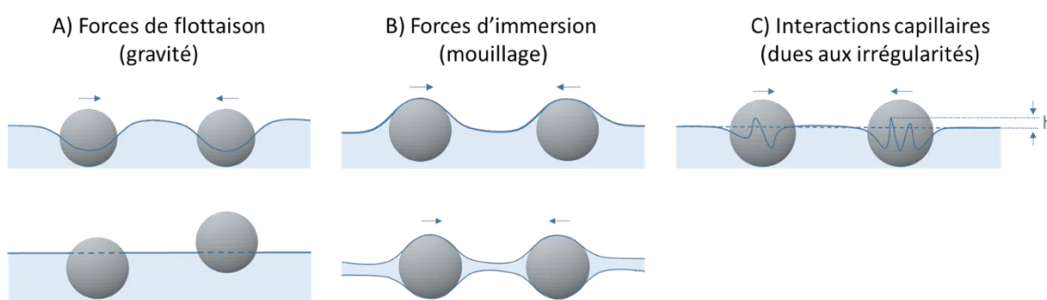
La somme des interactions de VDW et électrostatiques crée le potentiel d'interaction DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek) représentée **Figure 1.6**.<sup>40,41</sup>



**Figure 1.6 :** Représentation du potentiel d'interaction DLVO en fonction de la distance  $r$  séparant les deux surfaces, pour différentes forces ioniques.

La répulsion électrostatique entre deux particules de même charge de surface empêche leur rapprochement à une distance où les interactions de VDW sont inhibées. Ainsi, l'influence électrostatique est prédominante pour déterminer l'interaction totale. Si la force ionique est forte, alors les charges sont écrantées et l'interaction électrostatique devient négligeable, et les interactions de VDW sont dominantes. La barrière d'énergie se dissipe et devient inférieure à  $K_B T$ , ce qui cause l'agrégation des particules.<sup>35</sup>

Les particules peuvent également être soumises à des interactions capillaires (**Figure 1.7**), phénomènes qui ont été mis en évidence par Kralchevsky et al.<sup>42</sup> et sont initiés par différents paramètres comme la gravité (forces de flottaison,  $r > 5 \mu\text{m}$ ), le mouillage des particules (forces d'immersion,  $r > 1 \mu\text{m}$ ) ou encore les irrégularités de la ligne de contact. Ces forces sont toutes attractives et un modèle théorique a été développé.<sup>43,44</sup>



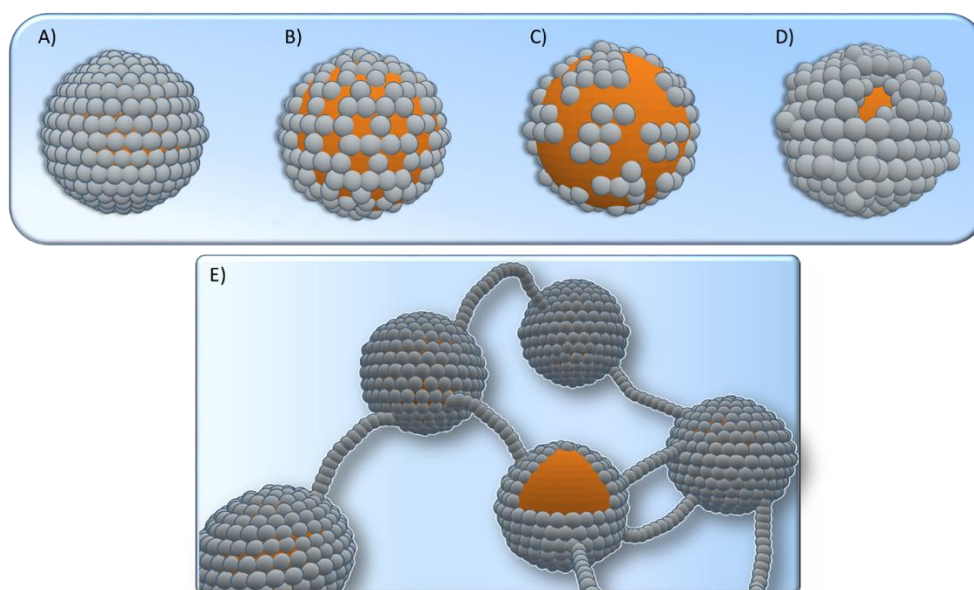
**Figure 1.7 :** Représentation schématique des principales interactions capillaires pouvant exister entre deux particules à une interface.<sup>44</sup>

Les deux premières intervenant rarement, et la dernière difficile à estimer, l'énergie associée à ces interactions s'exprime uniquement en ordre de grandeur. Enfin, des interactions stériques répulsives existent lorsque deux particules se rapprochent l'une de l'autre. Elles sont d'autant plus importantes que les particules sont proches, mais restent minoritaires face aux interactions de VDW et électrostatiques. Si les particules ont été modifiées par greffage ou adsorption de polymères, des forces répulsives d'origine entropique font également leur apparition. Elles dépendent du taux de greffage de la particule et du solvant dans lequel elles se trouvent.<sup>35</sup>

### I.3.c – Organisation des particules à l'interface

Toutes ces interactions en compétition ont des conséquences sur le positionnement des particules sur une interface, et créent donc des structures diverses, représentées sur la **Figure 1.8**. L'arrangement des très petites particules va également être conditionné par le mouvement Brownien. Toutes ces configurations influent sur le mécanisme de stabilisation des gouttelettes et ont des conséquences variées.

Les premiers travaux concernant la description de la configuration des particules à l'interface ont été réalisés avec des particules de silice fumée de 50 nm de diamètre, et d'amphiphilies différentes avec des angles de contact allant de 0 à 120°. <sup>45-47</sup> Les chercheurs ont utilisé des quantités variables de NaCl (de  $10^{-5}$  à  $10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup>) afin de modifier la quantité de particules adsorbées. Les particules se trouvaient alors sous plusieurs configurations, allant de la formation d'une couche incomplète à une monocouche dense, jusqu'à une conformation en multicouche qui devient critique si on dépasse la concentration critique de coagulation des particules. Il se peut également que des réseaux tridimensionnels soient formés *via* des phénomènes de pontage entre les gouttelettes.



**Figure 1.8 :** Représentation schématique des différents mécanismes possibles de stabilisation des interfaces de gouttelettes par des NPs : (A) monocouche dense, (B) cristal colloïdal épars, (C) agrégats. (D) couches multiples. (E) réseau de particules en excès dans la phase continue.



Il existe également des systèmes où la couverture complète de l'interface n'est pas nécessaire pour garantir une stabilisation optimale de l'émulsion de Pickering, les particules se regroupent sous forme d'agrégats ou de domaines denses à l'interface en laissant une partie de la surface non couverte.<sup>48</sup> Des émulsions de Pickering stables à base de particules de silice d'environ 500 nm et moins ont été découvertes avec des taux de couverture de seulement 5 %.<sup>49,50</sup>

#### I.4 – Particules conventionnelles des émulsions de Pickering

De nombreuses particules permettant de stabiliser les émulsions de Pickering ont été découvertes avec le temps. Cependant, elles ne confèrent pas les mêmes fonctionnalités. Il est donc important de choisir le bon type de nano/microparticule, afin de produire des émulsions de Pickering avec des spécificités, des fonctionnalités désirées, de manière à pouvoir les utiliser dans les applications ciblées. On va donc ici énumérer et discuter des types de particules couramment rencontrées.

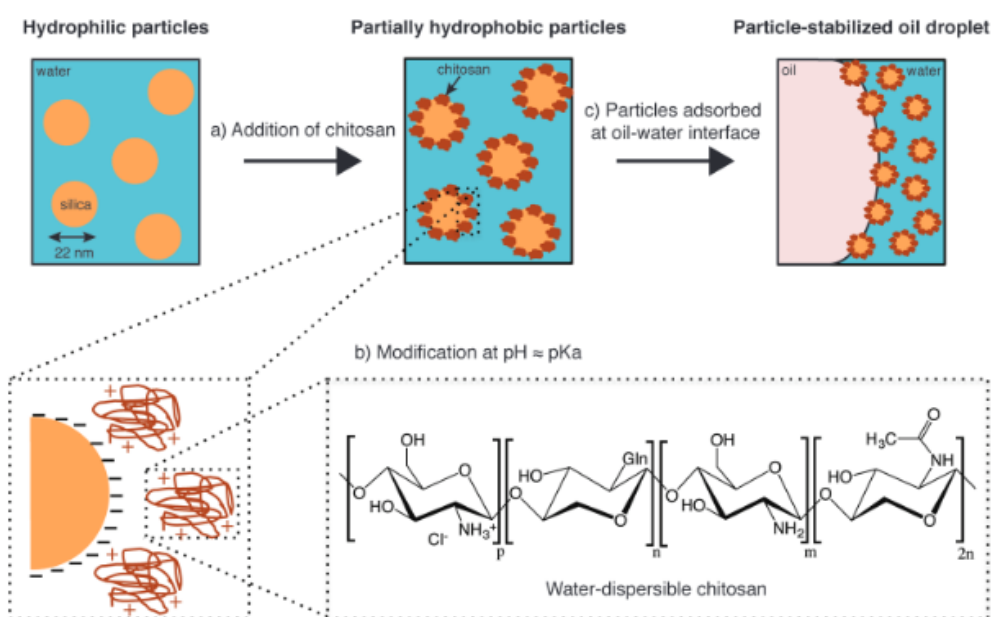
##### I.4.a – Particules minérales

Les particules dites minérales ou encore inorganiques sont très appréciées pour stabiliser les émulsions de Pickering pour plusieurs raisons. La facilité d'accès à des prix raisonnables est une des principales motivations à les utiliser. Les propriétés inertes attirent également les chercheurs tout comme leur stabilité mécanique et thermique.

La nanoparticule la plus employée pour stabiliser des gouttelettes est sans aucun doute celle à base de silice. La silice est accessible, abordable, et relativement inerte, ce qui élargit son champ d'application. Elle est utilisée en science des matériaux, mais aussi dans le secteur de l'imagerie biomédicale. Leur intérêt se trouve également dans leur modification aisée pour effectuer des inversions de phase d'émulsions. En effet, la silice non modifiée, longtemps caractérisée comme trop hydrophile, en raison de ses groupements Si-OH en surface, pour stabiliser des émulsions de Pickering, peu tout de même être utilisée avec certains solvants polaires pour produire des émulsions H/E. Les modifications apportées sont majoritairement des groupements hydrophobes permettant d'étendre la gamme de solvants utilisables, ou pour stabiliser des émulsions E/H, en augmentant l'affinité des particules pour la phase organique.<sup>51,52</sup> Les groupements silanols en surface facilitent le greffage et la modification, par exemple par des organosilanes. La variété de groupements organiques permet d'ajuster l'amphiphilie des particules à souhait. Le greffage chimique sur la surface de la silice est réalisé par condensation des molécules organosilanes et des groupements silanols afin d'obtenir des liaisons Si-O-Si robustes. La quantité de groupements silanols libres en surface dépend du traitement thermique pendant sa production. Alors qu'entre 25 et 400 °C, la condensation est réversible, elle devient irréversible au-delà, et nécessite une hydrolyse de la silice à 100 °C dans l'eau en présence d'un catalyseur pour retrouver les groupements siloxanes.

La modification peut également se faire par processus physique, comme les interactions électrostatiques. Des émulsions biocompatibles ont ainsi été développées en modifiant des

nanoparticules de silice avec des oligomères de chitosan.<sup>9</sup> Les particules sont préparées par simple mise en contact à partir d'une dispersion de silice dans l'eau (de 0,5 à 8,7 %m) dans laquelle on venait rajouter sous agitation une solution de chitosan à 20 %m goutte à goutte et à pH légèrement acide (5,5) pour charger le chitosan et la surface de la silice et permettre une adsorption électrostatique du premier sur le second (**Figure 1.9**). Leur adsorption interfaciale permet l'élaboration et la stabilisation d'émulsions E/H via un homogénéisateur haute pression, utilisables dans des applications agroalimentaires.



**Figure 1.9 :** Schéma explicatif de la formation d'émulsions de Pickering à base de nanoparticules de silice modifiées avec du chitosan. a) Hydrophobisation des nanoparticules de silice chargées négativement par adsorption électrostatique du chitosan grâce aux groupements amines chargés positivement. b) Modification des nanoparticules modifiées par ajustement du pH à 5,5. c) Stabilisation de gouttelettes d'huile via l'adsorption des particules de silice-chitosan à l'interface eau-huile.<sup>9</sup>

Beaucoup d'autres particules minérales sont utilisées pour stabiliser des émulsions de Pickering. L'argile est également très populaire car éco-compatible en plus d'être abondante et peu chère. Elle est également beaucoup modifiée car trop hydrophile pour stabiliser elle-même les émulsions.<sup>53-55</sup> L'hydroxyapatite, principal composant des os et dents du corps humain, et très utilisée pour des applications biomédicales ou comme catalyseur.<sup>56-58</sup> On peut encore citer les nanotubes de Carbone,<sup>59,60</sup> les nanoparticules métalliques<sup>61,62</sup> ou les oxydes métalliques<sup>63,64</sup> comme particules stabilisatrices d'émulsions de Pickering. Leur surface est modifiée chimiquement par condensation, polymérisation, réaction redox ou par revêtement de surface. Parmi eux, les nanoparticules d'oxydes de métaux comme FeOx ont souvent été utilisées pour contrôler la stabilité des émulsions par l'application d'un champ magnétique.<sup>65-67</sup>

#### I.4.b – Particules organiques

Beaucoup d'études se penchent dorénavant sur l'utilisation de particules biosourcées. Celles-ci peuvent être distinguées en 3 catégories : i) les polysaccharides naturels ou modifiés,

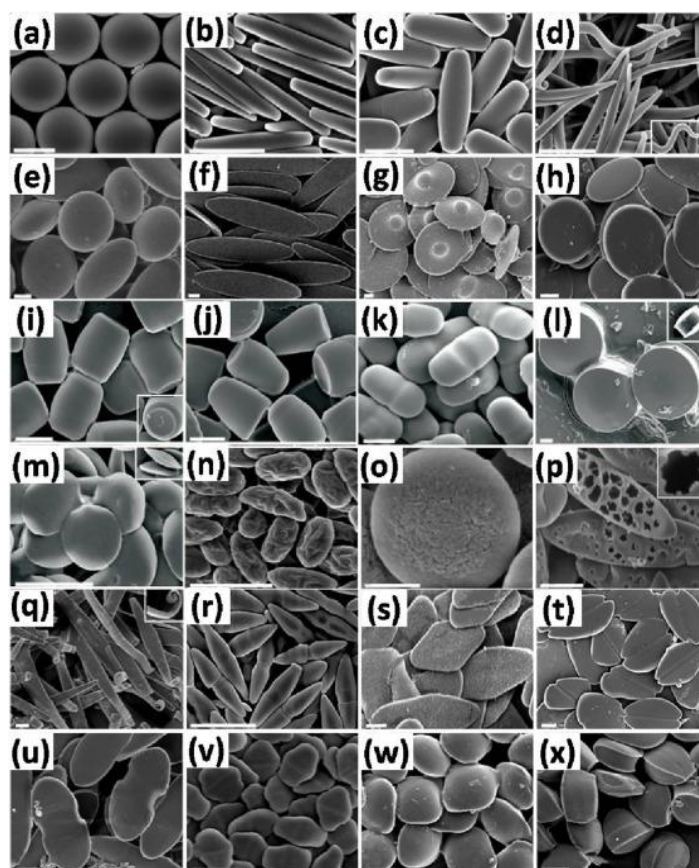
ii) Les nanoparticules à base de lipides ou de protéines, et enfin iii) les produits obtenus après traitement de matières issues de la biomasse. Du fait de leur origine naturelle, ils offrent une très bonne biocompatibilité ainsi qu'une toxicité plus faible. Ces particules sont donc majoritairement utilisées dans des formulations à visée agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique.<sup>68</sup>

Les polysaccharides sont des polymères naturels composés de glucides assemblés en chaînes linéaires, ramifiées ou issus d'une combinaison de ces deux conformations, produits sous forme de micro- ou de nanoparticules. Elles présentent de nombreux sites actifs en surface offrant la possibilité de moduler leur amphiphilie. Parmi les plus décrites dans la littérature, on peut citer la cellulose sous forme de nanocristaux,<sup>69,70</sup> la lignine,<sup>71,72</sup> l'amidon,<sup>73-75</sup> la chitin<sup>9,76,77</sup> (d'où est tiré le chitosan), ou encore les cyclodextrines (CDs).<sup>78</sup> Ces dernières feront l'objet d'une présentation détaillée dans le **Chapitre III**. Elles ont la possibilité de former des liaisons hydrogènes intra- et intermoléculaires leur permettant de former des cristaux insolubles sous forme de nanosphères compactes principalement dirigées par des forces hydrophobes. Les nanoparticules issues de lipides ou de protéines donnent souvent des émulsions avec des tailles de gouttelettes plus importantes que celles stabilisées par les polysaccharides. A titre d'exemples, on peut citer les particules de kératine,<sup>79</sup> les protéines séchées de lait, de soja ou de maïs, la protéine de lactosérum ou la zéine,<sup>80</sup> les cristaux de triglycérides,<sup>81,82</sup> la lactoferrine,<sup>83</sup> ou encore les microorganismes. Enfin, les NPs naturelles peuvent être préparées à partir d'un traitement préalable des matériaux de la biomasse, le broyage,<sup>84</sup> l'extraction,<sup>85,86</sup> ou encore la combustion<sup>87</sup> sont des méthodes généralement appliquées. Elles permettent d'obtenir des matériaux amphiphiles résultants d'un mélange de nanoparticules à la fois organiques et inorganiques. Si ces particules ont de nombreux avantages de par leur origine ou la sécurité qu'ils apportent au consommateur, elles sont particulièrement sensibles au phénomène d'hydrolyse et à la dégradation de leur structure, ce qui cause la déstabilisation des formules plus rapidement qu'avec l'utilisation d'autres particules.

#### I.4.c – Particules polymériques

Durant ces dernières années, de nombreuses études reportent l'utilisation de polymères (autres que d'origine naturelle) à leur état particulaire pour stabiliser les émulsions de Pickering. De nouveaux matériaux colloïdaux sont mis au point en greffant un polymère sur tous types de nanoparticules afin d'ajuster les forces intermoléculaires et le caractère amphiphile pour créer des émulsions de Pickering présentant un large éventail de propriétés. Ainsi, le poly(lactide-co-glycolide),<sup>88,89</sup> le polylactide-poly(éthylène glycol)<sup>90</sup> ou encore le poly(caprolactone)-poly(éthylène glycol)<sup>90</sup> sont des exemples de polymères couramment utilisés pour des applications pharmaceutiques. Ces polymères, même s'ils sont synthétiques, sont biocompatibles et biodégradables. Ils peuvent néanmoins présenter localement des réactions inflammatoires. D'autres polymères, comme le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) permettent la création de systèmes intelligents grâce à la possibilité d'utiliser un stimulus pour moduler l'émulsion. Ces polymères dits « stimuliresponsive » feront l'objet d'un

paragraphe développé au début du **Chapitre II**. Ces particules polymériques peuvent être synthétisées sous plusieurs formes, que ce soit des particules sphériques, des nanogels, des microgels, ou encore des particules anisotropes. Ces dernières font l'objet de nombreuses études et mettent en avant les avantages de ces types de particules.<sup>91</sup> Cependant, la sphère étant la forme avec l'énergie interfaciale et la surface la plus faible et donc la plus stable, la synthèse de particules anisotropes requiert l'utilisation de procédés particuliers. L'étirement de film polymère est certainement le plus connu, les particules sphériques sont introduites dans une solution de polymère (alcool polyvinylique ou poly(diméthylsiloxane)),<sup>92-94</sup> cette solution est étalée et séchée, puis amenée à une température supérieure à la température de transition vitreuse du matériau pour pouvoir déformer les particules. De très nombreuses formes de particules ont ainsi été obtenues comme le montre la **Figure 1.10**.



**Figure 1.10** : Images MEB de particules polymériques non sphériques produites par la méthode d'étirement mécanique de film polymère.<sup>94</sup>

Plusieurs polymères ont ainsi été soumis à cette méthode pour modifier la forme des nanoparticules.<sup>93,95</sup> D'autres méthodes comme la polymérisation dans un matériaux poreux,<sup>96,97</sup> le « démouillage » d'une phase liquide non miscible,<sup>98,99</sup> l'agrégation de particules sphériques,<sup>100</sup> ou encore des méthodes de préparation directes comme l'auto-assemblage induit par la polymérisation (PISA) ou la précipitation de polymères préformés sont également utilisées.<sup>101,102</sup>

De par la variété de particules connues à ce jour, les modifications possibles pour moduler leur amphiphilie et leurs fonctionnalités, ainsi que les différentes applications visées, de très

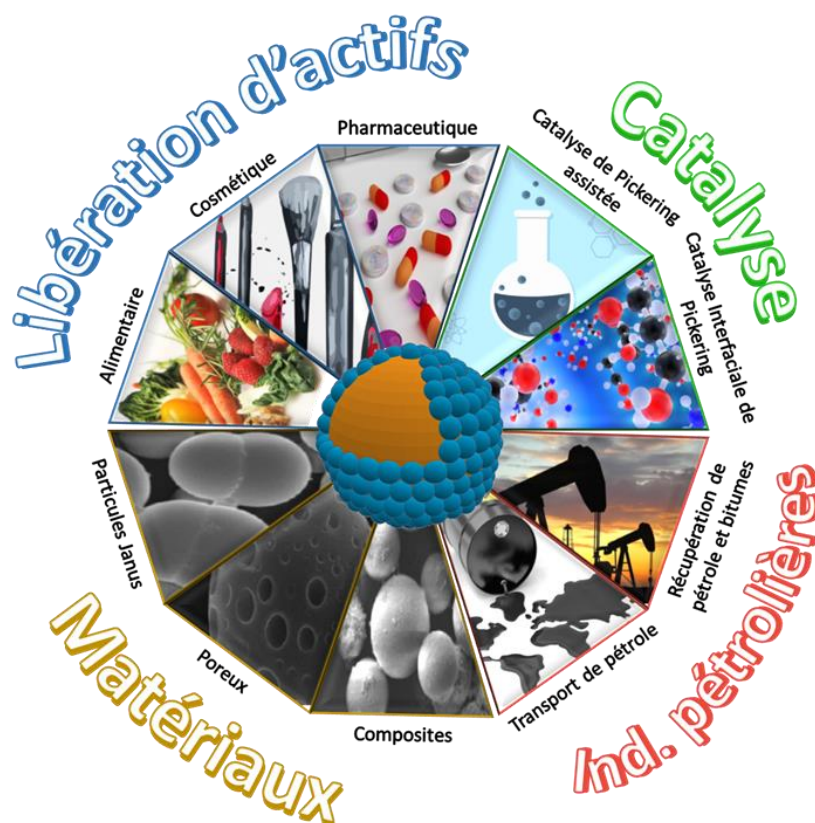
nombreuses possibilités s'offrent aux chercheurs pour arriver à leurs fins. Cependant, dans le contexte actuel et la volonté de minimiser l'impact environnemental des processus chimiques, insufflé par l'émergence des 12 principes de la chimie verte, les chercheurs s'entendent pour dire qu'il faut dorénavant trouver des systèmes de composition simple, peu gourmands en énergie, mais qui gardent les propriétés souhaitées pour être utilisables et transposables industriellement.

## II] Applications

Dans cette partie, nous allons aborder les applications des émulsions de Pickering, en donnant quelques exemples de systèmes adaptés. Puis nous nous focaliserons sur deux des domaines principaux d'applications de ces émulsions, qui seront appliqués pour deux systèmes développés dans ce manuscrit, à savoir l'application en pharmacie, et en catalyse.

### II.1 – Domaines d'applications

Actuellement, les émulsions de Pickering sont appliquées à plusieurs domaines, comprenant principalement 4 catégories, résumés sur la **Figure 1.11**.



**Figure 1.11** : Domaines d'applications des émulsions de Pickering.

On retrouve tout d'abord l'industrie pétrolière, où la dispersion d'huiles lourdes ou de bitumes dans l'eau facilite le stockage et le transport de matières très visqueuses.<sup>103,104</sup> En effet, plus que la tension interfaciale, la rhéologie de surface vient jouer un rôle important dans de

nombreux phénomènes dynamiques en raison de la complexité de la composition de l'huile. Acides gras légers, acides naphthéniques et asphaltènes, dont certaines molécules présentent des propriétés tensioactives. Des couches entourant les gouttelettes de surfaces rigides mais fragiles peuvent ainsi se rompre et déstabiliser le système.<sup>105</sup> Pour répondre à cela, des systèmes composés à la fois de nanoparticules de silice, de carboxy methyl cellulose, et de tensioactif anionique ont été développés pour créer des émulsions de Pickering SPN (Surfactant Polymer Nanoparticles) créant une synergie particulière. Les émulsions présentent ainsi une très bonne stabilité thermique (30 – 100 °C), de bonnes capacités d'écoulement et une efficacité de récupération de 24 % supérieure aux systèmes existants.<sup>106</sup>

Ensuite, de nombreux matériaux sont synthétisés en utilisant les émulsions de Pickering. Des matériaux poreux peuvent être obtenus en évaporant la phase dispersée tout en solidifiant la phase continue.<sup>107-109</sup> Des matériaux composites sont aussi préparés par greffage de composés actifs, dissouts dans l'une des deux phases aqueuse ou huileuse, sur les particules.<sup>110-113</sup> Des particules composites de polystyrène (PS)/Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ont été synthétisées par polymérisation en émulsion de Pickering en dispersant le monomère styrène et les particules Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dans l'eau puis en ajoutant une solution d'initiateur AIBA sous agitation 12 h à 65 °C. Les composites obtenus possèdent de bonnes propriétés thermiques et mécaniques grâce au PS et montrent également une réponse sous champ magnétique grâce à la présence des particules de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.<sup>112</sup>

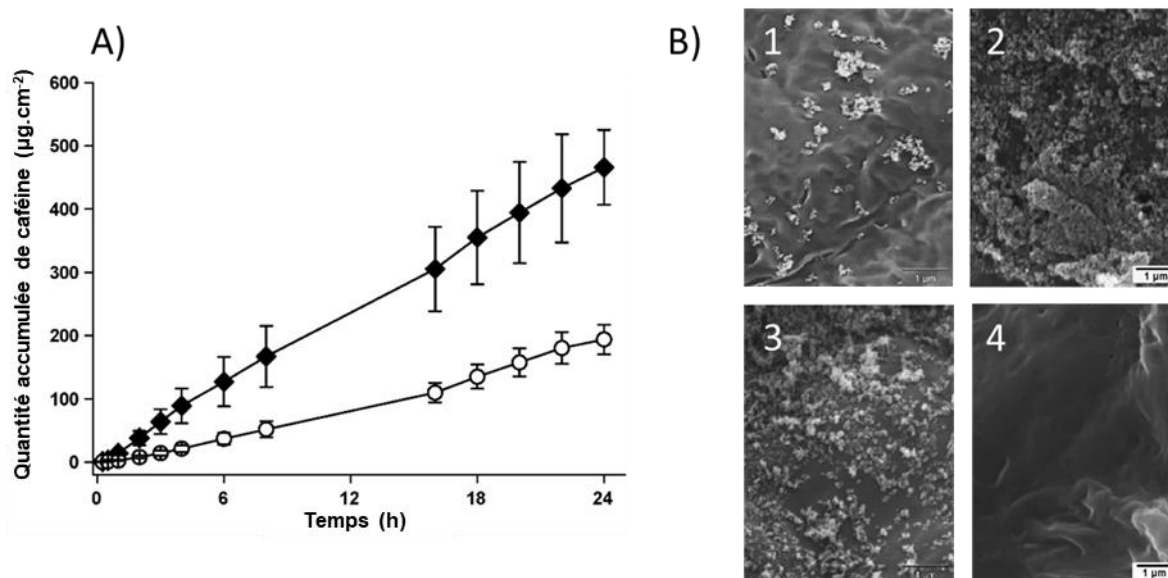
Enfin, les applications de libération d'actifs, dans lesquelles on retrouve les domaines cosmétiques, agroalimentaires et pharmaceutiques. Dans ces cas précis, deux propriétés des émulsions de Pickering sont primordiales pour la libération et le stockage des produits formulés, qui sont leurs propriétés interfaciales spécifiques et leur très bonne stabilité. Enfin, Les émulsions de Pickering ont beaucoup servi de support aux réactions catalytiques. L'importance est accordée au choix et à la modification des catalyseurs amphiphiles pour déployer une bonne activité de surface. Lorsque les réactifs sont situés dans des phases immiscibles, la surface de contact augmente efficacement car les gouttelettes sont stabilisées par les émulsifiants de Pickering, ce qui favorise le transfert de masse.

## II.2 – Libération d'actifs pharmaceutiques

Pour ce domaine précis, des propriétés uniques des émulsions de Pickering entrent en jeu. Tout d'abord, la voie d'administration est très importante, il convient de déterminer les interactions potentielles des composés présents dans la formulation (NPs/tensioactifs/matières actives) mais surtout de corrélérer les propriétés physicochimiques et interfaciales du support de l'émulsion et de l'administration cutanée d'une molécule lipophile. En effet, la perméation cutanée peut provoquer des effets pro-inflammatoires et cytotoxiques potentiels dus à l'exposition des NPs appliquées par voie topique. Il faut donc évaluer le facteur bénéfices/risques de l'utilisation de nanoparticules dans tout nouveau système d'administration développé.<sup>104</sup>

Ensuite, la perméation pose également la question de la rapidité de libération des émulsions de Pickering comparées aux émulsions classiques. Une étude sur la diffusion de la caféine *via*

une émulsion E/H de Pickering à base de particules de silice et une émulsion classique à base de polyéthylène glycol (PEG) et de polypropylène glycol (PPG) fut réalisée pour tenter de comprendre le mécanisme inhérent au support.<sup>114</sup> Ils ont effectivement montré que l'absorption de la caféine par la peau était 3 fois plus rapide depuis l'émulsion de Pickering (Figure 1.12.A).

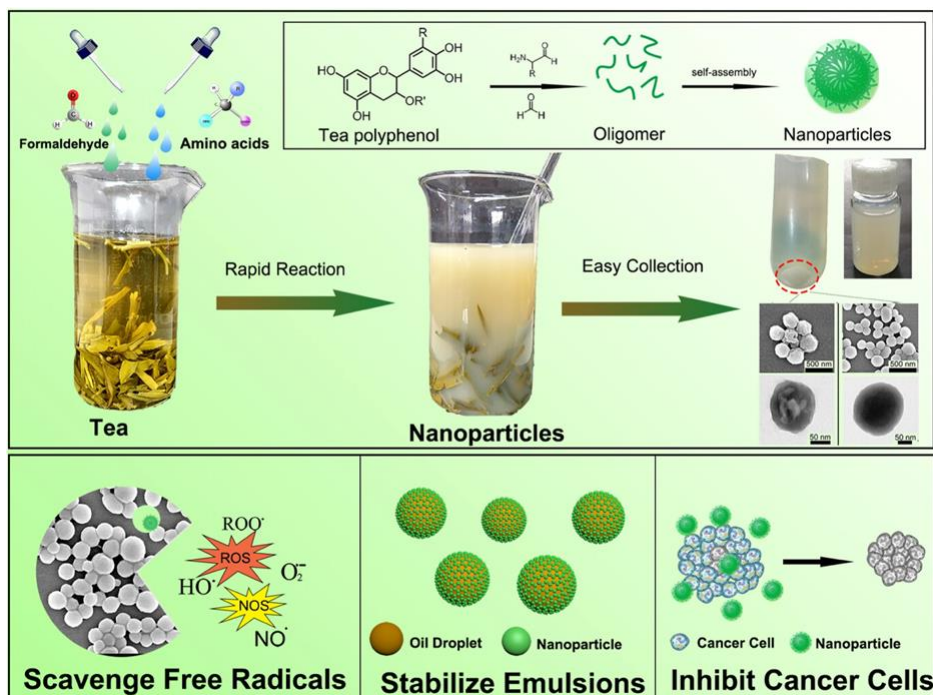


**Figure 1.12 :** A) Profil de perméation de la caféine ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) de l'émulsion de Pickering ( $\blacklozenge$ ,  $n=6$ ) et de l'émulsion classique ( $\circ$ ,  $n=6$ ) sur 24 h. B) Images MEB des couches de stratum corneum après 24 h d'exposition à l'émulsion de Pickering. 1) Surface de la peau ; 2) 1<sup>ère</sup> bande de peau ; 3) 10<sup>e</sup> bande de peau ; 4) 15<sup>e</sup> bande de peau. Les barres d'échelles représentent 1  $\mu\text{m}$ . Figure adaptée de <sup>114</sup>

Les chercheurs étaient d'abord surpris, puisque la présence d'une couche multiple de silice autour des gouttelettes d'eau limite le relargage *in vitro* de la caféine. Mais l'énergie d'adhésion des gouttelettes d'eau de l'émulsion de Pickering est supérieure que celle de l'émulsion classique, ce qui permet une libération de l'actif plus rapide dans la couche cornée. De plus, une expérience de mise en contact des formules avec des couches successives de *stratum corneum* révèle la présence d'agrégats de silice jusqu'à la 10<sup>e</sup> couche de peau (Figure 1.12.B). Cela montre que les gouttelettes présentes à la surface de la peau se sont partiellement rompues, ce qui aide au transport de la caféine adsorbée à la surface des particules de silice sous la peau. Cela montre une nouvelle fois que les émulsions de Pickering ont des interactions spécifiques avec la structure de la peau qui permettent la pénétration des actifs. Bien entendu, cette spécificité dépend de la composition de la formule.

La biocompatibilité est également primordiale pour assurer à l'utilisateur un traitement efficace tout en garantissant sa sécurité et en limitant les effets secondaires potentiels.<sup>115</sup> Enfin, certains stabilisateurs d'émulsions de Pickering jouent également le rôle de matière active dans la formulation des produits.<sup>116</sup> Cela revient à développer des systèmes intelligents et polyvalents, permettant de réduire la composition des formules au minimum grâce à des composants remplissant plusieurs fonctions. C'est ainsi que des nanoparticules de polyphénols

ont été synthétisées en one-pot à partir d'infusion de thé communément consommé par addition de formaldéhyde et d'acides aminés directement dans l'infusion (**Figure 1.13**).<sup>116</sup>



**Figure 1.13** : Préparation contrôlée en one-pot de nanoparticules fonctionnelles de polyphénol de thé à partir de thé de consommation courante. Piégeage de radicaux libres par les polyphénols, puis stabilisation d'émulsion de Pickering avec de l'huile de Lin pour inhiber la prolifération de cellules cancéreuses.<sup>116</sup>

Après avoir récupéré et lavé les particules formées, les auteurs ont homogénéisé un mélange d'huile de lin et de solution aqueuse comportant les nanoparticules de polyphénols et ont observé la formation d'une émulsion de Pickering. Après avoir piégé des radicaux libres, les NPs ont montré une très bonne efficacité contre la prolifération de cellules cancéreuses 4T1, via la mise en contact de l'émulsion Pickering avec des milieux de culture. Ce type de nanoparticules, obtenues très facilement, pourrait donc être utilisé dans de nombreux domaines.

### II.3 – Catalyse en émulsion de Pickering

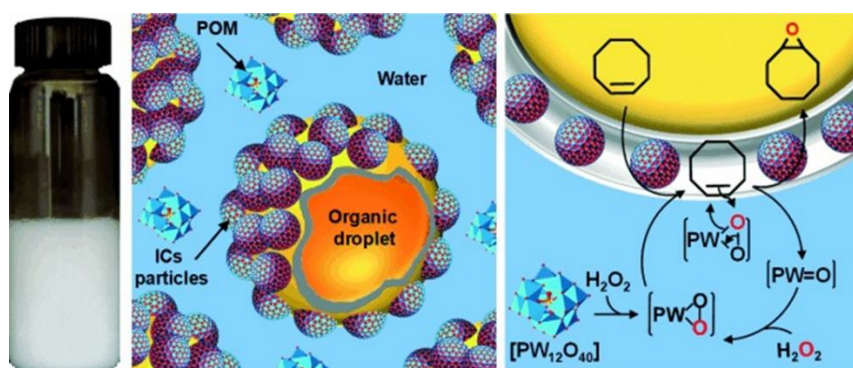
Un deuxième type d'applications particulièrement en vogue ces derniers temps est la réalisation de réactions catalytiques au sein d'une émulsion de Pickering. Les systèmes catalytiques de Pickering, appelés PAC et PIC respectivement pour Pickering-Assisted Catalysis et Pickering Interfacial Catalysis, sont apparus pour répondre aux problèmes rencontrés en catalyse classique. En prenant l'exemple de l'oxydation de substrats hydrophobes par l'eau oxygénée, ces deux espèces ne sont le plus souvent pas miscibles, le substrat étant majoritairement hydrophobe. L'utilisation de tensioactifs s'est donc développée dans plusieurs techniques de catalyse.<sup>117-120</sup> Cependant, l'utilisation de tensioactifs (pour la plupart pétrosourcés) menant à la formation d'émulsions stables, rendait difficile la récupération et le recyclage du catalyseur. Ces derniers étant généralement composés de métaux de transition,



couteux et toxiques, ils doivent ainsi être retirés. La séparation des phases pour collecter les produits de réaction est donc également problématique.

### II.3.a – Catalyse assistée de Pickering (PAC)

Les premiers systèmes développés ont été appelés Catalyse assistée de Pickering (PAC). Ici, l'émulsion de Pickering sert de support à la catalyse, à laquelle on vient ajouter un catalyseur homogène, qui réagit avec le substrat souvent solubilisé dans la phase dispersée. Leclercq et *al.*<sup>121</sup> ont développé un système respectueux de l'environnement à partir d'une émulsion de Pickering H/E sans solvant basée sur la formation de complexes d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et le substrat d'oxydation. Les oxydants, le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et le phosphotungstate de sodium  $Na_3[PW_{12}O_{40}]$ , sont solubilisés dans la phase continue aqueuse. Les réactions ont donné de très bons résultats, avec des taux de conversion de 99 % pour la plupart des alcools testés, et des très bonnes sélectivités. La fréquence de renouvellement (TOF pour Turnover Frequency) pour la conversion du cyclooctène en époxyde de cyclooctène correspondant, est presque 50 fois supérieure à celle obtenue en l'absence d'émulsifiant en raison d'un contact favorisé interfacial favorisé entre l'alcène et le catalyseur (Figure 1.14).



**Figure 1.14 :** Mécanisme proposé pour l'époxydation catalytique de l'émulsion de Pickering cyclooctène/eau/ $\beta$ -CD.<sup>121</sup>

De plus, une simple centrifugation ou un chauffage du système permet la séparation des phases, facilitant la récupération des produits de réaction et la réutilisation des catalyseurs. En outre, aucune étape de synthèse n'est nécessaire comparé à d'autres systèmes basés sur l'immobilisation sur silice.

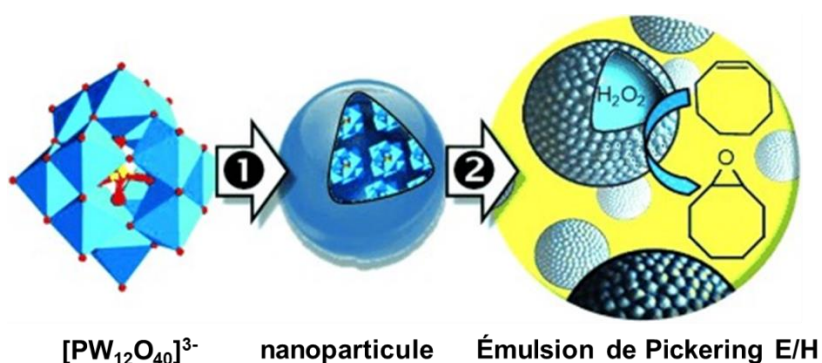
### II.3.b – Catalyse interfaciale de Pickering (PIC)

Dans les systèmes PAC, les particules stabilisantes des émulsions de Pickering ne possèdent pas de propriétés catalytiques, les systèmes PIC ont donc été une solution et une suite logique, grâce à des particules se comportant à la fois comme émulsifiant et catalyseurs interfaciaux. Un tel concept favorise une nouvelle fois la recyclabilité et la réutilisation du catalyseur car à l'état solide, une simple centrifugation permet leur expulsion au fond de l'échantillon, de plus, la toxicité des métaux est grandement diminuée. La surface de contact créée par la présence de nombreuses gouttelettes de petite taille est également un grand avantage. La réaction

catalytique ayant lieu directement à l'interface, plus cette surface est grande, meilleure est l'efficacité, car le transfert de masse n'est plus un facteur limitant, ce qui veut dire que l'agitation du système pendant la réaction n'est plus requise à ce niveau.

Les systèmes PIC offrent ainsi une solution sur mesure pour mener des réactions biphasiques dans des conditions beaucoup plus saines et respectueuses de l'environnement, le tout avec une grande variété de produits chimiques et de combustibles. Ce n'est que très récemment que les réactions en émulsions de Pickering ont vu le jour, le premier système PIC émerge en 2010<sup>122</sup> (2007 pour PAC<sup>123</sup>), et leur nombre a explosé à partir de 2014. Aujourd'hui, les systèmes PIC peuvent se diviser en 7 catégories de réactions, et sont dominés par les réactions d'hydrogénation<sup>124-126</sup> et d'oxydation,<sup>127-130</sup> en raison de la nature immiscible des réactifs. On retrouve sinon des réactions de polymérisation,<sup>131,132</sup> de photocatalyse,<sup>133,134</sup> des réactions catalysées par des acides,<sup>135,136</sup> des réactions enzymatiques<sup>137,138</sup> et d'autres réactions isolées comme l'alkylation<sup>139</sup> ou la formation de liaisons sulfures.<sup>140</sup>

Nous nous intéresserons plus particulièrement ici et dans le **Chapitre IV** aux réactions d'oxydation catalysées par le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et des NPs acides. Notre groupe a développé des systèmes catalytiques spécifiques via des émulsions eau/solvants aromatiques stabilisées par des NPs de polyoxométalates (POMs) incorporant des chaînes de décyl-, dodécyl- et tétradécyltriméthylammonium (**Figure 1.15**). Le système fut utilisé pour l'époxydation d'oléfines dans des conditions douces.<sup>127,136,141,142</sup>



**Figure 1.15** : Principe de l'époxydation du cyclooctène dans une émulsion E/H stabilisée par des NPs catalytiques amphiphiles formées par un POM et des cations alkylammonium. 1) Formation des nanoparticules; 2) Stabilisation des émulsions de Pickering et catalyse interfaciale.<sup>143</sup>

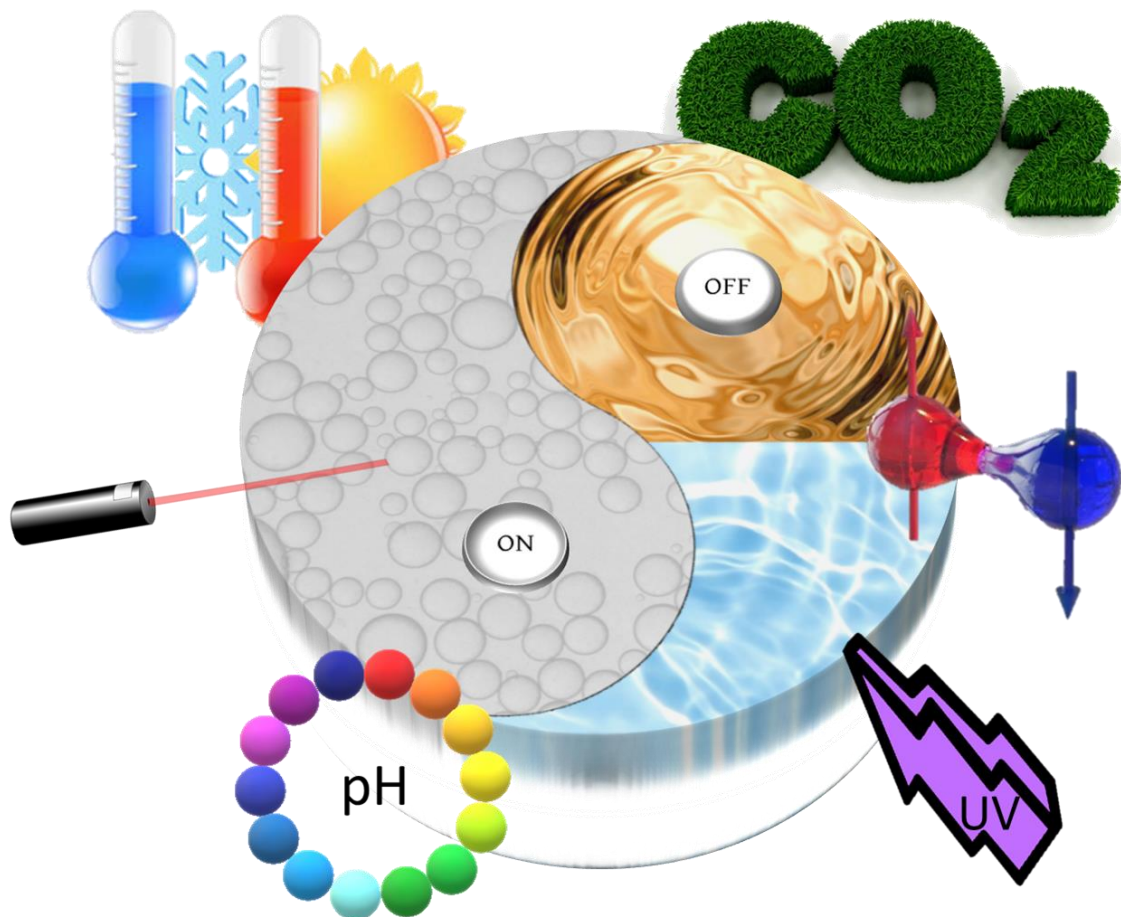
Des travaux similaires ont été effectués par Leng et *al.* et Zhang et *al.* D'autres travaux mettent en avant ces oxydations par  $H_2O_2$  grâce, par exemple, à des particules de silices décorées d'or pour l'oxydation du (*R*)-1-phényléthanol,<sup>144</sup> des composites hybrides de zéolite/silice pour l'hydroxylation du benzène en phénol,<sup>130</sup> ou encore un système sensible au champ magnétique à partir d'un support alumine/molybdène chargé d'un mélange  $H_2O_2$ /ions ferreux (appelé réactif de Fenton) pour l'oxydation du colorant lipophile Sudan IV.<sup>145</sup>

## Objectifs de cette thèse

Dans cette thèse, différents systèmes innovants permettant d'obtenir des émulsions de Pickering aux fonctionnalités et application diverses ont été développés, ils seront explicités dans 3 chapitres indépendants. Le **Chapitre II** décrira pour la première fois des émulsions de Pickering stabilisées par des polymères que sont la **poly(4-vinylpyridine)**, pour sa sensibilité aux conditions acido-basiques et à la force ionique, et la **polyéthylèneimine linéaire**, qui sera sensible à la fois au pH et à la température. L'intérêt est de montrer que l'on peut changer les propriétés des polymères grâce aux stimulus auxquels ils sont sensibles afin d'obtenir des propriétés favorables à la stabilisation des émulsions, et d'obtenir des systèmes fonctionnels et intéressants en vue d'applications diverses. Le **Chapitre III** développera le concept de chimie supramoléculaire grâce aux interactions non covalentes qui existent entre les **cyclodextrines** et les composés hydrophobes **phytochimiques**, formant des complexes d'inclusion qui aident à la stabilisation d'émulsions de Pickering avec une action antibactérienne, antimicrobienne et antibiofilm. Enfin, le **Chapitre IV** mettra en application le concept de PIC pour l'oxydation d'oléfines grâce à  $H_2O_2$  et de deux particules catalytiques stabilisatrices d'émulsions de Pickering. Des NPs amphiphiles de **silice  $[C_{18}/SO_3H]@SiO_2$**  d'un côté pour l'hydrolyse, et des NPs amphiphiles  **$[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$**  pour l'époxydation/oxydation. Des additifs phosphatés sont ajoutés afin de booster l'époxydation des alcanes cycliques via différents mécanismes (auto-assemblages des NPs et activité catalytique à l'interface). Une courte étude sur la synthèse de nanoparticules basées sur l'auto-association de **polyéthylèneimine branchée** et d'**acide tungstophosphorique** sera enfin discutée.

# Chapitre II : Polymères stimuli-sensibles et émulsions de Pickering

---





## I] Pickering et polymères : État de l'art

Dans ce chapitre, deux systèmes développés au cours de ces travaux à base de particules polymériques seront discutés, à savoir une résine de poly(4-vinylpyridine), P4VP, réticulée à 2% en divinylbenzène (DVB), et la polyéthylèneimine, PEI. Les deux polymères seront caractérisés pour évaluer leurs propriétés physicochimiques, mais aussi leur sensibilité à certains stimuli. Leur capacité à former et stabiliser des émulsions de Pickering sera ensuite discutée en vue de leur optimisation. Un état des lieux des systèmes existant à base de polymères sensibles au pH et à la température sera d'abord proposé, afin d'introduire les systèmes développés lors de ces travaux.

### I.1 – Particules polymériques sensibles au pH

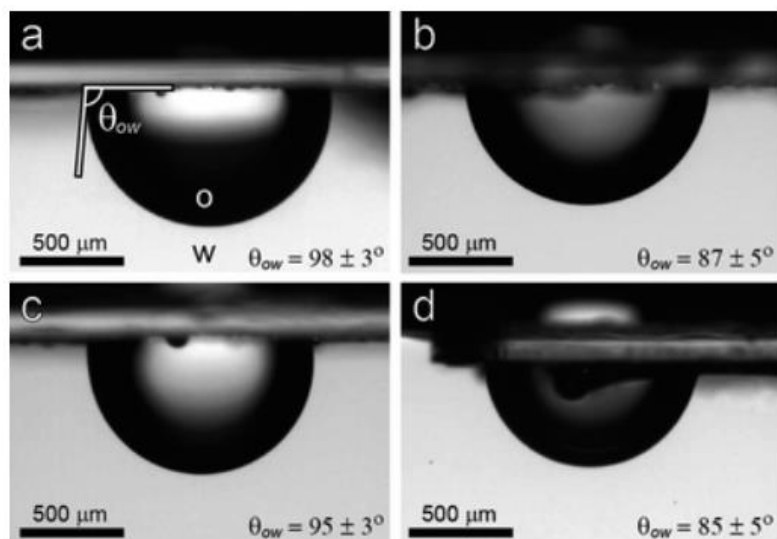
Les systèmes sensibles au pH ont été les plus étudiés parmi les différents stimuli connus aujourd'hui. Le pH représente en effet le stimulus le plus simple à mettre en œuvre. En effet, la variation de pH dans un milieu peut permettre de modifier de façon extrêmement simple et réversible la chimie de surface des particules ouvrant ainsi la voie à des émulsions de Pickering aisément contrôlables.

#### I.1.a – Types de particules

Beaucoup de particules stabilisatrices d'émulsions de Pickering sont connues pour leur sensibilité au pH, que ce soit des nanoparticules (NPs) non modifiées organiques<sup>80,146,147</sup> ou inorganiques,<sup>148,149</sup> des nanoparticules fonctionnalisées en surface de façon covalente<sup>150,151</sup> ou non,<sup>152–156</sup> ou encore des particules auto-assemblées ou sous forme de micelles.<sup>13,14–16</sup>

Par exemple, l'oxyde de graphène (GO), connu pour stabiliser des émulsions de Pickering, présente des particules qui ont été reconnues comme sensibles au pH *via* les fonctions carboxylates situées à la surface des particules. Cette sensibilité permet de jouer sur l'amphiphilie globale des NPs.<sup>161</sup> En effet, à pH élevé ou neutre, la fonction est sous forme déprotonnée (carboxylate), mais en milieu acide, la protonation de la fonction carboxylate donne aux NPs de GO un caractère plus lipophile causant leur dispersion préférentielle dans la phase huile. Les particules naturelles montrent également des modifications de propriétés en réponse aux changements de pH. Les nanoparticules de chitosan ou encore les particules colloïdales de zéine ont un caractère pH-sensible.<sup>80,147</sup> La zéine est considérée comme plutôt hydrophobe en raison de la haute proportion d'acides aminés hydrophobes comme la leucine, la proline et l'alanine. Mais son degré d'hydrophobicité peut être contrôlé par le degré d'ionisation des groupements basiques portés par les chaînes latérales des acides aminés. Ainsi des mesures d'angle de contact de goutte d'huile sur un film de zéine, synthétisé par évaporation de solvant, le tout immergé dans une solution aqueuse à pH = 4 et 8,5 et à 0,1 ou 1 M en NaCl (**Figure 2.1**) ont été réalisées. Même si les valeurs restent proches de 90° dans tous les cas, la zéine montre une légère mouillabilité préférentielle pour la phase aqueuse à faible force ionique (**Figure 2.1.a** et **2.1.c**), alors qu'elle devient plutôt hydrophobe à 1 M NaCl aux

deux valeurs de pH ( $87^\circ$  et  $85^\circ \pm 5^\circ$ , **Figure 2.1.b** et **d**). Cela pourrait permettre, en fonction du choix de l'huile et des conditions, de produire des émulsions de Pickering H/E ou E/H.



**Figure 2.1** : Gouttes d'huile de soja attachées au film de zéine immergé dans une phase aqueuse. Les angles de contact H/E  $\theta_{ow}$  (encarts) ont été déterminés pour les phases aqueuses avec a) 1 mM NaCl à pH = 4, b) 1 M NaCl à pH = 4, c) 1 mM NaCl à pH = 8,6 et d) 1 M NaCl à pH = 8,6.<sup>80</sup>

Les polymères sensibles au pH sont ceux dont la solubilité, le volume, la configuration et la conformation peuvent être manipulés de manière réversible lors des variations du pH du milieu.<sup>162</sup> L'ajustement du pH modifie l'interaction ionique, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes, ce qui entraîne des séparations microphasiques réversibles ou des phénomènes d'auto-organisation. De nombreux matériaux fonctionnels intelligents et adaptables ont donc été fabriqués à partir de ces polymères avec des applications en libération contrôlée de substances actives, de soins personnels, en exploration pétrolière, assainissements de l'eau, etc. Des copolymères amphiphiles auto-assemblés sous forme de micelles tels que le poly {(styrene-*alt*-maleic acid)-*co*-[styrene-*alt*-(*N*-3,4-dihydroxyphenylethyl-maleamic acid)]} (SMA-Dopa) ont montré que le pH modulait la conformation du copolymère.<sup>146</sup> A pH bas, les micelles rétrécissent en raison des fortes interactions intramoléculaires hydrophobes attractives. L'augmentation du pH provoque la déprotonation des groupements hydroxyles et induit de fortes répulsions électrostatiques intramoléculaires provoquant le gonflement de la micelle. La salinité aidera également à l'écrantage des charges de surface à pH bas et aide à l'agglomération des micelles. Des microgels de poly(2-(*tert*-butylamino)ethyl methacrylate) (PTBAEMA)<sup>163</sup> voient également leur conformation changer sous l'effet du pH. La protonation de l'amine secondaire du motif méthacrylate aux pH < 8 provoque l'ionisation globale des microgels, ce qui provoque une affinité majoritaire pour l'eau avec des liaisons hydrogène supplémentaires, causant une augmentation de la mouillabilité des particules pour la phase aqueuse. Une réticulation au DVB est utilisée à différents pourcentages pour réduire le caractère basique du copolymère. Des particules polymériques et amphiphiles de type Janus (particules dissymétriques dont les surfaces présentent deux ou plusieurs propriétés distinctes) ont également été synthétisées, avec une partie composée

majoritairement de styrène (hydrophobe), et l'autre partie hydrophile constituée d'acide acrylique sensible au pH.<sup>160</sup> En milieu acide, les particules sont protonées permettant un meilleur mouillage par la phase huileuse, tandis qu'en milieu basique, l'acide acrylique se déprotonne, ce qui permet un mouillage préférentiel par la phase aqueuse.

Enfin, la fonctionnalisation de surface de certaines particules est également un moyen de créer des systèmes sensibles aux stimuli. Plusieurs méthodes de modifications existent, par liaisons covalentes ou bien interactions électrostatiques, liaisons hydrogènes ou encore *via* les forces de van der Waals. Des petites molécules comme l'hydrogènophtalate de potassium<sup>153</sup> ont été utilisées avec des NPs de silice enrobées d'alumine *via* des interactions électrostatiques. D'autres systèmes existent avec des copolymères bien définis à base de méthacrylate d'amine tertiaire adsorbés sur des NPs de latex de PS.<sup>154</sup> Les segments hydrophobes sont reliés à la surface de la particule, tandis que la partie hydrophile est dirigée vers l'extérieur, et garantit la stabilité grâce aux effets stériques, en fonction du pH du milieu. Des systèmes encore plus complexes ont été développés avec des copolymères de type « *triblock* » multifonctionnels greffés sur des NPs minérales. Ainsi, le poly(styrène-*block*-2-vinylpyridine-*block*-oxyde d'éthylène) (P(St-*b*-2VP-*b*-EO))<sup>151</sup> peut facilement changer de comportement grâce à la protonation (pH < 3) ou la déprotonation (pH > 4) des motifs 2-vinylpyridine présents à la surface des particules.

#### I.1.b – Emulsions de Pickering avec des polymères pH-sensibles

Les variations structurelles et de conformation que subissent ces NPs engendrent ainsi des changements de mouillabilité et d'affinité pour les solvants avec lesquels elles sont mises en contact. De ce fait, si les NPs ne peuvent pas stabiliser d'émulsions dans des conditions naturelles (aucune modification de pH effectuée), le changement de pH peut aider à contrôler l'équilibre hydrophile/lipophile des particules et ainsi leur permettre de se fixer à l'interface eau/huile. Evidemment, l'exact opposé peut avoir lieu : tout dépend de la nature exacte du système choisi. Ainsi, pour les NPs de GO, il a été montré qu'à pH neutre, les GO en forme carboxylate, sont assez hydrophiles pour stabiliser des émulsions H/E, mais que l'acidification du système, qui résulte en la protonation des fonctions carboxylates, rend les GO plus lipophiles et cause leur désorption de l'interface et la séparation des phases.<sup>161</sup> Mais l'équilibre peut également être mis à mal dans des conditions trop basiques, où à pH > 10, les GO sont trop hydrophiles, en raison de la présence d'une grande majorité de fonctions carboxylates déprotonées, et quittent l'interface pour migrer cette fois vers la phase aqueuse, causant la coalescence des gouttelettes. Pour les particules de chitosan, ce sont les groupements amines primaires qui subissent une protonation ou une déprotonation en milieu acide ou neutre/basique respectivement (**Figure 2.2**). Sous forme déprotonée, les NPs permettent la stabilisation d'émulsions H/E avec de nombreuses huiles,<sup>147</sup> alors qu'en forme protonée, les particules deviennent solubles dans la phase aqueuse, provoquant la démixtion des phases.



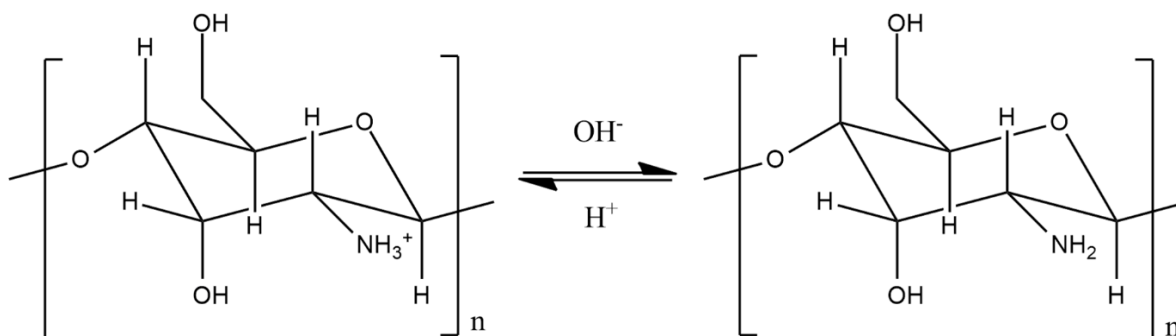


Figure 2.2 : Structures du chitosan en fonction du pH.

Dans d'autres cas où les NPs stabilisent déjà des émulsions sous conditions naturelles, la modification de mouillabilité n'entraînera pas la désorption des particules de l'interface, mais seulement une inversion de phase permettant de passer d'une émulsion H/E à une émulsion E/H ou inversement. Par exemple, les particules Janus composées d'un côté de motifs styrènes et de l'autre de motifs acide acryliques permettent à pH bas de stabiliser des émulsions E/H,<sup>160</sup> alors qu'à pH élevé, les émulsions de Pickering sont de type H/E. Les gouttelettes des émulsions H/E sont cependant de diamètre beaucoup plus important que celles observées dans les émulsions E/H, ce qui est expliqué par la répulsion électrostatique entre particules induite par la charge des fonctions acides carboxyliques déprotonnées portées par les motifs acryliques. Le même cas de figure est observé pour les particules de silices greffées de copolymère triblock P(St-*b*-2VP-*b*-EO) (Figure 2.3).<sup>151</sup>

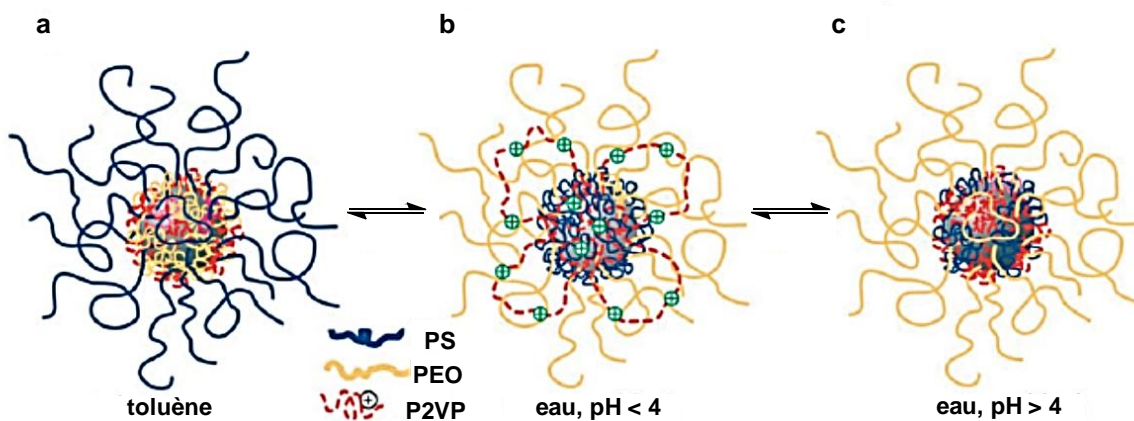


Figure 2.3 : Représentation schématique des différentes morphologies des particules: a) chaînes de P2VP replié et PS allongé dans le toluène; b) chaînes de PS repliées et P2VP et PEO étendues, dans l'eau à pH < 4; c) chaînes de PS et P2VP repliées et PEO étendues dans l'eau à pH > 4.<sup>151</sup>

La protonation du motif pyridine rend la surface de la particule hydrophile en milieu acide et permet donc la stabilisation d'émulsions H/E, alors qu'à pH > 4, les fonctions pyridines sont dans l'ensemble déprotonnées, laissant à la particule un caractère hydrophobe majoritaire avec le block styrène. Utilisées comme tel, elles stabilisent des émulsions de Pickering E/H jusqu'à pH = 10. Ces derniers exemples permettent d'inverser les émulsions grâce à la présence de

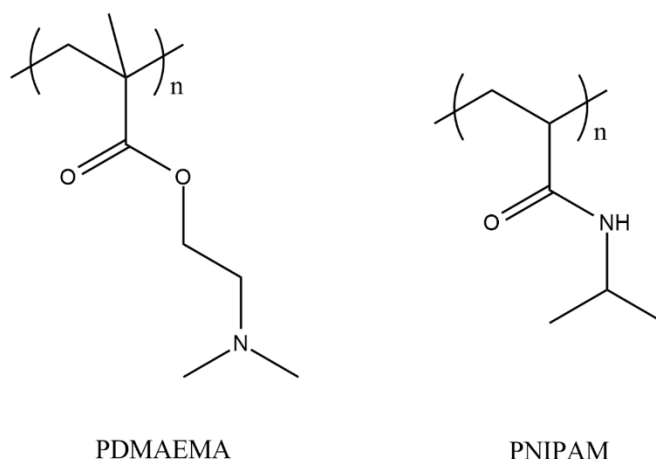
motifs ou de groupements d'affinités opposées qui équilibrent l'amphiphilie des particules synthétisées.

Globalement, les systèmes d'émulsions de Pickering pH-sensibles ont l'avantage d'une mise en œuvre facile, ainsi que d'une large variété de matériaux disponibles à cette fin. La simple protonation ou déprotonation des groupements sensibles au pH modifie significativement le comportement de surface des particules leur apportant les propriétés désirées. Cependant, les particules modifiées ou greffées, comme les nanoparticules de silice ou de PS fonctionnalisées par des copolymères « *multiblock* », demandent pour la plupart des méthodes de préparation « complexes » dans leur mise en œuvre. Il en résulte un coût de revient élevé. De plus, leur production est généralement énergivore et engendre plus de pollution que l'utilisation des particules natives. Cependant, elles offrent un contrôle inégalé car leur sensibilité est généralement finement ajustée, notamment dans le cas de certaines applications spécifiques.<sup>164,165</sup>

Malgré leur simplicité, les systèmes pH-sensibles présentent une limitation de taille. En effet, la réversibilité de ces systèmes ne peut être garantie au-delà d'un nombre relativement faible de cycles. La modification de pH est une méthode dite invasive. Les allers-retours en pH nécessitent l'ajout de substances qui augmentent progressivement la force ionique des systèmes, et peuvent résulter en l'apparition de sels au sein du système (NaCl dans le cas de l'ajout de HCl et de NaOH). De plus, de tels ajouts de façon cyclique diminuent la concentration des espèces chimiques initialement présentes via l'augmentation du volume total du système. L'ensemble de ces modifications fait que le système peut finir par s'effondrer.

### 1.2 – Particules polymériques sensibles à la température

Le deuxième stimulus le plus couramment étudié pour contrôler la stabilité des émulsions de Pickering est la température. L'avantage direct des systèmes température-dépendants, comparés aux systèmes sensibles au pH, est qu'ils ne nécessitent pas de modifier la composition chimique du système. Les méthodes utilisées pour synthétiser des particules pH-sensibles sont également appliquées pour produire des systèmes sensibles à la température. Ainsi, des polymères bien connus pour leurs propriétés thermosensibles peuvent être greffés sur des NPs. Parmi ceux-ci, on retrouve classiquement le poly[2-(diméthylamino)éthyl méthacrylate] (PDMAEMA) et le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) (**Figure 2.4**).



**Figure 2.4 :** Structure du poly[2(diméthylamino)éthyl méthacrylate] (PDMAEMA) à gauche, et le poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) à droite.

Les polymères subissant une modification importante de leurs propriétés au sein d'un liquide avec une variation de la température sont classés en deux catégories : Les polymères LCST (pour « *Lower Critical Solubility Temperature* ») et UCST (U pour « *Upper* »), cette température est déterminée dans l'eau. Ceux appartenant à la première catégorie sont solubles à basse température et précipitent au-delà de la LCST. Pour les polymères UCST c'est l'inverse. La précipitation provient ainsi d'un changement au sein de la structure du polymère affectant directement son affinité avec le milieu environnant. L'un des premiers systèmes développé date de 2005 et est composé de particules de latex de PS stabilisées par interactions stériques par un copolymère « *diblock* » de PDMAEMA-*b*-PMMA (MMA : méthyl méthacrylate).<sup>166</sup> Les blocs de PMMA étaient directement attachés à la surface des NPs de PS tandis que les blocs PDMAEMA assuraient la fonction de modificateur de propriétés de surface des particules. La LCST du PDMAEMA se situe entre 32 et 46 °C, au-delà, il devient insoluble en solution aqueuse. Ainsi, en-dessous de la LCST, les particules sont capables de former des émulsions H/E grâce au PDMAEMA soluble qui apporte aux particules une affinité importante pour la phase aqueuse.<sup>167</sup> Une fois le polymère précipité à des températures supérieures à la LCST, les auteurs observent une inversion de phase vers des émulsions E/H. Des études similaires ont été faites en greffant le PDMAEMA sur des NPs de silice et sans le bloc PMMA et montrent qu'au-delà des 50 °C, les particules flocculent causant la déstabilisation de l'émulsion.<sup>168</sup>

Le PNIPAM est un polymère thermosensible également très utilisé grâce à sa biocompatibilité et sa plage de température de transition très étroite. Sa structure composée de groupements amide permet au PNIPAM d'être soluble dans l'eau jusque 32 °C, et devient insoluble au-delà. Il constitue ainsi un très bon candidat pour délivrer des matières actives pour des applications pharmaceutiques car sa température de transition est proche de la température corporelle. De la même façon que précédemment, le PNIPAM a été greffé sur des NPs de polystyrène (PS), qui stabilisent des émulsions de Pickering H/E à température ambiante.<sup>169</sup> Mais lorsque l'échantillon est amené à 40 °C, la séparation de phase s'observe quasi instantanément. Le PNIPAM subit une transition en passant d'une conformation « serpent » , c'est-à-dire chaîne déployée, à globule, qui provoque une instabilité des

particules à l'interface, puisque sa mouillabilité pour l'eau est fortement réduite. Des microgels non chargés et chargés de PNIPAM et PNIPAM-co-MAA (acide méthacrylique) respectivement, réticulés au *N,N'*-méthylènebisacrylamide (BIS), ont également été synthétisés.<sup>170</sup> Les microgels se gonflent d'eau lorsqu'ils sont en solution à une température inférieure à 33 °C, et se contractent en rejetant l'eau retenue aux températures supérieures à 33 °C. Les auteurs ont montré que les émulsions de Pickering stabilisées par ces particules résistent à des contraintes grâce à la déformabilité des microgels, conditionnée par le degré de réticulation apporté par le BIS.<sup>171</sup> Le PNIPAM a également été greffé sur des nanocristaux de cellulose (CNCs) et donne des émulsions très stables, et permet une déstabilisation rapide au-delà de la LCST.<sup>172</sup>

A notre connaissance, les polymères UCST ne sont pas utilisés pour former des émulsions de Pickering spécifiquement pour apporter des propriétés thermosensibles. Pourtant, leurs formes précipitées à température ambiante et soluble après l'UCST en font des candidats intéressants pour obtenir des émulsions de Pickering, même greffés à d'autres particules.

La température étant une variable intensive, les systèmes thermosensibles présentent donc de nombreux avantages. Elle peut être modulée dans un système sans avoir à changer la composition ou le volume de celui-ci. Cet avantage s'avère notamment très utile pour des systèmes catalytiques en émulsion de Pickering, où les réactifs en présence subissent des cycles répétés. La mise en application de tels systèmes en catalyse reste cependant compliquée, puisque les réactions de catalyses ont souvent lieu à des températures élevées. Ce contrôle de la température du système soulève le problème de l'énergie nécessaire à son utilisation. On imagine que pour des systèmes de volume très importants, l'énergie requise pour chauffer et refroidir l'ensemble est importante. Il est donc plus judicieux de développer des systèmes avec des émulsifiants de Pickering conçus pour répondre à des températures proches des conditions ambiantes, afin de réduire les besoins énergétiques.

### 1.3 – Polymères stimuli-sensibles

De nombreux autres stimuli sont possibles avec d'autres particules spécifiques. Ainsi, des particules sensibles au champ magnétique sont fabriquées, propriété généralement apportée par des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ou Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> qui, après l'application d'un champ magnétique, déstabilisent les émulsions en arrachant les particules de l'interface.<sup>173</sup> On a également pu observer l'émergence de particules sensibles aux rayons lumineux grâce à l'introduction de molécules photochromiques qui subissent un changement de conformation en réponse à la lumière UV ou visible.<sup>174</sup> Enfin, des systèmes sensibles à la concentration en sels ont été développés. Les particules utilisées sont hydrophiles et fortement ionisées, l'introduction d'un contre ion grâce au sel va écranter les charges et faire perdre l'hydrophilie des particules. Une simple dilution du système pour diminuer la concentration en sel permet la redispersion en phase aqueuse.<sup>175</sup>

Étant donné la multitude existante de molécules et polymères sensibles aux stimuli et des méthodes de préparation et de traitement uniques pour chaque molécule ou polymère, une vaste gamme de systèmes peut être explorée. Quelques exemples sont donnés dans le **Tableau 2.1**.

**Tableau 2.1** : Exemples de systèmes d'émulsions de Pickering stimuli-sensibles

Stimuli	Particules	Modificateurs	Réf.
pH, Temp.	Microgels de P(NIPAM-MAA)		176–180
pH, Temp	Nanocristaux de cellulose	Greffage de PDMAEMA	181
pH, Magnétique	Nanoparticules de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Greffage de PDMAEMA	182
Temp, Magnétique	Microgels de PNIPAM	Introduction de NPs de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	183
Lumière, Magnétique	Nanoparticules de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Coadsorption de TiO <sub>2</sub>	184
CO <sub>2</sub> , Rédox	Nanoparticules de silice	Greffage de 11-(benzylselanyl)-N,N-diméthylundecan-1-amine	185
Temp, Lumière, chlorure d'amantadine	PNIPAM-β-CD	Complexe d'inclusion avec P4VP-azobenzène	10

#### 1.4 – Cas particulier : Les Émulgels

Il convient de définir les émulgels pour être capable de les comparer avec le système à base de LPEI qui sera développé en 3<sup>e</sup> partie de ce chapitre.

Lorsque le gel et l'émulsion sont utilisés sous forme combinée, ils sont appelés « émulgels ».<sup>186</sup> Par exemple, on peut obtenir des gouttelettes d'huile séquestrées dans une matrice hydrogel. Ces systèmes présentent de nombreux avantages comme la thixotropie, l'absence d'un ressenti huileux, facilement étalable, émollient, qui ne tache pas, bio-compatible, d'un aspect agréable, transparent, et qui présente une bonne pénétration cutanée (pour des applications pharmaceutiques et cosmétiques) et une longue durée de conservation du fait de leur état « figé ». En effet, l'immobilisation de la phase continue restreint le mouvement de la phase dispersée et prévient donc la coalescence des gouttelettes. La stabilité des émulgels est donc bien supérieure à celle des émulsions classiques. Classiquement, les émulgels sont préparés en gélifiant une émulsion, l'émulsion et le gel sont préparés séparément et mélangés ensemble. Ainsi, pour préparer l'émulsion, la phase aqueuse et la phase huileuse sont mélangées ensemble en présence de tensioactifs. Ensuite, le gel est préparé en utilisant un agent gélifiant (*e.g.* Carbopol 934, hydroxypropylméthylcellulose, *etc.*).<sup>187</sup> Après avoir préparé le gel et l'émulsion, ils sont mélangés sous agitation douce. Les émulgels ont d'abord été développés pour des usages en pharmacologie cutanée, en solution à l'introduction de matières actives hydrophobes qui n'est pas possible *via* de simples gels aqueux. Ainsi, des préparations pharmaceutiques de type émulgels sont déjà disponibles dans le commerce : Voltaren® émulgel (diclofénac) ou encore Miconaz-H émulgel (nitrate de

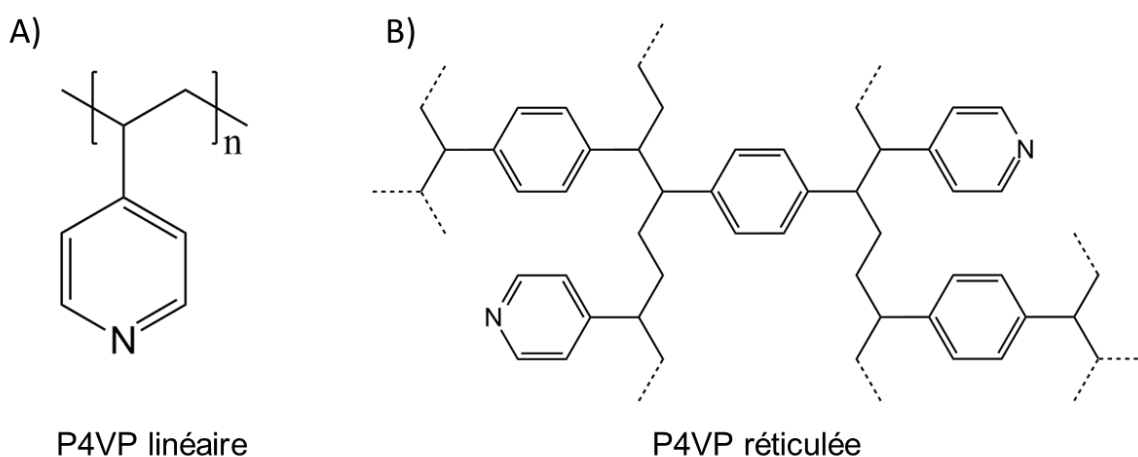
miconazole et hydrocortisone). Ils sont aujourd'hui également utilisés en cosmétique ainsi qu'en agroalimentaire.<sup>188,189</sup> Bien évidemment, ce type de préparations nécessite plusieurs étapes, mais laisse entrevoir une simplification si l'on arrive à trouver de nouveaux polymères avec des fonctions complexes et qui agissent à la fois comme émulsifiant et comme épaississant de la phase externe (généralement, la phase aqueuse).

Evidemment, des émulgels de Pickering ont fait leur apparition très récemment.<sup>190,191</sup> Des émulgels de Pickering à base de glycine de soja ou encore de NPs de gliadine (protéine de blé), et ont notamment montré que ces systèmes permettent le relargage de matières actives ou de compléments alimentaires comme le  $\beta$ -carotène beaucoup plus lent dans le temps qu'avec des émulsions de Pickering classiques.<sup>192</sup> Ils s'avèrent donc être des systèmes novateurs stables, efficaces et biocompatibles pour la libération contrôlée d'actifs. Des émulgels de Pickering ont également servi à l'élaboration de nanocomposites pour l'impression 3D.<sup>193</sup>

## II] Émulsions stabilisées par des nanoparticules de poly(4-vinylpyridine) ou P4VP

### II.1 – La poly(4-vinylpyridine) : un polymère ionisable

La poly(4-vinylpyridine) est une base solide non-nucléophile couramment utilisée comme capteur de protons lors des réactions organiques produisant des ions  $H^+$ , permettant ainsi d'éviter les réactions secondaires acides. La P4VP remplace les composés pyridiniques liquides tels que la 2,6-lutidine pour des applications plus sûres et plus écologiques.<sup>194</sup> Cependant, la P4VP reste soluble ce qui limite donc ces applications en synthèse mais leur réticulation avec le divinylbenzène (**Figure 2.5**), l'éthylène diméthacrylate ou encore du divinylpyridine permet de faciliter la séparation de l'espèce une fois protonnée.<sup>195–198</sup>



**Figure 2.5 :** Structures chimiques des poly(4-vinylpyridine) disponibles commercialement.

Bien que majoritairement utilisée en chimie organique, la P4VP trouve des applications dans de nombreux autres domaines. La capacité de sa fonction pyridine à se protonner lui permet de créer des liaisons hydrogènes avec d'autres molécules et former des complexes afin de faciliter l'électrofilage de polymères,<sup>199</sup> elle est également utilisée comme anti-corrosif,<sup>200</sup>

dépolluant,<sup>201</sup> ou encore comme capteur d'humidité.<sup>202</sup> Mais la P4VP a également montré un intérêt dans le développement d'hydrogels ou de microgels pH-sensibles,<sup>203,204</sup> et des nanoparticules à base de P4VP ont une action antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) et *Escherichia coli* (*E.coli*) entre autres.<sup>205,206</sup>

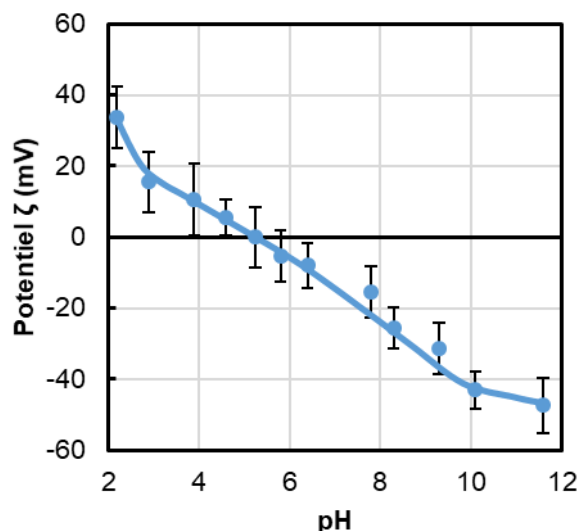
Pour notre étude, la P4VP réticulée à 2 % en DVB, disponible commercialement, sera utilisée. La protonation de la P4VP a été effectuée *via* mise en contact avec différentes solutions aqueuses concentrées en HCl, pour étudier le taux de protonation effectif du polymère par les ions H<sup>+</sup>. L'élaboration d'émulsions de Pickering à base des particules obtenues a ensuite été étudiée. Les phénomènes en jeu et les mécanismes de stabilisation ont par la suite été analysés via la caractérisation physicochimique des particules et des émulsions. Enfin, la sensibilité au pH du polymère a été mise à contribution pour l'obtention d'émulsions de Pickering recyclables et réutilisables.

## II.2 – Préparation des nanoparticules de P4VPH<sup>+</sup>

L'échantillon commercial de P4VP 2 % DVB se présente sous forme de poudre blanche. Des tests préliminaires de solubilité ont été réalisés dans différents solvants, et ont montré que la résine est insoluble dans tous les solvants testés, polaires ou apolaires (Toluène, dichlorométhane, méthyltetrahydrofurane, acétonitrile, acide benzoïque, éthanol et eau). Dans le but d'utiliser les particules pour produire des émulsions de Pickering, il est préférable que la résine ait un diamètre aussi petit que possible. Ainsi, une première étape de cryobroyage est réalisée sur les particules. Une fois la poudre récupérée, on procède à l'étape de protonation de la P4VP en mélangeant la poudre avec des solutions aqueuses concentrées en HCl. Les particules sont ensuite nettoyées et séchées à l'étuve et une dernière étape de cryobroyage est effectuée avant de pouvoir les exploiter.

### II.2.a – Effet du broyage mécanique et de la charge sur la taille

L'étape de protonation des particules fut réalisée aux concentrations suivantes (en mol.L<sup>-1</sup>) : 0,005, 0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,5, 2,0. Des concentrations inférieures en HCl n'ont pas été utilisées, en raison du point isoélectrique de la P4VP, déterminé grâce à des mesures de potentiel zêta (**Figure 2.6**).

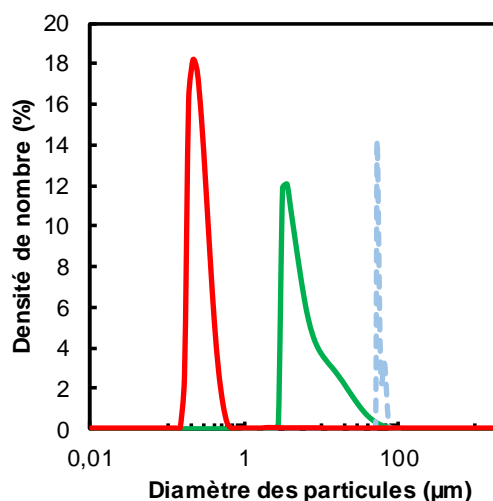


**Figure 2.6 :** Potentiel zêta de la P4VP en fonction du pH. Dispersion de 0,05 %m de P4VP. pH régulé par des ajouts de solutions concentrées en HCl et NaOH.

Le point isoélectrique caractérise le changement d'état du polymère, entre sa forme neutre et sa forme protonée, et est visible pour un potentiel zêta nul. Celui-ci se situe à  $\text{pH} = 5,1$ , ce qui signifie que la P4VP ne peut pas être protonée au-delà de cette valeur. Cette valeur est en adéquation avec les valeurs de  $\text{pK}_a$  de la 4-vinylpyridine (5,62)<sup>207</sup> et de la P4VP (environ 5)<sup>208</sup>. Il est tout de même surprenant que lorsque l'on continue d'augmenter le pH, la valeur du potentiel zêta continue de diminuer, alors que le polymère n'est plus chargé. En effet, comme le potentiel zêta est régi par la chimie de surface mais également par le milieu environnant, la charge négative de la surface provient probablement de l'adsorption des ions  $\text{OH}^-$  sur la surface des particules de P4VP.

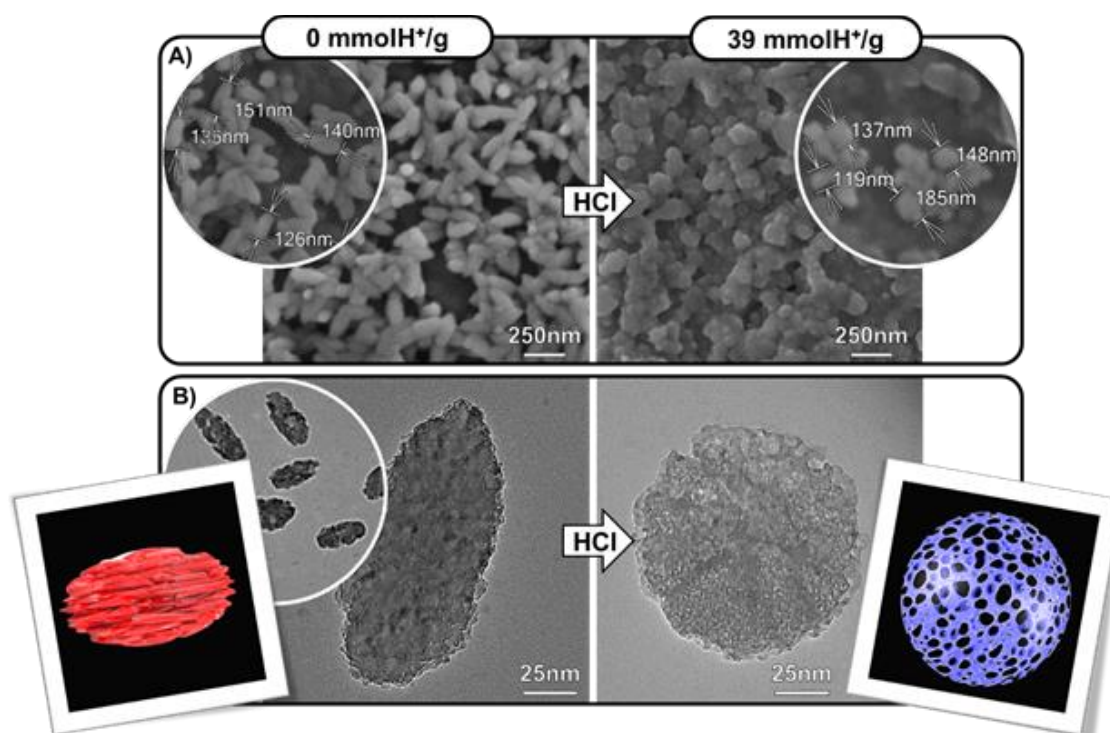
La nomenclature suivante sera adoptée pour les particules de P4VP protonées :  $\text{P4VP}^+ \text{H}^+$  0,01 si elle a été mise en contact avec une solution aqueuse de HCl concentrée à 0,01 M. L'impact des étapes de cryo-broyage avant et après protonation a tout d'abord été évalué afin de statuer sur leur nécessité. La fréquence d'agitation est toujours de  $30 \text{ s}^{-1}$ . Premièrement, différents temps de cryo-broyage ont été effectués et des contrôles du diamètre moyen des particules ont été réalisés pour déterminer que les tailles les plus fines de particules étaient obtenues au bout de 30 min de broyage. Augmenter le temps ne permet pas d'obtenir des particules plus fines. Ces paramètres ont été maintenus pour le reste de l'étude. La mesure du diamètre moyen des particules après le processus entier de protonation (**Figure 2.7**) permet d'observer l'effet de la mise en contact avec les solutions concentrées en HCl comparé aux particules natives.





**Figure 2.7 :** Distribution granulométrique des particules réalisées au Mastersizer de particules. — : P4VP Native cryobroyée ; — : P4VPH<sup>+</sup> 0,05 récupérée sans cryo-broyage ; — : P4VPH<sup>+</sup> 0,05 cryo-broyée.

Comme on peut le voir avec l'exemple de la P4VPH<sup>+</sup> 0,05, la deuxième étape de cryo-broyage s'avère bel et bien nécessaire. La P4VPH<sup>+</sup> 0,05 non broyée (courbe bleue pointillée) et broyée (courbe rouge) ont des diamètres moyens totalement différents, avec un diamètre moyen de 52 µm non broyée et de seulement 250 nm une fois broyée, soit des tailles environ 200 fois plus petites. De même, l'étape de protonation permet de diviser la taille des particules natives d'un facteur 12. Ces mesures ont été effectuées dans l'eau, la P4VP, plutôt hydrophobe, a donc tendance à s'agréger dans ce solvant et donner des tailles plus larges que ce qu'il en est en réalité. Il n'est donc pas possible de comparer directement les particules natives et protonées car le diamètre est influencé par le solvant utilisé. Une dispersion de P4VP dans un mélange Eau/EtOH 50/50 a permis de mesurer des tailles beaucoup plus fines de 300 nm, et 4 µm dans l'heptane. Tandis que les particules protonées étaient proches de 250 nm dans l'eau, 255 nm dans une solution Eau/EtOH 50/50, et 3 µm dans l'heptane. Ce comportement est également lié à la capacité de gonflement des particules dans un solvant spécifique. En effet, la réticulation avec la DVB empêche la solubilisation mais pas la solvatation des chaînes de P4VP. La taille des particules est donc surestimée, que ce soit en granulométrie laser, ou en DLS. Pour mieux comprendre la morphologie structurale des particules de P4VP et de P4VPH<sup>+</sup>, y compris leur taille, des images de microscopie électronique à balayage et à transmission (MEB et MET, respectivement) ont été réalisées (Figure 2.8).



**Figure 2.8 :** Images MEB (A) et MET (B) montrant l'effet de la protonation des particules de P4VP observées après l'évaporation de l'eau par séchage à l'air. Les encarts montrent l'interprétation des images au MET.

La première chose que l'on remarque, c'est que la forme géométrique des particules est affectée par la protonation. En effet, les billes de P4VPH<sup>+</sup> sont polydisperses et ont une forme sphérique avec un diamètre moyen de  $147 \pm 29$  nm, peu importe leur acidité. A l'inverse, les particules natives semblent plus monodisperses et ont une forme ellipsoïdale avec des diamètres allant de  $60 \pm 12$  à  $138 \pm 11$  nm, avec un rapport d'aspect (longueur/largeur) de 2,3. De plus, les microstructures, observées au microscope électronique à transmission (MET), sont également affectées par la protonation. En effet, les particules protonées de P4VP ont une morphologie amorphe de type éponge alors que les particules natives présentent une structure « à facettes » en raison de la présence de domaines cristallins ou pseudo-cristallins (Voir **Figure 2.8.B**). Cette observation peut être liée aux interactions d'empilement entre les anneaux aromatiques de P4VP conduisant à des régions ordonnées. En revanche, les répulsions électrostatiques entre les cycles pyridinium conduisent à une structure poreuse et amorphe (c'est-à-dire une texture de microgel).

Afin de proprement comparer les deux particules de formes différentes, il convient de rapporter les particules de forme ellipsoïdale à une sphère et de calculer leur diamètre moyen grâce à l'équation suivante<sup>209</sup> :

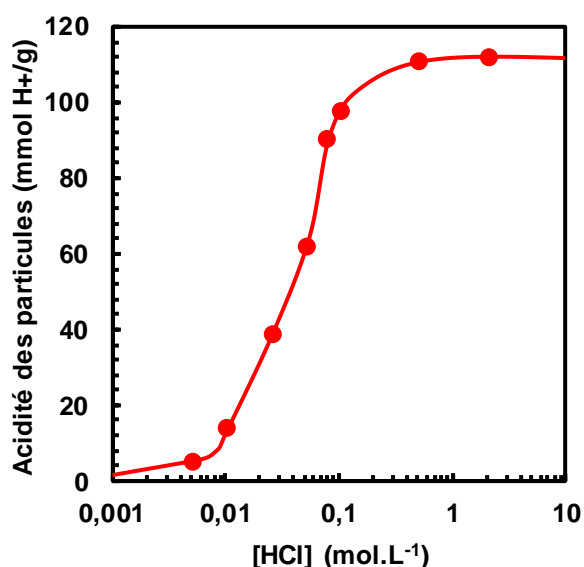
$$D'_{MEB} = 1,55 \times A^{0,625} / P^{0,25} \quad (\text{Eq.2.1})$$

A est l'aire et P est le périmètre de chaque particule obtenue à partir des images MEB en utilisant le logiciel ImageJ. Le  $D'_{MEB}$  des particules natives est d'environ  $88 \pm 13$  nm. La

modification de morphologie est cohérente en raison de l'augmentation des répulsions électrostatiques due à la majorité des groupements pyridiniums présents après l'acidification. En effet, les P4VPH<sup>+</sup> linéaires sont connues pour avoir une morphologie ouverte comparée à la P4VP linéaire neutre afin de minimiser l'effet des répulsions électrostatiques.<sup>210</sup> De plus, on remarque que l'augmentation importante de la taille entre la P4VP et P4VPH<sup>+</sup> (de  $88 \pm 13$  à  $147 \pm 29$  nm respectivement), nous pouvons supposer que les molécules d'eau interagissent beaucoup avec les groupements pyridiniums, écrantant par la même occasion les répulsions électrostatiques, et promouvant le changement de morphologie des particules. Ces molécules d'eau participent donc directement à l'organisation structurale des particules de P4VPH<sup>+</sup>.

### II.2.b – Taux de protonation

Directement après cette étape de protonation, on remarque que la dispersion des particules entre le premier moment et la fin des 4 heures d'agitation est très différente. En effet, la résine native sédimente très rapidement une fois plongée dans la solution tandis qu'au bout de 4 heures, la sédimentation est plus lente, la vitesse de celle-ci dépend de la concentration en HCl avec laquelle la poudre a été mise en contact. La concentration de la solution a eu un impact sur la protonation des particules. Pour le quantifier, des dosages acide-base des particules ont été réalisés. Pour cela, Les particules ont été dispersées dans l'eau distillée contenant 0,5 M de NaCl, et mélangées une nuit pour s'assurer de la dissociation des sites acides, et dosées par des solutions aqueuses de NaOH. Le taux de protonation des particules en fonction de la concentration en HCl utilisée pour la mise en contact est montré sur la **Figure 2.9**.



**Figure 2.9 :** Taux de protonation ou acidité de la P4VP native et des différentes particules de P4VPH<sup>+</sup> en fonction de [HCl] utilisée pour la synthèse (4 h, 500 rpm, 25 °C). Acidité déterminée par titrage au NaOH après dispersion des particules dans une solution aqueuse de NaCl 0,5 M agitée pendant une nuit à 500 rpm.

Après une augmentation exponentielle, le taux de protonation de la P4VP atteint un maximum de  $112 \text{ mmolH}^+/\text{g}$  à partir d'une solution à  $[\text{HCl}] = 0,5 \text{ M}$ . Cela signifie que même si les ions  $\text{H}^+$  sont toujours disponibles en solution, ils ne protonent plus la pyridine en unité pyridinium. Cela peut avoir deux significations. Soit le polymère est entièrement protoné, ce qui signifie que toutes les fonctions pyridines sont maintenant en forme pyridinium, soit le polymère ne peut pas être plus protoné que cela, laissant certaines fonctions pyridines neutres, inaccessibles en raison de la réticulation. Il faut garder à l'esprit que ces valeurs dépendent également du temps de contact fixé (4 h). En effet, un temps de contact plus court conduit à des taux de protonation plus faibles, inversement pour des temps plus longs où la protonation maximale pourrait être atteinte pour des  $[\text{HCl}]$  plus faibles.

### II.3 – Caractérisations physicochimiques des nanoparticules de P4VP

#### II.3.a – Structure des nanoparticules et stabilité à la température

Pour observer les changements structuraux de la P4VP à la P4VPH<sup>+</sup> obtenue après le processus de protonation, des analyses infrarouges à transformée de Fourier (FTIR) et thermogravimétrie (Figure 2.10) respectivement ont été réalisées.

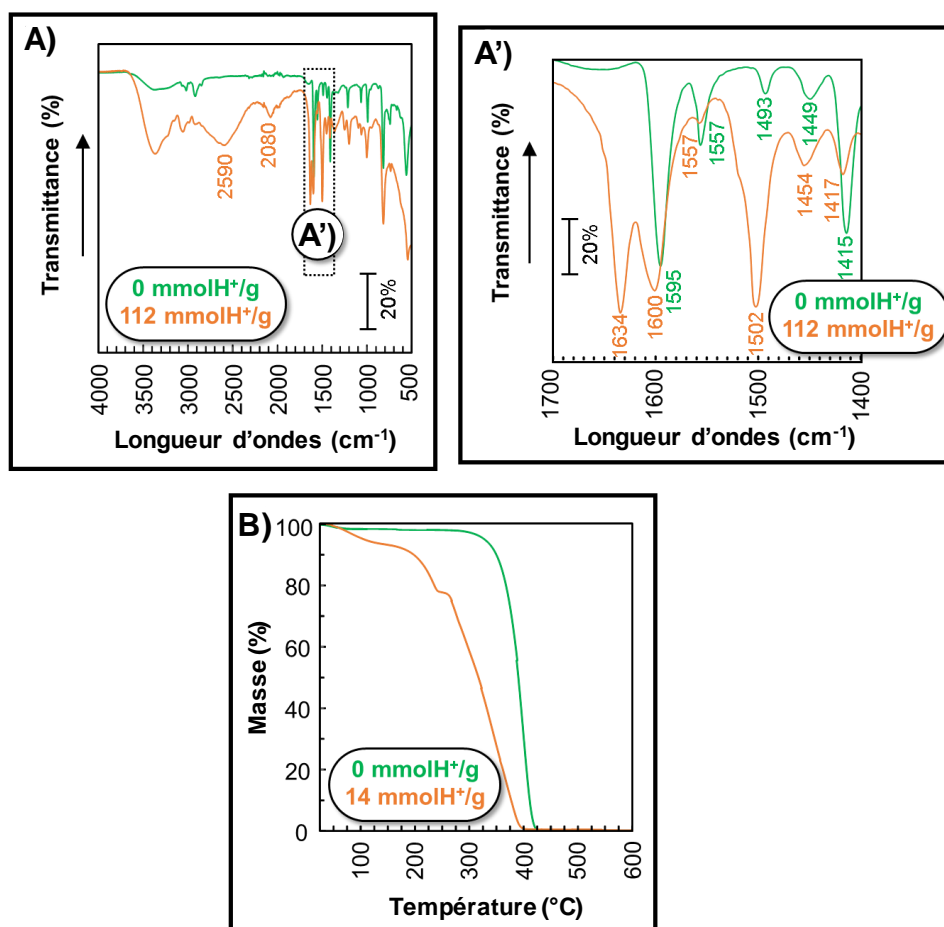
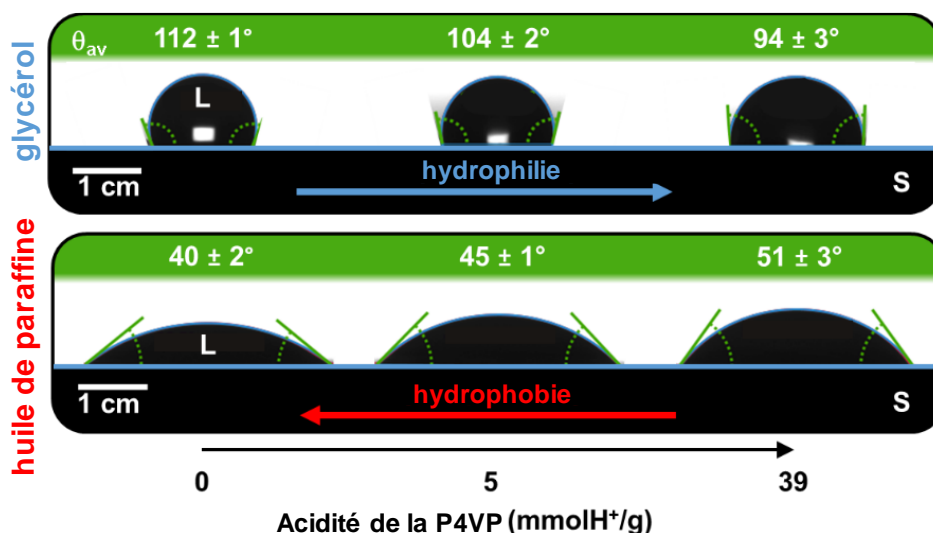


Figure 2.10 : A) Spectres infrarouge et B) courbes thermogravimétriques de la P4VP et de la P4VPH<sup>+</sup>.

Les spectres IR montrent bien l'interaction entre l'acide chlorhydrique et les particules de P4VP. En effet, la présence du cycle pyridinium augmente le nombre de modes vibrationnels et entraîne des spectres FTIR très différents en raison du changement des constantes de forces avec la protonation.<sup>211</sup> Les vibrations de valence C-H de la chaîne polymère et des groupes latéraux apparaissent dans la région 3200 - 2700  $\text{cm}^{-1}$  et ne subissent pratiquement aucune modification avec la protonation. À l'inverse, dans la région 2700 - 2000  $\text{cm}^{-1}$ , l'apparition de larges pics près de 2080 et 2590  $\text{cm}^{-1}$  est observée pour P4VPH<sup>+</sup> en raison des vibrations de valence N<sup>+</sup>-H des résidus pyridiniums. Les vibrations de valence des cycles pyridines ou pyridiniums apparaissent dans la région 2000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ . Par exemple, les pics près de 1595, 1557, 1493, 1449 et 1415  $\text{cm}^{-1}$  correspondent aux vibrations d'étirement de l'anneau pyridine de la P4VP. Les fréquences de ces bandes sont déplacées avec la protonation : 1600, 1557 (presque disparue), 1502, 1454, 1417  $\text{cm}^{-1}$  et la bande à 1634  $\text{cm}^{-1}$  est apparue, indiquant que les cycles pyridines ont été protonés avec succès. Les courbes thermogravimétriques montrent également des modifications claires entre les formes natives et protonées. Elles confirment les observations faites grâce aux images MEB. En effet, la perte de masse de la P4VP et P4VPH<sup>+</sup> augmente progressivement jusque 150 °C en raison de la perte de molécules d'eau (perte de 2 et 8 % pour P4VP et P4VPH<sup>+</sup>, respectivement). De 250 à environ 450 °C, les particules de P4VP et P4VPH<sup>+</sup> montrent une perte de masse plus marquée, correspondant à la dégradation des matériaux, même si elle est retardée pour les particules natives. Cependant on remarque une perte de masse supplémentaire bien définie de 15 % entre 150 et 250 °C, attribuée à une élimination des molécules d'eau internes situées dans les espaces créés par les répulsions entre les résidus pyridiniums. Cette observation soutient la présence de molécules d'eau interstitielles et structurales à l'intérieur des particules de P4VPH<sup>+</sup> qui empêchent la formation d'ellipsoïdes creux et leur effondrement. Par conséquent, les répulsions des groupements pyridiniums, associées aux molécules d'eau interstitielles, favorisent le gonflement de l'ellipsoïde de P4VP en une forme sphérique lors de l'acidification.

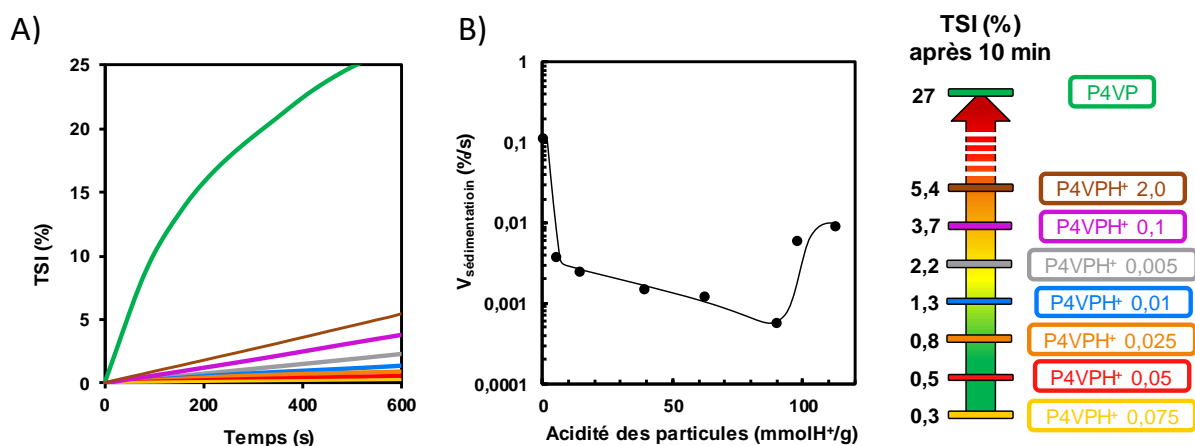
### II.3.b – Mouillabilité et dispersion en solution aqueuse

Comme la protonation modifie « l'hydrophobie » des particules de P4VP, les angles de contact solide/liquide ( $\theta$ ) ont été mesurés après l'étalement d'un liquide sur un substrat solide (ici, des particules compressées). Cela donne généralement une très bonne indication de l'hydrophobie des particules. En effet, si le solvant d'essai est l'eau, on a des particules hydrophiles et hydrophobes pour  $\theta < 90^\circ$  et  $\theta > 90^\circ$ , respectivement. L'inverse se vérifie avec des solvants organiques (par exemple le n-heptane). Toutefois, les angles de contact ne sont pas facilement mesurables avec l'eau et l'heptane, en raison de leur pénétration dans la structure interne des particules, ce qui confirme la capacité de gonflement des particules mentionnée plus tôt. Afin de pallier ce problème, les  $\theta$  ont été déterminés avec des solvants plus visqueux tels que le glycérol et l'huile de paraffine (solvants hydrophiles et hydrophobes, voir **Figure 2.11**). Comme prévu, la P4VP native est plus hydrophobe ( $112 \pm 1^\circ$  et  $40 \pm 2^\circ$  pour le glycérol et l'huile de paraffine, respectivement) que les particules protonées. En outre, « l'hydrophilie » augmente avec le degré de protonation (**Figure 2.11**).



**Figure 2.11** : Photographies de gouttes de glycérol et d'huile de paraffine (L) déposées sur des particules de P4VP compressées (S) en fonction de la protonation et angles de contact moyens ( $\theta_{av}$ ) après au moins 3 mesures.

Cependant, la compression des particules peut provoquer un changement de structure moléculaire qui modifie également les propriétés physicochimiques, rendant la mesure de  $\theta$  peu fiable. D'autres mesures, comme le test de Washburn, sont très bonnes mais nécessitent une très grande quantité de produit. Ainsi, une autre méthode pour quantifier et comparer les particules est étudiée, via la stabilité de la dispersion de celles-ci dans l'eau (**Figure 2.12**).



**Figure 2.12** : A) Indice de stabilité Turbiscan® (TSI) en fonction du temps pour les particules P4VP et P4VPH<sup>+</sup>. B) Vitesse de sédimentation des particules en fonction de l'acidité. Le TSI après 10 minutes d'analyse des dispersions est indiqué sur la flèche. 0,01 %m de particules dans l'eau dispersées avec une sonde ultrasonique à 30 % d'amplitude et 50 % d'impulsion pendant 2 min dans un bain thermo régulé. Échantillons analysés dans un Turbiscan® toutes les 25 secondes.

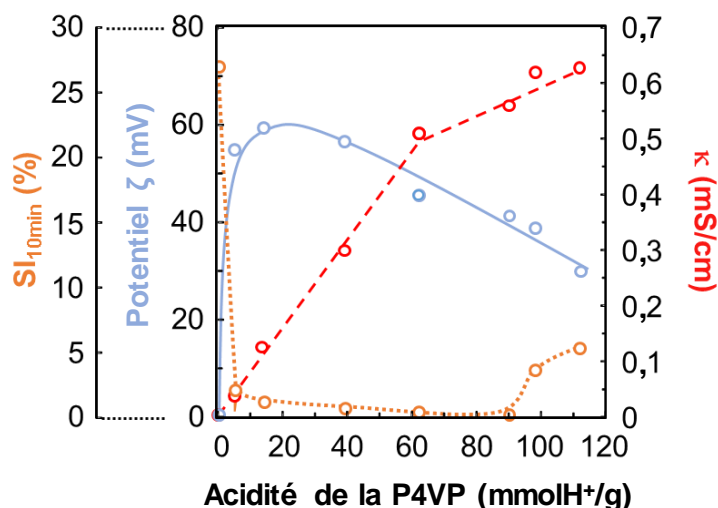
La vitesse de sédimentation, obtenue à partir de la tangente à l'origine de chaque courbe de déstabilisation à partir du Turbiscan® (**Figure 2.12.A**), est représentée en fonction de l'acidité des particules étudiées (**Figure 2.12.B**), déterminée en **section II.2.b** – Taux de protonation. Lorsque l'acidité augmente, la vitesse de sédimentation est d'abord divisée par un

facteur 100 entre la P4VP et la P4VPH<sup>+</sup> 0,005, puis la vitesse de sédimentation continue de diminuer jusqu'à une acidité de 90 mmolH<sup>+</sup>/g (P4VPH<sup>+</sup> 0,075) et augmente à nouveau jusqu'aux particules les plus protonées. Comme mentionné ci-dessus, les résultats confirment que l'augmentation de l'acidité des particules augmente l'hydrophilie globale du polymère, par liaisons hydrogène avec l'eau en plus des répulsions électrostatiques interparticules. En effet, le fait que les particules sédimentent beaucoup plus lentement montre plus d'interactions entre le solvant et la particule, leur permettant de rester dispersées plus longtemps. Cependant, il est intéressant de noter qu'après une certaine valeur de taux de protonation (90 mmolH<sup>+</sup>/g), les particules sédimentent plus rapidement. Ceci est dû à un phénomène d'agrégation des particules, le poids de ces agrégats ne leur permet pas de rester dispersées dans l'eau. Ceci est vérifié par les mesures de potentiel zêta des particules présentées dans le **Tableau 2.2**, avec les autres caractérisations effectuées, qui diminue à partir de P4VPH<sup>+</sup> 0,05.

*Tableau 2.2 : Caractérisations des particules de P4VP et P4VPH<sup>+</sup>.*

Particules	Dn(50) (nm)	Acidité des particules (mmolH <sup>+</sup> /g)	[H <sup>+</sup> ] libérée dans H <sub>2</sub> O à 1 %m (mol.L <sup>-1</sup> )	Potentiel Zêta (mV)	Conductivité dans l'eau (mS/cm)
P4VP Native	305	0	0	0	0
P4VPH <sup>+</sup> 0,005	244	5	1,1 E <sup>-4</sup>	54,9	0,04
P4VPH <sup>+</sup> 0,01	266	14	2,0 E <sup>-4</sup>	59,5	0,13
P4VPH <sup>+</sup> 0,025	251	39	2,5 E <sup>-4</sup>	56,7	0,30
P4VPH <sup>+</sup> 0,05	265	62	1,0 E <sup>-3</sup>	41,6	0,51
P4VPH <sup>+</sup> 0,075	227	90	1,2 E <sup>-3</sup>	41,4	0,56
P4VPH <sup>+</sup> 0,1	255	98	2,3 E <sup>-3</sup>	39,8	0,62
P4VPH <sup>+</sup> 0,5	263	111	2,7 E <sup>-3</sup>	30,5	0,63
P4VPH <sup>+</sup> 2,0	248	112	3,0 E <sup>-3</sup>	30	0,63

Lorsque l'on trace le potentiel zêta et la conductivité des particules de P4VP en fonction de leur acidité (**Figure 2.13**), on remarque que comme attendu, le potentiel zêta de toutes les particules de P4VPH<sup>+</sup> est positif allant de +60 mV à +30 mV. Cependant et étonnamment, il diminue avec l'augmentation de l'acidité. Cette diminution peut être expliquée par une augmentation du nombre d'ions chlorures adsorbés sur les particules. Cette hypothèse est supportée par les résultats des conductivités. En effet, la conductivité augmente avec l'acidité des particules de P4VP avec une certaine pente. Mais on remarque un changement de pente à une valeur critique d'acidité de P4VPH<sup>+</sup> ( $C_c = 62$  mmolH<sup>+</sup>/g).



**Figure 2.13** : Conductivité ( $\kappa$ , D.S.  $\pm 2$  %), potentiel  $\zeta$  (D.S.  $\pm 10$  %) et Indice de stabilité après 10 min ( $SI_{10min}$ ) des dispersions aqueuses en fonction de l'acidité des particules de P4VP (0,05 %m dans l'eau distillée, D.S.  $\pm 6$  %). La courbe rouge pointillée a été calculée en utilisant les équations 2.3 (valeurs optimisées :  $\alpha^+ = 0,2$  %,  $\alpha_1^- = 20$  %, et  $\alpha_2^- = 6$  %).

D'un point de vue général, la conductivité des particules de P4VPH<sup>+</sup> peut être exprimée comme la somme des contributions des composés chargés tel que :

$$\kappa = \sum_i C_i \Lambda_i \quad (\text{Eq.2.2})$$

Où  $C_i$  et  $\Lambda_i$  sont la concentration et la conductivité spécifiques du  $i^{\text{ème}}$  composé (avec  $i =$  particules P4VPH<sup>+</sup> ou les HCl libres venant de la dissociation des particules). Comme les particules de P4VPH<sup>+</sup> sont bien plus larges que les HCl libres, on peut supposer que les particules chargées ne contribuent pas à la conductivité. Comme un changement de pente est observé au point de rupture précédemment défini, nous pouvons supposer que la concentration libre de H<sup>+</sup> et de Cl<sup>-</sup> varie en dessous et au-dessus de l'acidité critique de P4VPH<sup>+</sup>. En prenant compte de toutes ces considérations, un modèle d'ajustement de la courbe de conductivité peut être exprimé par la série d'équations suivante :

$$\kappa = \begin{cases} \alpha^+ \lambda^+ C^+ + \alpha_1^- \lambda^- C^-, & C^- \leq C_c^- \\ \alpha^+ \lambda^+ C^+ + \alpha_1^- \lambda^- C_c^- + \alpha_2^- \lambda^- (C^- - C_c^-), & C^- > C_c^- \end{cases} \quad (\text{Eq.2.3})$$

Où  $\alpha^+$ ,  $\alpha^-$  et  $\alpha_2^-$  sont les degrés de dissociation de H<sup>+</sup>, et Cl<sup>-</sup> en dessous et au-dessus de  $C_c$ , respectivement,  $\lambda^+$  et  $\lambda^-$  sont les conductivités molaires ioniques limitantes de H<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (349,8 et 76,3 mS/cm/M, respectivement),<sup>212</sup>  $C^+$  et  $C^-$  sont les concentrations totales de H<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (en supposant une ionisation complète des particules de P4VPH<sup>+</sup>,  $C^+ = C^-$ ), et  $C_c^-$  est la concentration totale en chlorure à l'acidité critique de P4VPH<sup>+</sup> (3,1 mM pour  $C_c = 62$  mmolH<sup>+</sup>/g). Pour chaque particule de P4VPH<sup>+</sup> (dont seule l'acidité varie), le  $\alpha^+$  expérimental peut facilement être estimé comme le ratio entre [H<sup>+</sup>] relargué par les particules dispersées dans l'eau et  $C^+$ . La valeur de  $\alpha^+$  obtenue se trouve être totalement indépendante de l'acidité des particules de P4VPH<sup>+</sup> (0,2  $\pm$  0,1 %). Il est maintenant possible d'ajuster les données expérimentales de conductivité en



dessous et au-dessus de  $C_C$  avec les constantes appropriées (c'est-à-dire  $\alpha_1^-$  et  $\alpha_2^-$ ) en utilisant les équations (Eq.2.3). La courbe de conductivité peut être bien ajustée en utilisant le modèle et les constantes  $\alpha_1^-$  et  $\alpha_2^-$  peuvent être estimées à 20 et 6 % respectivement ( $R^2 = 0,9975$ , Figure 2.13). Ainsi, nous pouvons prédire que les particules ayant les valeurs de potentiel zêta les plus élevées (c'est-à-dire pour une acidité de P4VP < 90 mmolH<sup>+</sup>/g) présenteront des répulsions électrostatiques plus importantes empêchant l'agrégation des particules et conduisant à des émulsions de Pickering stables.

#### II.4 – Elaboration et caractérisations des émulsions à base de P4VPH<sup>+</sup>

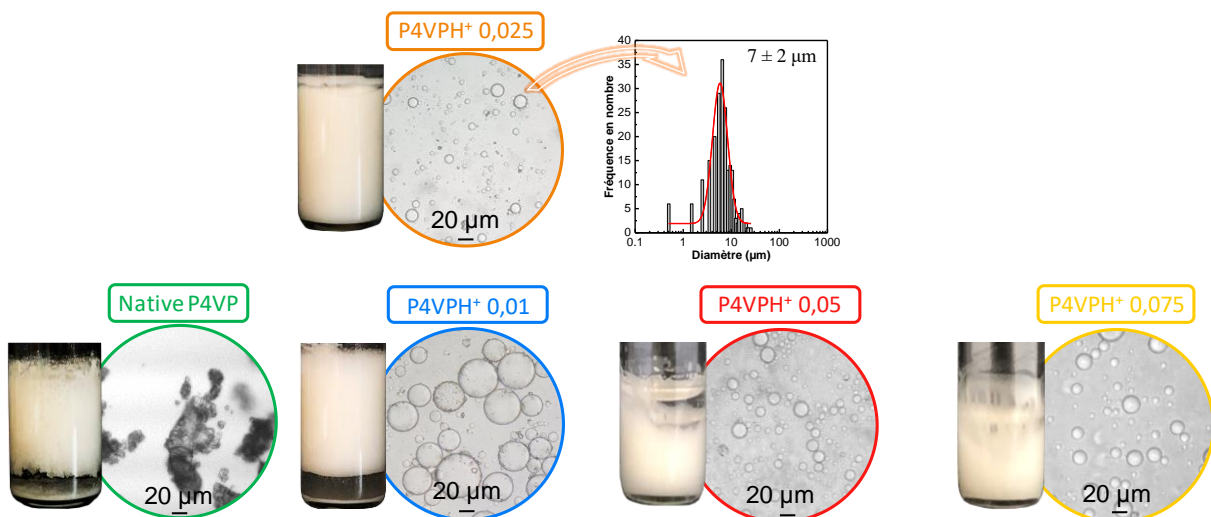
Après avoir synthétisé et caractérisé les particules de par leurs propriétés structurales et physicochimiques, la formation d'émulsions de Pickering a été étudiée entre l'eau et l'heptane, choisi comme solvant modèle.

##### II.4.a – Composition et procédé d'émulsification

Ainsi, 5 %m de particules ont été introduits dans un mélange eau/huile à un ratio eau/huile de 1 (50 % d'eau et 50 % d'huile). Les échantillons ont été émulsionnés avec un Ultraturrax à 11500 rpm pendant 1 minute à température ambiante.

##### II.4.b – Caractérisations physicochimiques

L'observation visuelle, au microscope, et la distribution de taille des mélanges et des émulsions obtenues, sont présentées dans la Figure 2.14.



**Figure 2.14** : Photographies et microphotographies des systèmes P4VP/eau/huile et P4VPH<sup>+</sup>/eau/huile et distribution granulométrique des gouttelettes contenant la P4VPH<sup>+</sup> 0,025 (5/47,5/47,5 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C)

Comme on pouvait s'y attendre, chaque type de particules n'a pas permis la stabilisation d'une émulsion de Pickering. De la P4VP à la P4VPH<sup>+</sup> 0,005, une phase blanche, grossière et hétérogène apparaît au centre de l'échantillon avec des phases d'huile et d'eau au-dessus et en-dessous de cette phase blanche, respectivement. L'observation microscopique de ces

phases montre qu'aucune gouttelette n'est présente dans cette phase, uniquement des particules agrégées, qui semblent être solvatées.

En revanche, pour P4VPH<sup>+</sup> 0,01, P4VPH<sup>+</sup> 0,025, P4VPH<sup>+</sup> 0,05 et P4VPH<sup>+</sup> 0,075, des phases blanchâtres apparaissent également, plus homogènes et régulières. Des observations microscopiques ont démontré la formation d'émulsions de Pickering par la présence de gouttelettes dans ces phases, avec des particules visibles à l'interface eau/huile. Des tests de gouttes et des mesures de conductivité électriques ont montré que les émulsions formées sont directes (H/E). Des différences de texture et de comportement sont visuellement observables en raison des différentes tailles moyennes des gouttelettes (respectivement 31, 7, 8 et 7  $\mu\text{m}$ ). La P4VPH<sup>+</sup> 0,01 forme une émulsion crémeuse présentant un excès de phase aqueuse sous l'émulsion et une fine phase huileuse sur le dessus. Les autres émulsions sont pâteuses, beaucoup plus épaisses. L'émulsion formée avec la P4VPH<sup>+</sup> 0,025 est totale (Indice d'émulsion = 1) et ne montre aucun signe de déstabilisation. Pour les deux dernières émulsions, un excès d'huile est visible au-dessus de la phase émulsion, et ce directement après l'émulsification, sans aucune variation ultérieure, ce qui est probablement dû à l'épaisseur de la phase émulsion. Toutes ces informations sont réunies dans le **Tableau 2.3**.

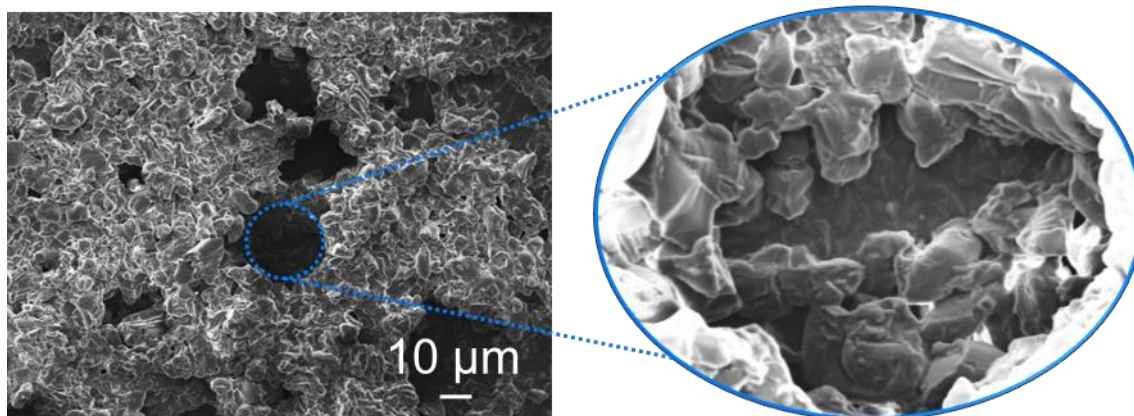
**Tableau 2.3** : Informations générales sur les tests d'émulsion de Pickering avec les particules de P4VP et P4VPH<sup>+</sup>.

Particules	Émulsion obtenue	Texture	$\Phi_{\text{moy}}$ ( $\mu\text{m}$ )	Indice de polydispersité	Indice d'Émulsion (% , $\pm 2$ %)	Stabilité à 60 °C (3 h)
P4VP Native	✗					
P4VPH <sup>+</sup> 0,005	✗					
P4VPH <sup>+</sup> 0,01	✓	Crémeuse	31	0,6	0,84	✓
P4VPH <sup>+</sup> 0,025	✓	Pâteuse	6,7	0,4	1	✓
P4VPH <sup>+</sup> 0,05	✓	Pâteuse	6,2	0,36	0,85	✓
P4VPH <sup>+</sup> 0,075	✓	Pâteuse	6,6	0,36	0,71	✓
P4VPH <sup>+</sup> 0,1	✗					
P4VPH <sup>+</sup> 0,5	✗					
P4VPH <sup>+</sup> 2.0	✗					

En se basant sur les caractérisations effectuées sur les particules (cf. **Tableau 2.2**), on remarque que la P4VPH<sup>+</sup> 0,01, moins hydrophile, forme des émulsions moins stables, en raison d'une adsorption moins importante à l'interface eau/heptane, avec par conséquent des tailles de gouttelettes plus importantes et un relargage de la phase eau. Pour les autres P4VPH<sup>+</sup>, on n'observe plus d'excès d'eau. La P4VPH<sup>+</sup> 0,025 présente donc le meilleur équilibre entre hydrophilie et lipophile. Les P4VPH<sup>+</sup> 0,05 et 0,075, plus protonées, présentent un déséquilibre et libèrent donc plus d'huile. La stabilité des gouttelettes d'huile est également mise en évidence par le potentiel zêta des particules utilisées. En effet, la P4VPH<sup>+</sup> 0,025 possède l'un

des potentiels zêta les plus élevés, permettant une répulsion plus importante des particules situées à l'interface eau/huile, ce qui induit une répulsion entre les gouttelettes et inhibe le phénomène de coalescence. Les P4VPH<sup>+</sup> 0,05 et 0,075, plus hydrophiles et avec un potentiel zêta plus faible, n'ont pas la capacité de retenir cette coalescence avec autant d'efficacité que la P4VPH<sup>+</sup> 0,025.

Afin de mieux comprendre comment se forment les émulsions et de pouvoir les décrire plus précisément, des observations au MEB ont été réalisées (**Figure 2.15**).



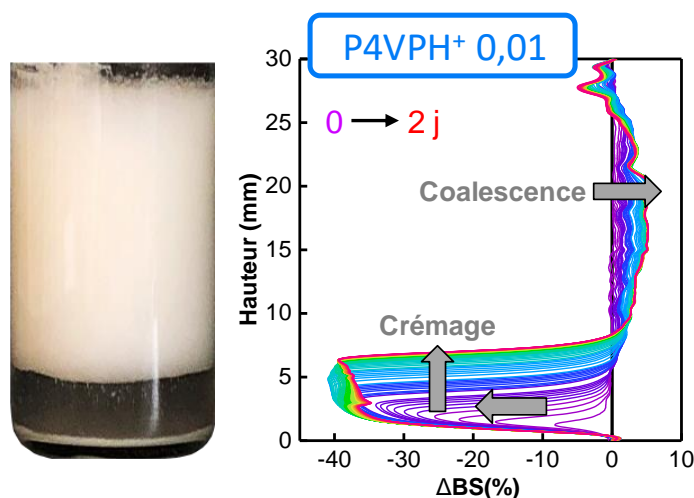
**Figure 2.15** : Images MEB de l'émulsion P4VPH<sup>+</sup>/eau/heptane (5/47,5/47,5 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C).

Une goutte d'émulsion formée avec la P4VPH<sup>+</sup> 0,01 a été déposée sur un scotch de carbone et laissée sécher pour permettre l'évaporation des solvants. La **Figure 2.15** permet d'observer une goutte d'émulsion, où l'on observe les cavités laissées par les gouttelettes d'heptane après évaporation. En regardant l'une de ces cavités de plus près pour observer les particules à l'interface de celle-ci, on remarque une surface plus lisse qu'à l'extérieur, où les particules forment un ensemble plutôt rugueux. Cette configuration signifie que les particules peuvent adopter deux comportements une fois adsorbées à l'interface. Soit elles se solubilisent partiellement à l'interface, soit les chaînes de polymère se déroulent lorsqu'elles sont à l'interface, pour créer cette surface lisse. Même si la barrière physique créée par les particules ne semble pas recouvrir complètement les gouttelettes, la stabilisation se fait également par répulsion électrostatique comme expliqué ci-dessus. Tout cela n'empêche cependant pas le phénomène de coalescence limitée de se produire, comme on peut le voir sur la photo de l'émulsion avec le P4VPH<sup>+</sup> 0,01 (cf. **Figure 2.14**) et la libération d'huile et d'eau.

#### II.4.c – Stabilité des émulsions

Afin de caractériser les phénomènes de déstabilisation se produisant au sein de chaque échantillon, les émulsions ont été passées dans un Turbiscan<sup>®</sup> et analysées via la diffusion multiple de la lumière, qui donne accès aux profils de lumière rétrodiffusée ( $\Delta$ BS) compilés sur la **Figure 2.16**. Leur exploitation peut donner des informations sur la migration et la taille des gouttelettes, ou encore sur l'épaisseur de la phase émulsion. L'évolution du profil de l'échantillon étant assez rapide pendant les premières heures et lente par la suite, comme le

suppose le phénomène de coalescence limitée déjà abordé, l'acquisition des profils a été réalisée fréquemment pendant les premières heures, puis à des temps plus espacés.

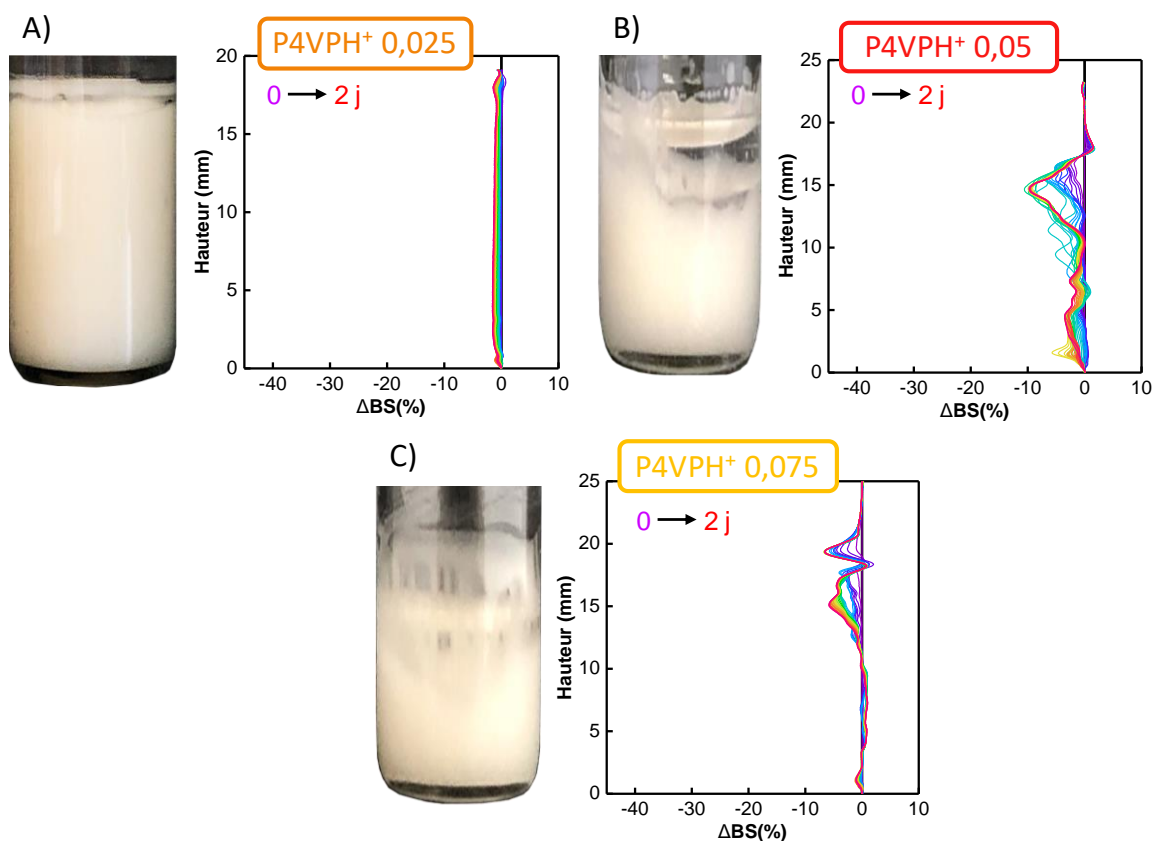


**Figure 2.16** : Rétrodiffusion ( $\Delta BS$ ) en fonction de la hauteur d'échantillon et du temps à 25 °C du système P4VPH<sup>+</sup> 0,01/eau/heptane (5/47,5/47,5 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C) avec une photographie de l'échantillon à la fin du temps d'analyse. Profils générés par analyse Turbiscan® a des intervalles de 10 min à 1 h de 0 (courbe violette) à 48 h (courbe rouge). Les flèches grises expliquent les phénomènes liés à l'évolution des profils en fonction du temps.

L'évolution des profils de l'échantillon montre trois étapes singulières liées à la déstabilisation. La première étape est la diminution de  $\Delta BS$  au fond de l'échantillon, signifiant que les objets capables de rétrodiffuser la lumière migrent à un autre endroit, et sont donc moins nombreux à cette hauteur d'échantillon. Dans ce cas, cela indique l'apparition d'une phase claire en bas de l'échantillon. La deuxième est l'augmentation de cette zone de faible rétrodiffusion, indiquant que le volume de cette phase claire augmente également, ce qui a pour conséquence de diminuer la hauteur de phase émulsion. Ces deux étapes sont liées au phénomène de crémage des gouttelettes vers le haut de l'échantillon, grâce à la densité des gouttelettes d'huile, inférieure à celle de l'eau. Enfin, la troisième étape est l'augmentation de  $\Delta BS$  au milieu de l'échantillon, correspondant à un changement au sein de la phase émulsion. Cette étape montre le phénomène de coalescence, indiquant une modification des tailles de gouttelettes. Cette coalescence limitée permet une couverture suffisante de la surface des gouttelettes par les particules qui les entourent, et forment cette barrière physique contre la coalescence grâce à la diminution progressive de l'aire interfaciale entre l'heptane et l'eau. On pourrait également indiquer une faible diminution de  $\Delta BS$  en haut de l'échantillon, qui correspond à l'apparition d'une phase huile mais très peu visible en raison de résidus d'émulsions attachés aux parois du tube en verre.

En comparant aux autres émulsions, dont l'évolution du profil des échantillons est présentée de la même manière en **Figure 2.17**, on remarque l'émulsion formée avec la P4VPH<sup>+</sup> 0,025 (**Figure 2.17.A**), aucun des phénomènes mentionnés n'est visible. Ceci confirme les observations visuelles qui ne montrent aucune déstabilisation de l'émulsion. Cette émulsion montre également une excellente résistance à la centrifugation (4024 G pendant 20 min), et

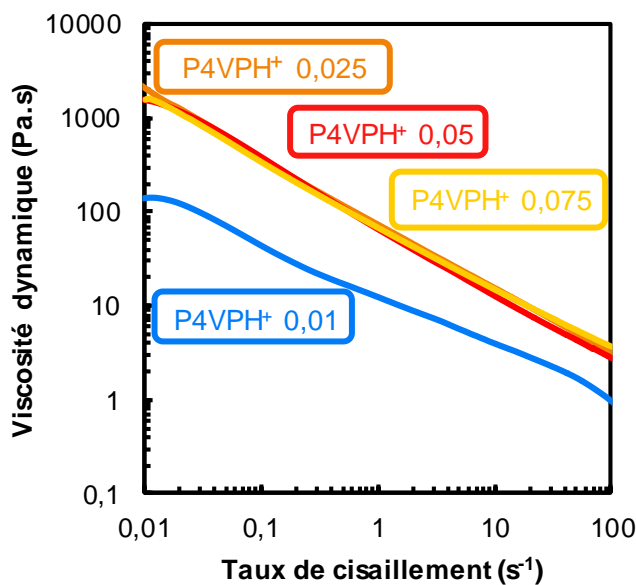
une très bonne stabilité à la température (60°C). Même si les émulsions formées avec P4VPH+ 0,05 (Figure 2.17.B) et 0,075 (Figure 2.17.C) montrent une phase huileuse sur le dessus, cette phase est présente dès la fin de l'émulsification et augmente dans les 48 heures suivantes sur les profils  $\Delta BS$ . Aucune séparation de phase visible n'a été détectée dans l'année suivant la formation de toutes les émulsions, caractéristique des émulsions de Pickering. Pour les émulsions qui ne présentent pas de déstabilisation après émulsification, la quantité de particules étant la même pour toutes les émulsions, un autre phénomène est à l'origine de leur meilleure stabilité. L'hydrophilie étant meilleure, on peut supposer que les particules s'immobilisent ou se déroulent encore plus efficacement, permettant d'immobiliser une plus grande quantité d'eau et d'augmenter l'épaisseur de la phase continue.



**Figure 2.17** : Rétrodiffusion ( $\Delta BS$ ) en fonction de la hauteur d'échantillon et du temps à 25 °C pour les systèmes A) P4VPH+ 0,025/eau/heptane ; B) P4VPH+ 0,05/eau/heptane et C) P4VPH+ 0,075/eau/heptane (5/47,5/47,5 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C) avec une photographie de l'échantillon correspondant à la fin du temps d'analyse. Profils générés par analyse Turbiscan® a des intervalles de 10 min à 1 h de 0 (courbe violette) à 48 h (courbe rouge).

#### II.4.d – Comportement rhéologique

Enfin, pour caractériser la texture des émulsions, quantifier les différences entre elles et observer leur comportement sous cisaillement, une étude rhéologique (Figure 2.18) a été réalisée. Comme prévu, à un cisaillement presque nul, l'émulsion formée à partir de 0,01 P4VPH+ est beaucoup moins visqueuse que les autres en raison de sa faible hydrophilie (les courbes de P4VPH+ 0,025, P4VPH+ 0,05 et P4VPH+ 0,075 sont superposées).

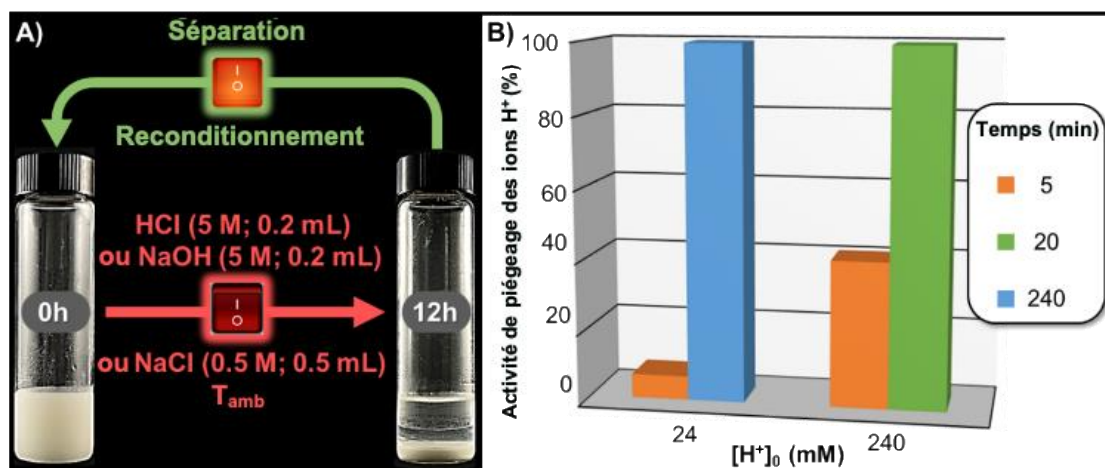


**Figure 2.18 :** Viscosité dynamique en fonction du taux de cisaillement pour les systèmes P4VPH<sup>+</sup>/eau/heptane (5/47,5/47,5 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C)

D'autre part, sous cisaillement, les émulsions présentent une faible viscosité à 100 s<sup>-1</sup>, à moins de 10 Pa.s ce qui les rend assez faciles à manipuler. Les émulsions peuvent être classées en fonction de leur résistance au frottement comme suit : P4VPH<sup>+</sup> 0,01 << P4VPH<sup>+</sup> 0,025 ≈ P4VPH<sup>+</sup> 0,05 ≈ P4VPH<sup>+</sup> 0,075.

#### II.5 – Déstabilisation des émulsions de Pickering et application en synthèse organique

Ensuite, la déstabilisation de l'émulsion de Pickering stabilisée par des particules de P4VPH<sup>+</sup> a été étudiée en raison des applications potentielles de ce système en synthèse organique par exemple. En effet, les propriétés de l'émulsion de Pickering stabilisée par des particules de P4VPH<sup>+</sup> à 39 mmolH<sup>+</sup>/g (c'est-à-dire une grande aire interfaciale avec une résistance très importante à la centrifugation et aux hautes températures) rendent ce système particulièrement intéressant pour les réactions biphasiques dans lesquelles les particules stabilisantes agiraient comme réactif protonique, piègeur, et/ou catalyseur. Nos résultats physicochimiques confirment que la déstabilisation pourrait facilement être obtenue par des changements extrêmes de pH puisque les particules neutres et très acides (> 90 mmolH<sup>+</sup>/g) sont incapables de stabiliser les émulsions de Pickering. De plus, les variations de force ionique semblent également pouvoir déstabiliser les émulsions puisque l'accumulation de chlorures à la surface des particules les plus acides conduit à la séparation des phases par sédimentation (voir **Figure 2.19**). À cette fin, l'effet de l'ajout de solutions aqueuses de HCl, NaOH ou NaCl, sur l'émulsion de Pickering stabilisée par des particules de P4VPH<sup>+</sup> à 39 mmolH<sup>+</sup>/g est rapportée dans la **Figure 2.19.A** (température ambiante et sans agitation).



**Figure 2.19** : A) Déstabilisation par variation de pH et de force ionique, et B) Activité de piégeage des ions H<sup>+</sup> en fonction du temps et de la concentration initiale [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub> en phase aqueuse des émulsions heptane dans l'eau (47,5 %m chacun) stabilisées par des particules de P4VPH<sup>+</sup> à 39 mmolH<sup>+</sup>/g (5 %m) (11500 rpm, 60 s, 25 °C).

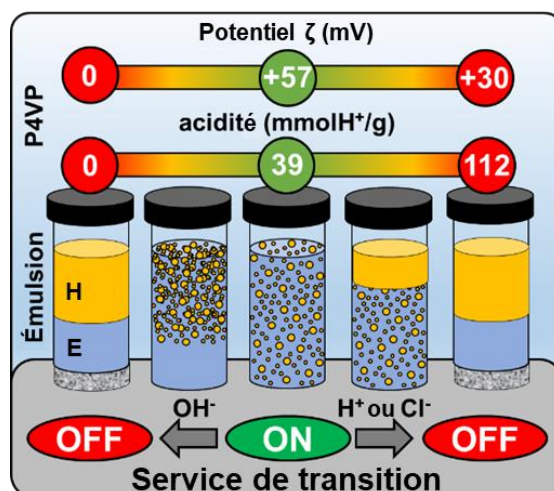
Comme attendu, la séparation de phases a bien eu lieu, après 12 h. Le test référence a également été effectué en ajoutant de l'eau pure, et aucune déstabilisation n'apparaît après le même laps de temps, l'émulsion est simplement diluée. Les particules peuvent ainsi être récupérées, rigoureusement lavées avec de l'eau distillée afin de retirer toute trace d'électrolytes (jusqu'à pH neutre) et séchées avant de les reconditionner, afin de préparer de nouvelles émulsions. Après ce processus de recyclage, les émulsions obtenues montrent des tailles de gouttelettes légèrement supérieures ( $11 \pm 1$  contre  $7 \pm 1$   $\mu\text{m}$ ) en raison de la perte de particules causée par le recyclage.

Finalement, la P4VP étant très utilisée comme piègeuse d'acides, l'activité de piégeage des ions H<sup>+</sup> de l'émulsions contenant 5 %m de P4VPH<sup>+</sup> à 39 mmolH<sup>+</sup>/g a été évaluée. Théoriquement, 100 g d'une telle émulsion sont capables de fixer une valeur maximale de 365 mmolH<sup>+</sup> (soit 5 fois la différence entre la capacité maximale pouvant être obtenue et celle de la particule utilisée, chacune étant exprimée sous forme de densité acide ; mmolH<sup>+</sup>/g) correspondant à 7,68 M de HCl dans la phase aqueuse. Cette valeur étant très éloignée des milieux réactionnels couramment utilisés, des concentrations plus réalistes ont été étudiées. De plus, les émulsions n'existent plus à cette concentration comme vu précédemment. Dans cette optique, deux émulsions de Pickering ont été préparées en utilisant 47,5 %m de solution aqueuse de HCl ([H<sup>+</sup>]<sub>0</sub> = 24 ou 240 mM) complétée par 47,5 %m d'heptane et 5 %m de particules à 39 mmolH<sup>+</sup>/g. Après émulsification sur 60 s à 11500 rpm, les systèmes ont été agités à 200 rpm à 25 °C. Après un temps donné, la concentration de H<sup>+</sup> libre [H<sup>+</sup>]<sub>t</sub> a été mesurée à l'aide d'un pH-mètre et l'activité de piégeage des ions H<sup>+</sup> a été calculée comme le rapport entre la concentration de H<sup>+</sup> piégée, [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub> - [H<sup>+</sup>]<sub>t</sub>, et [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>. L'activité de piégeage de H<sup>+</sup> varie en fonction de la concentration initiale de HCl dans la phase aqueuse et en fonction du temps (**Figure 2.19.B**). Par exemple, après 5 min de contact, les activités de piégeage de H<sup>+</sup> étaient de 7 et 41 % pour 24 et 240 mM de [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>, respectivement. D'autre part, le temps nécessaire pour obtenir une activité > 99 % est de 240 min et 20 min pour 24 et 240 mM de [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>,

respectivement. Ces deux observations reflètent que l'étape déterminant la vitesse est la concentration en  $H^+$  et sa diffusion. De plus, il est à noter que la séparation de phases s'est faite progressivement au cours du temps de contact. Tous ces résultats montrent que les particules de  $P4VPH^+$  peuvent être utilisées comme une voie pour gérer facilement la séparation de phases dans les émulsions de Pickering en utilisant des interrupteurs « on-off » basés sur le pH et la force ionique avec des applications potentielles en synthèse.<sup>213</sup>

### Conclusions sur ce système

Dans cette étude systématique, des **émulsions de Pickering de type huile-dans-eau**, stabilisées par des particules de poly(4-vinylpyridine) réticulées et partiellement protonées ont été développées. La densité de charge des particules a pu être finement ajustée de 0 à 112  $mmolH^+/g$ . Les mesures physicochimiques ont révélé que les particules de P4VP protonées avec **39  $mmolH^+/g$**  sont les plus efficaces pour émulsifier l'heptane dans l'eau que les particules natives ou plus protonées. L'émulsion obtenue avec 5 %m de particules présente une **excellente stabilité à plus d'un an**, et résiste à la centrifugation et à la température (jusqu'à 4024 G et 60°C). Cependant, la **séparation des phases** peut être facilement contrôlée en utilisant des interrupteurs « on-off » basés sur le **pH et la force ionique (Figure 2.20)**, permettant la récupération des particules. L'avantage de ces particules est que la P4VP réticulée est une matière première peu coûteuse, comparée aux travaux précédents utilisant des particules de microgel synthétisées à base de P4VP. De plus, elle peut être utilisée sans transformation chimique (co-polymérisation, réticulation ou encore greffage par exemple, *etc.*) pour conduire à des systèmes d'émulsion de Pickering sensibles très simples et bon marché.<sup>126,204,214–217</sup> En outre, les résultats confirment que le degré de contrôle découle de **la capacité de gonflement des particules de P4VP réticulées**, ce qui confirme le mécanisme communément admis.<sup>214,218,219</sup> Ces émulsions sont très intéressantes pour réaliser des transformations chimiques dans des milieux biphasiques dans lesquels les particules de P4VP protonées agiraient comme un réactif, un piègeur et/ou un catalyseur.<sup>213</sup>



**Figure 2.20** : Représentation schématique de la déstabilisation des émulsions de Pickering avec les stimuli pH et sel. Les acidités et potentiels zêta des particules de P4VP sont donnés en fonction des conditions.

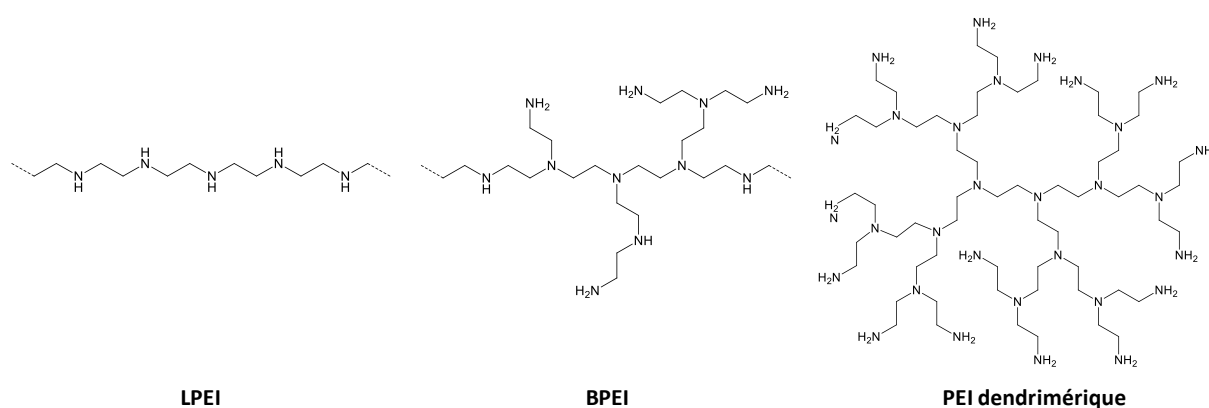


### III] Émulsions stabilisées par des hydrogels de polyéthylèneimine linéaire ou LPEI

Un autre système polymérique à base de polyéthylèneimine (PEI), susceptible de répondre à la fois aux stimuli pH et température à ensuite été étudié.

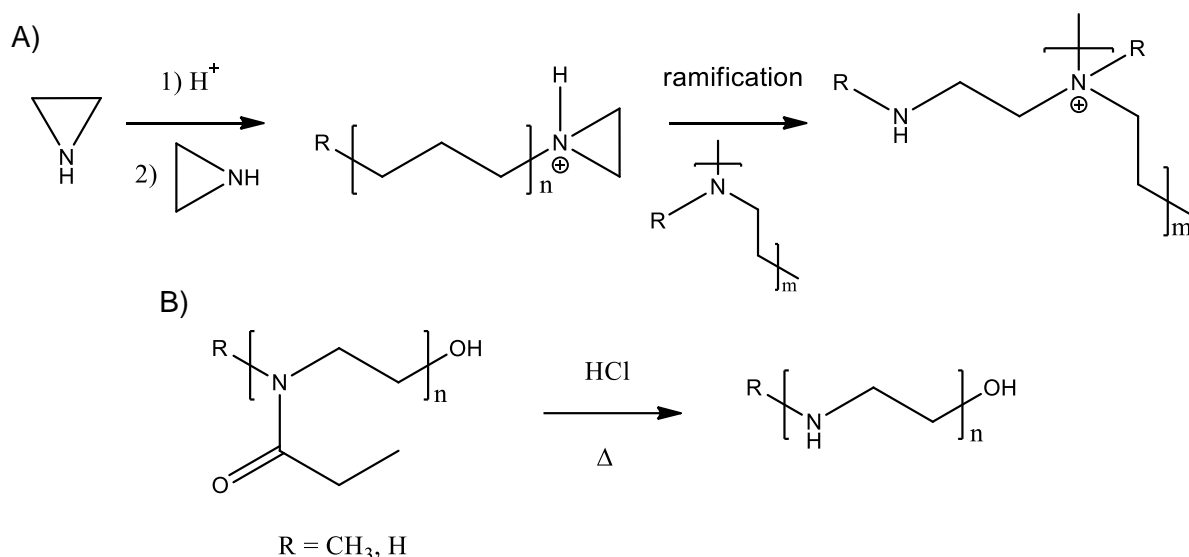
#### III.1 – La polyéthylèneimine : un polymère polyvalent

La Polyéthylèneimine est un polymère décrit comme hydrophobe en raison de son squelette riche en éthylène terminé par une fonction amine. Il existe deux formes différentes de PEI, la **forme linéaire (LPEI)**, qui ne contient par conséquent que des amines secondaires, et la **forme branchée (BPEI)**, à base de groupements amines primaires, secondaires et tertiaires. Il existe également **des formes dendrimériques**, généralement appelées hyperbranchées (**Figure 2.21**).<sup>220</sup>



**Figure 2.21** : Structures chimiques des différents types de polyéthylèneimine.

La BPEI est généralement synthétisée par polymérisation par ouverture de cycle de l'aziridine.<sup>221</sup> En fonction des conditions de la réaction, plusieurs degrés de branchement sont obtenus. La BPEI se présente sous forme liquide. La LPEI quant à elle s'obtient par post-modification d'autres polymères comme la poly(2-oxazoline)<sup>222</sup> ou de polyaziridines N-substituées,<sup>223</sup> on peut citer l'hydrolyse de la poly(2-éthyl-2-oxazoline) par exemple (**Figure 2.22**).<sup>224</sup> Elle se trouve sous forme de solide blanc et est insoluble dans l'eau à basse température à pH neutre, mais aussi dans le benzène, l'éthyle éther et l'acétone. Elle est en revanche soluble dans l'eau chaude (température dépendant du %m et du pH), à pH faible, dans le méthanol, l'éthanol et le chloroforme. Elle possède un point de fusion d'environ 75°C. Pour cette étude, nous avons choisi de travailler avec une PEI linéaire (LPEI) de masse molaire de 25 000 g/mol.



**Figure 2.22 :** A) Synthèse de la BPEI par polymérisation de l'aziridine ; B) Synthèse de la LPEI par modification de la poly(2-oxazoline)

Les PEIs, quelles que soient leurs formes, ont été reconnues toxiques pour les cellules si elles ont des masses moléculaires importantes,<sup>225</sup> ou utilisées en grande quantité.<sup>226,227</sup> Cette toxicité est expliquée par deux mécanismes différents<sup>228</sup> : i) la rupture de la membrane cellulaire entraînant une mort cellulaire nécrotique (immédiate), et ii) la rupture de la membrane mitochondriale après internalisation entraînant l'apoptose (retardée).

Les applications de la PEI sont nombreuses. On la retrouve dans les détergents, adhésifs, cosmétiques, ou encore agents de traitement de l'eau.<sup>229</sup> Elle est utilisée dans le processus de fabrication du papier comme agent anti-humidité,<sup>230</sup> comme agent chélatant,<sup>231</sup> modificateur de fonction à faible travail pour l'électronique,<sup>232</sup> ou encore pour le piégeage de CO<sub>2</sub>.<sup>233</sup> Les PEIs sont présentes dans certains matériaux pour des applications diverses telles que les méthodes d'analyses, la spectroscopie de masse,<sup>234</sup> la bio-imagerie,<sup>235-237</sup> ou encore pour la culture cellulaire.<sup>238</sup> Enfin, il existe également des médicaments,<sup>239,240</sup> des interfaces antibactériennes,<sup>241,242</sup> ou encore des matériaux auto-guérisants<sup>243,244</sup> à base de PEI. Mais la PEI est principalement utilisée dans des applications biologiques, notamment en tant qu'agent de transfection.<sup>245</sup> Elle crée des complexes électrostatiques avec des séquences d'ADN étrangères<sup>246,247</sup> qui sont libérées dans une cellule hôte par endocytose.<sup>248</sup> La difficulté réside dans la balance efficacité / toxicité, puisque les chaînes de PEI les plus efficaces sont les plus longues, mais aussi, par conséquent, les plus toxiques.<sup>249</sup>

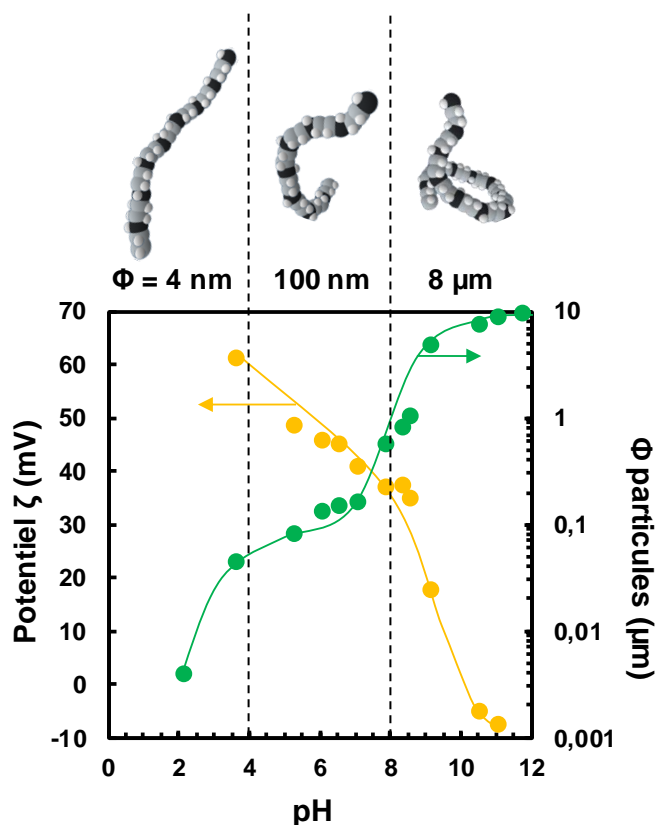
### III.2 – Comportement dans l'eau de la LPEI

#### III.2.a – Influence du pH

La LPEI est un polymère à caractère faiblement basique ( $pK_a \approx 10$ ), avec une amine secondaire par unité de répétition. Cette amine est capable de se protoner en milieu acide pour former une fonction  $NH_2^+$ . De fortes interactions supramoléculaires régissent le comportement

des polymères dans l'eau. Il y a compétition entre les interactions inter-chaînes (interactions attractives de type hydrophobe) qui auront tendance à compacter la molécule et créer des agrégats, et intra-chaînes (interactions répulsives de type électrostatique) qui favorisent l'extension de la chaîne. Les conditions de la solution dans laquelle se trouve la LPEI affectent donc son comportement.<sup>250</sup>

Des dispersions à 0,1 %m de LPEI dans l'eau à différents pH (ajusté par ajouts de solutions concentrées en HCl ou NaOH) ont donc été réalisées pour mesurer le potentiel zêta et la taille des particules en solution (Figure 2.23).

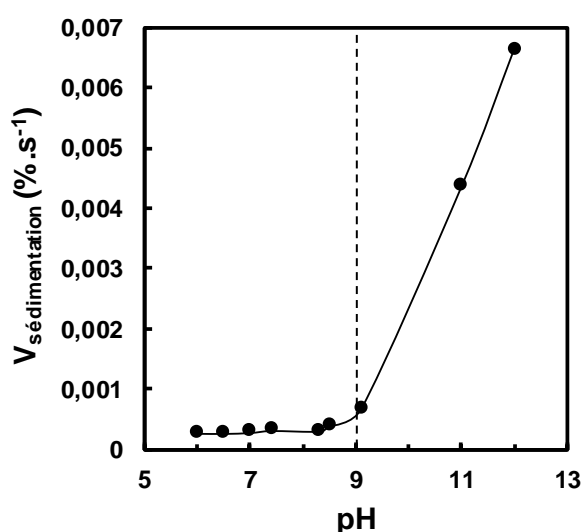


**Figure 2.23 :** Potentiel zêta (●) et diamètre des particules (●) en fonction du pH pour des dispersions à 0,1 %m de LPEI dans l'eau. La gamme de pH est séparée en 3 zones distinctes correspondant à la conformation de la chaîne de LPEI.

La courbe du potentiel zêta montre tout d'abord que la LPEI est partiellement chargée à  $\text{pH} < 10$ , et que cette charge augmente avec la diminution du pH. Cette charge a pour conséquence directe la variation de la taille des particules en solution. En effet, la LPEI semble adopter trois conformations, donnant des objets de tailles différentes. La première, entre  $8 < \text{pH} < 12$ , la LPEI n'est pas ou très peu chargée et favorise les interactions hydrophobes entre les chaînes, conduisant à l'agrégation des particules qui ont une taille d'environ  $9 \mu\text{m}$ . La seconde zone, entre  $5 < \text{pH} < 8$ , la LPEI est sous forme partiellement chargée, et les interactions hydrophobes entrent en compétition avec les répulsions électrostatiques aux échelles intra- et intermoléculaires, les chaînes sont partiellement dépliées mais pas totalement désagrégées (diamètre moyen de  $100 \text{ nm}$ ). La dernière conformation est obtenue à  $\text{pH} \leq 4$ , les fonctions

amines sont majoritairement chargées, ainsi les répulsions électrostatiques l'emportent sur toutes les autres, forçant le déploiement intramoléculaire des chaînes et la désagrégation intermoléculaire. Les objets obtenus ont un diamètre d'environ 4 nm. Des schémas illustrant la conformation du polymère dans chaque zone sont donnés.

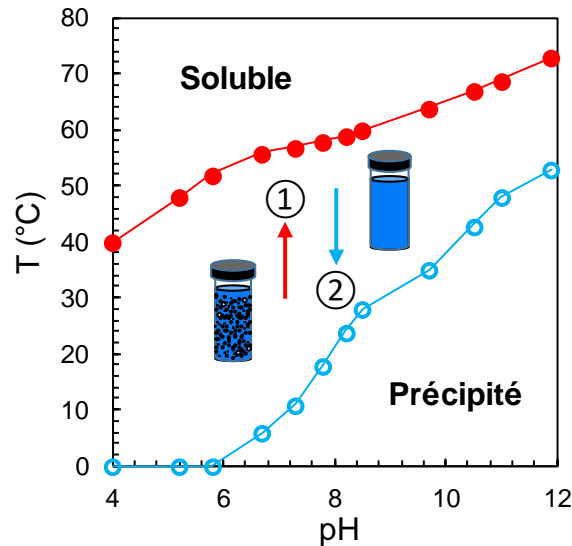
La vitesse de sédimentation des particules, obtenues grâce à la détermination de la stabilité des dispersions de la LPEI dans les mêmes solutions aqueuses au Turbiscan® (**Figure 2.24**) montre qu'une fois chargée, la LPEI reste en suspension pendant un temps beaucoup plus long qu'à  $\text{pH} \geq 10$ . En effet, à  $\text{pH} > 9$ , une rupture de la courbe est observée, où la vitesse de sédimentation des particules est multipliée par 25 entre  $\text{pH} = 6$  et  $\text{pH} = 12$ . Ces observations confirment les études précédentes sur les conformations<sup>250</sup> et les interactions impliquées.<sup>251</sup>



**Figure 2.24** : Vitesse de sédimentation de LPEI dispersée à 0,1 %m dans l'eau en fonction du pH.

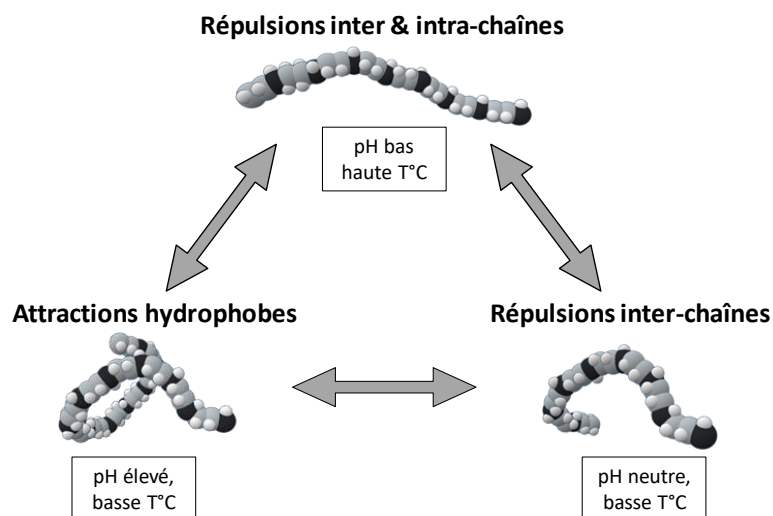
### III.2.b – Influence de la température

La LPEI est insoluble dans l'eau froide et soluble dans l'eau chaude. Cette propriété permet de classer ce polymère dans la catégorie des polymères **UCST (Upper Critical Solution Temperature)** ( $\approx 60^\circ\text{C}$  pour la LPEI à  $\text{pH} = 8$ ), qui regroupe les polymères solubles au-delà d'une certaine température, propre à chaque polymère. Les propriétés physicochimiques de la LPEI peuvent donc être modifiées grâce à deux stimuli, à savoir le pH, et la température. L'évolution de l'UCST de la LPEI en fonction du pH a été étudiée (**Figure 2.25**) dans des dispersions aqueuses à 1 %m cette fois, afin d'observer les effets sur une gamme plus large de pH. En effet, la LPEI se solubilise à 0,1 %m à  $\text{pH} < 6$ .



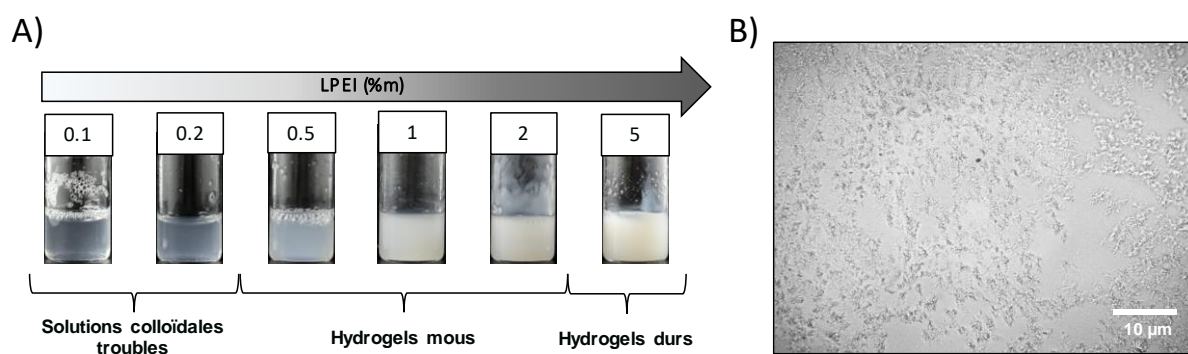
**Figure 2.25 :** Températures de solubilisation (●) et de précipitation (○) en fonction du pH pour des dispersions de LPEI à 1 %m

À  $\text{pH} < 4$ , la LPEI est solubilisée, la température ne montre donc aucun effet. En revanche, au-delà de cette valeur, une solubilisation de la LPEI est observée entre 40 et 73 °C. Cette température de solubilisation augmente avec le pH à raison d'environ 4°C par unité de pH. Lors du refroidissement, la précipitation ne se produit pas aux mêmes températures, et l'hystérèse est plus prononcée en milieu acide. La température de précipitation augmente quant à elle d'environ 9°C par unité de pH. Une fois encore, il y a compétition entre les interactions intra- et interchaînes. Plus la LPEI est chargée, plus les répulsions électrostatiques en milieu acide favorisent la solubilisation de la LPEI lors du chauffage, et empêchent les chaînes de LPEI de se ré-agréger lors du refroidissement. Ceci conduit à une hystérèse plus importante qu'en milieu basique, où la LPEI forme des liaisons hydrogènes avec l'eau une fois solubilisée. La **Figure 2.26** résume les interactions mises en jeu en fonction des conditions.



**Figure 2.26 :** Conformations de la chaîne LPEI en fonction des conditions de pH et de température et des effets sur les interactions inter- et intra chaîne

Une fois l'hydrogel refroidi, la précipitation de la LPEI ne se fait pas sous forme de poudre. Les liaisons hydrogènes formées entre la LPEI et l'eau donnent lieu à un hydrogel trouble à basse température (et à pH où la solubilisation se produit à une température supérieure  $T_{amb}$ ). Un hydrogel est défini comme une matrice constituée d'un réseau de polymères ayant un pouvoir absorbant très élevé, dans lequel l'agent gonflant est l'eau. Ces hydrogels de LPEI ont été en partie étudiés dans la littérature. En effet, des études en Infra-Rouge (IR) moyens et proches et en DRX<sup>252</sup> ont révélé que le gel de LPEI adopte une structure cristalline dihydrate dans l'eau à température ambiante, dans une conformation en zigzag possédant 2 molécules d'eau par unité éthylèneimine. Lorsque la LPEI est chauffée, le polymère adopte une forme de bobine aléatoire et désordonnée. Des hydrogels ont été réalisés à différents %m de LPEI après solubilisation et précipitation en température afin d'observer visuellement l'effet de la concentration en LPEI sur l'hydrogel formé (**Figure 2.27**). Une photographie au microscope est également donnée.

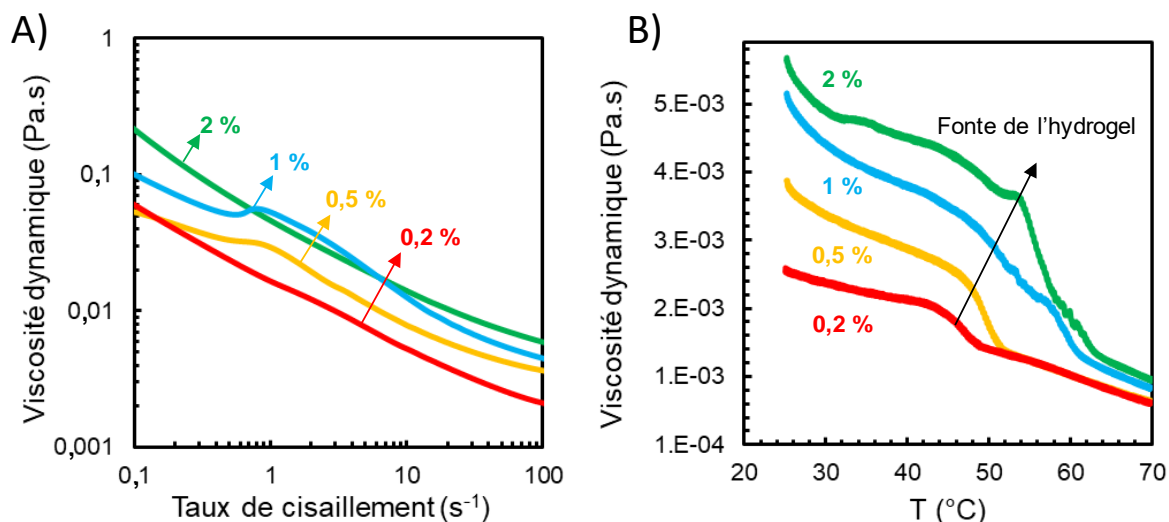


**Figure 2.27** : A) Photographies des hydrogels formés de solutions aqueuses de LPEI de 0,1 à 5 %m à pH naturel, après une première solubilisation et retour à  $T_{amb}$ . B) Photographie au microscope de l'hydrogel à 5 %m en LPEI.

Plus la concentration en LPEI est élevée, plus le réseau formé avec l'eau est dense et plus l'hydrogel devient trouble et visqueux. À 5 %m, l'hydrogel est complètement rigide. L'observation au microscope de l'hydrogel (**Figure 2.27.B**) permet de voir une phase amorphe sans cristaux définis. La LPEI ne recristallise donc pas mais agit comme un agent réticulant grâce aux liaisons hydrogènes avec l'eau et gélifie l'ensemble de l'échantillon, en fonction de sa concentration.

### III.2.c – Propriétés rhéologiques des hydrogels

Les hydrogels à différentes concentrations en LPEI ont ensuite été étudiés au rhéomètre. La **Figure 2.28** présentée ci-dessous représente la variation de la viscosité dynamique en fonction du taux de cisaillement et de la température.



**Figure 2.28** : Viscosité dynamique en fonction A) du taux de cisaillement à 25 °C et B) de la température à 100 s<sup>-1</sup> des hydrogels de LPEI à différentes concentrations. — : 0,2 %m; — : 0,5 %m; — : 1 %m; — : 2 %m.

Au repos, soit à taux de cisaillement très faible, la viscosité des hydrogels augmente en fonction de leur concentration en LPEI, alors qu'elle est très faible sous cisaillement à 25 °C (**Figure 2.28.A**). Lorsque le cisaillement est fixé à 100 s<sup>-1</sup> et que la température varie, l'effet de la fusion de l'hydrogel, qui se traduit par la solubilisation de la LPEI, sur la viscosité peut être observé (**Figure 2.28.B**). En effet, une perte soudaine de viscosité est visible entre 45 et 55 °C avec l'augmentation de la concentration en LPEI, pour atteindre des viscosités similaires à celles de l'eau (10<sup>-3</sup> Pa.s). Ceci montre que le réseau gel a fondu grâce à la solubilisation de la LPEI pour se comporter comme des solutions aqueuses. Cette expérience montre qu'en plus du pH et de la température, la concentration en LPEI est également un facteur qui affecte la solubilisation de la LPEI.

### III.3 – Émulsions à base d'hydrogels de LPEI

Comme vu lors de la présentation des émulsions (Partie I.4 – Cas particulier : Les Émulsions), la phase gel est préparée en amont de la préparation de l'émulsion. Les hydrogels de LPEI présentent ainsi un système intéressant à l'élaboration d'émulsions, et la nature pH et thermosensible de la LPEI permettent d'introduire des propriétés intéressantes aux émulsions. De plus, aucun exemple dans la littérature ne mentionne l'élaboration d'émulsions ou d'émulsions à base de LPEI. Seul un exemple existe où une émulsion à base de BPEI seule est montrée en référence à des particules d'argiles fonctionnalisées avec la BPEI. Seuls des systèmes à base d'hydrogels d'alginate,<sup>253</sup> nanocristaux de cellulose,<sup>69</sup> ou de particules d'argiles<sup>254</sup> modifiés avec la BPEI ont été utilisés pour l'élaboration d'émulsions.

#### III.3.a – Composition et procédé

Des hydrogels ont été préparés à différentes concentrations en LPEI (0,5 à 2 %m en concentration finale), l'huile étudiée est rajoutée pour avoir un mélange à un ratio eau/huile

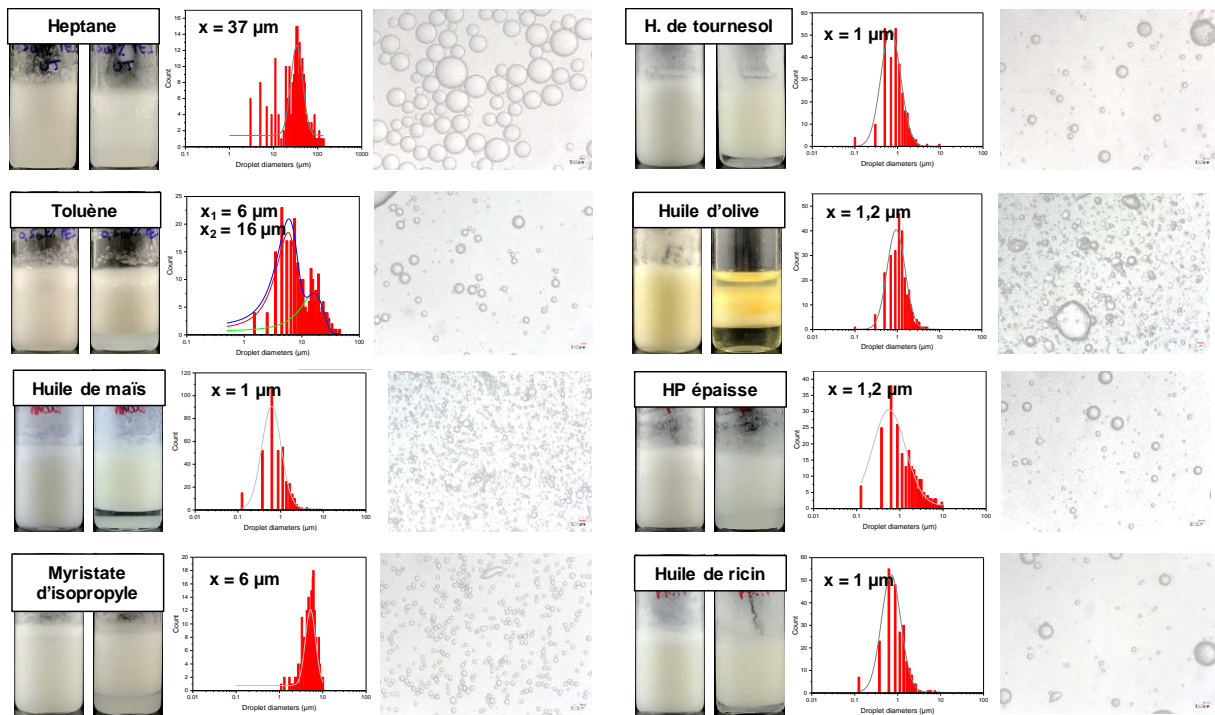
de 1 (50 % d'eau et 50 % d'huile). Les échantillons ont été émulsionnés avec un Ultraturrax à 11500 rpm pendant 1 minute à température ambiante.

### III.3.b – Propriétés physicochimiques

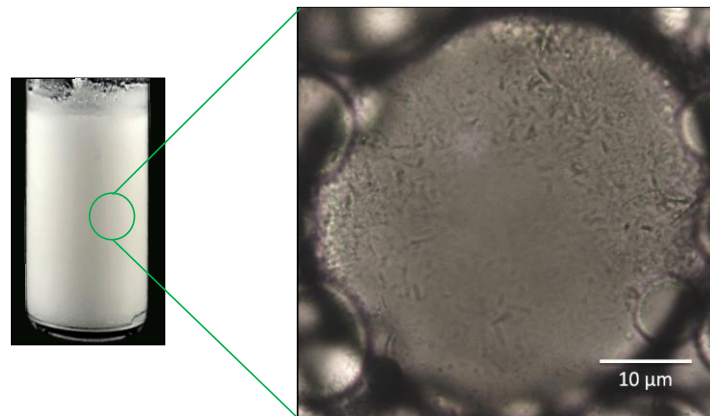
Tous les systèmes ont donné des émulsions blanchâtres. Quelques huiles (heptane, toluène, myristate d'isopropyle, huile de maïs, huile de tournesol, huile d'olive, huile de paraffine épaisse et huile de ricin) ont été testées à une concentration de 0,5 %m de LPEI comme le montre la **Figure 2.29**, avec des photographies à t0 et t0 + 24 h et la distribution de tailles des gouttelettes pour chacune d'entre elles.

On remarque que dès 0,5 %m, des émulsions avec des indices d'émulsion (I.E.) conséquents, soit le pourcentage de phase émulsion par rapport à l'échantillon total, peuvent être obtenus (env. 70 %), et ce, avec des huiles assez différentes les unes des autres. Des tailles de gouttelettes de 1 à 37  $\mu\text{m}$  sont obtenues. La stabilité des émulsions peut être classée par rapport aux huiles, en observant le I.E. des échantillons, de la moins stable à la plus stable : huile d'olive < heptane < myristate d'isopropyle < toluène < huile de maïs < huile de paraffine épaisse < huile de tournesol < huile de ricin. L'huile de paraffine liquide (HP) a été retenue car c'est une huile couramment utilisée dans des applications pharmaceutiques. Toutes les émulsions obtenues sont de type H/E, avec un diamètre de gouttelettes moyen de 1  $\mu\text{m}$  quel que soit le pourcentage de LPEI utilisé avec cette huile. L'hydrogel constitue donc la phase continue de l'émulsion, selon les observations réalisées de l'hydrogel au microscope (**Figure 2.27.B**), et la définition de l'émulgel donnée plus tôt, aucune particule solide n'est présente dans le système hydrogel LPEI / huile, ce qui indique que ce système permet l'obtention d'un émulgel.<sup>255</sup> Une photographie de l'émulsion 2 %m LPEI/eau/HP réalisée au microscope est donnée en **Figure 2.30**, où l'on peut voir sur les plus grosses gouttelettes la présence d'objets biréfringents fins en forme de bâtonnets positionnés à l'interface.





**Figure 2.29** : Systèmes LPEI/eau/huile (0,5/49,75/49,75 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C). Les photographies à  $t_0$  et  $t = 24$  h, le diamètre moyen des gouttelettes à  $t = 24$  h et une observation au microscope des émulsions à  $t = 24$  h sont donnés.

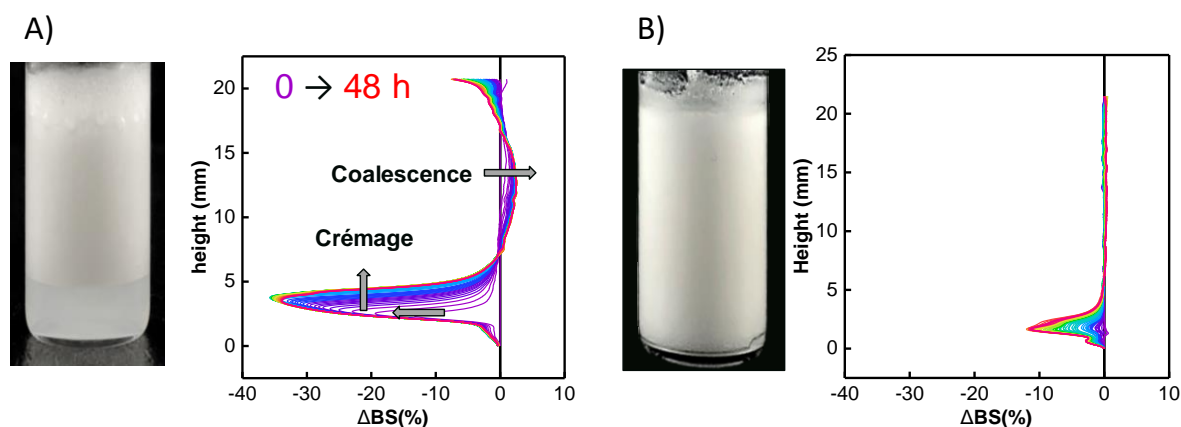


**Figure 2.30** : Observation microscopique de l'émulsion LPEI/eau/HP (2/49/49 %m, 11500 rpm, 60 s, 25 °C)

Ces cristaux se retrouvent majoritairement adsorbés à l'interface des gouttelettes d'huile. On suppose qu'ils sont le résultat d'interactions hydrophobes entre la LPEI, qui constitue l'hydrogel, et l'huile de paraffine, constituée majoritairement d'alcane linéaires longs. Cette observation montre que l'émulgel est stabilisé non pas uniquement grâce à la viscosité de la phase continue, apportée par l'hydrogel, mais également grâce aux particules observées ici, qui créent une barrière physique caractéristique d'émulsions de Pickering. Ainsi, le système pourrait être à l'origine d'un **émulgel de Pickering**.

## III.3.c – Mécanisme de stabilisation

De la même façon que précédemment, le mécanisme de déstabilisation des émulsions de Pickering a pu être étudié par diffusion multiple de la lumière sur une émulsion à 0,5 %m et à 2 %m en LPEI, en corrélant les changements de la lumière rétrodiffusée  $\Delta BS$  au cours du temps, aux phénomènes de coalescence et de migration des gouttelettes, ainsi qu'à la viscosité de la phase émulsion (**Figure 2.31**).



**Figure 2.31** : Rétrodiffusion en fonction de la hauteur de l'échantillon entre  $t_0$  et  $t_0 + 2$  jours à 25 °C pour A) Émulsion LPEI/eau/HP (0,5/49,75/49,75 %m) et B) LPEI/eau/HP (2/49/49 %m) avec photo de l'émulsion correspondante. Émulsification à 11500 rpm, 60 s, 25°C.

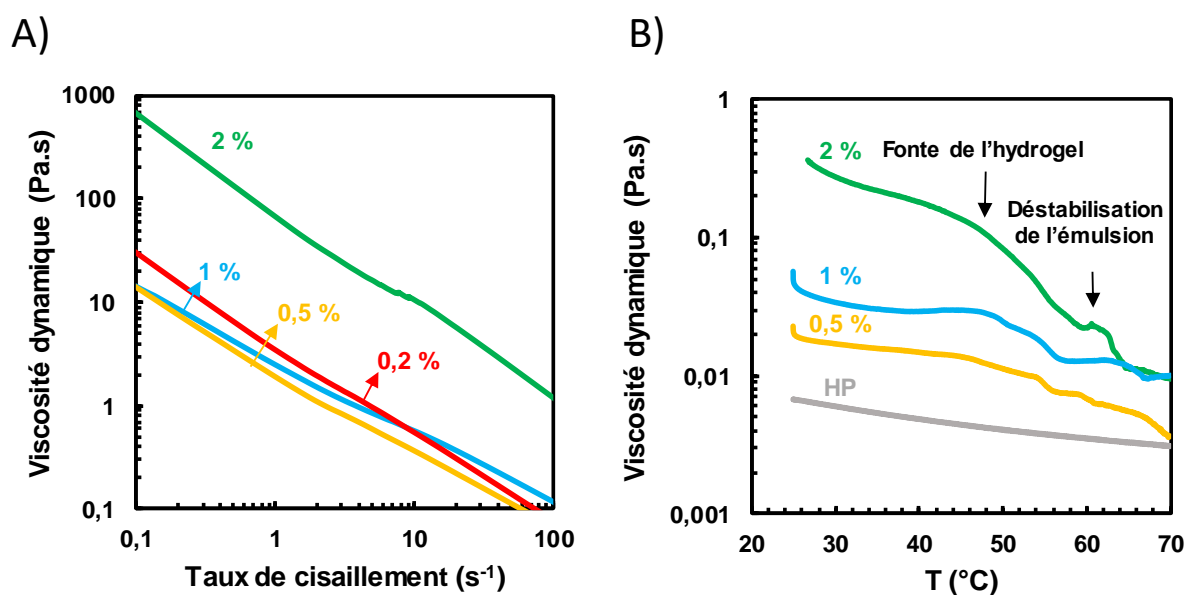
Une diminution de  $\Delta BS$  au cours du temps est observée en bas et en haut de l'émulsion à 0,5 %m en LPEI, ainsi qu'une augmentation au centre de l'échantillon (**Figure 2.31.A**). La diminution importante en bas de l'échantillon est caractéristique d'un phénomène de crémage. Les gouttelettes au sein de la phase émulsion étant moins denses que la phase continue, celles-ci resteront en haut de l'échantillon si la phase continue (aqueuse en l'occurrence ici) est en excès. L'augmentation de  $\Delta BS$  au cours du temps au niveau de la phase émulsion montre une variation de la taille des gouttelettes, qui est la conséquence d'un phénomène de coalescence. La cinétique de ces phénomènes est également importante. En effet, ceux-ci se produisent à une vitesse rapide lors des premières acquisitions par le Turbsican® (ce qui se remarque par les profils espacés), alors que par la suite, les profils sont très rapprochés, alors que la fréquence d'analyse est plus lente. Cette observation est caractéristique du phénomène de coalescence limitée, que l'on a introduit dans le **Chapitre I, Partie I.3.a – Mécanisme de coalescence limitée**. La coalescence de deux gouttelettes réunit les particules adsorbées sur ces dernières sur uniquement une seule gouttelette. La répétition de ce processus amène un taux de couverture des gouttelettes suffisant pour créer une barrière physique freinant puis inhibant complètement la déstabilisation. Ce phénomène est typique des émulsions de Pickering et confirme que la stabilisation des émulsions à base de LPEI est issue d'un effet Pickering.

Cette coalescence peut également être à l'origine de la diminution de rétrodiffusion en haut de l'échantillon. Certaines gouttelettes d'huile deviennent trop grosses et montent en haut de l'échantillon en raison de la densité. Cette phase huileuse qui se crée sera moins opaque que

le reste de l'échantillon, se traduisant par une rétrodiffusion plus faible. Pour l'émulsion à 2 %m en LPEI (**Figure 2.31.B**), seule une légère diminution de  $\Delta BS$  est observée au fond de l'échantillon, sans être visible macroscopiquement, suggérant une variation de viscosité au sein de la phase émulsion localisée. Le reste de l'échantillon ne subit aucune modification sur la durée de l'étude (2 jours). Ces observations montrent que la stabilité de l'émulsion dépend de la quantité d'objets situés à l'interface des gouttelettes. Plus le système est concentré en LPEI, plus les particules forment un réseau compact autour des gouttelettes les protégeant de la coalescence. Les émulsions ne présentent pas de démixtion supplémentaire 4 mois après leur élaboration, ce qui est caractéristique des émulsions de Pickering.<sup>256</sup>

### III.3.d – Propriétés rhéologiques et viscoélastiques

Les propriétés rhéologiques des hydrogels déterminées précédemment (**Figure 2.28**) avec celles des émulsions ont été comparées en réalisant les mêmes expériences de viscosité dynamique en fonction du taux de cisaillement et de la température. La **Figure 2.32** présente les résultats des émulsions soumises à ces expériences.

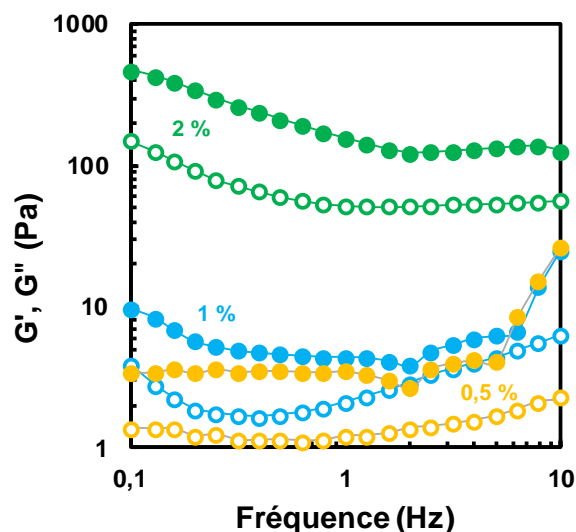


**Figure 2.32 :** Viscosité dynamique en fonction : A) du taux de cisaillement à 25 °C et B) de la température à 100 s<sup>-1</sup>, des émulsions LPEI/eau/HP à différentes concentrations en LPEI. — : 0,2 %m; — : 0,5 %m; — : 1 %m; — : 2 %m.

Tout d'abord, les émulsions sont, en moyenne, cent fois plus visqueuses que les hydrogels (**Figure 2.32.A**), mais la concentration en LPEI ne semble pas avoir d'influence lorsqu'elle est inférieure à 2 %m. Elle est ensuite multipliée par dix. Elles présentent, comme les hydrogels, une faible viscosité sous cisaillement, ce qui rend les émulsions adaptées aux applications topiques. En étudiant la variation de température (**Figure 2.32.B**), la fusion de l'hydrogel et la déstabilisation de l'émulsion peuvent être distinguées. La chute soudaine de la viscosité associée à la fusion de l'hydrogel est d'abord observée (**Figure 2.28.B**). Cependant, la viscosité ne rejoint pas complètement celle du HP (en cas de déstabilisation complète, le HP serait au

sommet de l'échantillon, en contact avec le mobile du rhéomètre). Les échantillons à 1 et 2 %m montrent une stabilisation de la viscosité après la première diminution, suivie d'une seconde chute de viscosité, à une température d'environ 63 °C. Ainsi, la fusion de l'hydrogel ne cause pas directement la déstabilisation de l'émulsion, il faut que les cristaux adsorbés à l'interface se solubilisent également pour permettre la séparation des phases. Ces cristaux étant solides, ils se solubilisent à une température supérieure que celle de la fonte de l'hydrogel.

Une étude de balayage en fréquence afin d'obtenir des informations sur les propriétés viscoélastiques des émulsions a également été réalisée (Figure 2.33).



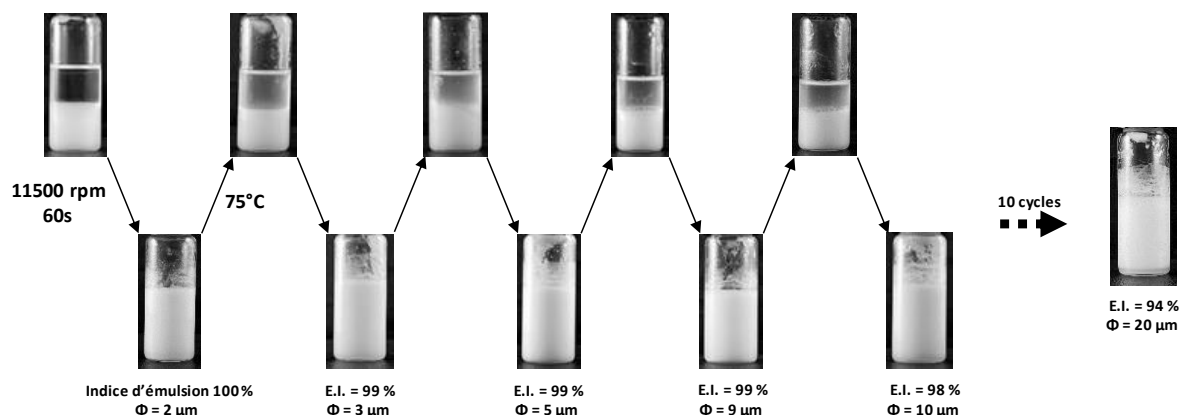
**Figure 2.33** : Modules  $G'$  (cercles pleins) et  $G''$  (cercles vides) en fonction de la fréquence pour les émulsions LPEI/eau/HP stabilisées par différentes concentrations en LPEI. (● : 0,5 %m; ● : 1 %m; ● : 2 %m)

Le module élastique  $G'$  de toutes les émulsions est supérieur au module visqueux  $G''$ , ce qui montre un comportement élastique dominant. De plus, une augmentation significative de  $G'$  et  $G''$  avec la concentration en LPEI est observée. Cette observation indique que la structure gélifiée des émulsions est renforcée par la présence de la LPEI. Plus précisément, la LPEI forme un réseau plus dense et plus fort dans la phase continue en raison des liaisons hydrogènes formées, mais aussi en raison qu'à cette température et au pH considéré ici (entre 8 et 9 en fonction de la concentration en LPEI), les interactions hydrophobes attractives sont très fortes. Ainsi, plus le système est concentré en LPEI, plus l'hydrogel sera visqueux et résistant. On voit donc ici le rôle de l'hydrogel en phase continue pour la stabilité de l'émulsion et sa résistance au cisaillement. Même si des cristaux sont adsorbés à l'interface eau/huile, la formation du réseau dans la phase continue empêche la coalescence des gouttelettes et contribue de manière significative aux propriétés de l'émulsion.<sup>257</sup>

#### III.4 – Thermoréversibilité des émulsions de Pickering

Lorsqu'un hydrogel est obtenu, il disparaît à haute température en raison de la solubilisation de la LPEI, mais se reforme à température ambiante (à pH naturel). Cette propriété réversible est intéressante et pourrait donner des émulsions de Pickering thermoréversibles après

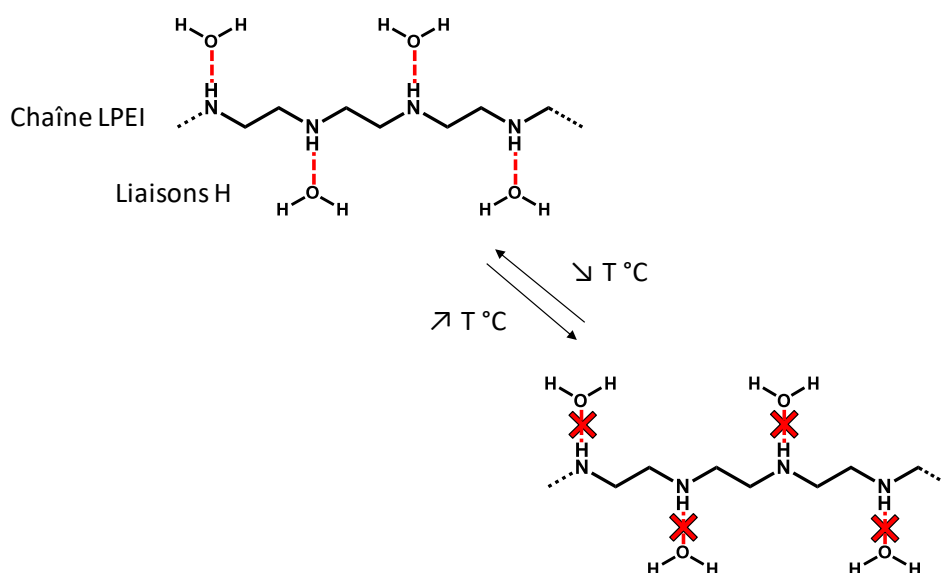
démixtion des émulsions à haute température et ré-émulsification à température ambiante (Figure 2.34).



**Figure 2.34 :** Thermoréversibilité de l'émulgel LPEI/eau/HP (2/49/49 %m, 11500 rpm, 60 s). Déstabilisation par chauffage dans un bain thermostaté à 75 °C. Des photographies des échantillons à chaque étape à  $t_0 + 3$  h sont montrées. L'indice d'émulsion et la taille des gouttelettes à  $t_0 + 3$  h sont donnés. Le processus a été répété 10 fois.

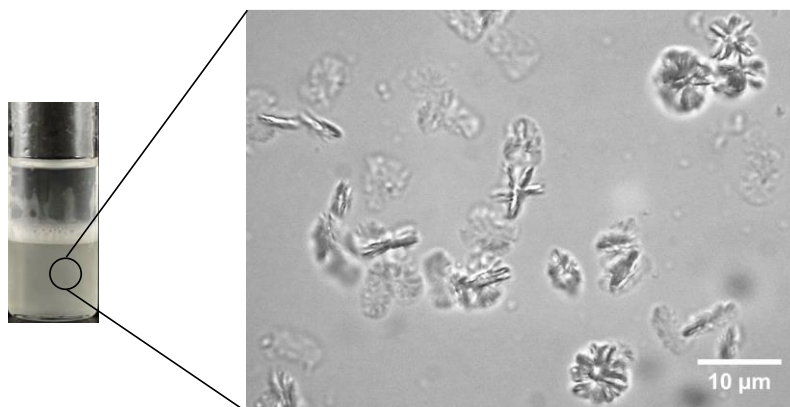
Pour cela, après avoir émulsifié l'échantillon contenant l'hydrogel à 2 %m en LPEI en bas et la HP sur le dessus (1<sup>ère</sup> Photo de la **Figure 2.34**), et avoir obtenu l'émulsion, l'échantillon est placé dans un bain thermostaté à 75 °C, sans agitation. Au bout de quelques secondes, on remarque le déphasage des phases avec l'apparition de HP au-dessus de la phase émulsion et de l'eau en-dessous. Très rapidement, l'hydrogel et les cristaux de LPEI se sont solubilisés et l'émulsion s'est totalement déstabilisée. L'échantillon est alors sorti du bain et placé à température ambiante pour refroidir. L'hydrogel se reforme en quelques minutes et une fois revenu  $T_{amb}$ , l'échantillon est ré-émulsifié. L'émulsion obtenue est laissée 3 heures au repos avant de mesurer le diamètre moyen des gouttelettes et l'indice d'émulsion. Le processus d'émulsification et de déstabilisation au chauffage est ainsi répété 10 fois, conduisant à un système à 94 % de phase émulsion et un diamètre de gouttelettes moyen de 20 µm. L'émulsion à 2 %m en LPEI présente donc une très bonne thermoréversibilité, et ce pendant de nombreux cycles. La **Figure 2.35** schématise les interactions mises en jeu lors de ce processus de chauffage.

Lorsque la LPEI en solution est sous haute température, l'entropie créée par la chaleur permet de solubiliser la LPEI en inhibant les interactions attractives hydrophobes. Lorsque l'échantillon est refroidi, la LPEI crée des liaisons hydrogènes avec l'eau qui donnent lieu à l'hydrogel. Ainsi, en chauffant l'échantillon, les liaisons hydrogènes sont détruites et la LPEI est à nouveau solubilisée, sous forme gel ou cristallisée.



**Figure 2.35 :** Représentation schématique des liaisons hydrogènes créées entre la LPEI et l'eau à basse température et qui sont détruites à haute température.

Cependant, après un certain nombre de cycles, l'émulsion obtenue n'est plus tout à fait la même qu'à la première étape d'émulsification. En effet, l'indice d'émulsion diminue et le diamètre moyen des gouttelettes augmente. La **Figure 2.36** montre l'échantillon déphasé à 75°C, juste après déstabilisation de l'émulsion au cycle 10.



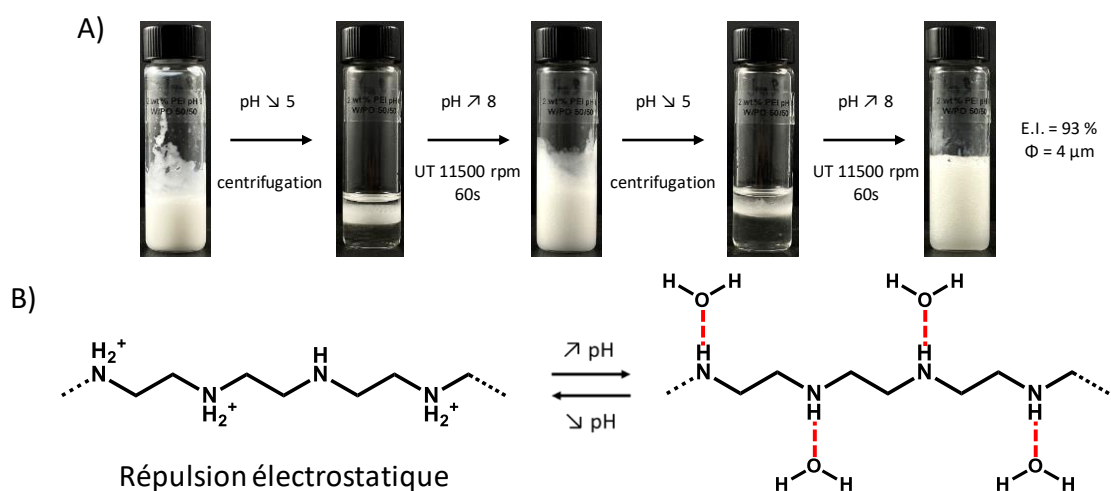
**Figure 2.36 :** Photographie du système LPEI/eau/HP (2/49/49 %m) après déstabilisation de l'émulsion à 75°C avec microphotographie de la phase aqueuse après le cycle 10.

On remarque que la phase aqueuse située en bas de l'échantillon n'est pas tout à fait transparente. Plus les cycles passent, plus la phase aqueuse se trouble. L'observation de la phase aqueuse au microscope montre la présence de cristaux en forme de bâtonnets semblables à ceux qui avaient été observés à l'interface, mais beaucoup plus gros et surtout agrégés en forme d'étoile. Notre hypothèse est que certains agrégats adsorbés à l'interface ne se solubilisent pas totalement une fois l'échantillon placé à 75 °C. Ils migrent dans la phase aqueuse une fois l'émulsion déstabilisée et s'agrègent entre eux par effet hydrophobe pour donner ces objets en forme d'étoile. Une fois l'échantillon refroidi et l'apparition de l'hydrogel, ces objets sont toujours présents, et leur taille augmentant, ils ne permettent plus de stabiliser de gouttelettes aussi petites que lors du premier cycle, où ces cristaux sont bien plus petits.

Ainsi, on voit que même si l'émulsion est thermoréversible, les cycles ne peuvent pas être répétés à l'infini.

### III.5 – Réversibilité de l'émulsion par effet pH

Enfin, la LPEI se solubilise à pH bas et précipite à nouveau à pH élevé. Ces changements de pH ont été réalisés au sein de l'émulsion à base de 2 %m de LPEI pour observer si à pH bas l'émulsion se déstabilise grâce à la solubilisation de la LPEI, et s'il est possible de reformer l'hydrogel à pH naturel et obtenir une émulsion via ré-émulsification. Les résultats et les interactions en jeu sont présentés sur la **Figure 2.37**.



**Figure 2.37** : A) Réversibilité au pH de l'émulsion LPEI/eau/HP (2/49/49 %m). Déstabilisation par ajout de solution concentrée de HCl. Reformation de l'hydrogel par ajout de solution concentrée de NaOH et ré-émulsification par Ultraturrax à 11500 rpm pendant 60 s. Des photographies de l'échantillon sont montrées à  $t_0$ . L'indice d'émulsion et le diamètre des gouttelettes sont précisés pour la dernière émulsion à  $t_0 + 3$  h. B) Structure de la LPEI en fonction du pH et interactions impliquées dans le processus de solubilisation/déstabilisation.

Ainsi, après obtention de l'émulgel de Pickering à 2 %m en LPEI dont le pH est de 8, celui-ci est diminué via ajout de quelques gouttes d'une solution concentrée de HCl, pour arriver à pH = 5. A partir de cette valeur de pH, on remarque un lent déphasage de l'émulsion. Une étape de centrifugation 5 min à 3260 G permet d'accélérer le processus et d'observer un déphasage complet de l'émulsion. L'ajout de solution concentrée de NaOH pour ramener la phase aqueuse à pH = 8 permet d'observer la reformation instantanée de l'hydrogel. Une nouvelle étape d'émulsification permet d'obtenir à nouveau une émulsion. Ce processus fut répété une nouvelle fois et donne une émulsion à 93 % de phase émulsion et des tailles de gouttelettes de 4 μm. Le processus n'a pas été reproduit une nouvelle fois en raison de l'ajout successif de HCl et NaOH qui augmente progressivement la force ionique en solution et écranter les charges de la LPEI pouvant empêcher sa solubilisation. De même, leur ajout en trop grande quantité crée du NaCl en solution qui est non désirable et altère les propriétés de l'émulsion.

## Conclusions sur ce système

La LPEI permet d'obtenir des **émulgels de Pickering de type huile-dans-eau** très stables à partir d'une quantité relativement faible de produit, grâce à la formation d'un **hydrogel** et de **cristaux adsorbés à l'interface**. L'étude des propriétés physicochimiques des hydrogels et émulsions a permis de comprendre le mécanisme de stabilisation des émulsions. Le réseau hydrogel formé par la **liaison hydrogène** de la fonction amine de la **LPEI avec l'eau** fournit une structure de type gel aux émulsions et évitera la coalescence des gouttelettes. Les cristaux de LPEI-huile se forment vraisemblablement à l'interface eau/huile par **interaction hydrophobe** et créent une barrière physique caractéristique des émulsions de Pickering. La rhéologie en température a montré que la phase gélifiée contribue à la viscosité globale de l'échantillon, et pas seulement à la stabilisation de l'émulsion. L'émulgel peut être rapidement **déstabilisé par le pH et la température**. Le système LPEI/eau/HP a pu être facilement ré-émulsifié avec l'Ultra-turrax. Ces **cycles de stabilisation/déstabilisation** peuvent être répétés de nombreuses fois, faisant de la LPEI un stabilisateur Pickering polymérique fonctionnel très intéressant.



## Conclusions

Dans ce chapitre, les caractérisations structurales et physicochimiques de deux polymères ont été reportées afin de mieux comprendre leurs propriétés amphiphiles dans le but d'élaborer des émulsions de Pickering uniquement à base de ces polymères. Le but étant d'obtenir les conditions les plus favorables à la stabilisation d'émulsions en étudiant le comportement des polymères en solution et déterminer leur affinité pour des phases aqueuses et organiques et choisir le meilleur système.

La première étude sur la résine de poly(4-vinylpyridine) réticulée à 2 % en Divinylbenzene a montré que le polymère pouvait subir des modifications de sa structure chimique (sans greffage d'une fonction étrangère) en amont de son utilisation comme stabilisateur d'émulsions. Le polymère est initialement trop hydrophobe pour s'adsorber à l'interface des gouttelettes et former des émulsions stables. Ainsi, la protonation de son motif pyridine fut envisagée afin d'apporter plus d'affinité au polymère pour l'eau. En effet, l'ajout d'un hydrogène sur l'azote du motif pyridine permet la création de liaisons hydrogène avec l'eau et ainsi d'augmenter son hydrophilie. Pour ce faire, une simple mise en contact du polymère dans une solution aqueuse concentrée en HCl pendant 4 h. Le polymère étant réticulé et insoluble, cette durée s'imposait pour une protonation effective. Plusieurs concentrations en HCl ont été étudiées.

La protonation de la P4VP fut vérifiée par IR et DSC. Les P4VPH<sup>+</sup> obtenues furent ensuite analysées via leur comportement dans l'eau. La taille des particules augmente en raison de la répulsion électrostatique induite par le motif pyridinium, ce qui a pour conséquence de faire gonfler les particules.<sup>214,218,258</sup> Le potentiel zêta en revanche diminue avec l'augmentation de l'acidité, en raison de l'accumulation d'ions chlorides à la surface des particules. Ceci permet donc un ajustement précis de la polarité de la P4VP. Les particules acides de 39 mmolH<sup>+</sup>/g et de potentiel zêta de +57 mV se révèlent les plus efficaces pour stabiliser des émulsions heptane-dans-l'eau que les particules natives ou plus protonées. Les gouttelettes obtenues de tailles  $\approx 7 \mu\text{m}$  montrent une excellente stabilité en conditions de stockage (jusqu'à un an) et sous centrifugation (4024 G) et température (60 °C). Cependant, la déstabilisation peut être facilement obtenue via un changement de pH extrême permettant une séparation de phases et une récupération des particules.

Deuxièmement, la polyéthylèneimine linéaire, un polymère dont la structure est d'apparence simple, mais qui répond à au moins deux stimuli que sont le pH et la température, a été étudiée. L'étude de l'influence de ces paramètres a permis de mettre en exergue les différentes interactions en compétition qui déterminent la conformation du polymère et ainsi la taille des particules et leur solubilité dans l'eau. À 0,1 %m dans l'eau, la LPEI se solubilise à  $\text{pH} < 6$  (à  $T_{\text{amb}}$ ) où des tailles inférieures à 100  $\mu\text{m}$  sont obtenues. Cependant, en étudiant le comportement en température à 1 %m dans l'eau, la LPEI se solubilise à  $T_{\text{amb}}$  aux  $\text{pH} < 4$  cette fois ci, ce qui signifie que la conformation de la LPEI est dirigée par 3 facteurs : le pH, la température, mais aussi la concentration en polymère. La LPEI est ainsi soumise aux forces

hydrophobes attractives lorsque le pH est élevé, la fonction amine est déprotonée, le polymère est donc plus lipophile, il s'agrège et se replie sur lui-même. En milieu acide en revanche, la fonction amine sera protonée, créant des répulsions électrostatiques à la fois entre les chaînes de LPEI mais aussi intramoléculairement, le polymère se désagrège donc et se déploie en solution, provoquant sa solubilisation.

Après une première étape de solubilisation, lorsque la LPEI précipite à froid, sa conformation change pour une structure dihydratée. Lorsque la LPEI est solubilisée, elle crée des liaisons hydrogènes avec l'eau ce qui engendre la formation d'un hydrogel à  $T_{amb}$  et pH naturel ( $\approx 8$ ). La viscosité de cet hydrogel augmente à mesure que la concentration en LPEI et le pH augmentent, la température diminue. Cet hydrogel a été utilisé pour l'élaboration d'émulgels (émulsions stabilisées par une phase continue gel) avec de l'huile de paraffine. La présence de cristaux de LPEI adsorbés à l'interface permet de définir ce système comme un émugel de Pickering. Cet émugel présente un avantage conséquent supplémentaire puisque la phase continue gel inhibe également la coalescence par effet visqueux en plus de la barrière physique créée par les cristaux à l'interface eau/huile. La stabilité d'une émulsion à 2 %m en LPEI est excellente à  $T_{amb}$  et pH naturel, la viscosité est très bonne en condition de stockage et les propriétés viscoélastiques ne montrent pas de fragilité pour le transport. Ces émulgels de Pickering pourraient être adaptés pour le développement de produits pour application topique. Enfin, ces émulgels ont montré d'inattendues propriétés pH et thermoréversibles. En effet, l'émulsion a pu être déstabilisée et recréée 2 fois en modifiant le pH, alors que 10 cycles d'émulsification/déstabilisation en température ont été réalisés. La LPEI se montre ainsi comme un polymère fonctionnel très intéressant et aux multiples applications possibles.



## Partie Expérimentale du Chapitre II

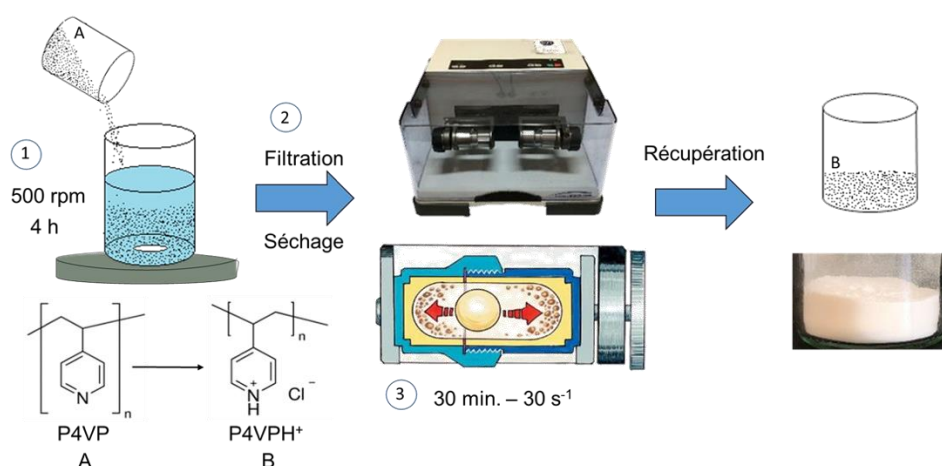
### 1. Informations générales

La P4VP native (réticulée à 2 % avec du DVB) a été achetée chez Sigma-Aldrich. La polyéthylèneimine linéaire ( $M = 25\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) a été achetée chez Alfa Aesar. L'huile de paraffine provient de la société Cooper, et l'acide chlorhydrique (HCl, 34 %) a été acquis chez Verbiess. L'eau a été purifiée à l'aide d'un système de purification de l'eau (Barnstead, Thermo Scientific, USA) avec une résistivité supérieure à  $18,2\text{ M}\Omega\text{ cm}$ . Les autres produits chimiques ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich avec la plus grande pureté et utilisés sans autre purification.

### 2. Préparation des particules de P4VPH<sup>+</sup>

La poudre de P4VP est tout d'abord cryo-broyée à l'aide du broyeur Retsch MM400 (Retsch GmbH, Allemagne). La poudre est placée dans deux bols de broyage en acier inoxydable de 25 mL remplis comme suit : 1/3 de billes en acier inoxydable de 5 mm de diamètre, 1/3 de poudre à broyer, et 1/3 d'air. Les bols sont immergés dans l'azote liquide pendant environ 4 minutes et positionnés horizontalement sur le broyeur. L'appareil est réglé à une fréquence de  $30\text{ s}^{-1}$ .

Les particules de P4VPH<sup>+</sup> ont été préparées en ajoutant 500 mg de P4VP broyée dans des solutions aqueuses de 50 mL à différentes concentrations de HCl. Les solutions ont été placées sous agitation douce ( $\approx 500\text{ rpm}$ ) pendant 4 heures. Les particules sont ensuite filtrées, séchées à l'étuve à  $80\text{ }^\circ\text{C}$  pendant une nuit. Une dernière étape de cryobroyage est réalisée comme décrit précédemment pour récupérer les particules préparées. La détermination de la taille des particules décrite précédemment est réalisée après cette étape.



**Figure 2.38 :** Représentation schématique du processus de préparation des particules natives de P4VP en P4VPH<sup>+</sup>

Le diamètre moyen des particules a été mesuré avec le Mastersizer 3000 (Malvern Instrument, UK). Les particules sont immergées dans un bain d'eau à une vitesse d'agitation de  $1800\text{ rpm}$  directement connecté à l'appareil et sont ensuite analysées. La taille des particules

protonées a été mesurée après la dernière étape de préparation. Toutes les mesures ont été faites en triplicat avec des lavages à l'eau de l'appareil entre chaque mesure.

L'acidité des P4VPH<sup>+</sup> préparées a été déterminée par titrage des ions H<sup>+</sup>. Les particules séchées (avant le dernier cryobroyage) sont ajoutées dans 50 mL d'une solution aqueuse de NaCl 0,5 M sous agitation constante (500 rpm) pendant une nuit. Ensuite, cette solution est titrée par une solution aqueuse de NaOH (de 0,01 à 0,05 M). L'acidité de l'eau après dispersion de 1 % en poids de la particule préparée a été mesurée par le pH-mètre 330i (WTW, Allemagne).

Les spectres infrarouges ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre Nicolet 380 FTIR (Thermo Electron Corp., USA) équipé d'un détecteur DTGS (deuterated triglycine sulfate) et d'un accessoire d'échantillonnage smart orbit single reflection diamond ATR. L'absorbance a été mesurée dans la gamme de longueur d'onde de 4000 - 500 cm<sup>-1</sup> avec une résolution de 1 cm<sup>-1</sup>. Trente-deux balayages ont été effectués pour chaque échantillon. Le logiciel OMNIC Lite a été utilisé pour l'analyse des spectres. Les mesures ATG ont été effectuées à l'aide d'un TGA Q500 (TA Instruments, USA) sous atmosphère d'azote, à un débit de 60 mL.min<sup>-1</sup>. 10 à 20 mg de particules ont été pesés dans la nacelle et introduits dans le four pour être chauffés de 25 °C à 550 °C à une vitesse de chauffage de 10 °C.min<sup>-1</sup>.

Les angles de contact ( $\theta$ ) ont été mesurés selon la méthode d'étalement. Les particules de P4VP ont été comprimées à une pression de 1800 bars pendant 1 min et les angles de contact ont été déterminés à l'aide de l'analyseur de forme de goutte DSA 100 (Krüss GmbH, Allemagne) en déposant 4  $\mu$ L de solvant (glycérol ou huile de paraffine) sur les particules comprimées.

### 3. Potentiel zêta et diamètre des particules

Le potentiel zêta et le diamètre des particules de dispersions des particules de P4VP, P4VPH<sup>+</sup> et de LPEI à 0,05 %m dans l'eau ont été mesurés sur un zétasizer NanoZS (Malvern Instruments, UK) en insérant les dispersions dans la cellule DTS1070 et la cuvette en verre Hellma 100-OS 10 mm respectivement. Les échantillons sont laissés au repos à 25 °C avant une série de 10 à 100 mesures maximum. Pour le potentiel zêta, la mesure s'arrête automatiquement une fois que l'écart-type des valeurs relevées est inférieur à 10 mV. 3 séries de mesures sont effectuées par échantillons pour s'assurer de la répétabilité.

### 4. Stabilité des dispersions

La vitesse de sédimentation des particules de P4VP, P4VPH<sup>+</sup> et de LPEI à 0,01 %m dans l'eau a été déterminée grâce à un Turbiscan® (Formulation, USA). Pour disperser les particules, une sonotrode en titane S26d7 ( $\varnothing = 7$  mm, L = 95 mm), montée sur un processeur à ultrasons UP200St (Hielscher Ultrasonics GmbH, Allemagne), est placée à environ 1 mm sous la surface de l'échantillon, programmée pour opérer pendant 2 minutes avec une amplitude de 30 % et une impulsion de 50 % (temps de travail effectif). L'échantillon est immergé dans un bain thermostaté pour éviter une surchauffe due aux ultrasons. Dès que la dispersion est terminée, l'échantillon est récupéré et inséré dans un analyseur Turbiscan® où le profil de dispersion est

analysé toutes les 25 secondes en transmission et en rétrodiffusion. Les données permettent d'accéder à l'indice de stabilité Turbiscan® (TSI) qui est tracé en fonction du temps. La tangente à l'origine est calculée et son équation permet de remonter à la vitesse de sédimentation, en  $\%.s^{-1}$ .

### 5. Solubilisation et précipitation de la LPEI

Le comportement thermosensible des dispersions de 0,1 %m de LPEI aux différents pH (ajusté par solutions de HCl ou NaOH) a été visuellement analysé par chauffage et refroidissement des échantillons de 20 à 80 °C puis de 80 à 2 °C environ dans un bain thermostaté avec une agitation de 300 rpm. La température était suivie dans le bain pour mesurer la température de solubilisation et de précipitation.

### 6. Préparation de l'hydrogel de LPEI

La formation des hydrogels fut étudiée grâce à des échantillons contenant différentes quantités de LPEI dans l'eau, suivi d'un chauffage des échantillons de 20 à 75 °C (1 °C/min et isotherme à 70 °C pendant 15 min) dans un bain thermostaté à une vitesse d'agitation constante de 300 rpm. Ensuite, les échantillons sont retirés du bain thermostaté pour revenir à température ambiante naturellement, sans agitation.

### 7. Microscopie

Les microphotographies optiques des échantillons sont obtenues en utilisant un microscope KEYENCE VHX-900F digital équipé d'une lentille VH-Z100UR/W/T avec un zoom allant de x100 à x1000. Les images sont analysées avec le logiciel KEYENCE 1.6.1.0. La morphologie des particules et leur microstructure ont été inspectées par microscopie électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET) respectivement. Les images MEB ont été récupérées à l'aide d'un JSM-7800F LV (Jeol, Japon) fonctionnant à 5 kV. Une goutte des particules dispersées dans l'eau a été déposée sur un ruban adhésif conducteur en carbone collé sur un stub (rayon de 1.3 cm) et les observations ont été réalisées après l'évaporation de l'eau par séchage à l'air et chromage. Les micrographies en MET ont été obtenues sur un microscope TECNAI G2-20 Twin (FEI, USA), équipé d'un filament LaB6 fonctionnant à 200 kV. Deux gouttes de suspension de nanoparticules ont été déposées sur une grille en carbone-cuivre (CF200-Cu, Electron Microscopy Sciences, USA).

### 8. Élaboration des émulsions

La P4VP, P4VPH<sup>+</sup> ou LPEI et l'eau sont pesées dans cet ordre. Pour la LPEI, la formation de l'hydrogel est effectuée comme décrit dans la procédure 4. L'heptane pour la P4VP et P4VPH<sup>+</sup> et la paraffine liquide pour la LPEI sont ajoutés après cette étape. L'émulsification est réalisée à l'aide d'un Ultraturrax® (T10 basic, IKA, Allemagne), tige de 8 mm de diamètre, 2 pales au rotor et 7 fentes au stator, à 11 500 rpm pendant 60 secondes à 25 °C dans un tube scellé de 5 mL. Immédiatement après émulsification, le type d'émulsion est déterminé en utilisant une cellule de conductivité électrique. Les émulsions obtenues sont ensuite analysées visuellement pour leur viscosité apparentes, leur couleur et leur homogénéité. La distribution de tailles des

gouttelettes est obtenue après traitement d'au moins 200 mesures de diamètres sur les microphotographies avec la fonction log-normal du logiciel OriginPro 8<sup>®</sup> (OriginLab, USA). Les tailles moyennes ont été mesurées 3 fois pour assurer la répétabilité.

### 9. Stabilité des émulsions

La stabilité des émulsions a été mesurée à température constante (25°C) pendant 2 jours à l'aide d'un Turbiscan Lab Expert (Formulaction, USA) par diffusion multiple de la lumière. Les émulsions sont placées dans des tubes en verres et insérées dans le Turbiscan Lab Expert analyser. Les analyses de stabilité sont réalisées par variation des profils de rétrodiffusion ( $\Delta BS$ ). Les mesures ont été effectuées à l'aide d'une diode électroluminescente pulsée proche de l'IT à une longueur d'onde de 880 nm. Deux capteurs optiques synchrones différents ont reçu la lumière transmise à travers les échantillons et rétrodiffusée par ces derniers à un angle de 180° et 45° par rapport au rayonnement incident, respectivement. Les deux capteurs ont balayé toute la hauteur de l'échantillon ( $\approx 25$  mm). Les données expérimentales ont été corrélées en pourcentage au flux lumineux de deux standards de référence constituées d'une suspension de latex de polystyrène (absence de transmission et rétrodiffusion maximale) et une huile de silicone (transmission maximale et absence de rétrodiffusion).

### 10. Mesures rhéologiques

Les propriétés rhéologiques des hydrogels et des émulsions ont été évaluées en utilisant un rhéomètre Malvern Kinexus (Malvern Instrument, UK) équipé d'un mobile à géométrie cône-plan de 20 mm de diamètre. La température de l'échantillon est contrôlée à l'aide d'un dispositif Peltier de contrôle de température situé sous la plaque inférieure avec une précision de 0,01 °C. Les mesures contrôlées en balayage de contrainte ont été effectuées en imposant une augmentation de la rampe de contrainte logarithmique suivie d'une diminution inverse de la contrainte, de 0 à 500 Pa. Des essais de balayage en fréquence ont été réalisés de 0,1 à 10 Hz avec une déformation fixe de 0,1 % pour s'assurer que toutes les mesures étaient effectuées dans la région viscoélastique linéaire. Enfin, des mesures sous contrôle de température ont également été réalisées à taux de cisaillement fixe, selon l'échantillon, de 20 à 70 °C à 1 °C/min.

### 11. Déstabilisation des émulsions à base de P4VPH<sup>+</sup>

Approximativement 3 mL d'émulsion sont pipetés dans un vial en verre ( $\varnothing = 16$  mm, H = 60 mm) suivi d'un ajout de solution d'HCl (5 M ; 0,2 mL), de NaOH (5 M ; 0,2 mL) ou de NaCl (0,5 M, 0,5 mL). L'émulsion fut maintenue à température ambiante pendant toute une nuit. Pour obtenir une séparation parfaite des phases, la centrifugation est parfois utilisée à l'aide d'une centrifugeuse Sigma 2-16 PK équipée d'un rotor Sigma 11192 382/G où les porte-échantillons sont positionnés à 6 cm du centre du rotor (20 min à 4024 G).

### 12. Propriétés thermoréversibles des émulsions de LPEI

Une émulsion à 2 %m de LPEI, avec un ratio eau/paraffine liquide de 1, préparée en suivant les étapes décrites ci-dessus, a été placée dans un bain thermostaté chauffé à 75 °C, sans agitation. Après avoir obtenu une démixtion complète de l'émulsion et un retour à température

ambiante hors du bain, une ré-émulsification a été appliquée dans le même échantillon avec l'Ultraturrax à 11500 rpm pendant 60 s à 25 °C. L'émulsion obtenue est laissée pendant 3 heures à température ambiante pour équilibrage, puis replacée dans le bain pour appliquer le même procédé. Plusieurs cycles de chauffage-ré-émulsification ont été effectués jusqu'au 10<sup>e</sup> cycle.

### 13. Propriétés pH-réversibles des émulsions de LPEI

Une émulsion à 2 %m de LPEI, avec un ratio eau/paraffine liquide de 1, préparée en suivant les étapes décrites ci-dessus. Le pH du milieu est suivi via pH-mètre (pH 330i/SET). Le pH est modifié de 8 à 5 via ajout de solution aqueuse de HCl (5 M ;  $\approx$  0,3 mL). Pour obtenir une séparation de phases parfaite, la centrifugation est utilisée (5 min à 4024 G). Le pH est ensuite ramené à 8 via ajout de solution de NaOH (5 M ;  $\approx$  0,3 mL). L'hydrogel se reforme instantanément et une nouvelle étape d'émulsification est appliquée à l'Ultraturrax (11500 rpm, 60 s). L'émulsion obtenue est laissée 3 h à température ambiante pour équilibration et mesure de l'indice d'émulsion. Le même processus est répété une fois.

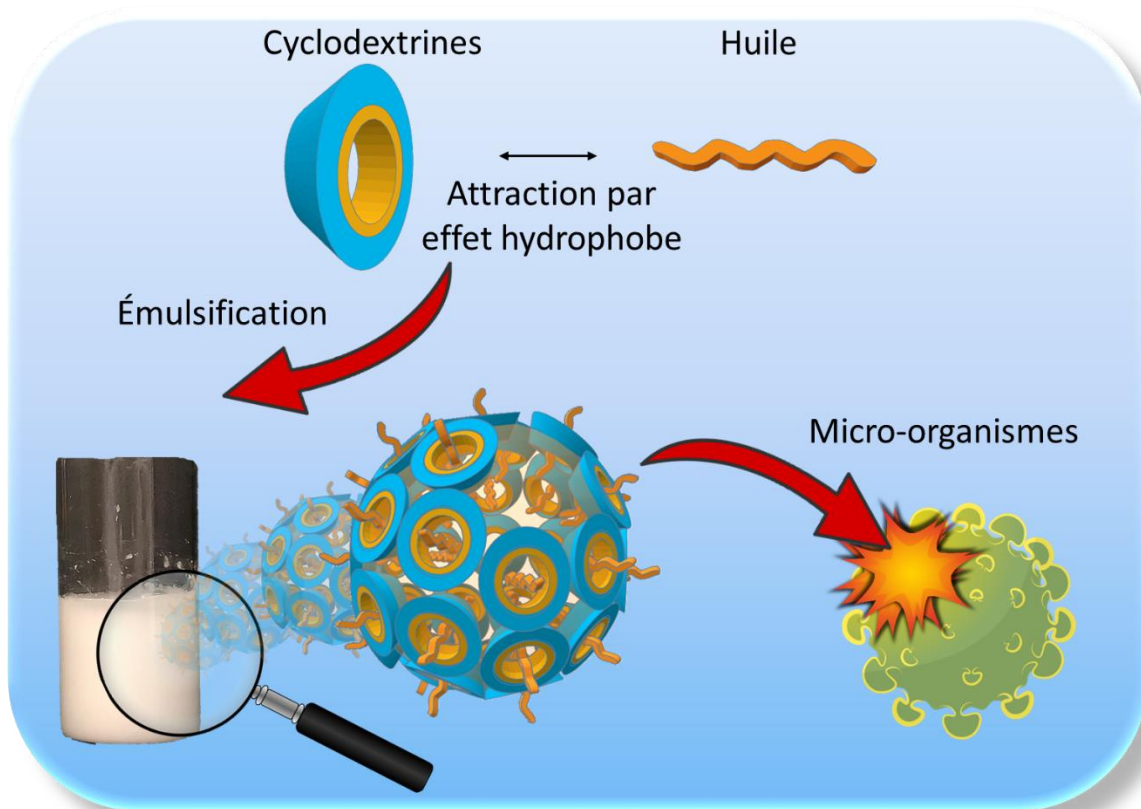




# Chapitre III :

## Émulsions de Pickering aux propriétés antibactériennes et antimicrobiennes à base de cyclodextrines

---





Dans ce chapitre, un nouveau système issu d'un concept relativement récent, la tectonique colloïdale, sera étudié. Ce concept décrit la formation spontanée de structures (supra)colloïdales en utilisant des sous unités appelées « tectons ». Les tectons sont des molécules contenant en leur structure des sites de reconnaissance complémentaires. Ces molécules possèdent des forces d'attraction fortes et bien définies qui induisent des réseaux moléculaires contrôlés et prévisibles à l'état solide. Les tectons s'auto-assemblent ainsi aux moyens d'interactions non covalentes,<sup>259</sup> et créent des superstructures complexes, appelées « molécules colloïdales ». Ainsi, la formation d'ensembles supracolloïdaux (comme les émulsions de Pickering) à partir de sous-unités tectoniques a été définie comme la tectonique colloïdale.<sup>260</sup> Ce concept est dérivé de celui de la chimie supramoléculaire introduite par Lehn, Pedersen et Cram dans les années 1960. Le choix des tectons et les possibilités d'association offrent donc une variété infinie de systèmes (supra)colloïdaux réversibles, aux propriétés prévisibles et commutables. Par conséquent, ces systèmes peuvent être utiles pour un large éventail d'applications, notamment les systèmes catalytiques,<sup>136,142,261</sup> ou encore l'administration de médicaments, comme on va le voir dans cette étude.

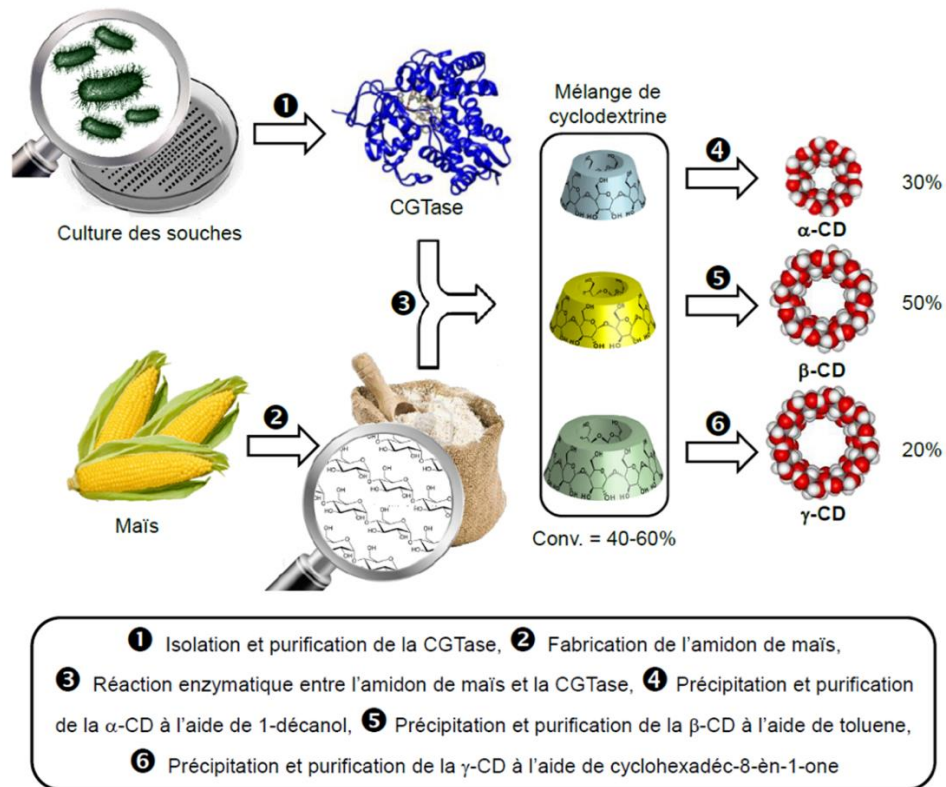
Nous allons utiliser, *via* la formation de ces structures auto-assemblées, l'élaboration d'émulsions de Pickering avec des systèmes simples, à base de tectons biosourcés. Les structures colloïdales cristallines obtenues possèdent, grâce au choix des tectons, des propriétés amphiphiles et s'adsorbent à l'interface eau/huile et stabiliser efficacement les émulsions de Pickering. Les structures obtenues seront caractérisées par différentes méthodes d'analyse, et les propriétés physicochimiques des émulsions seront étudiées afin d'appliquer ces systèmes dans l'élaboration d'une formule antibactérienne, antifongique et antibiofilm.

## I] Les Cyclodextrines : préambule bibliographique

### I.1 – Synthèse, propriétés et applications

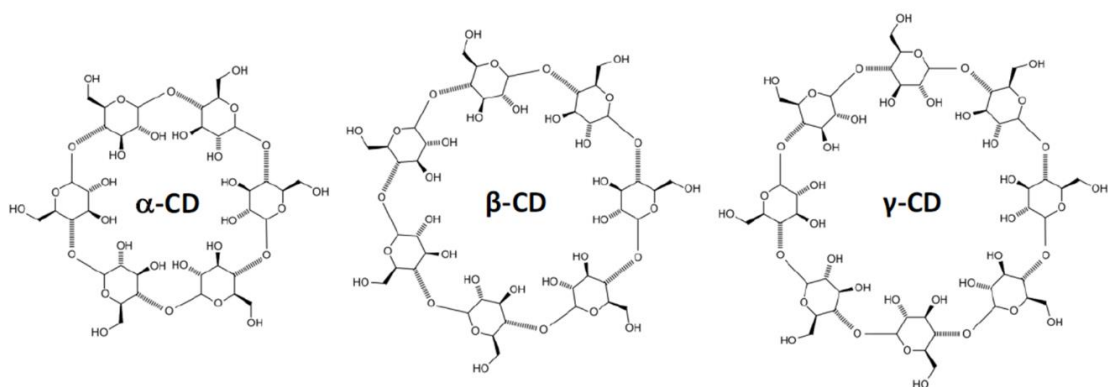
#### I.1.a – Présentation

Les cyclodextrines (CDs), appelées également cycloamyloses, ou encore *Schardinger dextrins*, sont des molécules d'origine naturelle découvertes par le chimiste français Villiers en 1891.<sup>262</sup> Ce sont des oligomères (oligosaccharides) cycliques constitués de  $n$  unités de  $D(+)$ -glucopyranose reliées par des liaisons  $\alpha$ -(1,4). Les cyclodextrines les plus communes (ou utilisées), sont composées de 6, 7 ou 8 unités glucose, mais il en existe avec des valeurs de  $n$  bien plus élevées, 30 voire plus. Elles proviennent de la dégradation enzymatique de l'amidon par la cycloglycosyl-transférase (CGTases). Les CDs ont de nombreux avantages. L'amidon est une matière première peu coûteuse et disponible en quantité illimitée, la méthode de synthèse est simple, non polluante et avec très peu de produits. Les CDs sont non toxiques, biodégradables (le glucose étant son principal produit de dégradation), et leur coût de production est faible en raison de la demande croissante. Les principaux producteurs de CDs sont Wacker Chemie AG (Allemagne), Roquette Frères (France), Cargill (USA) et Ensuiko Sugar Refining (Japon). La **Figure 3.1** résume la méthode de production des cyclodextrines.<sup>263</sup>



**Figure 3.1 :** Méthode de production enzymatique des cyclodextrines à partir de l'amidon de maïs.<sup>263</sup>

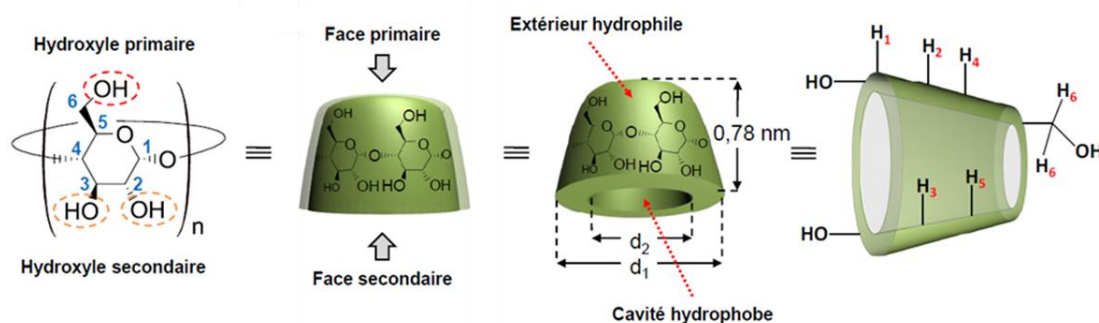
La synthèse se déroule en deux étapes : tout d'abord l'hydrolyse de l'amidon par la CGTase, qui conduit à un mélange de  $\alpha$ -,  $\beta$ -, et  $\gamma$ -CDs. Ensuite, les CDs natives sont séparées et purifiées par précipitation sélective grâce à la formation de complexes d'inclusion ( $\alpha$ -,  $\beta$ -, et  $\gamma$ -CDs cristallisent avec le 1-décanol, le toluène, et le cyclohexadéc-8-èn-1-one, respectivement). La méthode de production a cependant été améliorée grâce à l'utilisation de CGTases plus sélectives envers un type de CD.<sup>263-266</sup>



**Figure 3.2 :** Structure chimique des trois cyclodextrines natives les plus utilisées et étudiées : les  $\alpha$ -,  $\beta$ -, et  $\gamma$ -CDs, composées de 6, 7 et 8 unités glucopyranose respectivement, reliées par des liaisons  $\alpha$ -(1,4).<sup>263</sup>

Les cyclodextrines ont la forme de cônes tronqués (**Figure 3.2**) en raison de leur conformation chaise  ${}^4C_1$  et du manque de libre rotation des liaisons entre les unités glucopyranoses.<sup>267</sup> Elles possèdent donc une cavité centrale bordée par les groupements

hydroxyles. La cavité est plus étroite d'un côté que de l'autre, le côté étroit, plus communément appelé face primaire (**Figure 3.3**), regroupe les fonctions hydroxyles primaires portées par le carbone C<sub>6</sub>. Le côté le plus large, la face secondaire, se voit quant à elle bordée par les groupes hydroxyles des carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub>. Enfin, les protons des carbones ont une orientation différente. En effet, les protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> sont orientés vers l'intérieur de la cavité, alors que les protons H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub> et les deux H<sub>6</sub> pointent vers l'extérieur de la CD (**Figure 3.3**).



**Figure 3.3** : Représentation schématique d'une cyclodextrine avec explication de quelques caractéristiques communes à chaque CD. Adaptée de <sup>263</sup>.

Ce positionnement confère des propriétés amphiphiles particulières aux CDs, puisque l'orientation des groupements crée une différence de polarité entre l'intérieur et l'extérieur du cône tronqué. En effet, la présence d'un nombre plus important de groupes hydroxyles primaires et secondaires vers l'extérieur de la structure lui octroie un caractère hydrophile. La cavité quant à elle présente un caractère plutôt hydrophobe et apolaire, grâce aux oxygènes des liaisons glycosidiques, dont les doublets non-liants sont dirigés vers l'intérieur, et aux hydrogènes H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub>. La densité électronique est augmentée ce qui confère à la cavité un caractère de base de Lewis.<sup>268</sup> Ainsi, les CDs ont une bonne solubilité dans l'eau, et créent, en présence de molécules hydrophobes de tous types, des forces attractives permettant d'accueillir ces molécules en leur sein, pour créer ce qu'on appelle des complexes d'inclusion. La formation de ces complexes est fonction, entre autres des interactions attractives mais également de la taille de la molécule invitée. Le **Tableau 3.1** présente les caractéristiques des principales cyclodextrines.

**Tableau 3.1** : Caractéristiques principales des CDs natives les plus utilisées.<sup>263,267,269,270</sup>

Cyclodextrine	n	M <sub>w</sub> (g.mol <sup>-1</sup> )	d <sub>interne</sub> (nm)	d <sub>externe</sub> (nm)	Volume de la cavité (nm <sup>3</sup> )	Solubilité dans l'eau (g.L <sup>-1</sup> )	N <sub>H<sub>2</sub>O</sub> <sup>[a]</sup>
α-CD	6	972	1.37	5	0.174	129.5	7
β-CD	7	1135	1.53	6.5	0.262	18.4	12
γ-CD	8	1297	1.69	8.5	0.472	249.2	15

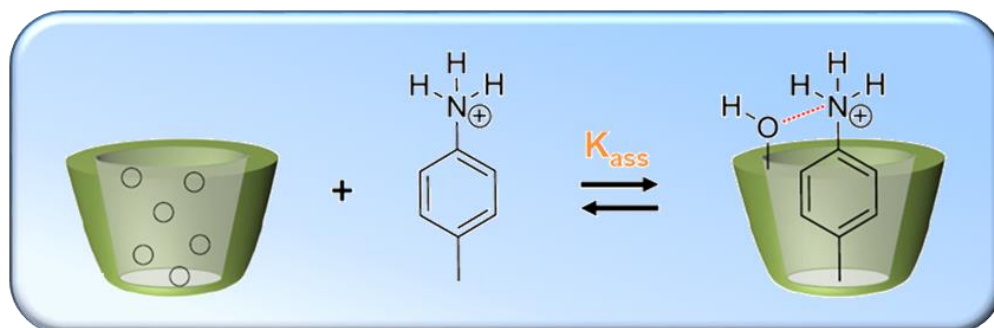
[a] N<sub>H<sub>2</sub>O</sub> : Nombre moyen de molécules d'eau retenues dans la cavité

Un paramètre retient plus particulièrement l'attention, c'est le fait que la β-CD soit beaucoup moins soluble en solution aqueuse que ses homologues α- et γ-CDs. Une des

explications apportées est que les CD présentent une ceinture de liaisons intramoléculaires à l'extérieur du cône tronqué. Cette ceinture est créée par les groupes hydroxyles portés par les carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> de deux unités de glucopyranoses voisines, et la β-CD présente une ceinture complète sur tout le tour de celle-ci, ce qui a pour conséquence d'abaisser sa solvatation par l'eau.<sup>268</sup> Cependant, la β-CD se présente comme la plus adaptée en termes de taille de cavité pour créer des complexes d'inclusion avec une variété d'invités hydrophobes. Afin d'améliorer la solubilité de ces β-CD en milieu aqueux, de nombreuses CD modifiées ont été développées. Ces modifications peuvent également être utilisées pour augmenter la reconnaissance d'une molécule invitée. Les groupes hydroxyles permettant une modification de la CD très aisée : alkylation, acétylation, amination, estérification, éthérification, hydroxyalkylation, phosphatation, sulfatation, *etc.*<sup>267,271,272</sup> Les dérivés de CD les plus utilisés et disponibles commercialement sont les dérivés possédant des méthyles, hydroxypropyles, sulfobutyles, alors que plus de 15 000 dérivés différents ont été reportés à ce jour.<sup>268,271,273</sup>

### I.1.b – Complexation des cyclodextrines

Grâce à cette cavité hydrophobe leur permettant d'accueillir des molécules invitées, les cyclodextrines sont donc des molécules hôtes qui forment des complexes d'inclusion aussi diverses que les molécules pouvant être accueillies. En effet, il n'est pas nécessaire que la molécule invitée soit complètement logée dans la cavité. Il est intéressant de rappeler que lors du processus d'inclusion, aucune liaison covalente ne se forme. La formation du complexe est essentiellement due à des interactions hydrophobes (**Figure 3.4**).



**Figure 3.4 :** Représentation schématique de la formation d'un complexe d'inclusion en phase aqueuse entre une CD et une molécule de *p*-toluidine, qui se positionne à la place des molécules d'eau et être stabilisée par des liaisons avec les alcools primaires de la CD. Les petits cercles représentent les molécules d'eau.

Des interactions dipolaires de type van der Waals sont mises en jeu, mais il faut également prendre en compte les effets de solvant (la libération d'eau à haute énergie). De plus, certains invités sont capables de former des liaisons hydrogène avec les CDs, renforçant par la même occasion la stabilité du complexe formé.<sup>263,267,268,274,275</sup> Enfin, une nouvelle fois, l'adéquation entre la forme de l'invité et la CD est importante pour garantir la formation du complexe d'inclusion.<sup>275</sup> Toutes ces interactions sont responsables de la tenue de la molécule invitée dans la cavité de la CD. Le processus est exothermique, et conduit à un équilibre chimique entre le récepteur et le substrat libres et le complexe, quantifié par la constante d'équilibre  $K_{ass}$  (**Figure**

3.4). L'équilibre peut être déplacé *via* l'utilisation d'ultrasons ou de chauffage, ou lorsqu'il y a compétition entre deux invités.<sup>276</sup>

Cependant, il se peut que la molécule invitée soit bien plus petite que la cavité de la CD, et que le complexe soit tout de même formé. Il existe plusieurs stœchiométries possibles en fonction de l'invité. Ainsi, plusieurs molécules invitées peuvent être complexées par la même cyclodextrine, et deux CDs peuvent complexer la même molécule si la taille de cette dernière le permet. Ainsi, pour une nomenclature de type m:n (avec m : nombre de CDs impliquées, et n : nombre de molécules invitées complexées), on retrouve couramment des complexes de stœchiométrie 1:1, 2:1, 1:2<sup>277</sup>, voire 2:2, 1:3 ou encore 4:5 dans certains cas.<sup>268,278</sup> Enfin, les CDs sont parfois capables de s'auto-associer entre elles pour former des agrégats ou des micelles en solution aqueuse, cette propriété étant liée à leur structure chimique.<sup>279</sup> Cette flexibilité des cyclodextrines permet donc leur utilisation dans de nombreux secteurs.

#### I.1.c – Applications des cyclodextrines

Découvertes il y a 130 ans maintenant, les CDs n'ont été utilisées industriellement qu'à partir des années 1980 en pharmacie, agroalimentaire et en chromatographie.<sup>274</sup> Depuis, les CDs ont connu une hausse de popularité et un essor important, pour de nombreuses raisons : (i) Tout d'abord elles sont produites à partir de l'amidon, matière première renouvelable,<sup>267,274,280</sup> (ii) les méthodes de fabrication reposent uniquement sur l'utilisation d'enzymes respectueuses de l'environnement,<sup>263-266</sup> (iii) elles sont relativement peu coûteuses,<sup>268</sup> (iv) elles sont biodégradables (82 % en 28 jours pour la  $\beta$ -CD),<sup>281</sup> (v) elles sont facilement fonctionnalisables,<sup>272</sup> (vi) elles sont biocompatibles et peu toxiques, (vii) enfin, elles sont hydrosolubles et possèdent des propriétés d'encapsulation versatiles.<sup>267,268,274,280,282-289</sup>

Ces propriétés uniques font qu'elles sont utilisées de nos jours dans quasiment tous les secteurs de l'industrie. On les rencontre tout d'abord dans le domaine de la pharmacie. En effet, les principes actifs sont généralement peu ou pas solubles en milieu aqueux et sont donc très peu biodisponibles.<sup>290</sup> Pour contrer cela, on utilisait traditionnellement des co-solvants organiques comme l'éthanol ou le propylène glycol ou des tensioactifs. Cependant, ces molécules peuvent provoquer des effets secondaires notables. Ainsi, c'est à partir de 1953 que l'on se rend compte que les cyclodextrines et leurs dérivés se présentent comme une alternative intéressante grâce à la formation de complexes d'inclusion avec les matières actives hydrophobes.<sup>291-293</sup> En effet, ces complexes augmentent la stabilité et la biodisponibilité des principes actifs,<sup>294-296</sup> tout en permettant d'obtenir une meilleure vectorisation de ces derniers.<sup>297</sup> Enfin, elles réduisent les effets secondaires ainsi que l'amertume du goût en cas de médicament oral.<sup>298-300</sup> L'ensemble de ces avantages explique que l'industrie pharmaceutique soit devenue le principal utilisateur de ces CDs.<sup>301</sup>

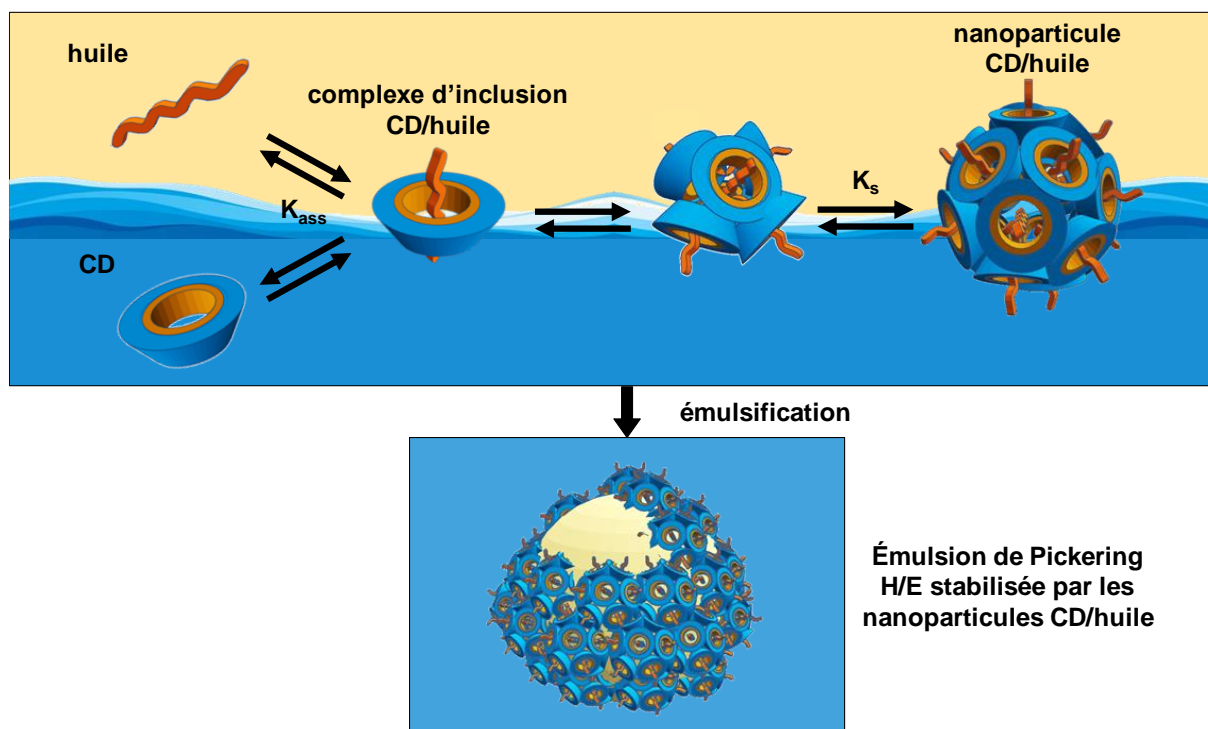
Dans le domaine cosmétique, les CDs sont très utilisées pour leurs propriétés de relargage contrôlé, de stabilisation et de protection des molécules invitées. Elles diminuent ainsi la volatilité des parfums et permettent de faire durer leur odeur, elles protègent les colorants et vitamines contre la dégradation, l'oxydation ou encore l'hydrolyse, stabilisent les dispersions



et émulsions grâce à l'adsorption des complexes d'inclusion aux interfaces, réduisent ou éliminent les odeurs désagréables, ou encore diminuent les irritations de la peau.<sup>302-304</sup> Ces propriétés sont également très utiles dans le domaine agroalimentaire puisque les cyclodextrines forment des complexes d'inclusion avec les graisses, les arômes et colorants, ce qui permet de masquer et supprimer les composants ou odeurs indésirables et/ou relarguer d'autres composés avec le temps.<sup>305</sup> Les CDs sont également utilisées dans le domaine du textile, à la fois pour supprimer les mauvaises odeurs à leur apparition, stabiliser les couleurs du tissu en réduisant leur perte au lavage, mais aussi pour l'encapsulation d'actifs biocides ou d'agents amincissants.<sup>306-309</sup> Enfin, les CDs sont également très utiles pour l'environnement (dépollution des eaux usées, enrichissement du sol et de l'atmosphère par déplacement des polluants organiques et métaux lourds, formulation d'insecticides, *etc.*),<sup>310-313</sup> en catalyse dans diverses réactions,<sup>314-316</sup> et enfin en analyse (chromatographie pour la séparation chirale, en phase gazeuse, chromatographie d'échange d'ions et d'affinité, électrophorèse capillaire ou sur gel, séparation sur membranes, *etc.*).<sup>317-320</sup> Deux des applications commercialisées les plus connues utilisant des cyclodextrines sont les Nicorette<sup>®</sup> (gommes sevrantes contre le tabagisme), et le Febreze<sup>®</sup> (désodorisant pour le textile et l'intérieur). Beaucoup d'autres exemples existent et sont référencés.<sup>273,280</sup>

## 1.2 – Les cyclodextrines et émulsions de Pickering : tectonique colloïdale

Une alternative intelligente à la stabilisation d'émulsion de Pickering par des nanoparticules comme la silice est d'exploiter des structures auto-assemblées de nanoparticules selon le concept de tectonique colloïdale. Ce dernier permet la construction de systèmes colloïdaux à partir de molécules appelées « tectons ». Ces tectons sont généralement de polarités opposées : un « hydrophobe » et un « hydrophile » et leur auto-association permet l'obtention de particules, ou cristaux amphiphiles qui stabilisent dans certains cas des émulsions de Pickering (**Figure 3.5**). Les cyclodextrines dans notre cas, ont été reportées comme émulsifiants pour la première fois en 1991 par Shimada.<sup>321</sup> Ainsi, il a été montré qu'en présence d'eau et d'une huile, judicieusement choisie, les cyclodextrines sont capables de complexer les molécules d'huile. Ces complexes amphiphiles cristallisent et s'adsorbent à l'interface eau/huile. Ainsi, notre laboratoire a développé un système de catalyse oxydante sans solvant grâce à la formation d'émulsion de Pickering basé sur la complexation CD/substrat avec la présence d'un polyoxométalate (POM) en tant que catalyseur dans la phase aqueuse.<sup>322</sup> Des émulsions de Pickering avec l'huile de paraffine ou le myristate d'isopropyle comme solvant et molécule invitée pour former des complexes d'inclusion avec la  $\beta$ -CD ont également été développées.<sup>323</sup> Les émulsions obtenues se sont montrées très stables contre la coalescence et très adaptées à des applications topiques. Ainsi, avec l'ajout d'une matière active dérivée du miconazole, le bromure de miconazoctylium, les formulations de composition très simples se sont montrées au moins aussi efficaces que les crèmes antifongiques disponibles commercialement.<sup>323</sup>



**Figure 3.5 :** Représentation schématique de la stabilisation d'émulsions de Pickering grâce à la formation de complexes d'inclusion moléculaires CD/huile auto-associés en nanoparticules ( $K_{ass}$  et  $K_s$  sont les constantes d'association et de solubilité, respectivement).

## II] Émulsion de Pickering à base de $\beta$ -CD et de carvacrol et terpinène-4-ol.

L'invasion d'un organisme par des agents pathogènes (bactéries, champignons, *etc.*) peut causer des problèmes de santé et même entraîner la mort. Bien que les hôtes puissent réagir en utilisant leur système immunitaire, les médicaments sont largement prescrits pour aider à combattre ces maladies infectieuses.<sup>324</sup> Cependant, comme l'interaction médicament/cible est très sélective et spécifique, les antibiotiques sont généralement actifs sur les bactéries mais pas sur les champignons et *vice versa*.<sup>325</sup> Par conséquent, les antifongiques et les antibiotiques sont utilisés pour combattre les champignons et les bactéries, respectivement. Malheureusement, comme les infections fongiques peuvent être surinfectées par des bactéries, le traitement antifongique peut entraîner une prolifération bactérienne.<sup>326</sup> Inversement, la croissance accrue du microbiote fongique est un effet secondaire courant de l'antibiothérapie.<sup>327</sup> Ceci est particulièrement frappant chez les patients immunodéprimés pour lesquels les infections superficielles, fréquemment causées par *Candida albicans* (*C. albicans*), peuvent conduire à une candidose de l'œsophage ou à une candidémie (la quatrième cause d'infections sanguines aux États-Unis).<sup>328</sup> En outre, les patients affaiblis courent un plus grand risque de contracter des infections nosocomiales : On estime que les bactéries à Gram négatif (par exemple *Escherichia coli*) sont responsables de deux tiers des 25 000 décès annuels dans les hôpitaux en Europe.<sup>329</sup> L'exposition répétée aux antimicrobiens peut être un facteur aggravant, car la pression sélective croissante entraîne l'émergence de micro-organismes résistants (par exemple, le *Staphylococcus Aureus* résistant à la méthicilline, SARM (Gram positif)).<sup>330</sup> En outre, la formation de biofilms (accrétion d'antimicrobiens, conduisant à des maladies chroniques).<sup>331</sup> Par exemple, *S. aureus* forme des biofilms responsables de plus de 50 000 décès par an aux États-Unis.<sup>332,333</sup> Dans ce contexte, des antimicrobiens capables d'éradiquer les biofilms avec un large spectre antibactérien et antifongique sont nécessaires.<sup>334-336</sup>

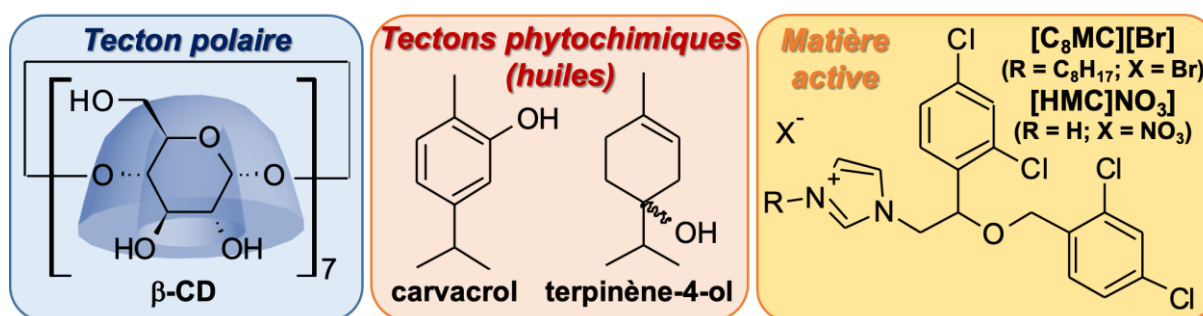
Parmi les nombreux antimicrobiens employés commercialement, le nitrate de miconazole, [HMC][NO<sub>3</sub>], répond partiellement à cette demande.<sup>337</sup> En effet, il est actif contre une large gamme de champignons et de bactéries Gram-positives. Son activité antifongique est due à l'inhibition de la lanostérol 14- $\alpha$ -déméthylase, impliquée dans la synthèse de l'ergostérol.<sup>338</sup> L'ergostérol étant un constituant majeur de la membrane fongique, sa déplétion et l'accumulation de précurseurs toxiques entraînent une inhibition de sa croissance. De plus, [HMC][NO<sub>3</sub>] induit la génération et l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).<sup>339</sup> Ces ROS agissent comme des inhibiteurs de la désoxygénation de l'oxyde nitrique, entraînant des dommages structurels cellulaires significatifs avec des effets létaux.<sup>340</sup> Bien que l'[HMC][NO<sub>3</sub>] soit inefficace contre les bactéries Gram-négatives et les biofilms, sa *N*-alkylation avec le bromure de *n*-octyle a permis de renforcer son activité antimicrobienne.<sup>341</sup>

Dans cette étude, nous avons décidé de formuler et de potentialiser l'activité du bromure de miconazoctylum en utilisant le carvacrol<sup>342</sup> et le terpinen-4-ol<sup>343</sup>, deux substances phytochimiques connues pour perméabiliser les membranes microbiennes. L'huile de paraffine a également été utilisée comme référence en raison de son utilisation très fréquente en tant

que solvant dans de nombreuses crèmes médicinales commerciales, et elle est connue pour produire facilement des émulsions de Pickering en présence de  $\beta$ -CD.

### II.1 – Carvacrol et terpinène-4-ol : des huiles phytochimiques

Ces deux composés liquides, insolubles dans l'eau et toxiques pour les cellules microbiennes, peuvent être utilisés pour obtenir des systèmes aqueux biphasiques dans lesquels les huiles phytochimiques sont utilisées comme solvants organiques du bromure de miconazoctylium (**Figure 3.6**).<sup>344,345</sup> Ces systèmes eau/huile en présence de  $\beta$ -CD peuvent être utilisés pour construire des plateformes d'administration de médicaments basées sur des émulsions de Pickering en utilisant le concept de tectonique colloïdale. Dans ces milieux, les interactions hôte-invité entre les tectons polaires et phytochimiques (CD et huile) conduisent à des particules structurées "amphiphiles" qui s'adsorbent à l'interface eau/huile, conduisant à des émulsions de Pickering. Ces systèmes d'administration de médicaments peuvent être chargés de médicaments à base d'azole par solubilisation directe dans la phase huileuse phytochimique.



**Figure 3.6** : Structures et abréviations des composés utilisés dans cette étude.

Ils sont peu coûteux, et leur utilisation présente le grand avantage d'éviter l'emploi de tensioactifs moléculaires d'origine pétrolière ou de nanoparticules de silice modifiées. Lorsque les huiles phytochimiques sont utilisées en combinaison avec le bromure de miconazoctylium, on s'attend à ce qu'une synergie soit obtenue en termes d'activités antimicrobiennes et anti-biofilms en raison des dommages membranaires cumulatifs. Ces formulations pourraient alors être très utiles pour les applications cliniques puisqu'un antimicrobien renforcé permet 1) une éradication plus rapide des agents pathogènes, 2) un temps de traitement plus court et 3) une propagation plus faible des agents pathogènes résistants grâce à une éradication complète et à large spectre.<sup>346,347</sup>

### II.2 – Caractérisations des complexes d'inclusion

Les matières premières étant ajoutées brutes dans le contenant où est réalisée l'émulsion, les cristaux résultant de la complexation des huiles et de la  $\beta$ -CD sont obtenus après l'étape d'émulsification. Le système a donc été déstabilisé par centrifugation (2575 G, 20 min) afin de séparer la phase huileuse, la phase aqueuse, et les cristaux sous forme de poudre blanche. Les cristaux sont ainsi récupérés, lavés et séchés pour en réaliser les analyses structurale et physicochimique.

## II.2.a – Stœchiométrie

La stœchiométrie d'un complexe d'inclusion, comme vu au paragraphe 1.1.b, représente la quantité de molécules invitées insérées au sein d'une cyclodextrine. La méthode la plus utilisée pour la déterminer avec les CD est la méthode de Job,<sup>348</sup> ou la méthode des variations continues. La formation d'un complexe d'inclusion impliquant une molécule du composé à inclure (A) et n cyclodextrines (CD) sera décrite par :



La constante d'association du complexe d'inclusion sera alors décrite de la façon suivante :

$$K_a = \frac{[A : CD_n]}{[A][CD]^n} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Avec :  $[A : CD_n]$  = concentration en complexe ;  $[A]$  et  $[CD]$  les concentrations en A et CD libres dans le mélange.

La méthode des variations continues, impose deux conditions : 1) Les concentrations initiales des solutions mères utilisées sont identiques ; 2) un mélange des deux solutions à volume constant :

$$[A]_t + [CD]_t = M \quad (\text{Eq. 3.3})$$

Avec  $[A]_t$  et  $[CD]_t$  les concentrations totales en A et CD dans l'échantillon et M la concentration totale en mélange.

$$r = [A]/[A]_t + [CD]_t \quad (\text{Eq. 3.4})$$

Avec r la proportion molaire de la molécule invitée ( $0 < r < 1$ ). En exprimant les équations des concentrations en espèces libres, on remarque donc que la concentration en complexe  $[A:CD_n]$  est fonction de r et elle passe par un maximum lorsque la dérivée  $d[A:CD_n]/dr$  est nulle. En combinant les dérivées de l'Eq. 3.1 et celles des concentrations en espèces libres on obtient une relation indépendante de la constante d'association et de la concentration M :

$$[CD] = n[A] \quad (\text{Eq. 3.5})$$

En simplifiant, une solution unique où la concentration maximale en complexe est obtenue pour  $r = 1 / (1 + n)$ . Mais lorsqu'on étudie les complexes d'inclusion, le temps d'observation est bien plus lent comparé au temps d'échange au sein du système. Ainsi la détermination de la stœchiométrie n doit passer par l'étude de la différence d'un paramètre P observé par rapport à ce paramètre à l'état libre et dans le complexe pur. Cette méthode est appliquée en UV, en fluorescence, en RMN. Dans le cas de la RMN, le paramètre P est la variation de déplacement chimique. La détermination de n se fait par l'enregistrement d'une série de spectres en  $^1\text{H}$  en une dimension puis on suit les variations des déplacements chimiques des protons de CD ou de

la molécule invitée qui doivent se déplacer avec le changement des concentrations de CD et de A. Ainsi si :

$\delta_i$  : Déplacement chimique d'un proton de la molécule invitée (ou de CD) libre

$\delta_c$  : Déplacement chimique du même proton dans le mélange G : CD.

$$\Delta\delta_{obs} = \delta_i - \delta_c \quad (\text{Eq. 3.6})$$

Alors, en rapportant  $\Delta\delta_{obs} \times [A]_0$  (ou  $[CD]_0$ ) ( $[X]_0$  : concentration initiale incluse de A ou CD) en fonction de  $r$ , on obtient une courbe en forme de cloche centrée sur une valeur  $r_{max}$ , qui permet de remonter à  $n$ .

Pour nos complexes d'inclusion  $\beta$ -CD, que ce soit avec l'huile de paraffine, le carvacrol ou le terpinen-4-ol, le  $r_{max}$  se situe à 0,5.

$$r_{max} = \frac{1}{(1+n)} = 0,5 \quad (\text{Eq. 3.7})$$

Donc  $n = 1$ . On peut donc dire qu'il y a formation d'un complexe d'inclusion de type 1 : 1.

## II.2.b – Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X est un bon moyen de déterminer si la complexation a eu lieu. En effet, elle permet de détecter les changements dans le réseau cristallin lors de la complexation. Les pics caractéristiques de l'invité diminuent ou disparaissent, ce qui reflète la perte de cristallinité associée à son inclusion dans la CD. De plus, la DRX donne des informations sur l'orientation des CD les unes avec les autres. Cette orientation varie en fonction de l'invité et de la nature de la CD. Les trois orientations les plus retrouvées sont « *head-head* », « *head-tail* » et « *tail-tail* ». Cerborska *et al.* ont montré que les dimères des complexes d'inclusion formés entre la  $\beta$ -CD et le menthol s'organisent en « *head-head* » avec une orientation en « *head-tail* » du menthol.<sup>349</sup>

Les profils DRX des complexes et de la  $\beta$ -CD seule ont été obtenus (**Figure 3.7**). Les diagrammes de diffraction des précipités sont très différents de celui de la  $\beta$ -CD libre.<sup>341</sup> Les profils DRX montrent des pics très fins pour tous les précipités indiquant des structures cristallines très ordonnées.

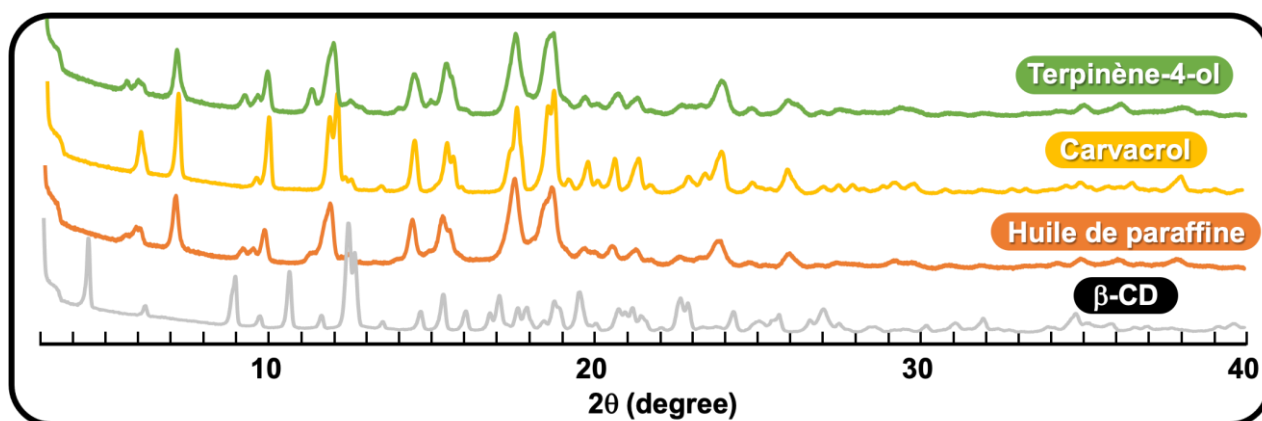


Figure 3.7 : Schémas de diffraction des rayons X des poudres sèches

### II.2.c – Microscopie électronique à balayage

Les poudres ont ensuite été étudiées au MEB (Figure 3.8) pour étudier la morphologie des complexes. Les images montrent des solides granulaires très fins (de taille inférieure à 1  $\mu\text{m}$ ) avec l'huile de paraffine. Alors qu'avec le terpinène-4-ol et le carvacrol, on obtient des objets de forme lamellaire (environ 1  $\mu\text{m}$  et 4  $\mu\text{m}$  respectivement).



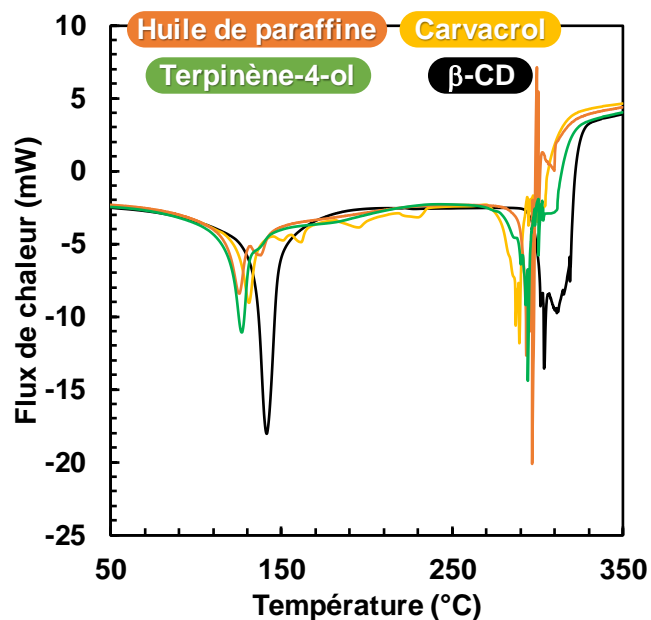
Figure 3.8 : Morphologie des complexes d'inclusion  $\beta$ -CD/huile sous observation sèche au MEB

Des études précédentes ont montré que les nanoparticules formées par les complexes d'inclusion insolubles entre la  $\beta$ -CD et l'huile de paraffine avaient des tailles comprises entre 30 et 250 nm à une concentration de 5 % en  $\beta$ -CD. Au-delà de cette concentration, les nanoparticules s'auto-assemblent en structures pseudo-cristallines allant de 1 à 4 nm. Ici, la concentration de  $\beta$ -CD est de 10 %. Ce phénomène d'auto-assemblage pourrait expliquer la forme particulière des cristaux obtenus avec le terpinène-4-ol et le carvacrol. De plus, la structure de ces molécules diffère totalement de celle de l'huile de paraffine, qui est principalement composée de chaînes alkyles hydrophobes (Figure 3.6)

### II.2.d – Stabilité à la température

Enfin, une analyse de calorimétrie différentielle à balayage a été effectuée sur les poudres afin de comparer la  $\beta$ -CD libre aux complexes d'inclusion sur les propriétés thermiques (Figure 3.9). La DSC est très fréquemment utilisée pour mettre en évidence la formation d'un complexe d'inclusion. Généralement, la complexation permet d'observer la disparition du pic

caractéristique de l'invité correspondant à son évaporation ou sa fusion suite à l'encapsulation dans la CD. On peut également apprécier la modification des pics caractéristiques de la  $\beta$ -CD libre. D'autres exemples d'utilisation de la DSC pour caractériser les complexes ont été recensés.



**Figure 3.9 :** DSC des poudres séchées comparées à celle de la  $\beta$ -CD libre.

Dans notre cas, la  $\beta$ -CD libre montre deux pics endothermiques à environ 141 et 303 °C, correspondants respectivement au relargage d'eau et à la fusion de la  $\beta$ -CD. Pour les précipités, les deux pics sont décalés à des températures plus basses en raison de la présence d'huile dans la cavité de la CD au lieu de molécules d'eau.<sup>350</sup>

Tous ces résultats permettent de confirmer que les complexes d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et les différentes huiles étudiées se sont bien formés. De plus, comme explicité dans les prochains paragraphes, leur formation en présence d'eau permet la stabilisation d'émulsions de Pickering.

### II.3 – Caractérisations des émulsions de Pickering

La caractérisation des émulsions est ensuite réalisée afin de connaître les propriétés physicochimiques de celles-ci, en vue de leur utilisation pharmaceutique, à savoir comme système antibactérien, antifongique et anti-biofilms.

#### II.3.a – Composition et procédé d'émulsification

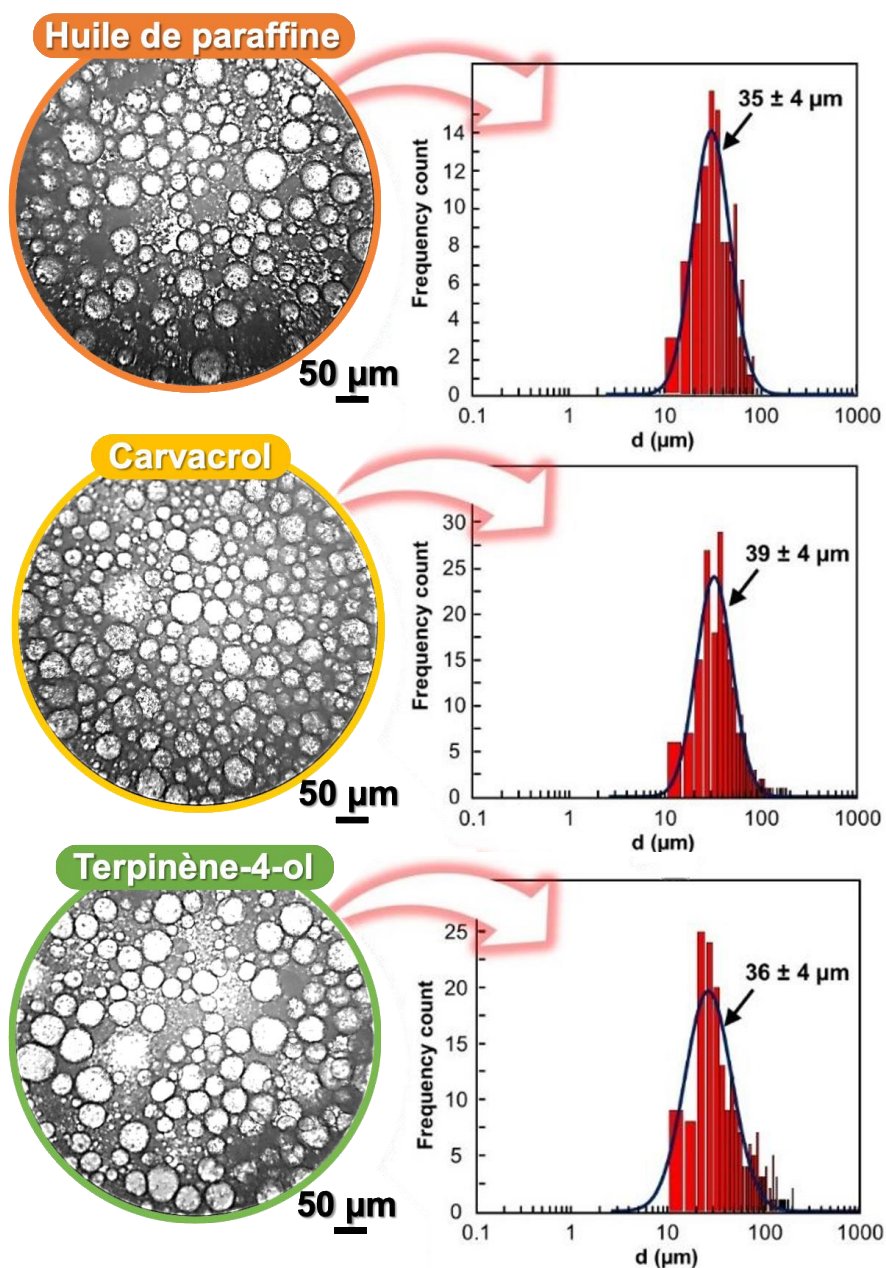
Les systèmes eau/huile/ $\beta$ -CD sont composés de 10 %m de  $\beta$ -CD et d'un ratio eau/huile de 50/50 (45 %m chacun). L'émulsification est effectuée à l'aide d'un Vortex-Génie 2, à 3200 rpm pendant 90 s.



## II.3.b – Caractérisations physicochimiques

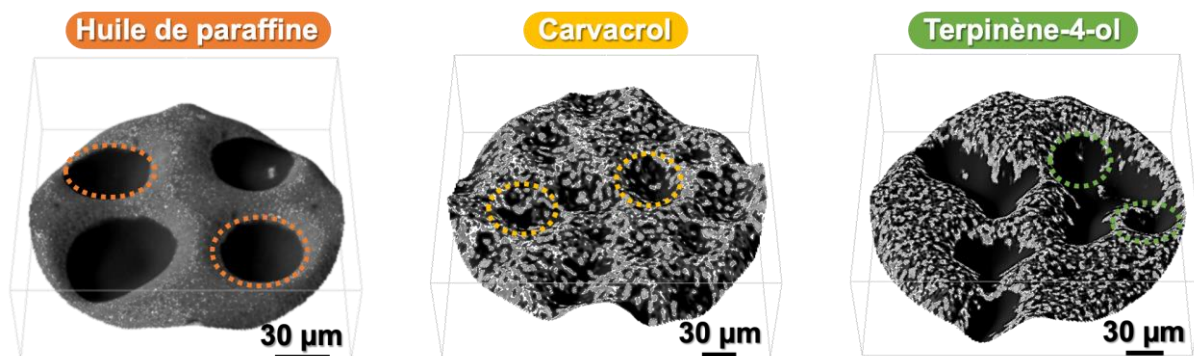
Comme attendu, tous les systèmes ont donné des émulsions blanchâtres, les observations microscopiques, associées aux distributions de tailles des gouttelettes de celles-ci sont données **Figure 3.10**.<sup>323,351</sup>

Les tailles de gouttelettes moyennes sont de 35, 39 et 36  $\mu\text{m}$  ( $\pm 5\%$ ) pour la paraffine, le carvacrol et le terpinène-4-ol respectivement. On observe très bien les particules positionnées dans la phase aqueuse et autour des gouttelettes, ce qui prouve que ces systèmes sont des émulsions de Pickering, pour les trois huiles étudiées. La mesure de la conductivité électrique dans chaque émulsion indique une phase continue aqueuse pour tous les systèmes.



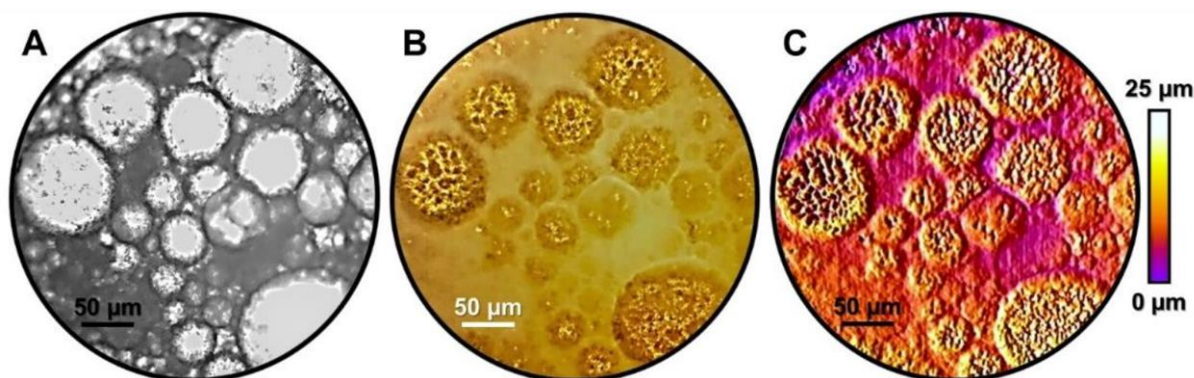
**Figure 3.10 :** Microphotographies des émulsions eau/huile (ratio massique 1/1) stabilisées par la  $\beta$ -CD (10 %m), observées sous microscope à lumière transmise.

La morphologie des émulsions a été étudiée à l'aide d'un MEB dans des supports étanches (WETSEM) permettant d'observer les systèmes dans leur environnement natif, sans séchage préalable (**Figure 3.11**). Les photographies montrent de nouveau la présence de particules autour des gouttelettes dans la phase continue. On remarque une nouvelle fois une masse très dense de particules, ce qui conduit à la formation d'un réseau compact 3D.



**Figure 3.11** : Observations des émulsions  $\beta$ -CD/eau/huile (10/45/45 %m, 3200 rpm, 90 s) en utilisant un WETSEM.

Des microphotographies de l'émulsion contenant le terpinène-4-ol réalisées sous lumière transmise (**Figure 3.12.A**), lumière oblique réfléchie (**Figure 3.12.B**) et en interprétation du tracé de surface 3D (**Figure 3.12.C**) montrent la présence importante de nanoparticules à l'interface des gouttelettes, leur conférant une surface granuleuse. Ces particules représentent ainsi une barrière physique protégeant les gouttelettes et les empêchant de coalescer lors de la rencontre d'autres gouttelettes.



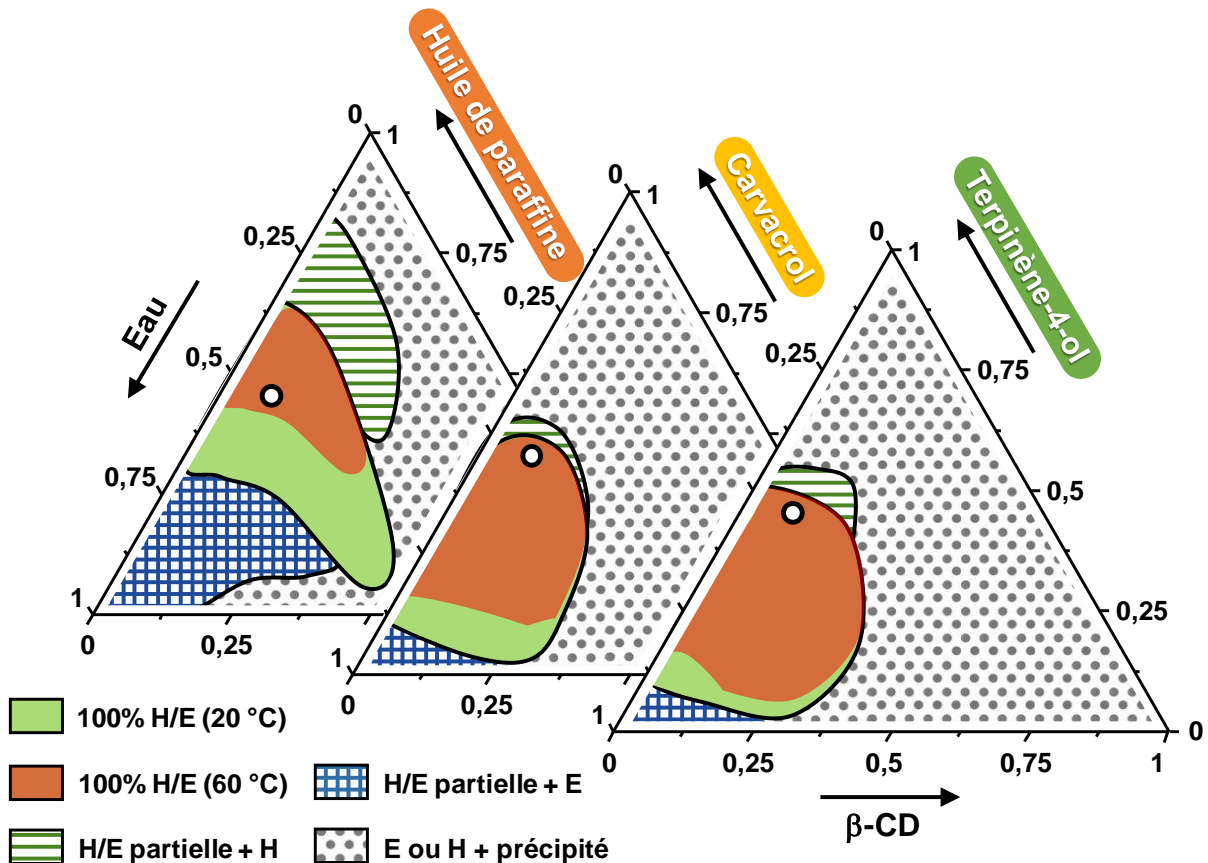
**Figure 3.12** : Microphotographies de l'émulsion terpinène-4-ol/eau (ratio massique 1/1) stabilisée par la  $\beta$ -CD (10 %m) observées sous : lumière transmise (A), lumière oblique réfléchie (B), et interprétation du tracé de surface 3D.

La couverture des gouttelettes par les nanoparticules ne semble pas totale mais suffit à la stabilisation de l'émulsion. Enfin, le cliché 3D permet d'apprécier la taille des gouttelettes sur le plan Z avec le relief créé par la variation de couleur. On retrouve également le côté granuleux / poreux des gouttelettes en raison de l'adsorption des nanoparticules sur l'interface. Ainsi, même si des émulsions assez stables sont obtenues, leur centrifugation à 2575 G pendant 20 min permet une séparation complète de l'eau, de l'huile et d'une poudre blanche, dont on a vu

dans la **partie II.2** – Caractérisations des complexes d'inclusion qu'elle correspond aux cristaux issus de la formation de complexe d'inclusion entre les huiles et la  $\beta$ -CD.

### II.3.b – Diagrammes de phase

Les diagrammes de phase ternaires des systèmes  $\beta$ -CD/eau/huile ont été réalisés et sont montrés sur la **Figure 3.13**.



**Figure 3.13** : Diagrammes de phase ternaires des émulsions huile/eau stabilisées par la  $\beta$ -CD à 25 °C. La composition est représentée en fractions massiques (3200 rpm, 90 s, 25 °C).

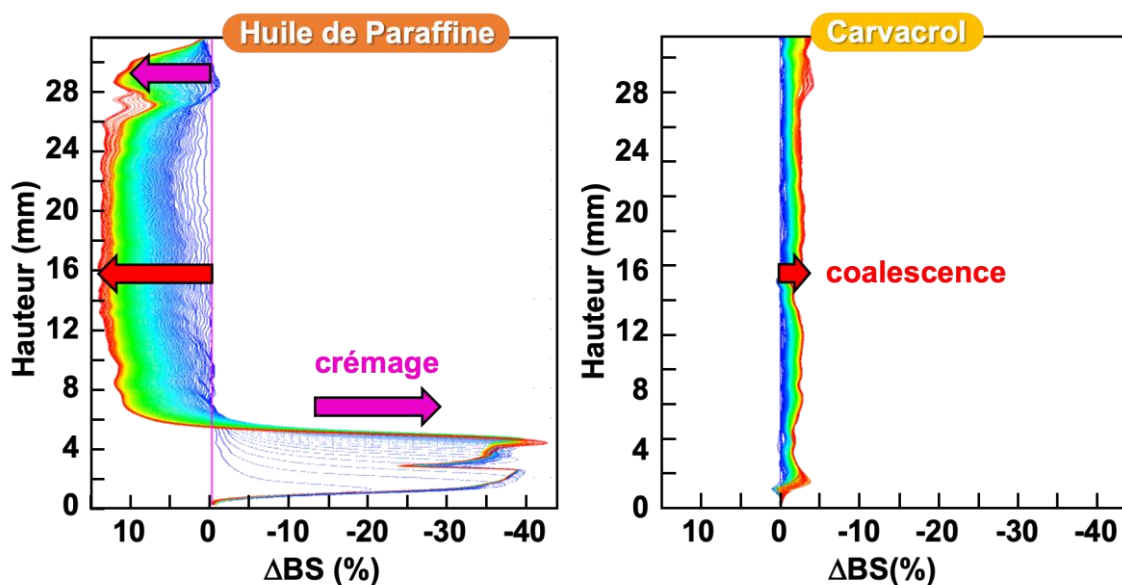
Ces diagrammes ternaires permettent d'observer les compositions pour lesquelles les émulsions les plus stables sont obtenues, avec une zone plus restreinte où les émulsions sont cette fois stables à 60 °C (évaluation grâce à une thermorégulation allant jusqu'à 60 °C dans un bain thermostaté). Mais ils permettent également de déterminer les frontières des zones d'émulsion totale, où au-delà, les émulsions sont soit en équilibre avec une phase huileuse (pour des hauts ratios huile/eau), ou avec une phase aqueuse (pour des ratio huile/eau faibles),<sup>121,323</sup> ou bien la composition ne donne pas d'émulsion, seulement des phases aqueuses et huileuse avec une grande partie de précipités (voir légende **Figure 3.13**). Ces ternaires, observés ensemble, permettent également de réfléchir sur l'influence de l'huile sur la formation des émulsions de Pickering. Ici c'est effectivement le cas. Les zones d'émulsions totales et partielles sont non seulement influencées par le rapport huile/eau, la concentration

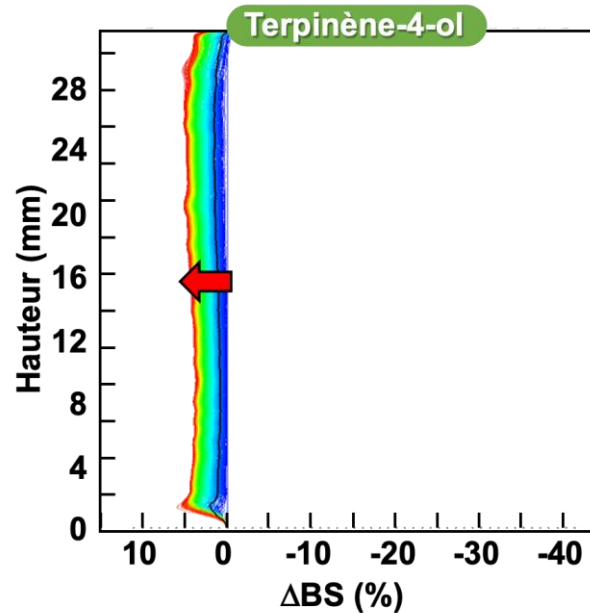
en  $\beta$ -CD, mais lorsque ces paramètres sont constants, on observe également une influence des huiles étudiées.

Selon la polarité de l'huile, la région stable de l'émulsion H/E se déplace vers le coin où la quantité d'eau est très importante, et les deux zones d'émulsion partielle sont réduites. Ces observations peuvent être directement liées à la variation de la polarité de l'huile, qui conduit à la modification des particules stabilisantes puisqu'elles sont obtenues à partir d'interactions hôte-invité entre l'huile et la  $\beta$ -CD. À 37 °C (température corporelle normale), la zone d'émulsion stable n'est pas affectée après 2 semaines pour les trois huiles étudiées. En revanche, à 60 °C, une réduction de la surface de l'émulsion stable est observée après 6 heures (zone orange). Cette réduction est plus significative pour l'huile de paraffine que pour le carvacrol et le terpinène-4-ol en raison de la formation d'une liaison potentielle O-H...O entre le carvacrol ou le terpinène-4-ol et la  $\beta$ -CD conduisant à une meilleure stabilisation des complexes d'inclusion et des particules cristallines résultantes comme précédemment rapporté avec le myristate d'isopropyle.<sup>323</sup> De plus, il est intéressant de noter que pour un rapport huile/eau donné, la viscosité des émulsions augmente avec la quantité de  $\beta$ -CD. En outre, pour une quantité donnée de  $\beta$ -CD, la viscosité des émulsions augmente lorsque la proportion d'huile augmente et que l'eau diminue. Par conséquent, le meilleur compromis entre la stabilité et la viscosité des émulsions est obtenu pour 10 % en masse de  $\beta$ -CD complété par 45 % d'eau et 45 % d'huile (cercles blancs).

### II.3.c – Mécanismes de déstabilisation

Pour ces compositions particulières, la déstabilisation des émulsions peut être identifiée à un stade précoce par diffusion multiple de la lumière (MLS), puisque comme vu dans le chapitre précédent, la lumière rétrodiffusée ( $\Delta$ BS) est liée à la migration des gouttelettes, à leur taille et à l'épaisseur de la phase continue. Les profils de déstabilisation sont ainsi présentés sur la Figure 3.14.<sup>352</sup>





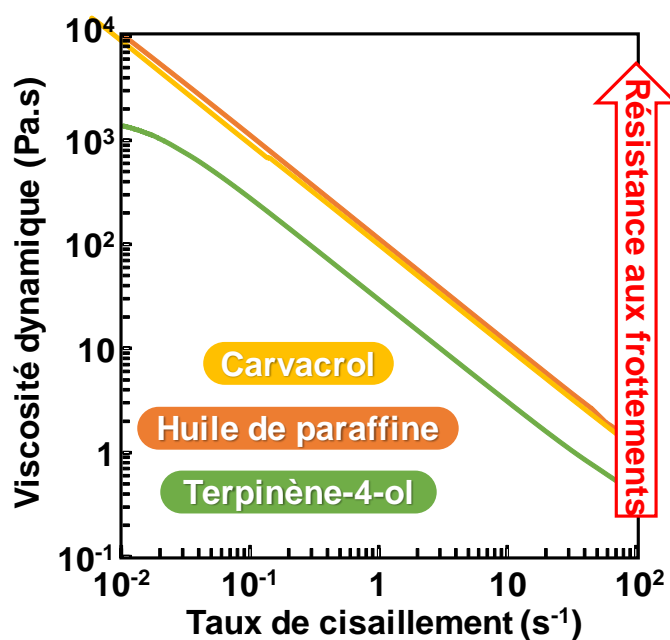
**Figure 3.14 :** Rétrodiffusion ( $\Delta BS$ ) en fonction de la hauteur de l'échantillon et du temps à 25 °C pour les émulsions  $\beta$ -CD/eau/huile (10/45/45 %m, 3200 rpm, 90 s)

Pour la paraffine, un processus de crémage a été détecté car le  $\Delta BS$  au cours du temps diminue à la base de l'échantillon et augmente au sommet. Une augmentation du  $\Delta BS$  à mi-hauteur indique également un phénomène de coalescence (variation de la taille des gouttelettes). Pour le terpinène-4-ol et le carvacrol, seule la coalescence a été observée. Cependant, comme tous ces mécanismes de déstabilisation ont un impact sur  $\Delta BS$  au cours du temps, l'échantillon présentant la plus forte variation est la moins stable : la stabilité qualitative suit l'ordre suivant : paraffine  $\ll$  terpinène-4-ol  $<$  carvacrol. Ce phénomène dépend de la taille des particules puisque les plus grosses offrent une meilleure stabilisation, en raison du réseau 3D compact de particules observé autour des gouttelettes dans la phase continue aqueuse. Ce réseau conduit à des milieux en quelques sortes gelés qui forment une très bonne protection contre la coalescence.

Aucune séparation de phase macroscopique supplémentaire n'était perceptible après 4 mois pour les trois émulsions. Ceci est caractéristique des émulsions de Pickering, car la fréquence de la coalescence dépend du temps, de la concentration en particules et de l'intensité de l'homogénéisation. En effet, si la quantité de particules est initialement insuffisante pour couvrir entièrement les interfaces, alors les gouttelettes coalescent. Mais cette coalescence provoque une réduction progressive de la surface interfaciale totale entre l'huile et l'eau, les particules étant irréversiblement adsorbées, le degré de couverture de la surface augmente jusqu'à ce que la coalescence soit stoppée. Contrairement aux émulsions stabilisées par des agents tensioactifs, ce processus est limité et ne peut être considéré comme une véritable instabilité.<sup>141,260,353</sup> Cependant, pour l'huile de paraffine, le crémage n'est pas souhaitable, car il entraîne des difficultés de stockage et de manipulation.

## II.3.d – Propriétés rhéologiques

Comme vu dans le Chapitre 2, Les propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par les complexes d'inclusions formés entre la  $\beta$ -CD et les différentes huiles ont été étudiées (Figure 3.15). Deux états sont comparés, celui à faible taux de cisaillement, afin d'estimer les conditions de stockage des émulsions, et le comportement sous cisaillement pour déterminer si, en l'état, les formules sont valides pour être utilisées dans des applications spécifiques.



**Figure 3.15** : Viscosité dynamique en fonction du taux de cisaillement pour les émulsions  $\beta$ -CD/eau/huile (10/45/45 %m, 3200 rpm, 90 s).

Comme on peut le voir, les émulsions sont très visqueuses à taux de cisaillement faible voire nul. Ce qui montre qu'en conditions de stockage, les émulsions ne montreraient que très peu de variation de leur structure interne. En revanche, lorsque les émulsions sont soumises à un taux de cisaillement conséquent, elles présentent une faible viscosité, ce qui en fait des formules très appropriées pour des applications topiques, ou les émulsions seraient utilisées en tant que crème pharmaceutique. En effet, leur viscosité descend sous les 2 Pa.s pour un cisaillement de 100 s<sup>-1</sup>, correspondant au cisaillement lors de l'application d'une crème par la main humaine. La résistance au frottement des émulsions suit l'ordre suivant : terpinène-4-ol << carvacrol < huile de paraffine.

### III] Activité antimicrobienne, antibactérienne et antibiofilm des émulsions de Pickering

La phase huileuse de l'émulsion a été chargée en [HMC][NO<sub>3</sub>] ou [C<sub>8</sub>MC][Br] liposolubles (composition finale : 45 % en poids d'eau, 44 % d'huile, 10 % de β-CD et 1 % de matière active). Toutes les émulsions se comportent de manière similaire, donnant des émulsions monomodales mais légèrement polydisperses. Cependant, certaines divergences entre les émulsions peuvent être observées : les émulsions chargées de [C<sub>8</sub>MC][Br] fournissent les plus petites gouttelettes (17 à 26 μm ; D.S. = 5 %), alors que la taille des gouttelettes lorsqu'elles sont chargées de [HMC][NO<sub>3</sub>] reste la même que celles sans médicament (35 à 39 μm ; DS = 5 %). Ces résultats indiquent que le [C<sub>8</sub>MC][Br] amphiphile peut interagir avec l'interface O/W stabilisée par les particules de β-CD/huile. En effet, le [C<sub>8</sub>MC][Br] seul fournit des émulsions instables qui coalescent en quelques minutes, conduisant à une séparation de phase. Cependant, la viscosité de cisaillement en fonction du taux de cisaillement reste la même avec ou sans médicament.

#### III.1 – Activité antimicrobienne

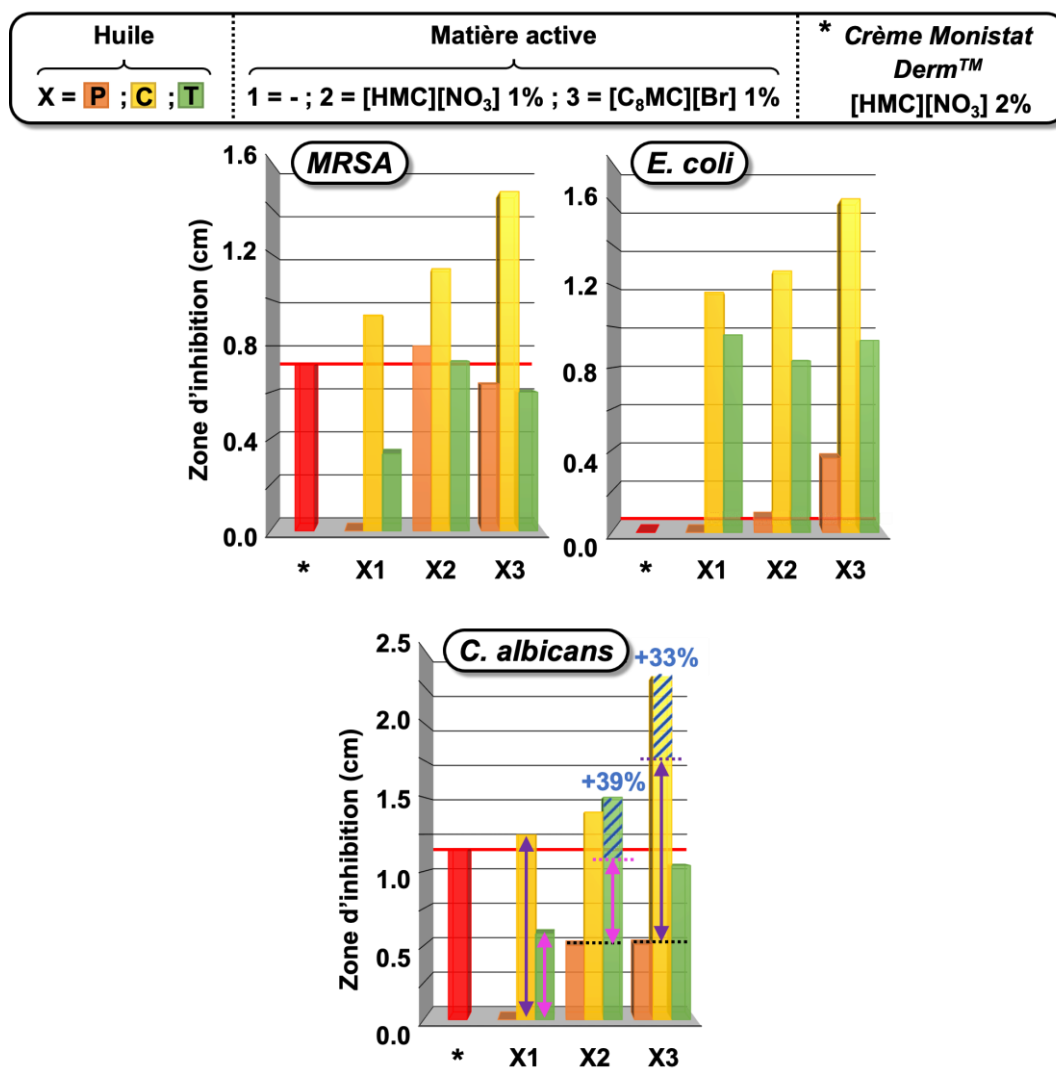
##### III.1.a – Résistance bactérienne

Les antibiotiques sont initialement des molécules synthétisées naturellement par des microorganismes utilisés pour lutter contre des bactéries environnantes. Aujourd'hui, ils peuvent être naturels ou de synthèse. Il en existe plusieurs familles qui s'attaquent à une bactérie ou un groupe de bactéries spécifiques. L'efficacité des antibiotiques a entraîné leur utilisation massive et répétée à tel point que des souches résistantes sont apparues. Ce phénomène, d'abord rencontré à l'hôpital, fait de plus en plus son apparition en ville. Plusieurs mécanismes sont avancés pour expliquer le développement de cette résistance : i) modification de la cible de l'antibiotique ; ii) production d'une enzyme qui s'attaque et détruit l'antibiotique ; iii) imperméabilisation de la membrane de la bactérie. Cela peut arriver grâce à une mutation génétique chez la bactérie, ou encore grâce à l'apport de gènes de résistance provenant d'une bactérie étrangère.<sup>354</sup> Ainsi, en plus de réduire et de mieux cibler la consommation d'antibiotiques, il devient primordial de développer de nouveaux antibiotiques ou de nouvelles formules permettant de lutter contre ces bactéries résistantes.

##### III.1.b – Effet sur les bactéries et les champignons

Comme toutes les émulsions sont adaptées aux applications topiques, des tests de diffusion ont été réalisés pour évaluer leur efficacité contre le *SARM*, *E. coli* et *C. albicans*, les résultats sont présentés sur la **Figure 3.16**. De la paraffine non chargée et une émulsion commerciale (Monistat Derm®) ont été utilisées comme références pour la comparaison. La méthode utilisée pour mesurer les zones d'inhibition de croissances des souches est la méthode de diffusion sur disque. Brièvement, un milieu de culture gélosé est préparé etensemencé avec la souche étudiée. Un support, généralement un disque de papier buvard, contenant les échantillons dont on étudie leur capacité inhibitrice est posé sur le milieu solide. Après solubilisation de l'échantillon par l'humidité du milieu gélosé, il s'établit un gradient de concentration qui varie

avec le temps. La boîte préparée est ensuite mise à incuber pendant une nuit minimum à 37 °C. Il est possible de voir la croissance bactérienne là où il n'y a pas de disques apposés, et les zones d'inhibition circulaires de la croissance autour de chaque disque. Plus la zone d'inhibition est grande, plus la souche bactérienne testée est sensible vis-à-vis de l'échantillon étudié. Il suffit de mesurer le diamètre de cette zone circulaire d'inhibition et de comparer les différents échantillons testés afin de déterminer le plus efficace contre chacune des souches. Les expériences sont répétées 3 fois pour s'assurer de la reproductibilité des résultats, et la zone d'inhibition affichée est une moyenne des 3 réplicas réalisés.



**Figure 3.16 :** Zone d'inhibition obtenue par la méthode de diffusion contre SARM, *E. coli* et *C. albicans* des émulsions β-CD/eau/huile comparées à une crème commerciale (Monistat Derm).

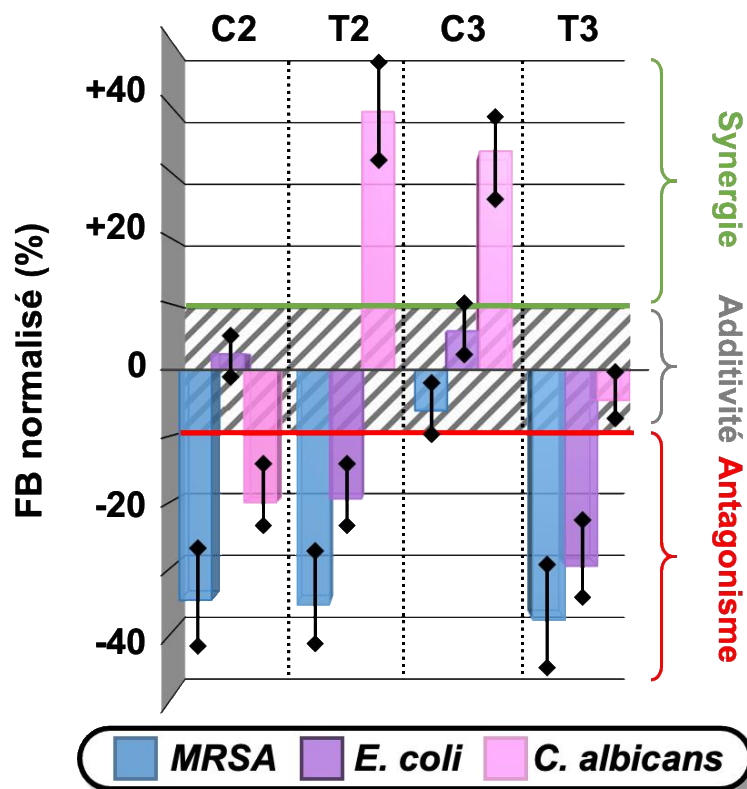
Comme prévu, la crème commerciale est active contre *SRAM* et *C. albicans* mais se montre inactive contre *E. coli*. L'émulsion non chargée β-CD/eau/huile de paraffine (contrôle négatif, nommé P1) est totalement inactive contre les trois souches. En revanche, les deux émulsions à base d'huiles phytochimiques biocides (carvacrol, **C1**, et terpinène-4-ol, **T1**) sont actives contre tous les pathogènes. D'après les résultats affichés, on remarque que la formule **C1** est l'huile la plus active. En effet, elle est plus active que la crème commerciale dans chaque cas, alors



qu'elle n'est chargée d'aucune matière active. Le carvacrol, même chargé avec [HMC][NO<sub>3</sub>] ou [C<sub>8</sub>MC][Br] (C2 et C3 respectivement), se montre le meilleur vecteur pour inhiber la croissance des 3 souches. Toutes les formules avec le carvacrol se montrent plus efficaces que la crème commerciale. Exception faite pour *C. albicans*, où la formule T2 (Terpinène-4-ol + [HMC][NO<sub>3</sub>]) se montre légèrement plus efficace que C2.

Comme les formules avec l'huile de paraffine non chargées en matière active n'ont aucune action inhibitrice, cette huile représente un support idéal pour comparer l'action de [HMC][NO<sub>3</sub>] ou [C<sub>8</sub>MC][Br] seules (P2 et P3 respectivement) avec la combinaison de ces dernières avec nos huiles phytochimiques. En effet, les matières actives seules ont montré une sensibilité aux agents pathogènes selon l'ordre suivant : *E. coli* < *C. albicans* < *SARM*. L'ajout de carvacrol et de terpinène-4-ol peut ainsi constituer un moyen de potentialiser l'effet des matières actives.

Le facteur biocide normalisé (FB), exprimé en %, a été calculé comme le rapport entre l'activité de la combinaison médicament/huile et les activités additives de chaque composé seul. En raison des écarts types, une valeur de BF > 10 % indique un effet synergique, tandis qu'une valeur de BF < -10 % indique un effet antagoniste. Enfin, pour -10 % < BF < 10 %, une simple additivité est observée entre les deux composés (Figure 3.17).



**Figure 3.17 :** Facteur biocide normalisé (FB) contre *SARM*, *E. coli* et *C. albicans* pour les émulsions  $\beta$ -CD/eau/huile (huile = carvacrol, C, ou terpinène-4-ol, T) combinées avec [HMC][NO<sub>3</sub>] (2) ou [C<sub>8</sub>MC][Br] (3).

En analysant ces résultats, on remarque que seules les combinaisons de [HMC][NO<sub>3</sub>] avec le terpinène-4-ol (**T2**) et de [C<sub>8</sub>MC][Br] avec le carvacrol (**C3**) offrent une synergie contre *C. albicans*. Les autres combinaisons montrent seulement une additivité voire un effet antagoniste contre les trois souches. Toutes les formules contre *SARM* présentent un effet antagoniste (excepté **C3** qui montre un effet additif négatif). Les formules avec le carvacrol ont un léger effet additif contre *E. coli* tandis que le terpinène-4-ol provoque un effet antagoniste.

Malgré le fait que le FB normalisé est bien supérieur pour **T2** par rapport à **C3**, **T2** n'est pas approprié pour obtenir une formulation antimicrobienne à large spectre en raison des effets antagonistes observés contre *SARM* et *E. coli*. En revanche, l'émulsion à base de [C<sub>8</sub>MC][Br]/carvacrol (**C3**) présente un effet synergique contre *C. albicans* et des réponses additives contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. En outre, cette émulsion est deux fois plus active contre *C. albicans* et *S. aureus* par rapport à la crème commerciale, avec une forte activité contre *E. coli* alors que la crème commerciale est totalement inefficace contre cette souche. Ces activités antibactériennes et antifongiques peuvent être le résultat de la perméabilisation de la membrane, de l'inhibition des enzymes et de l'accumulation d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) dans les micro-organismes (comme mentionné précédemment).

### III.2 – Activité antibiofilm

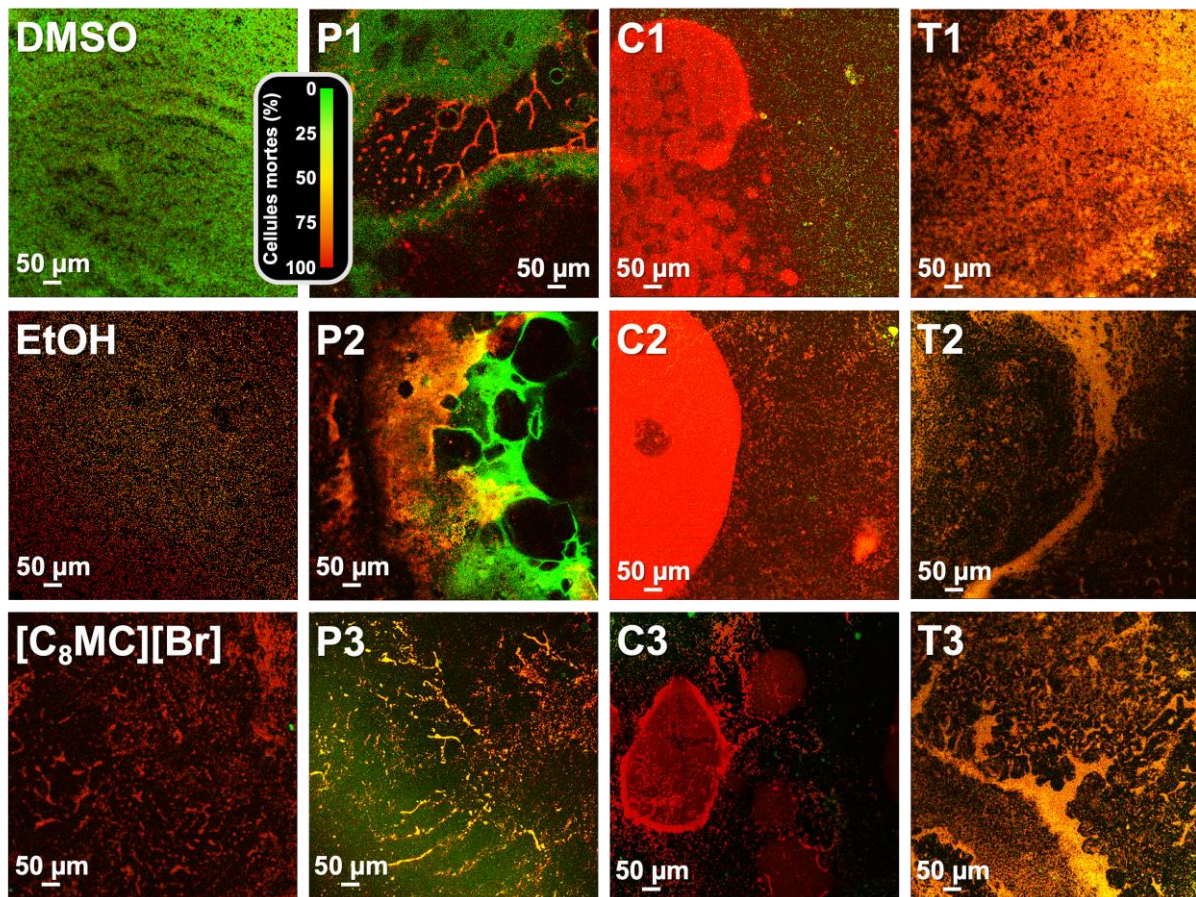
#### III.2.a – « Biofilm » et résistance

Les biofilms bactériens sont définis comme des amas structurés de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique. Certains microorganismes ont pour caractéristique d'être capables de former un biofilm. Les bactéries, après s'être attachées à une surface, s'agglutinent, se multiplient et forment des microcolonies. Vient ensuite la maturation du biofilm où les bactéries synthétisent un exopolysaccharide et d'autres constituants formant la matrice polymérique (protéines, lipides, acides nucléiques, etc.). En fonction de la région du biofilm, des gènes différents peuvent être exprimés. Le biofilm peut ensuite se détacher de cellules bactériennes et aller se développer sur de nouvelles surfaces. Le danger que représentent les biofilms est que les bactéries qui le composent peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus coriaces contre les antibiotiques et les désinfectants (de 10 à 1000 fois plus) que les bactéries isolées. Le facteur prépondérant est la présence de cette matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la pénétration et la diffusion des agents antimicrobiens. Il faut ainsi de nouvelles méthodes de prévention et de traitement pour lutter contre cette infection, notamment *via* la synergie entre deux antibiotiques, ou un antibiotique et une molécule pour accroître leur efficacité envers les biofilms.<sup>355</sup>

#### III.2.b – Effet des formules sur souche *Staphylococcus Aureus*

Forts des résultats acquis, la capacité des formulations à perturber les biofilms de *SARM* a été étudiée. A cette fin, les biofilms *SARM* préformés ont été traités avec chaque formulation (1 µL) après 1 h d'incubation. Les tests de viabilité bactérienne ont été réalisés à l'aide d'un test

de fluorescence disponible dans le commerce (BacLight Live/Dead), composé de fluorophores SYTO9 et d'iodure de propidium, conduisant à la détection de cellules intactes vivantes (vert) et de cellules mortes perméabilisées (rouge) (Figure 3.18).<sup>356</sup>



**Figure 3.18 :** Biofilms de SARM préformés (tâches Live/Dead) traités avec 1  $\mu$ L d'émulsions  $\beta$ -CD/eau/huile (huile = paraffine, P, carvacrol, C, ou terpinène-4-ol, T) sans (1) ou avec [HMC][NO<sub>3</sub>] (2) ou avec [C<sub>8</sub>MC][Br] (3) après incubation. Contrôle négatif (DMSO uniquement), Contrôles positifs (EtOH 70 % et solution aqueuse de [C<sub>8</sub>MC][Br] 1 %m ; voir la partie expérimentale pour plus d'informations).

La solution aqueuse de [C<sub>8</sub>MC][Br] (1 % en poids) montre une forte capacité à perturber les biofilms préformés de SARM, celle-ci étant capable de tuer les bactéries plus rapidement que l'éthanol (70 %), probablement en raison de son caractère lipophile et de sa capacité à traverser les membranes cellulaires.<sup>341</sup> Comme la viabilité du biofilm peut être perturbée par la viscosité des émulsions de Pickering, les formulations à base de paraffine ont été utilisées comme expériences témoins. Les émulsions  $\beta$ -CD/eau/paraffine non chargées ou chargées avec [HMC][NO<sub>3</sub>] (P1 et P2, respectivement) montrent seulement une inhibition/destruction locale du biofilm, mais une majorité des bactéries est encore vivante dans le biofilm. Pour les formulations à base de paraffine chargées de [C<sub>8</sub>MC][Br] (P3), la formation de bandes plus épaisses de colonies indique un stress accru sur les bactéries et une production accrue de ROS.<sup>357</sup>

Comme indiqué par la couleur orange/jaune, environ 75 % des bactéries du biofilm étaient mortes après 1 h d'exposition à P3. Des comportements similaires ont été observés avec les

formulations à base de terpinène-4-ol chargées ou non (**T1**, **T2** et **T3**). Enfin, une mortalité bactérienne proche de 100 % a été observée pour toutes les émulsions à base de carvacrol (**C1**, **C2** et **C3**). Par conséquent, les émulsions de carvacrol agissent comme des agents d'éradication du biofilm très efficaces, quelle que soit la molécule médicamenteuse utilisée. Cependant, une perturbation plus complète du biofilm a été observée pour l'émulsion à base de carvacrol chargée de [C<sub>8</sub>MC][Br] (**C3**).

En comparant ces résultats avec les résultats d'inhibition de croissance, on remarque que pour tous les tests réalisés, le carvacrol se montre être plus efficace. Il agit donc comme une huile vectrice de matières actives très compatible, notamment avec le [C<sub>8</sub>MC][Br]. Ce système montre un champ d'action très élargi et pourrait constituer une formulation commerciale très intéressante contre les souches testées et les biofilms.

## Conclusions

Cette émulsion de Pickering auto-assemblée, obtenue selon le concept de la **tectonique colloïdale** à partir de **matières premières non toxiques** et disponibles dans le commerce (le carvacrol et le  $\beta$ -CD sont tous deux approuvés par la Food and Drug Administration), peut être utilisée pour améliorer l'activité biocide du bromure de miconazoctylium. Cette émulsion **très stable**, qui s'inscrit dans la tendance actuelle de simplification des formules (sans tensioactifs d'origine pétrolière ou de nanoparticules de silice modifiées), s'est révélée **2 fois plus efficace sur *C. albicans* et le SARM** que la crème commerciale contenant du nitrate de miconazole et a montré une **forte activité contre *E. coli***, alors que la crème commerciale est complètement inefficace.<sup>358–360</sup> En outre, **un effet synergique contre *C. albicans*** a été observé (30 % plus efficace que l'effet additif). Enfin, ce système a perturbé les biofilms préformés de SARM.

L'exploitation de la tectonique colloïdale au travers de cette étude, *via* l'élaboration de structures auto-assemblées grâce aux interactions non covalentes permettant de stabiliser des émulsions de Pickering, est très intéressante sur de nombreux points. Tout d'abord, ces phénomènes spontanés d'auto-assemblage de molécules, grâce à la maîtrise des forces attractives, permettent de créer de nouvelles structures à des échelles qui peuvent être contrôlées, avec des propriétés et des fonctions nouvelles et spécifiques pour des applications ciblées. Ceci se fait sans apport excessif d'énergie et sans étape de synthèse énergivore (si les tectons n'ont pas subi plusieurs étapes de synthèse eux-mêmes), avec le choix de tectons potentiellement biosourcés. Cela permet la conception de systèmes plus respectueux des principes de la chimie verte. Enfin, cette approche peut-être très interdisciplinaire car le champ d'application des recherches sur ce sujet dépasse le domaine de la chimie organique. Cette démarche pourrait être appliquée à de nombreux domaines tels que les formulations pharmaceutiques comme vu dans ce chapitre, mais aussi les cosmétiques, les nanomatériaux, ou encore en catalyse.

## Partie Expérimentale du Chapitre III

### 1. Informations générales.

Tous les produits chimiques ont été achetés chez Sigma-Aldrich. Les spectres RMN ont été enregistrés dans des solvants deutérés à 400 MHz sur des spectromètres Bruker. La pureté des composés finaux utilisés dans les essais biologiques a été déterminée par analyse ESI/LC-MS ( $\geq 95\%$ ). Les souches microbiennes utilisées étaient *S. aureus* ATCC 43300 résistant à la méthicilline, *E. coli* ATCC 25922 et *C. albicans* SC5314. De l'eau stérile a été utilisée dans toutes les expériences, toutes réalisées en triplicata.

### 2. Synthèse du Bromure de Miconazoctylum

Le Miconazole (100 mg, 0,24 mmol) et le bromure de *n*-octyle (125  $\mu$ L, 0,72 mmol) ont été portés à reflux pendant 2 h dans du MeCN (1 mL). Le solvant a été évaporé, et le résidu a été mis en suspension dans EtOAc pour éliminer toute trace de bromure d'octyle. L'évaporation du solvant résiduel a permis d'obtenir le sel sous forme de poudre blanche (135 mg, 0,22 mmol, 93 %). RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,51 (s, 1H), 7,49 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7,46–7,43 (m, 2H), 7,34–7,26 (m, 3H), 7,23–7,19 (m, 2H), 5,21 (dd,  $J = 7.5, 4.3$  Hz, 1H), 4,74–4,60 (m, 2H), 4,51 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 4,42 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 4,29 (dh,  $J = 20.9, 7.3, 6.9$  Hz, 2H), 1,91–1,80 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 20.4$  Hz, 10H), 0,87 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  138,64, 135,93, 135,02, 134,28, 133,77, 132,86, 132,22, 131,49, 130,14, 129,39, 129,30, 128,37, 127,71, 122,57, 121,27, 76,18, 68,46, 53,25, 50,44, 31,80, 30,38, 29,14, 29,05, 26,36, 22,71, 14,19. HRMS: calculé pour  $[\text{M}^+]$   $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{Cl}_4\text{N}_2\text{O}$ , 527,1185, trouvé, 527,1194. IR (proche,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3007,9, 2927,5, 2926,5, 2854,5, 1646,7, 1587,7, 1561,3, 1467,4, 1379,8, 1338,7, 1298,0, 1222,8, 1191,2, 1145,5, 1095,9. MP : 131–134 °C.

### 3. Élaboration des émulsions et diagrammes de phases

L'huile et l'eau ont été pesées avant d'ajouter la  $\beta$ -CD. Il faut noter que, le cas échéant, les médicaments ont été dilués dans l'huile. L'émulsification a été réalisée à l'aide d'un vortex-Genie 2 (3200 rpm, 90 s, 25 °C, Scientific Industries Inc., USA). Le type d'émulsion a été déterminé par des mesures de conductivité. Les diagrammes de phase ont été obtenus par des observations visuelles et microscopiques.

### 4. Microscopie

Des microphotographies optiques des échantillons ont été obtenues à l'aide d'un microscope optique (Standard 25 ICS, Zeiss GmbH, Allemagne) couplé à une camera CCD. Les microphotographies ont été analysées avec ImageJ (NIH, USA) et la fonction de distribution a été obtenue par le traitement d'au moins 250 mesures individuelles avec une fonction log-normale en utilisant le logiciel OriginPro 8 (OriginLab Corp., USA). La morphologie des

complexes a été étudiée avec un MEB (JSM-7800F LV, JEOL Ltd., Japon) fonctionnant à 2 kV pour les complexes de carvacrol et de terpinen-4-ol et à 5 kV pour le complexe formé avec l'huile de paraffine. Les observations ont été réalisées en déposant les échantillons sur un ruban adhésif conducteur en carbone collé sur un stub après séchage à l'air et chromage. Les observations WETSEM de l'émulsion ont été réalisées avec des capsules QX-102 (Quantomix Ltd., Israël). La préparation de l'échantillon s'est déroulée comme suit : 15  $\mu$ L d'échantillon ont été déposés dans le récipient liquide de la capsule et scellés avec le stub, et le faisceau a été focalisé sur la grille du support métallique avec le détecteur SE avant de passer au détecteur BSE pour observer l'échantillon. Les photographies WETSEM ont été analysées avec ImageJ pour obtenir des vues 3D.

### 5. Diffraction des poudres aux rayons X

Les données ont été recueillies sur un diffractomètre Bruker D8 Advance, Bragg-Brentano (radiation  $\text{Cu K}\alpha \lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ ) équipé d'un détecteur LynxEye. Les expériences ont été menées à température ambiante sur la gamme  $3\text{-}40^\circ 2\theta$  avec un pas de  $0,02^\circ$  et un temps de comptage de 5 s. Le volume de diffraction de l'échantillon était d'environ 3 cm.

### 6. Calorimétrie différentielle à balayage

Les mesures ont été effectuées sur un DSC-Q1000 (TA Instruments, USA). Environ 10 mg de produit ont été enfermés dans Pan Tzero avec un couvercle hermétique muni d'un trou d'épingle et chauffés de 25 à 550  $^\circ\text{C}$  à une vitesse de chauffage de 5  $^\circ\text{C}/\text{min}$ .

### 7. Diffusion multiple de la lumière

La stabilité des émulsions a été évaluée à 25  $^\circ\text{C}$  par diffusion multiple de la lumière à l'aide d'un Turbiscan<sup>®</sup> Lab Expert (Formulation, USA). Les échantillons ont été placés dans des tubes de verre cylindriques, et l'analyse a été réalisée sous forme de variation des profils de rétrodiffusion ( $\Delta\text{BS}$ ). Les mesures ont été effectuées à l'aide d'une diode électroluminescente (DEL) pulsée dans l'infrarouge proche à 880 nm. Deux capteurs optiques synchrones différents ont reçu la lumière transmise à travers et rétrodiffusée par les échantillons à 180 et 45 $^\circ$  par rapport au rayonnement incident, respectivement. Les deux capteurs ont balayé toute la hauteur de l'échantillon. Les données expérimentales ont été corrélées en pourcentage au flux lumineux de deux standards : une suspension de latex de polystyrène (en l'absence de transmission et de rétrodiffusion maximale) et de l'huile de silicone (en transmission maximale et en l'absence de rétrodiffusion).

### 8. Étude rhéologique

Les propriétés rhéologiques des émulsions ont été évaluées à l'aide d'un Malvern Kinexus (Malvern Instruments, U.K.) équipé d'une géométrie à plaques parallèles à une température contrôlée. Le diamètre des plaques était de 20 mm, et l'écart de 1 mm. La température était

contrôlée à l'aide d'un dispositif de contrôle de température Peltier situé sous la plaque inférieure avec une précision de 0,01 °C. Les mesures contrôlées par contrainte ont été effectuées en imposant une augmentation de la rampe de contrainte logarithmique suivie d'une diminution inverse de la contrainte de 0 à 500 Pa.s.

## 9. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne a été déterminée en utilisant la zone d'inhibition sur des plaques de LB-agarose à 37 °C. La solution de bactéries ou de levure (DO = 0,1 – 0,15 à 600 nm) a été étalée sur des plaques de LB-agar et incubée pendant 15 min à 37 °C pour une absorption maximale. Un microlitre de chaque émulsion a ensuite été étalé sur la plaque de gélose infectée et incubée pendant 12h à 37 °C pour les bactéries et 30 °C pour les levures. La zone d'inhibition de chaque formulation a ensuite été mesurée. Les tests de stérilité utilisés (LB uniquement) ont été étalés sur des plaques de LB-agar comme témoin négatif global, et les plaques infectées sans émulsion ont été étalées sur des plaques LB-agar comme témoin positif global.

## 10. Perturbation des biofilms

Les bactéries ont été incubées dans du milieu LB à 37 °C pendant 5 h et diluées dans du milieu LB jusqu'à la concentration finale souhaitée (DO = 0,1-0,15 à 600 nm). Après une incubation de 12h dans des chambres à huit puits, le milieu de croissance a été retiré par pipetage et les biofilms résultants ont été lavés deux fois avec une solution de NaCl à 0,9 % pour éliminer les cellules planctoniques restantes. Les biofilms ont été marqués vivant/mort après 1 h d'exposition aux différentes émulsions. Contrôle négatif : DMSO (la concentration finale ne dépassant pas 10 % en volume). Contrôle positif : éthanol à 70 % (exposition de 20 minutes). Les biofilms ont été colorés avec un kit de viabilité des biofilms FilmTracer LIVE/DEAD (Molecular Probes, Life Technologies Ltd.). Brièvement, une solution de travail de colorants fluorescents a été préparée en ajoutant 1 µL de colorant SYTO 9 et 1 µL de colorant à l'iodure de propidium (PI) à 1 mL d'eau stérilisée par filtration. 200 µL de solution de coloration ont été déposés sur chaque puits d'une lamelle couvre-objet à huit puits, et après 15 minutes à température ambiante dans l'obscurité, les échantillons ont été lavés avec une solution saline stérile (NaCl à 0,9 %) à partir de la base du matériau de support. Les biofilms ont été examinés à l'aide d'un microscope confocal à laser (Leica modèle TCS SP5 ; Leica Microsystems CMS GmbH, Allemagne) en utilisant un objectif 20x sec (HC PL FLUOTAR 20.0 x 0.50 DRY). Une ligne laser de 488 nm a été utilisée pour exciter SYTO 9, tandis que l'émission de fluorescence a été détectée de 500 à 540 nm. PI a été séquentiellement excité avec la ligne laser de 561 nm, et son émission de fluorescence a été détectée de 600 à 695 nm. Les images acquises avec le microscope confocal à laser ont été traitées par un algorithme de segmentation utilisant Fiji (NIH, USA).

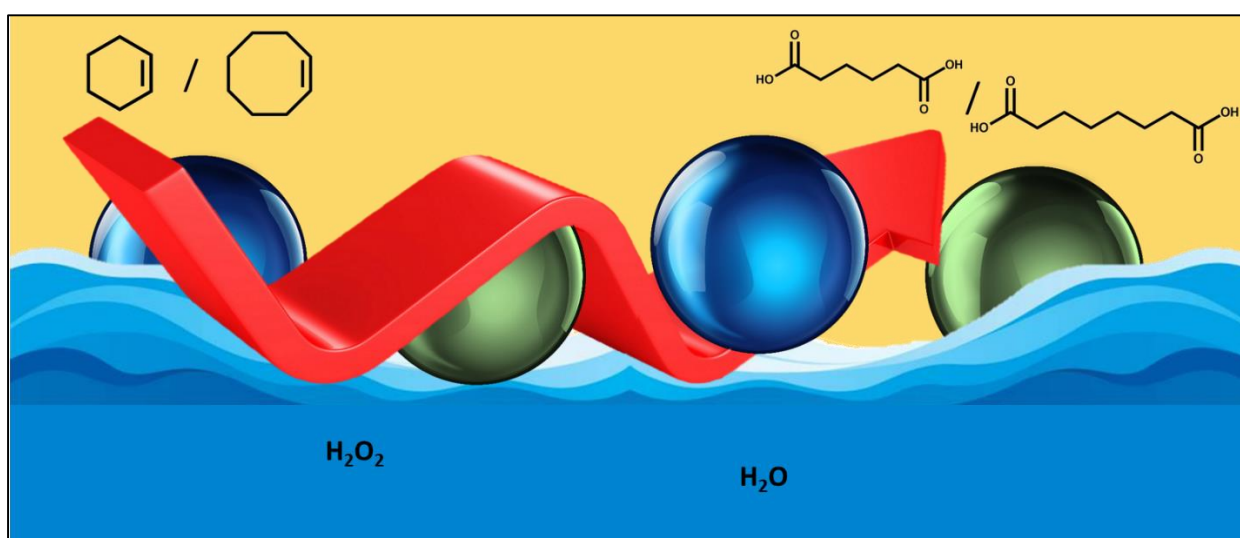




# Chapitre IV :

## Auto-association d'espèces chimiques et catalyse interfaciale de Pickering (PIC)

---





Dans ce chapitre, la tectonique colloïdale est appliquée au développement de nouveaux systèmes catalytiques, mettant en œuvre la catalyse interfaciale de Pickering (PIC). La première partie est consacrée à une étude qui fait suite à des travaux d'une thèse précédente réalisée au laboratoire.<sup>136,141</sup> Après une brève introduction du concept PIC, nous nous sommes intéressés au clivage oxydant des oléfines en one-pot pour l'obtention d'acides dicarboxyliques avec le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et des nanoparticules amphiphiles à caractère catalytique, le phosphotungstate de tri(dodécyltriméthylammonium)  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$  ( $C_{12}$ -POM), et des NPs de silice greffées avec des groupements alkyles et sulfoniques,  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ , le tout en présence de sels de phosphate acides en tant que co-catalyseurs.

Dans une deuxième partie, une étude préliminaire sur l'auto-association entre la polyéthylèneimine branchée (BPEI) et l'acide tungstophosphorique  $H_3PW_{12}O_{40}$  ( $H_3POM$ ) est présentée. Ces deux espèces initialement solubles dans l'eau forment des nanoparticules une fois mises en contact, qui stabilisent des émulsions de Pickering. Ce système pourrait présenter un fort intérêt en catalyse interfaciale de Pickering.

## I] La Catalyse interfaciale de Pickering

### I.1 – Le concept PIC

La catalyse interfaciale de Pickering a déjà été introduite et définie dans le **Chapitre I, partie 2.3.b**. Brièvement, contrairement aux systèmes PAC (Catalyse assistée de Pickering), où l'émulsion sert simplement de support pour créer un maximum d'interface entre les phases aqueuses et organiques où vont se trouver les différents réactifs et catalyseurs de réaction, la catalyse interfaciale de Pickering requiert l'utilisation de particules aux propriétés à la fois amphiphile pour stabiliser l'émulsion de Pickering, mais aussi catalytique afin de procéder à la réaction directement à l'interface.

Un tel système offre de très nombreux avantages : i) la présence de nanoparticules (NPs) catalytiques non miscibles directement à l'interface, ii) une augmentation importante du transfert de masse entre les phases en raison d'une surface de contact accrue, iii) la séparation facile des produits de réaction, facilitant la récupération du catalyseur, et iv) une amélioration de l'éco-efficacité du système de réaction. Comme nous le verrons dans les prochains paragraphes, il est possible de concevoir des systèmes PIC à partir de la tectonique colloïdale (définie **Chapitre III partie 1.2.a**), grâce à l'association de molécules à caractère catalytique et d'autres qui vont apporter l'amphiphilie nécessaire à leur adsorption aux interfaces.

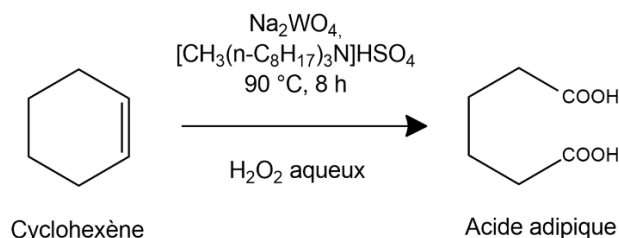
### I.2 – Utilisation du peroxyde d'hydrogène comme oxydant vert pour le clivage de la double liaison C=C

En catalyse, spécifiquement en oxydation, des espèces catalytiques fortes, et polluantes sont toujours utilisées dans l'industrie chimique, comme l'acide nitrique  $HNO_3$ , l'ozone  $O_3$ , des halogènes (typiquement  $F_2$  et  $Cl_2$ ) ou encore des perchlorates ou hypochlorites, mais aussi l'acide sulfurique concentré et le permanganate. L'oxydation est l'un des procédés industriels les plus importants et les plus utilisés pour la production de substances chimiques finies. Hormis

l'époxydation, le clivage oxydant de la double liaison carbone-carbone C=C joue un rôle primordial dans la production industrielle oxydante pour la synthèse d'acides carboxyliques, de cétones et d'aldéhydes. L'acide azélaïque par exemple, qui est un produit chimique de grande valeur pour la synthèse de produits spécialisés pour le traitement de l'acné entre autres, est synthétisé par ozonolyse à l'échelle industrielle. Des ozonoïdes sont produits par cycloaddition en présence d'O<sub>3</sub>, qui se transforment rapidement en acide carboxyliques en conditions oxydantes. Les procédés classiques comprennent l'ozonolyse de l'acide oléique, qui produit de l'acide pélargonique comme sous-produit de clivage. BASF a développé un procédé de fermentation/clivage pour la production d'acide azélaïque sans production d'acide pélargonique, en utilisant l'acide octadéc-9-ène-1,18-dioïque comme matière première.<sup>361</sup> Cependant, l'O<sub>3</sub> reste un composé oxydant très actif et toxique, rendant son stockage très compliqué. De plus, un traitement post-réaction du milieu de réaction est nécessaire pour retirer toute trace d'oxygène moléculaire du système.

Un autre exemple important est la production d'acide adipique, principalement utilisé comme intermédiaire pour la production de Nylon 6,6. Il est l'acide dicarboxylique le plus important en termes de production et d'utilisation. Le procédé industriel le plus répandu pour la production de Nylon 6,6 implique l'oxydation de l'huile de KA (mélange de cyclohexanol et de cyclohexanone) par HNO<sub>3</sub>. Cependant ce procédé montre de nombreux inconvénients : i) Tout d'abord l'utilisation d'un oxydant très corrosif, HNO<sub>3</sub>, qui demande donc des méthodes de productions spécifiques ; ii) il engendre la production de sels et d'un gaz à effet de serre toxique comme sous-produit, le N<sub>2</sub>O,<sup>362</sup> dont les émissions, en augmentation, sont susceptibles d'atteindre encore environ 150 mégatonnes d'équivalents en CO<sub>2</sub>; iii) la réaction est stœchiométrique et nécessite un excès important de HNO<sub>3</sub> pour maintenir le taux de réaction.<sup>363</sup> Cet exemple montre bien que l'utilisation de ces oxydants n'est pas en accord avec les principes de la Chimie verte.

Des alternatives ont été proposées. Noyori et ses confrères ont proposé une voie plus écologique pour accéder à l'acide adipique à partir du clivage oxydant du cyclohexène en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme oxydant, qui est un réactif de transfert de phase (c'est-à-dire des sels d'ammonium quaternaire « acides »), et du tungstate de sodium comme catalyseur (**Figure 4.1**).<sup>363</sup>



**Figure 4.1** : Synthèse verte de l'acide adipique par le clivage du cyclohexène en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ainsi qu'un catalyseur au tungstène et [CH<sub>3</sub>(n-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>)<sub>3</sub>N]HSO<sub>4</sub> en tant que catalyseur de transfert de phase.<sup>363</sup>

Cette voie a été ensuite largement reconnue comme une voie verte pour la production d'acide dicarboxyliques.<sup>364</sup> D'autres développements ont ensuite vu le jour, notamment via

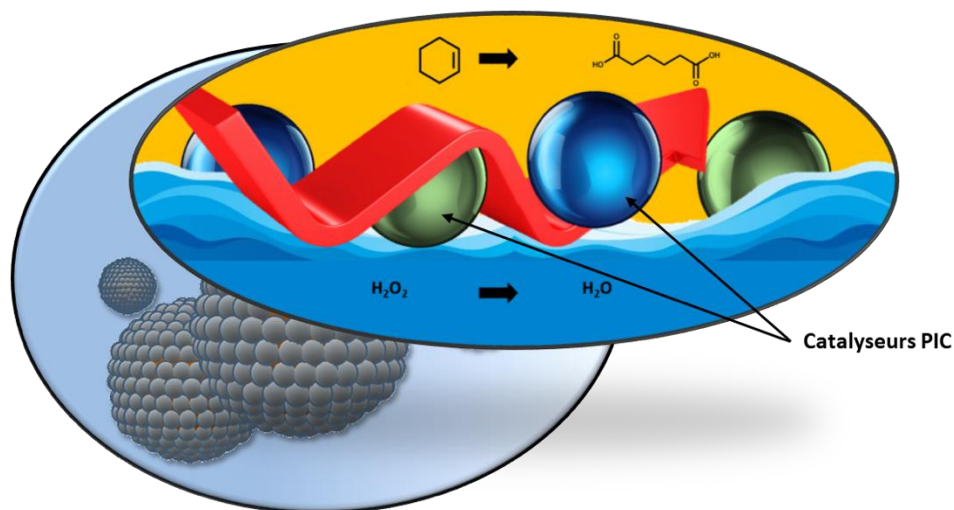
l'utilisation de microréacteurs,<sup>365,366</sup> de microémulsions,<sup>367,368</sup> de systèmes ligands-catalyseur,<sup>369,370</sup> et de liquides ioniques spécifiques<sup>371</sup> pour augmenter le contact entre les phases aqueuses et huileuses. En effet, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est connu comme une source d'oxygène verte, puisqu'il ne génère que de l'oxygène et de l'eau comme sous-produit. De tous les oxydants, il est le deuxième en termes d'efficacité atomique derrière l'oxygène moléculaire, avec 47 % d'efficacité.<sup>372,373</sup> En effet, l'oxygène à l'état fondamental peut être considéré comme le meilleur oxydant du point de vue économique et de l'efficacité atomique. Cependant, compte tenu de sa difficulté de stockage, d'exploitation et de sa faible sélectivité d'oxydation, il n'est pas encore possible de l'utiliser à l'échelle industrielle comme oxydant pour la production de produits chimiques.<sup>374</sup> Au contraire, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est plus facile à manipuler et peut être appliqué à différentes réactions d'oxydation, notamment l'époxydation et le clivage des doubles liaisons. Par conséquent, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se présente comme une alternative intéressante en apportant des solutions vertes comme agent de clivage oxydant pour de telles réactions. Le clivage oxydant du cyclohexène par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ne rejette ainsi donc pas d'eaux usées ou de gaz acides, les conditions de réaction sont relativement douces, et la toxicité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est bien moindre que celle de O<sub>3</sub>.

Le seul inconvénient que représente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est son coût de production, qui est très élevé comparé à celui de HNO<sub>3</sub> et O<sub>3</sub>. La diminution de la décomposition thermique et les moyens de réduire la quantité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> introduite dans les systèmes ont donc été étudiés avec beaucoup d'attention.<sup>375</sup>

### 1.3 – Clivage de la double liaison C=C par le peroxyde d'hydrogène

Dans le cas du clivage oxydant des doubles liaisons C=C des oléfines, des progrès importants ont été réalisés pour rendre la réaction plus écologique en hétérogénéisant les catalyseurs, en n'utilisant aucun solvant organique ou des solvants moins toxiques, et en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme oxydant. Cependant, les systèmes catalytiques actuels souffrent encore de différentes limitations. Tout d'abord, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, oxydant très hydrophile, a une très faible solubilité dans la plupart des phases organiques, dont les oléfines, ce qui génère une très petite surface de contact. Deuxièmement, l'utilisation d'un catalyseur hétérogène réduit le transfert de masse. Des molécules tensioactives telles que des tensioactifs ou des molécules similaires,<sup>376</sup> des liquides ioniques ou des polymères tensioactifs ont été développés pour diminuer la tension interfaciale dans les systèmes biphasiques. Cependant, l'ajout de composants supplémentaires dans le milieu réactionnel rend le système plus complexe et diminue l'efficacité atomique. En outre, les tensioactifs sont capables de se lier aux protéines et de modifier les enzymes, ce qui pose des problèmes environnementaux.<sup>377</sup> Enfin, une fois qu'une émulsion est stabilisée par des tensioactifs, la séparation des phases est difficile à réaliser, ce qui rend difficile la récupération des produits et des catalyseurs après la réaction.

Dans ce contexte, les systèmes PIC (**Figure 4.2**) ont été introduits pour apporter une solution globale au faible contact dans les systèmes liquide-liquide-solide. Les liquides immiscibles peuvent être émulsifiés à l'aide de NPs amphiphiles, se comportant simultanément comme des émulsifiants et des catalyseurs hétérogènes.

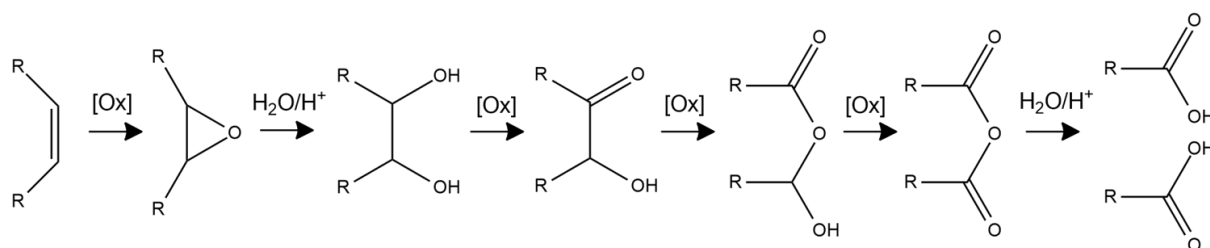


**Figure 4.2 :** Représentation schématique d'un système PIC. Cas de la synthèse d'acide adipique à partir du cyclohexène.

En générant des émulsions de Pickering, la surface de contact entre les réactifs non miscibles est augmentée efficacement, l'huile, l'eau et le catalyseur présentant un contact interfacial intime où la réaction catalytique se produit. L'interface est élastique et robuste grâce aux propriétés uniques des émulsions de Pickering. La surface de contact peut devenir si élevée que le transfert de masse entre les deux phases liquides ne limite plus la réaction. Plus les gouttelettes sont fines, plus l'interface est importante dans les systèmes PIC, à tel point que l'agitation n'est plus nécessaire.<sup>136,144</sup> Après la réaction, les émulsions de Pickering peuvent être facilement déstabilisées à l'aide de forces externes, ce qui permet de récupérer le produit de la réaction et de réutiliser le catalyseur. En outre, en tant que NPs solides, les émulsifiants de Pickering présentent une faible toxicité.

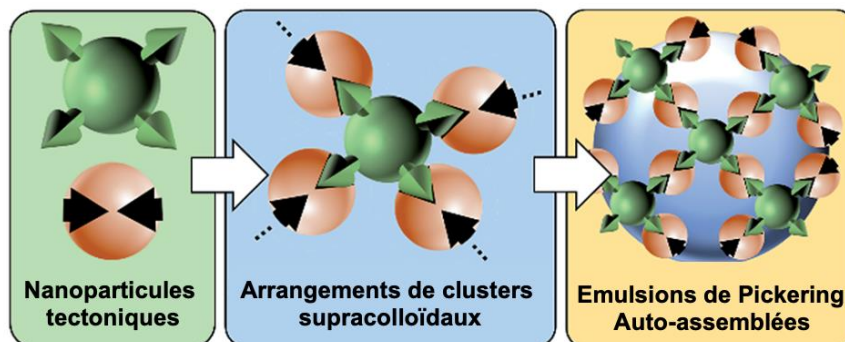
#### 1.4 – Clivage oxydant en one-pot de la double liaison C=C et étude de l'influence de co-catalyseurs

Les travaux sur lesquels s'appuie cette étude ont permis le développement d'un tout nouveau système PIC innovant.<sup>141</sup> Basé sur les études précédentes sur l'époxydation d'oléfines avec  $H_2O_2$  via un système PIC, les auteurs ont utilisé des polyoxométallates (POMs) amphiphiles (notés  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ ) pour le clivage de l'oléfine. Cependant, comme le montre le mécanisme simplifié de clivage d'alcènes **Figure 4.3**, ce procédé comporte plusieurs étapes d'époxydation/oxydation et d'hydrolyse.<sup>378,379</sup>



**Figure 4.3 :** Mécanisme du clivage oxydant d'oléfines par  $H_2O_2$  via la formation d'époxyde et de diol.

Un catalyseur d'hydrolyse est donc également nécessaire dans le système. Les particules de POM seront ainsi accompagnées de nanoparticules acides de silice amphiphiles. Ces deux catalyseurs amphiphiles vont ainsi se positionner à l'interface mais ils vont également former des structures « hiérarchiques supramoléculaires » grâce à l'approche de la tectonique colloïdale (**Figure 4.4**).



**Figure 4.4 :** Conception d'émulsions de Pickering produites par l'auto-association de récepteurs et connecteurs (nanoparticules tectoniques).<sup>141</sup>

Plusieurs NPs de silices greffées avec des groupements alkyles et sulfoniques ont été testées (les NPs sont notées  $C_n/C_3SO_3H@SiO_2$ , avec  $n = 3, 8$  et  $18$ ). Leur interaction à l'interface E/H a conduit à l'auto-assemblage des deux NPs par une pénétration partielle des chaînes alkyles de  $C_n/C_3SO_3H$  dans le  $C_{12}$ -POM. Il en résulte la préparation de diacides à partir du clivage oxydant en one-pot d'oxydes cycliques (comme l'oxyde de cyclohexène) avec du  $H_2O_2$  aqueux en combinant les étapes consécutives d'oxydation et d'hydrolyse catalysées par  $C_{12}$ -POM et  $C_n/C_3SO_3H$ , respectivement. Ils ont montré que le système optimum était avec les NPs de  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$  car la chaîne en C18 vient s'imbriquer dans les NPs poreuses de  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ , permettant la stabilisation d'émulsions de Pickering et l'élasticité de la couche interfaciale. Ces systèmes, très pratiques en de nombreux points, se sont montrés efficaces pour la conversion d'oxydes de cycloalcènes en diacides.

Ainsi, l'application de la Tectonique Colloïdale s'appuyant sur des NPs de  $C_{12}$ -POM et de  $C_{18}/C_3SO_3H$  pour préparer des acides dicarboxyliques à partir d'alcènes cycliques est présentée ici.<sup>363</sup> Dans cette réaction, un additif phosphate est nécessaire pour activer le POM en stabilisant les espèces oxoperoxo, améliorant l'époxydation des alcènes cycliques. La démarche consiste à évaluer le rôle de différents types d'additifs phosphatés sur l'auto-assemblage et l'activité catalytique des NPs de  $C_{12}$ -POM et de  $C_{18}/C_3SO_3H$  à l'interface E/H. Ainsi, cinq sels de phosphate avec une acidité, une hydrophilie et une amphiphilie variables ont été étudiés :  $NaH_2PO_4$ ,  $Na_2HPO_4$  et  $(NH_4)_2HPO_4$ , qui devraient se solubiliser dans la phase aqueuse de l'émulsion, et  $[C_{12}]H_2PO_4$  et  $[C_{12}]_2HPO_4$ , qui devraient avoir plus d'affinité pour l'interface E/H.



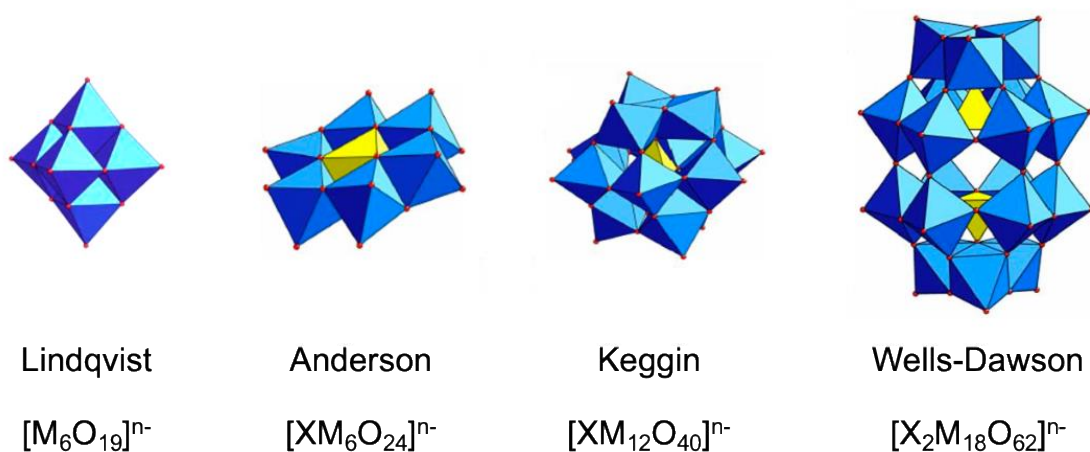
II] Élaboration d'émulsions de Pickering à base de nanoparticules de silice et de  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ 

## II.1 – Composition des systèmes

Les prochaines lignes seront dédiées à la brève description et à la présentation des nanoparticules amphiphiles à caractère catalytique mentionnées précédemment, qui font partie du système PIC développé, ainsi que de l'auto-assemblage et de l'arrangement supramoléculaire dont ils font l'objet dans notre étude.

II.1.a – Le polyoxométallate de type Keggin  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ 

La première observation des polyoxométallates comme nous les connaissons fut réalisée par Berzelius en 1826 via la formation d'un précipité jaune suite à l'ajout de molybdate d'ammonium à une solution d'acide phosphorique.<sup>380</sup> Ce sont des clusters métalliques majoritairement anioniques de forme  $MO_x$  (M étant le métal central, et X est compris entre 4 et 7). Les recherches pour déterminer la structure précise de ces composés ont duré plus de 100 ans, jusque dans les années 1930 grâce au développement de nouvelles techniques et la résolution de la structure du  $H_3[PW_{12}O_{40}].5H_2O$  par Keggin.<sup>381</sup> Il existe 4 types de POMs (**Figure 4.5**), aussi appelés polyanions, dont les différences sont conditionnées par la présence d'un tétraèdre de type  $XO^4-$  (avec X différent de M), qui modifie l'orientation des polyèdres métalliques environnant. On obtient ainsi des structures de type isopolyanions  $[M_nO_o]^{a-}$  (Lindqvist), ou des hétéropolyanions de formule  $[X_mM_nO_o]^{a-}$  ( $m \leq n$ ) (Anderson, Keggin et Wells-Dawson).<sup>382</sup>

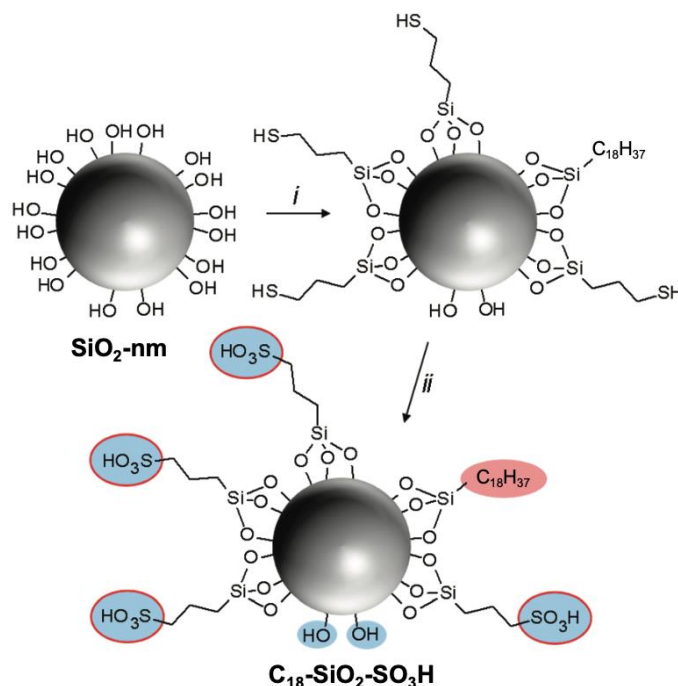


**Figure 4.5 :** Représentation octaédrique des quatre principales familles de POMs ( $X =$  hétéroatome,  $M =$  métal, et  $n =$  charge globale du cluster). Adaptée de <sup>382</sup>

Dans cette étude, un analogue modifié de  $H_3[PW_{12}O_{40}]$  est utilisé, afin de le rendre plus amphiphile et qu'il se positionne à l'interface. Sa préparation suit le protocole précédemment développé dans notre laboratoire par A. Mouret.<sup>383</sup> Elle est composée de 3 étapes : i) le conditionnement de la résine échangeuse d'ions ; ii) échange d'ions entre la résine et le tensioactif ammonium quaternaire ; et iii) neutralisation acide-base entre l'acide phosphotungstique et l'hydroxyde d'ammonium quaternaire afin d'obtenir le  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ .

## II.1.b – Nanoparticules de silices acides amphiphiles

Les NPs de silice amphiphiles ont été synthétisées par greffage de sites acides et de chaînes alkyles inertes sur de la silice fumée Aerosil® 200 (**Figure 4.6**). Les sites acides sont utilisés comme catalyseurs pour les réactions d'hydrolyse mentionnées précédemment (**Figure 4.3**) et apportent des propriétés hydrophiles. Les chaînes alkyles inversement, apportent l'hydrophobie nécessaire pour contrebalancer l'hydrophilie des sites acides et des groupements silanols restants, afin d'obtenir des particules amphiphiles. Les chaînes alkyles n'ont aucune action catalytique.



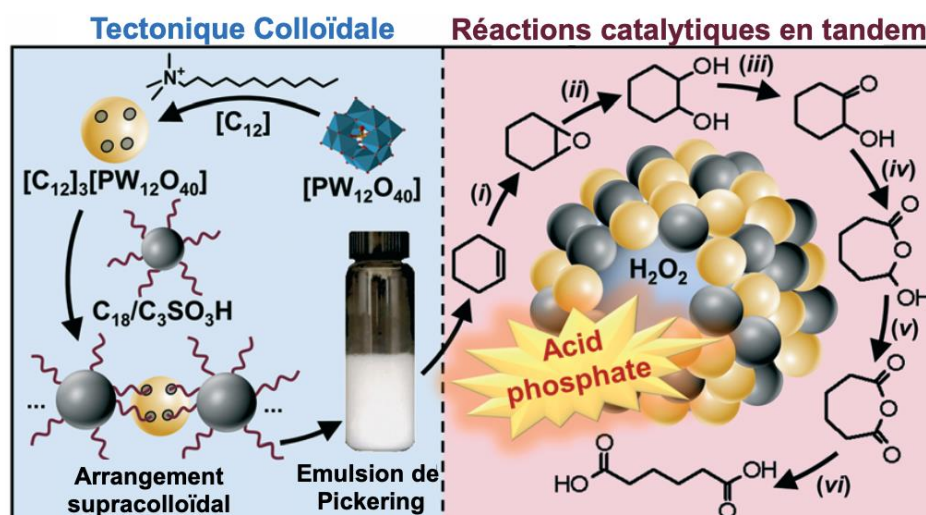
**Figure 4.6 :** illustration schématique de la synthèse des nanoparticules de silice acides/amphiphiles,  $\text{C}_{18}\text{-SiO}_2\text{-SO}_3\text{H}$ , aussi appelées  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}@\text{SiO}_2$ . i) 1 g d'Aerosil® 200 ( $\text{SiO}_2\text{-nm}$ ), 4 mmol d'octadécyltriméthoxysilane, 16 mmol de (3-mercaptopropyl)triméthoxysilane,  $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$  pH = 9.6, reflux 24h ; ii) 60 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50%),  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 40 °C, 24 h. Les domaines hydrophobes, hydrophiles sont représentés par les domaines rouges et bleus respectivement, les sites catalytiques par les cercles rouges.<sup>136</sup>

Ces particules ont d'abord montré un grand intérêt pour l'élaboration et la stabilisation d'émulsions de Pickering à application catalytique et sans solvants, directement avec du méthanol en phase aqueuse et des huiles végétales comme phase organique afin de réaliser la transestérification des triglycérides pour la production de biodiesel. Les activités catalytiques se sont révélées être excellentes.<sup>136</sup>

## II.1.c – Arrangement supramoléculaire des composants

Les précédentes études ont ainsi démontré que l'association de ces deux nanoparticules dans le cadre du clivage oxydant d'oléfines avait un effet synergique, tant au niveau des caractéristiques physicochimiques des émulsions (réduction significative de la taille des gouttelettes ce qui engendre donc une augmentation de la surface de l'interface, diminution

de la déstabilisation de l'émulsion) qu'au niveau de l'efficacité catalytique où la sélectivité de la réaction se montre 15 fois plus importante en présence des deux espèces comparée aux expériences de contrôle sans particules. Ainsi, même si les NPs de silice nécessitent une modification synthétique de leur surface, le système catalytique est efficace et globalement écologique car il minimise l'utilisation de solvants (ou co-solvants) organiques et peut être facilement réutilisé sans production de déchets. La synergie résulte de l'imbrication des chaînes alkyles des NPs de  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$  dans les porosités des particules de POM  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$  (Figure 4.7).



**Figure 4.7 :** Concept de la tectonique colloïdale basé sur les NPs de  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$  ( $C_{12}$ -POM) et de  $C_{18}/C_3SO_3H$  et appliquée à la synthèse d'acides dicarboxyliques (acide adipique ici) en partant d'alcènes cycliques (cyclohexène ici).

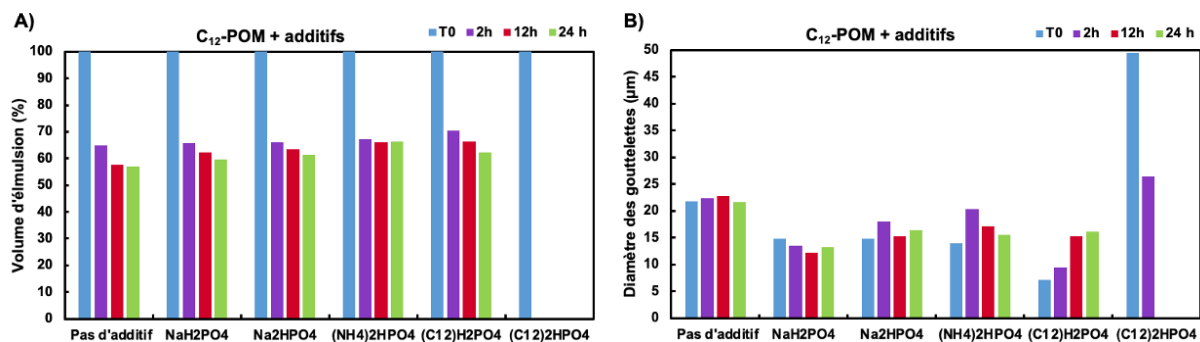
## II.2 – Elaboration des émulsions de Pickering

### II.2.a – Composition et procédé d'émulsification

Tout d'abord, les différences induites par l'ajout des différents composés sur deux caractéristiques principales des émulsions, qui sont l'indice d'émulsion (qui représente donc indirectement le volume d'émulsion dans lequel l'émulsion pourra se produire), et la taille des gouttelettes (conditionnant encore une fois la surface de contact via l'augmentation ou la diminution de l'aire interfaciale) seront observées. Ainsi, les caractéristiques des émulsions avec les particules de POMs seules et avec les additifs, de silice seule et avec les additifs, Les effets combinés des deux NPs, seules et avec les additifs, seront évaluées. Ainsi, les émulsions sont réalisées avec des ratios massiques de 1 pour les deux NPs (50 mg chacun), et de 2 équivalents pour les additifs par rapport au  $C_{12}$ -POM. 0.75 mL de toluène et 2,25 mL d'eau sont ajoutés et l'émulsification est réalisée au moyen d'un Ultraturrax utilisé à 11500 rpm pendant 1 minute.

### II.2.b – Effet des POMs sur les caractéristiques des émulsions

Une première étude a donc été réalisée uniquement avec les particules de POMs seules et en présence des différents additifs, les résultats sont montrés en **Figure 4.8**.

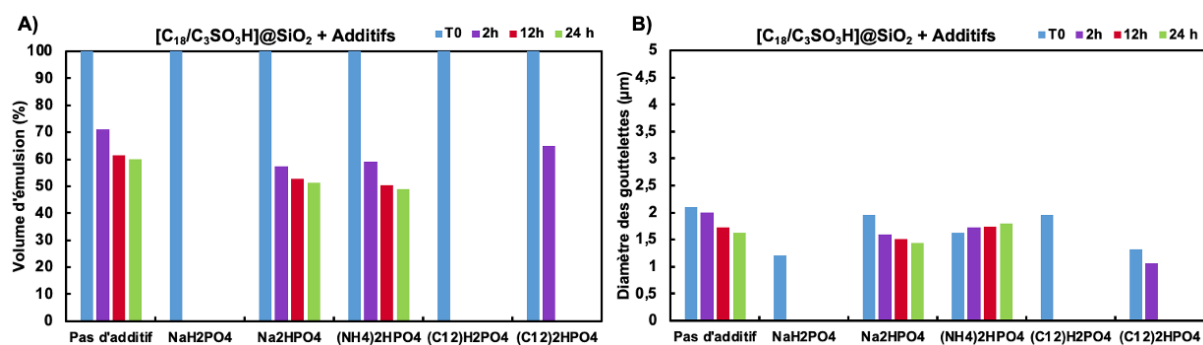


**Figure 4.8 :** A) Évolution du volume des émulsions E/H et B) diamètre moyen des gouttelettes pour les combinaisons de C<sub>12</sub>-POM + additifs. 0,75 mL de toluène, 2,25 mL d'eau, 100 mg de NPs, 2 équivalents d'additif par rapport au C<sub>12</sub>-POM. Émulsification à l'Ultraturrax à 11500 rpm pendant 1 min.

Les NPs auto-assemblées de C<sub>12</sub>-POM stabilisent bien les émulsions E/H. Cependant, on remarque que l'utilisation d'additifs entraîne un volume d'émulsion à l'état d'équilibre légèrement plus élevé par rapport au test sans additif. Il passe en effet de 60 % sans additifs, à 65-70 % en présence des différents additifs. En revanche, l'émulsion formée avec le [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> se déstabilise complètement au bout en à peine 2 h. Cet additif apporte certainement trop d'hydrophobie avec ses deux chaînes en C<sub>12</sub>, ce qui conduit à la déstabilisation des émulsions (Figure 4.8.A). De façon analogue, le diamètre moyen des gouttelettes diminue avec les additifs en passant de 20-25 µm sans additifs à environ 10-15 µm en présence d'additifs. Les gouttelettes formées avec le [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sont beaucoup plus grosses (50 µm), ce qui confirme l'hydrophobie plus importante, empêchant la formation de fines gouttelettes d'eau (Figure 4.8.B).

### II.2.c – Effet des NPs de silice sur les caractéristiques des émulsions

Ensuite, la formation des émulsions avec les nanoparticules de silice C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H@SiO<sub>2</sub> a été étudiée (Figure 4.9).



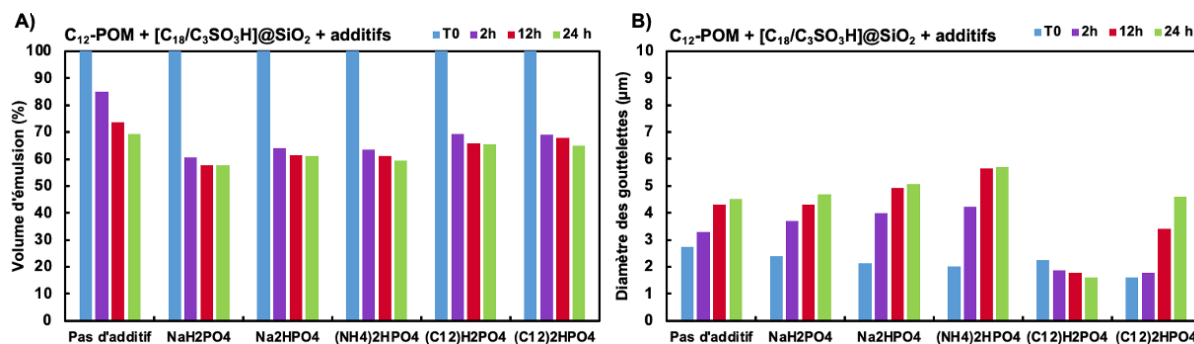
**Figure 4.9 :** A) Évolution du volume des émulsions E/H et B) diamètre moyen des gouttelettes pour les combinaisons de C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H + additifs. 0,75 mL de toluène, 2,25 mL d'eau, 100 mg de NPs, 2 équivalents d'additif par rapport au C<sub>12</sub>-POM. Émulsification à l'Ultraturrax à 11500 rpm pendant 1 min.

Les NPs de C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H stabilisent également des émulsions de Pickering, mais uniquement seules, avec le Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, et le [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> pour un temps limité, et avec un volume d'émulsion à l'état stable d'environ 50 % (Figure 4.9.A), inférieurs à ceux obtenus avec le C<sub>12</sub>-

POM. Le diamètre moyen des gouttelettes est quant à lui de 2,5  $\mu\text{m}$ , et reste quasiment inchangé, ce qui est bien inférieur à ceux mesurés pour le  $\text{C}_{12}$ -POM (**Figure 4.9.B**). Les particules de silices montrent une hydrophobie déjà prononcée et l'hydrophobie supplémentaire apportée par les additifs en chaîne C12 semblerait provoquer la déstabilisation des émulsions. Les additifs  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  apportent quant à eux une hydrophilie qui contrebalance avec l'hydrophobie des NPs et aident à la stabilisation des émulsions. Autre point, les NPs sont également déjà acides, ce qui peut expliquer que les additifs les plus acides (c'est-à-dire  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  et  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$ ) engendrent la déstabilisation rapide des émulsions en raison de répulsions électrostatiques importantes aux interfaces.

### II.2.d – Influence de l'association des deux NPs

Pour finir, l'association des deux NPs en l'absence et en présence des différents additifs a été étudiée (**Figure 4.10**).

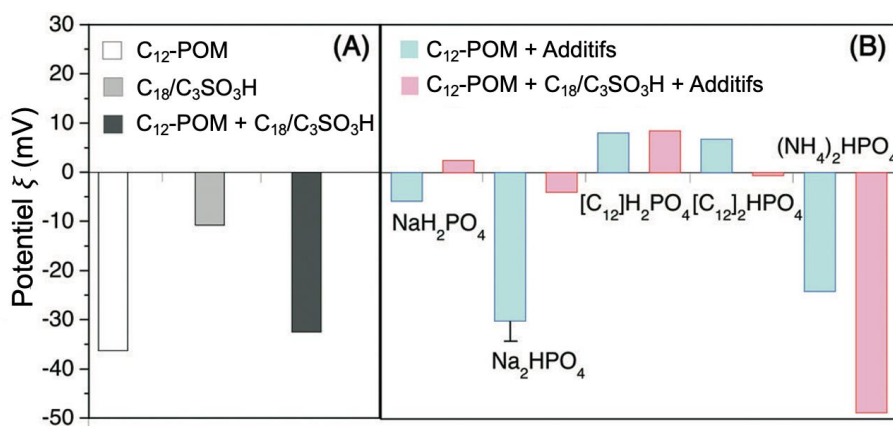


**Figure 4.10** : A) Évolution du volume des émulsions E/H et B) diamètre moyen des gouttelettes pour les combinaisons de  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  + additifs. 0,75 mL de toluène, 2,25 mL d'eau, 100 mg de NPs, 2 équivalents d'additif par rapport au  $\text{C}_{12}$ -POM. Émulsification à l'Ultraturrax à 11500 rpm pendant 1 minute.

Les NPs mixtes  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  stabilisent les émulsions E/H pour tous les additifs, y compris le  $(\text{C}_{12})_2\text{HPO}_4$ . Le volume de l'émulsion à l'état stable est légèrement inférieur à celui mesuré sans additif (60 % contre 70 %, **Figure 4.10.A**), mais ils semblent plus importants avec les additifs à chaîne en C12. Le diamètre moyen des gouttelettes augmente légèrement en utilisant les additifs (4,0-5,5  $\mu\text{m}$ ), sauf pour le  $(\text{C}_{12})\text{H}_2\text{PO}_4$ , affichant un diamètre inférieur (1,5  $\mu\text{m}$ ) (**Figure 4.10.B**). Les diamètres moyens des gouttelettes sont beaucoup plus petits que ceux mesurés pour les NPs de  $\text{C}_{12}$ -POM, révélant une forte interaction dirigée par des interactions de van der Waals entre les deux NPs à l'interface E/H, favorisant l'imbrication entre les NPs de  $\text{C}_{12}$ -POM et de  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$ .

### II.2.e – Caractérisations et influence des additifs

Afin de bien comprendre l'effet des additifs sur les caractéristiques des émulsions et leur positionnement, une étude consistant à mesurer le potentiel zêta des NPs seules et en présence des additifs a été réalisée (**Figure 4.11**).



**Figure 4.11** : Potentiel zêta A) des nanoparticules de C<sub>12</sub>-POM, C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H, et C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H seuls, et B) de l'association du C<sub>12</sub>-POM et de C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H en présence des additifs. Conditions : 50 mg de chaque NP (3,6 %m), 2 équivalents d'additifs par rapport au C<sub>12</sub>-POM dans 2,25 mL d'eau, force ionique constante fixée par le système lui-même (1 mS.cm<sup>-1</sup>). Les NPs ont été dispersées à l'aide d'un Ultraturrax à 20 °C et 11500 rpm pendant 1 min.

Les NPs C<sub>12</sub>-POM et C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H présentent une forme sphérique et sont monodisperses ( $\phi \approx 35$  nm et  $\phi \approx 13-15$  nm, respectivement) avec un angle de contact avec l'eau  $> 90^\circ$ , reflétant un mauvais comportement de mouillage. L'acidité des NPs C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H est de 0,38 mmolH<sup>+</sup>/g. Les deux NPs présentent un potentiel  $\zeta$  négatif en dispersion aqueuse avec des valeurs de -36 mV et -11 mV, respectivement (**Figure 4.11.A**). La combinaison de NPs C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (1 : 1 sur la base du poids) résulte en un potentiel  $\zeta$  similaire à celui mesuré sur des NPs C<sub>12</sub>-POM simples (-32 mV). Cette observation peut être expliquée par une interaction partielle entre les deux NPs même lorsqu'elles sont dispersées dans l'eau, résultant en une diminution de la charge de surface des agrégats de particules. Le potentiel  $\zeta$  a ensuite été mesuré pour le C<sub>12</sub>-POM et le mélange C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs (1 : 1, 3,6 %m) avec les additifs à force ionique constante (**Figure 4.11.B**). L'ajout de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> au C<sub>12</sub>-POM diminue le potentiel  $\zeta$  (en valeur absolue), soit -5,8 et -24 mV, ce qui peut s'expliquer par une saturation partielle de la double couche par les cations Na<sup>+</sup> et NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. En revanche, en présence de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, le potentiel  $\zeta$  ne présente pratiquement aucune variation dans les limites de l'erreur expérimentale. Cette observation suggère une absence de perturbation de la charge dans les NPs C<sub>12</sub>-POM malgré sa protonation due à la désorption partielle des chaînes C<sub>12</sub>.<sup>383</sup>

Pour [C<sub>12</sub>]H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, le potentiel  $\zeta$  montre une valeur positive de +8,1 et +6,8 mV respectivement, ce qui est en accord avec une pénétration partielle des chaînes de [C<sub>12</sub>] dans les NPs de C<sub>12</sub>-POM, approchant les contre-anions, c'est-à-dire H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> et HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, près des NPs de C<sub>12</sub>-POM.<sup>384</sup> Pour les NPs mixtes, le potentiel  $\zeta$  diminue pour NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> par rapport aux C<sub>12</sub>-POM, avec des valeurs de +2,5 et -4,0 mV, respectivement, suggérant une réduction de la charge de l'assemblage de particules. Le [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> donne une charge nulle, tandis que le [C<sub>12</sub>]H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ne change pratiquement pas (+8,5 mV). Le potentiel  $\zeta$  augmente (en valeur absolue) pour le (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (-49 mV), très probablement en raison d'une désorption partielle des chaînes [C<sub>12</sub>] et d'une augmentation de la charge de l'assemblage de particules. Globalement, ces résultats indiquent que les additifs peuvent conditionner le potentiel  $\zeta$  des

NPs de C<sub>12</sub>-POM et des NPs mixtes de C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H en ajustant la charge de surface et la distribution des chaînes de [C<sub>12</sub>] autour des assemblages de particules.

Le pH des émulsions stabilisées par des NPs C<sub>12</sub>-POM simples et mixtes C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H a été mesuré avec/sans les additifs et en présence de cyclohexène/cyclooctène (2 mol.L<sup>-1</sup> (M) dans le toluène) après dilution avec de l'eau déionisée (1 %m) (**Tableau 4.1**).

**Tableau 4.1** : pH des émulsions avant réaction.

Système de particules	Additif	pH (Cyclohexène)	pH (Cyclooctène)
C <sub>12</sub> -POM	Pas d'additif	6,9	6,8
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6,7	6,5
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6,9	6,8
	[C <sub>12</sub> ]H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6,6	6,5
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6,6	6,3
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6,4	6,2
C <sub>12</sub> -POM + C <sub>18</sub> /C <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H	Pas d'additif	4,4	4,6
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,8	3,9
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,8	4,9
	[C <sub>12</sub> ]H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4,2	4,6
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,4	4,9
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,9	5,0

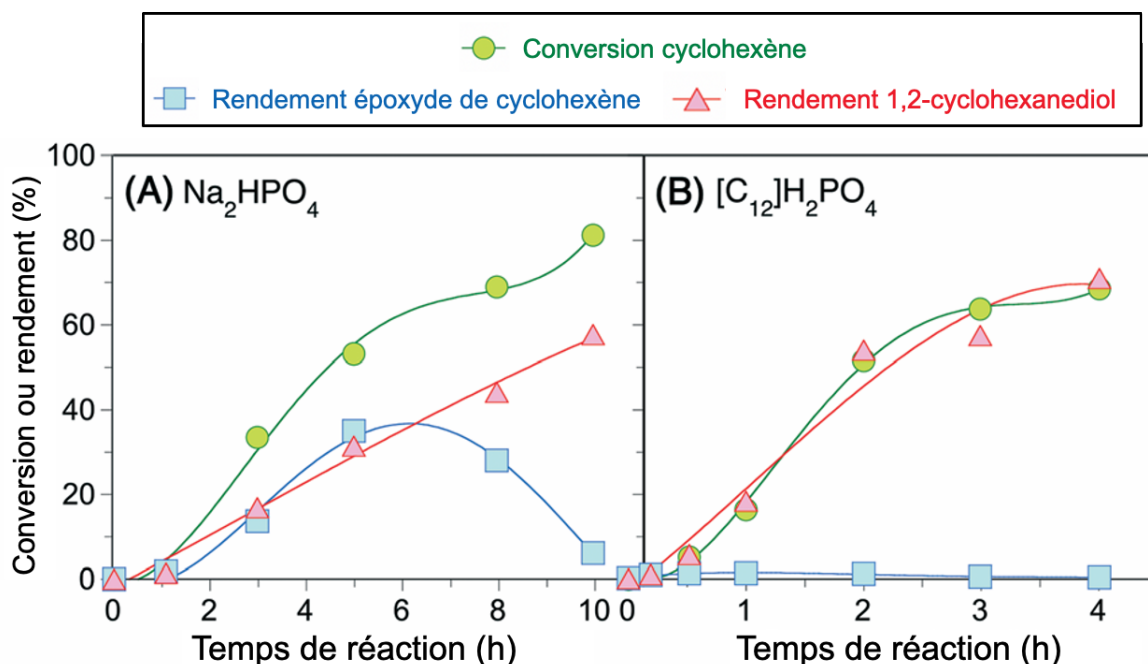
Conditions d'émulsifications identiques que précédemment. Le pH a été mesuré après dispersion de 1 %m de l'émulsion dans l'eau distillée.

Les additifs ne modifient pas le pH par rapport à la valeur mesurée sans additif. Cependant, à l'exception du NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, le pH est plus bas pour les NPs mixtes C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (plage 4,2-5,0) par rapport à celui mesuré pour les NPs C<sub>12</sub>-POM simples (6,2-6,9). Cette observation met en évidence la forte influence des NPs C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H sur le pH indépendamment de l'additif. Dans le cas du NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, le pH montre une valeur plus faible pour les NPs mixtes C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (3,8-3,9).

### III] Clivage oxydant d'oléfines pour la synthèse verte d'acides dicarboxyliques

#### III.1 – Cinétique de la réaction en présence de C<sub>12</sub>-POM et d'additifs

Les émulsions produites pour la réalisation d'une réaction catalytique sont légèrement différentes, puisque le toluène est concentré à 2 M en cycloalcène, et que l'eau contient 1,2 équivalents en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'oxydation biphasique du cyclohexène et du cyclooctène sur le C<sub>12</sub>-POM en présence de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et de [C<sub>12</sub>]H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> en utilisant un faible excès de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.2 équiv.) a tout d'abord été suivie (**Figure 4.12**). L'oxydation du cyclohexène se déroule plus rapidement avec le [C<sub>12</sub>]H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> montrant une constante de vitesse apparente de premier ordre de 0,35 h<sup>-1</sup>, alors que la constante de vitesse pour le Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> est de 0,16 h<sup>-1</sup>.



**Figure 4.12 :** Évolution de l'oxydation du cyclohexène en fonction du temps avec A)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et B)  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$  en tant qu'additifs. Conditions de réaction : 0,75 mL de toluène (2 M de cyclohexène), 2,25 mL d'eau (1,2 équivalent  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), 50 mg de  $\text{C}_{12}$ -POM, 2 équiv. d'additif par rapport au  $\text{C}_{12}$ -POM, 60 °C, 500 rpm.

L'époxyde de cyclohexène ainsi généré réagit rapidement en 1,2-cyclohexanediol, en particulier en présence de  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$  (**Figure 4.12.B**). Le rendement en époxyde est très faible au cours de la réaction, ce qui suggère que l'hydrolyse est plus rapide que l'époxydation. En conséquence, le produit d'époxydation est rapidement converti en diol, ce qui suggère que l'époxydation est l'étape déterminant la vitesse de la réaction. Cette observation est attribuée au  $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{PO}_4$ , qui est un substrat tensioactif avec une légère acidité, jouant un rôle similaire à celui des NPs d'acide amphiphile. En effet, le pH de cet additif en phase aqueuse est de 4, ce qui nous permet de comparer son acidité directement à celle des NPs  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$ . L'époxyde de cyclohexène étant une molécule très active, on en déduit que  $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{PO}_4$  montre une activité catalytique suffisante pour l'hydrolyse de ce composé.

En présence de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (**Figure 4.12.A**), qui exerce un faible effet sur la réaction d'hydrolyse en raison de son acidité quasi neutre. On observe une réaction typique d'époxydation/hydrolyse multi-étapes, selon la cinétique de l'époxydation du cyclohexène.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  conférant très peu d'activité catalytique ou d'efficacité interfaciale, l'hydrolyse devrait se produire principalement en raison de l'accessibilité facile à l'interface. Le produit d'époxydation s'accumule dans les premières heures en raison de l'absence d'un catalyseur d'hydrolyse. La performance catalytique est beaucoup plus faible qu'avec  $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{PO}_4$ . En effet, il faut presque deux fois plus de temps pour la réaction avec  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  comme promoteur pour atteindre la même conversion que celle avec  $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{PO}_4$ . Ceci est principalement attribué, d'une part, à l'environnement légèrement alcalin fourni par  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , n'empêchant pas la



décomposition thermique de  $H_2O_2$ . D'autre part, l'absence d'activité interfaciale du  $Na_2HPO_4$  n'a aucun effet sur le transfert de masse biphasique.

### III.2 – Clivage oxydant en one-pot du cyclohexène et du cyclooctène

La vitesse plus faible du clivage oxydant du cyclohexène avec le  $Na_2HPO_4$  nous permet d'étudier plus en détail et de pouvoir discriminer les propriétés catalytiques des NPs  $C_{12}$ -POM,  $C_{18}/C_3SO_3H$  et mixtes  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  (1 : 1) sur le clivage oxydant du cyclohexène et du cyclooctène en utilisant  $Na_2HPO_4$  comme additif (**Tableau 4.2**).  $H_2O_2$  a été ajouté en deux étapes pour éviter sa décomposition. Pour comparaison, une expérience sans catalyseur ne révèle aucune conversion.

**Tableau 4.2** : Résultats de la catalyse du clivage oxydant du cyclohexène et du cyclooctène en utilisant  $Na_2HPO_4$  en tant qu'additif, sans catalyseur, avec  $C_{12}$ -POM ou  $C_{18}/C_3SO_3H$  et  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  combinés.

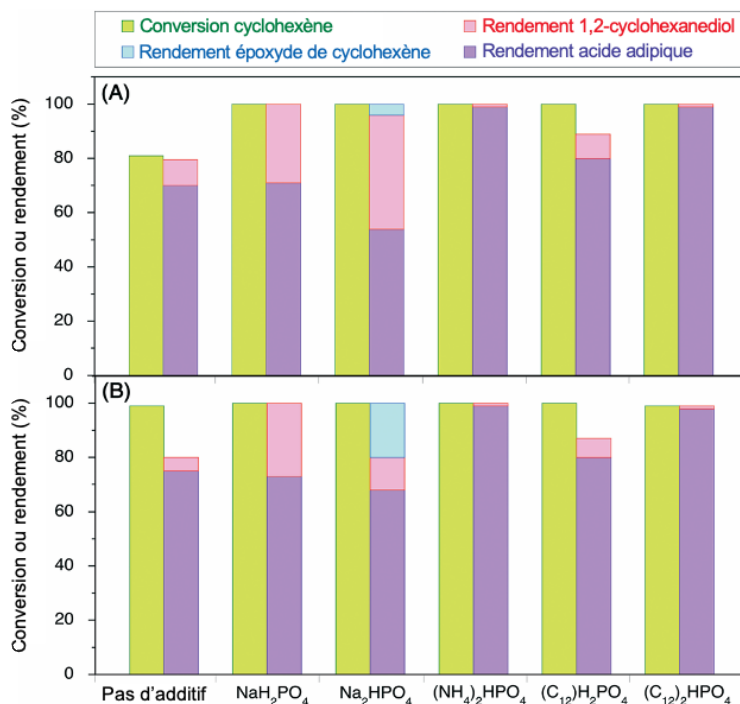
Réactif	$C_{12}$ -POM	$C_{18}/C_3SO_3H$	Conversion (%)	Rendement (%)		
				Epoxide	Diol	Diacide
Cyclohexène	-	-	1,0	0,3	0,3	0,2
	+	-	100	2,6	41	52
	-	+	3,5	0,5	2,2	0,9
	+	+	100	18	13	70
Cyclooctène	-	-	1,0	0,3	0,3	0,2
	+	-	100	84	6,6	9,8
	-	+	3,0	2,3	0,5	0,5
	+	+	100	20	14	76

Conditions de réaction : 0,75 mL de toluène (2 M de cycloalcène), 2,25 mL d'eau (1,2 équivalent  $H_2O_2$ ), 50 mg de  $C_{12}$ -POM (+ 50 mg de  $C_{18}/C_3SO_3H$ ), 2 équivalents d'additif par rapport au  $C_{12}$ -POM, 60 °C, 500 rpm, 4 h, suivi par l'ajout de 3,5 équiv. de  $H_2O_2$ , 80 °C, 500 rpm. Le temps de réaction est de 12 h pour le cyclohexène, et 24 h pour le cyclooctène.

On remarque très rapidement que lorsque les NPs  $C_{18}/C_3SO_3H$  sont ajoutées au système, une conversion faible mais détectable (< 3 %) est observée. Les NPs  $C_{12}$ -POM favorisent le clivage du cyclohexène en acide adipique avec un rendement de 52 %. A l'opposé de ce comportement, le diol est généré rapidement pour le cyclooctène avec un rendement de 84 % et un rendement < 10 % d'acide subérique. Ces résultats indiquent que  $Na_2HPO_4$  peut favoriser l'ouverture du cycle de l'époxyde de cyclohexène, très probablement dans la phase aqueuse en raison de son comportement hydrophile plus élevé par rapport à l'époxyde de cyclooctène (0,95 contre 1,79, respectivement). Les NPs mixtes  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  peuvent promouvoir une cascade redox-acide, en particulier pour le cyclooctène, permettant un rendement d'acide subérique jusqu'à 76 %.

## III.3 – Influence des additifs sur le clivage oxydant du cyclohexène et du cyclooctène

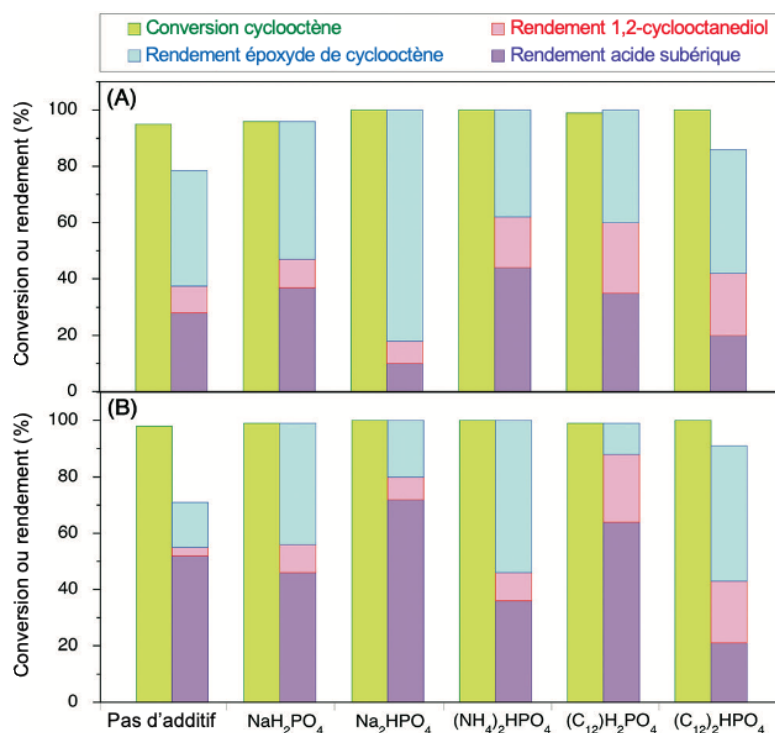
A la lumière de ces résultats, le clivage oxydant du cyclohexène avec/sans additif a été étudié, c'est-à-dire  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$  et  $[\text{C}_{12}]_2\text{HPO}_4$ , en utilisant le  $\text{C}_{12}$ -POM (Figure 4.13).



**Figure 4.13** : Résultats de la catalyse du clivage oxydant du cyclohexène en utilisant les différents additifs en présence des nanoparticules de A)  $\text{C}_{12}$ -POM et B)  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$ . Conditions de réaction identiques que dans le **Tableau 4.2**.

Sans additif, une conversion de 81 % est atteinte avec un rendement en acide adipique de 70 % et un rapport molaire diacide/diol de 7,4. En présence d'additifs, la conversion complète est atteinte, mais la distribution des produits diffère selon l'additif. Pour  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  et  $[\text{C}_{12}]_2\text{HPO}_4$ , le rendement en acide adipique et le rapport diacide/diol sont > 99 % et 100 %, respectivement, alors que  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  et  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  donnent un rendement plus faible (71 % et 54 %) et un rapport diacide/diol de 2,5 et 1,3, respectivement. Pour  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$ , le rendement en acide adipique est de 80 % avec un rapport diacide/diol de 8,9. Des résultats similaires sont obtenus pour les NPs mixtes  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  sauf pour  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , montrant un rendement en acide adipique plus élevé (68 %) et un rapport diacide/diol (5.7) (Figure 4.13.B). En outre, l'époxyde de cyclohexène est toujours présent avec un rendement de 20 %. De façon générale, ces observations suggèrent que les réactions d'oxydation ne sont pas affectées par les NPs de silice  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$ .

Le clivage oxydant du cyclooctène avec/sans additif a également été étudié (Figure 4.14).



**Figure 4.14** : Résultats de la catalyse du clivage oxydant du cyclooctène en utilisant les différents additifs en présence des nanoparticules de A) C<sub>12</sub>-POM et B) C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H. Conditions de réaction identiques que dans le **Tableau 4.2**.

Sans additif, les NP de C<sub>12</sub>-POM seules (**Figure 4.14.A**) donnent une conversion de 95 % avec un rendement d'acide subérique de 28 % et des rapports diacide/époxyde et diacide/diol de 0,68 et 2,9, respectivement. En présence d'additifs, une conversion complète est obtenue, avec un rendement similaire en acide subérique (de 35 à 44 %) et des rapports diacide/époxyde et diacide/diol (de 1,4 à 3,7 et de 0,76 à 1,2, respectivement). Le Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et le [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> donnent un rendement en acide subérique plus faible de 10 % et 20 %, respectivement, et un rapport diacide/époxyde plus faible (0,12 et 0,45). Cependant, les rapports diacide/diol restent comparables à 1,25 et 0,90. Pour les NPs mixtes C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (**Figure 4.14.B**), le rendement en acide subérique augmente pour Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> jusqu'à 72 % et 64 %, respectivement, ainsi que les rapports diacide/époxyde et diacide/diol (valeurs 2,5/2,2 et 3,6/2,7). Un rendement en acide subérique plus élevé est également observé pour l'essai catalytique sans additif, même s'il est modéré (52 %), avec des rapports diacide/époxyde et diacide/diol de 3,2 et 5,3. Ces résultats soulignent que la vitesse globale de réaction pour le clivage oxydant du cyclohexène est contrôlée par la vitesse des étapes d'oxydation à l'interface E/H, alors que pour le cyclooctène, la vitesse globale est plutôt gouvernée par les étapes d'hydrolyse.

## Conclusions sur ce système

Dans cette partie, nous avons appliqué l'approche de la tectonique colloïdale développée précédemment pour concevoir des **NPs mixtes**  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}] + C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$  en tant qu'**émulsifiants et catalyseurs interfaciaux** afin de réaliser le clivage oxydant d'alcènes cycliques en acides dicarboxyliques correspondants en présence d'émulsions E/H. Une série d'additifs phosphatés a été considérée. Ils ont conditionné la stabilité des émulsions de Pickering et la sélectivité du système catalytique, avec un impact particulier pour l'oxydation du cyclooctène. Les meilleurs additifs ont été  **$Na_2HPO_4$  et  $[C_{12}]H_2PO_4$** , qui affectent l'auto-assemblage des particules à l'interface E/H en conditionnant l'environnement local (c'est-à-dire la charge et la distribution des chaînes  $[C_{12}]$ ) autour des assemblages de particules.

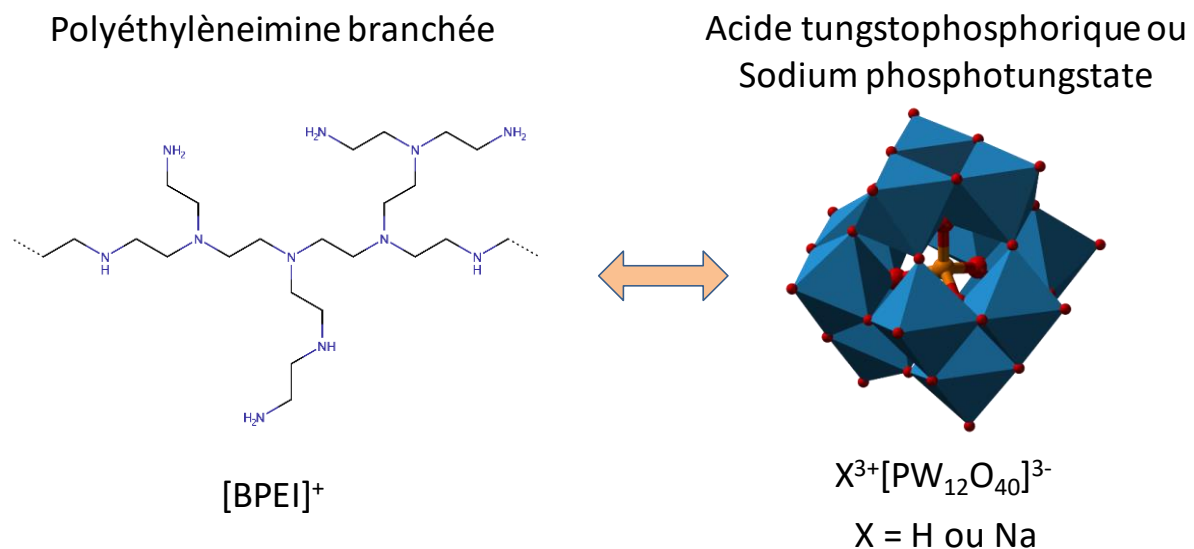
Les propriétés de l'émulsion telles que décrites indiquent que **le clivage oxydant du cyclohexène et du cyclooctène n'est pas affecté par le transfert de masse** en raison de la grande surface générée par le  $C_{12}$ -POM et le mélange  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs, **la réaction se produisant dans la couche interfaciale**.

Dans le cas du cyclohexène, le rendement élevé en acide adipique obtenu pour des NPs de  $C_{12}$ -POM simples en utilisant du  $[C_{12}]_2HPO_4$  sans stabiliser les émulsions peut être expliqué par le rôle de cet additif comme catalyseur de transfert de phase.<sup>363</sup> Pour le cyclooctène, le rendement supérieur en acide subérique pour les NPs mixtes  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  résulte non seulement de la microstructure du milieu réactionnel, mais aussi de la synergie entre les deux NPs à l'interface E/H avec  $Na_2HPO_4$  ou  $[C_{12}]H_2PO_4$ .

#### IV] Elaboration d'émulsions de Pickering à base de nanoparticules auto-associées de polyéthylèneimine branchée et de polyoxométalates

Cette partie fait l'objet d'une brève étude en cours inspirée encore une fois du concept de la tectonique colloïdale. Elle permet d'ouvrir des perspectives par rapport à la récupération des produits de réaction. Comme nous l'avons vu dans ce chapitre, après la réaction, il convient de faire subir aux échantillons une centrifugation de 20 min à 2575 G afin d'obtenir une séparation de phases complète et être en mesure d'analyser chacune d'entre elles efficacement par RMN et sans pollution. Cette étape est particulièrement demandeuse en énergie, et il serait intéressant de développer des nanoparticules à caractère catalytique sensibles afin de pouvoir provoquer la séparation rapide voire instantanée des phases grâce à l'application d'un stimulus.

À cet effet, la polyéthylèneimine branchée, décrite dans la deuxième partie du **Chapitre II**, qui est un polycation qui se charge progressivement avec la diminution du pH, fut associée avec un polyanion aux propriétés catalytiques, le polyoxométalate de type Keggin  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ . Ces molécules de charges contraires devraient logiquement s'attirer aux moyens d'interactions électrostatiques. (**Figure 4.15**).



**Figure 4.15** : Représentation schématique des structures et de l'association de la polyéthylèneimine branchée et du polyoxométalate de type Keggin  $[PW_{12}O_{40}]$ .

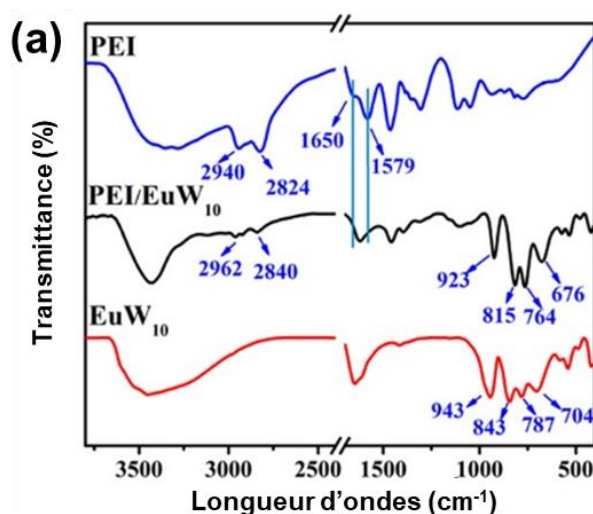
Le but ultime de cette étude est de produire des émulsions de Pickering à l'aide des particules synthétisées, de réaliser une réaction catalytique interfaciale, puis de déstabiliser l'émulsion avec un stimulus.

En premier lieu, l'association entre l'acide et le sel de sodium de notre POM,  $H_3PW_{12}O_{40}$  et  $Na_3PW_{12}O_{40}$ , avec la polyéthylèneimine branchée a été étudiée. La BPEI diffère de la forme linéaire via le fait qu'au lieu de posséder uniquement des fonctions amines secondaires, elle présente dans sa structure des amines primaires, secondaires et tertiaires. L'avantage de la BPEI est qu'elle est soluble dans l'eau dans toutes proportions, sans avoir besoin de modifier le

pH ou la température de la solution. On s'affranchit ainsi des conditions particulières de solubilité de la polyéthylèneimine linéaire.

Très peu de publications à ce jour mentionnent l'association de la PEI avec un POM.<sup>385,386</sup> Dans une première étude, des hydrogels supramoléculaires sensibles au pH ont été préparés à base d'un POM de type Wells-Dawson [ $P_2W_{15}O_{56}$ ]<sup>12-</sup> et de polyéthylèneimine branchée. La sensibilité au pH (étudiée entre les pH 1,2 et 7,4) fut introduite par les motifs acide acrylique. La formation et la structure des hydrogels furent confirmées par plusieurs techniques d'analyses, et les auteurs ont donc étudié les capacités de gonflement et de relargage de ces hydrogels à différentes valeurs de pH. Un gonflement et une libération maximale du polyanion  $P_2W_{15}$  est observé à pH = 7,4 en raison des fortes interactions électrostatiques.<sup>387</sup> Ils observent également des propriétés anticancéreuses contre les cellules MCF-7 et HeLa notamment.

Une seconde étude montre cette fois l'auto-assemblage ionique de BPEI avec un polyoxométallate à l'euprium ( $Na_9(EuW_{10}O_{36}) \cdot 32 H_2O$  ( $EuW_{10}$ )).<sup>386</sup> Celui-ci résulte en la formation de nanoparticules sphériques utilisées pour l'amélioration de luminescence. La morphologie et la taille des agrégats ont été caractérisées au MEB, MET et en DLS, et les spectres infra-rouges (**Figure 4.16**), le potentiel zêta et la calorimétrie ont montré que les principales forces à l'œuvre sont les interactions électrostatiques et la liaison hydrogène entre la PEI et le POM. La PEI agit comme un tensioactif cationique qui rassemble les clusters  $EuW_{10}$  pour former des nanosphères.

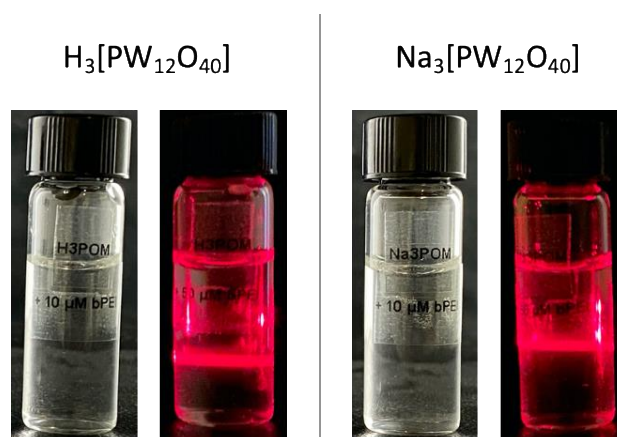


**Figure 4.16** : Spectre IR de  $EuW_{10}$ , PEI et PEI/ $EuW_{10}$  à  $0,064 \mu M$  de [BPEI].<sup>386</sup>

#### IV.1 – Synthèse des nanoparticules auto-assemblées

Ainsi, les conditions expérimentales de la littérature ont été reprises et adaptées au système à l'étude pour tenter de synthétiser des particules auto-assemblées. Des solutions mères de BPEI de  $5 \cdot 10^{-3}$  à  $0,1 M$ , une solution mère de  $H_3PW_{12}O_{40}$  à  $3 mM$  et une solution de  $Na_3PW_{12}O_{40}$  à  $3 mM$  ont été réalisées dans ce but. Dans un vial de  $5 mL$  pour une solution de volume total de  $3 mL$ , les quantités de BPEI ajoutées ont été ajustées pour réaliser un balayage de

concentration de BPEI de 0,005 à 2 mM, le QSP en eau est ensuite ajouté, puis 40  $\mu\text{L}$  de solution de POM est ajoutée pour arriver aux 3 mL prévus. Dès l'ajout de la solution de POM, que ce soit pour  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  ou  $\text{Na}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ , on observe instantanément la formation d'un précipité blanc, la quantité formée dépend de la concentration en BPEI introduite. Pour les concentrations les plus faibles, les particules qui précipitent ne sont pas visibles à l'œil nu, mais les solutions montrent un phénomène de diffusion de Rayleigh avec l'application d'un laser passant à travers (**Figure 4.17**), c'est le cas pour les solutions contenant des concentrations en BPEI de 5 à 50  $\mu\text{M}$ .



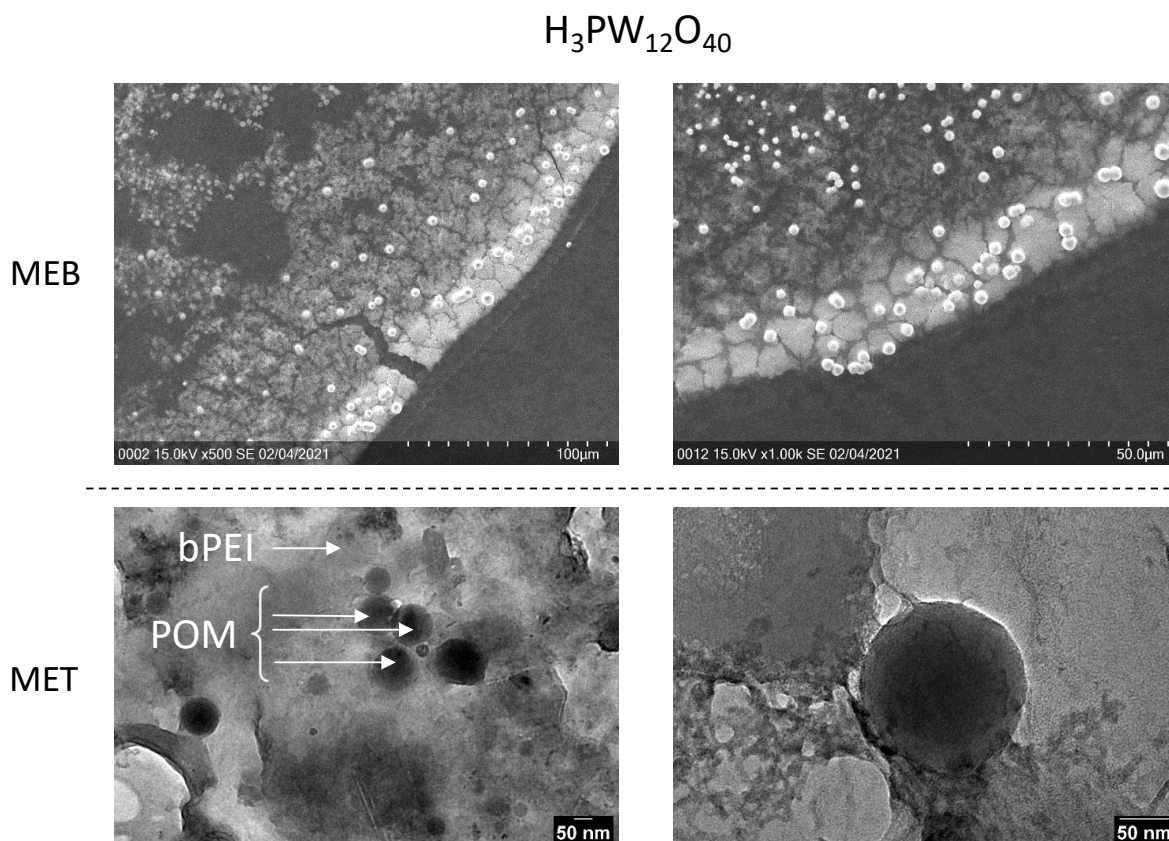
**Figure 4.17** : Photographies des solutions de BPEI et POM. À gauche, les échantillons avec  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ , à droite, ceux contenant  $\text{Na}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ . Les échantillons sous lumière sont concentrés à 10  $\mu\text{M}$  tandis que ceux soumis au faisceau laser sont concentrés à 50  $\mu\text{M}$  en BPEI.

L'observation des différents échantillons montre que la taille et la quantité de particules synthétisées ne sont pas les mêmes en fonction de la concentration en BPEI ajoutée. En effet, la diffusion de Rayleigh confirme que des particules sont présentes dans les échantillons les moins concentrés en BPEI (des tests de contrôle ont été réalisés avec les solutions mères de BPEI et POM et aucun phénomène de diffusion n'est observable), mais celles-ci restent en suspension, elles ne sont pas soumises à la gravité en raison de leur très petite taille. En revanche, pour les échantillons à [BPEI] plus élevées, les particules sédimentent, et on remarque que plus la concentration en BPEI est importante, plus le dépôt au fond des tubes est important.

## IV.2 – Caractérisations des particules

### IV.2.a – Observation en microscopie électronique

Afin de connaître la morphologie des particules synthétisées, et d'obtenir des éléments quant à la disposition des molécules permettant leur formation, les particules ont été observées au MEB et au MET (**Figure 4.18** et **Figure 4.19**) après avoir passé les solutions dans un bain à ultrasons pendant 5 minutes pour séparer les possibles agrégats.

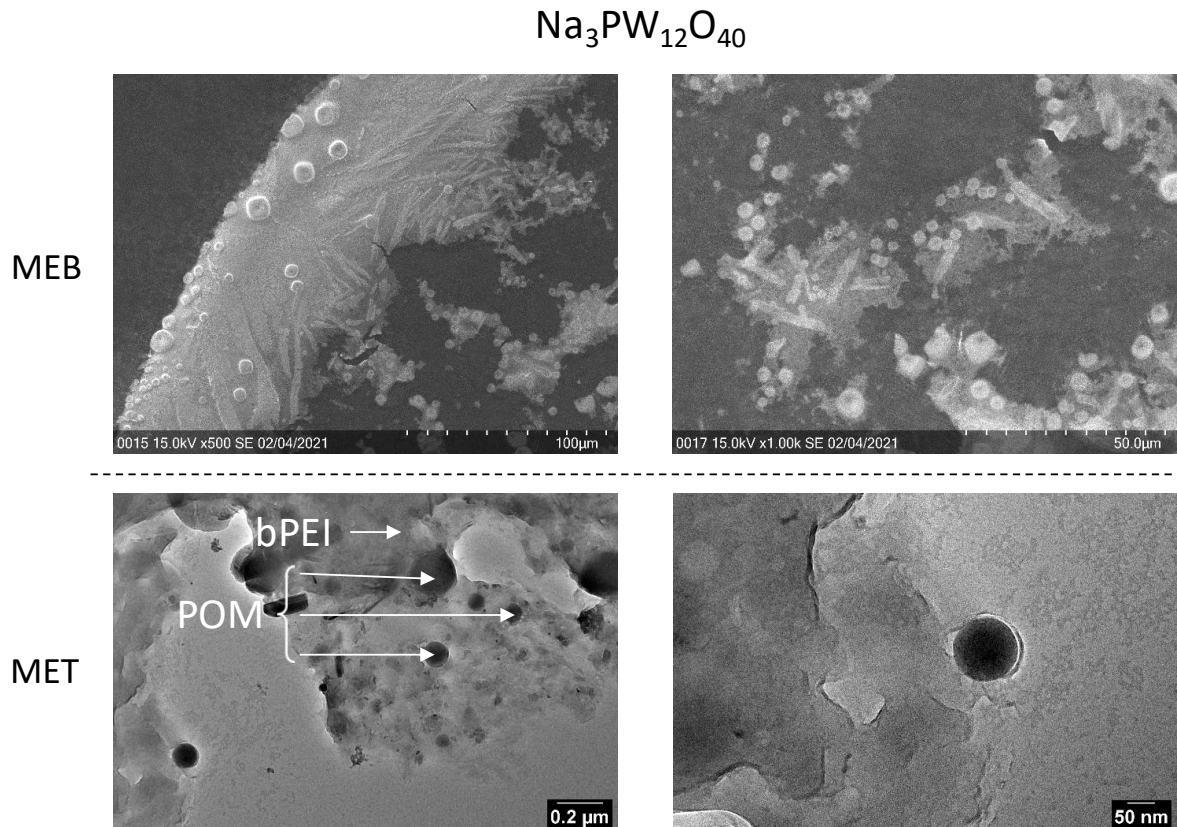


**Figure 4.18** : Images MEB et MET des particules auto-assemblées de PEI-POM synthétisées à partir d'un mélange de BPEI (50  $\mu$ M) et de  $H_3PW_{12}O_{40}$  (50  $\mu$ M).

Les photos au MEB montrent que les particules obtenues sont toutes de forme sphérique, excepté avec  $Na_3PW_{12}O_{40}$  où l'on remarque des objets en forme de bâtonnets (**Figure 4.19**). Les particules sont très petites, inférieures à 1  $\mu$ m. Les zones craquelées observées correspondent à la goutte de solution déposée sur le porte échantillon qui a séché, contenant des résidus de BPEI ou POM non associés. Cependant, les images MEB ne permettent pas de différencier la BPEI et le POM, peu importe sa nature. Les images MET en revanche permettent d'obtenir un contraste qui nous offrent la possibilité de différencier les deux espèces.

Sur ces dernières, les particules sphériques sont très contrastées en noir, que ce soit pour  $H_3PW_{12}O_{40}$  ou  $Na_3PW_{12}O_{40}$ . On remarque beaucoup d'autres particules sphériques de tailles variables sur les clichés de gauche, mais aucun bâtonnet n'est remarqué avec le  $Na_3PW_{12}O_{40}$  contrairement à ce qu'affichaient les clichés au MEB. Ces formes étaient certainement le résultat de la préparation de l'échantillon au MEB, la goutte déposée n'était probablement pas tout à fait sèche, et l'évaporation brutale de l'eau a pu former ces structures particulières avec l'excès de BPEI ou POM.



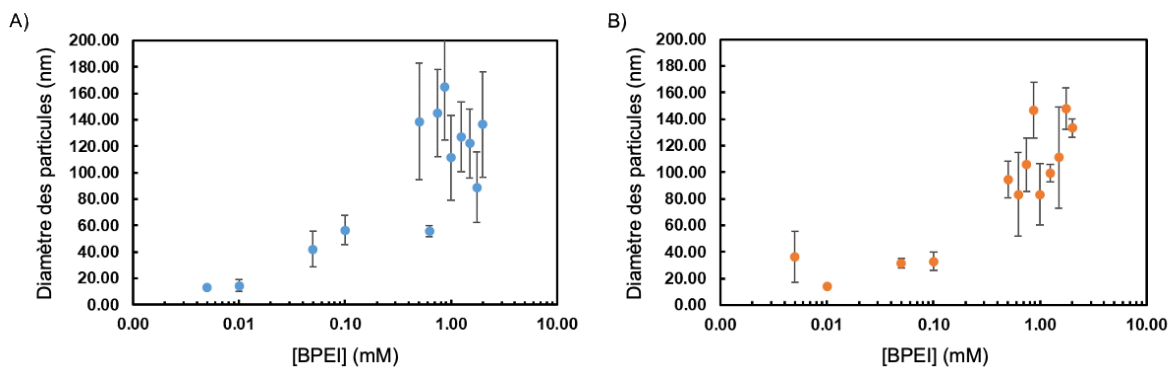


**Figure 4.19** : Images MEB et MET des particules auto-assemblées de PEI-POM synthétisées à partir d'un mélange de BPEI (50  $\mu\text{M}$ ) et de  $\text{Na}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  (50  $\mu\text{M}$ ).

Mais les particules auto-assemblées BPEI-POM se situent systématiquement dans une zone grisâtre assimilable à une matrice polymérique. Cette matrice représente l'excès de BPEI, diffus puisque soluble dans l'eau. En effet, si l'on prête attention aux structures des deux composés (**Figure 4.15**), il est difficile de déterminer la quantité de fonctions amines primaires terminales ou secondaires protonées et combien s'associent effectivement avec le POM, chargé quant à lui 3 fois négativement. Une molécule de BPEI attire vraisemblablement plusieurs molécules de POM. En faisant le calcul du nombre de molécules de POM et de BPEI présentes, le nombre de molécules de BPEI est supérieur à celui de POM. Si la BPEI complexe plusieurs molécules de POM, il est raisonnable de penser qu'il reste un excès de BPEI en phase aqueuse, et que cela corresponde à ce qui est observé au MET. D'après ces observations, on peut supposer que les molécules de POM sont enveloppées d'une matrice de BPEI. Ceci concorderait avec les observations de la littérature.

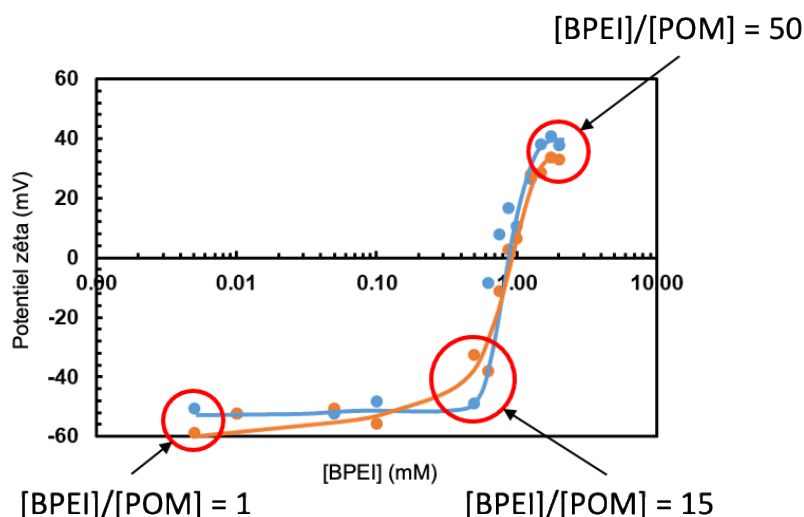
#### IV.2.b – Influence du ratio BPEI/POM sur le diamètre et le potentiel zêta

Afin d'obtenir des informations sur le mécanisme d'assemblage des molécules, toutes les solutions ont été passées aux ultrasons 5 minutes avant de les analyser au Zêtasizer pour déterminer la taille des particules, et le potentiel zêta en fonction de la concentration en BPEI. Les résultats sont présentés sur les **Figure 4.20** et **Figure 4.21**.



**Figure 4.20 :** Diamètre des particules auto-associées de BPEI-POM en fonction de la concentration en BPEI introduite dans l'échantillon. A) Avec  $H_3PW_{12}O_{40}$ ; B) avec  $Na_3PW_{12}O_{40}$ .

En ce qui concerne les tailles, la tendance est la même que ce soit avec  $H_3PW_{12}O_{40}$  ou  $Na_3PW_{12}O_{40}$ , à savoir que le diamètre des particules augmente avec la concentration en BPEI, jusqu'à une valeur ( $[BPEI] = 0,5$  mM) où les tailles sont comprises entre 80 et 160 nm. Les particules (ou même nanoparticules NPs) les plus petites obtenues sont de l'ordre de 15 nm. Pour les particules les plus larges, la répétabilité n'est pas bonne. Ceci est sûrement dû à une forte polydispersité et à un phénomène d'agrégation qui se produit avec le temps et la répétition des mesures. En poursuivant le raisonnement, selon lequel la BPEI se positionne autour des molécules de POM, l'augmentation des tailles signifierait que la couche externe des NPs, majoritairement constituée de BPEI, se renforce encore en BPEI pour former une couche plus dense. La mesure du potentiel zêta des NPs en fonction de la concentration de BPEI, présentée en **Figure 4.21**, permet d'aller un peu plus loin.



**Figure 4.21 :** Potentiel zêta des particules auto-associées de BPEI-POM en fonction de la concentration en BPEI introduite dans l'échantillon.  $H_3PW_{12}O_{40}$  en bleu;  $Na_3PW_{12}O_{40}$  en orange. Les valeurs précisées sur les points entourés correspondent aux ratios de concentration entre la BPEI et les POMs, à titre indicatif.

Les deux espèces POMs se comportent encore de façon identique. En effet, les résultats montrent que le potentiel zêta des NPs est négatif avec des valeurs de -50 à -60 mV, pour des

concentrations en BPEI très faibles. Ensuite, le potentiel zêta reste stable jusqu'à  $[BPEI] = 0,5$  mM (ratio  $[BPEI]/[POM] = 15$ ) où le potentiel zêta augmente de façon quasi-exponentielle. Il atteint ensuite des valeurs d'environ +30 mV à des ratios  $[BPEI]/[POM] = 50$ . Le point isoélectrique est atteint pour une concentration de  $[BPEI] = 0,75$  M. Pour rappel, le potentiel  $\zeta$  est le potentiel électrique correspondant à la différence de potentiel entre le milieu de dispersion et la couche stationnaire de fluide attachée aux particules dispersées. Ainsi, les particules dispersées dans un solvant peuvent être chargées positivement ou négativement en fonction de la taille des particules, de la charge effective de la surface et de la chimie de la solution (pH, force ionique par exemple).

Ainsi, aux faibles concentrations en BPEI, le  $\zeta$  des particules se rapproche fortement de celui des POMs seuls (-70 mV), alors qu'aux fortes concentrations en BPEI, le potentiel zêta est proche de la BPEI seule (+40 mV). La charge de surface des particules est donc totalement modifiée en fonction de la concentration en BPEI. Ceci signifie qu'à  $[BPEI]$  élevée, les particules sont majoritairement entourées de groupements amines protonés en surface des particules. A faible concentration en BPEI, les particules sont faiblement recouvertes en BPEI, la charge des POMs reste majoritaire, d'où le potentiel zêta négatif. Enfin, il est rappelé que des valeurs de potentiel  $\zeta$  en dehors de la plage allant de -30 à +30 mV permettent aux dispersions de résister aux phénomènes d'agrégation, de floculation et de coagulation, en raison des fortes répulsions électrostatiques interparticulaires, suffisantes pour compenser les forces d'attraction de van der Waals. Ceci explique la stabilité des dispersions contenant des concentrations en BPEI allant de 0,005 à 0,5 mM.

Ces résultats sont cohérents avec le postulat formulé. La BPEI s'enroule autour des molécules de POM pour former les NPs auto-associées, plus la  $[BPEI]$  augmente, plus la charge de surface des NPs augmente, inhibant quasi totalement les charges négatives des POMs.

#### IV.3 – Formation d'émulsions de Pickering en one-pot

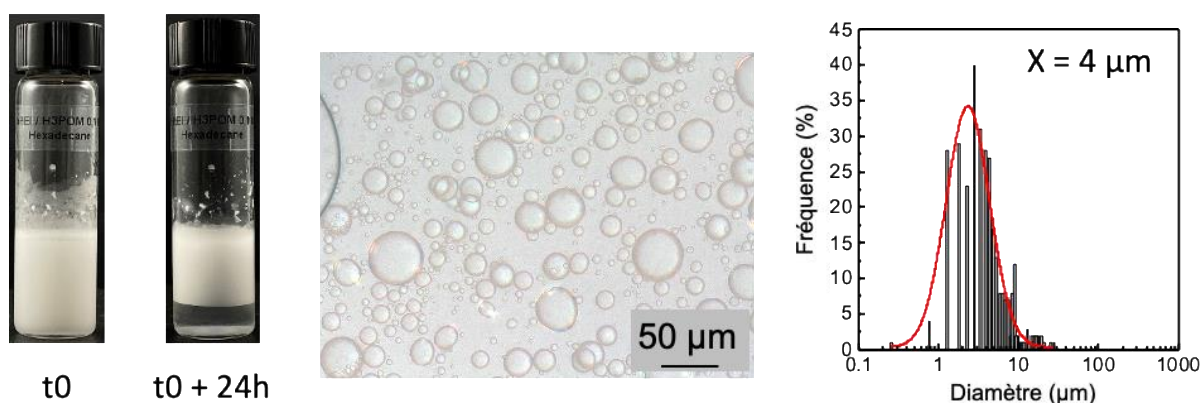
La prochaine étape de l'étude consiste naturellement à étudier la formation et la stabilisation d'émulsions de Pickering grâce aux NPs synthétisées. Les particules lyophilisées, lavées et séchées, récupérées des échantillons aux ratios  $[BPEI]/[POM] = 50$  ont été utilisées. Une quantité de 1 %m de particules est introduite et des mélanges 50/50 eau/huile d'un volume total de 3 mL dans des vials de 5 mL sont réalisés. Plusieurs huiles ont été testées, notamment des huiles communément utilisées pour des applications en catalyse (heptane, hexadécane, cétéaryl ethylhexanoate (CEH) cyclohexane, toluène, xylène, miglyol et huile de paraffine). L'émulsification a été réalisée avec l'Ultraturrax, à 11 500 rpm pendant 1 minute.

Les résultats n'ont pas été concluants, aucune huile utilisée en catalyse n'a permis la formation d'émulsion (toluène, xylène, heptane et cyclohexane). Les seules émulsions obtenues ont été réalisées avec l'hexadécane et le CEH. Les émulsions sont de type H/E, la présence de particules à l'interface permet de confirmer que ce sont des émulsions de Pickering. Les tailles des gouttelettes sont de 32 et 3  $\mu\text{m}$  pour l'hexadécane et le CEH

respectivement, et les deux émulsions présentent un indice d'émulsion de 70 % 6 semaines après élaboration.

Un nouvel essai est réalisé pour produire des émulsions directement avec la solution de synthèse des particules. La concentration molaire est considérée ici et la formation d'émulsions de Pickering avec différents ratios molaires entre la BPEI et le  $H_3PW_{12}O_{40}$  ( $H_3POM$ ) a été étudiée (mélange BPEI  $10^{-1}$  M /  $H_3POM$   $10^{-2}$  M,  $[BPEI] = [H_3POM] = 5 \cdot 10^{-2}$  M et BPEI  $10^{-2}$  /  $H_3POM$   $10^{-1}$ ), les tests de contrôle avec des solutions contenant uniquement la BPEI ou le  $H_3POM$  ont été réalisés. La concentration en  $H_3POM$  dans ces échantillons a considérablement augmenté afin d'optimiser la quantité de nanoparticules synthétisées. Une fois le mélange réalisé, la quantité équivalente d'hexadécane est ajoutée par rapport à la quantité de solution aqueuse pour obtenir un ratio de 1 entre l'eau et l'huile, et l'émulsification est réalisée dans les mêmes conditions.

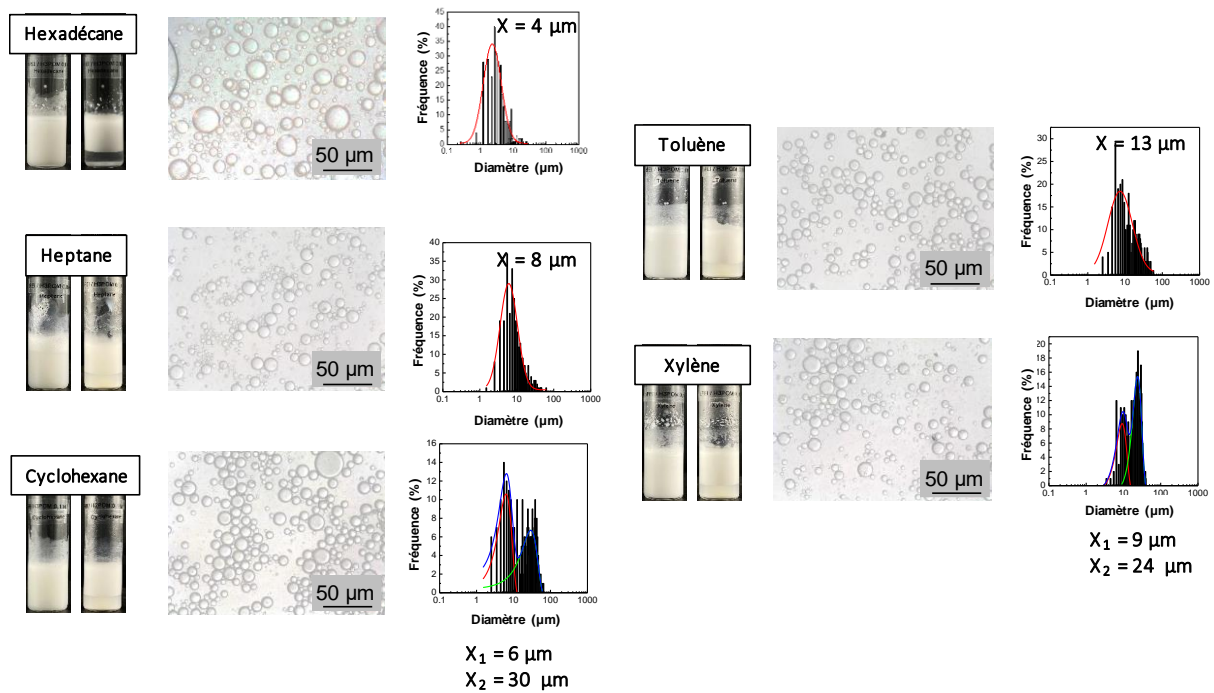
Un seul de ces mélanges résulte en l'obtention d'une émulsion de Pickering, c'est le mélange  $[BPEI] = 10^{-2}$  M –  $[HPOM] = 10^{-1}$  M (**Figure 4.22**). Tous les autres, références comprises, ne donnent pas d'émulsion et se déstabilisent instantanément.



**Figure 4.22** : Visuel macroscopique, microscopique et distribution granulométrique de l'émulsion en one pot composée à partir d'une solution aqueuse de BPEI ( $10^{-2}$  M), HPOM ( $10^{-1}$  M) et d'hexadécane (11500 rpm, 60 s, 25 °C).

Étonnamment, le seul échantillon menant à une émulsion de Pickering est celui comportant une concentration de  $H_3POM$  10 fois plus élevée que la BPEI. L'émulsion est une nouvelle fois de type H/E, toujours stabilisée par un effet Pickering, et présente des gouttelettes de taille bien inférieure à précédemment ( $4 \pm 1$  contre  $32 \pm 2$  µm), certainement en raison du nombre supérieur de particules synthétisées dans ces conditions, grâce à la concentration en  $H_3POM$  plus élevée ici.

La formation d'émulsion avec les huiles testées précédemment, avec les mêmes concentrations de BPEI et de  $H_3POM$  a ensuite été étudiée. Les résultats sont présentés sur la **Figure 4.23**.



**Figure 4.23** : Visuel macroscopique, microscopique et distribution granulométrique de l'émulsion en one pot composée à partir d'une solution aqueuse de BPEI (10-2 M),  $H_3POM$  (10-1 M) et de différentes huiles (11500 rpm, 60 s, 25 °C).

Il est intéressant de noter que le Miglyol (mélange de triglycérides principalement utilisé pour des applications pharmaceutiques) a également été testé et qu'il permet aussi l'obtention d'une émulsion de Pickering. Les émulsions obtenues sont toutes blanchâtres, de type H/E homogènes, et présentent une déstabilisation avec l'apparition d'une phase aqueuse vers le bas, probablement un phénomène de crémage de l'émulsion. Toutes les huiles provoquent le même comportement, avec un déphasage dans les premières heures et une stabilisation à 70 % de phase émulsion, si bien qu'on ne peut les classer. Ceci montre que la stabilisation d'émulsions de Pickering dans ces conditions est indépendante du choix de l'huile et de ses propriétés physicochimiques. Les facteurs sur lesquels jouer sont plutôt la quantité de particules introduite, ainsi que le ratio huile / eau. Les tailles de gouttelettes obtenues varient entre 4 et 30  $\mu\text{m}$ .

Il est difficile de comparer ces conditions aux premiers tests d'émulsification réalisés en premier lieu, avec les NPs récupérées après synthèse. En effet, il est difficile d'avancer un mécanisme de stabilisation précis, car beaucoup d'informations nous manquent sur ce nouveau système. La quantité de particules synthétisée au sein de la solution reste inconnue. De ce fait, la quantité de BPEI et de HPOM associés sous forme de NPs et un possible excès de ces espèces en solution après émulsification est également méconnu. La présence de ces molécules en solution peut aider à la stabilisation des émulsions, bien que nous ayons vu que ces molécules seules ne permettent pas l'élaboration d'émulsions de Pickering. Les NPs et les espèces restantes en solution peuvent interagir d'une certaine manière avec les nanoparticules et ainsi contribuer à leur adsorption à l'interface.

### Conclusions sur ce système

Cette courte étude est toujours en cours d'investigations. Malgré le peu de résultats acquis à date, des possibilités d'applications intéressantes se dégagent. En effet, le placement des POMs à l'interface ouvre la voie au développement d'**un nouveau système de catalyse interfaciale de Pickering**. L'association avec la BPEI est probablement plus pertinente que la LPEI grâce à sa solubilité, mais aussi au côté thermosensible de la LPEI, qui ne permettrait pas d'obtenir des émulsions stables à haute température. En effet, nous avons vu dans le **Chapitre II** que la LPEI, à  $\text{pH} \approx 7$ , se solubilisait en solution aqueuse à une température de  $56\text{ }^\circ\text{C}$ . Cette propriété entraînerait la dissociation des nanoparticules LPEI-POM au-delà de cette température, si l'on suppose que l'association aurait bien lieu. Ce phénomène pose beaucoup de problèmes à la réalisation d'une réaction catalytique, puisqu'elles sont généralement conduites à des températures de  $60\text{--}65\text{ }^\circ\text{C}$  et peuvent aller jusqu'à  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . Si la LPEI se dissout et ne permet pas au POM de remplir son rôle de catalyseur à l'interface, les taux de conversion ne seraient pas satisfaisants. Ainsi, **la BPEI est un bon compromis** puisqu'elle est déjà soluble dans l'eau. De plus, les NPs formées avec les POMs sont insensibles à la température, puisque les émulsions réalisées sont **stables jusque  $80\text{ }^\circ\text{C}$** .

Des premiers tests catalytiques menés avec ce système sur **l'époxydation de cyclohexène et cyclooctène** ( $2\text{ M}$  dans le toluène) ont donné des résultats prometteurs. En effet, après  $3\text{ h}$  à  $65\text{ }^\circ\text{C}$ , une agitation de  $500\text{ rpm}$  et  $1,2$  équivalent en  $\text{H}_2\text{O}_2$ , la **conversion des réactifs est d'environ  $40\%$** , avec **présence d'époxyde et de diol**, ce qui est semblable voire meilleur que les précédentes études réalisées.<sup>121</sup> L'optimisation des conditions de la réaction est en cours d'étude pour tirer le meilleur parti de ce système. Des essais supplémentaires doivent donc être réalisés en ce sens pour déterminer s'ils peuvent être **pH-sensibles**, mais également s'ils peuvent conduire une réaction de catalyse interfaciale de façon rapide et efficace, au moins autant que les systèmes précédemment développés.

## Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons vu deux exemples de l'application du concept de la tectonique colloïdale pour le développement de systèmes inédits en vue d'une utilisation en catalyse interfaciale de Pickering.

Dans la première partie, le système à base de NPs de silices greffées avec des groupements alkyles et sulfoniques  $C_{18}/C_3SO_3H$  et de nanoparticules de phosphotungstate de tri(dodécyltriméthylammonium)  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$  (ou  $C_{12}$ -POM) a de nouveau été exploité. L'association de ces deux NPs résulte en une interaction spécifique. Les **porosités du  $C_{12}$ -POM sont comblées grâce à des effets hydrophobes par imbrication des chaînes alkyles des  $C_{18}/C_3SO_3H$** . Ces particules amphiphiles jouent à la fois le rôle de stabilisateur d'émulsions de Pickering en s'adsorbant à l'interface eau / huile, ce qui facilite leur interaction, mais ils permettent également la réalisation de la réaction de clivage oxydant d'oléfines en tant que catalyseurs. En effet, les nanoparticules de  **$C_{12}$ -POM** catalysent les différentes étapes d'**oxydation**, alors que les NPs de **silice acides** vont catalyser les réactions d'**hydrolyse (Figure 4.3)**. Elles vont donc agir tour à tour afin d'obtenir l'acide adipique à partir du cyclohexène en fin de réaction, par exemple. Le choix des tectons fut déterminant pour assurer, via ces interactions non covalentes, la synergie du système, permettant à la fois d'améliorer les propriétés physicochimiques des émulsions formées, et de produire des acides dicarboxyliques en one-pot par voie respectant les 12 principes de la chimie verte. La dépense énergétique, et la production de déchets sont réduites, les catalyseurs peuvent être récupérés et recyclés, et la quantité de solvant organique est très faible.

Dans la deuxième partie de ce chapitre une étude inspirée des travaux réalisés dans cette thèse a été présentée. Plus précisément du **Chapitre II** et du **Chapitre IV** afin de développer un système potentiellement intéressant en vue des problèmes que l'on vient de souligner sur l'amélioration des conditions de récupération des produits après catalyse. Cette étape, comme déjà précisé, appelle à utiliser la centrifugation. Ce procédé est particulièrement énergivore et sa suppression améliorerait grandement le bilan énergétique. C'est ainsi que l'idée de créer un système basé sur la tectonique colloïdale à partir d'un polycation (polyéthylèneimine (PEI)) et d'un polyanion (polyoxométallate) est venue. Les structures colloïdales se forment grâce aux interactions électrostatiques et pourront ainsi induire une possible réversibilité grâce à la sensibilité de la PEI au pH.

L'association entre deux solutions aqueuses de **PEI branchée (BPEI) et  $H_3[PW_{12}O_{40}]$  ( $H_3POM$ )** résulte ainsi en la formation de **nanoparticules sphériques** de tailles allant de 15 à 160 nm en fonction de la concentration en BPEI. Le mécanisme expliqué est que la BPEI, chargée négativement et le  $H_3POM$  chargé positivement s'attirent aux moyens **d'interactions électrostatiques** et forment ces particules sphériques, où le  **$H_3POM$  est entouré de BPEI**, comme le montre le potentiel zêta. L'augmentation de la concentration en BPEI forme des agrégats plus gros par piégeage de plus de particules de POM.

La synthèse des nanoparticules auto-assemblées et l'élaboration instantanée d'émulsions de Pickering ont pu être réalisées dans des conditions spécifiques en one-pot et ces émulsions montrent un potentiel intéressant pour une application catalytique, notamment pour l'époxydation des oléfines, grâce à la présence des particules chargées en H<sub>3</sub>POM aux interfaces. La BPEI apporte une contribution hydrophobe aux particules de H<sub>3</sub>POM très hydrophiles.

À travers ces exemples, on comprend que les possibilités de création de systèmes intelligents et spontanés *via* le concept de tectonique colloïdale sont quasiment infinies. Il suffit de choisir des tectons possédant tout d'abord des fonctionnalités adaptées à l'application désirée, mais aussi des propriétés physicochimiques complémentaires et qui s'accordent avec le(s) autre(s) tecton(s), afin de créer des structures (supra)colloïdales inédites et innovantes, aux propriétés nouvelles.





## Partie expérimentale du chapitre IV

### 1. Informations générales

L'Aerosil®200 a été généreusement offert par Evonik Industries AG (Allemagne). Le triméthoxy(octadécyl)silane (90 %), l'hydrogénophosphate de sodium (98+ %), le dihydrogénophosphate de sodium (99 %) et la polyéthylèneimine branchée ( $M_w \approx 2000$ , 50 %m dans  $H_2O$ ) ont été achetés chez Aldrich (USA). Le (3-mercaptopropyl)triméthoxysilane (95 %) a été acheté chez ABCR (Allemagne). La résine échangeuse d'ions Amberlite IRA-400 (Cl<sup>-</sup>) et le bromure de dodécyl triméthylammonium (99 %) ont été achetés chez Alfa Aesar (USA). L'acide tungstophosphorique, l'acide phosphorique et le phosphate d'ammonium dibasique (>99 %) ont été fournis par Acros (USA). Le cyclohexène et le cyclooctène (98 %) ont été achetés chez TCI (Japon). Le peroxyde d'hydrogène (50 %) a été fourni par VWR International (France). Le DMSO-d<sub>6</sub> (99,8 %) et le CDCl<sub>3</sub> (99,8 %) ont été achetés chez Eurisotop (France) et ont été utilisés pour l'analyse RMN. Tous les autres produits chimiques ont été achetés à Sigma-Aldrich et utilisés sans autre purification. De l'eau Millipore (18,2 MΩ/cm ; Simplicity 185) a été utilisée pour préparer les particules et les émulsions.

### 2. Synthèse des nanoparticules fonctionnalisées C<sub>12</sub>-POM, et des sels de phosphates [C<sub>12</sub>][H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] et [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[HPO<sub>4</sub>]

Le protocole de préparation des NPs de C<sub>12</sub>-POM a été adapté d'une étude précédente.<sup>128</sup> En bref, le bromure de dodécyltriméthylammonium [C<sub>12</sub>][Br] (19,5 mmol) a été dissout dans de l'eau (100 mL). Une solution aqueuse de [C<sub>12</sub>][Br] a été éluée sur une résine échangeuse d'ions hydroxyde pour obtenir une solution aqueuse de [C<sub>12</sub>][OH]. Une solution aqueuse de H<sub>3</sub>[PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>] (environ 6,5 mmol, 10<sup>-4</sup> M) a été ajoutée goutte à goutte (3 mL/min) à la solution aqueuse de [C<sub>12</sub>][OH] (3.10<sup>-4</sup> M) jusqu'à pH = 7 à 25 °C sous argon sec et sous agitation magnétique vigoureuse (1500 rpm). Le précipité incolore de phosphotungstate de tri(dodécyltriméthylammonium) formé en quelques minutes a été lavé à l'eau et lyophilisé (rendement : 99 %).

Les protocoles de préparation du [C<sub>12</sub>][H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] et du [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[HPO<sub>4</sub>] sont les mêmes que pour le C<sub>12</sub>-POM, excepté que la solution aqueuse de H<sub>3</sub>[PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>] est remplacée par une solution aqueuse de H<sub>3</sub>[PO<sub>4</sub>]. Des rapports molaires de 1:1 et 2:1 sont utilisés pour obtenir respectivement le dihydrogénophosphate de dodécyltriméthylammonium et le hydrogénophosphate de di(dodécyltriméthylammonium). Des précipités blancs sont obtenus, lavés à l'eau et lyophilisés (Rendement : 99 % et 98 % respectivement).

### 3. Synthèse des nanoparticules fonctionnalisées de silice (C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H)

Le protocole de préparation des NPs C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H a été adapté d'une étude précédente. Brièvement, le triméthoxy(octadécyl)silane (16 mmol) et le (3-mercaptopropyl)triméthoxysilane (4 mmol) ont été hydrolysés dans une solution eau/éthanol (1:1 v/v) de 100 ml (pH = 9,6) à température ambiante pendant une nuit. Le mélange a été ajouté goutte à goutte à une suspension d'Aerosil®200 (1 g / 50 ml d'eau / 50 ml d'éthanol, pH

= 9,6), et a été agité pendant 24 h sous reflux. Après le greffage, la suspension a été refroidie et le solide blanc a été filtré, lavé avec de l'éthanol (3 x 30 mL) et de l'acétone (30 mL), et séché pendant une nuit à 80 °C. La poudre séchée a été broyée et les groupes thiol ont été oxydés en utilisant 60 ml d'une solution aqueuse de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 % en poids). L'acétonitrile a été ajouté goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (3 à 4 ml). Le mélange réactionnel a été agité à 40 °C pendant 24 h. Après la synthèse, la poudre a été filtrée, lavée avec de l'éthanol et séchée (rendement : 98 %).

#### 4. Caractérisations des nanoparticules

L'analyse thermogravimétrique (ATG) a été réalisée sur un Q50 (TA Instrument, US) en chauffant les échantillons de la température ambiante à 900 °C à une vitesse de 10 °C/min sous atmosphère d'air (100 mL/min). Le potentiel zêta des échantillons a été mesuré sur un Zetasizer (Nano ZS ZEN 3600, Malvern, UK) équipé d'une source de lumière laser He-Ne de 4,0 mW avec une longueur d'onde  $\lambda = 632,8$  nm. Les mesures ont été effectuées en dispersant les nanoparticules dans l'eau à 25 °C en présence des additifs à force ionique constante (1,0 mS/cm). L'acidité des NPs C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H a été mesurée en utilisant des aliquotes, où 50 mg de NPs ont été agités avec du NaCl (5,85 g / 20 mL d'éthanol / 30 mL d'eau) à température ambiante pendant 24 h. Ensuite, les NPs ont été filtrées et la solution résultante a été titrée avec une solution de NaOH 0,025 M en utilisant un pH-mètre (Meterlab PHM250 Ion Analyzer, Radiometer Analytical).

#### 5. Préparation et caractérisations des émulsions

Pour générer des émulsions de Pickering, de l'eau (2,25 mL) et du toluène (0,75 mL) ont été pesés avant d'ajouter des NPs de C<sub>12</sub>-POM et/ou de C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (50 mg chacun, 3,6 % en poids). L'émulsification a été réalisée à l'aide d'un Ultraturrax T10 basic à 20 °C et 11500 rpm pendant 60 s (IKA Works, Inc., Allemagne), tige de 8 mm de diamètre, 2 pales au rotor et 7 fentes au stator, dans un récipient scellé de 5 ml. Pour déstabiliser les émulsions, celles-ci ont été centrifugées à 2575 G pendant 20 min à l'aide d'un appareil Sigma 2-16PK équipé d'un rotor Sigma 11192 382/G où les porte-échantillons sont positionnés à 6 cm du centre du rotor.

Le type d'émulsion a été déduit en observant l'évolution d'une goutte de chaque émulsion lorsqu'un volume d'huile ou d'eau a été ajouté (test de dilution). Des microphotographies ont été prises à l'aide d'un microscope optique Standard 25 ICS (Carl Zeiss AG, Allemagne) couplé à une caméra AxioCam ERc-5s (Carl Zeiss AG, Allemagne). Les émulsions ont été diluées avec la phase continue avant l'observation et plusieurs photographies ont été prises à différents endroits pour acquérir une vue générale des gouttelettes. Les images ont été analysées avec le logiciel ImageJ (National Institutes of Health, USA). La fonction de distribution (log-normale, définie par l'éq. 1) des diamètres des gouttelettes a été obtenue par le traitement d'au moins 250 gouttelettes individuelles à l'aide du logiciel OriginPro 8®.

$$y = \frac{A}{\sqrt{2\pi\omega d}} \exp\left[-\frac{\left(\ln \frac{d}{d_m}\right)^2}{2\omega^2}\right] \quad (\text{Eq. 4.1})$$

où  $y$  est la fonction de densité,  $\omega$  est la polydispersité (le pic sera approximativement symétrique lorsque  $\omega$  est petit),  $d_m$  est le diamètre médian des gouttelettes ( $d_m$  se réfère au centre du pic lorsque la distribution log-normale est approximativement symétrique), et  $A$  est l'amplitude correspondant à l'aire sous la courbe intégrée.

La stabilité de l'émulsion a été examinée par l'évolution de la fraction volumique de l'émulsion en fonction du temps de stockage à 60 °C pour simuler les conditions de réaction.

Enfin, le pH des émulsions a été mesuré en présence des additifs après stabilisation à l'aide d'un pH-mètre (Meterlab PHM250 Ion Analyzer, Radiometer Analytical). Le pH a été mesuré en ajoutant 1 % en poids d'émulsion dans de l'eau déionisée.

## 6. Tests catalytiques pour la synthèse d'acide adipique

Dans un test catalytique typique, du toluène (0,75 mL) contenant l'alcène cyclique (2 M) et de l'eau (2,25 mL) contenant 1,2 équivalent de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2,4 mmol, 50 %) ont été ajoutés dans un flacon de 5 mL et placés dans un bain-marie Lauda RC6 thermorégulé, suivis de NPs de  $\text{C}_{12}$ -POM et/ou de  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  (50 mg chacun). Le système a été pré-émulsifié à l'aide d'un Ultra-Turrax® (IKA T 25) à 11.500 rpm pendant 1 minute. Le réacteur a été scellé, chauffé à 65 °C pendant 4 h sous agitation (500 rpm) pour époxyder la double liaison. Ensuite, un autre 3,5 équivalents de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (7 mmol, 50 %) ont été ajoutés au système, celui-ci a été ré-émulsifié et la réaction a été poursuivie à 80 °C pendant un temps donné (12 h pour le cyclohexène et 24 h pour le cyclooctène) sous agitation (500 rpm). La composition des phases organiques et aqueuses a été analysée au cours de la réaction par RMN  $^1\text{H}$  après déstabilisation sous centrifugation (2575 G, 20 min) avec un appareil Sigma 2-16 PK équipé d'un rotor Sigma 11192 382/G où les porte-échantillons sont positionnés à 6 cm du centre du rotor. Le  $\text{CDCl}_3$  et le DMSO deutéré ont été utilisés comme solvants pour chaque phase, respectivement, tandis que le n-dodécane et le n-dodécanol ont été utilisés comme standards internes. Tous les essais catalytiques et les analyses ont été effectués au moins trois fois pour garantir la répétabilité.

## 7. Synthèse des nanoparticules auto-assemblées de BPEI-POM

Des solutions mères aqueuses de BPEI allant de  $5 \cdot 10^{-3}$  à 0,1 M ainsi que des solutions de  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  et de  $\text{Na}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  à 3 mM ont été réalisées. Des quantités variables de solutions mères de BPEI ont été ajoutées dans un vial de 5 mL pour obtenir des concentrations finales allant de 0,005 à 2 mM de BPEI, de l'eau distillée est ensuite ajoutée et enfin 40  $\mu\text{L}$  de solution de  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  ou de  $\text{Na}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  est ajoutée (concentration finale de POM = 0,04 mM). On observe la formation instantanée d'un précipité blanc à l'ajout des solutions de POM. Les vials ont ensuite été agités au vortex à 2000 rpm pendant 1 min. Enfin, ils sont laissés équilibrés pendant 24 h sur un Intelli-Mixeur RM-2L (Dutscher, France) en fonction C3 à 30 rpm à 25 °C.

Les particules obtenues ont été analysées au MEB et MET en déposant des gouttes de dispersions sur les porte-échantillons adaptés et en les laissant sécher 24 h à l'air libre en les protégeant des dépôts de poussière.

Les dispersions ont été passées aux ultrasons pendant 5 min pour casser les possibles agrégats formés, elles ont ensuite été diluées par 30 pour qu'elles ne soient pas trop opaques afin de réaliser des mesures de tailles de particules et de potentiel zêta au zêtasizer (Nano ZS ZEN 3600, Malvern, UK). Chaque analyse a été effectuée au moins trois fois pour garantir la répétabilité.

### 8. Élaboration et caractérisation d'émulsions de Pickering à base des NPs de BPEI-POM

En premier lieu, les particules ont été récupérées par lyophilisation des solutions de synthèse, les particules ont ensuite été nettoyées pour retirer l'excès de BPEI ou de POM sur les nanoparticules. Le ratio BPEI/POM = 50 étant celui qui donne le plus de particules, il a été retenu pour la synthèse et l'utilisation des particules pour la production des émulsions. Ensuite, 1 %m (par rapport à la masse finale) de particules a été introduite dans un vial de 5 mL, ainsi que 49,5 %m d'eau et d'huile dans cet ordre (ratio eau/huile = 1). L'émulsification est réalisée à l'aide d'un Ultraturrax T10 basic à 20 °C et 11500 rpm pendant 60 s (IKA Works, Inc., Allemagne).

En second lieu, les émulsions ont été réalisées en one-pot, directement après la synthèse des particules qui suit l'ajout des solutions mères de BPEI et de  $H_3PW_{12}O_{40}$  ou de  $Na_3PW_{12}O_{40}$ . La quantité d'huile adaptée est ensuite ajoutée pour obtenir un ratio eau/huile de 1. L'émulsification est réalisée dans les mêmes conditions.

La caractérisation des émulsions est réalisée de la même façon que décrit la partie **Préparation et caractérisation des émulsions** plus haut, excepté que la stabilité thermique a été réalisée à 80 °C au lieu de 60 °C.

### 9. Tests catalytiques pour l'époxydation du cyclohexène et du cyclooctène

Dans un test catalytique typique, de l'eau (1,5 mL) contenant  $8,4 \cdot 10^{-2}$  M de  $H_3POM$  (1,26 mL d'une solution à 0,1 M) et  $10^{-2}$  M de BPEI (150  $\mu$ L d'une solution à 0,1 M) et 1,2 équivalent de  $H_2O_2$  (2,4 mmol, 50 %), et du toluène (1,5 mL) contenant l'alcène cyclique (2 M) ont été ajoutés dans un flacon de 5 mL. Les systèmes ont été pré-émulsifiés à l'aide d'un Ultra-Turrax® (IKA T 25) à 11500 rpm pendant 1 min., et placés dans un bain-marie Lauda RC6 thermorégulé. Le réacteur a été scellé, chauffé à 65 °C pendant 4 h sous agitation (500 rpm) pour époxyder la double liaison. La composition des phases organiques et aqueuses a été analysée au cours de la réaction par RMN  $^1H$  après déstabilisation sous centrifugation (2575 G, 20 min). Le  $CDCl_3$  et le DMSO deutéré ont été utilisés comme solvants pour chaque phase, respectivement, tandis que le n-dodécane et le n-dodécanol ont été utilisés comme standards internes. Les essais catalytiques et les analyses ont été effectués au moins trois fois pour garantir la répétabilité

# Conclusion générale et perspectives

---



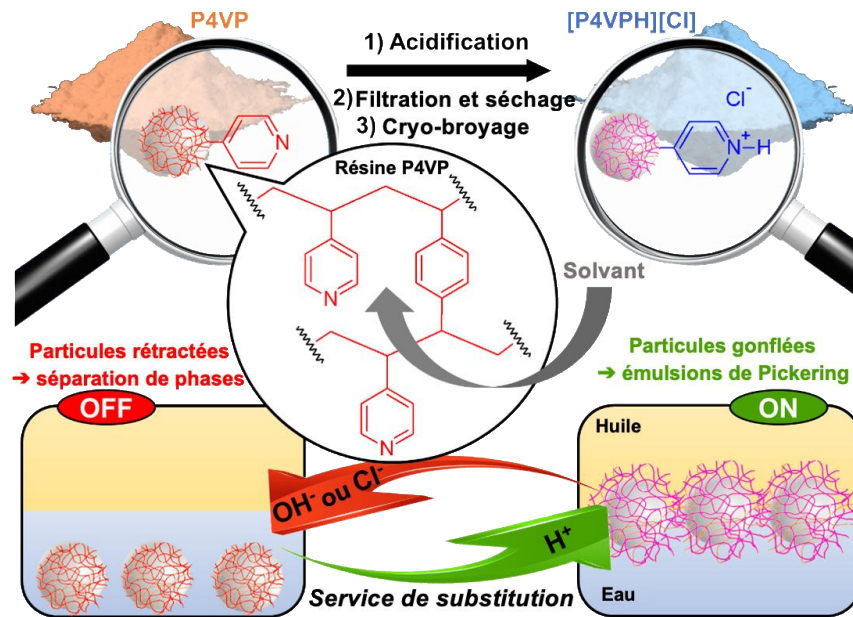


Le travail de thèse avait pour objectif principal de développer de nouveaux systèmes d'émulsions de Pickering, simples, éco- et/ou biocompatibles, pour des applications en catalyse et dans le domaine pharmaceutique, afin de proposer des alternatives aux émulsions classiques, stabilisées par des tensioactifs.

Différentes approches ont été envisagées. La première a consisté en l'utilisation de particules polymériques présentant des fonctions chimiques stimulables grâce à des déclencheurs comme le pH et la température (**Chapitre II**). Les conditions optimales permettant l'adsorption des particules à l'interface eau/huile ont été déterminées afin d'assurer la stabilisation des émulsions de Pickering ainsi obtenues. Les propriétés des émulsions, leur déstabilisation sous l'action du déclencheur et le recyclage des particules ont été étudiés. La seconde approche s'est intéressée à des molécules, dites « tectons », d'amphiphilie différente et dont l'auto-association en structures colloïdales à l'interface eau-huile grâce à des interactions non covalentes permet de stabiliser des émulsions de Pickering (**Chapitres III et IV**).

Ainsi, le **premier chapitre** établit les principes de base des émulsions de Pickering et décrit leurs principales applications, avec un focus sur les applications pharmaceutiques et catalytiques, visées par ces travaux. Le **Chapitre II** présente deux systèmes totalement nouveaux à base de particules polymériques. Le premier introduit une résine commerciale de **poly(4-vinylpyridine) (P4VP)** réticulée à 2 % avec du divinylbenzène. Cette résine est initialement trop hydrophobe pour permettre la formation d'émulsions de Pickering. Cependant, la présence de groupements pyridine permet de protoner le polymère en milieu acide, lui conférant un caractère plus hydrophile. Ainsi, la protonation modifie à la fois la structure mais aussi les propriétés du polymère. Le diamètre des particules passe de **88 à 147 nm** en raison des **répulsions électrostatiques** qui causent le **gonflement des particules**. Le potentiel  $\zeta$  diminue à mesure que l'acidité des particules augmente en raison de l'accumulation des ions chlorures à la surface. Ainsi, les particules de P4VP acides d'une **acidité de 39 mmolH<sup>+</sup>/g** et d'un **potentiel  $\zeta$  de +57 mV** se sont révélées être les plus efficaces pour la stabilisation **d'émulsions huile-dans-eau à base d'heptane (H/E)** avec une excellente stabilité après plus d'un an, et une résistance particulière à la centrifugation (4024 G) et à la température (60 °C). Toutefois, la **déstabilisation** peut être facilement provoquée par des changements de **pH** ou de **force ionique**, fournissant ainsi un système dit « on-off » (**Figure 5.1**) facilitant la séparation des phases et la récupération et la réutilisation des particules. Ces émulsions sensibles à base de P4VP, aux variations de pH, sont très intéressantes pour la réalisation de transformations chimiques en milieu biphasique où la P4VP pourrait jouer plusieurs rôles : réactif, capteurs de protons et/ou catalyseur. La P4VP présente donc un grand potentiel, car elle est de plus, bon marché et largement utilisée pour des synthèses organiques plus sûres et plus écologiques.

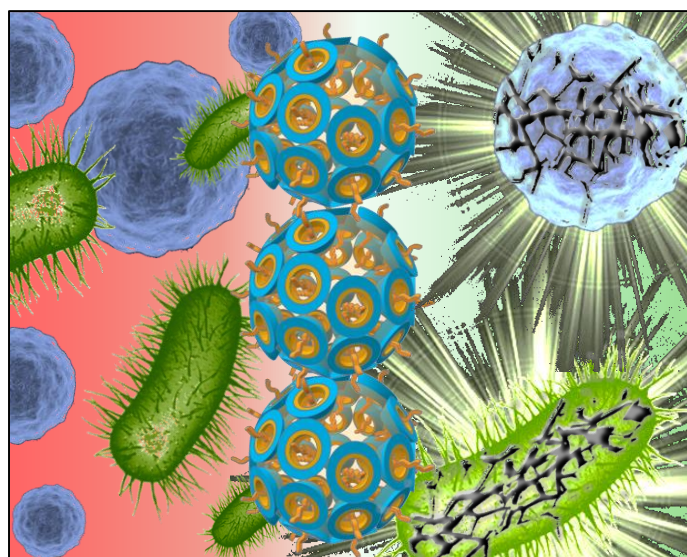




**Figure 5.1 :** Particules colloïdales de poly(4-vinylpyridine) réticulées avec du divinylbenzène (P4VP) et le concept d'émulsions sensibles en fonction de la densité de charge et de la pénétration du solvant.

La seconde partie de ce chapitre se focalise sur un autre polymère, la **polyéthylèneimine linéaire (LPEI)**. Cette molécule possède une structure composée d'amines secondaires qui induit une **sensibilité à deux stimuli** différents, le **pH** d'une part, grâce à sa capacité de protonation, et d'autre part à la **température**, *via* la possibilité de former des liaisons hydrogènes avec l'eau. Ainsi, à 1 % dans l'eau, la LPEI est soluble à température ambiante à  $\text{pH} < 4$  tandis que pour des valeurs de  $\text{pH}$  comprises entre 4 et 12, elle se solubilise entre 40 à 73 °C respectivement. Ce comportement spécifique s'explique par la **compétition** entre les **interactions hydrophobes attractives** de la chaîne hydrocarbonée et les **répulsions électrostatiques** amenées par les fonctions amines protonées. Plus le  $\text{pH}$  est bas, plus les répulsions sont importantes et le polymère se déploie. Plus il est élevé, plus les attractions hydrophobes seront prédominantes et les chaînes de polymères vont s'agréger et se replier sur elles-mêmes. La spécificité de ce système réside également dans le fait qu'après une étape de solubilisation et précipitation, le système se transforme en **hydrogel**. Celui-ci permet la stabilisation d'**émulsions huile-dans-eau à base d'huile de paraffine (HP)**. La présence de **cristaux adsorbés** à l'interface (initialement absents de l'hydrogel), dont la formation résulte d'interactions entre la LPEI et l'HP, associée à la **phase continue gélifiée**, permet de définir ce système comme étant un **émulgel de Pickering**. Les études rhéologiques ont montré que ces émulgels ne sont pas seulement stabilisés par l'effet visqueux de la phase continue. Un système à 2 % de LPEI conduit à une émulsion totale d'une très bonne stabilité (plus de 4 mois). De plus, ces émulsions sont **à la fois pH et thermoréversibles**. Par ailleurs, les particules à base de PEI présentent une activité antimicrobienne et antifongique qui nous laisse imaginer l'efficacité potentielle d'une formulation à base de LPEI contre les bactéries et les champignons, utilisée en combinaison avec des matières actives. Le développement de ce système montre ainsi un fort intérêt pour des applications pharmaceutiques en réalisant des tests microbiologiques.

Dans le **Chapitre III**, des systèmes à base de **cyclodextrines (CDs)**, que nous pouvons qualifier de tectons polaires, connus pour former des complexes d'inclusion avec des invités lipophiles grâce à leur cavité apolaire, ont été développés. Ici, des systèmes sans solvant à partir **d'huiles phytochimiques** (tectons apolaires) biosourcées, aux propriétés biocides ont été présentés. Ces structures auto-assemblées, donnant lieu à des **émulsions de Pickering (H/E)**, permettent de potentialiser **l'action antimicrobienne et antibiofilm** d'un actif, le bromure de miconazoctylium, en comparaison à une crème commerciale contenant du nitrate de miconazole. Le précipité obtenu après émulsification des systèmes a été caractérisé par RMN, MEB, DRX, et DSC afin de prouver l'inclusion des tectons apolaires au sein de la cavité des CDs, les diagrammes de phases ternaires ont été établis et la granulométrie, la morphologie, la rhéologie et la stabilité des émulsions ainsi obtenues ont été étudiées. Par ailleurs, **leur efficacité sur différents pathogènes** (*MRSA*, *E. coli* et *C. albicans*) s'est révélée très performante. L'association de la  **$\beta$ -CD** avec le **carvacrol** en particulier permet de promouvoir l'activité biocide du bromure de miconazoctylium. Ce système est **deux fois plus efficace** contre *C. albicans* et *MRSA* que la crème commerciale, avec une forte activité contre *E. coli*. Cette émulsion présente également un **effet synergique** contre *C. albicans* (30 % plus efficace que l'effet additif), et permet la rupture de biofilms de *MRSA* préformés. Ainsi, en plus d'être extrêmement simples à formuler, par « tectonique colloïdale », ces systèmes sont très efficaces, biosourcés et approuvés par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA), ce qui en fait des candidats pertinents pour le remplacement des formules commerciales actuelles (**Figure 5.2**).



**Figure 5.2 :** Effet de l'application d'une formule à base de cyclodextrines, d'huiles phytochimiques et d'actif antimicrobiens sur les bactéries et champignons.

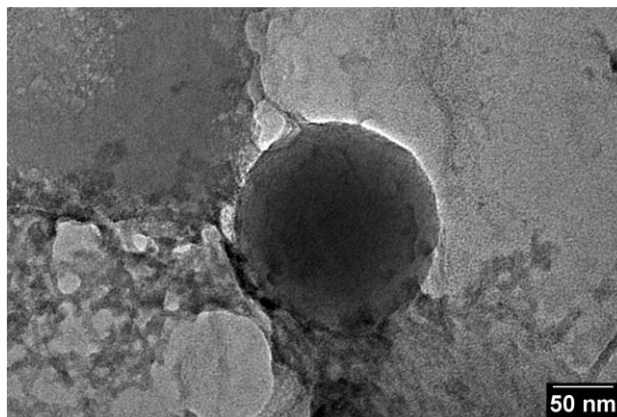
Des travaux supplémentaires ont été réalisés dans notre groupe pour développer davantage ces émulsions de Pickering pour des applications cliniques en raison de leur large spectre et de leur action rapide contre les bactéries et les champignons, les souches résistantes et les biofilms.<sup>388</sup> Des émulsions sans tensioactif, sans silice et totalement biosourcées ont ainsi été développées en remplaçant le bromure miconazoctylium par l'acide undécylénique (AU), dérivé de l'huile de ricin et connu comme agent antifongique. En le combinant avec les huiles

phyto-antimicrobiennes étudiées, le carvacrol et le terpinène-4-ol pour créer des émulsions de Pickering avec la  $\beta$ -CD, l'action de l'AU a pu être potentialisée. Les systèmes se sont également révélés actifs contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'émulsion avec le carvacrol et AU est la plus efficace avec une hausse de l'activité de 390 % et 165 % contre *SARM* comparé aux formulations commerciales à base de dérivés d'azole (pétrosourcés) et d'AU disponibles commercialement. Ce système présente une activité similaire à celle des médicaments couramment prescrits contre *C. albicans*, et présente également un effet synergique pour l'éradication de *E. coli* et des biofilms de *SARM*. Ces activités s'expliquent par la capacité de l'AU à inhiber les enzymes, associée aux propriétés fluidifiantes de membrane du carvacrol. Enfin, les acides gras, auxquels appartient l'AU, sont connus pour désactiver les virus enveloppés. Il serait intéressant d'étudier les effets de l'émulsion sur les virus, afin de l'utiliser pour la désinfection des surfaces, des mains voire des appareils hospitaliers contaminés par des virus, des bactéries et des champignons.

Nous avons également finalisé l'étude d'un système de Pickering appliqué à la catalyse et développé au laboratoire dans une thèse précédente.<sup>389</sup> Cette partie, décrite dans le **Chapitre IV**, met en application le concept de **Catalyse Interfaciale de Pickering (PIC)** désormais largement repris par l'ensemble de la communauté.<sup>390-392</sup> Nous l'avons appliqué à la production de diacides, notamment de l'acide adipique, par coupure oxydante d'oléfines cycliques. La combinaison de nanoparticules (NPs) amphiphiles de phosphotungstate ( $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ ) associées à des NPs acides de silice fonctionnalisées avec des chaînes octadécyles ( $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ ) ont permis de stabiliser des **émulsions de Pickering E/H** qui se sont révélées particulièrement efficaces pour les réactions ciblées. L'addition de promoteurs, principalement des **sels de phosphate**, a été étudiée en détail afin de mieux comprendre l'auto-assemblage des particules à l'interface et leur synergie.  $Na_2HPO_4$  et  $[C_{12}]H_2PO_4$  sont les co-catalyseurs les plus efficaces en conditionnant l'environnement local (c'est-à-dire la charge et la distribution des chaînes  $[C_{12}]$ ) autour des assemblages de particules. Le volume d'émulsion des systèmes avec ces additifs diminue légèrement comparé à celui sans additif, et l'ajout de  $[C_{12}]H_2PO_4$  diminue la taille des gouttelettes à 1,5  $\mu m$  contre 4,5 sans additif. Dans le cas du cyclooctène le **rendement en acide subérique**, à 52 % sans additif, augmente à **64 %** avec  $[C_{12}]H_2PO_4$ , et jusqu'à **72 %** avec  $Na_2HPO_4$ .

La dernière partie de la thèse concerne un travail préliminaire sur le développement d'un système inédit résultant de l'association entre l'acide tungstophosphorique  $H_3PW_{12}O_{40}$  (**H<sub>3</sub>POM**) chargé positivement, et de la **polyéthylèneimine branchée (BPEI)**, un polycation, conduisant à des nanoparticules sphériques (**Figure 5.3**) de tailles comprises entre 15 et 160 nm. La variation de la concentration en BPEI permet de faire varier le potentiel zêta  $\zeta$  de -50 mV à +30 mV. Grâce à des analyses de microscopie électronique, nous avons supposé que la BPEI forme **une matrice polymérique entourant les polyoxométallates (POMs)** ce qui engendre la formation des nanoparticules qui, à leur tour, stabilisent des **émulsions de Pickering H/E**. À titre d'exemple, un tel système peut être obtenu à partir d'une solution aqueuse contenant la BPEI ( $10^{-2}$  M) et les POMs ( $10^{-1}$  M) et d'une phase huileuse, à un ratio eau/huile de 1. Les

émulsions, non totales, ont des diamètres moyens de gouttelettes allant de 4 à 30  $\mu\text{m}$  et la stabilisation (principe de coalescence limitée) est atteinte après quelques jours, avec 70 % de phase émulsion, pendant au moins 3 mois.



**Figure 5.3 :** Nanoparticules résultant de l'auto-association entre la polyéthylèneimine branchée et l'acide tungstophosphorique.

Beaucoup de travaux restent encore à réaliser avec ce système particulièrement prometteur, notamment l'optimisation d'une réaction d'oxydation et la sensibilité du système au pH. La BPEI se charge positivement en milieu neutre et acide, grâce à la protonation des groupements amines primaires, secondaires et tertiaires sur sa structure, et se neutralise progressivement à pH élevé ( $> 10$ ). Ceci a pour conséquence d'inhiber les interactions électrostatiques formées avec le  $\text{H}_3\text{POM}$ , ce qui entraînerait la dissolution des deux espèces dans l'eau et la disparition des nanoparticules auto-assemblées. Une telle opération ne demanderait que peu de produit et d'énergie, et serait bénéfique pour récupérer les produits de la réaction.

La possibilité de développer des nouveaux systèmes simples, polymériques ou basés sur le concept de tectonique colloïdale, permettant la stabilisation d'émulsions de Pickering a été démontrée tout au long de ce manuscrit, avec des applications catalytiques (réaction d'oxydation impliquant  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et pharmaceutiques (formulations aux propriétés biocides). Tous ces systèmes ont montré une efficacité égale aux systèmes existants, voire supérieure, avec des avantages supplémentaires.



# Bibliographie

---

- (1) site internet. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/Biosurfactants-Market-493.html>. **2020**.
- (2) Rebello, S.; Asok, A. K.; Mundayoor, S.; Jisha, M. S. Surfactants: Toxicity, Remediation and Green Surfactants. *Environ. Chem. Lett.* **2014**, *12* (2), 275–287. <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0466-2>.
- (3) Koopmann, S.; Schulz, J.; Daniels, R.; Hahn, I.; Fecht, S. V. D.; Grotelüschen, B. Düninflüssige kosmetische oder dermatologische zubereitungen von typ öl-in-wasser. WO2004017930A1, March 4, 2004.
- (4) SPRINGINSFELD, F.; Arnaud-Sebillotte, L.; LECHAUX-TARBOURIECH, V. Emulsion de type pickering comprenant un phyllosilicate synthétique. EP3223776A1, October 4, 2017.
- (5) Fowler, J. Pickering Emulsion Formulations. WO2008030749A2, March 13, 2008.
- (6) W. Ramsden. The Separation of Solid Materials on the Surface of Solutions and Suspensions. Observations Concerning Surface Diagrams, Foam Blisters, Emulsions and Mechanical Coagulation. **1903**, No. 72, 156–164.
- (7) S.U. Pickering. CXCVI. - Emulsions. *J. Chem. Soc., Trans.* **1907**, *127*, 2001–2021.
- (8) Buzea, C.; Pacheco, I. I.; Robbie, K. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases* **2007**, *2* (4), MR17–MR71. <https://doi.org/10.1116/1.2815690>.
- (9) Alison, L.; Rühls, P. A.; Tervoort, E.; Teleki, A.; Zanini, M.; Isa, L.; Studart, A. R. Pickering and Network Stabilization of Biocompatible Emulsions Using Chitosan-Modified Silica Nanoparticles. *Langmuir* **2016**, *32* (50), 13446–13457. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b03439>.
- (10) Zeng, T.; Deng, A.; Yang, D.; Li, H.; Qi, C.; Gao, Y. Triple-Responsive Pickering Emulsion Stabilized by Core Cross-Linked Supramolecular Polymer Particles. *Langmuir* **2019**, *35* (36), 11872–11880. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b02341>.
- (11) J.W. Gibbs. **1931**, 54–371.
- (12) Bancroft, W. D. The Theory of Emulsification, V. *J. Phys. Chem.* **1913**, *17* (6), 501–519. <https://doi.org/10.1021/j150141a002>.
- (13) W.C. Griffin. Classification of Surface-Active Agents by HLB. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1949**, *1* (5), 311–326.
- (14) J.T. Davies. A Quantitative Kinetic Theory of Emulsion Type. I. Physical Chemistry of the Emulsifying Agent. **1957**, *Proceedings of the International Congress of Surface Activity*, 426–438.
- (15) De Luca, M.; Rocha-Filho, P.; Grossiord, J. L.; Rabaron, A.; Vaution, C.; Seiller, M. Les émulsions multiples. *Int. J. Cosmet. Sci.* **1991**, *13* (1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.1991.tb00543.x>.
- (16) Drake, E. N.; Bainbridge, S. C.; Blain, D. A.; Hill, C.; Carey, J. T. (54) OIL-IN-OIL COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING. 23.
- (17) Balakrishnan, G.; Nicolai, T.; Benyahia, L.; Durand, D. Particles Trapped at the Droplet Interface in Water-in-Water Emulsions. *Langmuir* **2012**, *28* (14), 5921–5926. <https://doi.org/10.1021/la204825f>.
- (18) Ashby, N. P.; Binks, B. P. Pickering Emulsions Stabilised by Laponite Clay Particles. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2* (24), 5640–5646. <https://doi.org/10.1039/b007098j>.

- (19) Giermanska-Kahn, J.; Schmitt, V.; Binks, B. P.; Leal-Calderon, F. A New Method To Prepare Monodisperse Pickering Emulsions. *Langmuir* **2002**, *18* (7), 2515–2518. <https://doi.org/10.1021/la0111809>.
- (20) Binks, B. P.; Lumsdon, S. O. Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size. *Langmuir* **2001**, *17* (15), 4540–4547. <https://doi.org/10.1021/la0103822>.
- (21) Aveyard, R.; Binks, B. P.; Clint, J. H. Emulsions Stabilised Solely by Colloidal Particles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2003**, *100–102*, 503–546. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00069-6).
- (22) Binks, B. P. Particles as Surfactants – Similarities and Differences. *Interface Sci.* **2002**, 21.
- (23) Binks, B. P.; Lumsdon, S. O. Effects of Oil Type and Aqueous Phase Composition on Oil–Water Mixtures Containing Particles of Intermediate Hydrophobicity. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2* (13), 2959–2967. <https://doi.org/10.1039/b002582h>.
- (24) Levine, S.; Bowen, B. D.; Partridge, S. J. Stabilization of Emulsions by Fine Particles I. Partitioning of Particles between Continuous Phase and Oil/Water Interface. *Colloids Surf.* **1989**, *38* (2), 325–343. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(89\)80271-9](https://doi.org/10.1016/0166-6622(89)80271-9).
- (25) Clint, J. H.; Taylor, S. E. Particle Size and Interparticle Forces of Overbased Detergents: A Langmuir Trough Study. *Colloids Surf.* **1992**, *65* (1), 61–67. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(92\)80175-2](https://doi.org/10.1016/0166-6622(92)80175-2).
- (26) Wiley, R. . Limited Coalescence of Oil Droplets in Coarse Oil-in-Water Emulsions. *J. Colloid Sci.* **1954**, *9* (5), 427–437. [https://doi.org/10.1016/0095-8522\(54\)90030-6](https://doi.org/10.1016/0095-8522(54)90030-6).
- (27) Wu, T.; Wang, H.; Jing, B.; Liu, F.; Burns, P. C.; Na, C. Multi-Body Coalescence in Pickering Emulsions. *Nat. Commun.* **2015**, *6* (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms6929>.
- (28) Frelichowska, J.; Bolzinger, M.-A.; Chevalier, Y. Effects of Solid Particle Content on Properties of o/w Pickering Emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *351* (2), 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.08.019>.
- (29) Destribats, M.; Gineste, S.; Laurichesse, E.; Tanner, H.; Leal-Calderon, F.; Héroguez, V.; Schmitt, V. Pickering Emulsions: What Are the Main Parameters Determining the Emulsion Type and Interfacial Properties? *Langmuir* **2014**, *30* (31), 9313–9326. <https://doi.org/10.1021/la501299u>.
- (30) Arditty, S. Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales. 211.
- (31) He, Y.; Wu, F.; Sun, X.; Li, R.; Guo, Y.; Li, C.; Zhang, L.; Xing, F.; Wang, W.; Gao, J. Factors That Affect Pickering Emulsions Stabilized by Graphene Oxide. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (11), 4843–4855. <https://doi.org/10.1021/am400582n>.
- (32) Arditty, S.; Whitby, C. P.; Binks, B. P.; Schmitt, V.; Leal-Calderon, F. Some General Features of Limited Coalescence in Solid-Stabilized Emulsions. *Eur. Phys. J. E* **2003**, *11* (3), 273–281. <https://doi.org/10.1140/epje/i2003-10018-6>.
- (33) Arditty, S.; Schmitt, V.; Giermanska-Kahn, J.; Leal-Calderon, F. Materials Based on Solid-Stabilized Emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *275* (2), 659–664. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.001>.
- (34) Arditty, S.; Schmitt, V.; Lequeux, F.; Leal-Calderon, F. Interfacial Properties in Solid-Stabilized Emulsions. *Eur. Phys. J. B* **2005**, *44* (3), 381–393. <https://doi.org/10.1140/epjb/e2005-00137-0>.
- (35) Israelachvili, J. *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press.; 1992.
- (36) Hunter, R. J. *Foundations of Colloid Science*; Clarendon Press, 1989.

- (37) Hamaker, H. C. The London—van Der Waals Attraction between Spherical Particles. *Physica* **1937**, *4* (10), 1058–1072. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(37\)80203-7](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(37)80203-7).
- (38) Pieranski, P. Two-Dimensional Interfacial Colloidal Crystals. *Phys. Rev. Lett.* **1980**, *45* (7), 569–572. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.45.569>.
- (39) Hurd, A. J. The Electrostatic Interaction between Interfacial Colloidal Particles. *J. Phys. Math. Gen.* **1985**, *18* (16), L1055–L1060. <https://doi.org/10.1088/0305-4470/18/16/011>.
- (40) Derjaguin, B.; Landau, L. Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes. *Prog. Surf. Sci.* **1993**, *43* (1–4), 30–59. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90013-L](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-L).
- (41) Verwey, E. J. W. Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. 6.
- (42) Kralchevsky, P. A.; Nagayama, K. Capillary Interactions between Particles Bound to Interfaces, Liquid Films and Biomembranes. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2000**, *85* (2–3), 145–192. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(99\)00016-0](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(99)00016-0).
- (43) Stamou, D.; Duschl, C.; Johannsmann, D. Long-Range Attraction between Colloidal Spheres at the Air-Water Interface: The Consequence of an Irregular Meniscus. *Phys. Rev. E* **2000**, *62* (4), 5263–5272. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.62.5263>.
- (44) Kralchevsky, P. A.; Denkov, N. D. Capillary Forces and Structuring in Layers of Colloid Particles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6* (4), 383–401. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(01\)00105-4](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(01)00105-4).
- (45) Simovic, S.; Prestidge, C. A. Adsorption of Hydrophobic Silica Nanoparticles at the PDMS Droplet–Water Interface. *Langmuir* **2003**, *19* (20), 8364–8370. <https://doi.org/10.1021/la0347197>.
- (46) Simovic, S.; Prestidge, C. A. Hydrophilic Silica Nanoparticles at the PDMS Droplet–Water Interface. *Langmuir* **2003**, *19* (9), 3785–3792. <https://doi.org/10.1021/la026803c>.
- (47) Simovic, S.; Prestidge, C. A. Nanoparticles of Varying Hydrophobicity at the Emulsion Droplet–Water Interface: Adsorption and Coalescence Stability. *Langmuir* **2004**, *20* (19), 8357–8365. <https://doi.org/10.1021/la0491807>.
- (48) Tarimala, S.; Dai, L. L. Structure of Microparticles in Solid-Stabilized Emulsions. *Langmuir* **2004**, *20* (9), 3492–3494. <https://doi.org/10.1021/la036129e>.
- (49) Vignati, E.; Piazza, R.; Lockhart, T. P. Pickering Emulsions: Interfacial Tension, Colloidal Layer Morphology, and Trapped-Particle Motion. *Langmuir* **2003**, *19* (17), 6650–6656. <https://doi.org/10.1021/la034264l>.
- (50) Gautier, F.; Destribats, M.; Perrier-Cornet, R.; Dechézelles, J.-F.; Giermanska, J.; Héroguez, V.; Ravaine, S.; Leal-Calderon, F.; Schmitt, V. Pickering Emulsions with Stimulable Particles: From Highly- to Weakly-Covered Interfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9* (48), 6455. <https://doi.org/10.1039/b710226g>.
- (51) Hassander, H.; Johansson, B.; Törnell, B. The Mechanism of Emulsion Stabilization by Small Silica (Ludox) Particles. *Colloids Surf.* **1989**, *40*, 93–105. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(89\)80010-1](https://doi.org/10.1016/0166-6622(89)80010-1).
- (52) Akartuna, I.; Tervoort, E.; Studart, A. R.; Gauckler, L. J. General Route for the Assembly of Functional Inorganic Capsules. *Langmuir* **2009**, *25* (21), 12419–12424. <https://doi.org/10.1021/la901916q>.
- (53) Guillot, S.; Bergaya, F.; de Azevedo, C.; Warmont, F.; Tranchant, J.-F. Internally Structured Pickering Emulsions Stabilized by Clay Mineral Particles. *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, *333* (2), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.01.026>.



- (54) Reger, M.; Sekine, T.; Hoffmann, H. Pickering Emulsions Stabilized by Amphiphile Covered Clays. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2012**, *413*, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.005>.
- (55) Brunier, B.; Sheibat-Othman, N.; Chevalier, Y.; Bourgeat-Lami, E. Partitioning of Laponite Clay Platelets in Pickering Emulsion Polymerization. *Langmuir* **2016**, *32* (1), 112–124. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b03576>.
- (56) Okada, M.; Maeda, H.; Fujii, S.; Nakamura, Y.; Furuzono, T. Formation of Pickering Emulsions Stabilized via Interaction between Nanoparticles Dispersed in Aqueous Phase and Polymer End Groups Dissolved in Oil Phase. *Langmuir* **2012**, *28* (25), 9405–9412. <https://doi.org/10.1021/la3015964>.
- (57) Fujii, S.; Okada, M.; Nishimura, T.; Maeda, H.; Sugimoto, T.; Hamasaki, H.; Furuzono, T.; Nakamura, Y. Hydroxyapatite-Armored Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) Microspheres and Hydroxyapatite Microcapsules Fabricated via a Pickering Emulsion Route. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *374* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.01.058>.
- (58) Hu, Y.; Yang, Y.; Ning, Y.; Wang, C.; Tong, Z. Facile Preparation of Artemisia Argyi Oil-Loaded Antibacterial Microcapsules by Hydroxyapatite-Stabilized Pickering Emulsion Templating. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2013**, *112*, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.002>.
- (59) Bornaee, A. H.; Manteghian, M.; Rashidi, A.; Alaei, M.; Ershadi, M. Oil-in-Water Pickering Emulsions Stabilized with Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube/Silica Nanohybrids in the Presence of High Concentrations of Cations in Water. *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, *20* (4), 1720–1726. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.08.022>.
- (60) Li, N.; He, B.; Xu, S.; Yuan, J.; Miao, J.; Niu, L.; Song, J. In Site Formation and Growth of Prussian Blue Nanoparticles Anchored to Multiwalled Carbon Nanotubes with Poly(4-Vinylpyridine) Linker by Layer-by-Layer Assembly. *Mater. Chem. Phys.* **2012**, *133* (2–3), 726–734. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.01.074>.
- (61) Tang, M.; Wu, T.; Xu, X.; Zhang, L.; Wu, F. Factors That Affect the Stability, Type and Morphology of Pickering Emulsion Stabilized by Silver Nanoparticles/Graphene Oxide Nanocomposites. *Mater. Res. Bull.* **2014**, *60*, 118–129. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.08.019>.
- (62) Tang, M.; Wang, X.; Wu, F.; Liu, Y.; Zhang, S.; Pang, X.; Li, X.; Qiu, H. Au Nanoparticle/Graphene Oxide Hybrids as Stabilizers for Pickering Emulsions and Au Nanoparticle/Graphene Oxide@polystyrene Microspheres. *Carbon* **2014**, *71*, 238–248. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.01.034>.
- (63) Zhai, W.; Wu, Z.-M.; Wang, X.; Song, P.; He, Y.; Wang, R.-M. Preparation of Epoxy-Acrylate Copolymer@nano-TiO<sub>2</sub> Pickering Emulsion and Its Antibacterial Activity. *Prog. Org. Coat.* **2015**, *87*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2015.05.019>.
- (64) Nawaz, M.; Miran, W.; Jang, J.; Lee, D. S. Stabilization of Pickering Emulsion with Surface-Modified Titanium Dioxide for Enhanced Photocatalytic Degradation of Direct Red 80. *Catal. Today* **2017**, *282*, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2016.02.017>.
- (65) Melle, S.; Lask, M.; Fuller, G. G. Pickering Emulsions with Controllable Stability. *Langmuir* **2005**, *21* (6), 2158–2162. <https://doi.org/10.1021/la047691n>.
- (66) Qiao, X.; Zhou, J.; Binks, B. P.; Gong, X.; Sun, K. Magnetorheological Behavior of Pickering Emulsions Stabilized by Surface-Modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2012**, *412*, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.06.026>.
- (67) Lin, K.-Y. A.; Yang, H.; Petit, C.; Lee, W. Magnetically Controllable Pickering Emulsion Prepared by a Reduced Graphene Oxide-Iron Oxide Composite. *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *438*, 296–305. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.10.015>.

- (68) Gilbert, L.; Picard, C.; Savary, G.; Grisel, M. Rheological and Textural Characterization of Cosmetic Emulsions Containing Natural and Synthetic Polymers: Relationships between Both Data. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, *421*, 150–163. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.01.003>.
- (69) Li, W.; Ju, B.; Zhang, S. Novel Amphiphilic Cellulose Nanocrystals for PH-Responsive Pickering Emulsions. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *229*, 115401. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115401>.
- (70) Werner, A. Formation et polymérisation d'émulsions de Pickering stabilisées par des nanocristaux de cellulose modifiés.
- (71) Silmore, K. S.; Gupta, C.; Washburn, N. R. Tunable Pickering Emulsions with Polymer-Grafted Lignin Nanoparticles (PGLNs). *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, *466*, 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.11.042>.
- (72) Qian, Y.; Zhang, Q.; Qiu, X.; Zhu, S. CO<sub>2</sub>-Responsive Diethylaminoethyl-Modified Lignin Nanoparticles and Their Application as Surfactants for CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>-Switchable Pickering Emulsions. *Green Chem* **2014**, *16* (12), 4963–4968. <https://doi.org/10.1039/C4GC01242A>.
- (73) Miao, M.; Li, R.; Jiang, B.; Cui, S. W.; Zhang, T.; Jin, Z. Structure and Physicochemical Properties of Octenyl Succinic Esters of Sugary Maize Soluble Starch and Waxy Maize Starch. *Food Chem.* **2014**, *151*, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.043>.
- (74) Tan, K. Y.; Gautrot, J. E.; Huck, W. T. S. Formation of Pickering Emulsions Using Ion-Specific Responsive Colloids †. *Langmuir* **2011**, *27* (4), 1251–1259. <https://doi.org/10.1021/la102904r>.
- (75) Li, C.; Li, Y.; Sun, P.; Yang, C. Starch Nanocrystals as Particle Stabilisers of Oil-in-Water Emulsions: Starch Nanocrystals as Emulsion Stabilisers. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94* (9), 1802–1807. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6495>.
- (76) Tzoumaki, M. V.; Moschakis, T.; Kiosseoglou, V.; Biliaderis, C. G. Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Chitin Nanocrystal Particles. *Food Hydrocoll.* **2011**, *25* (6), 1521–1529. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.008>.
- (77) Victorelli, F. D.; Calixto, G. M. F.; Ramos, M. A. D. S.; Bauab, T. M.; Chorilli, M. Metronidazole-Loaded Polyethyleneimine and Chitosan-Based Liquid Crystalline System for Treatment of Staphylococcal Skin Infections. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2018**, *14* (1), 227–237. <https://doi.org/10.1166/jbn.2018.2484>.
- (78) Mathapa, B. G.; Paunov, V. N. Cyclodextrin Stabilised Emulsions and Cyclodextrinosomes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (41), 17903. <https://doi.org/10.1039/c3cp52116h>.
- (79) Hikima, T.; Nonomura, Y. Pickering Emulsions and Capsules Stabilized by Wool Powder Particles. *J. Oleo Sci.* **2011**, *60* (7), 351–354. <https://doi.org/10.5650/jos.60.351>.
- (80) de Folter, J. W. J.; van Ruijven, M. W. M.; Velikov, K. P. Oil-in-Water Pickering Emulsions Stabilized by Colloidal Particles from the Water-Insoluble Protein Zein. *Soft Matter* **2012**, *8* (25), 6807. <https://doi.org/10.1039/c2sm07417f>.
- (81) Rousseau, D. Trends in Structuring Edible Emulsions with Pickering Fat Crystals. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2013**, *18* (4), 283–291. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2013.04.009>.
- (82) Nadin, M.; Rousseau, D.; Ghosh, S. Fat Crystal-Stabilized Water-in-Oil Emulsions as Controlled Release Systems. *LWT - Food Sci. Technol.* **2014**, *56* (2), 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.044>.
- (83) Meshulam, D.; Lesmes, U. Responsiveness of Emulsions Stabilized by Lactoferrin Nano-Particles to Simulated Intestinal Conditions. *Food Funct* **2014**, *5* (1), 65–73. <https://doi.org/10.1039/C3FO60380F>.

- (84) Gould, J.; Vieira, J.; Wolf, B. Cocoa Particles for Food Emulsion Stabilisation. *Food Funct.* **2013**, *4* (9), 1369. <https://doi.org/10.1039/c3fo30181h>.
- (85) Luo, Z.; Murray, B. S.; Yusoff, A.; Morgan, M. R. A.; Povey, M. J. W.; Day, A. J. Particle-Stabilizing Effects of Flavonoids at the Oil–Water Interface. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59* (6), 2636–2645. <https://doi.org/10.1021/jf1041855>.
- (86) Luo, Z.; Murray, B. S.; Ross, A.-L.; Povey, M. J. W.; Morgan, M. R. A.; Day, A. J. Effects of PH on the Ability of Flavonoids to Act as Pickering Emulsion Stabilizers. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2012**, *92*, 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.027>.
- (87) Gondora, W.; Doudin, K.; Nowakowski, D. J.; Xiao, B.; Ding, Y.; Bridgwater, T.; Yuan, Q. Encapsulation of Phase Change Materials Using Rice-Husk-Char. *Appl. Energy* **2016**, *182*, 274–281. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.08.102>.
- (88) Albert, C.; Huang, N.; Tsapis, N.; Geiger, S.; Rosilio, V.; Mekhloufi, G.; Chapron, D.; Robin, B.; Beladjine, M.; Nicolas, V.; Fattal, E.; Agnely, F. Bare and Sterically Stabilized PLGA Nanoparticles for the Stabilization of Pickering Emulsions. *Langmuir* **2018**, *34* (46), 13935–13945. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02558>.
- (89) Qi, F.; Wu, J.; Sun, G.; Nan, F.; Ngai, T.; Ma, G. Systematic Studies of Pickering Emulsions Stabilized by Uniform-Sized PLGA Particles: Preparation and Stabilization Mechanism. *J Mater Chem B* **2014**, *2* (43), 7605–7611. <https://doi.org/10.1039/C4TB01165A>.
- (90) Laredj-Bourezg, F.; Bolzinger, M.-A.; Pelletier, J.; Chevalier, Y. Pickering Emulsions Stabilized by Biodegradable Block Copolymer Micelles for Controlled Topical Drug Delivery. *Int. J. Pharm.* **2017**, *531* (1), 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.08.065>.
- (91) Koike, R.; Iwashita, Y.; Kimura, Y. Emulsion Droplets Stabilized by Close-Packed Janus Regular Polygonal Particles. *Langmuir* **2018**, *34* (41), 12394–12400. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02323>.
- (92) Ho, C. C.; Keller, A.; Odell, J. A.; Ottewill, R. H. Preparation of Monodisperse Ellipsoidal Polystyrene Particles. *Colloid Polym. Sci.* **1993**, *271* (5), 469–479. <https://doi.org/10.1007/BF00657391>.
- (93) Zhang, Z.; Pfeleiderer, P.; Schofield, A. B.; Clasen, C.; Vermant, J. Synthesis and Directed Self-Assembly of Patterned Anisometric Polymeric Particles. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (3), 392–395. <https://doi.org/10.1021/ja108099r>.
- (94) Palazzo, C.; Ponchel, G.; Vachon, J. J.; Villebrun, S.; Agnely, F.; Vauthier, C. Obtaining Nonspherical Poly(Alkylcyanoacrylate) Nanoparticles by the Stretching Method Applied with a Marketed Water-Soluble Film. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **2017**, *66* (8), 416–424. <https://doi.org/10.1080/00914037.2016.1233420>.
- (95) Crassous, J. J.; Dietsch, H.; Pfeleiderer, P.; Malik, V.; Diaz, A.; Hirshi, L. A.; Drechsler, M.; Schurtenberger, P. Preparation and Characterization of Ellipsoidal-Shaped Thermosensitive Microgel Colloids with Tailored Aspect Ratios. *Soft Matter* **2012**, *8* (13), 3538. <https://doi.org/10.1039/c2sm07257b>.
- (96) Jiang, P.; Hwang, K. S.; Mittleman, D. M.; Bertone, J. F.; Colvin, V. L. Template-Directed Preparation of Macroporous Polymers with Oriented and Crystalline Arrays of Voids. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (50), 11630–11637. <https://doi.org/10.1021/ja9903476>.
- (97) Jiang, P. A Lost-Wax Approach to Monodisperse Colloids and Their Crystals. *Science* **2001**, *291* (5503), 453–457. <https://doi.org/10.1126/science.291.5503.453>.
- (98) Tanaka, T.; Komatsu, Y.; Fujibayashi, T.; Minami, H.; Okubo, M. A Novel Approach for Preparation of Micrometer-Sized, Monodisperse Dimple and Hemispherical Polystyrene Particles†Part CCCXXX of the

- Series "Studies on Suspension and Emulsion." *Langmuir* **2010**, *26* (6), 3848–3853. <https://doi.org/10.1021/la903309t>.
- (99) Huang, X.; Qian, Q.; Wang, Y. Anisotropic Particles from a One-Pot Double Emulsion Induced by Partial Wetting and Their Triggered Release. *Small* **2014**, *10* (7), 1412–1420. <https://doi.org/10.1002/smll.201302743>.
- (100) Hasegawa, U.; Sawada, S.; Shimizu, T.; Kishida, T.; Otsuji, E.; Mazda, O.; Akiyoshi, K. Raspberry-like Assembly of Cross-Linked Nanogels for Protein Delivery. *J. Controlled Release* **2009**, *140* (3), 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.06.025>.
- (101) Tritschler, U.; Pearce, S.; Gwyther, J.; Whittell, G. R.; Manners, I. 50th Anniversary Perspective : Functional Nanoparticles from the Solution Self-Assembly of Block Copolymers. *Macromolecules* **2017**, *50* (9), 3439–3463. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b02767>.
- (102) Deng, R.; Liang, F.; Zhou, P.; Zhang, C.; Qu, X.; Wang, Q.; Li, J.; Zhu, J.; Yang, Z. Janus Nanodisc of Diblock Copolymers. *Adv. Mater.* **2014**, *26* (26), 4469–4472. <https://doi.org/10.1002/adma.201305849>.
- (103) Yan, Z.; Elliott, J. A. W.; Masliyah, J. H. Roles of Various Bitumen Components in the Stability of Water-in-Diluted-Bitumen Emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, *220* (2), 329–337. <https://doi.org/10.1006/jcis.1999.6533>.
- (104) Simovic, S.; Ghouchi-Eskandar, N.; Prestidge, C. A. Pickering Emulsions for Dermal Delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2011**, *21* (1), 123–133. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(11\)50011-5](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(11)50011-5).
- (105) Lefebure, S.; Menager, C.; Cabuil, V.; Assenheimer, M.; Gallet, F.; Flament, C. Langmuir Monolayers of Monodispersed Magnetic Nanoparticles Coated with a Surfactant. *6*.
- (106) Kumar, N.; Gaur, T.; Mandal, A. Characterization of SPN Pickering Emulsions for Application in Enhanced Oil Recovery. *J. Ind. Eng. Chem.* **2017**, *54*, 304–315. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.06.005>.
- (107) Neirinck, B.; Fransaer, J.; Van der Biest, O.; Vleugels, J. Production of Porous Materials Through Consolidation of Pickering Emulsions. *Adv. Eng. Mater.* **2007**, *9* (1–2), 57–59. <https://doi.org/10.1002/adem.200600191>.
- (108) Menner, A.; Verdejo, R.; Shaffer, M.; Bismarck, A. Particle-Stabilized Surfactant-Free Medium Internal Phase Emulsions as Templates for Porous Nanocomposite Materials: Poly-Pickering-Foams. *Langmuir* **2007**, *23* (5), 2398–2403. <https://doi.org/10.1021/la062712u>.
- (109) Blaker, J. J.; Lee, K.-Y.; Li, X.; Menner, A.; Bismarck, A. Renewable Nanocomposite Polymer Foams Synthesized from Pickering Emulsion Templates. *Green Chem.* **2009**, *11* (9), 1321. <https://doi.org/10.1039/b913740h>.
- (110) He, Y. Preparation of Polyaniline/Nano-ZnO Composites via a Novel Pickering Emulsion Route. *Powder Technol.* **2004**, *147* (1–3), 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.09.038>.
- (111) He, Y. Synthesis of Polyaniline/Nano-CeO<sub>2</sub> Composite Microspheres via a Solid-Stabilized Emulsion Route. *Mater. Chem. Phys.* **2005**, *92* (1), 134–137. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.01.033>.
- (112) Xiao, Q.; Tan, X.; Ji, L.; Xue, J. Preparation and Characterization of Polyaniline/Nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Composites via a Novel Pickering Emulsion Route. *Synth. Met.* **2007**, *157* (18–20), 784–791. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2007.08.010>.
- (113) Zhang, K.; Wu, W.; Meng, H.; Guo, K.; Chen, J.-F. Pickering Emulsion Polymerization: Preparation of Polystyrene/Nano-SiO<sub>2</sub> Composite Microspheres with Core-Shell Structure. *Powder Technol.* **2009**, *190* (3), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2008.08.022>.

- (114) Frelichowska, J.; Bolzinger, M.-A.; Valour, J.-P.; Mouaziz, H.; Pelletier, J.; Chevalier, Y. Pickering w/o Emulsions: Drug Release and Topical Delivery. *Int. J. Pharm.* **2009**, *368* (1–2), 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.09.057>.
- (115) Berton-Carabin, C. C.; Schroën, K. Pickering Emulsions for Food Applications: Background, Trends, and Challenges. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2015**, *6* (1), 263–297. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110822>.
- (116) Chen, G.; Yi, Z.; Chen, X.; Ma, X.; Su, W.; Li, X. Polyphenol Nanoparticles from Commonly Consumed Tea for Scavenging Free Radicals, Stabilizing Pickering Emulsions, and Inhibiting Cancer Cells. *ACS Appl. Nano Mater.* **2021**, *4* (1), 652–665. <https://doi.org/10.1021/acsnm.0c02950>.
- (117) Starks, C. M.; Liotta, C. L.; Halpern, M. E. *Phase-Transfer Catalysis*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1994. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-0687-0>.
- (118) Rathman, J. F. *Micellar Catalysis*. 5.
- (119) Fressancourt-Collinet, M.; Hong, B.; Leclercq, L.; Alsters, P. L.; Aubry, J.-M.; Nardello-Rataj, V. Acidic Three-Liquid-Phase Microemulsion Systems Based on Balanced Catalytic Surfactant for Epoxidation and Sulfide Oxidation under Mild Conditions. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/adsc.201200514>.
- (120) Liu, Y.; Jiang, Z.; Li, C. Emulsion Catalysis: Interface between Homogeneous and Heterogeneous Catalysis. In *Bridging Heterogeneous and Homogeneous Catalysis*; Can, L., Yan, L., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2014; pp 283–324. <https://doi.org/10.1002/9783527675906.ch8>.
- (121) Leclercq, L.; Company, R.; Mühlbauer, A.; Mouret, A.; Aubry, J.-M.; Nardello-Rataj, V. Versatile Eco-Friendly Pickering Emulsions Based on Substrate/Native Cyclodextrin Complexes: A Winning Approach for Solvent-Free Oxidations. *ChemSusChem* **2013**, *6* (8), 1533–1540. <https://doi.org/10.1002/cssc.201300081>.
- (122) Crossley, S.; Faria, J.; Shen, M.; Resasco, D. E. Solid Nanoparticles That Catalyze Biofuel Upgrade Reactions at the Water/Oil Interface. *Science* **2010**, *327* (5961), 68–72. <https://doi.org/10.1126/science.1180769>.
- (123) MacDonald, S. M.; Fletcher, P. D. I.; Cui, Z.-G.; Opallo, M.; Chen, J.; Marken, F. Carbon Nanoparticle Stabilised Liquid|liquid Micro-Interfaces for Electrochemically Driven Ion-Transfer Processes. *Electrochimica Acta* **2007**, *53* (3), 1175–1181. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.01.072>.
- (124) Tan, H.; Zhang, P.; Wang, L.; Yang, D.; Zhou, K. Multifunctional Amphiphilic Carbonaceous Microcapsules Catalyze Water/Oil Biphasic Reactions. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (43), 11903. <https://doi.org/10.1039/c1cc15654c>.
- (125) Potier, J.; Menuel, S.; Chambrier, M.-H.; Burylo, L.; Blach, J.-F.; Woisel, P.; Monflier, E.; Hapiot, F. Pickering Emulsions Based on Supramolecular Hydrogels: Application to Higher Olefins' Hydroformylation. *ACS Catal.* **2013**, *3* (7), 1618–1621. <https://doi.org/10.1021/cs4002282>.
- (126) Fang, Z.; Yang, D.; Gao, Y.; Li, H. PH-Responsible Pickering Emulsion and Its Catalytic Application for Reaction at Water–Oil Interface. *Colloid Polym. Sci.* **2015**, *293* (5), 1505–1513. <https://doi.org/10.1007/s00396-015-3533-8>.
- (127) Leclercq, L.; Mouret, A.; Proust, A.; Schmitt, V.; Bauduin, P.; Aubry, J.-M.; Nardello-Rataj, V. Pickering Emulsion Stabilized by Catalytic Polyoxometalate Nanoparticles: A New Effective Medium for Oxidation Reactions. *Chem. - Eur. J.* **2012**, *18* (45), 14352–14358. <https://doi.org/10.1002/chem.201201799>.
- (128) Mouret, A.; Leclercq, L.; Mühlbauer, A.; Nardello-Rataj, V. Eco-Friendly Solvents and Amphiphilic Catalytic Polyoxometalate Nanoparticles: A Winning Combination for Olefin Epoxidation. *Green Chem* **2014**, *16* (1), 269–278. <https://doi.org/10.1039/C3GC42032A>.

- (129) Feng, L.; Wang, J.; Chen, L.; Lu, M.; Zheng, Z.; Jing, R.; Chen, H.; Shen, X. A Green Strategy to Enhance a Liquid-Liquid Heterogeneous Reaction with a Magnetic Recyclable Pickering Emulsion. *ChemCatChem* **2015**, *7* (4), 616–624. <https://doi.org/10.1002/cctc.201402856>.
- (130) Yang, Y.; Zhou, W.-J.; Liebens, A.; Clacens, J.-M.; Pera-Titus, M.; Wu, P. Amphiphilic Titanosilicates as Pickering Interfacial Catalysts for Liquid-Phase Oxidation Reactions. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119* (45), 25377–25384. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b07175>.
- (131) Song, X.; Yin, G.; Zhao, Y.; Wang, H.; Du, Q. Effect of an Anionic Monomer on the Pickering Emulsion Polymerization Stabilized by Titania Hydrosol: Effect of Anionic Monomer on Polymerization. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2009**, *47* (21), 5728–5736. <https://doi.org/10.1002/pola.23617>.
- (132) Chen, Z.; Qin, Z.; Wang, H.; Du, Q. Tailoring Surface Structure of Polymer Nanospheres in Pickering Emulsion Polymerization. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *401*, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.03.045>.
- (133) Zhai, W.; Li, G.; Yu, P.; Yang, L.; Mao, L. Silver Phosphate/Carbon Nanotube-Stabilized Pickering Emulsion for Highly Efficient Photocatalysis. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (29), 15183–15191. <https://doi.org/10.1021/jp404456a>.
- (134) Nawaz, M.; Kim, D.; Miran, W.; Kadam, A.; Heo, J.; Shin, S.; Jang, J.; Lim, S.-R.; Lee, D. S. Effect of Toluene, an Immiscible Pollutant, on the Photocatalytic Degradation of Azo Dye. *J. Ind. Eng. Chem.* **2015**, *30*, 10–13. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.05.010>.
- (135) Fan, Z.; Tay, A.; Pera-Titus, M.; Zhou, W.-J.; Benhabbari, S.; Feng, X.; Malcouronne, G.; Bonneviot, L.; De Campo, F.; Wang, L.; Clacens, J.-M. Pickering Interfacial Catalysts for Solvent-Free Biomass Transformation: Physicochemical Behavior of Non-Aqueous Emulsions. *J. Colloid Interface Sci.* **2014**, *427*, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.11.047>.
- (136) Yang, B.; Leclercq, L.; Clacens, J.-M.; Nardello-Rataj, V. Acidic/Amphiphilic Silica Nanoparticles: New Eco-Friendly Pickering Interfacial Catalysis for Biodiesel Production. *Green Chem.* **2017**, *19* (19), 4552–4562. <https://doi.org/10.1039/C7GC01910F>.
- (137) Jiang, Y.; Liu, X.; Chen, Y.; Zhou, L.; He, Y.; Ma, L.; Gao, J. Pickering Emulsion Stabilized by Lipase-Containing Periodic Mesoporous Organosilica Particles: A Robust Biocatalyst System for Biodiesel Production. *Bioresour. Technol.* **2014**, *153*, 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.001>.
- (138) Chen, Z.; Zhao, C.; Ju, E.; Ji, H.; Ren, J.; Binks, B. P.; Qu, X. Design of Surface-Active Artificial Enzyme Particles to Stabilize Pickering Emulsions for High-Performance Biphasic Biocatalysis. *Adv. Mater.* **2016**, *28* (8), 1682–1688. <https://doi.org/10.1002/adma.201504557>.
- (139) Zapata, P. A.; Faria, J.; Ruiz, M. P.; Jentoft, R. E.; Resasco, D. E. Hydrophobic Zeolites for Biofuel Upgrading Reactions at the Liquid-Liquid Interface in Water/Oil Emulsions. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (20), 8570–8578. <https://doi.org/10.1021/ja3015082>.
- (140) Shen, X.; Huang, C.; Shinde, S.; Jagadeesan, K. K.; Ekström, S.; Fritz, E.; Sellergren, B. Catalytic Formation of Disulfide Bonds in Peptides by Molecularly Imprinted Microgels at Oil/Water Interfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8* (44), 30484–30491. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b10131>.
- (141) Yang, B.; Leclercq, L.; Schmitt, V.; Pera-Titus, M.; Nardello-Rataj, V. Colloidal Tectonics for Tandem Synergistic Pickering Interfacial Catalysis: Oxidative Cleavage of Cyclohexene Oxide into Adipic Acid. *Chem. Sci.* **2019**, *10* (2), 501–507. <https://doi.org/10.1039/C8SC03345E>.
- (142) Yang, B.; Douyère, G.; Leclercq, L.; Nardello-Rataj, V.; Pera-Titus, M. One-Pot Oxidative Cleavage of Cyclic Olefins for the Green Synthesis of Dicarboxylic Acids in Pickering Emulsions in the Presence of Acid Phosphate Additives. *Catal. Sci. Technol.* **2020**. <https://doi.org/10.1039/D0CY01225D>.

- (143) Pera-Titus, M.; Leclercq, L.; Clacens, J.-M.; De Campo, F.; Nardello-Rataj, V. Pickering Interfacial Catalysis for Biphasic Systems: From Emulsion Design to Green Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54* (7), 2006–2021. <https://doi.org/10.1002/anie.201402069>.
- (144) Zhang, W.; Fu, L.; Yang, H. Micrometer-Scale Mixing with Pickering Emulsions: Biphasic Reactions without Stirring. *ChemSusChem* **2014**, *7* (2), 391–396. <https://doi.org/10.1002/cssc.201301001>.
- (145) Oliveira, A. A. S.; Teixeira, I. F.; Ribeiro, L. P.; Lorençon, E.; Ardisson, J. D.; Fernandez-Outon, L.; Macedo, W. A. A.; Moura, F. C. C. Magnetic Amphiphilic Nanocomposites Produced via Chemical Vapor Deposition of CH<sub>4</sub> on Fe–Mo/Nano-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *Appl. Catal. Gen.* **2013**, *456*, 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2013.02.027>.
- (146) Chenglin, Y.; Yiqun, Y.; Ye, Z.; Na, L.; Xiaoya, L.; Jing, L.; Ming, J. Self-Assembly and Emulsification of Poly[[Styrene-*Alt*-Maleic Acid]-*Co*-[Styrene-*Alt*-(*N*-3,4-Dihydroxyphenylethyl-Maleamic Acid)]]. *Langmuir* **2012**, *28* (25), 9211–9222. <https://doi.org/10.1021/la301605a>.
- (147) Liu, H.; Wang, C.; Zou, S.; Wei, Z.; Tong, Z. Simple, Reversible Emulsion System Switched by PH on the Basis of Chitosan without Any Hydrophobic Modification. *Langmuir* **2012**, *28* (30), 11017–11024. <https://doi.org/10.1021/la3021113>.
- (148) Fujii, S.; Okada, M.; Furuzono, T. Hydroxyapatite Nanoparticles as Stimulus-Responsive Particulate Emulsifiers and Building Block for Porous Materials. *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *315* (1), 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.06.071>.
- (149) Yu, D.; Lin, Z.; Li, Y. Octadecenylsuccinic Anhydride Pickering Emulsion Stabilized by  $\gamma$ -Methacryloxy Propyl Trimethoxysilane Grafted Montmorillonite. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, *422*, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.01.032>.
- (150) Yang, H.; Zhou, T.; Zhang, W. A Strategy for Separating and Recycling Solid Catalysts Based on the PH-Triggered Pickering-Emulsion Inversion. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52* (29), 7455–7459. <https://doi.org/10.1002/anie.201300534>.
- (151) Motornov, M.; Sheparovych, R.; Lupitskyy, R.; MacWilliams, E.; Hoy, O.; Luzinov, I.; Minko, S. Stimuli-Responsive Colloidal Systems from Mixed Brush-Coated Nanoparticles. *Adv. Funct. Mater.* **2007**, *17* (14), 2307–2314. <https://doi.org/10.1002/adfm.200600934>.
- (152) Yang, F.; Niu, Q.; Lan, Q.; Sun, D. Effect of Dispersion PH on the Formation and Stability of Pickering Emulsions Stabilized by Layered Double Hydroxides Particles. *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *306* (2), 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.10.062>.
- (153) Li, J.; Stöver, H. D. H. Doubly PH-Responsive Pickering Emulsion. *Langmuir* **2008**, *24* (23), 13237–13240. <https://doi.org/10.1021/la802619m>.
- (154) Amalvy, J. I.; Unali, G.-F.; Li, Y.; Granger-Bevan, S.; Armes, S. P.; Binks, B. P.; Rodrigues, J. A.; Whitby, C. P. Synthesis of Sterically Stabilized Polystyrene Latex Particles Using Cationic Block Copolymers and Macromonomers and Their Application as Stimulus-Responsive Particulate Emulsifiers for Oil-in-Water Emulsions. *Langmuir* **2004**, *20* (11), 4345–4354. <https://doi.org/10.1021/la035921c>.
- (155) Haase, M. F.; Grigoriev, D.; Moehwald, H.; Tiersch, B.; Shchukin, D. G. Nanoparticle Modification by Weak Polyelectrolytes for PH-Sensitive Pickering Emulsions. *Langmuir* **2011**, *27* (1), 74–82. <https://doi.org/10.1021/la1027724>.
- (156) Haase, M. F.; Grigoriev, D. O.; Möhwald, H.; Shchukin, D. G. Development of Nanoparticle Stabilized Polymer Nanocontainers with High Content of the Encapsulated Active Agent and Their Application in Water-Borne Anticorrosive Coatings. *Adv. Mater.* **2012**, *24* (18), 2429–2435. <https://doi.org/10.1002/adma.201104687>.

- (157) Dupin, D.; Armes, S. P.; Connan, C.; Reeve, P.; Baxter, S. M. How Does the Nature of the Steric Stabilizer Affect the Pickering Emulsifier Performance of Lightly Cross-Linked, Acid-Swellable Poly(2-Vinylpyridine) Latexes? *Langmuir* **2007**, *23* (13), 6903–6910. <https://doi.org/10.1021/la063170j>.
- (158) Morse, A. J.; Madsen, J.; Growney, D. J.; Armes, S. P.; Mills, P.; Swart, R. Microgel Colloidosomes Based on PH-Responsive Poly( *Tert* -Butylaminoethyl Methacrylate) Latexes. *Langmuir* **2014**, *30* (42), 12509–12519. <https://doi.org/10.1021/la5033674>.
- (159) Fujii, S.; Cai, Y.; Weaver, J. V. M.; Armes, S. P. Syntheses of Shell Cross-Linked Micelles Using Acidic ABC Triblock Copolymers and Their Application as PH-Responsive Particulate Emulsifiers. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (20), 7304–7305. <https://doi.org/10.1021/ja050049a>.
- (160) Tu, F.; Lee, D. Shape-Changing and Amphiphilicity-Reversing Janus Particles with PH-Responsive Surfactant Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (28), 9999–10006. <https://doi.org/10.1021/ja503189r>.
- (161) Kim, J.; Cote, L. J.; Kim, F.; Yuan, W.; Shull, K. R.; Huang, J. Graphene Oxide Sheets at Interfaces. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (23), 8180–8186. <https://doi.org/10.1021/ja102777p>.
- (162) Dai, S.; Ravi, P.; Tam, K. C. PH-Responsive Polymers: Synthesis, Properties and Applications. *Soft Matter* **2008**, *4* (3), 435. <https://doi.org/10.1039/b714741d>.
- (163) Morse, A. J.; Dupin, D.; Thompson, K. L.; Armes, S. P.; Ouzineb, K.; Mills, P.; Swart, R. Novel Pickering Emulsifiers Based on PH-Responsive Poly( *Tert* -Butylaminoethyl Methacrylate) Latexes. *Langmuir* **2012**, *28* (32), 11733–11744. <https://doi.org/10.1021/la301936k>.
- (164) Mao, Q.; Li, M.; Zhang, S.; Zhang, X.; He, G.; Zhang, W. Chitosan-Hydrophobic Alginate Nanocomposites Stabilized PH-Triggered Pickering Emulsion for Drug Controlled-Release. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *162*, 1888–1896. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.092>.
- (165) Sufi-Maragheh, P.; Nikfarjam, N.; Deng, Y.; Taheri-Qazvini, N. Pickering Emulsion Stabilized by Amphiphilic PH-Sensitive Starch Nanoparticles as Therapeutic Containers. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2019**, *181*, 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.05.046>.
- (166) Binks, B. P.; Murakami, R.; Armes, S. P.; Fujii, S. Temperature-Induced Inversion of Nanoparticle-Stabilized Emulsions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (30), 4795–4798. <https://doi.org/10.1002/anie.200501073>.
- (167) Niskanen, J.; Wu, C.; Ostrowski, M.; Fuller, G. G.; Hietala, S.; Tenhu, H. Thermoresponsiveness of PDMAEMA. Electrostatic and Stereochemical Effects. *Macromolecules* **2013**, *46* (6), 2331–2340. <https://doi.org/10.1021/ma302648w>.
- (168) Saigal, T.; Dong, H.; Matyjaszewski, K.; Tilton, R. D. Pickering Emulsions Stabilized by Nanoparticles with Thermally Responsive Grafted Polymer Brushes. *Langmuir* **2010**, *26* (19), 15200–15209. <https://doi.org/10.1021/la1027898>.
- (169) Tsuji, S.; Kawaguchi, H. Thermosensitive Pickering Emulsion Stabilized by Poly( *N* -Isopropylacrylamide)-Carrying Particles. *Langmuir* **2008**, *24* (7), 3300–3305. <https://doi.org/10.1021/la701780g>.
- (170) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Wolfs, M.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V. Soft Microgels as Pickering Emulsion Stabilisers: Role of Particle Deformability. *Soft Matter* **2011**, *7* (17), 7689. <https://doi.org/10.1039/c1sm05240c>.
- (171) Destribats, M.; Lapeyre, V.; Sellier, E.; Leal-Calderon, F.; Ravaine, V.; Schmitt, V. Origin and Control of Adhesion between Emulsion Drops Stabilized by Thermally Sensitive Soft Colloidal Particles. *Langmuir* **2012**, *28* (8), 3744–3755. <https://doi.org/10.1021/la2043763>.



- (172) Zoppe, J. O.; Venditti, R. A.; Rojas, O. J. Pickering Emulsions Stabilized by Cellulose Nanocrystals Grafted with Thermo-Responsive Polymer Brushes. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *369* (1), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.12.011>.
- (173) Peng, J.; Liu, Q.; Xu, Z.; Masliyah, J. Synthesis of Interfacially Active and Magnetically Responsive Nanoparticles for Multiphase Separation Applications. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22* (8), 1732–1740. <https://doi.org/10.1002/adfm.201102156>.
- (174) Chen, Z.; Zhou, L.; Bing, W.; Zhang, Z.; Li, Z.; Ren, J.; Qu, X. Light Controlled Reversible Inversion of Nanophosphor-Stabilized Pickering Emulsions for Biphasic Enantioselective Biocatalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (20), 7498–7504. <https://doi.org/10.1021/ja503123m>.
- (175) Zhao, C.; Tan, J.; Li, W.; Tong, K.; Xu, J.; Sun, D. Ca<sup>2+</sup> Ion Responsive Pickering Emulsions Stabilized by PSSMA Nanoaggregates. *Langmuir* **2013**, *29* (47), 14421–14428. <https://doi.org/10.1021/la4035535>.
- (176) Ngai, T.; Behrens, S. H.; Auweter, H. Novel Emulsions Stabilized by PH and Temperature Sensitive Microgels. *Chem. Commun.* **2005**, No. 3, 331. <https://doi.org/10.1039/b412330a>.
- (177) Brugger, B.; Richtering, W. Emulsions Stabilized by Stimuli-Sensitive Poly(*N*-Isopropylacrylamide)-*Co*-Methacrylic Acid Polymers: Microgels versus Low Molecular Weight Polymers. *Langmuir* **2008**, *24* (15), 7769–7777. <https://doi.org/10.1021/la800522h>.
- (178) Brugger, B.; Rosen, B. A.; Richtering, W. Microgels as Stimuli-Responsive Stabilizers for Emulsions. *Langmuir* **2008**, *24* (21), 12202–12208. <https://doi.org/10.1021/la8015854>.
- (179) Schmidt, S.; Liu, T.; Rütten, S.; Phan, K.-H.; Möller, M.; Richtering, W. Influence of Microgel Architecture and Oil Polarity on Stabilization of Emulsions by Stimuli-Sensitive Core–Shell Poly(*N*-Isopropylacrylamide-*Co*-Methacrylic Acid) Microgels: Micking versus Pickering Behavior? *Langmuir* **2011**, *27* (16), 9801–9806. <https://doi.org/10.1021/la201823b>.
- (180) Richtering, W. Responsive Emulsions Stabilized by Stimuli-Sensitive Microgels: Emulsions with Special Non-Pickering Properties. *Langmuir* **2012**, *28* (50), 17218–17229. <https://doi.org/10.1021/la302331s>.
- (181) Tang, J.; Lee, M. F. X.; Zhang, W.; Zhao, B.; Berry, R. M.; Tam, K. C. Dual Responsive Pickering Emulsion Stabilized by Poly[2-(Dimethylamino)Ethyl Methacrylate] Grafted Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules* **2014**, *15* (8), 3052–3060. <https://doi.org/10.1021/bm500663w>.
- (182) Low, L. E.; Ooi, C. W.; Chan, E. S.; Ong, B. H.; Tey, B. T. Dual (Magnetic and PH) Stimuli-Reversible Pickering Emulsions Based on Poly(2-(Dimethylamino)Ethyl Methacrylate)-Bonded Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocomposites for Oil Recovery Application. *J. Environ. Chem. Eng.* **2020**, *8* (2), 103715. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103715>.
- (183) Brugger, B.; Richtering, W. Magnetic, Thermosensitive Microgels as Stimuli-Responsive Emulsifiers Allowing for Remote Control of Separability and Stability of Oil in Water-Emulsions. *Adv. Mater.* **2007**, *19* (19), 2973–2978. <https://doi.org/10.1002/adma.200700487>.
- (184) Xie, C.-Y.; Meng, S.-X.; Xue, L.-H.; Bai, R.-X.; Yang, X.; Wang, Y.; Qiu, Z.-P.; Binks, B. P.; Guo, T.; Meng, T. Light and Magnetic Dual-Responsive Pickering Emulsion Micro-Reactors. *Langmuir* **2017**, *33* (49), 14139–14148. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03642>.
- (185) Zhang, Y.; Guo, S.; Ren, X.; Liu, X.; Fang, Y. CO<sub>2</sub> and Redox Dual Responsive Pickering Emulsion. *Langmuir* **2017**, *33* (45), 12973–12981. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b02976>.
- (186) Sharma, V.; Nayak, S. K.; Paul, S. R.; Choudhary, B.; Ray, S. S.; Pal, K. Emulgels. In *Polymeric Gels*; Elsevier, 2018; pp 251–264. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102179-8.00009-0>.

- (187) Ubaid, M.; Ilyas, S.; Mir, S.; Khan, A. K.; Rashid, R.; Khan, M. Z. U.; Kanwal, Z. G.; Nawaz, A.; Shah, A.; Murtaza, G. Formulation and in Vitro Evaluation of Carbopol 934-Based Modified Clotrimazole Gel for Topical Application. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2016**, *88* (4), 2303–2317. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620160162>.
- (188) Lafuente, Y. de; Ochoa-Andrade, A.; Parente, M. E.; Palena, M. C.; Jimenez-Kairuz, A. F. Preparation and Evaluation of Caffeine Bioadhesive Emulgels for Cosmetic Applications Based on Formulation Design Using QbD Tools. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2020**, *42* (6), 548–556. <https://doi.org/10.1111/ics.12638>.
- (189) Chen, X.-W.; Fu, S.-Y.; Hou, J.-J.; Guo, J.; Wang, J.-M.; Yang, X.-Q. Zein Based Oil-in-Glycerol Emulgels Enriched with  $\beta$ -Carotene as Margarine Alternatives. *Food Chem.* **2016**, *211*, 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.133>.
- (190) Cheng, C.; Gao, Y.; Wu, Z.; Miao, J.; Gao, H.; Ma, L.; Zou, L.; Peng, S.; Liu, C.; Liu, W. Gliadin Nanoparticles Pickering Emulgels for  $\beta$ -Carotene Delivery: Effect of Particle Concentration on the Stability and Bioaccessibility. *Molecules* **2020**, *25* (18), 4188. <https://doi.org/10.3390/molecules25184188>.
- (191) Soltani, S.; Madadlou, A. Two-Step Sequential Cross-Linking of Sugar Beet Pectin for Transforming Zein Nanoparticle-Based Pickering Emulsions to Emulgels. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *136*, 738–743. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.100>.
- (192) Santos, J.; Alfaro, M. C.; Trujillo-Cayado, L. A.; Calero, N.; Muñoz, J. Encapsulation of  $\beta$ -Carotene in Emulgels-Based Delivery Systems Formulated with Sweet Fennel Oil. *LWT* **2019**, *100*, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.057>.
- (193) Zhang, Y.; Zhu, G.; Dong, B.; Wang, F.; Tang, J.; Stadler, F. J.; Yang, G.; Hong, S.; Xing, F. Interfacial Jamming Reinforced Pickering Emulgel for Arbitrary Architected Nanocomposite with Connected Nanomaterial Matrix. *Nat. Commun.* **2021**, *12* (1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20299-6>.
- (194) Leclercq, L.; Suisse, I.; Nowogrocki, G.; Agbossou-Niedercorn, F. Halide-Free Highly-Pure Imidazolium Triflate Ionic Liquids: Preparation and Use in Palladium-Catalysed Allylic Alkylation. *Green Chem.* **2007**, *9* (10), 1097. <https://doi.org/10.1039/b703096g>.
- (195) Frechet, J. M. J.; Warnock, J.; Farrall, M. J. Polymeric Reagents. 3. Poly[Vinyl(Pyridinium Chlorochromate)]: A New Recyclable Oxidizing Agent. *J. Org. Chem.* **1978**, *43* (13), 2618–2621. <https://doi.org/10.1021/jo00407a014>.
- (196) Jean M. J. Fréchet, Pauline Darling, M. Jen Farrall. Poly(Vinylpyridinium Dichromate): An Inexpensive Recyclable Polymeric Reagent. *J. Org. Chem* **1981**, *46* (8), 1728.
- (197) Nishide, H.; Tsuchida, E. [No Title Found]. *Makromol. Chem.* **1976**, *177* (8), 2295–2310. <https://doi.org/10.1002/macp.1976.021770807>.
- (198) Nishide, H.; Deguchi, J.; Tsuchida, E. Adsorption of Metal Ions on Crosslinked Poly(4-Vinylpyridine) Resins Prepared with a Metal Ion as Template. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **1977**, *15* (12), 3023–3029. <https://doi.org/10.1002/pol.1977.170151216>.
- (199) Wang Xiaoxiao. Electrospinning and Characterization of Supramolecular Poly(4-Vinyl Pyridine)-Small Molecule Complexes.
- (200) Abed. 2001\_Anticorrosion Method & Mat.\_Abed\_P4VP as Corrosion Inhibitor.Pdf.
- (201) Kawabata, N.; Yoshida, J.; Tanigawa, Y. Removal and Recovery of Organic Pollutants from Aquatic Environment. 4. Separation of Carboxylic Acids from Aqueous Solution Using Crosslinked Poly(4-Vinylpyridine). *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* **1981**, *20* (2), 386–390. <https://doi.org/10.1021/i300002a030>.

- (202) Sakai, Y.; Sadaoka, Y.; Matsuguchi, M. A Humidity Sensor Using Cross-linked Quaternized Polyvinylpyridine. *J. Electrochem. Soc.* **1989**, *136* (1), 171–174. <https://doi.org/10.1149/1.2096579>.
- (203) Wang, Y.; Kozlovskaya, V.; Arcibal, I. G.; Cropek, D. M.; Kharlampieva, E. Highly Swellable Ultrathin Poly(4-Vinylpyridine) Multilayer Hydrogels with PH-Triggered Surface Wettability. *Soft Matter* **2013**, *9* (39), 9420. <https://doi.org/10.1039/c3sm51496j>.
- (204) Sahiner, N.; Atta, A. M.; Yasar, A. O.; Al-Lohedan, H. A.; Ezzat, A. O. Surface Activity of Amphiphilic Cationic PH-Responsive Poly(4-Vinylpyridine) Microgel at Air/Water Interface. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, *482*, 647–655. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.07.035>.
- (205) Tiller, J. C.; Lee, S. B.; Lewis, K.; Klivanov, A. M. Polymer Surfaces Derivatized with Poly(Vinyl-N-Hexylpyridinium) Kill Airborne and Waterborne Bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* **2002**, *79* (4), 465–471. <https://doi.org/10.1002/bit.10299>.
- (206) Ozay, O.; Akcali, A.; Otkun, M. T.; Silan, C.; Aktas, N.; Sahiner, N. P(4-VP) Based Nanoparticles and Composites with Dual Action as Antimicrobial Materials. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2010**, *79* (2), 460–466. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.05.013>.
- (207) Espinola-Portilla, F.; Serrano-Torres, O.; F. Hurtado-López, G.; Sierra, U.; Varenne, A.; d'Orlyé, F.; Trapiella-Alfonso, L.; Gutiérrez-Granados, S.; Ramírez-García, G. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Functionalized with a Binary Alkoxysilane Array and Poly(4-Vinylpyridine) for Magnetic Targeting and PH-Responsive Release of Doxorubicin. *New J. Chem.* **2021**, *45* (7), 3600–3609. <https://doi.org/10.1039/D0NJ05227B>.
- (208) Franck-Lacaze, L.; Sstat, P.; Huguet, P. Determination of the PKa of Poly (4-Vinylpyridine)-Based Weak Anion Exchange Membranes for the Investigation of the Side Proton Leakage. *J. Membr. Sci.* **2009**, *326* (2), 650–658. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.10.054>.
- (209) Koch, P. Equivalent Diameters of Rectangular and Oval Ducts. *Build. Serv. Eng. Res. Technol.* **2008**, *29* (4), 341–347. <https://doi.org/10.1177/0143624408094631>.
- (210) Zang, Y.; Zhu, H.; Xue, H. Design of a Novel “ON-OFF” Switchable Enzymatic Biofuel Cell Based on PH-Sensitive PS-b-P4VP Diblock Copolymer. *Electrochimica Acta* **2018**, *259*, 676–684. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.023>.
- (211) Vorontsov, Y. D.; Panov, V. P. Vibrational Spectra of Protonated Poly-4-Vinylpyridine. *Polym. Sci. USSR* **1976**, *18* (11), 2752–2759. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(76\)90212-4](https://doi.org/10.1016/0032-3950(76)90212-4).
- (212) Vanysek, P. Equivalent Conductivity of Electrolytes In Aqueous Solution. 1.
- (213) Khaligh, N. G.; Abbo, H. S.; Johan, M. R.; Titinchi, S. J. J. Poly(Vinyl Pyridine)s: A Versatile Polymer in Catalysis. *Curr. Org. Chem.* **2019**, *23* (4), 439–479. <https://doi.org/10.2174/1385272823666190320145410>.
- (214) Binks, B. P.; Murakami, R.; Armes, S. P.; Fujii, S. Effects of PH and Salt Concentration on Oil-in-Water Emulsions Stabilized Solely by Nanocomposite Microgel Particles. *Langmuir* **2006**, *22* (5), 2050–2057. <https://doi.org/10.1021/la053017+>.
- (215) Fujii, S.; Read, E. S.; Binks, B. P.; Armes, S. P. Stimulus-Responsive Emulsifiers Based on Nanocomposite Microgel Particles. *Adv. Mater.* **2005**, *17* (8), 1014–1018. <https://doi.org/10.1002/adma.200401641>.
- (216) Atta, A. M.; Ezzat, A. O.; Al-Lohedan, H. A.; Tawfeek, A. M.; Alobaidi, A. A. Preparation of PH Responsive Polystyrene and Polyvinyl Pyridine Nanospheres Stabilized by Mickering Microgel Emulsions. *Nanomaterials* **2019**, *9* (12), 1693. <https://doi.org/10.3390/nano9121693>.
- (217) Kim, K. S.; Vincent, B. PH and Temperature-Sensitive Behaviors of Poly(4-Vinyl Pyridine-Co-N-Isopropyl Acrylamide) Microgels. *Polym. J.* **2005**, *37* (8), 565–570. <https://doi.org/10.1295/polymj.37.565>.

- (218) Tatry, M.-C.; Galanopoulou, P.; Waldmann, L.; Lapeyre, V.; Garrigue, P.; Schmitt, V.; Ravaine, V. Pickering Emulsions Stabilized by Thermoresponsive Oligo(Ethylene Glycol)-Based Microgels: Effect of Temperature-Sensitivity on Emulsion Stability. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, *589*, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.082>.
- (219) Li, Z.; Ngai, T. Microgel Particles at the Fluid–Fluid Interfaces. *Nanoscale* **2013**, *5* (4), 1399–1410. <https://doi.org/10.1039/C2NR33503D>.
- (220) Yemul, O.; Imae, T. Synthesis and Characterization of Poly(Ethyleneimine) Dendrimers. *Colloid Polym. Sci.* **2008**, *286* (6–7), 747–752. <https://doi.org/10.1007/s00396-007-1830-6>.
- (221) Zhuk, D. S.; Gembitskii, P. A.; Kargin, V. A. ADVANCES IN THE CHEMISTRY OF POLYETHYLENEIMINE (POLYAZIRIDINE). *Russ. Chem. Rev.* **1965**, *34* (7), 515–527. <https://doi.org/10.1070/RC1965v034n07ABEH001499>.
- (222) Tanaka, R.; Ueoka, I.; Takaki, Y.; Kataoka, K.; Saito, S. High Molecular Weight Linear Polyethylenimine and Poly(N-Methylethylenimine). *Macromolecules* **1983**, *16* (6), 849–853. <https://doi.org/10.1021/ma00240a003>.
- (223) Weyts, K.; Goethals, E. New Synthesis of Linear Polyethyleneimine. *Polym. Bull.* **1988**, *19* (1). <https://doi.org/10.1007/BF00255018>.
- (224) Brissault, B.; Kichler, A.; Guis, C.; Leborgne, C.; Danos, O.; Cheradame, H. Synthesis of Linear Polyethylenimine Derivatives for DNA Transfection. *Bioconjug. Chem.* **2003**, *14* (3), 581–587. <https://doi.org/10.1021/bc0200529>.
- (225) Brunot, C.; Ponsonnet, L.; Lagneau, C.; Farge, P.; Picart, C.; Grosogeat, B. Cytotoxicity of Polyethyleneimine (PEI), Precursor Base Layer of Polyelectrolyte Multilayer Films. *Biomaterials* **2007**, *28* (4), 632–640. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.09.026>.
- (226) Vancha, A. R.; Govindaraju, S.; Parsa, K. V.; Jasti, M.; González-García, M.; Ballester, R. P. [No Title Found]. *BMC Biotechnol.* **2004**, *4* (1), 23. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-4-23>.
- (227) Hunter, A. Molecular Hurdles in Polyfectin Design and Mechanistic Background to Polycation Induced Cytotoxicity☆. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58* (14), 1523–1531. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.09.008>.
- (228) Moghimi, S. M.; Symonds, P.; Murray, J. C.; Hunter, A. C.; Debska, G.; Szewczyk, A. A Two-Stage Poly(Ethylenimine)-Mediated Cytotoxicity: Implications for Gene Transfer/Therapy. *Mol. Ther.* **2005**, *11* (6), 990–995. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.02.010>.
- (229) Steuerle, U.; Feuerhake, R. Aziridines. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2006; p a03\_239.pub2. [https://doi.org/10.1002/14356007.a03\\_239.pub2](https://doi.org/10.1002/14356007.a03_239.pub2).
- (230) Wågberg, L. Polyelectrolyte Adsorption onto Cellulose Fibres – A Review. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* **2000**, *15* (5), 586–597. <https://doi.org/10.3183/npprj-2000-15-05-p586-597>.
- (231) Madkour, T. M. *Polymer Data Handbook*, Oxford University Press, Inc.; 1999.
- (232) Zhou, Y.; Fuentes-Hernandez, C.; Shim, J.; Meyer, J.; Giordano, A. J.; Li, H.; Winget, P.; Papadopoulos, T.; Cheun, H.; Kim, J.; Fenoll, M.; Dindar, A.; Haske, W.; Najafabadi, E.; Khan, T. M.; Sojoudi, H.; Barlow, S.; Graham, S.; Bredas, J.-L.; Marder, S. R.; Kahn, A.; Kippelen, B. A Universal Method to Produce Low-Work Function Electrodes for Organic Electronics. *Science* **2012**, *336* (6079), 327–332. <https://doi.org/10.1126/science.1218829>.

- (233) Satyapal, S.; Filburn, T.; Trela, J.; Strange, J. Performance and Properties of a Solid Amine Sorbent for Carbon Dioxide Removal in Space Life Support Applications. *Energy Fuels* **2001**, *15* (2), 250–255. <https://doi.org/10.1021/ef0002391>.
- (234) Jiang, B.; Wu, Q.; Zhang, L.; Zhang, Y. Preparation and Application of Silver Nanoparticle-Functionalized Magnetic Graphene Oxide Nanocomposites. *Nanoscale* **2017**, *9* (4), 1607–1615. <https://doi.org/10.1039/C6NR09260H>.
- (235) Cai, H.; An, X.; Cui, J.; Li, J.; Wen, S.; Li, K.; Shen, M.; Zheng, L.; Zhang, G.; Shi, X. Facile Hydrothermal Synthesis and Surface Functionalization of Polyethyleneimine-Coated Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (5), 1722–1731. <https://doi.org/10.1021/am302883m>.
- (236) Li, J.; Zheng, L.; Cai, H.; Sun, W.; Shen, M.; Zhang, G.; Shi, X. Polyethyleneimine-Mediated Synthesis of Folic Acid-Targeted Iron Oxide Nanoparticles for in Vivo Tumor MR Imaging. *Biomaterials* **2013**, *34* (33), 8382–8392. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.070>.
- (237) Hu, Y.; Wang, R.; Wang, S.; Ding, L.; Li, J.; Luo, Y.; Wang, X.; Shen, M.; Shi, X. Multifunctional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> @ Au Core/Shell Nanostars: A Unique Platform for Multimode Imaging and Photothermal Therapy of Tumors. *Sci. Rep.* **2016**, *6* (1), 28325. <https://doi.org/10.1038/srep28325>.
- (238) Sun, Y.; Ren, K.; Wang, J.; Chang, G.; Ji, J. Electrochemically Controlled Stiffness of Multilayers for Manipulation of Cell Adhesion. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5* (11), 4597–4602. <https://doi.org/10.1021/am401088w>.
- (239) Kabanov, A. V.; Batrakova, E. V.; Alakhov, V. Y. Pluronic® Block Copolymers as Novel Polymer Therapeutics for Drug and Gene Delivery. *J. Controlled Release* **2002**, *82* (2–3), 189–212. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00009-3).
- (240) Zhu, L.; Song, Y.; Cheng, P.-N.; Moore, J. S. Molecular Design for Dual Modulation Effect of Amyloid Protein Aggregation. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (25), 8062–8068. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b01651>.
- (241) Beyth, N.; Yudovin-Farber, I.; Perez-Davidi, M.; Domb, A. J.; Weiss, E. I. Polyethyleneimine Nanoparticles Incorporated into Resin Composite Cause Cell Death and Trigger Biofilm Stress in Vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107* (51), 22038–22043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010341107>.
- (242) Mascia, L.; Zhang, W.; Gatto, F.; Scarpellini, A.; Pompa, P. P.; Mele, E. *In Situ* Generation of ZnO Nanoparticles within a Polyethyleneimine Matrix for Antibacterial Zein Fibers. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *1* (7), 1707–1716. <https://doi.org/10.1021/acsapm.9b00276>.
- (243) Blaiszik, B. J.; Kramer, S. L. B.; Olugebefola, S. C.; Moore, J. S.; Sottos, N. R.; White, S. R. Self-Healing Polymers and Composites. *Annu. Rev. Mater. Res.* **2010**, *40* (1), 179–211. <https://doi.org/10.1146/annurev-matsci-070909-104532>.
- (244) Chen, X.-C.; Ren, K.-F.; Zhang, J.-H.; Li, D.-D.; Zhao, E.; Zhao, Z. J.; Xu, Z.-K.; Ji, J. Humidity-Triggered Self-Healing of Microporous Polyelectrolyte Multilayer Coatings for Hydrophobic Drug Delivery. *Adv. Funct. Mater.* **2015**, *25* (48), 7470–7477. <https://doi.org/10.1002/adfm.201503258>.
- (245) Boussif, O.; Lezoualc'h, F.; Zanta, M. A.; Mergny, M. D.; Scherman, D.; Demeneix, B.; Behr, J. P. A Versatile Vector for Gene and Oligonucleotide Transfer into Cells in Culture and in Vivo: Polyethylenimine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92* (16), 7297–7301. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.16.7297>.
- (246) Yang, X.; Peng, Y.; Yu, B.; Yu, J.; Zhou, C.; Mao, Y.; Lee, L. J.; Lee, R. J. A Covalently Stabilized Lipid–Polycation–DNA (SLPD) Vector for Antisense Oligonucleotide Delivery. *Mol. Pharm.* **2011**, *8* (3), 709–715. <https://doi.org/10.1021/mp100272k>.
- (247) Werth, S.; Urban-Klein, B.; Dai, L.; Höbel, S.; Grzelinski, M.; Bakowsky, U.; Czubayko, F.; Aigner, A. A Low Molecular Weight Fraction of Polyethylenimine (PEI) Displays Increased Transfection Efficiency of DNA and

- SiRNA in Fresh or Lyophilized Complexes. *J. Controlled Release* **2006**, *112* (2), 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.02.009>.
- (248) Akinc, A.; Thomas, M.; Klibanov, A. M.; Langer, R. Exploring Polyethylenimine-Mediated DNA Transfection and the Proton Sponge Hypothesis. *J. Gene Med.* **2005**, *7* (5), 657–663. <https://doi.org/10.1002/jgm.696>.
- (249) Schroeder, A.; Dahlman, J. E.; Sahay, G.; Love, K. T.; Jiang, S.; Eltoukhy, A. A.; Levins, C. G.; Wang, Y.; Anderson, D. G. Alkane-Modified Short Polyethylenimine for SiRNA Delivery. *J. Controlled Release* **2012**, *160* (2), 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.11.030>.
- (250) Curtis, K. A.; Miller, D.; Millard, P.; Basu, S.; Horkay, F.; Chandran, P. L. Unusual Salt and PH Induced Changes in Polyethylenimine Solutions. *PLOS ONE* **2016**, *11* (9), e0158147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158147>.
- (251) Gallops, C. E.; Yu, C.; Ziebarth, J. D.; Wang, Y. Effect of the Protonation Level and Ionic Strength on the Structure of Linear Polyethylenimine. *ACS Omega* **2019**, *4* (4), 7255–7264. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00066>.
- (252) Chatani, Y.; Tadokoro, H.; Saegusa, T.; Ikeda, H. Structural Studies of Poly(Ethylenimine). 1. Structures of Two Hydrates of Poly(Ethylenimine): Sesquihydrate and Dihydrate. 7.
- (253) Kong, H. J.; Mooney, D. J. The Effects of Poly(Ethyleneimine) (PEI) Molecular Weight on Reinforcement of Alginate Hydrogels. *Cell Transplant.* **2003**, *12* (7), 779–785. <https://doi.org/10.3727/000000003108747253>.
- (254) Liu, H.; Gu, X.; Hu, M.; Hu, Y.; Wang, C. Facile Fabrication of Nanocomposite Microcapsules by Combining Layer-by-Layer Self-Assembly and Pickering Emulsion Templating. *RSC Adv* **2014**, *4* (32), 16751–16758. <https://doi.org/10.1039/C4RA00089G>.
- (255) Paul, S. D. Chapter 12 - Novel Gels: Implications for Drug Delivery; p 34.
- (256) Leclercq, L.; Tessier, J.; Douyère, G.; Nardello-Rataj, V.; Schmitzer, A. R. Phytochemical- and Cyclodextrin-Based Pickering Emulsions: Natural Potentiators of Antibacterial, Antifungal, and Antibiofilm Activity. *Langmuir* **2020**, *36* (16), 4317–4323. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>.
- (257) Li, Z.; Zheng, S.; Zhao, C.; Liu, M.; Zhang, Z.; Xu, W.; Luo, D.; Shah, B. R. Stability, Microstructural and Rheological Properties of Pickering Emulsion Stabilized by Xanthan Gum/Lysozyme Nanoparticles Coupled with Xanthan Gum. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *165*, 2387–2394. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.100>.
- (258) Microgel particles at the fluid–fluid interfaces - Nanoscale (RSC Publishing) DOI:10.1039/C2NR33503D.
- (259) James, T. D. Specialty Grand Challenges in Supramolecular Chemistry. *Front. Chem.* **2017**, *5*, 83. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00083>.
- (260) Leclercq, L. Get Beyond Limits: From Colloidal Tectonics Concept to the Engineering of Eco-Friendly Catalytic Systems. *Front. Chem.* **2018**, *6*, 168. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00168>.
- (261) Yang, Y.; Fang, Z.; Chen, X.; Zhang, W.; Xie, Y.; Chen, Y.; Liu, Z.; Yuan, W. An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*, 287. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>.
- (262) Villiers, A. Sur La Fermentation de La Fécule Par l'action Du Ferment Butyrique. *Compt Rend Acad Sci* **1891**, *112*, 536–538.
- (263) Leclercq, L. 17 - Smart Medical Textiles Based on Cyclodextrins for Curative or Preventive Patient Care. In *Active Coatings for Smart Textiles*; Hu, J., Ed.; Woodhead Publishing Series in Textiles; Woodhead Publishing, 2016; pp 391–427. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100263-6.00017-4>.

- (264) Biber, A.; Antranikian, G.; Heinzle, E. Enzymatic Production of Cyclodextrins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *59* (6), 609–617. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1057-x>.
- (265) Li, Z.; Wang, M.; Wang, F.; Gu, Z.; Du, G.; Wu, J.; Chen, J.  $\gamma$ -Cyclodextrin: A Review on Enzymatic Production and Applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *77* (2), 245–255. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1166-7>.
- (266) Wang, L.; Duan, X.; Wu, J. Enhancing the  $\alpha$ -Cyclodextrin Specificity of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Paenibacillus Macerans* by Mutagenesis Masking Subsite –7. *Appl. Environ. Microbiol.* **2016**, *82* (8), 2247–2255. <https://doi.org/10.1128/AEM.03535-15>.
- (267) Szejtli, J. Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1743–1754. <https://doi.org/10.1021/cr970022c>.
- (268) Szejtli, J. Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76* (10), 1825–1845. <https://doi.org/10.1351/pac200476101825>.
- (269) Szejtli, J. *Comprehensive Supramolecular Chemistry. Volume 3, Cyclodextrins*.
- (270) Sabadini, E.; Cosgrove, T.; Egídio, F. do C. Solubility of Cyclomaltooligosaccharides (Cyclodextrins) in H<sub>2</sub>O and D<sub>2</sub>O: A Comparative Study. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341* (2), 270–274. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.11.004>.
- (271) Khan, A. R.; Forgo, P.; Stine, K. J.; D'Souza, V. T. Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1977–1996. <https://doi.org/10.1021/cr970012b>.
- (272) Řezanka, M. Synthesis of Cyclodextrin Derivatives. In *Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis*; Fourmentin, S., Crini, G., Lichtfouse, E., Eds.; Environmental Chemistry for a Sustainable World; Springer International Publishing: Cham, 2018; pp 57–103. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76159-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76159-6_2).
- (273) Crini, G.; Fourmentin, S.; Fenyvesi, É.; Torri, G.; Fourmentin, M.; Morin-Crini, N. Fundamentals and Applications of Cyclodextrins. In *Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis*; Fourmentin, S., Crini, G., Lichtfouse, E., Eds.; Environmental Chemistry for a Sustainable World; Springer International Publishing: Cham, 2018; pp 1–55. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76159-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76159-6_1).
- (274) Review: A History of Cyclodextrins | Chemical Reviews <https://pubs-acsc-org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/doi/full/10.1021/cr500081p> (accessed 2021-08-23).
- (275) Connors, K. A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (5), 1325–1358. <https://doi.org/10.1021/cr960371r>.
- (276) Hirsch, W.; Fried, V.; Altman, L. Effect of Cyclodextrins on Sparingly Soluble Salts. *J. Pharm. Sci.* **1985**, *74* (10), 1123–1125. <https://doi.org/10.1002/jps.2600741026>.
- (277) Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (5), 1875–1918. <https://doi.org/10.1021/cr970015o>.
- (278) Chow, D. D.; Karara, A. H. Characterization, Dissolution and Bioavailability in Rats of Ibuprofen- $\beta$ -Cyclodextrin Complex System. *Int. J. Pharm.* **1986**, *28* (2), 95–101. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(86\)90232-2](https://doi.org/10.1016/0378-5173(86)90232-2).
- (279) Messner, M.; Kurkov, S. V.; Jansook, P.; Loftsson, T. Self-Assembled Cyclodextrin Aggregates and Nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **2010**, *387* (1), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.11.035>.
- (280) *Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis*, 1st ed. 2018.; Crini, G., Fourmentin, S., Lichtfouse, E., Eds.; Environmental Chemistry for a Sustainable World; Springer International Publishing : Imprint: Springer: Cham, 2018.

- (281) Fenyvesi, E.; Gruiz, K.; Verstichel, S.; De Wilde, B.; Leitgib, L.; Csabai, K.; Szaniszló, N. Biodegradation of Cyclodextrins in Soil. *Chemosphere* **2005**, *60* (8), 1001–1008. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.026>.
- (282) Crini, G.; Fourmentin, S.; Fenyvesi, É.; Torri, G.; Fourmentin, M.; Morin-Crini, N. Cyclodextrins, from Molecules to Applications. *Environ. Chem. Lett.* **2018**, *16* (4), 1361–1375. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0763-2>.
- (283) Del Valle, E. M. M. Cyclodextrins and Their Uses: A Review. *Process Biochem.* **2004**, *39* (9), 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9).
- (284) *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*, 1st ed.; Dodziuk, H., Ed.; Wiley, 2006. <https://doi.org/10.1002/3527608982>.
- (285) Duchêne, D. *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*; Editions de Santé, 1991.
- (286) Duchene, D.; Wouessidjewe, D. Industrial Uses of Cyclodextrins and Their Derivatives. *J. Coord. Chem.* **1992**, *27* (1–3), 223–236. <https://doi.org/10.1080/00958979209407955>.
- (287) Nardello-Rataj, V.; Leclercq, L. Encapsulation of Biocides by Cyclodextrins: Toward Synergistic Effects against Pathogens. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 2603–2622. <https://doi.org/10.3762/bjoc.10.273>.
- (288) Stella, V. J.; He, Q. Cyclodextrins. *Toxicol. Pathol.* **2008**, *36* (1), 30–42. <https://doi.org/10.1177/0192623307310945>.
- (289) Gidwani, B.; Vyas, A. A Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs. *BioMed Res. Int.* **2015**, *2015*, e198268. <https://doi.org/10.1155/2015/198268>.
- (290) Loftsson, T.; Brewster, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Basic Science and Product Development. *J. Pharm. Pharmacol.* **2010**, *62* (11), 1607–1621. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01030.x>.
- (291) Loftsson, T.; Friðriksdóttir, H. The Effect of Water-Soluble Polymers on the Aqueous Solubility and Complexing Abilities of  $\beta$ -Cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* **1998**, *163* (1), 115–121. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00371-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00371-2).
- (292) Irie, T.; Uekama, K. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. III. Toxicological Issues and Safety Evaluation. *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86* (2), 147–162. <https://doi.org/10.1021/js960213f>.
- (293) Arima, H.; Miyaji, T.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K. Enhancing Effect of Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin on Cutaneous Penetration and Activation of Ethyl 4-Biphenyl Acetate in Hairless Mouse Skin. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1998**, *6* (1), 53–59. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(97\)00068-7](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(97)00068-7).
- (294) Loftsson, T.; Duchêne, D. Cyclodextrins and Their Pharmaceutical Applications. *Int. J. Pharm.* **2007**, *329* (1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.044>.
- (295) Thompson, D. O. Cyclodextrins; Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* **1997**, *14* (1). <https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v14.i1.10>.
- (296) Memişoğlu, E.; Bochot, A.; Özalp, M.; Şen, M.; Duchêne, D.; Hincal, A. A. Direct Formation of Nanospheres from Amphiphilic  $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes. *Pharm. Res.* **2003**, *20* (1), 117–125. <https://doi.org/10.1023/A:1022263111961>.
- (297) Yin, J.-J.; Zhou, Z.-W.; Zhou, S.-F. Cyclodextrin-Based Targeting Strategies for Tumor Treatment. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2013**, *3* (4), 364–374. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0140-4>.



- (298) Challa, R.; Ahuja, A.; Ali, J.; Khar, R. K. Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review. *AAPS PharmSciTech* **2005**, *6* (2), E329–E357. <https://doi.org/10.1208/pt060243>.
- (299) Szejtli, J.; Szente, L. Elimination of Bitter, Disgusting Tastes of Drugs and Foods by Cyclodextrins. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, *61* (3), 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.05.006>.
- (300) Kanaka Durga Devi. Cyclodextrins in Pharmacy - an Overview. *J. Glob. Pharma Technol.* **2010**, No. 2 (11), 1–10.
- (301) Loftsson, T.; Brewster, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Effects on Drug Permeation through Biological Membranes. *J. Pharm. Pharmacol.* **2011**, *63* (9), 1119–1135. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01279.x>.
- (302) Applications of Cyclodextrins in Cosmetic Products: A Review. *J. Cosmet. Sci.* **7**.
- (303) Hougeir, F. G.; Kircik, L. A Review of Delivery Systems in Cosmetics. *Dermatol. Ther.* **2012**, *25* (3), 234–237. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8019.2012.01501.x>.
- (304) Marques, H. M. C. A Review on Cyclodextrin Encapsulation of Essential Oils and Volatiles. *Flavour Fragr. J.* **2010**, *25* (5), 313–326. <https://doi.org/10.1002/ffj.2019>.
- (305) Kfoury, M.; Hădărugă, N. G.; Hădărugă, D. I.; Fourmentin, S. 4 - Cyclodextrins as Encapsulation Material for Flavors and Aroma. In *Encapsulations*; Grumezescu, A. M., Ed.; Nanotechnology in the Agri-Food Industry; Academic Press, 2016; pp 127–192. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804307-3.00004-1>.
- (306) Morais, D. S.; Guedes, R. M.; Lopes, M. A. Antimicrobial Approaches for Textiles: From Research to Market. *Materials* **2016**, *9* (6), 498. <https://doi.org/10.3390/ma9060498>.
- (307) Shahid-ul-Islam; Shahid, M.; Mohammad, F. Green Chemistry Approaches to Develop Antimicrobial Textiles Based on Sustainable Biopolymers—A Review. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52* (15), 5245–5260. <https://doi.org/10.1021/ie303627x>.
- (308) Alzate-Sánchez, D. M.; Smith, B. J.; Alsaiee, A.; Hinestroza, J. P.; Dichtel, W. R. Cotton Fabric Functionalized with a  $\beta$ -Cyclodextrin Polymer Captures Organic Pollutants from Contaminated Air and Water. *Chem. Mater.* **2016**, *28* (22), 8340–8346. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b03624>.
- (309) Andreaus, J.; Dalmolin, M. C.; Oliveira Junior, I. B. de; Barcellos, I. O. Aplicação de ciclodextrinas em processos têxteis. *Quím. Nova* **2010**, *33* (4), 929–937. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000400031>.
- (310) Churchill, D.; Cheung, J. C. F.; Park, Y. S.; Smith, V. H.; vanLoon, G.; Buncel, E. Complexation of Diazinon, an Organophosphorus Pesticide, with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -Cyclodextrin —NMR and Computational Studies. *Can. J. Chem.* **2006**, *84* (4), 702–708. <https://doi.org/10.1139/v06-053>.
- (311) Sui, H.; Gao, F.; Cao, X.; Li, X. REMEDIATION OF PAHS AND HEAVY METALS IN CO-CONTAMINATED SITES WITH CYCLODEXTRIN. *Fresenius Environ. Bull.* **2013**, *22* (5), 6.
- (312) Sun, M.-M.; Teng, Y.; Luo, Y.-M.; Li, Z.-G.; Jia, Z.-J.; Zhang, M.-Y. [Ex-situ remediation of PAHs contaminated site by successive methyl-beta-cyclodextrin enhanced soil washing]. *Huan Jing Ke Xue Huanjing Kexue* **2013**, *34* (6), 2428–2435.
- (313) Dou, J.; Li, S.; Cheng, L.; Ding, A.; Liu, X.; Yun, Y. The Enhancement of Naphthalene Degradation in Soil by Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin. *Procedia Environ. Sci.* **2011**, *10*, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.09.006>.
- (314) Hapiot, F.; Tilloy, S.; Monflier, E. Cyclodextrins as Supramolecular Hosts for Organometallic Complexes. *Chem. Rev.* **2006**, *106* (3), 767–781. <https://doi.org/10.1021/cr050576c>.

- (315) Hapiot, F.; Ponchel, A.; Tilloy, S.; Monflier, E. Cyclodextrins and Their Applications in Aqueous-Phase Metal-Catalyzed Reactions. *Comptes Rendus Chim.* **2011**, *14* (2), 149–166. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2010.04.003>.
- (316) Hapiot, F.; Bricout, H.; Manuel, S.; Tilloy, S.; Monflier, E. Recent Breakthroughs in Aqueous Cyclodextrin-Assisted Supramolecular Catalysis. *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4* (7), 1899–1908. <https://doi.org/10.1039/C4CY00005F>.
- (317) Fanali, S. Enantioselective Determination by Capillary Electrophoresis with Cyclodextrins as Chiral Selectors. *J. Chromatogr. A* **2000**, *875* (1), 89–122. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01309-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01309-6).
- (318) Nie, M.-Y.; Zhou, L.-M.; Wang, Q.-H.; Zhu, D.-Q. Enantiomer Separation of Mandelates and Their Analogs on Cyclodextrin Derivative Chiral Stationary Phases by Capillary GC. *Anal. Sci.* **2001**, *17* (10), 1183–1187. <https://doi.org/10.2116/analsci.17.1183>.
- (319) Uekama, K.; Hirayama, F.; Ikeda, K.; Inaba, K. Utilization of Cyclodextrin Complexation for Separation of E, A, and B Prostaglandins by Ion-Exchange Liquid Chromatography. *J. Pharm. Sci.* **1977**, *66* (5), 706–710. <https://doi.org/10.1002/jps.2600660525>.
- (320) Hayden, B. M.; Engel, P. C. Construction, Separation and Properties of Hybrid Hexamers of Glutamate Dehydrogenase in Which Five of the Six Subunits Are Contributed by the Catalytically Inert D165S. *Eur. J. Biochem.* **2001**, *268* (5), 1173–1180. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.01949.x>.
- (321) K. Shimada; Y. Ohe; T. Ohguni. Emulsifying Properties of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -Cyclodextrins. *日本食品工業学会誌* **1991**, *38* (1), 16–20. <https://doi.org/10.3136/nskkk1962.38.16>.
- (322) Pacaud, B.; Leclercq, L.; Dechézelles, J.-F.; Nardello-Rataj, V. Hybrid Core–Shell Nanoparticles by “Plug and Play” Self-Assembly. *Chem. – Eur. J.* **2018**, *24* (67), 17672–17676. <https://doi.org/10.1002/chem.201804155>.
- (323) Leclercq, L.; Nardello-Rataj, V. Pickering Emulsions Based on Cyclodextrins: A Smart Solution for Antifungal Azole Derivatives Topical Delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016**, *82*, 126–137. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.11.017>.
- (324) Taubes, G. The Bacteria Fight Back. *Science* **2008**, *321* (5887), 356–361. <https://doi.org/10.1126/science.321.5887.356>.
- (325) Wright, G. D. Antibiotics: A New Hope. *Chem. Biol.* **2012**, *19* (1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.10.019>.
- (326) Weidner, T.; Tittelbach, J.; Illing, T.; Elsner, P. Gram-Negative Bacterial Toe Web Infection – a Systematic Review. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2018**, *32* (1), 39–47. <https://doi.org/10.1111/jdv.14644>.
- (327) Noverr, M. C.; Noggle, R. M.; Toews, G. B.; Huffnagle, G. B. Role of Antibiotics and Fungal Microbiota in Driving Pulmonary Allergic Responses. *Infect. Immun.* **2004**, *72* (9), 4996–5003. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.4996-5003.2004>.
- (328) Pulimood, S.; Ganesan, L.; Alangaden, G.; Chandrasekar, P. Polymicrobial Candidemia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2002**, *44* (4), 353–357. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00460-1](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00460-1).
- (329) POLLACK, A. Rising Threat of Infections Unfazed by Antibiotics [New York Times Web Site]. February 26. <http://www.nytimes.com/2010/02/27/business/27germ.html> **2010**.
- (330) Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74* (3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>.

- (331) Donlan, R. M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerg. Infect. Dis.* **2002**, *8* (9), 881–890. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>.
- (332) J. Worthington, R.; J. Richards, J.; Melander, C. Small Molecule Control of Bacterial Biofilms. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10* (37), 7457–7474. <https://doi.org/10.1039/C2OB25835H>.
- (333) Böttcher, T.; Kolodkin-Gal, I.; Kolter, R.; Losick, R.; Clardy, J. Synthesis and Activity of Biomimetic Biofilm Disruptors. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (8), 2927–2930. <https://doi.org/10.1021/ja3120955>.
- (334) Jiao, Y.; Tay, F. R.; Niu, L.; Chen, J. Advancing Antimicrobial Strategies for Managing Oral Biofilm Infections. *Int. J. Oral Sci.* **2019**, *11* (3), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0062-1>.
- (335) Lu, J.; Cokcetin, N. N.; Burke, C. M.; Turnbull, L.; Liu, M.; Carter, D. A.; Whitchurch, C. B.; Harry, E. J. Honey Can Inhibit and Eliminate Biofilms Produced by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Sci. Rep.* **2019**, *9* (1), 18160. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54576-2>.
- (336) Godefroi, E. F.; Heeres, J.; Van Cutsem, J.; Janssen, P. A. J. Preparation and Antimycotic Properties of Derivatives of 1-Phenethylimidazole. *J. Med. Chem.* **1969**, *12* (5), 784–791. <https://doi.org/10.1021/jm00305a014>.
- (337) Allen, D.; Wilson, D.; Drew, R.; Perfect, J. Azole Antifungals: 35 Years of Invasive Fungal Infection Management. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2015**, *13* (6), 787–798. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1032939>.
- (338) Becher, R.; Wirsal, S. G. R. Fungal Cytochrome P450 Sterol 14 $\alpha$ -Demethylase (CYP51) and Azole Resistance in Plant and Human Pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *95* (4), 825–840. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4195-9>.
- (339) Kobayashi, D.; Kondo, K.; Uehara, N.; Otokozaawa, S.; Tsuji, N.; Yagihashi, A.; Watanabe, N. Endogenous Reactive Oxygen Species Is an Important Mediator of Miconazole Antifungal Effect. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46* (10), 3113–3117. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.10.3113-3117.2002>.
- (340) El Hammi, E.; Warkentin, E.; Demmer, U.; Limam, F.; Marzouki, N. M.; Ermler, U.; Baciou, L. Structure of *Ralstonia Eutropha* Flavohemoglobin in Complex with Three Antibiotic Azole Compounds. *Biochemistry* **2011**, *50* (7), 1255–1264. <https://doi.org/10.1021/bi101650q>.
- (341) Tessier, J.; Golmohamadi, M.; J. Wilkinson, K.; R. Schmitzer, A. Anti-Staphylococcal Biofilm Activity of Miconazoylium Bromide. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16* (23), 4288–4294. <https://doi.org/10.1039/C8OB00897C>.
- (342) Xu, J.; Zhou, F.; Ji, B.-P.; Pei, R.-S.; Xu, N. The Antibacterial Mechanism of Carvacrol and Thymol against *Escherichia Coli*. *Lett. Appl. Microbiol.* **2008**, *47* (3), 174–179. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02407.x>.
- (343) Zhang, Y.; Feng, R.; Li, L.; Zhou, X.; Li, Z.; Jia, R.; Song, X.; Zou, Y.; Yin, L.; He, C.; Liang, X.; Zhou, W.; Wei, Q.; Du, Y.; Yan, K.; Wu, Z.; Yin, Z. The Antibacterial Mechanism of Terpinen-4-Ol Against *Streptococcus Agalactiae*. *Curr. Microbiol.* **2018**, *75* (9), 1214–1220. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1512-2>.
- (344) Memar, M. Y.; Raei, P.; Alizadeh, N.; Akbari Aghdam, M.; Kafil, H. S. Carvacrol and Thymol: Strong Antimicrobial Agents against Resistant Isolates. *Rev. Med. Microbiol.* **2017**, *28* (2), 63–68. <https://doi.org/10.1097/MRM.000000000000100>.
- (345) Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil: A Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin. Microbiol. Rev.* **2006**, *19* (1), 50–62. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>.

- (346) Acar, J. F. ANTIBIOTIC SYNERGY AND ANTAGONISM. *Med. Clin. North Am.* **2000**, *84* (6), 1391–1406. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(05\)70294-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(05)70294-7).
- (347) Leekha, S.; Terrell, C. L.; Edson, R. S. General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clin. Proc.* **2011**, *86* (2), 156–167. <https://doi.org/10.4065/mcp.2010.0639>.
- (348) Bratu, I.; Veiga, F.; Fernandes, C.; Hernanz, A.; Gavira, J. M. Infrared Spectroscopic Study of Triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin and Its Inclusion Complex with Nicardipine. *Spectroscopy* **2004**, *18* (3), 459–467.
- (349) Yildiz, Z. I.; Celebioglu, A.; Kilic, M. E.; Durgun, E.; Uyar, T. Menthol/Cyclodextrin Inclusion Complex Nanofibers: Enhanced Water-Solubility and High-Temperature Stability of Menthol. *J. Food Eng.* **2018**, *224*, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.020>.
- (350) Mohandoss, S.; Stalin, T. Photochemical and Computational Studies of Inclusion Complexes between  $\beta$ -Cyclodextrin and 1,2-Dihydroxyanthraquinones. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2017**, *16* (4), 476–488. <https://doi.org/10.1039/C6PP00285D>.
- (351) Hashizaki, K.; Kageyama, T.; Inoue, M.; Taguchi, H.; Ueda, H.; Saito, Y. Study on Preparation and Formation Mechanism of *n*-Alkanol/Water Emulsion Using  $\alpha$ -Cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2007**, *55* (11), 1620–1625. <https://doi.org/10.1248/cpb.55.1620>.
- (352) Sharifi-Rad, M.; Varoni, E. M.; Iriti, M.; Martorell, M.; Setzer, W. N.; Contreras, M. del M.; Salehi, B.; Soltani-Nejad, A.; Rajabi, S.; Tajbakhsh, M.; Sharifi-Rad, J. Carvacrol and Human Health: A Comprehensive Review. *Phytother. Res.* **2018**, *32* (9), 1675–1687. <https://doi.org/10.1002/ptr.6103>.
- (353) Leclercq, L.; Douyère, G.; Nardello-Rataj, V. Supramolecular Chemistry and Self-Organization: A Veritable Playground for Catalysis. *Catalysts* **2019**, *9* (2), 163. <https://doi.org/10.3390/catal9020163>.
- (354) <https://www.inserm.fr/Dossier/Resistance-Antibiotiques/>.
- (355) Tremblay, Y. D. N.; Hathroubi, S.; Jacques, M. Les Biofilms Bactériens : Leur Importance En Santé Animale et En Santé Publique. *Can. J. Vet. Res.* **2014**, *78* (2), 110–116.
- (356) Berney, M.; Hammes, F.; Bosshard, F.; Weilenmann, H.-U.; Egli, T. Assessment and Interpretation of Bacterial Viability by Using the LIVE/DEAD BacLight Kit in Combination with Flow Cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73* (10), 3283–3290. <https://doi.org/10.1128/AEM.02750-06>.
- (357) Giuliadori, A. M.; Gualerzi, C. O.; Soto, S.; Vila, J.; Tavío, M. M. Review on Bacterial Stress Topics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2007**, *1113* (1), 95–104. <https://doi.org/10.1196/annals.1391.008>.
- (358) Sedaghat Doost, A.; Stevens, C. V.; Claeys, M.; Van Der Meer, P. Fundamental Study on the Salt Tolerance of Oregano Essential Oil-in-Water Nanoemulsions Containing Tween 80. *Langmuir* **2019**, *35* (32), 10572–10581. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b01620>.
- (359) Kaliamurthi, S.; Selvaraj, G.; Hou, L.; Li, Z.; Wei, Y.; Gu, K.; Wei, D. Synergism of Essential Oils with Lipid Based Nanocarriers: Emerging Trends in Preservation of Grains and Related Food Products. *Grain Oil Sci. Technol.* **2019**, *2* (1), 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.04.003>.
- (360) Sedaghat Doost, A.; Nikbakht Nasrabadi, M.; Kassozi, V.; Nakisozi, H.; Van der Meer, P. Recent Advances in Food Colloidal Delivery Systems for Essential Oils and Their Main Components. *Trends Food Sci. Technol.* **2020**, *99*, 474–486. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.037>.
- (361) Anderson, K. W.; Wenzel, J. D.; Fayter, R. G.; McVay, K. R. Process for Making Polycarboxylic Acids. US5962285A, October 5, 1999.
- (362) Musser, M. T. Adipic Acid. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; American Cancer Society, 2000. [https://doi.org/10.1002/14356007.a01\\_269](https://doi.org/10.1002/14356007.a01_269).

- (363) Sato, K.; Aoki, M.; Noyori, R. A "Green" Route to Adipic Acid: Direct Oxidation of Cyclohexenes with 30 Percent Hydrogen Peroxide. *Science* **1998**, *281* (5383), 1646–1647. <https://doi.org/10.1126/science.281.5383.1646>.
- (364) Vyver, S. V. de; Román-Leshkov, Y. Emerging Catalytic Processes for the Production of Adipic Acid. *Catal. Sci. Technol.* **2013**, *3* (6), 1465–1479. <https://doi.org/10.1039/C3CY20728E>.
- (365) Damm, M.; Gutmann, B.; Kappe, C. O. Continuous-Flow Synthesis of Adipic Acid from Cyclohexene Using Hydrogen Peroxide in High-Temperature Explosive Regimes. *ChemSusChem* **2013**, *6* (6), 978–982. <https://doi.org/10.1002/cssc.201300197>.
- (366) Shang, M.; Noël, T.; Su, Y.; Hessel, V. High Pressure Direct Synthesis of Adipic Acid from Cyclohexene and Hydrogen Peroxide via Capillary Microreactors. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2016**, *55* (10), 2669–2676. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04813>.
- (367) Peñate, I. Q.; Lesage, G.; Cognet, P.; Poux, M. Clean Synthesis of Adipic Acid from Cyclohexene in Microemulsions with Stearyl Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride as Surfactant: From the Laboratory to Bench Scale. *Chem. Eng. J.* **2012**, *200–202*, 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.06.041>.
- (368) Zhu, W.; Li, H.; He, X.; Zhang, Q.; Shu, H.; Yan, Y. Synthesis of Adipic Acid Catalyzed by Surfactant-Type Peroxotungstates and Peroxomolybdates. *Catal. Commun.* **2008**, *9* (4), 551–555. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.07.038>.
- (369) Jiang, H.; Gong, H.; Yang, Z.; Zhang, X.; Sun, Z. Clean Synthesis of Adipic Acid by Direct Oxidation of Cyclohexene in the Absence of Phase Transfer Agents. *React. Kinet. Catal. Lett.* **2002**, *75* (2), 315–321. <https://doi.org/10.1023/A:1015207214720>.
- (370) Cheng, C.-Y.; Lin, K.-J.; Prasad, M. R.; Fu, S.-J.; Chang, S.-Y.; Shyu, S.-G.; Sheu, H.-S.; Chen, C.-H.; Chuang, C.-H.; Lin, M.-T. Synthesis of a Reusable Oxotungsten-Containing SBA-15 Mesoporous Catalyst for the Organic Solvent-Free Conversion of Cyclohexene to Adipic Acid. *Catal. Commun.* **2007**, *8* (7), 1060–1064. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2006.10.027>.
- (371) Chen, J.; Spear, S. K.; Huddleston, J. G.; Holbrey, J. D.; Swatoski, R. P.; Rogers, R. D. Application of Poly(Ethylene Glycol)-Based Aqueous Biphasic Systems as Reaction and Reactive Extraction Media. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004**, *43* (17), 5358–5364. <https://doi.org/10.1021/ie0341496>.
- (372) Noyori, R.; Aoki, M.; Sato, K. Green Oxidation with Aqueous Hydrogen Peroxide. *Chem. Commun.* **2003**, *0* (16), 1977–1986. <https://doi.org/10.1039/B303160H>.
- (373) Goti, A.; Cardona, F. Hydrogen Peroxide in Green Oxidation Reactions: Recent Catalytic Processes. In *Green Chemical Reactions*; Tundo, P., Esposito, V., Eds.; NATO Science for Peace and Security Series; Springer Netherlands: Dordrecht, 2008; pp 191–212. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8457-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8457-7_9).
- (374) K. Sato. Environmentally Benign Oxidation Method with Hydrogen Peroxide. *J Synth Org Chem Jpn* **2002**, *60*, 974.
- (375) Shui-Yang, R. E. N.; Zheng-Feng, X. I. E.; Xiao-Peng, X. I. E.; Gao-Fei, Q. I. N.; Ji-De, Y. U. Environmental-Friendly Synthesis of Adipic Acid by Catalytic Oxidation. *Prog. Chem.* **2009**, *21* (04), 663.
- (376) Larpent, C.; Bernard, E.; Brisse-le Menn, F.; Patin, H. Biphasic Liquid-Liquid Hydrogenation Catalysis by Aqueous Colloidal Suspensions of Rhodium: The Choice of the Protective-Colloid Agent and the Role of Interfacial Phenomena. *J. Mol. Catal. Chem.* **1997**, *116* (1), 277–288. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(96\)00189-6](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(96)00189-6).
- (377) Cserhádi, T.; Forgács, E.; Oros, G. Biological Activity and Environmental Impact of Anionic Surfactants. *Environ. Int.* **2002**, *28* (5), 337–348. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(02\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00032-6).

- (378) Frimer, A. A. Oxidation of Dihydropyran with  $\text{MoO}_5 \cdot \text{HMPA}$ . *J Chem Soc Chem Commun* **1977**, No. 7, 205–206. <https://doi.org/10.1039/C39770000205>.
- (379) Chaumette, P.; Mimoun, H.; Saussine, L.; Fischer, J.; Mitschler, A. Peroxo and Alkylperoxidic Molybdenum(VI) Complexes as Intermediates in the Epoxidation of Olefins by Alkyl Hydroperoxides. *J. Organomet. Chem.* **1983**, *250* (1), 291–310. [https://doi.org/10.1016/0022-328X\(83\)85059-1](https://doi.org/10.1016/0022-328X(83)85059-1).
- (380) A. Werner. The Constitution of Inorganic Compounds. *Ber Dtsch Chem Ges* **1907**, *40*, 15–69.
- (381) Pauling, L. THE MOLECULAR STRUCTURE OF THE TUNGSTOSILICATES AND RELATED COMPOUNDS <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja01385a002> (accessed 2021-08-24). <https://doi.org/10.1021/ja01385a002>.
- (382) Pope, M. T.; Müller, A. Polyoxometalate Chemistry: An Old Field with New Dimensions in Several Disciplines. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30* (1), 34–48. <https://doi.org/10.1002/anie.199100341>.
- (383) Leclercq, L.; Mouret, A.; Bauduin, P.; Nardello-Rataj, V. Supramolecular Colloidosomes Based on Tri(Dodecyltrimethylammonium) Phosphotungstate: A Bottom-Up Approach. *Langmuir* **2014**, *30* (19), 5386–5393. <https://doi.org/10.1021/la500393s>.
- (384) Leclercq, L.; Mouret, A.; Renaudineau, S.; Schmitt, V.; Proust, A.; Nardello-Rataj, V. Self-Assembled Polyoxometalates Nanoparticles as Pickering Emulsion Stabilizers. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119* (20), 6326–6337. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b01805>.
- (385) Azizullah; Haider, A.; Kortz, U.; Joshi, S. A.; Iqbal, J. Polyethyleneimine-Polyoxometalate-Based Supramolecular Self-Assembled PH-Responsive Hydrogels: Formulation and in Vitro Evaluation. *ChemistrySelect* **2017**, *2* (21), 5905–5912. <https://doi.org/10.1002/slct.201701003>.
- (386) Qiu, J.; Li, Q.; Lei, N.; Chen, X. Ionic Self-Assembled Luminescent Nanospheres from Cationic Polyelectrolyte and Eu-Containing Polyoxometalate. *ACS Omega* **2020**, *5* (12), 6895–6902. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00261>.
- (387) Akala, E. O.; Kopečková, P.; Kopeček, J. Novel PH-Sensitive Hydrogels with Adjustable Swelling Kinetics. *Biomaterials* **1998**, *19* (11), 1037–1047. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(98\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(98)00023-4).
- (388) Leclercq, L.; Tessier, J.; Nardello-Rataj, V.; Schmitzer, A.-R. Highly Active, Entirely Biobased Antimicrobial Pickering Emulsions. *ChemMedChem* **2021**, *16* (14), 2223–2230. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100030>.
- (389) Yang, B. Pickering Interfacial Catalysis for Oxidative Cleavage by  $\text{H}_2\text{O}_2$  in Biphasic Systems. These de doctorat, Lille 1, 2017.
- (390) Tang, J.; Zhou, X.; Cao, S.; Zhu, L.; Xi, L.; Wang, J. Pickering Interfacial Catalysts with  $\text{CO}_2$  and Magnetic Dual Response for Fast Recovering in Biphasic Reaction. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11* (17), 16156–16163. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b00821>.
- (391) Li, D.; Jiang, J.; Cai, C. Palladium Nanoparticles Anchored on Amphiphilic Janus-Type Cellulose Nanocrystals for Pickering Interfacial Catalysis. *Chem. Commun.* **2020**, *56* (65), 9396–9399. <https://doi.org/10.1039/D0CC03892J>.
- (392) Chang, F.; M. Vis, C.; Ciptonugroho, W.; A. Bruijninx, P. C. Recent Developments in Catalysis with Pickering Emulsions. *Green Chem.* **2021**, *23* (7), 2575–2594. <https://doi.org/10.1039/D0GC03604H>.



# Annexes

---

## Annexe 1 – Abréviations

**Tableau A.1** : Liste des abréviations des produits chimiques

[C <sub>12</sub> ][H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ]	Trimethyldodécylammonium dihydrogénophosphate
[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> [HPO <sub>4</sub> ]	2(Trimethyldodécylammonium) hydrogénophosphate
[C <sub>12</sub> ] <sub>3</sub> [PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ]	3(Trimethyldodécylammonium) phosphotungstate
BPEI	Polyéthylèneimine branchée
C <sub>n</sub> , n = 3, 8 ou 18	Groupements propyles, octyles ou octadécyles
[C <sub>8</sub> MC][Br]	Bromure de miconazoctylum
C <sub>18</sub> /C <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H@SiO <sub>2</sub>	Nanoparticules amphiphiles de silices acides
CDs	Cyclodextrines
CGTase	Cycloglycosyl-transférase
DVB	Divinylbenzène
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FeOx	Oxyde de fer
GO	Oxyde de graphène
[HMC][NO <sub>3</sub> ]	Nitrate de miconazole
HP	Huile de paraffine
LPEI	Polyéthylèneimine linéaire
Na <sub>3</sub> [PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ]	Phosphotungstate de sodium
P4VP	Poly(4-vinylpyridine)
P4VPH <sup>+</sup>	Poly(4-vinylpyridinium)
PEG	Poly(éthylène glycol)
PISA	Polymérisation induite par auto-assemblage
PNIPAM	Poly(N-isopropylacrylamide)
POM	Polyoxométallate
PPG	Poly(propylène glycol)
PS	Polystyrène
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Péroxyde d'hydrogène
H <sup>+</sup>	Proton
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
Si-OH	Silanol

**Tableau A.2** : Liste des abréviations des symboles

°	Degré
°C	Degré Celsius



%	Pourcent
%m	Pourcent en masse
BS	Rétrodiffusion
C	Taux de couverture
C <sub>c</sub>	Acidité critique
cm	Centimètre
D	Diamètre moyen des gouttelettes
Δ	Delta
ΔE	Énergie d'adsorption
F <sub>s</sub>	Énergie libre
g	Gramme
γ <sub>int</sub>	Tension interfaciale
h	Heure
J/m <sup>2</sup>	Joules par mètre
k <sub>B</sub>	Constante de Boltzmann
K <sub>ass</sub>	Constante d'association
κ	Conductivité
λ	Longueur d'ondes
λ <sup>+</sup> , λ <sup>-</sup>	Conductivité molaire ionique
mg	Milligramme
min	Minute
mL	Millilitre
mmolH <sup>+</sup> /g	Millimol de H <sup>+</sup> par gramme
Mol/L ou M	Moles par litre
mV	Millivolt
μg	Microgramme
μL	Microlitre
μm	Micromètre
N/m	Newton par mètre
nm	Nanomètre
Pa	Pascal
φ	Diamètre
rpm	Tours par minute
ρ	Masse volumique
s	Seconde
T <sub>amb</sub>	Température ambiante
θ	Angle de contact

**Tableau A.3 :** Liste des abréviations des appareils et théories

DLS	Diffusion dynamique de lumière
DLVO	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek
DRX	Diffraction des rayons X
DSC	Calorimétrie différentielle à balayage
E/H	Émulsion eau-dans-huile
FTIR	Spectromètre infrarouge à transformée de fourrier
H/E	Émulsion huile-dans-eau

---

HLB	Balance Hydrophile-lipophile
IR	Spectromètre infrarouge
LCST	<i>Lower critical solubility temperature</i>
MEB	Microscope électronique à balayage
MET	Microscope électronique à transmission
NPs	Nanoparticules
One-pot	Tout en un
PAC	Catalyse assistée de Pickering
PIC	Catalyse interfaciale de Pickering
Potentiel $\zeta$	Potentiel zêta
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
ROS	Dérivé réactif de l'oxygène
TSI	Indice de stabilité Turbiscan®
UCST	<i>Upper critical solubility temperature</i>
UT	<i>Ultraturrax</i>
VDW	Interactions de Van Der Waals

## Annexe 2 – Identification des produits

### Cyclohexène

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,61 (m, 4H  $\text{CH}_2$ ) ; 1,98 (m, 4H  $\text{CH}_2$ ) ; 5,67 (m, 2H  $\text{CH}=\text{CH}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 22,8 ; 25,3 ; 127,3 (C=C).

### Époxyde du cyclohexène

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,21-1,28 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  axial et équatorial) ; 1,79 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 3,04 (m, 2H, CH de la fonction époxyde).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 19,5 ; 24,4 ; 51,4 (C époxyde).

### 1,2-Cyclohexanediol

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,11 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 1,54-1,76 (2 pics, 4H,  $\text{CH}_2$  axial et équatorial) ; 3,10 (s, 2H, CH-O) ; le pic du OH est souvent masqué en raison de la présence d'humidité.

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 24,2 ; 33,1 ; 74,4 (C-OH).

### Acide adipique

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,49 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 2,20 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ) ; le pic du  $\text{COOH}$  est souvent masqué en raison de la présence d'humidité.

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 24,5 ; 22,8 ; 174,8 ( $\text{COOH}$ ).

### Cyclooctène

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,47 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ ) ; 2,14 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 5,78 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 25,5-26,5 ; 30,0 ; 130,2 (C=C).

### Époxyde du cyclooctène

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,21-2,02 (m, pics superposés,  $\text{CH}_2$ ) ; 3,10 (m, 2H, CH de l'époxyde)

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  (ppm) = 22,8 ; 24,5 ; 55,1 (C époxyde).

### 1,2-cyclooctanediol

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,35-1,88 (m, 3 pics supersposés, 12H,  $\text{CH}_2$ ) ; 3,20 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ) ; le pic du OH est souvent masqué en raison de la présence d'humidité.

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 24,2 ; 26,9 ; 30,2 ; 73,4 (C-OH).

Acide subérique

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 1,36 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 1,60 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ) ; 2,29 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-CO}$ ) ; le pic du  $\text{COOH}$  est souvent masqué en raison de la présence d'humidité.

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  (ppm) = 24,8 ; 28,7 ; 34,0 ; 175,9 ( $\text{COOH}$ ).

## Annexe 3 – Publication Chapitre II

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects xxx (xxxx) 127705



Contents lists available at ScienceDirect

## Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/colsurfa](http://www.elsevier.com/locate/colsurfa)

## Cross-linked poly(4-vinylpyridine) particles for pH- and ionic strength-responsive “on-off” Pickering emulsions

Grégory Douyère, Loïc Leclercq\*, Véronique Nardello-Rataj

Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Artois, UMR 8181-UCCS, Unité de Catalyse et Chimie du Solide, 59000 Lille, France

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Poly(4-vinylpyridine)  
pH-sensitive polymers  
Pickering emulsions  
Amphiphilic particles  
Charge density modification

## ABSTRACT

Poly(4-vinylpyridine) particles, P4VP, show a great potential from the environmental and economic perspective since they are cheap and extensively used for safer and greener organic syntheses. Moreover, their pH-sensitive properties would make it easy to obtain “on-off”, recyclable and reusable Pickering emulsions. The relationships between the particles structures (size, shape, acidity and charge) and the emulsions properties (type, droplet size and stability against environmental stresses) were investigated. The protonation increased the particles diameter to 147 nm compared to the pristine ones (88 nm) due to electrostatic repulsions which swell the particles. The  $\zeta$ -potential was decreased with increasing acidity (from +60 to +30 mV) due to the accumulation of chlorides onto the surface. Thus, the acidic particles of 39 mmolH<sup>+</sup>/g and +57 mV were more effective in emulsifying heptane in water with long-term stability in storage conditions (up to one year) and unprecedented resistance against centrifugation and temperature (up to 5000 rpm and 60 °C). Nevertheless, destabilization can be easily achieved by pH or ionic strength changes facilitating the phase separation and the particles recovery. Contrary to the literature of responsive Pickering emulsions, which require relatively complex systems, the investigated one provides a simple route to obtain various “on-off” switches using P4VP cross-linked particles which possess changeable structures based on electrostatic repulsions. Consequently, the exploitation of such a system could be attractive in biphasic media in which the P4VP would act as a reagent, scavenger, and/or catalyst.

## 1. Introduction

Pickering emulsions have aroused considerable interest due to their role in numerous industrial processes and products (e.g. agriculture [1], food [2], pharmacy [3], cosmetic [4], medicine [5], etc.). This broad interest is mainly linked to the solid particles adsorbed on the water/oil interfaces leading to the formation of a dense film preventing coalescence and conferring long-term stability and a reduction of foaming during emulsion preparation [6]. Moreover, unlike molecular surfactants which have a substantial negative impact on ecosystems and require large amounts to produce stable emulsions, Pickering emulsifiers are considered to be more eco-friendly and cost-saving [7]. In this context, a wide variety of native or modified particles have served as Pickering emulsifiers (e.g. silica [8], clay [9], metal oxide [10], carbon [11], proteins [12], polysaccharides [13], cyclodextrins [14], supracolloids [15] or polymers [16]). Unfortunately, the high-stability of Pickering emulsions is sometimes unsuitable for specific applications, such as controlled release [17], emulsion polymerization [18] or catalysis [19]. In these cases, stimulus-responsive Pickering emulsions may be re-

quired to switch between long-term stability and rapid phase separation through appropriate environmental triggers (e.g. temperature, pH, ionic strength, magnetic field, etc.) [20].

In the past decades, the emulsions stabilized by microgel particles have attracted much attention [21]. From a theoretical point of view, they are crosslinked polymer-based particles forming a 3D network that allow, in an appropriate solvent, a transition between swollen and shrunk particles by adjusting the temperature, pH and/or the ionic strength [22]. This behavior offers an unprecedented degree of control on the resulting emulsions although an amphiphilic balance remains an essential requirement as for those that use molecular surfactants or conventional solid particles [23,24]. For this purpose, the copolymers allows a judicious combination of hydrophilic and hydrophobic block with appropriate environmental triggers [25]. Thus, poly(*N*-isopropylacrylamide), PNIPAM, or poly(*N*-isopropylmethacrylamide), PNIPMAM, can be used as thermo-responsive part. For instance, P(NIPAM-co-NIPMAM) and P(NIPAM)-P(NIPMAM) microgels provide emulsions which can be broken by increasing the temperature above the volume phase transition temperature [26]. In contrast, pH-sensitive

\* Corresponding author.

E-mail address: [loic.leclercq@univ-lille.fr](mailto:loic.leclercq@univ-lille.fr) (L. Leclercq).<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127705>

Received 15 August 2021; Received in revised form 30 September 2021; Accepted 4 October 2021

0927-7757/© 2021

copolymer-based microgels use a polyacid or a polybase block (e.g. poly(methacrylic acid), PMAA, or poly(4-vinylpyridine), P4VP) copolymerized with NIPAM, styrene, etc. [27]. For instance, the microgels based on P4VP/silica colloidal nanocomposite particles readily provide emulsions at high pH value as the surface of particles consists of hydrophilic silica and hydrophobic P4VP chains [28]. Note that ethylene glycol dimethacrylate is used as cross-linker to avoid particle dissolution. Nevertheless, the phase separation is easily ensured by the swelling of microgels due to the P4VP protonation. In addition to the pH, the degree of ionization also influences the stabilization of these emulsions [22]. From a similar mechanism, pH-responsive emulsions can be obtained from Au@poly(ethylene oxide-*b*-4-vinylpyridine) polymer-metal hybrid micelles [29]. However, the crosslinking of the polymer micelle core was necessary to avoid the polymer micelles dissociation and to allow reversible emulsification/demulsification cycles with pH variation. Unfortunately, all these previous particles require synthetic steps before use (e.g. (co)polymerization, cross-linking, grafting, functionalization, etc.) [30–33]. Consequently, they fail to provide ideal responsive emulsions which should be directly stabilized by cheap commercially available particles without any chemical transformation. We are clearly surprised of this finding because commercial P4VP particles, crosslinked with divinylbenzene (DVB), which nevertheless seem to be ideal to obtain inexpensive responsive emulsions, are, to our knowledge, omitted from the literature. Moreover, it is noteworthy that crosslinked P4VP are widely used as a reagent, scavenger, and/or catalyst for safer and greener syntheses due to their solid nature and easy recovery [34].

As “simplicity is the ultimate sophistication” (quote attributed to Leonardo da Vinci), we report the use of commercial crosslinked P4VP particles to easily provide Pickering emulsions. As these native particles are too hydrophobic to stabilize emulsions, their charge density was adjusted by protonation (Fig. 1). In this work, we particularly focus our attention on the relationships between the protonated particles structures (size, shape, degree of protonation and charge) and the emulsions properties (type of emulsion, droplet size, and stability against storage conditions and against environmental stresses such as pH and temperature). The as-prepared emulsions showed very high stability but can be easily destabilized by pH or ionic strength changes leading to phase separation and particles recovery (switching service, see Fig. 1).

## 2. Experimental section

### 2.1. Materials and general information

The native P4VP (2% cross-linked with DVB) was purchased from Sigma-Aldrich. Prior to use, the P4VP was cryo-grinded (MM400, Retsch, Germany). It was placed in two 25 mL stainless steel grinding bowls filled with: 1/3 of P4VP, 1/3 of 5 mm-diameter stainless steel balls and 1/3 of air. The bowls were immersed into liquid nitrogen for 4 min and grinded at a frequency of  $30\text{ s}^{-1}$  for 30 min. Water was purified using a water purification system (Barnstead, Thermo Scientific, USA) with a resistivity higher than  $18.2\text{ M}\Omega\text{ cm}$ . The other chemicals were obtained from Sigma-Aldrich with the highest purity and used without further purification. To ensure repeatability, physicochemical measurements were performed three times. pH was determined with pH330i (WTW, Germany). Conductivity was measured with a CDM210 (Radiometer Analytical, France). Centrifugation experiments were performed with a Sigma 2-16PK apparatus (20 min at 5000 rpm).

### 2.2. Preparation of particles

Partially protonated P4VP particles were prepared by adding 500 mg of cryo-grinded native P4VP into 50 mL aqueous solutions of hydrochloric acid at different concentrations ( $5 \times 10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $2.5 \times 10^{-2}$ ,  $5 \times 10^{-2}$ ,  $7.5 \times 10^{-2}$ , 0.1, 0.5 and 2 M). The solutions were then stirred at 500 rpm for 4 h. The particles were then filtrated, dried overnight and cryo-grinded before characterization (see Section 2.1).

### 2.3. Characterization of particles

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was carried out with a Nicolet 380 FTIR Spectrometer equipped with an attenuated total reflector (Thermo Electron, USA). Thermogravimetric analyses were carried out on a Q500 (TA Instruments, USA). About 10 mg of product were heated from  $25^\circ$  to  $500^\circ\text{C}$  at a rate of  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  under nitrogen atmosphere (60 mL/min). To measure the acidity of particles, 500 mg of each acidified P4VP particles were dispersed into in NaCl aqueous solution (50 mL at 0.5 M) at room temperature and stirred overnight. Then, the solid was filtered off and the resulting solution was titrated with a NaOH solution (from 10 mM) using a pH-meter. The particle size distribution was determined by dynamic light scattering (DLS) with the Zetasizer Nano ZS ZEN 3600 (Malvern, UK). An automatic process was

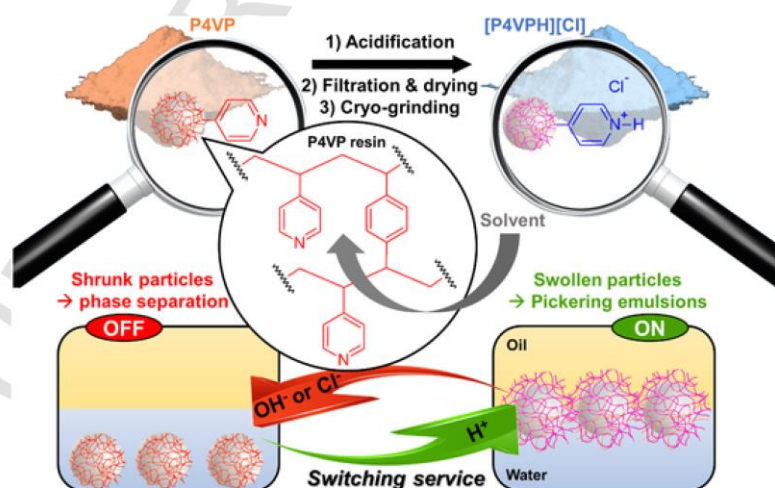


Fig. 1. Poly(4-vinylpyridine) colloidal particles crosslinked with divinylbenzene (P4VP, top) and concept of responsive emulsions as a function of charge density and solvent penetration (bottom).

performed at 173° with a 10-runs method providing time-correlation functions. Data were analyzed by cumulating analysis to obtain an average diffusion coefficient used to calculate a hydrodynamic radius using the Stokes-Einstein equation. The  $\zeta$ -potential was also measured after dispersing the particles into water (or in 1:1 water/ethanol mixture or heptane) at 25 °C. An automatic process was performed with a series of 10–100 measurements maximum for each sample. The morphology of the particles was inspected by scanning electron microscopy (SEM) using a JSM-7800F LV (Jeol, Japan) operating at 5 kV. One drop of the particles dispersed in water was deposited onto a carbon conductive adhesive tape stuck on a stub (1.3 cm radius) and the observations were performed after the evaporation of water by air-drying and chromium coating. The transmission electron microscopy (TEM) micrographs were obtained on a TECNAI G2-20 Twin microscope (FEI, USA), equipped with a LaB6 filament operating at 200 kV. Two drops of nanoparticles suspension were deposited on a carbon-copper grid (CF200-Cu, Electron Microscopy Sciences, USA). The contact angles ( $\theta$ ) were measured according to the spreading method. The P4VP particles were compressed at 1800 bars pressure during 1 min and the contact angles were determined by using drop shape analyzer DSA 100 (Krüss GmbH, Germany) by depositing 4  $\mu$ L of solvent (glycerol or paraffin oil) onto the compressed particles. The stability of particles aqueous dispersions was quantified at 25 °C by static multiple light scattering using a Turbiscan Lab (Formulation, France) operating using a near-infrared light source ( $\lambda = 880$  nm).

#### 2.4. Emulsion preparation

Water and particles (47.5 and 5 wt.%, respectively) were weighted in a glass vial ( $\varnothing = 16$  mm; H = 60 mm) before adding heptane (47.5 wt.%). The emulsification was performed using a T10 basic Ultraturrax (IKA, Germany, 11,500 rpm, 60 s).

#### 2.5. Emulsion characterization

The type of emulsion was determined by electric conductivity measurement. Optical microphotographs were obtained using a VHX-900 F digital microscope equipped with a VH-Z100UR/W/T lens (Keyence, France). The log-normal distribution function was obtained after statistical analysis of the microphotographs using OriginPro 8® (OriginLab, USA). The morphology of the emulsions was also inspected by SEM after the evaporation of water and heptane-core by air-drying (see above). The stability of emulsions was evaluated at 25 °C using the Turbiscan (see Section 2.3) over 2 days. The rheological properties were evaluated using a Kinexus (Malvern, UK) equipped with a 20 mm-diameter plane geometry cone mobile imposing a logarithmic stress ramp increase followed by a reverse stress decrease from 0 to 500 Pa. The temperature was controlled using a Peltier temperature control device ( $\pm 0.01$  °C).

#### 2.6. Emulsion destabilization

3 mL of emulsion were introduced into a glass vial ( $\varnothing = 16$  mm; H = 60 mm). 0.2 mL of aqueous HCl (5 M), aqueous NaOH (5 M) or 0.5 mL of aqueous NaCl (0.5 M; 0.5 mL) were then added. The resulting emulsions were then kept at room temperature overnight.

### 3. Results and discussion

As native P4VP, which contains 2% DVB, is too hydrophobic, it does not naturally stabilize emulsions. However, the presence of pyridine residues makes it possible to protonate it in an acidic medium, which makes it possible to counterbalance the excessively hydrophobic nature of P4VP (see Fig. 1). As pH modification results in changes in the degree of ionization of surface groups, the isoelectric point (IEP), defined as

the pH value at which the particles carry no net electrical charge, is a key parameter to obtain stable systems. Indeed, the condition of lowest stability, frequently leading to aggregation and precipitation for suspensions and to phase separation for emulsions, is obtained near the IEP. For the P4VP particles, the pyridine sidechains vary from charged at  $\text{pH} < \text{pK}_a$  to uncharged at high pH. As the exact pH dependence depends on the surface chemistry, a pH titration can be used to determine the IEP of the commercial P4VP particles. An indirect estimation of the particle surface charge is the measurement of the  $\zeta$ -potential. In short,  $\zeta$ -potential is the electric potential at the slipping plane, *i.e.* the potential difference between the dispersion medium and the stationary layer of fluid attached to the dispersed particles. Thus, particles dispersed in a solvent can be negatively or positively charged according to particle size, effective charge on the surface, and solution chemistry (*e.g.* pH, electrolyte concentration). In respect with this, a dispersion of commercial P4VP in deionized water was prepared at pH 2.3 and a titration with NaOH was subsequently used to measure  $\zeta$ -potential as a function of pH (Fig. 2). At low pH, there is an excess of positively charged pyridines, leading to a positive  $\zeta$ -potential (up to  $+34 \pm 4$  mV at pH 2.3). As pH is raised further, the protons are removed, leading to a decrease of the  $\zeta$ -potential until to reach an average surface charge of zero at pH 5.1. Above pH 5.1, the P4VP is fully deprotonated but a more and more negative  $\zeta$ -potential is observed. This observation can be related to a strong prevalence of OH<sup>-</sup> ions at the slipping plane, leading to negative  $\zeta$ -potentials over the basic pH range (up to  $-47 \pm 5$  mV at pH 11.6). Indeed, as the  $\zeta$ -potential is governed by not only the surface chemistry but also by the surrounding medium, we can suppose that the negative net surface charge arises from adsorption of OH<sup>-</sup> ions onto the P4VP particles surface. The IEP is obtained at pH 5.1 which is in good agreement with the  $\text{pK}_a$  values of 4-vinylpyridine (5.62) [35] and P4VP ( $\sim 5$ ) [36]. As a  $\zeta$ -potential value outside the range  $-30$  to  $+30$  mV usually refers to the ability to resist aggregation, flocculation and coagulation (*i.e.* electrostatic repulsions are sufficient to overcome van der Waals attractive forces), the P4VP aqueous dispersions are stable below pH 2.3 and above 8.5.

Based on the previous titration curve and as a  $\zeta$ -potential greater than  $+30$  mV is required to obtain good physical stability of suspensions and/or emulsions, various protonated P4VP particles ([P4VPH][Cl]) were prepared by dispersion of native P4VP into aqueous solutions of HCl at different concentrations for which the pH values are less than 2.3 (see Fig. 1). Along with pH values, the contact time also affects the [P4VPH][Cl] preparation. Indeed, at the instant particles are dispersed in the aqueous HCl solution, protons begin to diffuse and adsorb

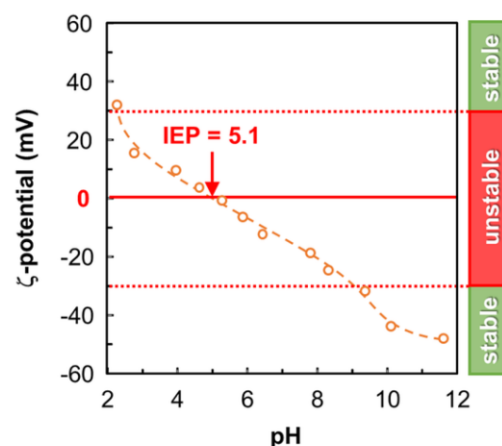


Fig. 2. Titration of commercial P4VP (2% DVB) aqueous dispersion (0.05 wt.% in deionized water) using  $\zeta$ -potential (S.D.  $\pm 10\%$ ) as a function of pH (IEP = isoelectric point).

at the newly created solid/liquid interface. It takes some time to reach equilibrium. This is why the contact time is fixed at 4 h to achieve the maximal protonation of accessible pyridine units regardless of the pH (*i.e.* the HCl concentration). After drying and cryo-grinding, particles were characterized by their acidity (expressed in the form of acid density; mmolH<sup>+</sup>/g) and by their average hydrodynamic diameter (obtained by dynamic light scattering, DLS, see Fig. 3A). In addition, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetric analyses were also performed (Fig. 3B and C, respectively). For reference purpose, the pristine P4VP follows similar preparation to the [P4VPH][Cl] ones but was suspended in distilled water (*i.e.* with HCl = 0 M). Not surprisingly, the particles acidity can be easily adjusted: the maximal protonation capacity was found to be 112 mmol H<sup>+</sup> per gram of P4VP particles (Fig. 3A). The interaction between hydrochloric acid and P4VP particles was confirmed by FTIR analysis. Indeed, the presence of the pyridinium ring increases the number of vibrational modes and brought completely different FTIR spectra as a result of change in the force constants with the protonation [37].

The C-H valency vibrations of the polymer chain and of the side groups appear in the 3200–2700 cm<sup>-1</sup> region and undergo practically no change with the protonation. In contrast, in the 2700–2000 cm<sup>-1</sup> region, the appearance of broad peaks near 2080 and 2590 cm<sup>-1</sup> are observed for [P4VPH][Cl] due to the N<sup>+</sup>-H valency vibrations of pyridinium residues. The valency and deformation vibrations of the pyri-

dine or pyridinium rings appear in the 2000–400 cm<sup>-1</sup> region. For instance, peaks near 1595, 1557, 1493, 1449, and 1415 cm<sup>-1</sup> correspond to the stretching vibrations of the pyridine ring of P4VP. The frequencies of these bands are displaced with the protonation: 1600, 1557 (quasi-disappeared), 1502, 1454, 1417 cm<sup>-1</sup> and the band at 1634 cm<sup>-1</sup> was appeared, indicating that pyridine rings have been successfully protonated (for a typical example see Fig. 3B and B'). Similar spectral changes have been observed previously in protonation of P4VP [37]. It is noteworthy that thermogravimetric curves also show clear modifications between the pristine and protonated P4VP forms (see Fig. 3C for a typical example).

Next, the hydrodynamic diameters ( $D_h$ ) were determined for each particle (Fig. 3A). Unfortunately, the direct comparison of pristine and protonated particles cannot be made since this  $D_h$  value is directly influenced by the solvent used for dispersed the particles. For instance, the  $D_h$  values of the pristine particles were of about 450 nm in water, 300 nm in ethanol/water solution (1:1 in volume), and 4 μm in heptane, whereas the [P4VPH][Cl] particles were close to 250 nm in water, 255 nm in ethanol/water solution (1:1 in volume), and 3 μm in heptane. In addition to the specific solvation, this behavior is related to the swelling capacity of the particles and their aggregation. Indeed, the crosslinking with DVB prevents the solubilization but not the solvation of P4VP chains. Thus, the reticulated particles can be swelled and ag-

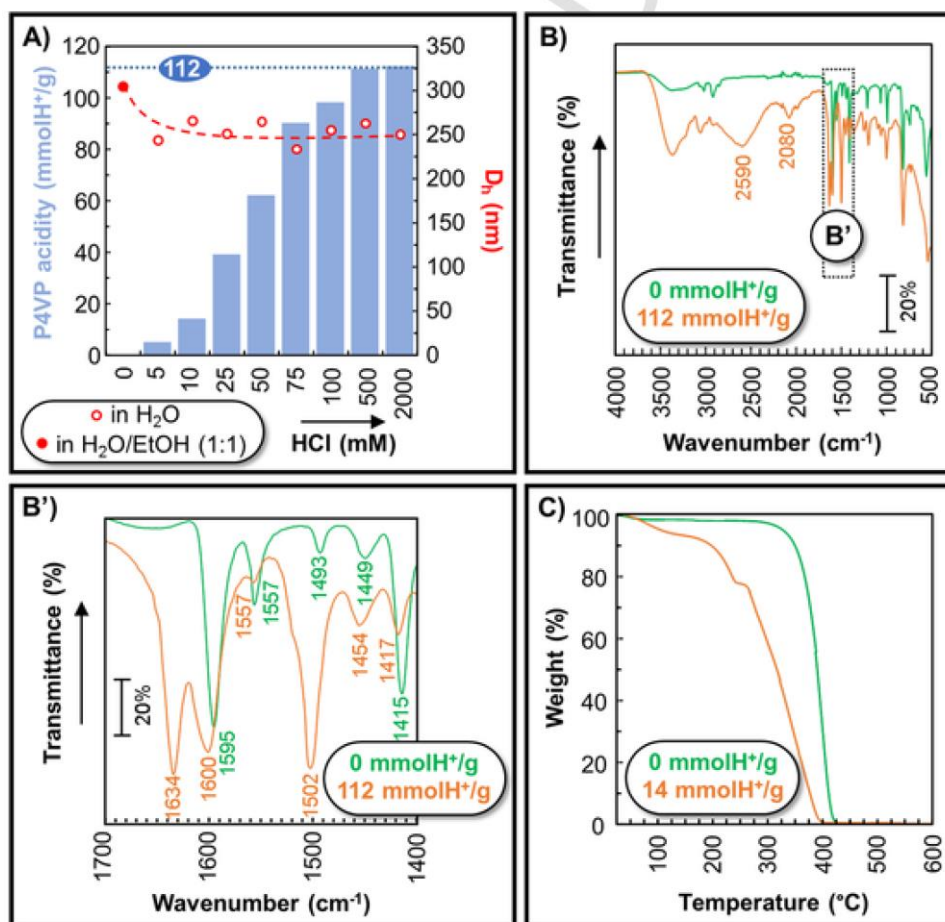


Fig. 3. Acidity (S.D.  $\pm$  5%) and hydrodynamic diameter ( $D_h$ , S.D.  $\pm$  7%) of isolated protonated P4VP particles as a function of HCl concentration used for their preparation (A), typical FTIR spectra and thermogravimetric curves (B and C, respectively).



gregation can occur depending on the solvents used (see below and Fig. 1). Consequently, the particle size is overestimated by DLS.

To better understand the structural morphology of P4VP and [P4VPH][Cl] particles, including their sizes, dry scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) images were performed (Fig. 4). As shown, the geometrical shape of particles is clearly affected by the protonation. Indeed, the morphology of the protonated P4VP beads is rather polydispersed and have a spherical shape with a mean diameter ( $D_{SEM}$ ) of  $147 \pm 29$  nm, regardless of the particles acidity. In contrast, the pristine P4VP particles are more monodispersed and have an ellipsoidal shape with major and minor diameters of  $138 \pm 11$  and  $60 \pm 12$  nm, respectively (the aspect ratio is about 2.3). In addition, the microstructures, observed by TEM, are also affected by the protonation. Indeed, the protonated P4VP particles have a sponge-like amorphous morphology whereas the pristine ones exhibit a “faceted” structure due to the presence of crystalline or pseudo-crystalline domains (see Fig. 4B). This observation can be related to the  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions between the aromatic rings of P4VP leading to well-ordered regions. In contrast, the electrostatic repulsions between pyridinium rings lead to a more amorphous porous structure (*i.e.* microgel texture).

In order to compare the protonated and neutral forms, the mean equivalent diameter of the ellipsoidal shaped P4VP particles ( $D'_{SEM}$ , taken as the diameter of a sphere of equivalent volume to that of non-spherical particles) is calculated using the following relation [38]:

$$D'_{SEM} = 1.55 \times A^{0.625} / P^{0.25} \quad (1)$$

where A is the area and P is the perimeter of each particle obtained from the SEM images using Image J software (NIH, USA). The  $D'_{SEM}$  of the native P4VP particles is about  $88 \pm 13$  nm. The observed shape transition is consistent with an increase in the repulsive interactions due to the large fraction of pyridinium residues present after acid treatment. Indeed, linear [P4VPH][Cl] are known to have an open morphology compared to neutral linear P4VP in order to minimize electrostatic repulsions [39]. Consequently, the transition from ellipsoidal to spherical shape is attributed in part to changes driven by repulsion of positively charged pyridine residues since a totally open polymer morphology is prohibited due to its reticulated nature. Moreover, as the increase in size between P4VP and [P4VPH][Cl] particles is very important ( $88 \pm 13$  vs.  $147 \pm 29$  nm, respectively), we can hypothesize that the

water molecules, strongly interact with the pyridinium groups, screening the electrostatic repulsions and promoting the particle shape change. In this case, these water molecules directly participate in the structural organization of [P4VPH][Cl] particles. This assumption is consistent with the thermogravimetric curves of P4VP and [P4VPH][Cl] particles (see two typical examples in Fig. 3C). Indeed, the weight loss of P4VP and [P4VPH][Cl] particles increased gradually up to  $150$  °C due to the loss of water molecules (external hydration, 8% and 2% for [P4VPH][Cl] and P4VP particles, respectively). From  $250$  to about  $450$  °C, P4VP and [P4VPH][Cl] particles show a sharper weight loss, corresponding to the materials degradation (delayed for the pristine particles). However, it is noteworthy that [P4VPH][Cl] particles show an additional well-defined loss (mass change about 15% between  $150$  and  $250$  °C), assigned to an elimination of internal water molecules located in the spaces created by the repulsions between the charged pyridine residues. This observation supports the presence of interstitial and structural water molecules inside the [P4VPH][Cl] particles which prevents the formation of hollow ellipsoidal ones and their collapse. Consequently, the repulsions of positively charged pyridine residues, associated with the crosslinking with DVB and to the interstitial and structural water molecules, promote swelling of the P4VP ellipsoid to spherical shape upon acidification.

As the protonation changes the “hydrophobicity” of P4VP particles, the solid/liquid contact angles ( $\theta$ ) have been measured after a liquid is spread onto a solid substrate (*i.e.* compressed particles). Classically,  $\theta$  gives an excellent indication of the hydrophobicity of particles. Indeed, if the testing solvent is water, we have “hydrophilic” and “hydrophobic” particles for  $\theta < 90^\circ$  and  $\theta > 90^\circ$ , respectively. The opposite holds for organic solvents (*e.g.* *n*-heptane). However,  $\theta$  are not easily measurable with water and heptane due to their penetration in the internal structure of particles, thus confirming the swelling capacity of the particles previously mentioned. In order to overcome this problem,  $\theta$  has been determined with more viscous solvents such as glycerol and paraffin oil (“hydrophilic” and “hydrophobic” solvents, see Fig. 5). As expected the pristine P4VP is more “hydrophobic” ( $112 \pm 1^\circ$  and  $40 \pm 2^\circ$  for glycerol and paraffin oil, respectively) than the protonated ones. Moreover, the “hydrophilicity” increases with the protonation degree (see Fig. 5).

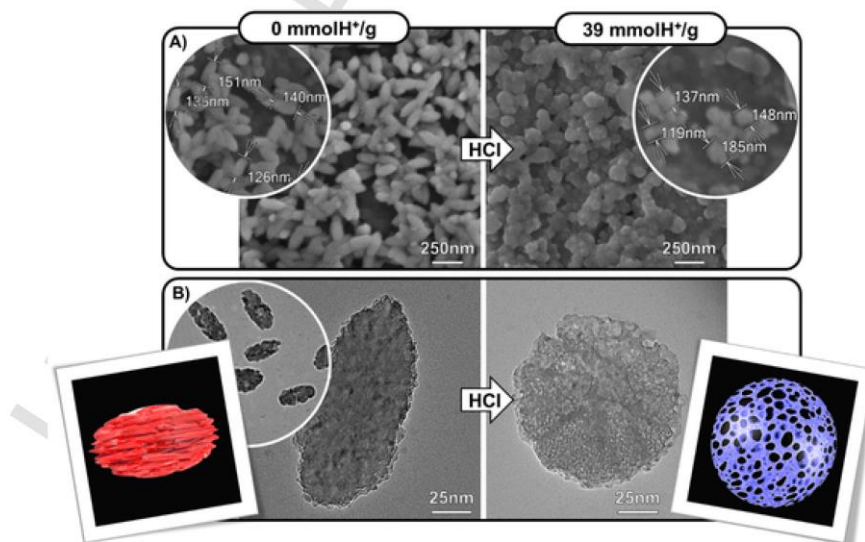


Fig. 4. Typical SEM (A) and TEM (B) images showing the effect of protonation of P4VP particles observed after the evaporation of water by air-drying (see experimental section). The insets show the interpretation of TEM images.

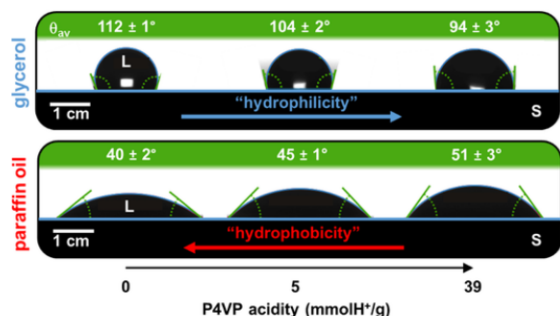


Fig. 5. Typical photographs of glycerol or paraffin oil droplets (L) deposited on a compressed P4VP particles (S) as a function of protonation and average S/L contact angles ( $\theta_{av}$ ) after at least three measures.

Next, the  $\zeta$ -potential and the conductivity of the P4VP particles, after isolation and redispersion in deionized water, were determined as a function of P4VP acidity (Fig. 6). It is noteworthy that the stability of each P4VP dispersion was also evaluated using static multiple light scattering (SLMS) experiments by scanning over 1 h the sample from the bottom to the top both in transmission and backscattering mode (both affected by particle size and volume concentration of the dispersion). According to the variation of light intensities over time, stability index (SI) can be calculated using the following relation:

$$SI = \sum_i \frac{\sum_h |scan_i(h) - scan_{i-1}(h)|}{H} \quad (2)$$

where  $scan_i(h)$  and  $scan_{i-1}(h)$  are the scans of  $i^{\text{th}}$  and  $i-1$ -th time at a given height ( $h$ ), and  $H$  is the total sample height. In this study, the SI values, recorded after 10 min, were also reported in Fig. 6.

As expected, the  $\zeta$ -potential of all [P4VPH][Cl] was positive (from +60 to +30 mV) but surprisingly, it was decreased with increasing acidity. This reduction can be explained by an increase in the number of chloride ions adsorbed on the particles. This assumption is in agreement with conductivity results. Indeed, the conductivity increases with the increase of P4VP acidity with a certain slope. But at a critical [P4VPH][Cl] acidity ( $C_c = 62 \text{ mmolH}^+/\text{g}$ ), the slope changes. From a general point of view, the conductivity of [P4VPH][Cl] suspensions can be expressed as the sum of contributions of charged component as:

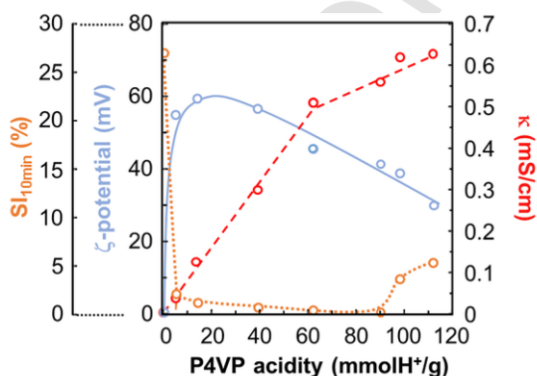


Fig. 6. Conductivity ( $\kappa$ , S.D.  $\pm 2\%$ ),  $\zeta$ -potential (S.D.  $\pm 10\%$ ) and stability index after 10 min ( $SI_{10 \text{ min}}$ ) of aqueous dispersions plotted against the acidity of P4VP particles (0.05 wt.% in deionized water, S.D.  $\pm 6\%$ ). The red dashed line was calculated using Eq. 4 (optimized values:  $\alpha^+ = 0.2\%$ ,  $\alpha_1^- = 20\%$ , and  $\alpha_2^- = 6\%$ ).

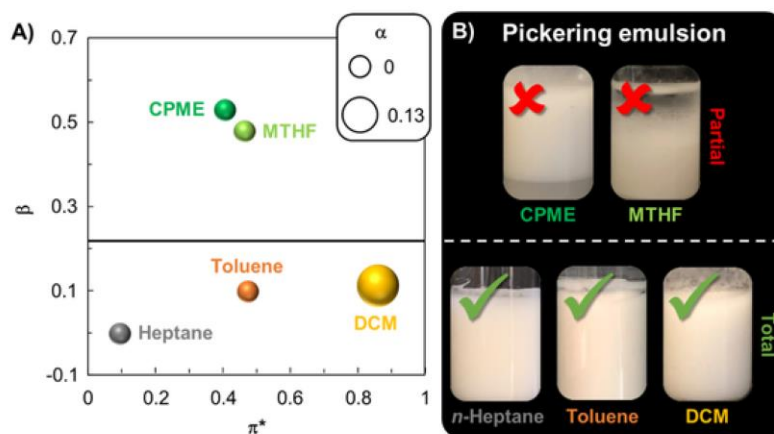
$$\kappa = \sum_i C_i \Lambda_i \quad (3)$$

where  $C_i$  and  $\Lambda_i$  are the concentration and the specific conductivity of the  $i^{\text{th}}$  component (with  $i = [\text{P4VPH}][\text{Cl}]$  particles or free HCl coming from the particles dissociation). As the [P4VPH][Cl] particles are much larger than the free HCl, it can be assumed that the charged particles do not contribute to the conductivity. As a slope change is observed at the breaking point, we can suppose that the free concentration of  $\text{H}^+$  and  $\text{Cl}^-$  varies below and above the critical [P4VPH][Cl] acidity. By taking all these considerations into account, a model for fitting the conductivity curve can be expressed by the following set of equations:

$$\kappa = \begin{cases} \alpha^+ \lambda^+ C^+ + \alpha_1^- \lambda^- C^-, & C^- \leq C_c^- \\ \alpha^+ \lambda^+ C^+ + \alpha_1^- \lambda^- C_c^- + \alpha_2^- \lambda^- (C^- - C_c^-), & C^- > C_c^- \end{cases} \quad (4)$$

where  $\alpha^+$ ,  $\alpha_1^-$ , and  $\alpha_2^-$  are the dissociation degrees of  $\text{H}^+$ , and  $\text{Cl}^-$  below and above  $C_c$ , respectively,  $\lambda^+$  and  $\lambda^-$  are the limiting molar ionic conductivities of  $\text{H}^+$  and  $\text{Cl}^-$  (349.8 and 76.3  $\text{mS/cm/M}$ , respectively) [40],  $C^+$  and  $C^-$  are the total concentrations of  $\text{H}^+$  and  $\text{Cl}^-$  (assuming a complete ionization of [P4VPH][Cl] particles, note that  $C^+ = C^-$ ), and  $C_c$  is the total chloride concentration at the critical [P4VPH][Cl] acidity (3.1 mM for  $C_c = 62 \text{ mmolH}^+/\text{g}$ ). For each [P4VPH][Cl] particle (varying only by its acidity), the experimental  $\alpha^+$  value can easily be estimated as the ratio between the  $[\text{H}^+]$  released by particles dispersed in water (measured using a pH-meter) and the  $C^+$ . The obtained  $\alpha^+$  value is found to be totally independent of the P4VP acidities ( $0.2 \pm 0.1\%$ ). With this result in hand, it is possible to fit the experimental conductivity data below and above  $C_c$  with the appropriate constants (i.e.  $\alpha_1^-$  and  $\alpha_2^-$ ) using Eq. 4. The conductivity curve can be well fitted by using the model and the  $\alpha_1^-$  and  $\alpha_2^-$  constants can be estimated at 20% and 6%, respectively ( $R^2 = 0.9975$ , see Fig. 6). Therefore the conductivity and  $\zeta$ -potential measurements are in good agreement confirming that the breaking point, observed at  $C_c$ , is due to the binding of chlorides to the particles when the charge density increases on the particles (i.e. for P4VP acidity  $> 62 \text{ mmolH}^+/\text{g}$ ). Obviously, the accumulation of chlorides onto the surface of the most acidic particles leads to the destabilization of the sample by sedimentation (see the SI values, Fig. 6). Therefore, we can predict that the particles with the highest  $\zeta$ -potential values (i.e. for P4VP acidity  $\leq 90 \text{ mmolH}^+/\text{g}$ ) will show higher electrostatic repulsions preventing the particles aggregation and leading to stable Pickering emulsions.

Before studying in detail the Pickering emulsions stabilized by protonated P4VP particles, we explored the effects of various organic solvents (i.e. oil phases) on the Pickering stabilization. Indeed, the nature of the oil directly affecting the wetting of the particles and the emulsion stabilization, the choice of the oil is therefore crucial. Obviously, the selection criterion of these oils was their complete or high immiscibility with the aqueous phase. The investigated oils include hydrocarbons (e.g. *n*-heptane and toluene), halogenated hydrocarbons (e.g. dichloromethane, DCM) and hydrogen bond acceptor solvents (e.g. cyclopentyl methyl ether, CPME, and 2-methyl tetrahydrofuran, MTHF). The oil ability to provide Pickering emulsions was thus correlated with the Kamlet and Taft parameters used as descriptors of the solvent properties (H-bond donor ability,  $\alpha$ , H-bond acceptor ability,  $\beta$  and polarity,  $\pi^*$ , see Fig. 7). All other parameters were kept constant such as the particle concentration (1 wt.% of [P4VPH][Cl] at 14  $\text{mmolH}^+/\text{g}$ ), the water/oil ratio (49.5 wt.% each) and the emulsification process (11,500 rpm, 60 s, 25 °C). Regardless of the solvent used, pristine P4VP (used as control experiments) never succeeds in stabilizing Pickering emulsions. As shown in Fig. 7, only hydrocarbons and halogenated hydrocarbons (*n*-heptane, toluene and DCM) made it possible to obtain Pickering emulsions with an emulsion volume fraction of 100% (v/v) just after emulsification. In contrast, CPME and MTHF provided only partial emulsions. Therefore, the emulsification ability of oils increases



**Fig. 7.** (A) Kamlet-Taft parameters (H-bond donor ability,  $\alpha$ , H-bond acceptor ability,  $\beta$ , and polarity,  $\pi^*$ , values taken from ref. 41) of investigated oils (CPME = cyclopentyl methyl ether, MTHF = 2-methyl tetrahydrofuran, DCM = dichloromethane) and (B) photographs of water/oil Pickering emulsions stabilized by [P4VPH][Cl] particles at 14 mmolH<sup>+</sup>/g (49.5/49.5/1 wt.%, 11,500 rpm, 60 s, 25 °C).

in the order CPME  $\approx$  MTHF  $\ll$  n-heptane  $\approx$  toluene  $\approx$  DCM, which is compatible with a modulation of the local environment. Indeed, the oil polarity induces a change in the emulsification ability due to the intermediate wettability of the [P4VPH][Cl], which has hydrophilic and hydrophobic domains (*i.e.* charged or uncharged pyridine units, respectively). As the stabilizing ability of [P4VPH][Cl] is improved with non-polar oils than more polar oils (*i.e.* H-bond acceptor solvents), we propose that this dependence is due to solvation and/or porosity of the particles that allows the adsorption of non-polar solvents onto the particle surface or inside (see above). This phenomenon can be related to the hydrophobic interactions between the non-polar molecules and the [P4VPH][Cl] hydrophobic domains (*i.e.* van der Waals forces). It is noteworthy that complementary interactions such as  $\pi$ - $\pi$  stacking take place between the aromatic rings of [P4VPH][Cl] particles and toluene molecules. In contrast, for H-bond acceptor solvents, interactions through electrostatic forces can be expected between the cationic pyridinium group and the oxygen atoms of the solvents. This solvation leads to the interfacial charge screening of the [P4VPH][Cl] making the particles too hydrophobic to stabilize Pickering emulsions as in the case of pristine P4VP.

Based on these observations, n-heptane-based Pickering emulsions have served as model systems in the following discussion. Nevertheless, the observations, described below, can be extended to all hydrocarbons and halogenated hydrocarbons. In spite of everything, it is noteworthy that a slow phase separation is observed with time but without total phase separation for emulsions stabilized by non-polar oils including n-heptane. Consequently, the heptane-based system was optimized to provide stable emulsions. The general composition of the stable systems is: 5 wt.% of [P4VPH][Cl] particles supplemented with water and n-heptane (47.5 wt.% each). The emulsification was performed over 60 s at 11,500 rpm and 25 °C. In more detail, for pristine P4VP, used as a control experiment, a coarse heterogeneous whitish phase, composed of aggregated solvated particles, was observed at mid-height of the tube with upper heptane and lower aqueous phase. This observation confirms that P4VP particles are too hydrophobic to stabilize Pickering emulsions. Similar behavior is observed for [P4VPH][Cl] at 5 mmolH<sup>+</sup>/g due to an unfavorable amphiphilic balance. Indeed, despite a slight increase in charge density by protonation, the latter remained too hydrophobic to stabilize Pickering emulsions. As expected, for [P4VPH][Cl] particles with acidity  $> 90$  mmolH<sup>+</sup>/g, we observed systems composed of three phases: limpid heptane, water in which some [P4VPH][Cl] particles were dispersed, and a large excess of particles at the sample bottom. Again, a disadvantageous amphiphilic balance is

observed (too hydrophilic this time). In contrast, the acidic particles between 14 and 90 mmolH<sup>+</sup>/g provided homogeneous whitish emulsions with an aqueous external phase as evidenced by the measurement of electrical conductivity. The emulsion volume fractions, the mean droplet diameters and some typical photomicrographs of heptane-in-water emulsions are shown in Fig. 8.

As it can be seen, the acidic particles of 39 mmolH<sup>+</sup>/g were more effective in emulsifying heptane in water than the three other ones (emulsion volume fraction = 100% and oil droplets =  $7 \pm 1$   $\mu$ m). This observation can be directly related to the optimal amphiphilic balance and to the  $\zeta$ -potential acquired in water ( $+57 \pm 6$  mV, see above). Indeed, this high  $\zeta$ -potential allows a higher electrostatic repulsions leading to the inhibition of the coalescence phenomenon. This assertion is corroborated with the emulsion stability, since no destabilization was observed when increasing the temperature at 60 °C for 3 h.

The destabilization mechanisms of the emulsions can be identified by SMLS since the backscattered light ( $\Delta$ BS) is related to droplet migration, droplet size and phases thickness (Fig. 9A) [42].

For the acidic particles of 14 mmolH<sup>+</sup>/g, a creaming was detected as the  $\Delta$ BS over time decreases at the sample's bottom whereas the increase of  $\Delta$ BS at the mid-height indicated a coalescence process (*i.e.* droplet size variation). For the three other [P4VPH][Cl] particles, a slight droplet size variation due to coalescence was also observed. As the sample with the smallest  $\Delta$ BS variation over time is the most stable: the acidic particles of 39 mmolH<sup>+</sup>/g were qualitatively more stable. However, the coalescence process cannot be considered as a true instability since it is limited. Indeed, this process is conventionally observed when the surface of the droplets covered by the particles is partial leading to coalescence until a compact monolayer is obtained. For instance, the emulsion stabilized by the acidic particles of 39 mmolH<sup>+</sup>/g exhibits a long-term stability since the volume fraction was still 100% and that the mean droplet size did not change appreciably after one year at room temperature. Moreover, even centrifugation (5000 rpm for 20 min) failed to destabilize this emulsion. In contrast, for the acidic particles of 14 mmolH<sup>+</sup>/g, the creaming is undesirable because it causes difficulties to storage and handling. In addition, this variation in stability can also be attributed to the macroscopic texture of the emulsions which are in the form extremely thick pasty systems with the exception of that stabilized by the acid particles of 14 mmolH<sup>+</sup>/g which give a creamy texture due to a smaller droplet size ( $31 \pm 3$  vs.  $7 \pm 1$   $\mu$ m, see Fig. 8). These observations are perfectly corroborated with the viscosity of the Pickering emulsions (Fig. 9B). A clear divergence between the emulsion stabilized by the acidic particles of 14 mmolH<sup>+</sup>/g and the other three is

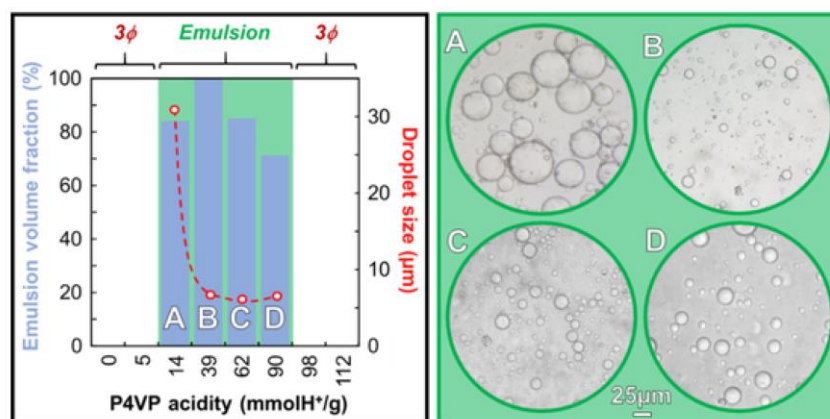


Fig. 8. Emulsion volume fractions (S.D.  $\pm$  2%), mean droplet diameters (S.D.  $\pm$  10%) and typical photomicrographs of heptane-in-water Pickering emulsions stabilized by [P4VPH][Cl] or pristine P4VP particles (water/heptane/particles 47.5/47.5/5 wt.%, 11,500 rpm, 60 s, 25 °C).

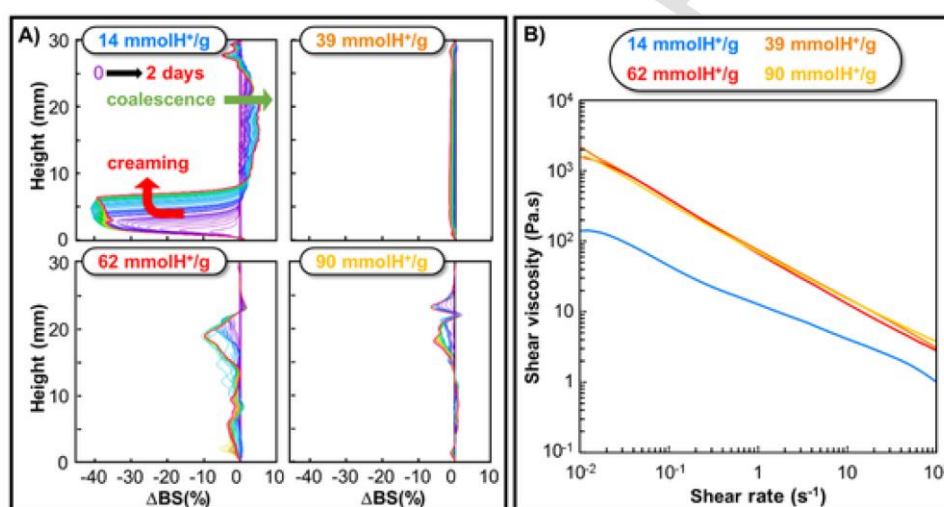


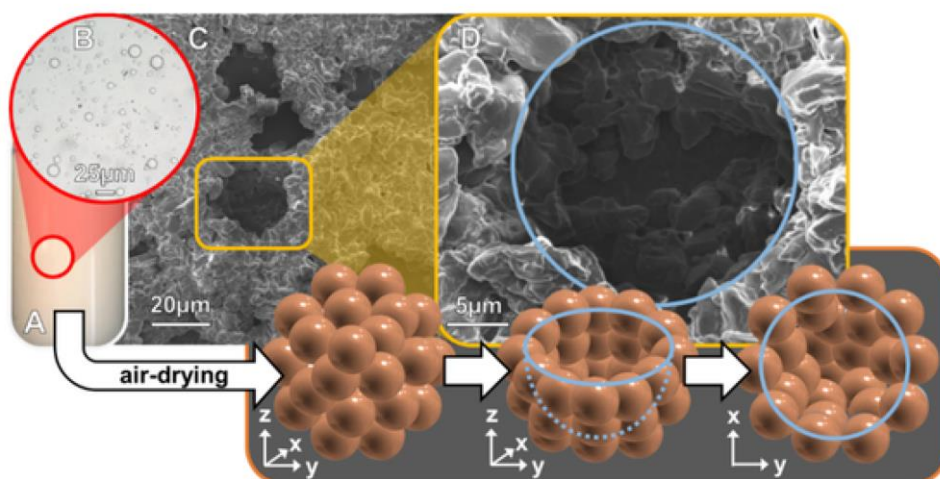
Fig. 9. Backscattering ( $\Delta$ BS) versus sample height and time at 25 °C (A) and shear viscosity as a function of shear rate (B) for heptane-in-water emulsions stabilized by [P4VPH][Cl] particles of different acidity (water/heptane/particles 47.5/47.5/5 wt.%, 11,500 rpm, 60 s, 25 °C).

observed. Indeed, the shear viscosity of the emulsion stabilized by the acidic particles of 39 mmolH<sup>+</sup>/g is on average 12-fold higher than that stabilized by the acid particles of 14 mmolH<sup>+</sup>/g. This evolution seems to be dependent on the droplet size of the emulsion: high-emulsion viscosity is obtained for very fine droplet size (compare Figs. 8 and 9B). However, the emulsions are highly viscous under storage conditions, but exhibit low viscosity under shear rate: their viscosity is inferior to 4 Pa.s at 100 s<sup>-1</sup>.

In order to investigate the packing and ordering of the particles at the oil-water interface, SEM experiments were performed. The heptane-in-water emulsion stabilized by [P4VPH][Cl] particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g was deposited onto a carbon conductive adhesive tape stuck on a stub. The “ghost” emulsion could be observed using a conventional SEM after evaporation of water and heptane-core by air-drying and chromium coating [43]. SEM images of the “ghost” emulsion are shown in Fig. 10. Interestingly, “ghost” droplets are covered by a densely packed particle layer. However, the droplet sizes were seemed to be higher than observed ones by optical microscopy (around 15–20 vs. 7  $\pm$  1  $\mu$ m) probably due to an artefact due to the sample preparation prior to SEM imaging. Indeed, the evaporation of heptane-core by air-drying could result

in a greater or lesser extension of droplet sizes in accord with the vaporization rate. For instance, if the vaporization is fast (vacuum treatment), the emulsions structures are totally collapsed. In contrast, with an appropriate evaporation, we can observe intact droplets (Fig. 10C). As it can be seen, a careful look at the droplet surface reveals the presence of very large [P4VPH][Cl] particles whose shape and size are clearly different from those observed after a simple aqueous dispersion (around 1–5  $\mu$ m vs. 147  $\pm$  29 nm). Moreover, the particles are very densely packed around the droplets leading to a complex network after solvent vaporization. However, this particles packing is impossible without very strong attractive forces between the particles since the particles are positively charged (+57  $\pm$  6 mV, see above).

Therefore, the question is what is the origin of this attraction? A plausible explanation is that the dense interfacial packing is due to the penetration of heptane inside the particles leading to their swelling and to their aggregation (bridging mechanism using heptane molecules, see Fig. 1). Consequently, the particles are fused or coagulated with a loss of their initial spherical shape and an increase in their apparent size. This assertion is confirmed by the measurement of  $D_h$  of [P4VPH][Cl] particles in heptane which provides an apparent size of 3  $\mu$ m (see



**Fig. 10.** Macroscopic view (A), photomicrograph (B) and electron micrograph, observed by SEM after vaporization of water and heptane-core by air-drying, (C and D) of heptane-in-water emulsion stabilized by [P4VPH][Cl] particles (water/heptane/particles 47.5/47.5/5 wt.%, 11,500 rpm, 60 s, 25 °C). The inset shows the interpretation of SEM images.

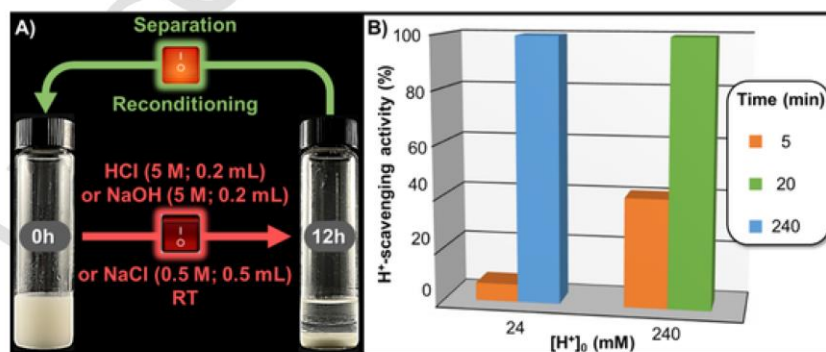
above). The bridging mechanism compensates for the long-ranged coulombic repulsion caused by the charges at the particle surface. It is noteworthy that the complex network structure can be due to the capillary forces that are probably particularly pronounced with the rough fused particles formed. Obviously, this network is involved in the very good stability as well as in the high viscosity of the emulsion stabilized by [P4VPH][Cl] particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g (see above).

Next, the destabilization of the Pickering emulsion stabilized by [P4VPH][Cl] particles were investigated due to the potential applications of this system in organic synthesis for example. Indeed, the properties of the Pickering emulsion stabilized by [P4VPH][Cl] particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g (*i.e.* large interface area with unprecedented resistance against centrifugation and high temperatures) make such a system of particular interest for biphasic reactions in which the stabilizing particles would act as reagent proton, scavenger, and/or catalyst. Our physicochemical results support that the destabilization could easily be obtained by extreme pH changes since neutral and very acid (> 90 mmolH<sup>+</sup>/g) particles are unable to stabilize Pickering emulsions (see Fig. 8). In addition, ionic strength variations also appear to be able to destabilize the emulsions since the accumulation of chlorides onto the surface of the most acidic particles leads to the phase separation by sedimentation (see Fig. 6). For this purpose, the effect of adding aqueous solutions of HCl, NaOH or NaCl on the Pickering emulsion stabilized by

[P4VPH][Cl] particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g is reported in Fig. 11A (room temperature without stirring).

As expected, the phase separations were obtained after 12 h. On the other hand, it should be noted that addition of neat water to the emulsions does not destabilize them (control experiment). In this case, the emulsions are simply diluted. The particles can be washed thoroughly with demineralized water to remove the electrolytes (until neutral pH) and then dried before reconditioning them (see above) in order to provide new emulsions. It is noteworthy that the size of droplet is slightly increased after recycling (11 ± 1 vs. 7 ± 1 µm) due to the low loss of particles incurred during the recovery.

Finally, since P4VP is widely used as a scavenger, we have evaluated the proton-scavenging activity of the Pickering emulsion containing 5 wt.% of [P4VPH][Cl] at 39 mmol of H<sup>+</sup> per gram. From a theoretical point of view, 100 g of such an emulsion are able to fix a maximum value of 365 mmol of H<sup>+</sup> (*i.e.* five times the difference between the maximum capacity that can be obtained and that of the particle used, each expressed in the form of acid density; mmol H<sup>+</sup>/g) corresponding to 7.68 M of HCl in the aqueous phase. As this value is very far from the reaction media commonly used, we therefore tested more realistic concentrations. In addition, emulsions no longer exist at this concentration (see above). In respect with this, two Pickering emulsions were prepared using 47.5 wt.% of aqueous HCl solution ([H<sup>+</sup>]<sub>0</sub> = 24 or



**Fig. 11.** Destabilization by pH and ionic strength changes (A), and H<sup>+</sup>-scavenging activity as a function of time and initial [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub> concentration in aqueous phase, (B) of heptane-in-water emulsions (47.5 wt.% each) stabilized by [P4VPH][Cl] particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g (5 wt.%).

240 mM) supplemented with 47.5% of heptane and 5% of particles at 39 mmolH<sup>+</sup>/g. After emulsification over 60 s at 11,500 rpm, the systems were stirred at 200 rpm at 25 °C. After a given time, the free H<sup>+</sup> concentration [H<sup>+</sup>]<sub>f</sub> was measured using a pH-meter and the H<sup>+</sup>-scavenging activity was calculated as the ratio between the scavenged H<sup>+</sup> concentration, [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>-[H<sup>+</sup>]<sub>f</sub>, and [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>. The H<sup>+</sup>-scavenging activity varies as a function of initial HCl concentration in aqueous phase and as a function of time (see Fig. 11B). For instance, after 5 min of contact, the H<sup>+</sup>-scavenging activities were of 7% and 41% for 24 and 240 mM of [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>. On the other hand, the time needed to obtain an activity > 99% is of 240 and 20 min for 24 and 240 mM of [H<sup>+</sup>]<sub>0</sub>. These both observations reflect that the rate-determining step is the H<sup>+</sup> concentration and its diffusion. Moreover, it is noteworthy that the phase separation was progressively achieved during the contact time. All these findings show that the [P4VPH][Cl] particles can be used as a route to easily manage the phase separation in Pickering emulsions using “on-off” switches based on pH and ionic strength with potential practical applications in synthesis [44].

#### 4. Conclusion

In this study, we developed oil-in-water Pickering emulsions stabilized by partially protonated crosslinked poly(4-vinylpyridine) particles (P4VP). The charge density of particles could be finely adjusted from 0 to 112 mmolH<sup>+</sup>/g. The physicochemical data revealed that the protonated P4VP particles with 39 mmolH<sup>+</sup>/g were more effective in emulsifying heptane in water than pristine or higher protonated ones. The obtained emulsion exhibited excellent stability against centrifugation and temperature (up to 5000 rpm and 60 °C). Nevertheless, the phase separation can be easily controlled using “on-off” switches based on pH and ionic strength, facilitating at the same time the particle recovery. In contrast to the previous works, which used synthesized P4VP-based microgel particles, the raw material (*i.e.* crosslinked P4VP) is inexpensive, commercially available and can be used without chemical transformation (*e.g.* (co)polymerization, cross-linking, grafting, *etc.*) to lead to very simple and cheap responsive Pickering emulsion systems [22, 28–33]. In addition, our results support that the degree of control arises from the swelling capacity of crosslinked P4VP particles, confirming the commonly accepted mechanism [22–24]. Contrary to the literature data on responsive Pickering emulsions [28–33] and in respect with the Leonardo da Vinci quote (“simplicity is the ultimate sophistication”), our system provides a facile route to construct “on-off” switches by simply using P4VP cross-linked particles which possess changeable structures based on electrostatic repulsions. Moreover, the flexibility of the proposed system could be used to load various catalytic metal cations (such as Cu, Ru, Au, Zn, *etc.*) since the P4VP polymers are known to complex them thanks to the pyridine units [45–47]. As such responsive emulsions are very attractive to perform chemical transformations in biphasic media, in which the P4VP particles would act as a reagent, scavenger, catalyst, and/or ligand of metal ions, work is underway in our group to develop practical applications with significant environmental and economic perspectives in organic synthesis.

#### CRedit authorship contribution statement

**Grégory Douyère:** Methodology, Investigation, Data curation, Writing – original draft. **Loïc Leclercq:** Conceptualization, Formal analysis, Visualization, Supervision, Writing – review & editing. **Véronique Nardello-Rataj:** Conceptualization, Supervision, Funding acquisition, Project administration, Validation.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

The Chevreul Institute is thanked for its help in the development of this work through the ARCHI-CM project supported by the “Ministère de l’Enseignement Supérieur de la Recherche et de l’Innovation”, the region “Hauts-de-France”, the ERDF program of the European Union and the “Métropole Européenne de Lille”. We are grateful to Dr. Jean-François Dechézelles, Ahmed Addad and Alexandre Fadel for their help on the SEM and TEM experiments at the “Plateforme de Microscopie Electronique de Lille” (PMEL) and Mike Ortega for the stewardship (scientific equipment and consumables).

#### References

- T. Zhang, J. Xu, J. Chen, Z. Wang, X. Wang, J. Zhong, Protein nanoparticles for Pickering emulsions: a comprehensive review on their shapes, preparation methods, and modification methods, *Trends Food Sci. Technol.* 113 (2021) 26–41, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.054>.
- J.W. Abdullah, T. Ahmad, C. Zhang, H. Zhang, A review of recent progress on high internal-phase Pickering emulsions in food science, *Trends Food Sci. Technol.* 106 (2020) 91–103, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.016>.
- C. Albert, M. Beladjine, N. Tsapis, E. Fattal, F. Agnely, N. Huang, Pickering emulsions: preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications, *J. Control. Release* 309 (2019) 302–332, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>.
- J. Tang, P.J. Quinlan, K.C. Tam, Stimuli-responsive Pickering emulsions: recent advances and potential applications, *Soft Matter* 11 (2015) 3512–3529, <https://doi.org/10.1039/c5sm00247h>.
- L. Leclercq, J. Tessier, V. Nardello-Rataj, A.-R. Schmitzer, Highly active, entirely biobased antimicrobial Pickering emulsions, *ChemMedChem* 16 (2021) 2223–2230, <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100030>.
- Y. Yang, Z. Fang, X. Chen, W. Zhang, Y. Xie, Y. Chen, Z. Liu, W. Yuan, An overview of Pickering emulsions: solid-particle materials, classification, morphology, and applications, *Front. Pharmacol.* 8 (2017) 287, <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>.
- Y. He, F. Wu, X. Sun, R. Li, Y. Guo, C. Li, L. Zhang, F. Xing, W. Wang, J. Gao, Factors that affect Pickering emulsions stabilized by graphene oxide, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (11) (2013) 4843–4855, <https://doi.org/10.1021/am400582n>.
- B. Yang, L. Leclercq, V. Schmitt, M. Pera-Titus, V. Nardello-Rataj, Colloidal tectonics for tandem synergistic Pickering interfacial catalysis: oxidative cleavage of cyclohexene oxide into adipic acid, *Chem. Sci.* 10 (2) (2019) 501–507, <https://doi.org/10.1039/c8sc03345e>.
- J. Luo, M. Zeng, B. Peng, Y. Tang, L. Zhang, P. Wang, L. He, D. Huang, L. Wang, X. Wang, M. Chen, S. Lei, P. Lin, Y. Chen, Z. Cheng, Electrostatic-driven dynamic jamming of 2D nanoparticles at interfaces for controlled molecular diffusion, *Angew. Chem. Int. Ed.* 57 (36) (2018) 11752–11757, <https://doi.org/10.1002/anie.201807372>.
- J.B. Mougel, P. Bertoncini, B. Cathala, O. Chauvet, I. Caprona, Macroporous hybrid Pickering foams based on carbon nanotubes and cellulose nanocrystals, *J. Colloid Interface Sci.* 544 (2019) 78–87, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.127>.
- B.V. Farias, D. Brown, A. Hearn, N. Nunn, O. Shenderov, S.A. Khana, Nanodiamond-stabilized Pickering emulsions: microstructure and rheology, *J. Colloid Interface Sci.* 580 (2020) 180–191, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.07.030>.
- G. Sun, X. Liu, D.J. McClements, S. Liu, B. Li, Y. Li, Chitin nanofibers improve the stability and functional performance of Pickering emulsions formed from colloidal zein, *J. Colloid Interface Sci.* 589 (2021) 388–400, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.01.017>.
- Q. Jiang, S. Li, L. Du, Y. Liu, Z. Meng, Soft κ-carrageenan microgels stabilized Pickering emulsion gels: compact interfacial layer construction and particle-dominated emulsion gelation, *J. Colloid Interface Sci.* 602 (2021) 822–833, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.070>.
- L. Leclercq, J. Tessier, G. Douyère, V. Nardello-Rataj, A.R.- Schmitzer, Phytochemical- and cyclodextrin-based Pickering emulsions: natural potentiators of antibacterial, antifungal, and antibiofilm activity, *Langmuir* 36 (16) (2020) 4317–4323, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>.
- L. Leclercq, Get beyond limits: from colloidal tectonics concept to the engineering of eco-friendly catalytic systems, *Front. Chem.* 6 (2018) 168, <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00168>.
- H. Liu, C. Wang, S. Zou, Z. Wei, Z. Tong, Simple, reversible emulsion system switched by pH on the basis of chitosan without any hydrophobic modification, *Langmuir* 28 (30) (2012) 11017–11024, <https://doi.org/10.1021/la3021113>.
- Q. Mao, M. Li, S. Zhang, X. Zhang, G. He, W. Zhang, Chitosan-hydrophobic alginate nanocomposites stabilized pH-triggered Pickering emulsion for drug

- controlled-release, *Int. J. Biol. Macromol.* 162 (2020) 1888–1896, <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2020.08.092>.
- [18] A. Schrade, K. Landfester, U. Ziener, Pickering-type stabilized nanoparticles by heterophase polymerization, *Chem. Soc. Rev.* 42 (16) (2013) 6823–6839, <https://doi.org/10.1039/c3cs60100e>.
- [19] M. Pera-Titus, L. Leclercq, J.-M. Clacens, F. De Campo, V. Nardello-Rataj, Pickering interfacial catalysis for biphasic systems: from emulsion design to green reactions, *Angew. Chem. Int. Ed.* 54 (2015) 2006–2021, <https://doi.org/10.1002/anie.201402069>.
- [20] H. Jiang, Y. Sheng, T. Ngai, Pickering emulsions: versatility of colloidal particles and recent applications, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 49 (2020) 1–15, <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.04.010>.
- [21] E. Dickinson, Microgels: an alternative colloidal ingredient for stabilization of food emulsions, *Trends Food Sci. Technol.* 43 (2) (2015) 178–188, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.02.006>.
- [22] B.P. Binks, R. Murakami, S.P. Armes, S. Fujii, Effects of pH and salt concentration on oil-in-water emulsions stabilized solely by nanocomposite microgel particles, *Langmuir* 22 (5) (2006) 2050–2057, <https://doi.org/10.1021/la053017>.
- [23] Z. Li, T. Ngai, Microgel particles at the fluid-fluid interfaces, *Nanoscale* 5 (4) (2013) 1399–1410, <https://doi.org/10.1039/c2nr33503d>.
- [24] M.-C. Tattray, P. Galanopoulou, L. Waldmann, V. Lapeyre, P. Garrigue, V. Schmitt, V. Ravaine, Pickering emulsions stabilized by thermoresponsive oligo(ethylene glycol)-based microgels: effect of temperature-sensitivity on emulsion stability, *J. Colloid Interface Sci.* 589 (2021) 96–109, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.12.082>.
- [25] B. Brügger, W. Richtering, Emulsions stabilized by stimuli-sensitive poly(*n*-isopropylacrylamide)-co-methacrylic acid polymers: microgels versus low molecular weight polymers, *Langmuir* 24 (15) (2008) 7769–7777, <https://doi.org/10.1021/la800522h>.
- [26] S. Wiese, A.C. Spiess, W. Richtering, Microgel-stabilized smart emulsions for biocatalysis, *Angew. Chem. Int. Ed.* 52 (2) (2013) 576–579, <https://doi.org/10.1002/anie.201206931>.
- [27] S. Dai, P. Ravi, K.C. Tam, pH-Responsive polymers: synthesis, properties and applications, *Soft Matter* 4 (3) (2008) 435–449, <https://doi.org/10.1039/b714741d>.
- [28] S. Fujii, E.S. Read, B.P. Binks, S.P. Armes, Stimulus-responsive emulsifiers based on nanocomposite microgel particles, *Adv. Mater.* 17 (8) (2005) 1014–1018, <https://doi.org/10.1002/adma.200401641>.
- [29] Z. Fang, D. Yang, Y. Gao, H. Li, pH-responsive Pickering emulsion and its catalytic application for reaction at water–oil interface, *Colloid Polym. Sci.* 293 (2015) 1505–1513, <https://doi.org/10.1007/s00396-015-3533-8>.
- [30] A.M. Atta, A.O. Ezzat, H.A. Al-Lohedan, A.M. Tawfeek, A.A. Alobaidi, Preparation of pH responsive polystyrene and polyvinyl pyridine nanospheres stabilized by mickering microgel emulsions, *Nanomaterials* 9 (12) (2019) 1693, <https://doi.org/10.3390/nano9121693>.
- [31] N. Sahiner, A.M. Atta, A.O. Yasar, H.A. Al-Lohedan, A.O. Ezzat, Surface activity of amphiphilic cationic pH-responsive poly(4-vinylpyridine) microgel at air/water interface, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 482 (2015) 647–655, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.07.035>.
- [32] K. Kim, B. Vincent, pH and Temperature-sensitive behaviors of poly(4-vinylpyridine-co-*n*-isopropyl acrylamide) microgels, *Polym. J.* 37 (2005) 565–570, <https://doi.org/10.1295/polymj.37.565>.
- [33] T. Zeng, A. Deng, D. Yang, H. Li, C. Qi, Y. Gao, Triple-responsive Pickering emulsion stabilized by core cross-linked supramolecular polymer particles, *Langmuir* 35 (36) (2019) 11872–11880, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b02341>.
- [34] L. Leclercq, I. Suisse, G. Nowogrocki, F. Agbossou-Niedercorn, Halide-free highly-pure imidazolium triflate ionic liquids: preparation and use in palladium-catalysed allylic alkylation, *Green. Chem.* 9 (10) (2007) 1097–1103, <https://doi.org/10.1039/b703096g>.
- [35] F. Espinola-Portilla, O. Serrano-Torres, G.F. Hurtado-López, U. Sierra, A. Varenne, F. d'Orlyé, L. Trapiella-Alfonso, S. Gutiérrez-Granados, G. Ramírez-García, Superparamagnetic iron oxide nanoparticles functionalized with a binary alkoxysilane array and poly(4-vinylpyridine) for magnetic targeting and pH-responsive release of doxorubicin, *N. J. Chem.* 45 (7) (2021) 3600–3609, <https://doi.org/10.1039/d0nj05227b>.
- [36] L. Franck-Lacaz, P. Sístat, P. Huguet, Determination of the pKa of poly(4-vinylpyridine)-based weak anion exchange membranes for the investigation of the side proton leakage, *J. Membr. Sci.* 326 (2) (2009) 650–658, <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.10.054>.
- [37] Y.D. Vorontsov, V.P. Panov, Vibrational spectra of protonated poly-4-vinylpyridine, *Polym. Sci. USSR* 18 (11) (1976) 2752–2759, [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(76\)90212-4](https://doi.org/10.1016/0032-3950(76)90212-4).
- [38] J.W. Heyt, M.J. Diaz, Equivalent diameters of rectangular and oval ducts, *ASHRAE Trans.* 81 (2) (1975) 221–232.
- [39] Y. Zang, H. Zhu, H. Xue, Design of a novel “ON-OFF” switchable enzymatic biofuel cell based on pH-sensitive PS-*b*-P4VP diblock copolymer, *Electrochim. Acta* 259 (2018) 676–684, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.11.023>.
- [40] P. Vanýšek, Equivalent conductivity of electrolytes in aqueous solution, in: J.R. Rumble (Ed.), *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 99th edition., CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, FL, USA, 2018.
- [41] A. Duereh, Y. Sato, R. Lee Smith Jr., H. Inomata, Methodology for replacing dipolar aprotic solvents used in API processing with safe hydrogen-bond donor and acceptor solvent-pair mixtures, *Org. Process Res. Dev.* 21 (1) (2017) 114–124, <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.6b00401>.
- [42] L. Leclercq, V. Nardello-Rataj, Pickering emulsions based on cyclodextrins: a smart solution for antifungal azole derivatives topical delivery, *Eur. J. Pharm. Sci.* 82 (2016) 126–137, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.11.017>.
- [43] L. Leclercq, J.-F. Dechézelles, G. Rauwel, V. Nardello-Rataj, In vitro study of versatile drug formulations based on  $\alpha$ -cyclodextrin and polyethylene glycol using colloidal tectonics, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 59 (2020) 101913, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101913>.
- [44] N.G. Khaligh, H.S. Abbo, M.R. Johan, S.J.J. Titinchi, Poly(vinyl pyridine): a versatile polymer in catalysis, *Curr. Org. Chem.* 23 (4) (2019) 439–479, <https://doi.org/10.2174/1385272823666190320145410>.
- [45] A. Nagai, A. Takahashi, T. Komatsu, T. Nakagawa, Complex formation of poly(4-vinylpyridine) with copper(II) ion in mixed solvent, *Polym. J.* 20 (1988) 609–614, <https://doi.org/10.1295/polymj.20.609>.
- [46] T. Zheng, M. Zhu, M. Waqas, A. Umair, M. Zaheer, J. Yang, X. Duan, L. Li, P4VP-Ru(II)(bda) polyelectrolyte–metal complex as water oxidation catalyst: on the unique slow-diffusion and multi-charge effects of the polyelectrolyte ligand, *RSC Adv.* 8 (2018) 38818–38830, <https://doi.org/10.1039/c8ra08012g>.
- [47] E. Hobbollahi, M. List, U. Monkowius, Poly(4-vinylpyridine) as ligand for Au(I) and Zn(II) cations: luminescent metal-containing polymers, *Mon. Chem.* 150 (2019) 877–883, <https://doi.org/10.1007/s00706-019-2382-4>.

## Annexe 4 – Publication Chapitre III

## LANGMUIR

[pubs.acs.org/Langmuir](https://pubs.acs.org/Langmuir)

Article

# 1 Phytochemical- and Cyclodextrin-Based Pickering Emulsions: 2 Natural Potentiators of Antibacterial, Antifungal, and Antibiofilm 3 Activity

4 Loïc Leclercq,\* Jérémie Tessier, Grégory Douyère, Véronique Nardello-Rataj,  
5 and Andreea R. Schmitzer\*

Cite This: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>

Read Online

ACCESS |



Metrics &amp; More

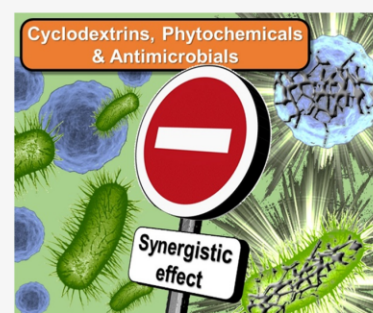


Article Recommendations



Supporting Information

6 **ABSTRACT:** We present self-assembled Pickering emulsions containing biocidal  
7 phytochemical oils (carvacrol and terpinen-4-ol) and  $\beta$ -cyclodextrin able to potentiate  
8 the antimicrobial and antibiofilm activity of miconazoylium bromide. The carvacrol-  
9 containing emulsion is 2-fold more sensitive against *C. albicans* and *S. aureus* and highly  
10 active against *E. coli*, compared to the commercial cream containing miconazole nitrate.  
11 Moreover, this emulsion shows a synergistic effect against fungi, additive responses  
12 against bacteria, and remarkable staphylococcal biofilm eradication. These results are  
13 associated with membrane permeabilization, enzymes inhibition, and the accumulation  
14 of reactive oxygen species in microorganisms.



## 15 ■ INTRODUCTION

16 The invasion of an organism by pathogens (bacteria, fungi,  
17 etc.) can cause health problems and even lead to death.  
18 Although hosts can react using their immune system,  
19 medications are widely prescribed to fight infectious diseases.  
20 However, as the drug/target interaction is very selective and  
21 specific, antibiotics are generally active on bacteria but not on  
22 fungi and vice versa.<sup>2</sup> Therefore, antifungals and antibiotics are  
23 used to fight fungi and bacteria, respectively. Unfortunately, as  
24 fungal infections can be superinfected with bacteria, antifungal  
25 therapy can lead to bacterial overgrowth.<sup>3</sup> Conversely,  
26 increased fungal microbiota growth is a common side effect  
27 of antibiotic therapy.<sup>4</sup> This is particularly vivid in immune-  
28 compromised patients for whom superficial infections,  
29 frequently caused by *Candida albicans*, can lead to esophagus  
30 candidiasis or candidemia (the fourth cause of blood infections  
31 in the United States).<sup>5</sup> Moreover, debilitated patients are at  
32 greater risk of contracting hospital-acquired infections: Gram-  
33 negative bacteria (e.g., *Escherichia coli*) are estimated to  
34 account for two-thirds of the 25 000 hospital deaths per year  
35 in Europe.<sup>6</sup> The repeated exposure to antimicrobials may be an  
36 aggravating factor, as increasing selective pressure results in the  
37 emergence of resistant microorganisms (e.g., methicillin-  
38 resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA (Gram-positive)).<sup>7</sup>  
39 Furthermore, the formation of biofilms (accretion of micro-  
40 organisms) results in more resistant infections to antimicro-  
41 bials, leading to chronic diseases.<sup>8</sup> For example, *S. aureus* forms

biofilms responsible for over 50 000 deaths annually in the  
United States.<sup>9,10</sup>

43  
44 In this context, antimicrobials able to eradicate biofilms with  
45 large antibacterial and antifungal spectrums are necessary.<sup>11–15</sup>  
46 Among the numerous commercially employed antimicrobials,  
47 miconazole nitrate, [HMC][NO<sub>3</sub>], responds partially to this  
48 request.<sup>16</sup> Indeed, it is active against a wide range of fungi and  
49 Gram-positive bacteria. Its antifungal activity is due to the  
50 inhibition of lanosterol 14- $\alpha$ -demethylase, involved in ergo-  
51 sterol synthesis.<sup>17</sup> Since ergosterol is a major constituent of the  
52 fungal membrane, its depletion and the accumulation of toxic  
53 precursors result in growth inhibition. Additionally, [HMC]-  
54 [NO<sub>3</sub>] induces the generation and accumulation of reactive  
55 oxygen species (ROS).<sup>18</sup> These ROS act as nitric oxide  
56 dioxygenase inhibitors, leading to significant cellular structural  
57 damage with lethal effects.<sup>19</sup> Although [HMC][NO<sub>3</sub>] was  
58 inefficient against Gram-negative bacteria and biofilms, its  
59 N-alkylation with *n*-octyl bromide was found to boost its  
60 antimicrobial activity.<sup>20</sup>

61 Herein, we decided to both formulate and potentiate the  
62 activity of miconazoylium bromide, [C<sub>8</sub>MC][Br], using

Received: February 5, 2020

Revised: March 31, 2020

Published: April 9, 2020



63 carvacrol<sup>21–24</sup> and terpinen-4-ol, two phytochemicals known  
64 to permeabilize microbial membranes (Figure 1).<sup>25–27</sup>

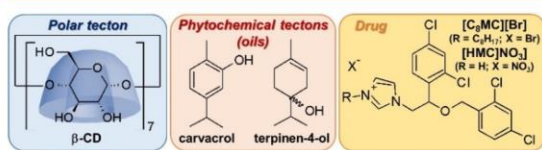


Figure 1. Structure and abbreviation of compounds used in this work.

65 These two liquid compounds, largely insoluble in water and  
66 toxic to microbial cells, can be used to obtain aqueous biphasic  
67 systems in which the phytochemical oils are used as organic  
68 solvents for  $[C_8MC][Br]$ .<sup>21–27</sup> These water/oil systems in the  
69 presence of  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) can be used to build up  
70 drug delivery platforms based on Pickering emulsions using the  
71 colloidal tectonics concept.<sup>28–31</sup> In these media, host–guest  
72 interactions between polar and phytochemical tectons (CD  
73 and oil) lead to “amphiphilic” structured particles which  
74 adsorb at the water/oil interface, leading to Pickering  
75 emulsions.<sup>28</sup> These drug delivery systems can be charged  
76 with azole-based drugs by direct solubilization in the  
77 phytochemical oil phase. They are inexpensive, and their use  
78 presents the great advantage of avoiding the use of petro-  
79 sourced molecular surfactants or modified silica nano-  
80 particles.<sup>28</sup> When the phytochemical oils are used in  
81 combination with  $[C_8MC][Br]$ , it is expected that a synergy  
82 will be obtained in terms of antimicrobial and antibiofilm  
83 activities due to cumulative membrane damage. These  
84 formulations could then be very helpful for clinical applications  
85 since a boosted antimicrobial allows (i) a faster eradication of  
86 pathogens, (ii) a shorter treatment time, and (iii) a weaker  
87 spread of resistant pathogens via a complete and broad-  
88 spectrum eradication.<sup>32,33</sup>

## 89 ■ EXPERIMENTAL SECTION

90 **General Information.** All chemicals were purchased from Sigma-  
91 Aldrich. NMR spectra were recorded in deuterated solvents at 400  
92 MHz on Bruker spectrometers. The purity of the final compounds  
93 used in the biological assays was determined by ESI/LC-MS analysis  
94 ( $\geq 95\%$ ). The microbial strains used were methicillin-resistant *S.*  
95 *aureus* ATCC 43300, *E. coli* ATCC 25922, and *C. albicans* SC5314.  
96 Sterile water was used in all experiments, all performed in triplicate.

97 **Synthesis of Miconazoctylium Bromide.** Miconazole (100 mg,  
98 0.24 mmol) and *n*-octyl bromide (125  $\mu$ L, 0.72 mmol) were refluxed  
99 for 2 h in MeCN (1 mL). The solvent was evaporated, and the residue  
100 was suspended in EtOAc to remove any trace of octyl bromide.  
101 Evaporation of the residual solvent afforded the salt as a white powder  
102 (135 mg, 0.22 mmol, 93%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.51 (s,  
103 1H), 7.49 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.46–7.43 (m, 2H), 7.34–7.26 (m,  
104 3H), 7.23–7.19 (m, 2H), 5.21 (dd, *J* = 7.5, 4.3 Hz, 1H), 4.74–4.60  
105 (m, 2H), 4.51 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.29  
106 (dh, *J* = 20.9, 7.3, 6.9 Hz, 2H), 1.91–1.80 (m, 2H), 1.26 (d, *J* = 20.4  
107 Hz, 10H), 0.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$   
108 138.64, 135.93, 135.02, 134.28, 133.77, 132.86, 132.22, 131.49,  
109 130.14, 129.39, 129.30, 128.37, 127.71, 122.57, 121.27, 76.18, 68.46,  
110 53.25, 50.44, 31.80, 30.38, 29.14, 29.05, 26.36, 22.71, 14.19. HRMS:  
111 (ESI) calcd for  $[M^+]$  C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O, 527.1185, found, 527.1194. IR  
112 (neat, cm<sup>-1</sup>) 3007.9, 2927.5, 2926.5, 2854.5, 1646.7, 1587.7, 1561.3,  
113 1467.4, 1379.8, 1338.7, 1298.0, 1222.8, 1191.2, 1145.5, 1095.9. MP:  
114 131–134 °C.

115 **Emulsion Preparation and Phase Diagram.** Oil and water  
116 were weighed before adding the  $\beta$ -CD. Note that, if appropriate, drugs  
117 were diluted in oil. The emulsification was performed using a Vortex-

Genie 2 (3200 rpm, 90 s, 25 °C, Scientific Industries Inc., USA). The  
118 type of emulsion was determined by conductivity measurements. The  
119 phase diagrams were obtained by visual and microscopic observations.  
120

121 **Microscopy.** Optical microphotographs of the samples were  
122 obtained using a light microscope (Standard 25 ICS, Zeiss GmbH,  
123 Germany) coupled with a CCD camera. The microphotographs were  
124 analyzed with ImageJ (NIH, USA), and the distribution function was  
125 obtained by the treatment of at least 250 individual measurements  
126 with a log-normal function using OriginPro 8 software (OriginLab  
127 Corp., USA). The morphology of the complexes was investigated with  
128 SEM (JSM-7800F LV, JEOL Ltd., Japan) operating at 2 kV for  
129 carvacrol and terpinen-4-ol complexes and at 5 kV for the complex  
130 formed with paraffin oil. The observations were performed by  
131 depositing the samples onto a carbon conductive adhesive tape stuck  
132 on a stub after air drying and chromium coating. WETSEM  
133 observations of the emulsion were carried out with QX-102 capsules  
134 (Quantomix Ltd., Israel). The sample preparation proceeded as  
135 follows: 15  $\mu$ L of sample was deposited in the liquid dish of the  
136 capsule and sealed with the stub, and the beam was focused on the  
137 metal support grid with the SE detector before changing to the BSE  
138 detector to observe the sample. WETSEM photographs were analyzed  
139 with ImageJ to obtain 3D views.

140 **X-ray Powder Diffraction.** The data were collected on a Bruker  
141 D8 Advance, Bragg–Brentano diffractometer (Cu *K* $\alpha$  radiation  $\lambda$  =  
142 1.54056 Å) equipped with a LynxEye detector. Experiments were  
143 conducted at room temperature over the 3–40°  $2\theta$  range with a 0.02°  
144 step size and a counting time of 5 s. The sample diffracting volume  
145 was about 3 cm<sup>2</sup>.

146 **Differential Scanning Calorimetry.** The measurements were  
147 performed on a DSC-Q1000 (TA Instruments, USA). About 10 mg of  
148 product was sealed in a Tzero Pan with a hermetic lid with a pinhole  
149 and heated from 25 to 550 °C at a heating rate of 5 °C/min.

150 **Multiple Light Scattering.** The stability of emulsions was  
151 evaluated at 25 °C by multiple light scattering using a Turbiscan Lab  
152 Expert (Formulation, USA). The samples were placed in cylindrical  
153 glass tubes, and the analysis was carried out as a variation of  
154 backscattering ( $\Delta$ BS) profiles. Measurements were carried out using a  
155 pulsed near-IR light-emitting diode (LED) at 880 nm. Two different  
156 synchronous optical sensors received the light transmitted through  
157 and backscattered by samples at 180 and 45° with respect to the  
158 incident radiation, respectively. The two sensors scanned the entire  
159 sample height. Experimental data were correlated in percentage to the  
160 light flux of two standards: a polystyrene latex suspension (in the  
161 absence of transmission and maximum backscattering) and silicon oil  
162 (with maximum transmission and in the absence of backscattering).

163 **Rheological Study.** Rheological properties of emulsions were  
164 evaluated using a Malvern Kinexus (Malvern Instruments, U.K.)  
165 equipped with parallel plate geometry at a controlled temperature.  
166 The diameter of the plates was 20 mm, and the gap was 1 mm. The  
167 temperature was controlled using a Peltier temperature control device  
168 located below the lower plate with an accuracy of 0.01 °C. Stress-  
169 controlled measurements were performed by imposing a logarithmic  
170 stress ramp increase followed by a reverse stress decrease from 0 to  
171 500 Pa·s.

172 **Antimicrobial Activity.** Activity was determined using the  
173 inhibition area on LB-agarose plates at 37 °C. The bacteria or yeast  
174 solution (OD = 0.1–0.15 at 600 nm) was spread onto LB-agar plates  
175 and incubated for 15 min at 37 °C for maximal absorption. One  
176 microliter of each emulsion was then plated on the infected agar plate  
177 and incubated for 12 h at 37 °C for bacteria and 30 °C for yeast. The  
178 area of inhibition for each formulation was then measured. The  
179 sterility tests used (LB only) were streaked onto LB-agar plates as an  
180 overall negative control, and infected plates without emulsion were  
181 streaked onto LB-agar plates as an overall positive control.

182 **Biofilm Disruption.** Bacteria were incubated in LB medium at 37  
183 °C for 5 h and diluted in LB medium to the desired final  
184 concentration (OD = 0.1–0.15 at 600 nm). After an incubation of  
185 12 h in eight-well chambers, the growth medium was removed via  
186 pipetting and the resulting biofilms were washed two times with a  
187 0.9% NaCl solution to remove the remaining planktonic cells. 187

188 Biofilms were labeled *Live/Dead* after 1 h of exposition with different  
 189 emulsions. Negative Control: DMSO (final concentration not  
 190 exceeding 10% volume). Positive Control: 70% ethanol (20 min  
 191 exposure). Biofilms were stained with a FilmTracer LIVE/DEAD  
 192 Biofilm viability kit (Molecular Probes, Life Technologies Ltd.).  
 193 Briefly, a working solution of fluorescent stains was prepared by  
 194 adding 1  $\mu$ L of SYTO9 stain and 1  $\mu$ L of propidium iodide (PI) stain  
 195 to 1 mL of filter-sterilized water. Two hundred microliters of staining  
 196 solution was deposited on each well of an eight-well chambered  
 197 coverglass, and after 15 min at room temperature in the dark, samples  
 198 were washed with sterile saline (0.9% NaCl) from the base of the  
 199 support material. The biofilms were examined with a confocal laser  
 200 microscope (Leica model TCS SP5; Leica Microsystems CMS  
 201 GmbH, Germany) using a 20 $\times$  dry objective (HC PL FLUOTAR  
 202 20.0  $\times$  0.50 DRY). A 488 nm laser line was used to excite SYTO 9,  
 203 while the fluorescence emission was detected from 500 to 540 nm. PI  
 204 was sequentially excited with the 561 nm laser line, and its  
 205 fluorescence emission was detected from 600 to 695 nm. The images  
 206 acquired with a confocal laser microscope were processed through a  
 207 segmentation algorithm using Fiji (NIH, USA).

## 208 ■ RESULTS

209 It is noteworthy that, in the following discussion, liquid paraffin  
 210 served as a reference because it is a widely used solvent in  
 211 many commercial medicated creams and it is known to easily  
 212 produce Pickering emulsions in the presence of  $\beta$ -CD.<sup>28,34</sup> As  
 213 expected, all of the water/oil/ $\beta$ -CD (45/45/10 wt %) systems  
 214 provided whitish emulsions (Figure 2A).

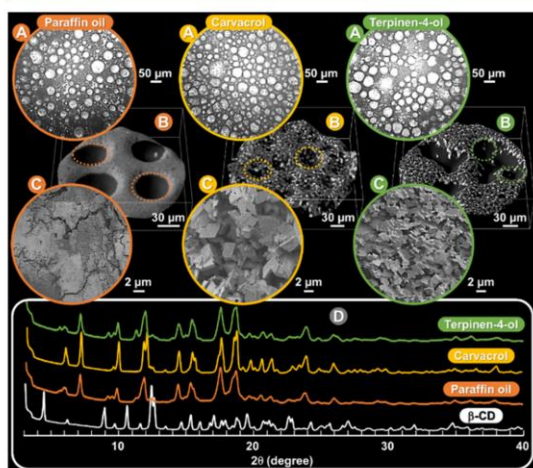


Figure 2. Observations of  $\beta$ -CD/water/oil emulsions (10/45/45 wt %, 3200 rpm, 90 s, 25  $^{\circ}$ C) using (A) an optical microscope and (B) WETSEM and of (C)  $\beta$ -CD/oil complexes using dry SEM. (D) The inset shows the X-ray powder diffraction patterns of dry powders.

215 The average droplet sizes are 35, 39, and 36  $\mu$ m (with a  
 216 standard deviation, SD, of 5%) for paraffin, carvacrol, and  
 217 terpinen-4-ol, respectively (Figure S1). The electrical con-  
 218 ductivity of the emulsions indicates an aqueous external phase.  
 219 The morphology of the emulsions, in their native environment,  
 220 was studied using a wet scanning electron microscope  
 221 (WETSEM, Figure 2B). The photographs show the presence  
 222 of particles around the droplets in the continuous aqueous  
 223 phase forming a 3D compact network (Figure S2). However,  
 224 their centrifugation (4000 rpm, 20 min) allows a separation of  
 225 water, oil, and a white powder. The dry powders were studied

226 by SEM (Figure 2C). We observed a granular solid with  
 227 paraffin oil and lamella with carvacrol and terpinen-4-ol. Their  
 228 sizes follow the order paraffin ( $\ll 1 \mu$ m) < terpinen-4-ol ( $\sim 1$   
 229  $\mu$ m) < carvacrol ( $\sim 4 \mu$ m). The  $^1$ H NMR analysis in DMSO- $d_6$   
 230 of these powders suggests the formation of  $\beta$ -CD/oil  
 231 complexes in equimolar ratios. The complexation is also  
 232 supported by X-ray powder diffraction (XRD) as the  
 233 diffraction patterns of precipitates are entirely different from  
 234 that of the free  $\beta$ -CD (Figure 2D).<sup>20</sup> The XRD profiles suggest  
 235 a well-ordered crystalline structure for all precipitates due to  
 236 the presence of sharp peaks. Moreover, the differential  
 237 scanning calorimetry thermogram of free  $\beta$ -CD shows two  
 238 endothermic peaks at around 141 and 303  $^{\circ}$ C, corresponding  
 239 to the water release and the melting of the  $\beta$ -CD, respectively,  
 240 whereas for the precipitates, both peaks are shifted to lower  
 241 temperatures due to the presence of the oil in the CD cavity  
 242 instead of water molecules (Figure S3).<sup>35</sup> All of these results  
 243 support the idea that  $\beta$ -CD and oil molecules, in the presence  
 244 of water, allow the stabilization of Pickering emulsions via the  
 245 formation of well-ordered crystalline  $\beta$ -CD/oil complexes.

246 The ternary phase diagrams of the  $\beta$ -CD/water/oil systems  
 247 are shown in Figure 3. We always observed the formation of  
 248 stable O/W emulsions (green and orange area), belted  
 249 between O/W emulsions with an excess oil phase (for high  
 250 oil/water ratios) and O/W emulsions settled into the aqueous  
 251 phase (for low oil/water ratios).<sup>28,36</sup> The other compositions  
 252 provide water and oil phases with a large precipitated fraction.

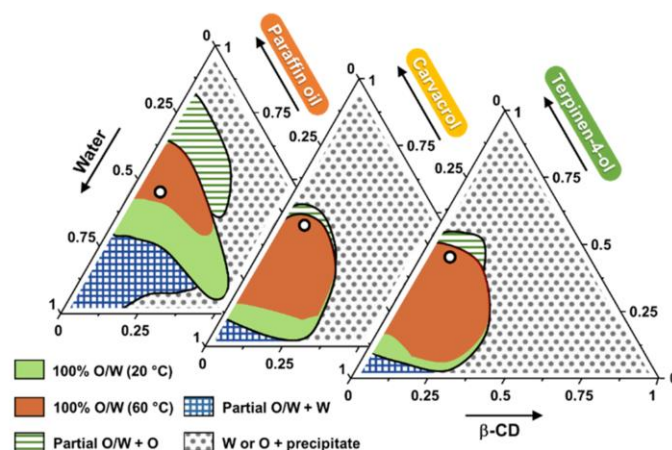
253 The location, range, and stability of the self-assembled  
 254 emulsions are clearly influenced by the oil polarity, the oil/  
 255 water ratio, and the  $\beta$ -CD concentration. Depending on the oil  
 256 polarity, the stable O/W emulsion region moves toward the  
 257 water corner and the two partial emulsion zones are reduced.  
 258 These observations can be directly related to the modification  
 259 of the oil polarity, which leads to the modification of the  
 260 stabilizing particles since they are obtained from host-guest  
 261 interactions between the oil and the  $\beta$ -CD. The temperature  
 262 effect on the stable emulsion area has been evaluated after a  
 263 thermoregulation of up to 60  $^{\circ}$ C. At 37  $^{\circ}$ C (normal body  
 264 temperature), the stable emulsion area is unaffected after 2  
 265 weeks for the three investigated oils. In contrast, at 60  $^{\circ}$ C,  
 266 a reduction of the stable emulsion area is observed after 6 h  
 267 (orange area, Figure 2). This reduction is more significant for  
 268 paraffin oil than for carvacrol or terpinen-4-ol due to the  
 269 formation of a potential O-H $\cdots$ O bond between the carvacrol  
 270 or terpinen-4-ol and the  $\beta$ -CD leading to a better stabilization  
 271 of the inclusion complexes and of the resulting crystalline  
 272 particles as already reported with isopropyl myristate.<sup>28</sup> In  
 273 addition, it is noteworthy that for a given oil/water ratio the  
 274 viscosity of the emulsions increases with the amount of  $\beta$ -CD.  
 275 Moreover, for a given amount of  $\beta$ -CD, the viscosity of the  
 276 emulsions increases when the proportion of oil increases and  
 277 the water decreases. Therefore, the best compromise between  
 278 stability and viscosity of the emulsions is obtained for 10 wt %  
 279 CD supplemented with 45% water and 45% oil (white circles  
 280 in Figure 3).

281 For these particular compositions, the destabilization of the  
 282 emulsions can be identified at an early stage by multiple light  
 283 scattering (MLS) since the backscattered light ( $\Delta$ BS) is related  
 284 to droplet migration, droplet size, and phase thickness (Figure  
 285 4A).<sup>22</sup>

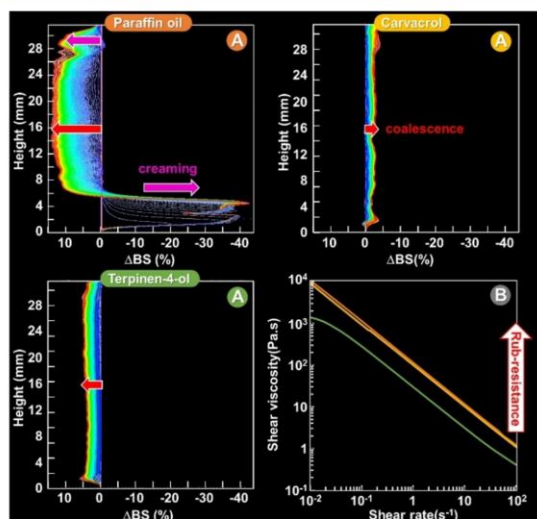
286 For paraffin, a creaming process was detected as the  $\Delta$ BS  
 287 over time decreases at the sample's bottom and increases at the  
 288 top. An increase in  $\Delta$ BS at midheight also indicates a

C

https://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314  
 Langmuir XXXX, XXX, XXX-XXX



**Figure 3.** Ternary phase diagrams of the oil/water emulsion stabilized by  $\beta$ -CD at 25 °C. The composition is represented in weight fractions (3200 rpm, 90 s, 25 °C).



**Figure 4.** (A) Backscattering ( $\Delta$ BS) versus sample height and time at 25 °C and (B) shear viscosity as a function of shear rate for  $\beta$ -CD/water/oil emulsions (10/45/45 wt %, 3200 rpm, 90 s).

289 coalescence phenomenon (droplet size variation).<sup>36</sup> For  
290 terpinen-4-ol and carvacrol, only coalescence was observed.  
291 However, as all of these destabilization mechanisms have an  
292 impact on  $\Delta$ BS over time, the sample with the highest  
293 variation is the least stable: the qualitative stability follows the  
294 order paraffin  $\ll$  terpinen-4-ol < carvacrol. This phenomenon  
295 is dependent on the particle sizes since the larger ones offer a  
296 better stabilization, probably due to the 3D compact network  
297 of particles observed around the droplets in the continuous  
298 aqueous phase, leading to more or less frozen media and  
299 forming an excellent protection against coalescence. No  
300 macroscopic phase separation was noticeable after 4 months  
301 for the three emulsions. This is characteristic of Pickering  
302 emulsions as the coalescence frequency depends on the time,  
303 particle concentration, and mixing intensity. Indeed, if the

particle amount is initially insufficient to fully cover the 304  
interfaces, then the droplets coalesce. Fortunately, as the total 305  
interfacial area between oil and water is progressively reduced 306  
during this process and the particles are irreversibly adsorbed, 307  
the degree of surface coverage increases until coalescence is 308  
stopped.<sup>29–31</sup> Unlike surfactant-stabilized emulsions, this 309  
process is limited and cannot be considered to be a true 310  
instability.<sup>29–31</sup> However, for paraffin, the creaming is 311  
undesirable because it causes difficulties in storage and 312  
handling. We performed a rheological study (Figure 4B). 313  
The prepared formulations are highly viscous under storage 314  
conditions but exhibit low viscosity under the shear rate and 315  
are suitable for topical applications since their viscosity is 316  
inferior to 2 Pa·s at 100 s<sup>-1</sup>.<sup>28</sup> Also, the rheo-resistance of the 317  
creams follows the order terpinen-4-ol  $\ll$  carvacrol < paraffin. 318

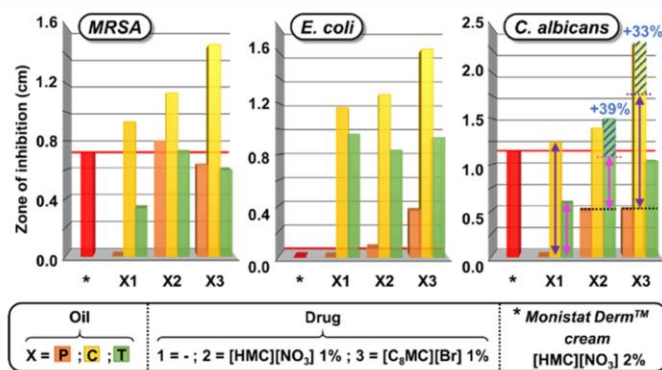
The emulsion oil phase was charged with liposoluble 319  
[HMC][NO<sub>3</sub>] or [C<sub>8</sub>MC][Br] (final composition: 45% in 320  
weight of water, 44% oil, 10%  $\beta$ -CD, and 1% drug). All of the 321  
emulsions behave similarly, giving monomodal but slightly 322  
polydisperse emulsions. However, some discrepancies between 323  
the emulsions can be observed: the emulsions loaded with 324  
[C<sub>8</sub>MC][Br] provide the smallest droplets (17 to 26  $\mu$ m; 325  
SD = 5%), whereas the droplet sizes when charged with 326  
[HMC][NO<sub>3</sub>] remain the same as those without drug (35 to 327  
39  $\mu$ m; SD = 5%). These results indicate that the amphiphilic 328  
[C<sub>8</sub>MC][Br] may interact with the O/W interface stabilized by 329  
the  $\beta$ -CD/oil particles. Indeed, [C<sub>8</sub>MC][Br] alone provides 330  
unstable emulsions which coalesce in a few minutes, leading to 331  
phase separation. However, the shear viscosity as a function of 332  
the shear rate remains the same with or without drugs. 333

As all emulsions are suitable for topical applications, 334  
diffusion tests were performed to evaluate their efficiency 335  
against MRSA, *E. coli*, and *C. albicans* (Figure 5). Uncharged 336  
paraffin and a commercial emulsion (Monistat Derm) were 337  
used for comparison. 338

As expected, the commercial cream is active against MRSA 339  
and *C. albicans* but inactive against *E. coli*. The uncharged  $\beta$ - 340  
CD/water/paraffin oil (negative control, P1) is totally inactive 341  
against the three strains. In contrast, the two emulsions based 342  
on biocidal phytochemical oils (carvacrol, C1, and terpinen-4- 343  
ol, T1) are active against all of the pathogens. It is noteworthy 344

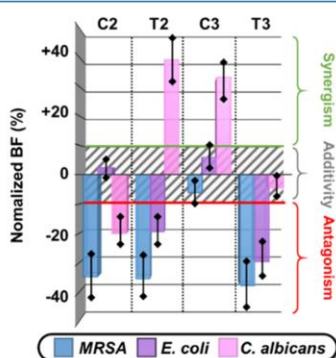
D

<https://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>  
Langmuir XXXX, XXX, XXX–XXX



**Figure 5.** Zone of inhibition obtained by the diffusion method against *MRSA*, *E. coli*, and *C. albicans* of the  $\beta$ -CD/water/oil emulsions compared to a commercial cream (Monistat Derm; see the Experimental Section for more information).

345 that C1 is the most active oil. On the basis of these  
346 observations, the emulsions formulated with paraffin were used  
347 to evaluate the antimicrobial action of [HMC][NO<sub>3</sub>] or  
348 [C<sub>8</sub>MC][Br] alone (P2 and P3, respectively). Indeed, the  
349 pathogen susceptibility to [HMC][NO<sub>3</sub>] and [C<sub>8</sub>MC][Br]  
350 (P2 and P3) followed the order *E. coli* < *C. albicans* < *MRSA*.  
351 The addition of [HMC][NO<sub>3</sub>] or [C<sub>8</sub>MC][Br] to carvacrol or  
352 terpinen-4-ol oil can provide a route to potentiate the effect of  
353 the drug. The normalized biocidal factor (BF), expressed in %,  
354 was calculated as the ratio between the activity of the drug/oil  
355 combination to the additive activities of each compound alone.  
356 Due to the standard deviations, a value of BF > 10% indicates a  
357 synergistic effect while a value of BF < -10% indicates an  
358 antagonistic effect. Finally, for -10% < BF < 10%, simple  
359 additivity is observed between the two components (Figure 6).



**Figure 6.** Normalized biocidal factor (BF) against *MRSA*, *E. coli*, and *C. albicans* for  $\beta$ -CD/water/oil emulsions (oil = carvacrol, C, or terpinen-4-ol, T) combined with [HMC][NO<sub>3</sub>] (2) or [C<sub>8</sub>MC][Br] (3).

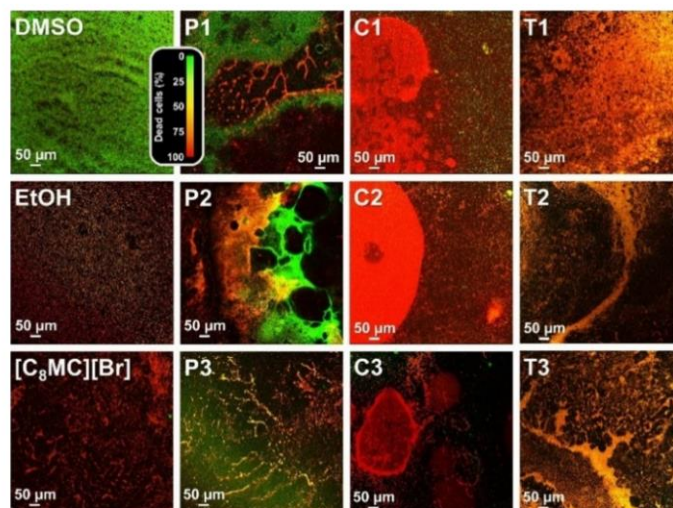
360 According to these data, only the combination of [HMC]-  
361 [NO<sub>3</sub>] to terpinen-4-ol (T2) and [C<sub>8</sub>MC][Br] to carvacrol  
362 (C3) is synergistic against *C. albicans*. The other combinations  
363 result in antagonistic or additive effects against the three  
364 strains. Despite the fact that the normalized BF is quite  
365 superior for T2 compared to C3, T2 is not suitable for  
366 obtaining a broad-spectrum antimicrobial formulation due to  
367 the antagonistic effects observed against *MRSA* and *E. coli*. In

contrast, the [C<sub>8</sub>MC][Br]/carvacrol-based emulsion (C3) 368  
provides a synergistic effect against *C. albicans* and additive 369  
responses against Gram-positive and Gram-negative bacteria. 370  
Moreover, this emulsion is 2-fold more active against *C.* 371  
*albicans* and *S. aureus* compared to the commercial cream, with 372  
a high activity against *E. coli* compared to the activity of the 373  
completely inefficient commercial one. These antibacterial and 374  
antifungal activities may be the result of membrane 375  
permeabilization, enzyme inhibition, and the accumulation of 376  
ROS in the microorganisms (as mentioned previously). 377

378 With these results in hand, we investigated the ability of the 379  
formulations to disrupt the *MRSA* biofilms. For this purpose, 380  
the preformed *MRSA* biofilms were treated with each 381  
formulation (1  $\mu$ L) after 1 h of incubation. The bacterial 382  
viability tests were performed using the commercially available 383  
fluorescence assay (*BacLight Live/Dead*), composed of 384  
fluorophores SYTO9 and propidium iodide, leading to the 385  
detection of alive intact cells (green) and permeabilized dead 386  
cells (red) (Figure 7).<sup>37</sup> [C<sub>8</sub>MC][Br] aqueous solution (1 wt 387  
%) shows a strong capacity to disrupt preformed *MRSA* 388  
biofilms, being able to kill bacteria more rapidly than ethanol 389  
(70%), probably due to its lipophilic character and ability to 390  
permeate cellular membranes.<sup>20</sup> As the viability of the biofilm 391  
can be perturbed by the viscosity of the Pickering emulsions, 392  
the paraffin-based formulations were used as control experi- 393  
ments.  $\beta$ -CD/water/paraffin emulsions uncharged or charged 394  
with [HMC][NO<sub>3</sub>] (P1 and P2, respectively) show only a 395  
local inhibition/destruction of the biofilm, but a majority of 396  
the bacteria are still alive in the biofilm. For paraffin-based 397  
formulations loaded with [C<sub>8</sub>MC][Br] (P3), the formation of 398  
thicker stripes of colonies indicates increased stress on bacteria 399  
and increased ROS production.<sup>38</sup> As indicated by the orange/ 400  
yellow color, about 75% of the bacteria in the biofilm were 401  
dead after 1 h of exposure to P3. Similar behaviors were 402  
observed with terpinen-4-ol-based formulations that were 403  
charged or not (T1, T2, and T3). Moreover, bacterial 404  
mortality close to 100% was observed for all carvacrol-based 405  
emulsions. Therefore, the carvacrol emulsions act as very 406  
efficient biofilm-eradicating agents regardless of the drug used. 407  
However, more complete biofilm disruption was observed for 408  
the carvacrol-based emulsion charged with [C<sub>8</sub>MC][Br] (C3).

E

<https://dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>  
Langmuir XXXX, XXX, XXX–XXX



**Figure 7.** Preformed MRSA biofilms (Live/Dead stains) treated with 1  $\mu\text{L}$  of  $\beta$ -CD/water/oil emulsions (oil = paraffin, P, carvacrol, C, or terpinen-4-ol, T) without (1) or with  $[\text{HMC}][\text{NO}_3]$  (2) or with  $[\text{C}_8\text{MC}][\text{Br}]$  (3) after incubation. Negative control (DMSO only). Positive controls (EtOH 70% and aqueous solution of  $[\text{C}_8\text{MC}][\text{Br}]$  1 wt %; see the Experimental Section for more information).

## 409 ■ CONCLUSIONS

410 A self-assembled Pickering emulsion, obtained according to the  
411 so-called colloidal tectonics concept from commercially  
412 available and nontoxic raw materials (carvacrol and  $\beta$ -CD are  
413 both approved by the Food and Drug Administration), can be  
414 used to improve the biocidal activity of miconazolylium  
415 bromide. This very stable emulsion, in line with the current  
416 trend of simplifying formulas (without petro-sourced surfac-  
417 tants or modified silica nanoparticles), was shown to be 2-fold  
418 more effective on *C. albicans* and MRSA than the commercial  
419 cream containing miconazole nitrate and showed high activity  
420 against *E. coli*, where the commercial one is completely  
421 inactive.<sup>39–41</sup> In addition, this emulsion was found to provide a  
422 synergistic effect against *C. albicans* (30% more efficient than  
423 the additive effect). Finally, this system disrupted preformed  
424 MRSA biofilms. Work is underway in our group to further  
425 develop these Pickering emulsions for clinical applications due  
426 to their broad spectrum and fast action against bacteria and  
427 fungi, resistant strains, and biofilms.

## 428 ■ ASSOCIATED CONTENT

### 429 ■ Supporting Information

430 The Supporting Information is available free of charge at  
431 <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.0c00314>.

432 Microphotographs of a oil/water emulsion stabilized  
433 with  $\beta$ -CD and a terpinen-4-ol/water emulsion stabilized  
434 with  $\beta$ -CD; DSC of the dry powders compared to the  
435 free  $\beta$ -CD (PDF)

## 436 ■ AUTHOR INFORMATION

### 437 Corresponding Authors

438 Loïc Leclercq – Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Artois,  
439 UMR 8181, UCCS - Unité de Catalyse et Chimie du Solide,  
440 59000 Lille, France; Email: loic.leclercq@univ-lille.fr

441 Andreea R. Schmitzer – Université de Montréal, Département  
442 de Chimie, H3C3J7 Montréal, Québec, Canada; [orcid.org/0000-0002-3806-9076](https://orcid.org/0000-0002-3806-9076); Email: ar.schmitzer@umontreal.ca

## 443 Authors

Jérémie Tessier – Université de Montréal, Département de  
Chimie, H3C3J7 Montréal, Québec, Canada

Grégory Douyère – Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ.  
Artois, UMR 8181, UCCS - Unité de Catalyse et Chimie du  
Solide, 59000 Lille, France

Véronique Nardello-Rataj – Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille,  
Univ. Artois, UMR 8181, UCCS - Unité de Catalyse et Chimie  
du Solide, 59000 Lille, France

Complete contact information is available at:

<https://pubs.acs.org/10.1021/acs.langmuir.0c00314>

## 455 Notes

The authors declare no competing financial interest.

## 457 ■ ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge the Natural Sciences and Engineer-  
ing Research Council of Canada (NSERC), the Chevreul  
Institute (FR 2638), the Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche, the Région Hauts-de-France,  
the Université de Montréal, and the Université de Lille for  
their financial support. We thank L. Burylo, J.-F. Dechezelles,  
A. Addad, and A. Fadel for XRD, TEM, and SEM  
measurements.

## 466 ■ REFERENCES

- (1) Taubes, G. The Bacteria Fight Back. *Science* **2008**, *321*, 356–361.
- (2) Wright, G. D. Antibiotics: A New Hope. *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 3–10.
- (3) Weidner, T.; Tittelbach, J.; Illing, T.; Elsner, P. Gram-Negative Bacterial Toe Web Infection: A Systematic Review. *Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* **2018**, *32*, 39–47.
- (4) Noverr, M. C.; Noggle, R. M.; Toews, G. B.; Huffnagle, G. B. Role of Antibiotics and Fungal Microbiota in Driving Pulmonary Allergic Responses. *Infect. Immun.* **2004**, *72*, 4996–5003.

- 477 (5) Pulimood, S.; Ganesan, L.; Alangaden, G.; Chandrasekar, P.  
478 Polymicrobial Candidemia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2002**, *44*,  
479 353–357.
- 480 (6) Pollack, A. Rising Threat of Infections Unfazed by Antibiotics.  
481 *New York Times*, Feb 27, **2010**.
- 482 (7) Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic  
483 Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433.
- 484 (8) Donlan, R. M. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging*  
485 *Infect. Dis.* **2002**, *8*, 881–890.
- 486 (9) Worthington, R. J.; Richards, J. J.; Melander, C. Small Molecule  
487 Control of Bacterial Biofilms. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7457–  
488 7474.
- 489 (10) Böttcher, T.; Kolodkin-Gal, I.; Kolter, R.; Losick, R.; Clardy, J.  
490 Synthesis and Activity of Biomimetic Biofilm Disruptors. *J. Am. Chem.*  
491 *Soc.* **2013**, *135*, 2927–2930.
- 492 (11) Jiao, Y.; Tay, F. R.; Niu, L.; Chen, J. Advancing Antimicrobial  
493 Strategies for Managing Oral Biofilm Infections. *Int. J. Oral Sci.* **2019**,  
494 *11*, 28.
- 495 (12) Lu, J.; Cocquetin, N. N.; Burke, C. M.; Turnbull, L.; Liu, M.;  
496 Carter, D. A.; Whitchurch, C. B.; Harry, E. J. Honey Can Inhibit and  
497 Eliminate Biofilms Produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Sci. Rep.*  
498 **2019**, *9*, 18160.
- 499 (13) Godefroi, E. F.; Heeres, J.; Van Cutsem, J.; Janssen, P. A. J.  
500 Preparation and Antimycotic Properties of Derivatives of 1-  
501 Phenethylimidazole. *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 784–791.
- 502 (14) Sung, J. P.; Jan, M.; Grendahl, G.; Fresno, M.; Levine, H. B.  
503 Intravenous and Intrathecal Miconazole Therapy for Systemic  
504 Mycoses. *West. J. Med.* **1977**, *126*, 5–13.
- 505 (15) Nenoff, P.; Koch, D.; Kruger, C.; Drexsel, C.; Mayer, P. New  
506 Insights on the Antibacterial Efficacy of Miconazole in vitro. *Mycoses*  
507 **2017**, *60*, 552–557.
- 508 (16) Allen, D.; Wilson, D.; Drew, R.; Perfect, J. Azole Antifungals:  
509 35 Years of Invasive Fungal Infection Management. *Expert Rev. Anti-*  
510 *Infect. Ther.* **2015**, *13*, 787–798.
- 511 (17) Becher, R.; Wirsal, S. G. Fungal Cytochrome P450 Sterol 14 $\alpha$ -  
512 demethylase (CYP51) and Azole Resistance in Plant and Human  
513 Pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *95*, 825–840.
- 514 (18) Kobayashi, D.; Kondo, K.; Uehara, N.; Otokozaawa, S.; Tsuji,  
515 N.; Yagihashi, A.; Watanabe, N. Endogenous Reactive Oxygen Species  
516 is an Important Mediator of Miconazole Antifungal Effect. *Antimicrob.*  
517 *Agents Chemother.* **2002**, *46*, 3113–3117.
- 518 (19) El Hammi, E.; Warkentin, E.; Demmer, U.; Limam, F.;  
519 Marzouki, N. M.; Ermler, U.; Baciou, L. Structure of Ralstonia  
520 eutropha Flavohemoglobin in Complex with Three Antibiotic Azole  
521 Compounds. *Biochemistry* **2011**, *50*, 1255–1264.
- 522 (20) Tessier, J.; Schmitzer, A. R. Anti-staphylococcal Biofilm Activity  
523 of Miconazocetylum Bromide. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 4288–  
524 4294.
- 525 (21) Xu, J.; Zhou, F.; Ji, B. P.; Pei, R. S.; Xu, N. The Antibacterial  
526 Mechanism of Carvacrol and Thymol Against *Escherichia coli*. *Lett.*  
527 *Appl. Microbiol.* **2008**, *47*, 174–179.
- 528 (22) Sharifi-Rad, M.; Varoni, E. M.; Iriti, M.; Martorell, M.; Setzer,  
529 W. N.; Del Mar Contreras, M.; Salehi, B.; Soltani-Nejad, A.; Rajabi,  
530 S.; Tajbakhsh, M.; Sharifi-Rad, J. Carvacrol and Human Health: A  
531 Comprehensive Review. *Phytother. Res.* **2018**, *32*, 1675–1687.
- 532 (23) Memar, M. Y.; Raei, P.; Alizadeh, N.; Akbari, A.; Masoud, K.;  
533 Hossein, S. Carvacrol and Thymol: Strong Antimicrobial Agents  
534 Against Resistant Isolates. *Rev. Med. Microbiol.* **2017**, *28*, 63–68.
- 535 (24) Khan, I.; Bahuguna, A.; Kumar, P.; Bajpai, V. K.; Kang, S. C.  
536 Antimicrobial Potential of Carvacrol against Uropathogenic *Escher-*  
537 *ichia coli* via Membrane Disruption, Depolarization, and Reactive  
538 Oxygen Species Generation. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 2421.
- 539 (25) Carson, C. F.; Riley, T. V. Antimicrobial Activity of the Major  
540 Components of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl.*  
541 *Bacteriol.* **1995**, *78*, 264–269.
- 542 (26) Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. *Melaleuca*  
543 *alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other  
544 Medicinal Properties. *Clin. Microbiol. Rev.* **2006**, *19*, 50–62.
- (27) Zhang, Y.; Feng, R.; Li, L.; Zhou, X.; Li, Z.; Jia, R.; Song, X.;  
545 Zou, Y.; Yin, L.; He, C.; Liang, X.; Zhou, W.; Wei, Q.; Du, Y.; Yan, K.;  
546 Wu, Z.; Yin, Z. The Antibacterial Mechanism of Terpinen-4-ol  
547 Against *Streptococcus agalactiae*. *Curr. Microbiol.* **2018**, *75*, 1214–  
548 1220.
- (28) Leclercq, L.; Nardello-Rataj, V. Pickering Emulsions Based on  
550 Cyclodextrins: A Smart Solution for Antifungal Azole Derivatives  
551 Topical Delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2016**, *82*, 126–137.
- (29) Leclercq, L. Get Beyond Limits: From Colloidal Tectonics  
553 Concept to the Engineering of Eco-Friendly Catalytic Systems. *Front.*  
554 *Chem.* **2018**, *6*, 168.
- (30) Yang, B.; Leclercq, L.; Schmitt, V.; Pera-Titus, M.; Nardello-  
556 Rataj, V. Colloidal Tectonics for Tandem Synergistic Pickering  
557 Interfacial Catalysis: Oxidative Cleavage of Cyclohexene Oxide into  
558 Adipic Acid. *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 501–507.
- (31) Leclercq, L.; Douyère, G.; Nardello-Rataj, V. Supramolecular  
560 Chemistry and Self-Organization: A Veritable Playground for  
561 Catalysis. *Catalysts* **2019**, *9*, 163.
- (32) Acar, J. F. Antibiotic Synergy and Antagonism. *Med. Clin. North*  
563 *Am.* **2000**, *84*, 1391–1406.
- (33) Leekha, S.; Terrell, C. L.; Edson, R. S. General Principles of  
565 Antimicrobial Therapy. *Mayo Clin. Proc.* **2011**, *86*, 156–167.
- (34) Hashizaki, K.; Kageyama, T.; Inoue, M.; Taguchi, H.; Ueda, H.;  
567 Saito, Y. Study on Preparation and Formation Mechanism of n-  
568 Alkanol/Water Emulsion Using  $\alpha$ -Cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull.*  
569 **2007**, *55*, 1620–1625.
- (35) Mohandoss, S.; Stalin, T. Photochemical and Computational  
571 Studies of Inclusion Complexes Between  $\beta$ -Cyclodextrin and 1,2-  
572 Dihydroxyanthraquinones. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2017**, *16*, 476–  
573 488.
- (36) Leclercq, L.; Company, R.; Mühlbauer, A.; Mouret, A.; Aubry,  
575 J.-M.; Nardello-Rataj, V. Versatile Eco-Friendly Pickering Emulsions  
576 Based on Substrate/Native Cyclodextrin Complexes: a Winning  
577 Approach for Solvent-Free Oxidations. *ChemSusChem* **2013**, *6*, 1533–  
578 1540.
- (37) Berney, M.; Hammes, F.; Bosshard, F.; Weilenmann, H. U.;  
580 Egli, T. Assessment and Interpretation of Bacterial Viability by Using  
581 the LIVE/DEAD BacLight Kit in Combination with Flow Cytometry.  
582 *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 3283–3290.
- (38) Giuliodori, A. M.; Gualerzi, C. O.; Soto, S.; Vila, J.; Tavio, M.  
584 M. Review on Bacterial Stress Topics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2007**,  
585 *1113*, 95–104.
- (39) Doost, A. S.; Stevens, C. V.; Claeys, M.; Van Der Meeren, P.  
587 Fundamental Study on the Salt Tolerance of Oregon Essential Oil-  
588 in-Water Nanoemulsions Containing Tween 80. *Langmuir* **2019**, *35*,  
589 10572–10581.
- (40) Kalamurthi, S.; Selvaraj, G.; Hou, H.; Li, Z.; Wei, Y.; Gu, K.;  
591 Wei, D. Synergism of essential oils with lipid based nanocarriers:  
592 emerging trends in preservation of grains and related food products.  
593 *Grain Oil Sci. Technol.* **2019**, *2*, 21–26.
- (41) Doost, A. S.; Nikbakht Nasrabadi, M. N.; Kassozi, V.; Nakisozi,  
595 H.; Van der Meeren, P. Recent advances in food colloidal delivery  
596 systems for essential oils and their main components. *Trends Food Sci.*  
597 *Technol.* **2020**, *99*, 474.

## Annexe 5 – Publication Chapitre IV

Catalysis  
Science &  
Technology

PAPER

View Article Online  
View Journal | View IssueCite this: *Catal. Sci. Technol.*, 2020,  
10, 6723

## One-pot oxidative cleavage of cyclic olefins for the green synthesis of dicarboxylic acids in Pickering emulsions in the presence of acid phosphate additives†

Bingyu Yang,<sup>ab</sup> Grégory Douyère,<sup>a</sup> Loïc Leclercq,<sup>a</sup> Véronique Nardello-Rataj<sup>b\*</sup> and Marc Pera-Titus<sup>b\*</sup>

Received 18th June 2020,  
Accepted 22nd August 2020

DOI: 10.1039/d0cy01225d

rsc.li/catalysis

Dicarboxylic acids were prepared by the one-pot oxidative cleavage of cyclic alkenes with aqueous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by adsorbing dodecyltrimethylammonium phosphotungstate nanoparticles, and silica particles functionalized with octadecyl chains and sulfonic acid groups, C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H, at the W/O interface. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and [C<sub>12</sub>]H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> conditioned the interlocking and self-assembly of the particles, enhancing the catalytic selectivity, especially for cyclooctene.

### Introduction

Adipic acid, mainly used as an intermediate for the production of Nylon 6,6, is the most important dicarboxylic acid. The most extended process for the synthesis of adipic acid involves the oxidation of KA oil (a mixture of cyclohexanone and cyclohexanol) by HNO<sub>3</sub>. This process is clearly incompatible with the Green Chemistry principles, since it generates a greenhouse gas as by-product (N<sub>2</sub>O) and large amounts of salts.<sup>1</sup>

As an alternative, Noyori and coworkers proposed an eco-friendly route to access adipic acid from the oxidative cleavage of cyclohexene using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as an oxidant, a phase-transfer reagent (*i.e.* “acid” quaternary ammonium salts) and sodium tungstate as catalyst.<sup>2</sup> This route has been widely recognized as a green pathway for the production of dicarboxylic acids.<sup>3</sup> Further developments were reported using microreactors,<sup>4</sup> microemulsions,<sup>5</sup> catalyst–ligand systems,<sup>6</sup> and task-specific ionic liquids,<sup>7</sup> to increase the contact between the aqueous and oil phases. However, the reaction requires a homogeneous catalyst, which can be hardly separated from the reaction system.

Few studies have attempted the heterogenization of W-based catalysts using supports such as silica and carbon,

but with modest success.<sup>8</sup> Examples of unsupported tungsten oxide (including hybrids with Ag) have also been reported.<sup>9</sup> As a rule, the high interfacial tension between the organic and aqueous phases prevents an efficient contact with the catalyst. To avoid this shortcoming, the reactions often require vigorous stirring, high temperature (range 75–90 °C), solvents, and surface-active molecules, either as additives, or immobilized on the catalysts.

To circumvent the above drawbacks, the recently developed ‘Pickering Interfacial Catalysis’ (PIC) concept appears as a promising solution.<sup>10</sup> In such systems, colloidal nanoparticles (NPs) with amphiphilic surface properties behave concomitantly as emulsifiers and interfacial catalysts driven by their self-assembly at the W/O interface. As a result, mass transfer is enhanced due to a larger contact area between the phases, together with a promoted nanomixing of the reactants near the active centres.<sup>11</sup> Reactions involving aqueous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and immiscible organic substrates are particularly suitable.<sup>12</sup>

Recently, we reported the engineering of PIC systems based on two catalytic NPs relying on the Colloidal Tectonics concept. Using this approach, stable emulsions could be built by combining ‘supramolecular hierarchical’ [C<sub>12</sub>]<sub>3</sub>[PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>] (C<sub>12</sub>-POM) NPs and silica NPs grafted with alkyl and sulfonic acid groups (*i.e.* C<sub>*n*</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H, *n* = 3, 8 and 18).<sup>13</sup> Their interaction at the W/O interface could drive the self-assembly of both NPs by a partial penetration of alkyl chains of C<sub>*n*</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H into C<sub>12</sub>-POM. As a result, diacids could be prepared from the one-pot oxidative cleavage of cyclic oxides (*e.g.*, cyclohexene oxide) with aqueous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by combining consecutive oxidative and hydrolysis steps catalysed by C<sub>12</sub>-POM and C<sub>*n*</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H, respectively.

<sup>a</sup> Centrale Lille, CNRS, Univ. Artois, Univ. Lille, UMR 8181 – UCCS – Unité de Catalyse et Chimie du Solide, F-59000 Lille, France.

E-mail: veronique.rataj-nardello@univ-lille.fr

<sup>b</sup> Eco-Efficient Products and Processes Laboratory (E2P2L), UMI 3464 CNRS-Solvay, 3966 Jin Du Road, Xin Zhuang Ind. Zone, 201108 Shanghai, China.

E-mail: marc.pera-titus-ext@solvay.com

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d0cy01225d

## Paper

Herein, we present the application of Colloidal Tectonics relying on  $C_{12}$ -POM and  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs for preparing dicarboxylic acids starting from cyclic alkenes (Fig. 1).<sup>2</sup> In this reaction, a phosphate additive is required to activate the POM by stabilizing oxoperoxo species, enhancing the epoxidation of cyclic alkenes.<sup>12,14</sup> Our motivation is to assess the role of different types of phosphate additives on the self-assembly and catalytic activity of  $C_{12}$ -POM and  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs at the W/O interface. Thus, five acid phosphate salts with variable acidity, hydrophilicity and amphiphilicity were investigated:  $NaH_2PO_4$ ,  $Na_2HPO_4$  and  $(NH_4)_2HPO_4$ , which are expected to solubilise in the water phase of the emulsion, and  $[C_{12}]H_2PO_4$  and  $[C_{12}]_2HPO_4$ , which should have more affinity for the W/O interface.

## Results and discussion

The  $C_{12}$ -POM and  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs exhibit a spherical and monodisperse shape ( $\varnothing \approx 35$  nm and  $\varnothing \approx 13$ –15 nm, respectively) with a water contact angle  $>90^\circ$ , reflecting a poor wetting behaviour. The acidity of  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs is 0.38 mmol[H<sup>+</sup>] per g. Both NPs show a negative  $\zeta$ -potential in water dispersion with values of  $-36$  mV and  $-11$  mV, respectively (Fig. 2A). The combination of  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs (1:1 on weight basis) results in a similar  $\zeta$ -potential to that measured on single  $C_{12}$ -POM NPs ( $-32$  mV). This observation can be explained by a partial interaction between both NPs even when dispersed in water, resulting in a decrease of the surface charge of the particle aggregates.

The  $\zeta$ -potential was measured for  $C_{12}$ -POM and mixed  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs (1:1, 3.6 wt%) with the additives at constant ionic strength (Fig. 2B). Adding  $NaH_2PO_4$  and  $(NH_4)_2HPO_4$  to  $C_{12}$ -POM decreases the  $\zeta$ -potential (in absolute value), *i.e.*  $-5.8$  and  $-24$  mV, which can be explained by a partial saturation of the double layer by  $Na^+$  and  $NH_4^+$  cations. In contrast, in the presence of  $Na_2HPO_4$ , the  $\zeta$ -potential exhibits almost no variation within the limits of the experimental error. This observation suggests a lack of perturbation of the charge in  $C_{12}$ -POM NPs despite its protonation due to partial desorption of  $[C_{12}]$  chains.<sup>15</sup> For



Fig. 1 Colloidal Tectonics concept based on  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$  ( $C_{12}$ -POM) and  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs applied to the synthesis of dicarboxylic acids (e.g., adipic acid) starting from cyclic alkenes (e.g., cyclohexene).

## Catalysis Science &amp; Technology

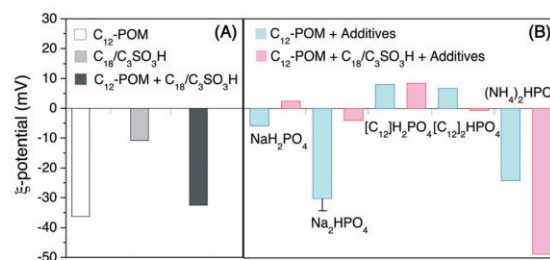


Fig. 2 Zeta potential of single (A)  $C_{12}$ -POM and  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs, and  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$ , and (B) zeta potential of single  $C_{12}$ -POM and  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  in the presence of additives. Conditions: 50 mg of each NP (3.6 wt%), 2 equiv. additive with respect to  $C_{12}$ -POM in 2.25 mL of water, constant ionic strength set by the system itself (1 mS  $cm^{-1}$ ). The NPs were dispersed using an UltraTurrax at 20 °C and 11500 rpm for 1 min.

$[C_{12}]H_2PO_4$  and  $[C_{12}]_2HPO_4$ , the  $\zeta$ -potential shows a positive value with  $+8.1$  and  $+6.8$  mV, respectively, which is in agreement with a partial penetration of  $[C_{12}]$  chains within  $C_{12}$ -POM NPs, approaching the counter anions, *i.e.*  $H_2PO_4^-$  and  $HPO_4^{2-}$ , near to  $C_{12}$ -POM NPs.<sup>15</sup> For mixed NPs, the  $\zeta$ -potential decreases for  $NaH_2PO_4$  and  $Na_2HPO_4$  compared to  $C_{12}$ -POM, with values of  $+2.5$  and  $-4.0$  mV, respectively, suggesting a reduction of the charge of the particle assembly.  $[C_{12}]_2HPO_4$  results in zero charge, whereas almost no change occurs for  $[C_{12}]H_2PO_4$  ( $+8.5$  mV). The  $\zeta$ -potential increases (in absolute value) for  $(NH_4)_2HPO_4$  ( $-49$  mV), most likely due to a partial desorption of  $[C_{12}]$  chains and an increase of the charge of the particle assembly. Overall, these results point out that the additives can condition the  $\zeta$ -potential of  $C_{12}$ -POM NPs and mixed  $C_{12}$ -POM +  $C_{18}/C_3SO_3H$  NPs by adjusting the surface charge and distribution of  $[C_{12}]$  chains around the particle assemblies.

We monitored first the biphasic oxidation of cyclohexene and cyclooctene over  $C_{12}$ -POM in the presence of  $Na_2HPO_4$  and  $[C_{12}]H_2PO_4$  using a low excess of  $H_2O_2$  (1.2 equiv.) (Fig. 3). The oxidation of cyclohexene proceeds faster with  $[C_{12}]H_2PO_4$  showing an apparent first order rate constant of  $0.35$   $h^{-1}$ , whereas the rate constant for  $Na_2HPO_4$  is  $0.16$   $h^{-1}$ .

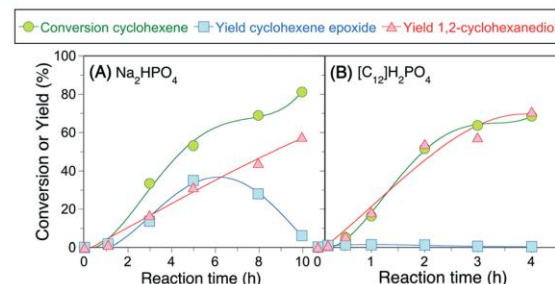


Fig. 3 Time-evolution of cyclohexene oxidation with (A)  $Na_2HPO_4$  and (B)  $[C_{12}]H_2PO_4$  as additives. Reaction conditions: 0.75 mL toluene (2 mol  $L^{-1}$  cyclohexene), 2.25 mL  $H_2O$  (1.2 equiv.  $H_2O_2$ ), 50 mg  $C_{12}$ -POM, 2 equiv. additive with respect to  $C_{12}$ -POM, 60 °C, 500 rpm.



**Table 1** Catalytic results for the oxidative cleavage of cyclohexene and cyclooctene using  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  as additive without catalyst and with  $\text{C}_{12}$ -POM,  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  and mixed  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs<sup>a</sup>

Reactant	$\text{C}_{12}$ -POM	$\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$	Conversion (%)	Yield (%)		
				Epoxide	Diol	Diacid
Cyclohexene	—	—	1.0	0.3	0.3	0.2
	+	—	100	2.6	41	52
	—	+	3.5	0.5	2.2	0.9
	+	+	100	18	13	70
Cyclooctene	—	—	1.0	0.3	0.3	0.2
	+	—	100	84	6.6	9.8
	—	+	3.0	2.3	0.5	0.5
	+	+	100	20	14	76

<sup>a</sup> Reaction conditions: 0.75 mL toluene (2 mol L<sup>-1</sup> cycloalkene), 2.25 mL H<sub>2</sub>O (1.2 equiv. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 50 mg  $\text{C}_{12}$ -POM (+50 mg  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$ ), 2 equiv. additive with respect to  $\text{C}_{12}$ -POM, 60 °C, 500 rpm, 4 h, followed by 3.5 equiv. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 80 °C, 500 rpm. The reaction time was 12 h for cyclohexene and 24 h for cyclooctene.

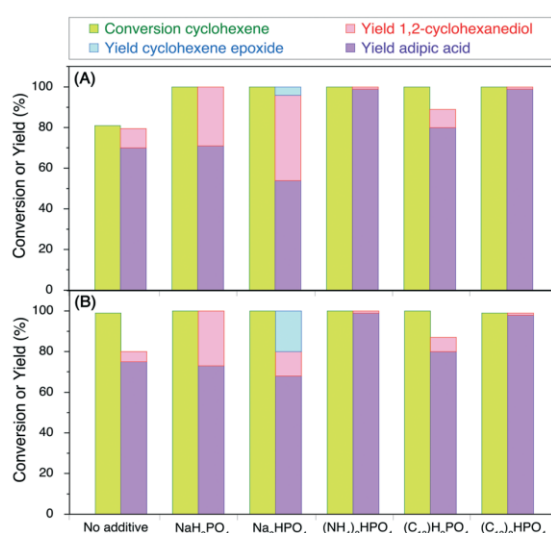
The as-generated cyclohexene epoxide reacts fast to 1,2-cyclohexanediol, especially in the presence of  $[\text{C}_{12}]_2\text{H}_2\text{PO}_4$ . In contrast, in the case of cyclooctene, for both additives, cyclooctene epoxide is less reactive and is favoured against 1,2-cyclooctanediol. Given the different reactivity of cyclohexene and cyclooctene, we retained both cyclic alkenes in the remainder of this study.

We further investigated the catalytic properties of  $\text{C}_{12}$ -POM,  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  and mixed  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs (1 : 1) on the oxidative cleavage of cyclohexene and cyclooctene using  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  as additive (Table 1). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was added in two steps to avoid decomposition. For comparison, an experiment without catalyst reveals no conversion. When  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs are added to the system, a low yet detectable conversion (<3%) is observed.  $\text{C}_{12}$ -POM NPs promote cyclohexene cleavage to adipic acid with 62% yield. Opposing this behaviour, the diol is fast generated for cyclooctene with 85% yield and <10% yield of suberic acid. These results indicate that  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  can promote ring opening of cyclohexene epoxide, most likely in the water phase due to its higher hydrophilic behaviour compared to cyclooctene epoxide (0.95 vs. 1.79, respectively). Mixed  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs can promote a redox-acid cascade, especially for cyclooctene, affording a yield of suberic acid up to 80%.

In light of these results, we studied the oxidative cleavage of cyclohexene with/without additive, *i.e.*  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$  and  $[\text{C}_{12}]_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , using  $\text{C}_{12}$ -POM (Fig. 4A). Without additive, 81% conversion is attained with an adipic acid yield of 70% and a diacid/diol molar ratio of 7.4. In the presence of additives, full conversion is achieved, but the product distribution differs depending on the additive. For  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  and  $[\text{C}_{12}]_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , the adipic acid yield and diacid/diol ratio are >99% and 100, respectively, whereas  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  afford a lower yield (71% and 54%) and a diacid/diol ratio of 2.5 and 1.3. For  $[\text{C}_{12}]\text{H}_2\text{PO}_4$ , the adipic acid yield is 80% with a diacid/diol ratio of 8.9. Similar results are obtained for mixed  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs except for  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , showing a higher adipic acid yield (68%) and diacid/diol ratio (5.7) (Fig. 4B). Besides, cyclohexene epoxide is still present with a yield of 20%.

Overall, these observations suggest that the oxidation reactions are not affected by  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs.

We also studied the oxidative cleavage of cyclooctene with/without additive (Fig. 5A). Without additive, single  $\text{C}_{12}$ -POM NPs give 95% conversion with a yield of suberic acid of 28% and diacid/epoxide and diacid/diol ratios of 0.68 and 2.9, respectively. In the presence of additives, full conversion is achieved, showing a similar yield of suberic acid (range 35–44%) and diacid/epoxide and diacid/diol ratios (range 1.4–3.7 and 0.76–1.2, respectively).  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  and  $[\text{C}_{12}]_2\text{H}_2\text{PO}_4$  give a lower suberic acid yield of 10% and 20%, respectively, and a lower diacid/epoxide ratio (0.12 and 0.45). However, the diacid/diol ratios remain comparable at 1.25 and 0.90. For mixed  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs (Fig. 5B), the suberic acid yield increases for  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  and  $[\text{C}_{12}]_2\text{H}_2\text{PO}_4$  until 72% and 64%, respectively, as well as the diacid/epoxide and diacid/



**Fig. 4** Catalytic results for the oxidative cleavage of cyclohexene using the different additives in the presence of (A)  $\text{C}_{12}$ -POM NPs and (B)  $\text{C}_{12}$ -POM +  $\text{C}_{18}/\text{C}_3\text{SO}_3\text{H}$  NPs. Reaction conditions as in Table 1.

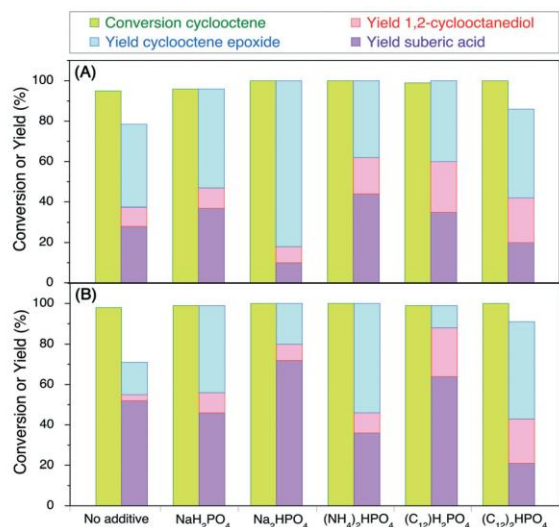


Fig. 5 Catalytic results for the oxidative cleavage of cyclooctene using the different additives in the presence of (A) C<sub>12</sub>-POM NPs and (B) C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs. Reaction conditions as in Table 1.

diol ratios (values 2.5/2.2 and 3.6/2.7). A higher suberic acid yield is also observed for the catalytic test without additive, even if moderate (52%), with diacid/epoxide and diacid/diol ratios of 3.2 and 5.3. These results point out that the overall reaction rate for the oxidative cleavage of cyclohexene is controlled by the rate of the oxidation steps at the W/O interface, while for cyclooctene, the overall rate is also expected to be governed by the hydrolysis steps.

The emulsification capacity of C<sub>12</sub>-POM, C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H and mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs (1 : 1, 3.6 wt%) was studied for water/toluene (3 : 1 v/v) with/without additive. Self-assembled C<sub>12</sub>-POM NPs can stabilize W/O emulsions. The use of additives results in a slightly higher steady-state emulsion volume (65–70%) compared to the test without additive (60%), except for [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, which probably brings too much hydrophobicity to the interface, leading to the destabilization of the emulsions (Fig. 6A1). The average droplet diameter declines using the additives (range 10–15 μm) (Fig. 6A2). C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs can also stabilize emulsions, but only for Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Fig. 6B1), with a steady-state emulsion volume about 50%. The average droplet diameter keeps almost unchanged at 2.5 μm, which is much lower than that measured for single C<sub>12</sub>-POM (Fig. 6B2). Mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs stabilize W/O emulsions for all additives, including

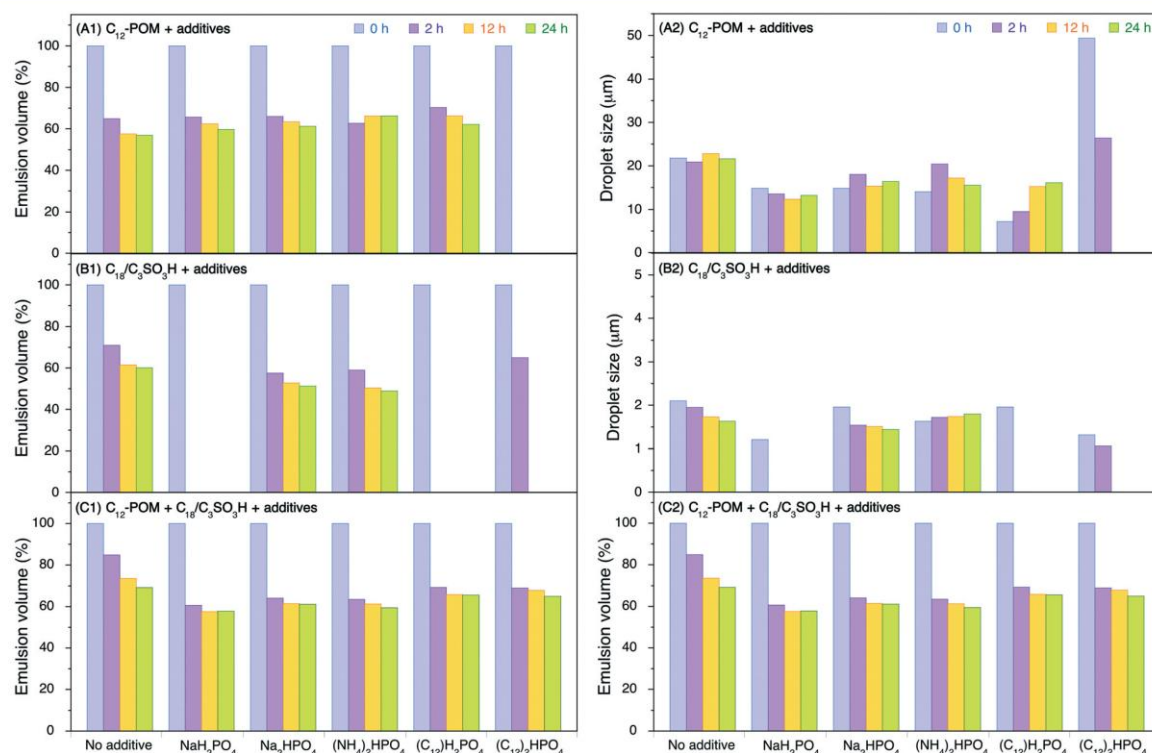


Fig. 6 Evolution of the W/O emulsion volume (A1–C1) and average droplet diameter (A2–C2) for combinations of C<sub>12</sub>-POM NPs + additive (top), C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs + additive (middle) and C<sub>12</sub>-POM NPs + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs + additive (bottom). Emulsification conditions: 0.75 mL toluene, 2.25 mL H<sub>2</sub>O, 50 mg for each type of NPs (3.6 wt%), 2 equiv. additive with respect to C<sub>12</sub>-POM, 60 °C, 500 rpm, pre-emulsification using an UltraTurrax at 20 °C and 11 500 rpm for 1 min.

Table 2 pH of the emulsions before reaction<sup>a</sup>

Particle system	Additive	pH (cyclohexene)	pH (cyclooctene)
C <sub>12</sub> -POM	No additive	6.9	6.8
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6.7	6.5
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6.9	6.8
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6.6	6.5
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6.6	6.3
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6.4	6.2
C <sub>12</sub> -POM + C <sub>18</sub> /C <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H	No additive	4.4	4.6
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3.8	3.9
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.8	4.9
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4.2	4.6
	[C <sub>12</sub> ] <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.4	4.9
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4.9	5.0

<sup>a</sup> Emulsification conditions as in Fig. 3. The pH was measured by adding 1 wt% of emulsion to deionized water.

[C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. The steady-state emulsion volume is slightly lower than that measured without additive (60% vs. 70%, Fig. 6C1). The average droplet diameter increases slightly using the additives (4.0–5.5 μm), except for [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, displaying a lower diameter (1.5 μm) (Fig. 6C2). The average droplet diameters are much smaller than those measured for C<sub>12</sub>-POM NPs, revealing a strong interaction driven by van der Waals interactions between both NPs at the W/O interface, favouring interlocking between C<sub>12</sub>-POM and C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs.

The pH of the emulsions stabilized by single C<sub>12</sub>-POM and mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs was measured both with/without the additives and in the presence of cyclohexene/cyclooctene after dilution with deionized water (1 wt%) (Table 2). The additives do not alter the pH compared to the value measured without additive. However, with the exception of NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, the pH is lower for mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs (range 4.2–5.0) compared to that measured for single C<sub>12</sub>-POM NPs (6.2–6.9). This observation points out the strong influence of C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs on the pH regardless of the additive. In the case of NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, the pH shows a lower value for mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs (3.8–3.9).

The as-described emulsion properties point out that the oxidative cleavage of cyclohexene and cyclooctene is not affected by mass transfer due to the large surface area generated for C<sub>12</sub>-POM and mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs, the reaction occurring in the interfacial layer. In the case of cyclohexene, the high adipic acid yield obtained for single C<sub>12</sub>-POM NPs using [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> without stabilizing emulsions can be explained by a role of this additive as phase-transfer catalyst (see also ref. 2). For cyclooctene, the higher suberic acid yield for mixed C<sub>12</sub>-POM + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs results not only from the microstructured reaction medium, but also from the synergy between both NPs at the W/O interface with Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> or [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

Finally, we explored the oxidative cleavage of a series of cyclic alkenes with variable carbon number and degree of substitution (Table S1†). The alkene conversion decreases with the carbon number from >99% for cyclohexene to 82% and 65% for cycloheptene and cyclooctene, respectively. However, the diacid selectivity keeps almost unchanged for

cyclohexene and cycloheptene (72% vs. 77%), whereas it decreases abruptly for cyclooctene (37%) at the expense of the epoxide and diol with a selectivity of 24% and 43%, respectively. The diacid selectivity increases to 72% at full cyclooctene conversion when the reaction time increases to 24 h, with an epoxide and diol selectivity of 20% and 8%, respectively.

We also compared the catalytic properties for the oxidative cleavage of cyclohexene, 2-methyl-1-cyclohexene and 5-methyl-1-cyclohexene. Full conversion is achieved in the former two cases, whereas 84% conversion is obtained for 5-methyl-1-cyclohexene. The diacid selectivity is lower for 2-methyl-1-cyclohexene and 5-methyl-1-cyclohexene (61% and 67%, respectively, vs. 71% for cyclohexene) at the expense of the diol with a selectivity of 25% and 31%, respectively.

## Conclusions

We applied the Colloidal Tectonics approach earlier developed to engineer mixed [C<sub>12</sub>]<sub>3</sub>[PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>] + C<sub>18</sub>/C<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H NPs as emulsifiers and interfacial catalysts to conduct the oxidative cleavage of cyclic alkenes into the corresponding dicarboxylic acids in the presence of W/O emulsions. A series of phosphate additives were considered, which conditioned the stability of Pickering emulsions and the selectivity of the catalytic system, with special impact for cyclooctene oxidation. The best additives were Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and [C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, affecting the particle interlocking and self-assembly at the W/O interface by conditioning the local environment (*i.e.* charge and distribution of [C<sub>12</sub>] chains) around the particle assemblies.

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## Acknowledgements

The authors would like to thank Solvay for funding *via* a CIFRE grant.

## Notes and references

- 1 M. T. Musser, *Adipic Acid, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2005.
- 2 K. Sato, M. Aoki and R. Noyori, *Science*, 1998, **281**, 1646.
- 3 S. van de Vyver and Y. Roman-Leshkov, *Catal. Sci. Technol.*, 2013, **3**, 1465.
- 4 (a) M. Damm, B. Gutmann and C. O. Kappe, *ChemSusChem*, 2013, **6**, 978; (b) M. Shang, T. Noël, Y. Su and V. Hessel, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2016, **55**, 2669.
- 5 (a) I. Q. Peñate, G. Lesage, P. Cognet and M. Poux, *Chem. Eng. J.*, 2012, **200–202**, 357; (b) W. Zhu, H. Li, X. He, Q. Zhang, H. Shu and Y. Yan, *Catal. Commun.*, 2008, **9**, 551.
- 6 (a) Y. Deng, Z. Ma, K. Wang and J. Chen, *Green Chem.*, 1999, **1**, 275–276; (b) H. Jiang, H. Gong, Z. Yang, X. Zhang and Z. Sun, *React. Kinet. Catal. Lett.*, 2002, **75**, 315; (c) C.-Y. Cheng, K.-J. Lin, M. R. Prasad, S.-J. Fu, S.-Y. Chang, S.-G. Shyu, H.-S. Sheu, C.-H. Chen, C.-H. Chuang and M.-T. Lin, *Catal. Commun.*, 2007, **8**, 1060.
- 7 J. Chen, S. K. Spear, J. G. Huddleston, J. D. Holbrey, R. P. Swatloski and R. D. Rogers, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2004, **43**, 5358.
- 8 (a) M. Vafaeezadeh and M. M. Hashemi, *Chem. Eng. J.*, 2013, **221**, 254; (b) Z. Bohström, I. Rico-Lattes and K. Holmberg, *Green Chem.*, 2010, **12**, 1861; (c) M. Vafaeezadeh, M. M. Hashemi and M. Shakourian-Fard, *Catal. Commun.*, 2012, **26**, 54; (d) M. Vafaeezadeh and M. M. Hashemi, *Catal. Commun.*, 2014, **43**, 169; (e) J. Alcañiz-Monge, G. Trautwein and A. Garcia-Garcia, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2014, **394**, 211.
- 9 (a) U. Schuchardt, D. Cardoso, R. Sercheli, R. Pereira, R. S. Cruz, M. C. Guerreiro, D. Mandelli, E. V. Spinace and E. L. Pires, *Appl. Catal., A*, 2001, **21**, 11; (b) H. Li, W. Zhu, X. He, Q. Zhang, J. Pan and Y. Yan, *React. Kinet. Catal. Lett.*, 2007, **92**, 319; (c) S. Ghosh, S. S. Acharyya, S. Adak, L. N. S. Konathala, T. Sasaki and R. Bal, *Green Chem.*, 2014, **16**, 2826; (d) M. Vafaeezadeh and M. M. Hashemi, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 31298; (e) B. Bhuyan, B. Paul, S. Vadivel and S. S. Dhar, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 99044.
- 10 M. Pera-Titus, L. Leclercq, J.-M. Clacens, F. De Campo and V. Nardello-Rataj, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2015, **54**, 2006.
- 11 (a) G. Zhao, Y. Li, B. Hong, X. Han, S. Zhao, M. Pera-Titus and H. L. Liu, *Langmuir*, 2018, **34**, 15587; (b) G. Zhao, B. Hong, B. Bao, S. Zhao and M. Pera-Titus, *J. Phys. Chem. C*, 2019, **123**, 12818.
- 12 (a) L. Leclercq, A. Mouret, A. Proust, V. Schmitt, P. Bauduin, J.-M. Aubry and V. Nardello-Rataj, *Chem. – Eur. J.*, 2012, **18**, 14352; (b) I. F. Teixeira, A. A. S. Oliveira, T. Christofani and F. C. C. Moura, *J. Mater. Chem. A*, 2013, **1**, 10203; (c) J. Zhang, A. Wang, Y. Wang, H. Wang and J. Gui, *Chem. Eng. J.*, 2014, **245**, 65; (d) Y. Leng, J. Wu, P. Jiang and J. Wang, *Catal. Sci. Technol.*, 2014, **4**, 1293; (e) W. Q. Yizhan, W. W. Li and L. Wu, *Chem. – Eur. J.*, 2010, **16**, 1068; (f) Z. Zheng, J. Wang, H. Chen, L. Feng, R. Jing, M. Lu, B. Hu and J. Ji, *ChemCatChem*, 2014, **6**, 1626.
- 13 B. Yang, L. Leclercq, V. Schmitt, M. Pera-Titus and V. Nardello-Rataj, *Chem. Sci.*, 2019, **10**, 501.
- 14 (a) G. Grigoropoulou and J. H. Clark, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 4461; (b) Y. Mahha, L. Salles, J.-Y. Piquemal, E. Briot, A. Altamsani and J.-M. Bregeault, *J. Catal.*, 2007, **249**, 338; (c) M. Fressancourt-Collinet, B. Hong, L. Leclercq, P. Alsters, J.-M. Aubry and V. Nardello-Rataj, *Adv. Synth. Catal.*, 2013, **355**, 409.
- 15 (a) L. Leclercq, A. Mouret, P. Bauduin and V. Nardello-Rataj, *Langmuir*, 2014, **30**, 5386–5393; (b) L. Leclercq, A. Mouret, S. Renaudineau, V. Schmitt, A. Proust and V. Nardello-Rataj, *J. Phys. Chem. B*, 2015, **119**, 6326–6337.

## Résumé

Les émulsions sont des systèmes micro-dispersés classiquement stabilisés par des molécules tensioactives. En raison de leur impact potentiellement négatif sur l'environnement, les tensioactifs tendent à être remplacés par des particules colloïdales conduisant ainsi aux émulsions de Pickering. Elles, bénéficient aujourd'hui d'un regain d'intérêt notamment dans le domaine de la catalyse. En effet, l'usage de particules répondant à certains stimuli comme le pH ou la température permet de contrôler le type d'émulsion voire sa déstabilisation, ce qui peut présenter un avantage indéniable en fin de réaction. L'objectif de ce travail était donc de développer de nouveaux systèmes d'émulsions de Pickering à base de particules réactives. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à deux types de particules polymériques : la poly(4-vinylpyridine) (P4VP), sensible au pH et au sel, et la polyéthylèneimine (PEI), sensible au pH et à la température. Les émulsions ainsi obtenues en présence de différentes huiles ont été caractérisées et les effets du pH, de la température et de l'ajout de sel ont été étudiés démontrant la réversibilité des systèmes sous l'action de ces stimuli. Dans un second temps, des émulsions aux propriétés antibactériennes, antifongiques et antibiofilms ont été élaborées à partir de l'auto-assemblage de cyclodextrines et d'huile phytochimiques par le biais de complexes d'inclusion insolubles. Ces émulsions se sont révélées très efficaces dans la lutte contre les agents pathogènes. Finalement, la catalyse interfaciale de Pickering a été appliquée avec succès en vue de la synthèse des acides adipique et subérique en associant le phosphotungstate de tri(dodécyltriméthylammonium)  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ , de la silice greffée avec des groupements alkyles et sulfoniques,  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ , et des sels de phosphate acides en tant que co-catalyseurs. Dans les conditions optimales, une conversion quantitative des oléfines associée à des rendements en acide boostés à 70 et 65 % ont été obtenus en présence de  $Na_2HPO_4$  et  $(C_{12})H_2PO_4$ , respectivement. Ces additifs potentialisent l'auto-assemblage des particules. L'existence de ces systèmes repose sur l'adaptabilité des particules aux environnements particuliers et montre que leurs propriétés physicochimiques peuvent être modulées afin de leur conférer les caractéristiques souhaitées.

**Mots-clés :** Émulsions de Pickering ; Nanoparticules amphiphiles ; Polymères stimulables ; Tectonique colloïdale ; Cyclodextrines ; Catalyse Interfaciale de Pickering

## Abstract

Emulsions are micro-dispersed systems conventionally stabilized by surface active molecules. Due to their potentially negative impact on the environment, surfactants tend to be replaced by colloidal particles leading to Pickering emulsions. These emulsions are now enjoying a renewed interest, particularly in the field of catalysis. Indeed, the use of particles responding to specific stimuli such as pH or temperature allows to control the type of emulsion or even its destabilization, which can present an undeniable advantage at the end of a reaction. The objective of this work was therefore to develop new Pickering emulsion systems based on reactive particles. First, we focused on two type of polymeric particles, poly(4-vinylpyridine) (P4VP), sensitive to pH and salt, and polyethyleneimine (PEI), sensitive to pH and temperature. The emulsions obtained in the presence of different oils were characterized and the effects of pH, temperature and salt addition were studied demonstrating the reversibility of the systems under the action of these stimuli. In a second step, emulsions with antibacterial, antifungal and antibiofilm properties were elaborated from the self-assembly of cyclodextrins and phytochemical oils through insoluble inclusion complexes. These emulsions proved to be very effective in the fight against pathogens. Finally, Pickering interfacial catalysis was successfully applied to the synthesis of adipic and suberic acids by combining tri(dodecyltrimethylammonium) phosphotungstate  $[C_{12}]_3[PW_{12}O_{40}]$ , silica grafted with alkyl and sulfonic groups,  $C_{18}/C_3SO_3H@SiO_2$ , and acidic phosphate salts as co-catalysts. Under optimal conditions, quantitative olefin conversion associated with boosted acid yields to 70 and 65 % were obtained in the presence of  $Na_2HPO_4$  and  $(C_{12})H_2PO_4$ , respectively. These additives potentiate the particles self-assembly. The existence of these systems relies on the adaptability of the particles to specific environments and show that their physicochemical properties can be tuned to confer the desired characteristics.

**Keywords:** Pickering emulsions; Amphiphilic nanoparticles; Stimulable polymers; Colloidal tectonics; Cyclodextrins; Pickering Interfacial Catalysis