



HAL
open science

Diffusion moléculaire d'un dopant hydrosoluble dans une phase lamellaire lyotrope. Transition smectique-cholestérique dans un mélange de molécules amphiphiles

Patrick Moreau

► To cite this version:

Patrick Moreau. Diffusion moléculaire d'un dopant hydrosoluble dans une phase lamellaire lyotrope. Transition smectique-cholestérique dans un mélange de molécules amphiphiles. Matériaux. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2004. Français. NNT : . tel-00009676

HAL Id: tel-00009676

<https://theses.hal.science/tel-00009676>

Submitted on 5 Jul 2005

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.

N° d'ordre : 2896

THÈSE

PRESENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par Patrick Moreau

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITÉ : Physico-chimie de la matière condensée

DIFFUSION MOLÉCULAIRE D'UN DOPANT HYDROSOLUBLE DANS
UNE PHASE LAMELLAIRE LYOTROPE

TRANSITION SMECTIQUE - CHOLESTÉRIQUE DANS UN MÉLANGE
DE MOLÉCULES AMPHIPHILES

Soutenue le 22 novembre 2004

Devant la commission d'examen formée de :

M. Barois P.	Directeur de Recherche au CNRS	(Président)
M. Pieranski P.	Directeur de Recherche au CNRS	(Rapporteur)
M. Oswald P.	Directeur de Recherche au CNRS	(Rapporteur)
M. Brisson A.	Professeur des Universités	
M. Roux D.	Directeur de Recherche au CNRS	
Mme Navailles L.	Chargée de Recherche au CNRS	

« Man delights not me »

- William Shakespeare, *Hamlet*

Remerciements

Ce travail de thèse a bénéficié de la participation de nombreuses personnes et de l'environnement enrichissant du CRPP.

Je remercie en premier lieu Laurence, pour son dynamisme, sa patience et le temps important qu'elle a consacré à l'encadrement de mon travail. Au cours de ces trois années elle a du, plus que tout autre, supporter mon organisation vagabonde et ma désobéissance récurrente. Outre la formation qu'elle m'a donné, ses qualités humaines m'ont été extraordinairement précieuses et mon permis, à l'occasion, d'éprouver un coupable plaisir à l'exercice de la science.

Je remercie Didier qui a su me laisser une grande liberté tout en sachant s'impliquer lorsque je rencontrais des obstacles. Ses conseils, bien que majoritairement sibyllins, ont été d'une grande aide dans le déroulement de ma thèse.

Je suis également particulièrement reconnaissant au professeur Nallus pour l'aide incontournable qu'il m'a apporté dans l'ensemble de mon travail.

Au cours de ma thèse j'ai de plus eu le plaisir de travailler avec Damien, Olivier, Johana, Gilles, Bernard, Oren et Pascale. Ils ont tous participé au travail présenté dans ce manuscrit en m'enseignant différentes techniques (FRAP, microscopie électronique, DSC...) ou en me conseillant.

Je suis vivement reconnaissant à Philippe Barois pour avoir accepté de présider le jury, à Patrick Oswald et Pawel Pieranski qui ont accepté d'être rapporteurs de ce travail et à Alain Brisson d'être venu compléter ce jury.

Je remercie également la société Ethypharm pour avoir financé mon travail de thèse et particulièrement Corinne Degert, Sophie Gaubert et René Laversanne pour l'aide précieuse qu'ils m'ont offert.

Je remercie finalement :

Marie, Lydiane et François Ier ¹ qui, bien que n'ayant ni masse, ni énergie, ni longueur d'onde, ni localisation dans l'espace ou dans le temps, ont interféré avec moi de manière marginalement constructive.

Jean-Batiste le gris pour son tempérament toujours joyeux et enthousiaste.

Cécile, qui connaissait tout de moi que je ne lui cachait pas.

François (Molino), Sylwia, Jérémie, dit Saroumane, Nicolas et David pour les nombreuses soirées passées ensemble.

¹ Aucun rapport avec le Roi éponyme

Table des matières

Introduction générale.....	9
Partie I	
Chapitre I : Introduction.....	16
I – Tensioactifs en solution	16
II - Phases lamellaires lyotropes.....	17
1) Les phases de membranes	17
2) Propriétés physiques des membranes isolées.....	18
3) Interactions dans les phases lamellaires	19
4) Elasticité d'une phase lamellaire.....	22
5) Fonctions de corrélation, effet Landau - Peierls	23
6) Effet du cisaillement sur une phase lamellaire : formation d'ognons	25
III – Dopage d'une phase lamellaire : bibliographie.....	27
1) Travaux antérieurs.....	27
2) Aspects énergétiques	28
IV – Diagrammes de phases des systèmes étudiés.....	32
1) PC/H ₂ O.....	32
2) PC/Simulsol/H ₂ O	33
3) AOT/H ₂ O/NaCl.....	33
4) C ₁₂ E ₅ /Hexanol/H ₂ O.....	34
V – Molécules dopantes	35
1) Albumine de sérum bovin (BSA).....	35
2) Fluorophores.....	38
VI - Techniques expérimentales.....	40
1) Diffraction/diffusion des rayons X aux petits angles.....	40
2) Microscopie confocale	42
3) Microscopie de fluorescence, retour de fluorescence après photoblanchiment ..	43
4) Microscopie en lumière polarisée	44
VII – Objectifs.....	47
Chapitre II : Insertion d'un actif hydrosoluble dans une phase lamellaire lyotrope.....	49
A - Diagrammes de phase des différents systèmes	49
I – Diagramme de phase du système PC/Simulsol/H ₂ O/BSA.....	49
1) Formulation des systèmes	49
2) Diffraction des rayons X	49
3) Effet du cisaillement. Taux d'encapsulation	52
4) Observation en microscopie optique et microscopie de fluorescence.....	53
5) Expériences de FRAP : origine de la fluorescence résiduelle.....	55
6) Cryo – TEM	56
7) Conclusions	57
II – Diagramme de phase du système C ₁₂ E ₅ /C ₆ E ₀ /H ₂ O/BSA	58
1) Microscopie de fluorescence.....	59
2) Diffraction des rayons X	60
3) Expériences de FRAP.....	61
4) Diagramme de phase	62
5) Conclusions	64
III – Diagramme de phase du système AOT/H ₂ O/NaCl/BSA	64
1) Microscopie de fluorescence.....	64

2) Diffraction des rayons X	65
3) Expériences de FRAP.....	66
4) Diagramme de phase	66
5) Conclusion.....	67
IV – Conclusions.....	67
B - Diffusion d'un actif hydrosoluble dans une phase lamellaire. Effet du confinement	68
I - Introduction	68
II – Quelques rappels sur la diffusion	69
1) Diffusion d'une particule dans un liquide	69
2) Diffusion dans une bicouche de tensioactif.....	70
3) Diffusion d'une particule sphérique entre deux plans rigides.....	70
4) Diffusion d'une particule dans une phase lamellaire	71
III - Diffusion d'une petite molécule fluorescente.....	72
1) Vérification du caractère « diffusif » du mouvement des fluorophores.....	72
2) Système C ₁₂ E ₅ /C ₆ E ₀ /H ₂ O	74
3) Système AOT/H ₂ O/NaCl	75
4) Système PC/Simulsol/H ₂ O.....	77
5) Conclusion.....	78
IV - Diffusion d'une protéine (BSA) dans une phase lamellaire	79
1) Système C ₁₂ E ₅ /C ₆ E ₀ /H ₂ O	79
2) Système AOT/H ₂ O/NaCl	83
3) Discussion	85
V - Conclusion et perspectives.....	89
C - Conclusion générale	93
Annexe A : Expériences de FRAP.....	95
1) Préparation des lames.....	95
2) Extraction des coefficients de diffusion.....	96
3) Expériences sur des systèmes en texture oignons	97
Annexe B : Diffusion d'une particule dans une phase lamellaire lyotrope.....	98
I – Influence de la fluidité des membranes	98
II - Echanges de dopant entre la membrane et le solvant / adsorption-désorption.....	101
III – Diffusion anisotrope : anisotropie de la particule, influence de la plasticité des couches.....	102
1) Diffusion d'une particule anisotrope.....	102
2) Plasticité des bicouches.....	103
3) Conclusion.....	104
IV - Influence des fluctuations de position des membranes.....	104
 Partie II	
Chapitre I : Introduction générale, description du système	108
I - Etats de la matière, symétries et transitions de phases	108
1) Mésophases	108
2) Transition de phase.....	109
3) Phase cholestérique	109
4) Cristaux liquides lyotropes.....	110
II - Défauts dans les phases lamellaires	110
1) Dislocations vis et coin	110

2) Défauts dans les phases smectiques lyotropes	111
3) Défauts à l'équilibre thermodynamique	112
III - Analogie entre la transition conducteur normal- supraconducteur dans les métaux et la transition nématique-smectique A dans les cristaux liquides.....	113
1) Transition conducteur normal – supraconducteur en présence d'un champ magnétique extérieur	113
2) Analogie entre la transition conducteur normal- supraconducteur dans les métaux et la transition nématique-smectique A dans les cristaux liquides.....	114
IV - Conséquences sur la transition smectique - cholestérique.....	116
1) Smectiques de type I et de type II	116
2) Phases à torsion par joint de grain (TGB : Twist Grain Boundary).....	117
3) Boucles de dislocations	120
V - Introduction au système DMPC/C ₁₂ E ₅ /H ₂ O	121
1) Introduction	121
2) Diagramme de phases.....	123
3) Mise en évidence de défauts.....	125
VI – Conclusion	125

Chapitre II : Transition smectique - cholestérique dans un système lyotrope..... 127

A – Etude de la phase lamellaire à l'approche de la transition smectique - cholestérique 127

I - Expériences de FRAP : mise en évidence de défauts connectant les différentes phases	127
1) Introduction	127
2) Echantillons étudiés.....	129
3) Dispositif expérimental	130
4) Orientation planaire des échantillons	131
5) Vérification de la qualité de l'orientation grâce à la fluorescence.....	132
6) Extraction des coefficients de diffusion.....	133
7) Résultats	135
II - Quantification de la densité de défauts : étude par diffraction des rayons X.....	139
1) Expériences	139
2) Interprétations.....	140
3) Facteur de forme des défauts : taille du cœur aqueux	142
4) Conclusion.....	142
III - Cryofracture : observation et caractérisation des défauts	143
1) Dispositif expérimental	143
2) Observations.....	143
3) Interprétations.....	146
4) Conclusion.....	148
IV – Discussion	148
1) Organisation microscopique des défauts.....	148
2) Retour sur les expériences de FRAP et de diffraction des rayons X.....	151
2) conclusion.....	155
V - Mise en évidence et caractérisation d'une phase smectique biaxe lyotrope	156
1) Retour sur la cryofracture.....	156
2) Diffusion anisotrope aux petits angles	157
3) Microscopie en lumière polarisée	160
4) Conclusion.....	161
VI – Conclusion	162

B – Etude de la transition smectique – cholestérique. Transition smectique – nématique au voisinage d’un point triple NAC dans un système lyotrope	164
I - Nature de la phase nématique/cholestérique	164
1) Phases nématiques lyotropes	164
2) Orientation de la phase cholestérique sous champs magnétique.....	167
3) Propriétés optiques et structurales de la phase cholestérique.....	168
4) Etude calorimétrique	170
5) Expérience de FRAP	173
6) Discussion	175
7) Evolution du pas cholestérique en fonction de la température.....	176
8) Relation entre le pas cholestérique et la densité de défauts	177
II – Transition Smectique – Cholestérique : A la recherche d’une phase TGB lyotrope	180
1) Retour sur la cryofracture à 24°C.....	180
2) La phase TGB.....	181
3) Microscopie en lumière polarisée	183
4) Discussion	184
III – Conclusion.....	184
C – Conclusion générale	185
I – Synthèse des différents résultats	185
II – Perspectives	187
<i>Annexe A : Fluorescence / Expériences de FRAP</i>	191
I – Vérification de la qualité de l’orientation grâce à la fluorescence.....	191
II – Extraction des coefficients de diffusion	193
<i>Annexe B : Cryofracture.....</i>	195
I – Technique de cryofracture	195
1) Réplication	195
2) Fracture d’une phase lamellaire	196
<i>Annexe C : Quelques estimations.....</i>	197
I – Calcul de l’excès de surface engendré par une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 selon la structure microscopique du défaut	197
3) Rappels.....	197
4) Evolution du pas smectique et défauts	197
5) Dislocation de type escalier de Chambord.....	198
6) Dislocation vis de type « poignée vis ».....	200
II – Diffusion dans une phase lamellaire ponctuée de boucles de dislocations	202
1) Rappels.....	202
2) Estimation du coefficient de diffusion $D_{//}$ en fonction de la quantité de défauts	202
III – Ordres de grandeur des énergies de cœur des défauts et de l’entropie des boucles de dislocations.....	206
1) Energie de courbure	206
L’énergie de courbure libérée lors de la destruction des défauts peut s’écrire :	206
2) Entropie de rotation des boucles de dislocations	207
Conclusion générale.....	200

Introduction générale

Ce manuscrit se présente en deux parties.

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié quelques propriétés d'une phase lamellaire dopée par une molécule hydrosoluble. Différents systèmes de tensioactifs sont étudiés ainsi que deux types de molécules : des petites molécules (fluorophores) et une protéine (BSA).

Le premier chapitre est consacré à l'introduction des différentes notions nécessaires à la compréhension de cette thèse. Après une brève introduction sur les phases lamellaires lyotropes, nous décrivons les travaux majeurs ayant porté sur le dopage de ces dernières. Dans la suite nous présentons les différentes espèces chimiques utilisés : tensioactifs (et leurs diagrammes des phases), BSA et fluorophores. Enfin, nous introduisons les principales techniques expérimentales qui ont été utilisées dans le cadre de ce travail.

Dans le second chapitre, les diagrammes de phases de différents systèmes dopés sont présentés. Les phases lamellaires lyotropes étant des systèmes particulièrement adaptés à l'étude de la diffusion d'une espèce à l'échelle moléculaire, la suite de ce chapitre est dédié à l'étude de ces propriétés pour différentes sondes dans les différents systèmes de tensioactifs. Le contrôle de l'orientation des systèmes nous permet d'étudier les propriétés de diffusion des molécules dopantes dans le plan des couches. De plus, la dilution du système nous permet de contrôler précisément l'épaisseur de la couche aqueuse. Ce travail met en évidence quelques caractéristiques de la diffusion d'une particule dans un milieu confiné et fortement anisotrope.

Dans la seconde partie de ce travail, nous nous intéressons à l'étude d'une transition de phase smectique-cholestérique dans un système de membranes composé de tensioactifs aux propriétés de courbure très différentes et variables en fonction de la température.

En s'appuyant sur des travaux antérieurs, nous étudions tout d'abord la formation de défauts dans la phase lamellaire à l'approche de la transition. A l'aide de différentes techniques expérimentales (diffraction des rayons X, FRAP, Microscopie électronique...) la structure, la densité et l'organisation de ces défauts sont étudiés avec précision.

Dans la suite, la transition de phase elle-même est étudiée. L'ensemble des données indique que la transition de phase est régie par les mêmes mécanismes que ceux identifiés dans les systèmes de corps purs (systèmes thermotropes). Deux nouvelles phases de défauts organisés sont notamment identifiées et quelques mécanismes de la transition smectique – cholestérique sont mis en évidence.

Pour finir, nous proposons, en se basant sur différents travaux théoriques, un scénario possible de la transition smectique-cholestérique en termes de débouclage de boucles de défauts. Ce scénario, s'il reste spéculatif, est néanmoins totalement compatible avec toutes les données obtenues dans le cadre de ce travail ou dans les travaux antérieurs.

Partie I

Diffusion moléculaire d'un dopant
hydrosoluble dans une phase lamellaire
lyotrope

Chapitre I : Introduction

L'objectif de ce chapitre sera d'introduire différentes notions nécessaires à la compréhension de la première partie de cette thèse.

I – Tensioactifs en solution

Les molécules hydrophiles sont caractérisées par leur affinité élevée pour des solvants polaires. Ces molécules vont créer des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau sans trop perturber la structure locale de celles-ci, cette dernière étant également régie par des liaisons hydrogènes.

Les molécules hydrophobes comme les hydrocarbures, en revanche, perturbent fortement cette structure. Leur interaction avec l'eau est défavorable d'un point de vue énergétique. Ces molécules vont donc se condenser lorsqu'elles sont en solution afin de limiter la surface de contact avec le solvant.

Les molécules amphiphiles se caractérisent par l'existence, au sein de la même molécule, d'une partie hydrophile et d'une partie hydrophobe. Cette organisation particulière leur donne des propriétés singulières d'auto organisation. Les molécules amphiphiles sont, en solution dans l'eau, susceptibles de former une grande variété d'agrégats supra-moléculaires tels que les micelles sphériques ou cylindriques, les phases de membranes ou encore les micro-émulsions. Ces différentes morphologies sont contrôlées par les propriétés de courbure spontanée et la rigidité des interfaces créées qui sont la conséquence des interactions entre molécules.

A faible concentration, les molécules sont dispersées dans le solvant. Au delà d'une concentration critique (la concentration micellaire critique ou CMC), elles se regroupent pour former des agrégats. La forme des agrégats varie en fonction de la concentration en molécules amphiphiles. Pour cette raison de tels systèmes sont dits lyotropes (lyo – dilution, tropo - forme). La nature des phases obtenues dépend également très souvent de la température (systèmes thermotropes).

L'étude de ces agrégats est un enjeu considérable en physico-chimie de la matière condensée. Les molécules amphiphiles sont omniprésentes dans le monde industriel (savons, peintures, émulsifiants, etc.). De plus, certains agrégats, et notamment les bicouches de lipides, servent de systèmes modèles pour la compréhension de certaines problématiques biologiques. En particulier, les membranes plasmiques des cellules ainsi que certaines membranes de compartiments cellulaires sont des bicouches de lipides enrichies en sucres et en protéines.

II - Phases lamellaires lyotropes

1) Les phases de membranes

Les phases de membranes occupent une place importante dans les diagrammes de phase des solutions de molécules amphiphiles. Il existe plusieurs types de phases de membranes aux propriétés singulières : phase éponge (L_3), phase cubique, les phases lamellaires... La description de l'ensemble de ces phases dépasse largement le cadre de ce travail ².

Les phases lamellaires lyotropes (L_α , L_β' , P_β') sont constituées d'un empilement périodique de bicouches (ou membranes) de molécules tensioactives. Ces phases apparaissent principalement pour des systèmes ayant une courbure spontanée nulle (ou faible). Il existe trois types d'organisations des molécules au sein d'une bicouche dans les systèmes lamellaires et donc trois phases aux propriétés d'invariances particulières : la phase L_α , la phase L_β' et la phase P_β' . La figure II-1 présente l'organisation des molécules au sein de ces trois phases. Dans la phase L_α , l'organisation des molécules est de type liquide au sein de membrane planes en moyenne. Dans la phase P_β' , les membranes sont déformées de manière périodique. Les molécules sont alors généralement inclinées par rapport à la normale aux couches et sont organisées au sein des membranes. Enfin, dans la phase L_β' , les molécules sont inclinées par rapport à la normale aux couches et sont organisées au sein de membrane planes.

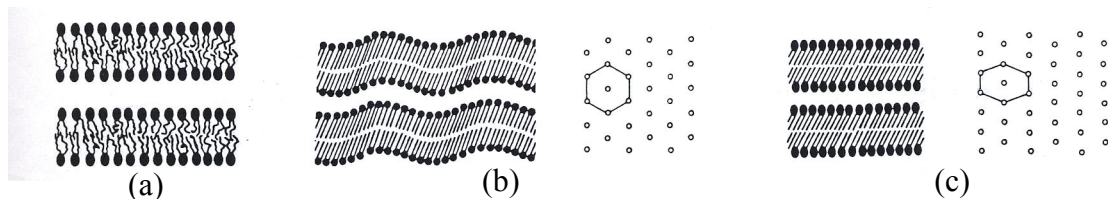


Figure II.1. Description des différentes phases lamellaires recensées. Dans la phase L_α (a), l'ordre des molécules est liquide au sein des bicouches. Pour les phase P_β' (b) et L_β' (c) les molécules sont organisées selon un ordre quasi-cristallin et sont inclinées par rapport à la normale aux couches.

La phase L_α , qui sera la phase la plus étudiée dans ce travail, est un empilement régulier, de période d , de bicouches de molécules amphiphiles d'épaisseur δ , séparées par une couche de solvant d'épaisseur d_w . On a $d = \delta + d_w$. La figure II-2 représente un tel système. Dans ce manuscrit, l'axe z désigne toujours l'axe d'empilement des couches.

² Voir Micelles, membranes and microemulsions, W. Gelbart, pour plus d'information sur ces phases.

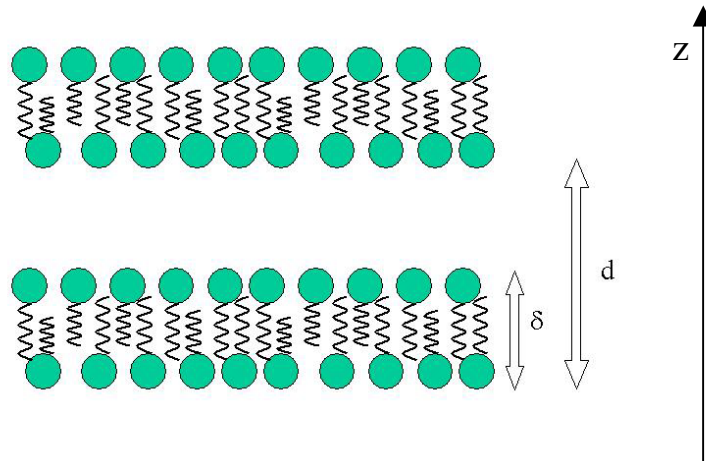


Figure II-2. Représentation schématique d'une phase lamellaire lyotrope. Elle est constituée de bicouches de tensioactifs, d'épaisseur δ , empilées selon une direction de l'espace et distante de d . Pour des raisons géométriques, on voit que $d = \delta/\phi_m$, avec ϕ_m la fraction volumique en tensioactifs dans l'échantillon.

Pour un échantillon homogène, la périodicité de la phase lamellaire est liée à la fraction volumique en membrane, pour des raisons géométriques simples, par l'expression :

$$\phi_m = \delta/d \quad (1)$$

Avec ϕ_m la fraction volumique en membrane dans l'échantillon. L'existence de fluctuations (ondulation) de petites longueurs d'onde apporte des corrections logarithmiques à cette relation purement géométrique³.

L'organisation des molécules au sein d'une bicouche est de type liquide à deux dimensions. La membrane peut avoir plusieurs constituants (typiquement une molécule amphiphile et un co-tensioactif). Un co-tensioactif est une molécule hydrosoluble mais qui, en présence d'agrégats, préférera s'insérer dans ces derniers. La phase lamellaire L_α possède les mêmes propriétés de symétrie que la phase smectique A des cristaux liquides thermotropes⁴.

Les points suivants n'ont pas pour ambition de décrire l'intégralité des propriétés de cette phase mais, simplement, de donner quelques unes des propriétés qui seront importantes dans la suite.

2) Propriétés physiques des membranes isolées

Une membrane de tensioactifs se caractérise par son extension latérale très grande devant son épaisseur. La membrane peut, en première approximation être considérée comme un objet incompressible. On peut alors décrire une membrane comme un objet bidimensionnel de surface, S_0 , constante et décrire le comportement de cet objet comme résultant uniquement de ses propriétés élastiques intrinsèques et des contraintes extérieures. L'énergie par unité de surface associée à la courbure d'une membrane peut alors s'écrire⁵ :

³ W. Helfrich et R.M. Servuss, Nuovo Cimento, 3, 1984, 137

⁴ Voir Partie II / Chapitre I

⁵ W. Helfrich, Z Naturforsch, 28 c, 1973, 693

$$f = \left(\frac{1}{2} \kappa \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} - C_0 \right)^2 + \frac{\bar{\kappa}}{R_1 R_2} \right) \quad (2)$$

Avec R_1 et R_2 les deux rayons de courbures principaux de la surface et C_0 la courbure spontanée. κ et $\bar{\kappa}$ sont respectivement les constantes élastiques de courbure moyenne et de courbure gaussienne. Elles ont la dimension d'une énergie. Le premier terme correspond à la courbure moyenne, le second est la courbure gaussienne. Ce dernier est lié à la topologie de la surface. C'est ce terme qui fixe la topologie de la surface à l'équilibre⁶.

Le coût énergétique associé à la déformation d'une membrane, au voisinage de sa position d'équilibre, peut donc s'écrire :

$$f_{def} = \frac{1}{2} \kappa \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} - C_0 \right)^2 \quad (3)$$

Dans le cas d'une membrane isolée, le comportement de la membrane à l'équilibre va dépendre de la compétition entre cette énergie et l'énergie thermique ($k_B T$). Deux cas limites peuvent être considérés :

- Le cas $\kappa \gg k_B T$ pour lequel les fluctuations thermiques n'auront que peu d'effet. La courbure de la membrane est alors sa courbure spontanée. C'est généralement le cas des membranes de phospholipides par exemple⁷.
- Le cas $\kappa \sim k_B T$ pour lequel la membrane va se déformer autour de son état d'équilibre. Pour de tels systèmes, l'influence des fluctuations thermiques sera considérable.

3) Interactions dans les phases lamellaires

Il existe quatre types d'interactions entre les bicouches conduisant à la stabilité d'une phase lamellaire :

- Les interactions de Van der Waals. Ces forces sont dues aux interactions dipôle induit / dipôle induit. Elles sont globalement attractives. Le potentiel d'interaction par unité de surface entre deux membranes planes s'exprime de la manière suivante⁸ :

$$V_{vdw} = - \frac{A_H}{12 \pi} \left(\frac{1}{d^2} + \frac{1}{(d+2\delta)^2} - \frac{2}{(d+\delta)^2} \right) \quad (4)$$

⁶ W. Helfrich, Z Naturforsch, 33 a, 1981, 305

⁷ M. B. Schneider, J. Phys. France, 45, 1984, 1457

⁸ J. N. Israelachvili, Intermolecular and surface forces, Academic Press, 1985

Avec A_H la constante Hamaker (constante pour un système donné), elle est de l'ordre de $k_B T$.

- Les forces d'hydratation sont répulsives et à courte portée^{9, 10}. L'origine de ces interactions provient de la structuration des molécules d'eau par l'intermédiaire des liaisons hydrogène. La portée est de l'ordre de la taille de quelques molécules d'eau.

$$V_{\text{hyd}} = F_0 e^{\left(-\frac{d}{L_H}\right)} \quad (5)$$

F_0 est une énergie par unité de surface et L_H la portée de l'interaction (typiquement quelques Å). Cette force n'est dominante que pour des membranes très peu espacées et peut être négligée pour les phases lamellaires diluées. Elle devient par contre importante dans les phases gels¹¹.

- L'interaction électrostatique. Cette force n'existe que pour des molécules de tensioactifs chargés. C'est une interaction à longue portée. En l'absence de sels, le potentiel d'interaction pour les grandes valeurs de d , s'écrit¹² :

$$V_{\text{élec}} \sim \frac{1}{4} \frac{\pi k_B T \left(1 - \frac{c}{L_B d} + \frac{c^2}{L_B^2 d^2}\right)}{L_B d} \quad (6)$$

Avec L_B la longueur de Bjerrum du solvant (~ 7 Å pour l'eau à température ambiante) et c la surface par charge. La solution générale, i.e. pour toutes les valeurs de d , a été calculée par A. Parsegian¹³. L'addition de sels réduit la portée de cette interaction. Le potentiel d'interaction devient :

$$V_{\text{élec}} = E_0 e^{\left(-\frac{d}{\lambda_D}\right)} \quad (7)$$

⁹ A. Parsegian et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76, 1979, 2750

¹⁰ R. P. Rand, Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 10, 1981, 511

¹¹ J. Katsaras et K. R. Kelley, Europhysics Lett., 38 (1), 1997, 43

¹² D. Roux et C. R. Safinya, J. Phys. France, 49, 1988, 307

¹³ A. Parsegian et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76, 1979, 2750

Avec E_0 une énergie par unité de surface. La portée de l'interaction est alors déterminée par la longueur de Debye :

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 k_B T}{\sum_i Z_i^2 e^2 C_0}} \quad (8)$$

Avec C_0 la concentration en ions de la solution, Z leur valence, ε_0 la permittivité électrique du vide, ε_r la permittivité relative du solvant ($\varepsilon_r = 80$ pour l'eau) et e la charge de l'électron

- L'interaction de type stérique est due aux fluctuations d'une membrane dans un espace confiné par les deux membranes adjacentes. Elle est l'analogue, pour des objets à deux dimensions, de la pression d'un gaz parfait. Cette interaction est à longue portée. Elle est d'autant plus importante que la membrane est flexible (κ petit). Le potentiel d'interaction par unité de surface résultant peut s'écrire comme ¹⁴ :

$$V_{\text{ond}} = \frac{3}{128} \frac{\pi^2 k_B^2 T^2}{\kappa d^2} \quad (9)$$

Les molécules tensioactives neutres forment des phases lamellaires stabilisées par la compétition entre l'interaction d'Helfrich (répulsive) et les interactions de Van der Waals (globalement attractives). Ce compromis fixe la limite de dilution de la phase lamellaire pour laquelle les deux contributions sont égales. En deçà de cette dilution, les forces répulsives dominent et le système prend une certaine périodicité, d , imposée par les concentrations respectives des différents constituants. Au delà de cette dilution, les interactions attractives entre bicouches imposent à la phase lamellaire la périodicité d'équilibre et le solvant en excès est expulsé du système. On a alors une séparation de phases.

Pour les tensioactifs chargés, en l'absence de sels, les interactions électrostatiques dominent les interactions stériques (qui sont fortement diminuées du fait de la répulsion coulombienne forte entre les membranes). La limite de dilution est fixée par l'équilibre des forces de Van der Waals et des interactions coulombiennes. En présence de sels en quantité suffisante, les interactions électrostatiques sont diminuées et la phase lamellaire se comporte comme une phase de molécules amphiphiles neutres.

Les systèmes de tensioactifs zwitterioniques (comme les phases lamellaires de lécithine) sont des cas intermédiaires. Leurs propriétés sont fixées par la compétition entre les différentes interactions.

¹⁴ W. Helfrich, Physics of defect, les Houches XXXV, North-Holland, 1981, 716

4) Elasticité d'une phase lamellaire

Une phase cristal liquide, comme toute phase ordonnée possède des propriétés élastiques. Toute déformation de la structure nécessite un apport énergétique. Si cet apport d'énergie est stoppé, la phase va relaxer vers son état d'équilibre. Les propriétés élastiques de la phase L_α peuvent être décrites en considérant que la phase lamellaire est une phase smectique A à deux constituants incompressibles¹⁵. Comme expliqué ci-dessus, l'état d'équilibre d'une phase lamellaire est caractérisé par un empilement périodique, de période d , de membranes d'épaisseur δ . A cet état d'équilibre correspond une énergie par unité de volume f_0 . Le coût énergétique de tout écart à cette état d'équilibre peut s'écrire :

$$f = \frac{1}{2} B \left(\frac{\partial}{\partial z} u(r) \right)^2 + \frac{1}{2} K \Delta_\perp^2 (u(r)) + \frac{1}{2} \frac{\delta c^2}{\chi} + Cc \delta c \left(\frac{\partial}{\partial z} u(r) \right) \quad (10)$$

Avec $u(r)$ le déplacement d'une couche, dans la direction d'empilement des couches, par rapport à sa position d'équilibre ; δc la variation locale de l'épaisseur (concentration) de la bicouche. B est le module de compression des couches à concentration constante, K le module d'élasticité de courbure de la phase smectique, χ est une constante reliée à la compressibilité osmotique des membranes et Cc est une constante de couplage entre le déplacement des couches et les fluctuations de concentration.

Le module d'élasticité de courbure, K , de la phase lamellaire est relié au module d'élasticité d'une membrane isolée κ par la relation :

$$K = \kappa / d \quad (11)$$

Avec d le pas smectique de la phase lamellaire. La constante élastique B correspond à une compression simultanée de la couche de solvant et de la membrane. On définit donc \bar{B} , le module de compression des couches à potentiel chimique constant qui correspond à la compression d'une couche smectique à épaisseur de membrane, δ , fixée :

$$\bar{B} = B - \chi Cc^2 \quad (12)$$

\bar{B} est directement fonction des interactions entre membranes.

¹⁵ F. Brochard et P. G. de Gennes, Pramana Suppl., 1, 1975, 1

La figure II-3 présente les trois déformations élastiques fondamentales d'une phase lamellaire associées à l'expression (10) et les constantes associées à ces modes.

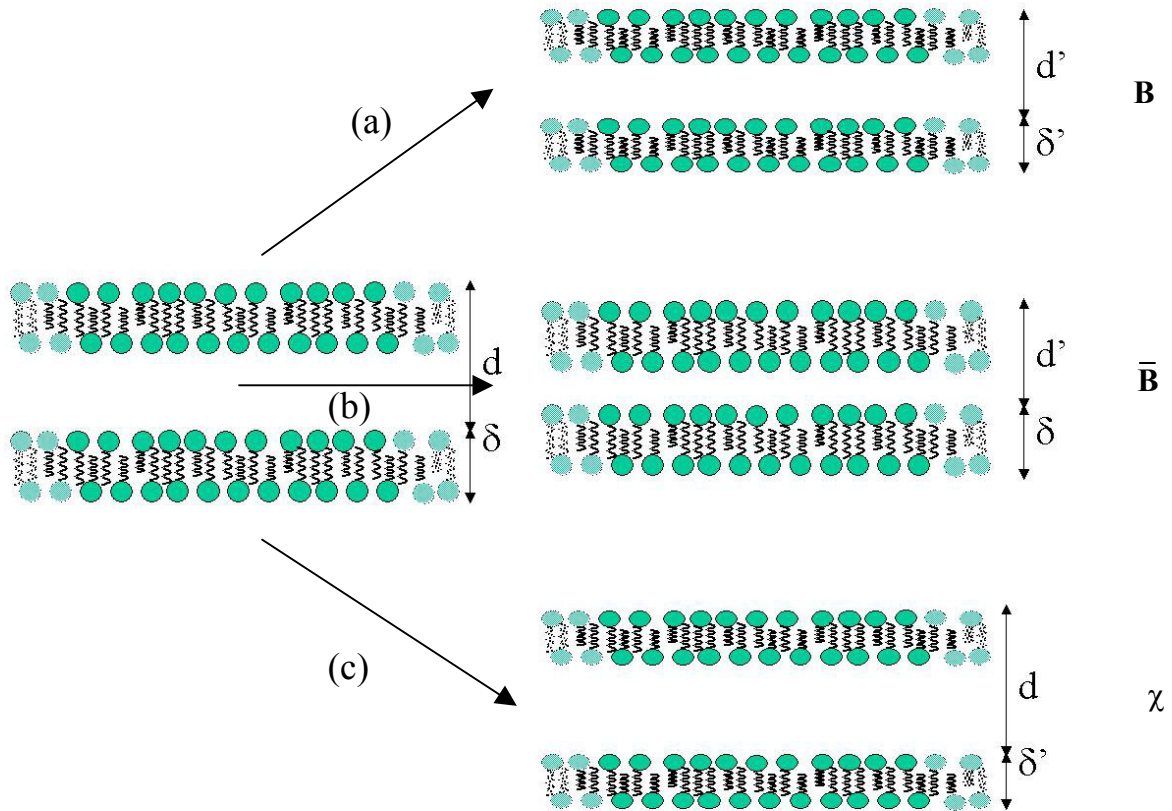


Figure II-3. Représentation schématique des trois déformations élastiques fondamentales selon l'axe d'empilement des couches d'une phase lamellaire lyotrope à deux constituants. (a) Compression simultanée de la couche aqueuse et de la bicouche (B). (b) Compression de la couche aqueuse (\bar{B}). Cette déformation se produit à potentiel chimique constant. (c) Compression de la bicouche (χ).

5) Fonctions de corrélation, effet Landau - Peierls

Les fluctuations décrites ci-dessus, excitées par l'énergie thermique, vont avoir une grande influence sur les propriétés des phases lamellaires. Elles vont, notamment, diminuer les interactions responsables de l'ordre de position des bicouches. En prenant la transformée de Fourier de l'expression (10) et en utilisant le théorème d'équipartition de l'énergie on peut

calculer les fonctions de corrélation des fluctuations de déplacement des couches ¹⁶ et des fluctuations de concentration ¹⁷ :

$$\langle u(-q) u(q) \rangle = \frac{k_B T}{\overline{B} q_z^2 + K q_\perp^4} \quad (13-a)$$

$$\langle \delta c(-q) \delta c(q) \rangle = \frac{k_B T \chi (B q_z^2 + K q_\perp^4)}{\overline{B} q_z^2 + K q_\perp^4} \quad (13-b)$$

$$\langle \delta c(-q) u(q) \rangle = \frac{k_B T \chi C c q_z}{\overline{B} q_z^2 + K q_\perp^4} \quad (13-c)$$

En partant de l'expression (13-a), on peut calculer l'amplitude moyenne des fluctuations de déplacement des couches smectiques. On a :

$$\langle |u(r)|^2 \rangle = \sum_q \langle u(-q) u(q) \rangle \quad (14)$$

Le calcul de ce terme donne :

$$\langle |u(r)|^2 \rangle = \frac{k_B T}{4 \pi \overline{B} \lambda} \ln \left(\frac{L}{a} \right) \quad (15)$$

Avec $\lambda=(K/\overline{B})^{1/2}$, la longueur de pénétration smectique introduite par de Gennes. L est la taille de l'échantillon et a une longueur moléculaire. $2\pi/L$ et $2\pi/a$ sont les vecteurs d'onde de coupure des fluctuations dans le plan des couches.

Le résultat de ce calcul est que, à cause des fluctuations (phonons) de grandes longueurs d'onde, l'amplitude moyenne des fluctuations de déplacement des couches diverge avec la taille L de l'échantillon. Cet effet est appelé effet Landau – Peierls ^{18, 19}. La conséquence directe est qu'il ne peut exister de symétrie de translation de type solide dans un corps dont la densité est périodique selon une seule direction de l'espace. L'ordre à longue portée est détruit par les fluctuations thermiques. On notera cependant que l'amplitude des fluctuations diverge lentement (de manière logarithmique) avec L et qu'une phase lamellaire

¹⁶ P. G. de Gennes, J. Phys. Suppl. 11/12, 30, 1969, C4-65

¹⁷ F. Nallet et al., J. Phys. France, 50, 1989, 2333

¹⁸ R. E. Peierls, Helv. Phys. Acta, 7, Suppl., 81, 1934

¹⁹ L. D. Landau, Phys. Z. Sowjetunion., 2, 1937, 26

possède donc un ordre de position à « quasi longue portée » dans la direction perpendiculaire aux couches.

L'une des conséquences de ce qui précède est que la valeur moyenne des fluctuations de position moyenne des bicouches ne tend pas vers 0. Ce calcul a été réalisé par Caillé²⁰, A. Nielsen²¹ et Gunther²². On obtient :

$$\langle |\Delta u(r)|^2 \rangle = \frac{k_B T}{4 \pi (\overline{BK})^{1/2}} \left(2\gamma + \ln \left(\frac{\pi^2 r_{\perp}^2}{a^2} \right) + \text{Ei} \left(\frac{1}{4} \frac{r_{\perp}^2}{\lambda |z|} \right) \right) \quad (16)$$

Avec γ la constante d'Euler, a une longueur moléculaire et Ei la fonction intégrale exponentielle. On a $r^2 = r_{\perp}^2 + z^2$. L'expression (16) est la fonction de corrélation smectique. Nous verrons au chapitre III que l'effet Landau - Peierls est responsable de certaines caractéristiques des spectres de diffraction des rayons X.

6) Effet du cisaillement sur une phase lamellaire : formation d'ognons

L'écoulement des phases lamellaires sous cisaillement a été étudié par O. Diat durant sa thèse²³. Il a montré que les phases lamellaires lyotropes s'organisent, sous certaines conditions de cisaillement, en une phase d'objets multilamellaires jusqu'au centre²⁴. Ces objets, appelés SphérulitesTM ou ognons sont de taille variable selon le cisaillement et peuvent, dans certains cas, s'organiser en réseau cristallin²⁵. La figure II-4 présente le diagramme de cisaillement du système SDS/pentanol/dodécane/H₂O en fonction du taux de cisaillement et de la fraction volumique en membrane.

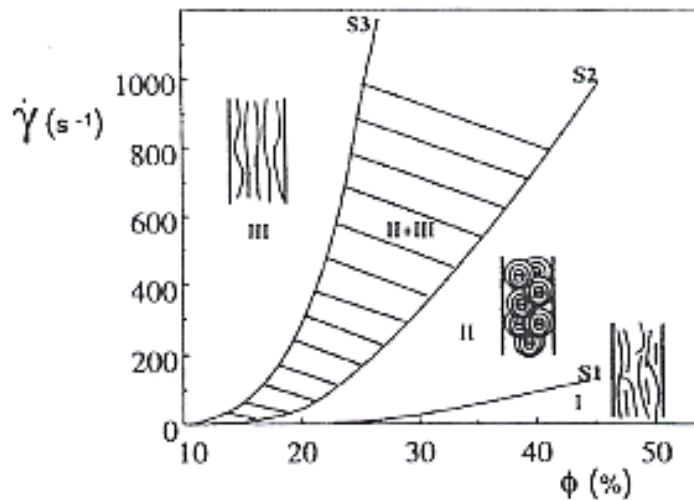


Figure II-4. Diagramme de cisaillement pour la phase lamellaire du système SDS/pentanol/dodécane/H₂O en fonction de la fraction volumique en membrane et du taux de cisaillement.

²⁰ A. Caillé, Acad. Scien. Ser., B 274, 1972, 891

²¹ Nielsen et al., 1980

²² L. Gunther, Phys. Rev. A, 22, 1980, 1733

²³ O. Diat, Thèse de l'université Bordeaux I, 1993

²⁴ O. Diat et al., J. Phys. II France, 3, 1993, 1427-1452

²⁵ J. B. Salmon, Thèse de l'université Bordeaux I, 2003

La figure II-5 montre un cliché obtenu en microscopie électronique après réplification (cryofracture) de l'état oignons organisés²⁶, i.e. une phase ordonnée d'objets multilamellaires.

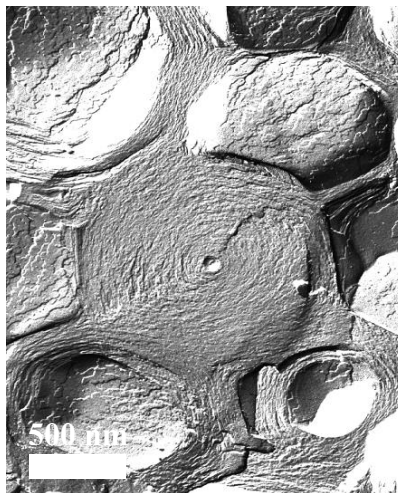


Figure II-5. Cliché obtenu en microscopie électronique après cryofracture de l'état oignons organisés. Phase d'oignons ordonnés en réseau hexagonal.

La figure II-6 a présente un cliché obtenu en microscopie électronique après réplification d'une phase lamellaire de lécithine (PC/Simulsol/H₂O, voir ci-dessous). Si l'on cisaille une telle phase et que l'on disperse la phase obtenue dans un excès d'eau, on obtient des objets sphériques, multilamellaires jusqu'au centre en suspension dans l'eau (II-6 (b)). L'utilisation des SphérulitesTM pour différentes application a fait l'objet d'un nombre important d'études au cours des dix dernières années^{27, 28, 29, 30, 31}.

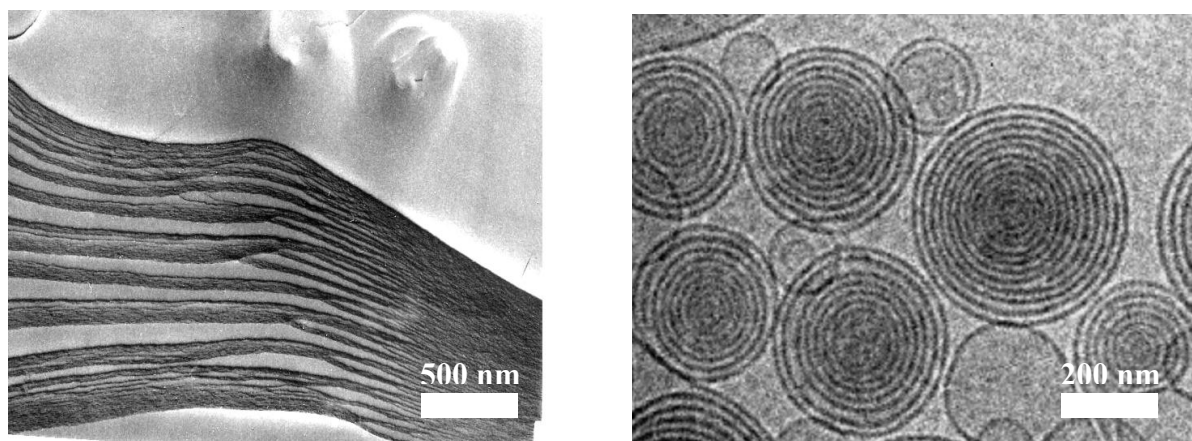


Figure II-6. (a) Cliché obtenu en microscopie électronique après réplification d'une phase lamellaire de lécithine à une fraction volumique en membrane $\phi_m \sim 0.6$. Photo prise par O. Mondain-Monval. (b) Objets obtenus après cisaillement et dispersion dans un excès d'eau (Cryo-TEM). Image réalisée par O.Regev et O. Mondain-Monval.

²⁶ T. Gulik-Krzywicki et al., Langmuir, 12, 1996, 4668-4671

²⁷ F. Gauffre, Thèse de l'université Bordeaux I, 1997

²⁸ T. Pott et D. Roux, FEBS Lett., 511, 2002, 150-154

²⁹ P. Chenevier, Thèse de l'université Bordeaux I, 2001

³⁰ D. Olea, Thèse de l'université Bordeaux I, 2004

³¹ C. Poirier, Thèse en cours au laboratoire

L'encapsulation d'un principe actif constitue l'un des éléments clés dans la conception de nouveaux médicaments. Les propriétés des oignons (résistance, taille contrôlée, simplicité de formulation...) en font une piste de recherche intéressante dans le domaine de la vectorisation notamment. L'une des idées à la base de ce travail est de doper la phase lamellaire afin d'obtenir des oignons chargés en principes actifs (ADN, protéine...).

III – Dopage d'une phase lamellaire : bibliographie

1) Travaux antérieurs

L'effet de l'insertion d'un dopant dans un système lamellaire a fait l'objet de nombreuses études au cours des quinze dernières années. On peut diviser ces travaux en deux catégories : les études portant sur des dopants membranaires et celles portant sur des dopants dilués dans le solvant.

Dopants membranaires

Les études sur des dopants membranaires ont été réalisées majoritairement sur des tensioactifs de petites tailles³² ou sur des protéines membranaires^{33, 34}. Ces études portent principalement sur les propriétés de diffusion des dopants au sein d'une bicouche. Le résultat essentiel de ces travaux a été de confirmer les prédictions théoriques qui prédisaient une dépendance du coefficient de diffusion des particules, en fonction de la taille de l'objet diffusant, singulière^{35, 36}. Plus récemment, des études ont porté sur l'insertion de molécules amphiphiles dont les têtes polaires sont des polymères^{37, 38}. Les diagrammes de phases obtenus montrent des phénomènes d'exclusion des polymères de tailles supérieures au pas smectique. L. Perrino-Gallice a étudié comment l'insertion d'un peptide liposoluble modifie la densité électronique d'une bicouche de tensioactif (DMPC)³⁹.

Dopants dilués dans le solvant

Ces systèmes ont fait l'objet d'un travail de recherche intensif dans les quinze dernières années. On notera les travaux de P. Fabre et al. sur les systèmes ferrosmectiques^{40, 41}. Les systèmes étudiés sont des systèmes ternaires (eau, huile, tensioactif) dopés par des particules magnétiques. De nombreux travaux ont été réalisés sur ces systèmes. Ils démontrent, entre autres, l'importance des interactions entre membranes dans la stabilité du dopage⁴². L'influence du dopage sur les propriétés de la phase lamellaire est aussi largement caractérisée^{43, 44, 45}.

³² W. L. C. Vaz, *Biochemistry*, 21, 1982, 5608-5612

³³ W. L. C. Vaz et al., *Biochemistry*, 24, 1985, 781

³⁴ Clegg et al., *Prog. in lipid-protein inter.*, vol 1, 1985, Elsevier, Amsterdam

³⁵ Saffman, *J. Fluid. Mech.*, 73, 1976, 593-602

³⁶ voir chapitre II

³⁷ B-S. Yang et al., *Langmuir*, 17, 2001, 5834-5841

³⁸ Y. Yang et al., *Phys. Rev. Lett.*, 80 (12), 1998, 2729-2732

³⁹ L. Perrino-Gallice, Thèse de l'Université ...

⁴⁰ P. Fabre et al., *Phys. Rev. Lett.* 64, 5, 539 (1990)

⁴¹ P. Fabre et al., *J. Mag. Magn. Mat.*, 85, 77(1990)

⁴² L. Ramos et al., *J. Phys. Chem.*, 100 (10), 4533 (1996)

⁴³ F. Nallet et al., *J. Phys. II France*, 4, 1477(1994)

⁴⁴ V. Ponsinet et P. Fabre, *J. Phys. II France*, 6, 955 (1996)

⁴⁵ V. Ponsinet, P. Fabre, *J. Phys. Chem.*, 100 (12), 5035 (1996)

Plusieurs études ont porté sur l'insertion de polymères solubles dans des phases lamellaires de tensioactifs. C. Ligoure et al. ont étudié l'insertion d'un polymère non-ionique (PVP) dans une phase lamellaire stabilisée par les interactions électrostatiques⁴⁶. Ils montrent que des quantités extrêmement importantes (rapport massique PVP/H₂O ~ 60%) de polymère peuvent être insérées entre les bicouches. L'ajout de sels, et donc la diminution des interactions stabilisant la phase conduit à une séparation de phases. J. T. Brooks et M. E. Cates ont calculé le diagramme de phase théorique d'une phase lamellaire stabilisée par interaction entropique, dopée avec un polymère⁴⁷. Différentes zones de stabilités sont recensées selon la nature de la phase lamellaire et/ou les propriétés d'adsorption du polymère. On se référera également aux travaux de Ficheux et al.⁴⁸ et de R. P. Sear sur les effets de l'insertion d'un polymère dans une phase L_α.

S. Golchi et al. ont étudié comment l'insertion de particules de silice dans une phase lamellaire, à proximité d'une transition entre une phase lamellaire pure et un système diphasique lamellaire-éponge, modifiait la température de transition⁴⁹. Leurs études, théorique et expérimentale, montrent que les particules vont diminuer les interactions à longue portée entre des membranes très souples.

Un autre travail notable sur ce sujet a été réalisé sur des particules d'argile insérées dans la phase aqueuse de systèmes lamellaires. Dans le système lamellaire AOT/H₂O, les auteurs montrent que les particules, dans la phase aqueuse lorsque la phase lamellaire est fortement diluée, pénètrent dans les membranes lorsque l'épaisseur de la couche aqueuse est inférieure à l'épaisseur de la particule⁵⁰. Les mêmes auteurs montrent que des particules d'argiles peuvent également être insérées dans des phases lamellaires de tensioactifs neutres⁵¹. Enfin, ils montrent l'influence des fluctuations de position des bicouches sur la stabilité du dopage.

Pour finir on notera, bien entendu, le travail très important fourni ces dernières années pour caractériser les phases lamellaires dopées avec de l'ADN⁵² : que ce soit sur des systèmes de tensioactifs cationiques^{53, 54, 55} ou, plus récemment, neutres^{56, 57}.

2) Aspects énergétiques

L'insertion d'un actif dans une phase lamellaire lyotrope est gouvernée par un certain nombre d'interactions. L'objectif est de comprendre quels sont les facteurs pertinents à prendre en compte pour expliquer l'insertion ou l'expulsion d'une molécule, et plus généralement, d'un objet, dans une phase lamellaire.

Entropie de mélange

⁴⁶ C. Ligoure et al., Phys. Rev. Lett., 71 (21), 1993, 3600

⁴⁷ J. T. Brooks et M. E. Cates, J. Chem. Phys., 99 (7), 1993, 5467

⁴⁸ M. F. Ficheux et al., J. de Physique II, 5, 1995, 823

⁴⁹ G. Salamat et E. W. Kaler, Langmuir, 15, 1999, 5414

⁵⁰ I. Grillo et al., Langmuir, 16, 2000, 4830

⁵¹ I. Grillo et al., Eur. Phys. J. E, 5, 2001, 377

⁵² Voir Partie I / Chapitre I

⁵³ Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 84, 1987, 7413-7417

⁵⁴ P. L. Felgner et G. M. Northrop, Nature, 337, 1987, 387-388

⁵⁵ P.L. Felgner et G. Rhodes, Nature, 349, 1991, 351-352

⁵⁶ T. Pott et D. Roux, FEBS Lett., 511, 2002, 150-154

⁵⁷ A. Colin et D. Roux, Eur. Phys. J. E, 8, 2002, 499-506

L'entropie de mélange d'un système représente la tendance des différents constituants à se mélanger. Pour un système lamellaire dopé avec une molécule hydrophile, l'entropie de mélange de cette dernière peut s'écrire comme l'entropie d'un gaz à deux constituants :

$$f_{entropie} \sim \phi \ln(\phi) + (1 - \phi) \ln(1 - \phi) \quad (19)$$

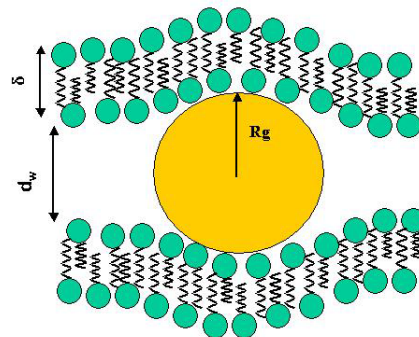
Avec ϕ la fraction volumique en dopant dans la phase aqueuse.

Interaction élastique objet-membrane (répulsives)

Un actif hydrophile inséré dans une phase lamellaire va, s'il interagit avec la membrane, déformer celle-ci localement (figure III-1). La vision la plus simple est de considérer une molécule hydrophile dont la taille est supérieure à l'épaisseur de la couche d'eau entre deux membranes (d_w). Cette déformation va donner naissance à une interaction répulsive entre la membrane et le dopant. En première approximation, on peut considérer que la phase lamellaire va réagir à la déformation comme un ressort. Le coût énergétique de cette déformation peut alors s'écrire ⁵⁸ :

$$f_{el} \sim \alpha \sqrt{KB} (d - d_0)^2 \phi \quad (20)$$

Figure III-1. Déformation des membranes induite par la présence de la molécule dopante aux faibles dilution.



Avec K et B les constantes élastiques du smectique, α une constante de l'ordre de l'unité et ϕ la fraction volumique en dopant. Turner et Sens ont montré que des particules déformant les membranes donnent ce type d'interaction. Cette interaction ne doit exister que dans le cas de système dont le pas smectique est de l'ordre du diamètre du dopant.

Interactions attractives entre objets (déformation des membranes)

Un actif inséré dans une phase lamellaire va, dans certaines conditions, interagir avec la membrane en la déformant localement. La figure III-2 représente de manière schématique la déformation d'une membrane au voisinage de l'objet. Cette déformation va se propager

⁵⁸ P. Sens et al., Phys. Rev. E, 55 (4), 1997, 4394

dans l'espace. Pour des raisons tenant aux interactions élastiques dans les smectiques, la déformation se propagera de manière fortement anisotrope.

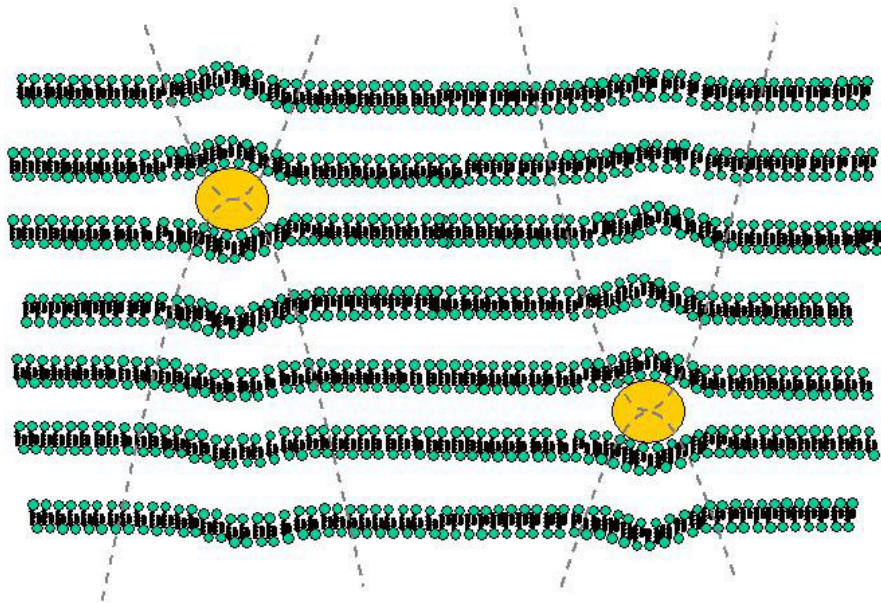


Figure I
a1

pante

Cette déformation des membranes va entraîner l'existence d'un potentiel attractif entre particules dopantes⁵⁹. Le second coefficient du viriel s'écrit alors :

$$B_v \cong -E_0^2 \lambda d^2 \quad (21)$$

$$\text{Où} \quad E_0 \cong \frac{1}{8} \sqrt{KB} (d_0 - d)^2 \quad (22)$$

λ est la longueur de pénétration smectique, B et K les constantes élastiques de la phase lamellaire. Le potentiel attractif correspondant s'écrit alors :

$$f_{at} \sim -E_0^2 \lambda d^2 \phi^2 \quad (23)$$

Une nouvelle fois cette interaction ne doit être importante que pour les systèmes dont le pas smectique est inférieur au diamètre de la particule dopante.

Autres interactions

Parmi les autres interactions pouvant influencer sur la stabilité du dopage, on notera les interactions entre particules dopantes. Celles-ci dépendent des propriétés physico-chimiques de ces dernières. La présence de charges électriques, en particulier, doit donner lieu à une

⁵⁹ P. Sens et al., Phys. Rev. E, 55 (2), 1997, 1275

répulsion coulombienne entre molécules. Cette interaction dépend alors de la teneur en sels du système.

Diagrammes de phases envisageables

Les différentes interactions détaillées ci-dessus doivent permettre de calculer théoriquement différents diagrammes de phase d'une phase lamellaire dopée avec une molécule hydrophile. Ce travail dépasse cependant les objectifs de ce manuscrit. On peut néanmoins, au vu des différentes interactions décrites ci-dessus, imaginer différents cas de figures. Lorsque le pas smectique⁶⁰ est supérieur à la taille de la particule l'entropie de mélange du système doit permettre, en l'absence d'autre interaction, d'obtenir des systèmes fortement dopés. Lorsque le pas smectique est inférieur ou égal à la taille du dopant, la compétition entre l'entropie de mélange, l'interaction répulsive élastique (membrane-objet) et l'interaction attractive (également d'origine élastique) entre particules dopantes propagée par le smectique doit conduire à différents comportements en fonction des valeurs des constantes élastiques du système. Le diagramme de phase schématisé représenté figure III-3 présente quelques unes des phases attendues. La phase L_α représente la phase lamellaire dopée lorsque la taille de la particule est inférieure au pas smectique. La phase $L_{\alpha 1}$ est une phase pour laquelle l'entropie de mélange est supérieure à l'énergie répulsive « membrane-objet ». La phase $L_{\alpha 2}$ est une phase pour laquelle la somme de l'entropie de mélange et du potentiel attractif entre objets est supérieure au coût énergétique de déformation des bicouches. Il est possible que les molécules dopantes s'agrègent dans cette phase si l'interaction attractive est trop importante.

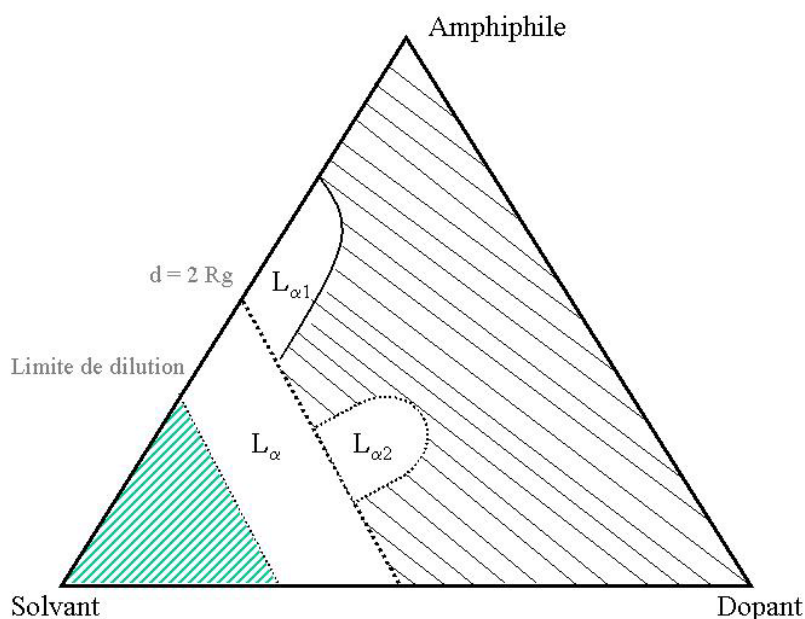


Figure III-3. Différentes phases envisageables dans un système lamellaire dopé avec une molécule hydrophile.

⁶⁰ En toute rigueur c'est l'épaisseur de la couche d'eau

Cette discussion montre qu'il doit exister, selon les valeurs des constantes élastiques d'une phase lamellaire, des systèmes possédants des phases concentrées en dopant. Ces phases sont, bien évidemment, très intéressantes pour l'obtention d'ognons fortement chargés en principes actifs.

IV – Diagrammes de phases des systèmes étudiés

1) PC/H₂O

La lécithine (PC) est un mélange de plusieurs lipides dont la longueur et la nature des chaînes grasses est variable (chaînes grasses de 16 ou 18 carbones, saturées ou non). La figure IV-1 présente la structure moyenne de la molécule et son diagramme de phase dans l'eau. On notera que ces tensioactifs sont zwitterioniques⁶¹.

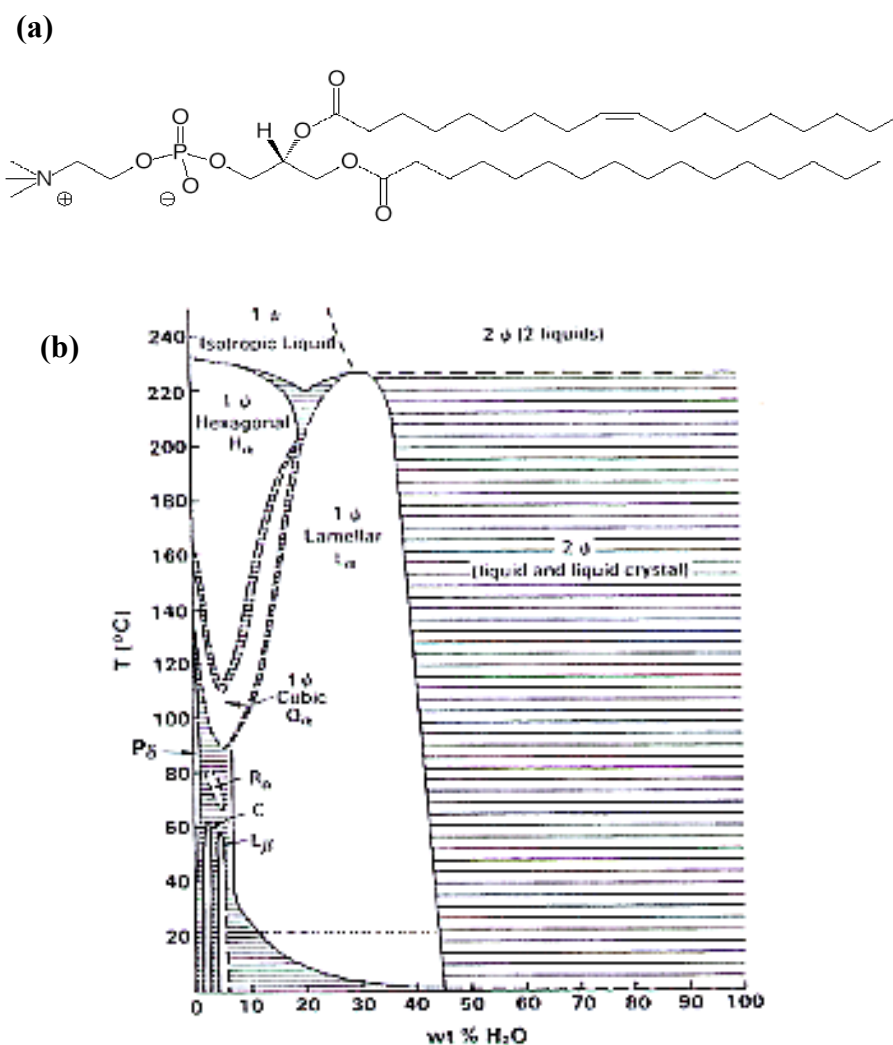


Figure IV-1. (a) Représentation schématique de la molécule de phosphatidylcholine de soja (PC). (b) diagramme de phase du tensioactif dans l'eau.

⁶¹ i.e. Ces molécules possèdent des charges mais sont globalement neutres. Leur charge effective en solution dépend alors fortement du pH.

Les phases lamellaires de lécithine sont stabilisées par un équilibre entre les interactions de fluctuations des bicouches, les interactions électrostatiques (répulsives) et les interactions de Van der Waals (attractives).

2) PC/Simulsol/H₂O

Le Simulsol est un tensioactif monocaténaire dont la structure est représentée figure IV-2. L'addition de Simulsol au système PC/H₂O permet de favoriser la courbure des bicouches et donc de faciliter la formation éventuelle d'ognons.

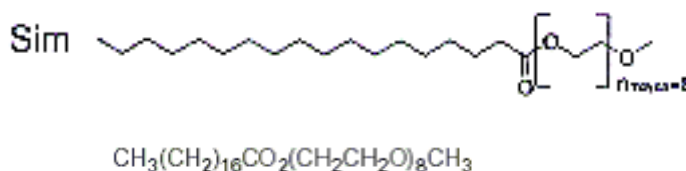


Figure IV-2. Structure et formule du cotensioactif utilisé : le Simulsol.

Dans la suite de ce travail, le rapport massique PC/Simulsol est pris à une valeur de 7/3. L'organisation du système est alors lamellaire (L_α) pour toutes les fractions volumiques en membranes supérieures à 0.51. En deçà, une séparation de phase intervient entre une phase lamellaire diluée ($\phi_m \sim 0.5$) et un excès de solvant.

3) AOT/H₂O/NaCl

La molécule d'AOT, bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate de sodium, est chargée négativement en solution. La figure IV-3 présente la molécule d'AOT et son diagramme de phase en solution dans l'eau en fonction de la dilution et de la concentration en sels (NaCl).

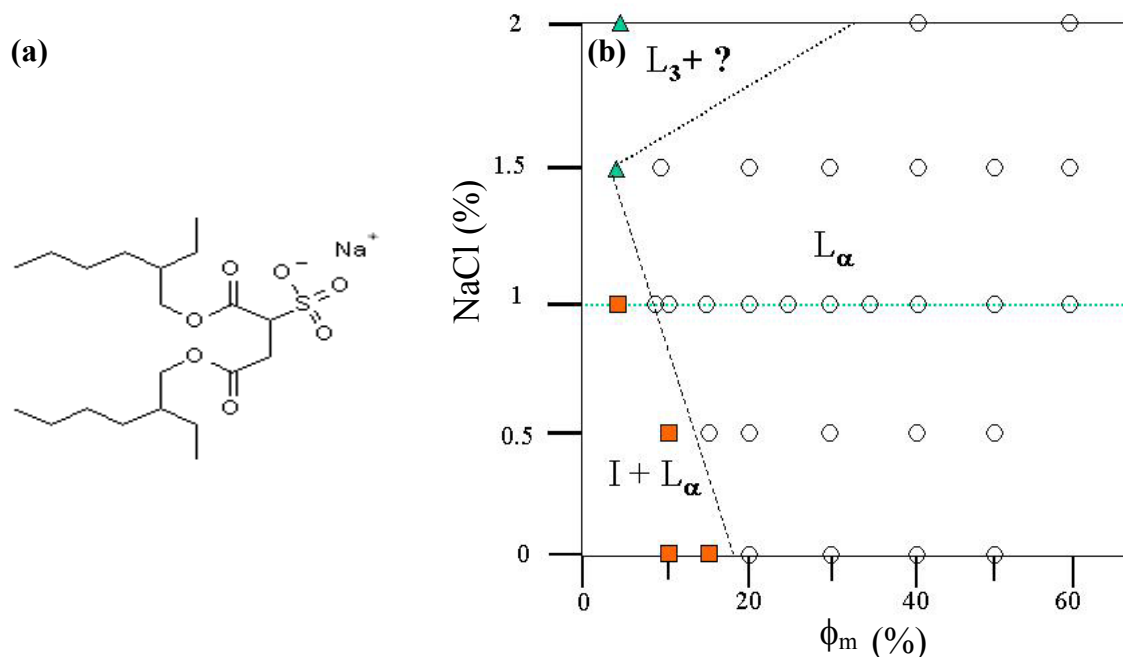


Figure IV-3. Diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl à 22°C en fonction de la fraction volumique en membrane (ϕ_m) et de la concentration massique en sels. ▲ : Phase éponge L_3 ; ■ : diphasique isotrope + phase lamellaire (ognons) ; ○ : phase lamellaire L_α .

Ce système est, en l'absence de sels, stabilisé par les interactions électrostatiques. Il est possible de faire passer ce système d'une phase lamellaire stabilisée par les interactions électrostatiques à une phase lamellaire stabilisée par les interactions d'ondulations des bicouches en ajoutant du sel. Nous avons choisi de travailler principalement à une fraction massique en sels (NaCl) de 1% afin d'avoir un système pouvant être fortement dilué (jusqu'à $\phi_m \sim 0.08$). La longueur de Debye est alors de l'ordre de 1 nm et le système est donc stabilisé par des interactions de type entropique aux fortes dilutions.

4) $C_{12}E_5$ /Hexanol/ H_2O

Le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ a été amplement caractérisé au laboratoire ⁶². La figure IV-4 présente les formules des deux composés tensioactifs : n-dodecylpentaoxyethylene glycol monoether ($C_{12}E_5$) et le 1-hexanol (C_6E_0) ainsi que le diagramme de phase du système ternaire $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ en fonction du rapport des fraction massiques $\rho = C_6E_0/C_{12}E_5$. Ce système comporte, dans son diagramme de phase, une phase lamellaire caractérisée par sa limite de dilution très importante ($> 1000 \text{ \AA}$). Cette dilution très importante s'explique par la forte flexibilité des bicouches ($\kappa \sim k_B T$). Ce système est stabilisé par les interactions stériques entre bicouches.

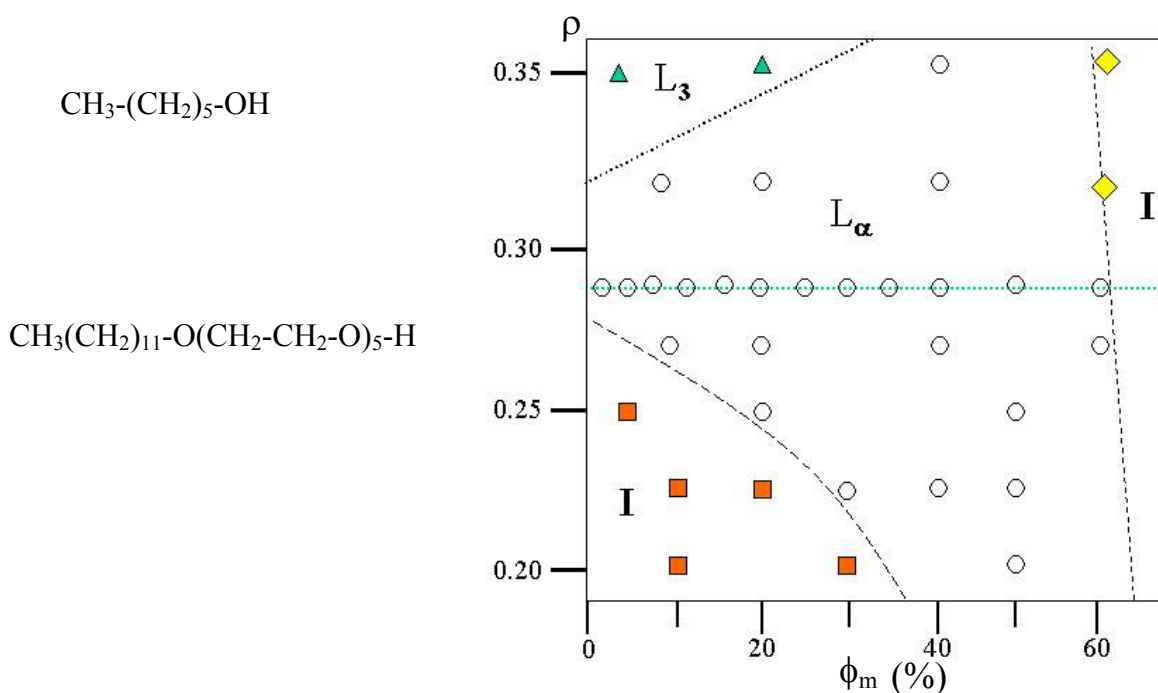


Figure IV--4. (a) Représentation des molécules de $C_{12}E_5$ et de C_6E_0 . (b) Diagramme de phases du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ en fonction du rapport $\rho = C_6E_0/C_{12}E_5$ pour une température de $22^\circ C$. Les différentes phases identifiées sont : phase éponge L_3 (\blacktriangle) ; diphasique micelles + phase lamellaire L_α (\blacksquare) ; phase lamellaire L_α (\circ) ; isotrope (\blacklozenge).

⁶² E. Freyssingeas, Thèse de l'Université Bordeaux I, 1994

V – Molécules dopantes

L'objectif principal de ce travail est de caractériser les interactions entre un dopant hydrophile et la bicouche de tensioactifs. Les molécules utilisées comme dopant sont décrites brièvement.

1) Albumine de sérum bovin (BSA)

Les albumines sont des protéines du sérum. Ce sont les protéines les plus abondantes dans le système circulatoire de beaucoup d'organismes. La BSA est une albumine d'origine bovine. Ses rôles dans l'organisme sont divers. On peut noter, parmi les principales fonctions remplies par cette protéine, le transport d'acide gras via le sang ou la régulation de la pression osmotique et du pH sanguins. Son faible coût, sa bonne caractérisation et sa grande solubilité dans l'eau en font une protéine de choix pour l'étude des interactions dans un système modèle. De plus, sa séquence est très proche de son équivalent humain (HSA⁶³). Le tableau V-1 présente les principales caractéristiques physico-chimique de la BSA.

Masse molaire	66248 g.mol ⁻¹
Rayon hydrodynamique	39 - 40 Å
Nombre d'acides aminés	580
Charge nette à pH 7	-18
Point isoélectrique	4.7

Tableau V-1. Quelques paramètres physico-chimiques de la BSA.

La structure de la BSA reste aujourd'hui un sujet polémique. Les données hydrodynamiques semblent indiquer que la protéine est, en solution à pH neutre, une ellipsoïde prolata^{64, 65} comme l'illustre la figure V-1 (a). La structure de la protéine cristallisée a été déterminée par O. J. M. Bos et al.⁶⁶ puis confirmée et affinée par D. C. Carter et al.^{67, 68}. Ces études semblent indiquer que la BSA est une protéine globulaire de base triangulaire de dimensions : 80 Å x 80 Å x 80 Å x 30 Å. Une représentation schématique est donnée figure V-I (b). Des études récentes sur la protéine en solution sont également en accord avec cette structure⁶⁹.

⁶³ Human Serum Albumin. Protéine très proche de la BSA dans sa structure et ses fonctions dans l'organisme.

⁶⁴ P. G. Squire et al., *Biochemistry*, 7, 1968, 4261

⁶⁵ T. Peters, *All About Albumin*, Academic Press, New York

⁶⁶ O. J. M. Bos et al., *J. Biol. Chem.* 264, 1989, 953-959

⁶⁷ D. C. Carter et al., *Science* 244, 1989, 1195-1198

⁶⁸ X. M. He et D. C. Carter, *Nature*, 358, 1992, 209

⁶⁹ M. L. Ferrer et al., *Biophysical Journal*, 80, 2001, 2422

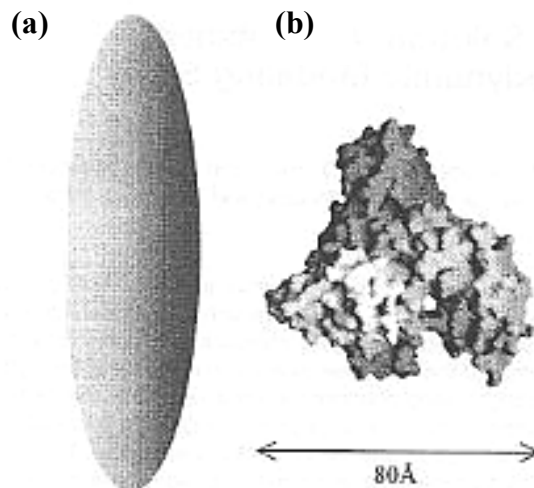


Figure V-1. (a) Conformations de la BSA en solution dans l'eau à pH neutre. (b) Conformation de la protéine cristallisée.

M. L. Ferrer et al. ont récemment proposé que ces deux visions puissent être conciliées en considérant que la structure tertiaire de la protéine en solution soit suffisamment flexible pour permettre des réorganisations au sein de la protéine. Cette hypothèse est, entre autre, soutenue par le comportement de la BSA en solution en fonction du pH. En effet, cette protéine subit différents changements de conformation correspondant à des dépliements successifs lorsque le pH varie ⁷⁰. La figure V-2 présente les conformations adoptées pour les pH acides. A pH physiologique ($8 > \text{pH} > 4.3$), la BSA est une protéine globulaire (figure V-2 (a)) dont le rayon hydrodynamique est d'environ 39Å. En milieu acide ($4.3 > \text{pH} > 2.7$), un changement de conformation lui donne une forme plus étirée (b). A pH très faible ($\text{pH} < 2.7$), la protéine subit un nouveau changement de conformation. La forme de la protéine est alors très étirée (c).

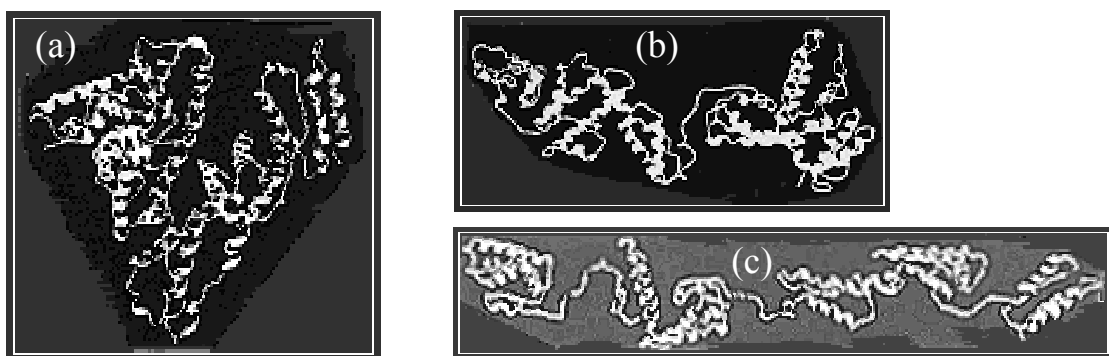


Figure V-2. Conformations de la BSA en solution dans l'eau en fonction du pH. A pH physiologique ($8 > \text{pH} > 4.3$), la protéine est globulaire (a). En milieu acide ($4.3 > \text{pH} > 2.7$), un changement de conformation lui donne une forme plus aplatie (b). A pH très faible ($\text{pH} < 2.7$), la protéine subit un nouveau changement de conformation. La forme de la protéine est alors très étirée (c).

⁷⁰ D.C. Carter et al., *Adv. Protein Chem.* 45, 1994, 153-203

La protéine est, dans sa conformation native, composée principalement d'hélices α et de structures aléatoires (pas ou très peu de feuillets β). Les changements de conformations en fonction du pH se traduisent par le remplacement d'une partie des hélices α par des structures aléatoires. A pH 7, la BSA possède une charge nette de 18 charges négatives⁷¹. Son point isoélectrique est atteint à un pH proche de 4.7.

L'une des propriétés les plus spectaculaire de cette protéine est sa capacité à se lier avec un grand nombre de molécules et/ou de substrats. La BSA est souvent utilisée en biologie in vitro pour ses propriétés d'interactions avec la plupart des surfaces⁷². Elle permet, par exemple, d'empêcher l'adhésion de certains types cellulaires sur des parois en verre ou en matières plastiques.

L'idée d'étudier l'encapsulation de la BSA dans une phase lamellaire est inspirée d'expériences effectuées par Gaubert et al. sur l'encapsulation de HSA dans des phases lamellaires de lécithine⁷³. Ces expériences montrent que l'insertion de la protéine dans des vésicules formées par cisaillement d'une phase lamellaire augmente sensiblement le pouvoir immunogène de cette dernière. La figure V-3 présente la réponse immunitaire de souris traitées par différents protocoles en fonction du temps. Il apparaît de manière claire que le pouvoir immunogène de la HSA insérée dans ce type de vésicule est bien supérieur à celui obtenu pour de la HSA libre ou pour un mélange de HSA et d'ognons vides.

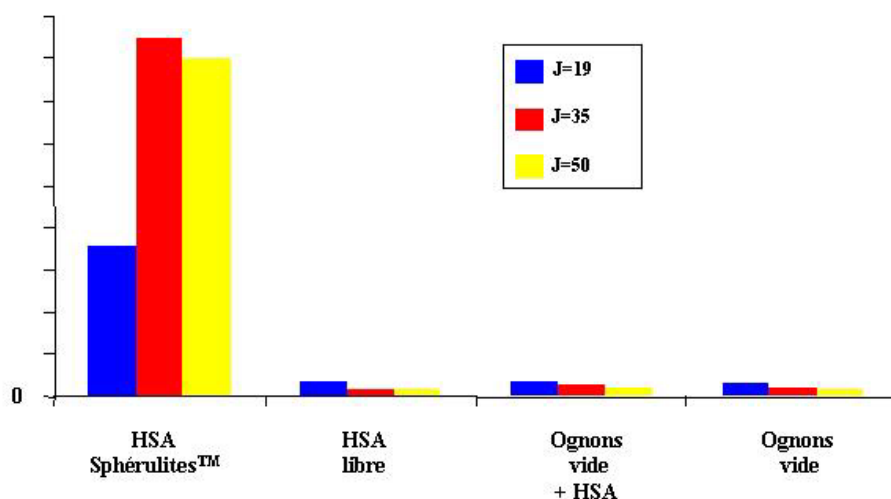


Figure V-3. Réponse immunitaire de souris traitées par différentes injections sous-cutanées au cours du temps (en jours). Cette réponse est bien supérieure pour les souris traitées avec de la HSA encapsulée dans des vésicules formées par cisaillement d'une phase lamellaire que pour de la HSA libre ou de la HSA mélangée, après cisaillement, à une solution d'ognons.

Les raisons de cette amplification de la réponse immunitaire ne sont pas totalement comprises. L'hypothèse dominante est que l'encapsulation de la protéine dans des vésicules de taille micrométrique (~ 300 nm) favorise la capture de l'antigène par les cellules d'alerte du système immunitaire⁷⁴.

⁷¹ T. Peters, Jr. *Adv. Protein Chem.* 37, 1985, 161-245

⁷² R. Kurrat et al., *J. Coll. Int. Sci.*, 185, 1997, 1

⁷³ S. Gaubert et al., Brevet WO99/16468 Dépôt PCT 17/09/98, 2001

⁷⁴ Macrophages et cellules dendritiques.

2) Fluorophores

Nous décrivons ici quelques unes des différentes molécules fluorescentes utilisées. Tous les fluorophores comportent, dans leurs formules chimiques, des cycles carbonés insaturés. Ceux ci sont à l'origine des transitions de fluorescence (voir ci-dessous : microscopie de fluorescence).

- La tétraméthylrhodamine ($C_{30}H_{34}N_4O_4$). La figure V-4 présente la molécule de tétraméthylrhodamine.

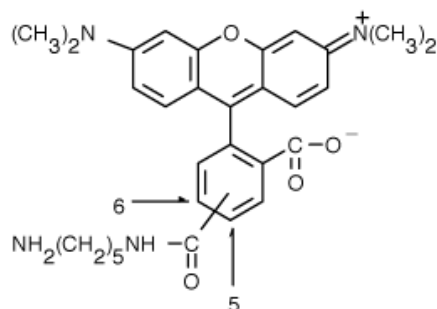


Figure V-4. Présentation de la structure moléculaire de la molécule de tétraméthylrhodamine. $M = 514.62$.

Cette molécule porte deux charges. On notera que la charge portée par le groupe carboxylate est, en solution dans l'eau, susceptible de réagir avec les ions provenant de la dissociation des molécules d'eau. Pour ce fluorophore, en solution dans l'eau, on s'attend donc à avoir une molécule, en moyenne chargée positivement.

- La calcéine ($C_{30}H_{26}N_2O_{13}$). La figure V-5 présente la molécule de calcéine. Ce fluorophore ne porte pas de charge.

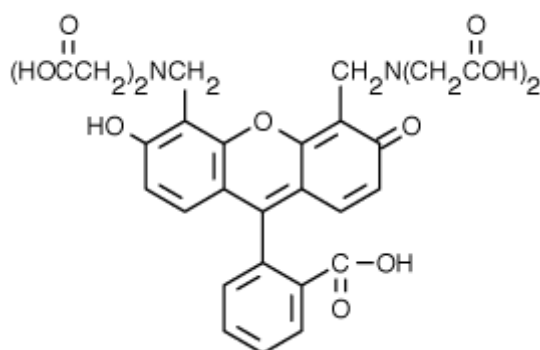


Figure V-5. (a) Présentation de la structure moléculaire de la molécule de calcéine. Sa masse molaire est : $M = 622.54$.

- La FITC ⁷⁵ ($C_{21}H_{11}NO_5S$). La figure V-6 présente la molécule de fluorescéine. Ce fluorophore ne porte pas de charge.

⁷⁵ fluorescein isothiocyanate

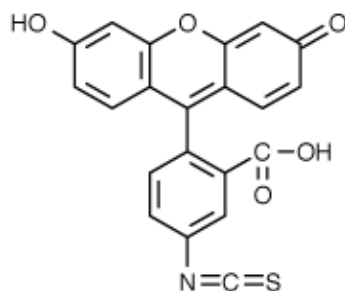


Figure V-6. (a) Présentation de la structure moléculaire de la molécule de fluorescéine (FITC). $M=389.38$.

- BSA marquée à la tétraméthylrhodamine (BSA*). L'utilisation de protéine marquée s'est révélée très importante dans ce travail. La grande majorité des expériences a été menée avec de la BSA marquée à la tétraméthylrhodamine. Le spectre d'émission du fluorophore n'est pas modifié par le marquage. Afin de vérifier que les comportements observés pour la BSA marquée n'étaient pas dus au fluorophore, quelques tests ont été réalisés avec de la BSA marquée avec de la fluorescéine.
- Lipides marqués. Deux types de lipides marqués ont été utilisés : la DHPE-Rhodamine et la DHPE-FITC. Les propriétés de fluorescence de ces molécules sont, au premier ordre, identiques à celles des deux fluorophores isolés.

Le tableau V-2 présente les longueurs d'onde d'excitation et d'émission des différentes molécules fluorescentes utilisées dans ce travail.

Fluorophore	λ excitation (nm)	λ émission (nm)
Fluorescéine (FITC)	494	520
Tétraméthylrhodamine	541	572
Calcéine	493	522

Tableau V-2. Longueurs d'onde d'excitation et d'émission des différents fluorophores utilisés.

VI - Techniques expérimentales

1) Diffraction/diffusion des rayons X aux petits angles

a) Dispositif expérimental

La diffraction des rayons X est largement utilisée en matière molle. Elle permet de remonter aux structures et aux formes d'agrégats. Les photons dans les longueurs d'ondes RX ($\lambda \sim 1.54 \text{ \AA}$) interagissent et sont diffusés par le nuage électronique des molécules rencontrées. La figure VI-1 présente le dispositif expérimental disponible au laboratoire.

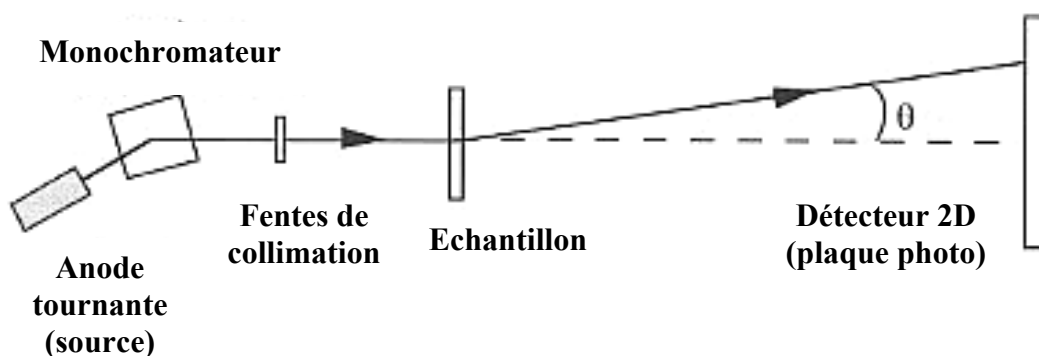


Figure VI-1. Représentation schématique du montage expérimental de diffraction des rayons X disponible au laboratoire dans sa configuration « basse résolution ».

Le dispositif est constitué d'une anode tournante en cuivre, d'une puissance de 18 kW, qui est la source de rayons X, d'un monochromateur plan de germanium, de fentes de collimation, d'un support échantillon modulable (on peut y mettre un four, un passeur échantillon...) et d'un détecteur 2D (plaque photo). La résolution instrumentale obtenue avec ce dispositif est d'environ $\Delta q \sim 4 \cdot 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$.

Certaines expériences présentées dans ce manuscrit ont été réalisées au LURE⁷⁶ ou à l'ESRF⁷⁷.

b) Diffraction par une phase lamellaire lyotrope

Au premier ordre, une phase lamellaire est équivalente à un empilement de couches, d'épaisseurs finies, rectilignes, réfléchissantes et parallèles entre elles (figure VI-2).

⁷⁶ Laboratoire pour l'Utilisation du Rayonnement Electromagnétique. Contact : Dominique Durand.

⁷⁷ European Synchrotron Radiation Facility. Ligne ID02. Contact : Pierre Panine.

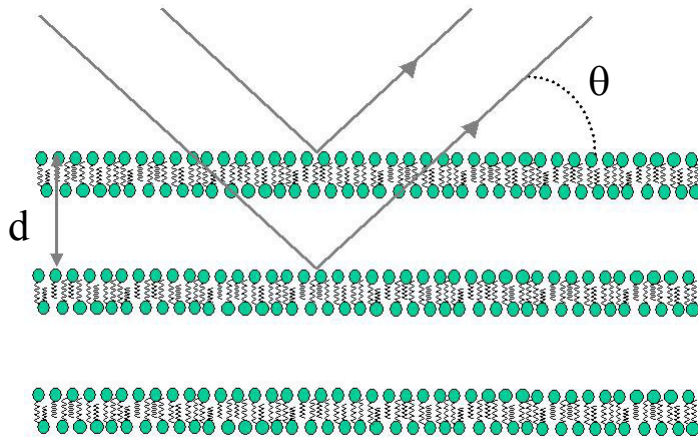


Figure VI-2. Représentation schématique de la diffraction des rayons X par une phase lamellaire lyotrope. Elle est constituée de surfaces parallèles, réfléchissantes et empilées périodiquement.

La condition d'interférences constructives entre deux rayons, ou condition de Bragg, s'écrit :

$$2 d \sin (\theta) = n\lambda \quad (24)$$

Pour connaître d , il faut ajuster simultanément λ et θ . Pour cela on doit, soit balayer en longueur d'onde un échantillon orienté en fixant θ , soit, et ce sera le cas dans cette étude, explorer tous les angles à longueur d'onde fixée. Nos échantillons étant sous forme de « poudre », chaque grain de poudre peut être vu comme un petit cristal. Les plans réticulaires de ces cristaux ont une direction aléatoire avec la direction du faisceau incident dans l'échantillon. C'est cette orientation aléatoire des grains qui permet de réaliser toutes les incidences θ possibles (figure VI-3).

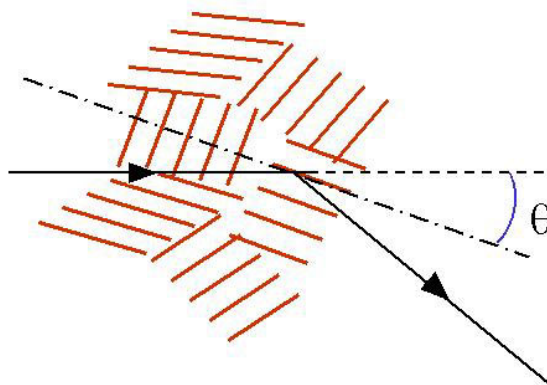


Figure VI-3. En l'absence d'orientation préalable, un échantillon se présente sous la forme d'un ensemble de « grains » orientés aléatoirement. Cette dispersion de l'orientation permet de balayer l'ensemble de incidences possibles.

Le faisceau est donc diffusé avec un angle 2θ par rapport au faisceau incident. Si le pas smectique correspond à une tache de diffraction dans une direction faisant l'angle 2θ avec le faisceau incident, il y aura, en réalité, diffraction dans toutes les directions correspondant à un cône d'angle 2θ ayant pour axe l'axe d'incidence. L'intensité est donc diffusée avec une

symétrie de révolution autour de l'axe du faisceau. Si l'on place un détecteur perpendiculaire au faisceau, on observe donc des anneaux concentriques, pour des valeurs de q telles que $q_n = 2(n+1)\pi/d$ (avec n un entier), caractéristiques d'une phase lamellaire. Les images obtenues sont ensuite traitées (regroupement circulaire) pour obtenir un spectre de diffusion $I(q)$.

Si, pour l'étude des phases lamellaires, la diffraction des rayons X permet, en premier lieu, de mesurer la valeur de la période smectique, d , l'intensité diffusée sera, en réalité, la superposition de deux termes. Un terme de structure - facteur de structure - caractéristique de l'ordre cristal liquide (pics de Bragg) - et un terme, dit facteur de forme, qui sera la figure de diffraction des motifs individuels du réseau, soit, dans notre cas, une bicouche de lipide et une couche d'eau.

2) Microscopie confocale

La microscopie confocale permet de visualiser une section d'un échantillon. Le principe général d'un microscope confocal (en réflexion) est présenté figure VI-6. La lumière issue d'une source ponctuelle est envoyée sur l'échantillon. Après réflexion sur l'échantillon, le faisceau est focalisé par un trou de taille micrométrique, ou « pinhole », avant d'atteindre le détecteur. Ce montage permet de s'affranchir des rayons qui ont été réfléchis par des parties de l'échantillon au-dessus ou en-dessous du plan focal. Il en résulte que tous les faisceaux ne provenant pas de la réflexion à l'intérieur d'une section de l'échantillon, dont la hauteur dépend de la taille du « pinhole », ne sont pas collectés par le détecteur. On ne mesure donc que le signal provenant de la tranche.

Principe du microscope confocal

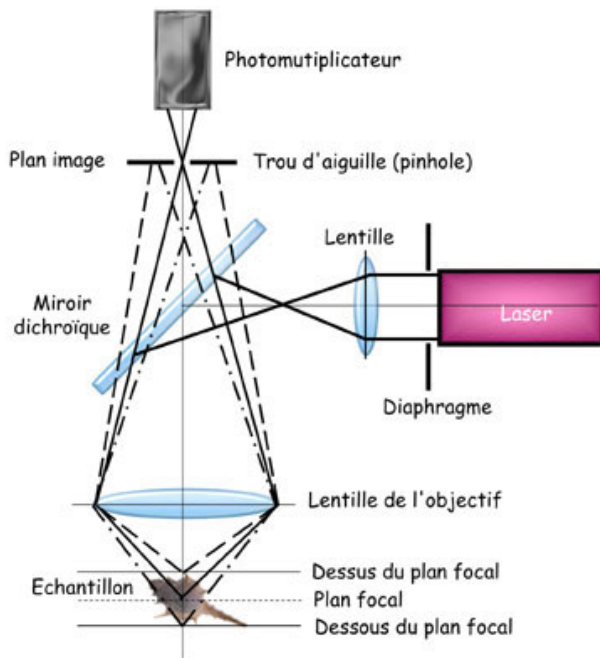


Figure VI-6. Représentation schématique du fonctionnement d'un microscope confocal. L'intensité lumineuse réfléchie par un plan différent du plan focal (traits pointillés) est éliminée par le « pinhole ».

Un microscope confocal permet notamment de s'affranchir complètement des effets de bords (autofluorescence des lames de verres) et de ne récolter que le signal provenant d'une fine couche des phases observées. De plus la sensibilité du détecteur (photo-multiplicateur) donne une grande précision aux mesures effectuées. L'inconvénient majeur de cette technique est le temps d'acquisition relativement important d'une image (~ 1 à 2 s)^{78, 79}.

3) Microscopie de fluorescence, retour de fluorescence après photoblanchiment

a) La fluorescence

La figure VI-4 donne une vision schématique du phénomène de fluorescence.

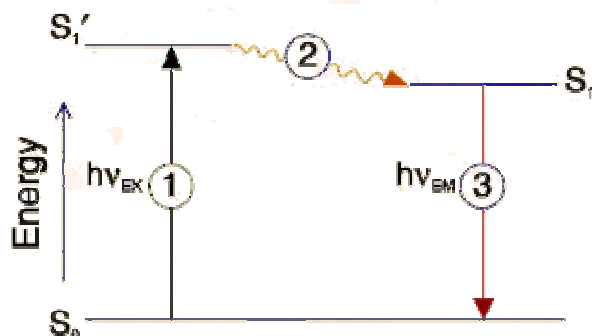


Figure VI-4. Représentation schématique du phénomène de fluorescence. La transition d'excitation (1) est fortement dipolaire. La désexcitation de la molécule se fait en deux étapes (au moins) : une transition non radiative (2) et l'émission de fluorescence (3).

Les molécules fluorescentes sont composées d'un noyau aromatique. Ces molécules peuvent absorber un photon et passer dans un état énergétique supérieur (S_1'), de façon transitoire, sous l'influence d'une source lumineuse. Lors du retour au niveau énergétique fondamental, il y a une perte d'énergie sous forme de chaleur (transition 2) et émission d'un photon (transition 3). Ainsi les photons d'émission auront une longueur d'onde plus élevée que les photons d'excitation (glissement de Stokes). La transition S_0-S_1' (transition 1) est, pour la grande majorité des fluorophores, fortement dipolaire. Cette propriété va, dans certains cas, permettre, grâce à des mesures quantitatives de la fluorescence, de remonter à l'orientation locale de la molécule dans certaines phases.

b) Retour de fluorescence après photoblanchiment

Le FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) est une technique permettant de mesurer le coefficient de diffusion d'une espèce marquée grâce à un fluorophore. L'expérience consiste à détruire de manière définitive les propriétés de fluorescence des particules (photoblanchiment) dans une zone déterminée et à suivre, au cours du temps, le retour de la fluorescence par diffusion de particules non photo blanchies par les bords de la zone. Ce principe est illustré figure VI-5.

⁷⁸ J.G. White et al., J. Cell Biol, 105, 1987, 41-48

⁷⁹ J. Lichtman, Pour la Science, 204, 1994, 62-67

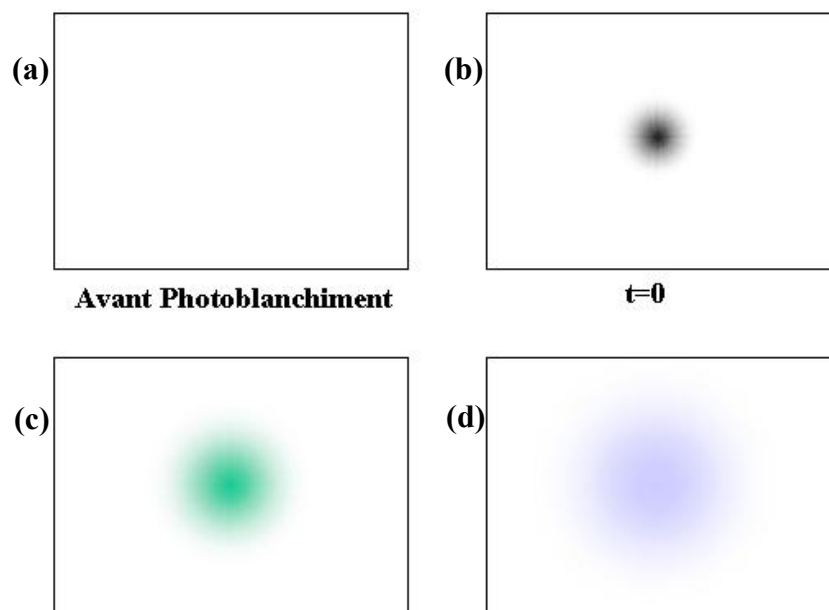


Figure VI-5. Principe d'une expérience de FRAP. (a) La fluorescence est homogène avant l'expérience. (b) On photo blanchit l'échantillon dans une zone créant ainsi une modulation de l'intensité de fluorescence dans l'échantillon. (c) et (d) L'intensité de fluorescence s'homogénéise par diffusion des fluorophores non photo blanchis par les bords de la zone de FRAP.

Physiquement le photo blanchiment d'un fluorophore correspond à son excitation dans un état quantique irréversible. La molécule perd alors sa capacité à être excitée dans les états permettant l'émission d'un photon. Le retour de fluorescence est donc dû à la diffusion, depuis les bords de la zone de photoblanchiment, de particules non-altérées à l'intérieur de cette zone. Cette diffusion provient du mouvement Brownien des molécules. En l'absence d'interactions entre particules, le coefficient de diffusion mesuré est le coefficient d'autodiffusion⁸⁰.

c) Dispositif expérimental

Les expériences de FRAP sont réalisées sur le microscope confocal. Les expériences de retour de fluorescence sous microscope permettent un contrôle de la texture des échantillons. Elles ont donc l'avantage de permettre une étude en fonction de l'orientation des systèmes ce qui est essentiel lorsque l'on travaille sur des systèmes fortement anisotropes comme les phases lamellaires.

Les expériences sont réalisées avec l'objectif à fort grossissement (x63). L'échantillon est photo blanchi pendant un temps τ . La modulation de l'intensité de fluorescence correspondante dépend donc du coefficient de diffusion de l'espèce. L'acquisition est réalisée à un temps t . L'annexe B détaille la méthode d'extraction des coefficients de diffusion.

4) Microscopie en lumière polarisée

⁸⁰ A. van Blaarderen et al., J. Chem. Phys., 96 (6), 1992, 4591

a) Biréfringence et texture

La microscopie en lumière polarisée est utilisée pour observer les systèmes biréfringents. Un faisceau lumineux polarisé traversant l'échantillon se verra séparer en deux composantes. En plaçant un polariseur (appelé analyseur) à la sortie de l'échantillon et orienté perpendiculairement au polariseur, on réunit ces deux composantes. L'image obtenue est la conséquence des interférences entre ces deux rayons, on parle alors de texture.

Une phase lamellaire est biréfringente et uniaxe. Le faisceau lumineux incident est séparé en deux composantes : l'une dans la direction parallèle aux bicouches et l'autre dans la direction d'empilement. Les textures des phases lamellaires ont fait l'objet de nombreuses études^{81, 82, 83}. La figure VI-7 présente les textures observées pour deux configurations particulières des bicouches : l'orientation homéotrope pour laquelle le directeur est parallèle à l'axe optique et l'orientation planaire pour laquelle l'axe d'empilement des membranes est perpendiculaire à l'axe optique. En géométrie homéotrope, la lumière n'est sensible qu'à un seul des deux indices de la phase lamellaire. Il n'y a donc pas d'interférences entre deux faisceaux. La texture correspondante est donc noire et homogène. En géométrie planaire, le faisceau est décomposé en deux composantes. L'intensité maximale est obtenue lorsque le directeur de la phase lamellaire est orienté à 45° par rapport aux axes de l'analyseur et du polariseur. Lorsque le directeur sera confondu avec l'un de ces axes, l'intensité est nulle. Pour un échantillon en poudre, la texture obtenue est composée d'un mélange de textures correspondant à différentes orientations de la phase.

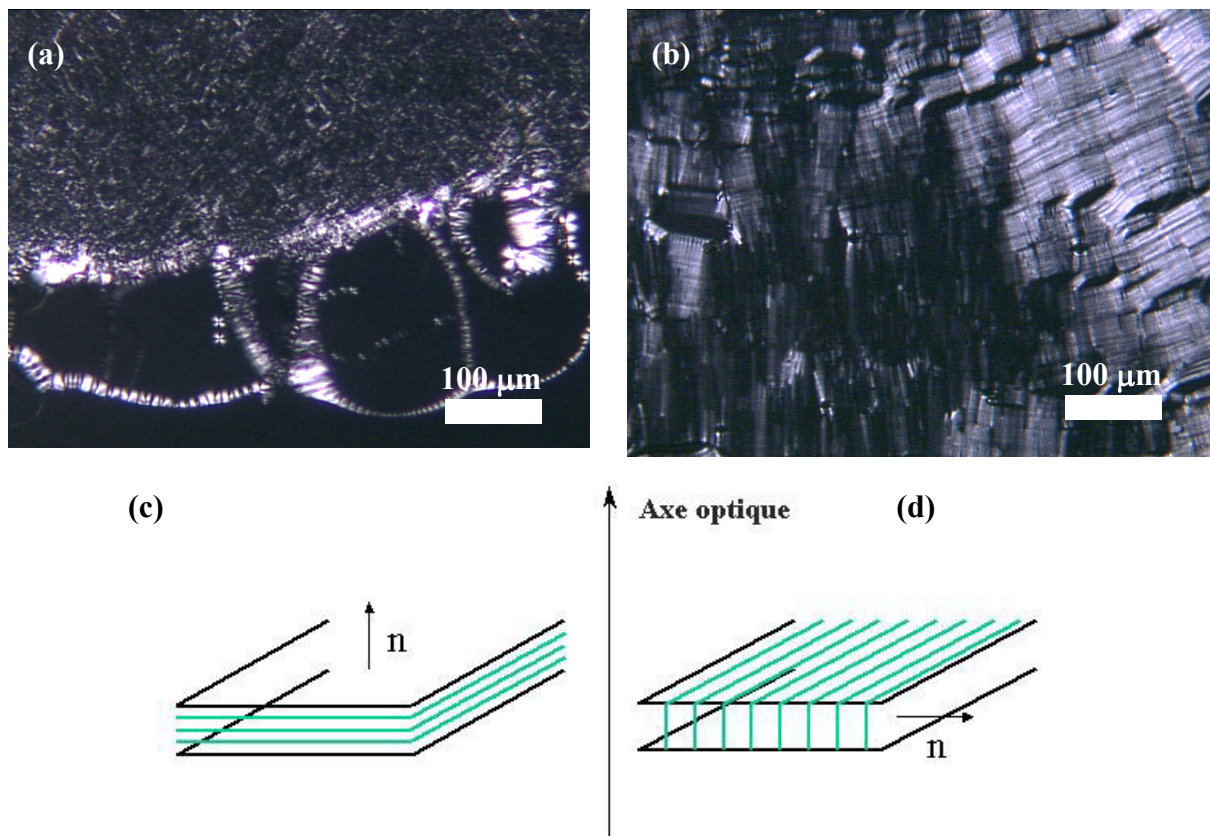


Figure VI-7. Textures d'une phase lamellaire lyotrope en microscopie en lumière polarisée. (a) Zones homéotropes. (b) Zones planaires.

⁸¹ G. Friedel et F. Grandjean, Bul. Soc. Fr. Minéral, 33, 1910, 409

⁸² C. S. Rosenblatt et al., J. Phys. France, 38, 1981, 1105

b) Défauts de texture dans les phases lamellaires

La biréfringence des phases lamellaires permet de les identifier sans ambiguïté grâce à leurs défauts très caractéristiques. La figure VI-8 présente quelques défauts caractéristiques des phases smectiques : coniques focales, stries huileuses et ognons. Les coniques focales correspondent à une organisation complexe de défauts microscopiques⁸⁴. Elles peuvent exister isolément (a) ou sous forme organisée (b) dans une phase lamellaire. Les stries huileuses (c) peuvent provenir d'instabilités d'ondulations ou de désinclinaisons du directeur imposées par les parois d'un capillaire dans un échantillon homéotrope. L'orientation au centre d'une strie est planaire. Les ognons (d), ou sphérulites, correspondent à une organisation de la phase lamellaire en domaines refermés sur eux-mêmes. Ce type d'organisation est généralement induit par un cisaillement de la phase lamellaire.

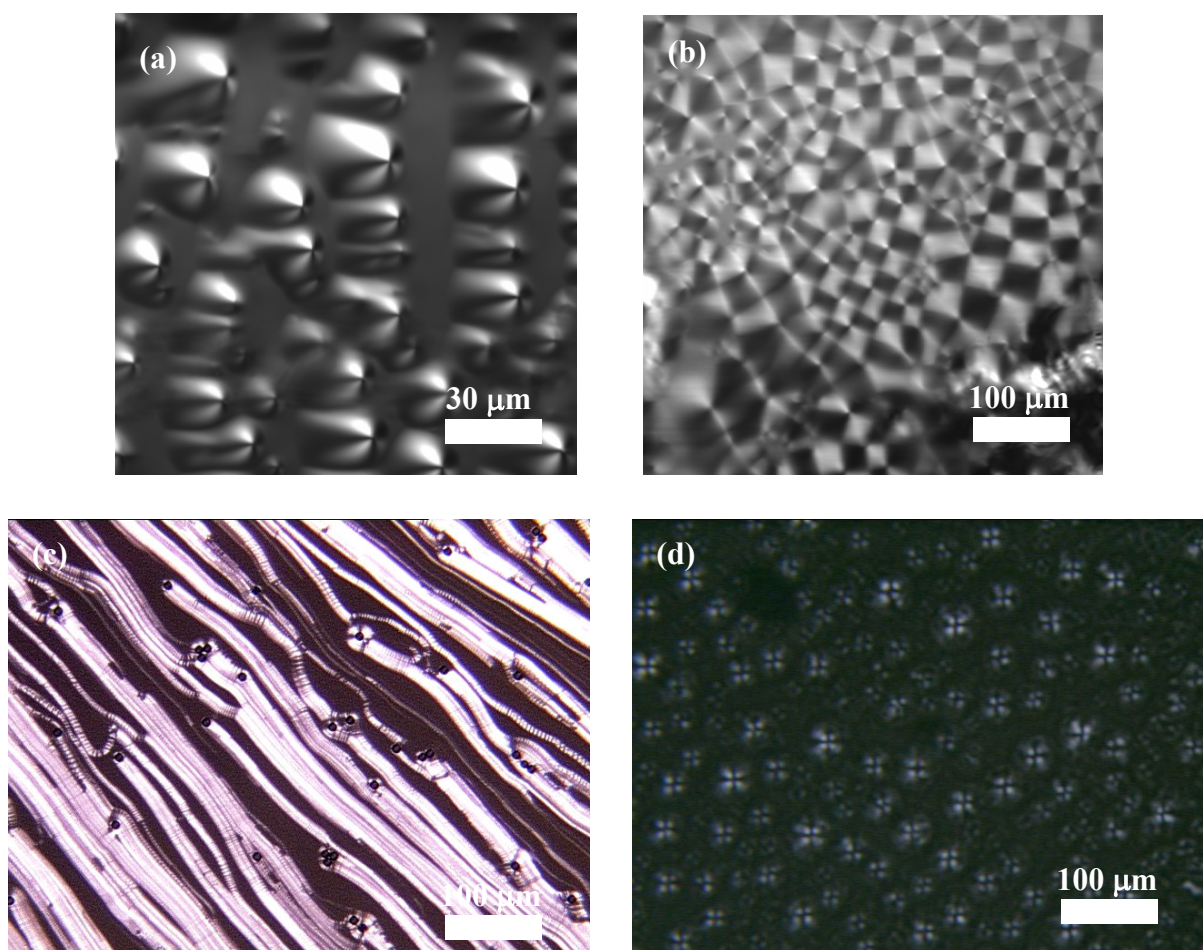


Figure VI-8. Défauts de texture caractéristiques d'une phase lamellaire en microscopie en lumière polarisée. (a) Coniques focales. (b) Réseau de paraboles focales créé par une déstabilisation de la phase lamellaires (choc thermique). (c) Stries huileuses. (d) Texture « croix de Malte ». Cette texture est caractéristique de l'existence d'objets sphériques : les ognons.

⁸³ W. J. Benton et C. A. Miller, Prog. Colloid and Polymer Scien., 68, 1983, 71

⁸⁴ Les cyclides de Dupin.

VII – Objectifs

L'objectif de cette première partie est d'étudier l'encapsulation d'un actif hydrosoluble, d'intérêt biologique, dans une phase lamellaire. L'idée sous-jacente est d'utiliser la technologie des SphérulitesTM (ognons) afin de créer un vecteur biologique pour le transport d'un principe actif. L'encapsulation d'une protéine, par exemple, permet d'envisager l'utilisation des ognons en vaccination. L'insertion d'ADN dans une phase lamellaire de lipides neutres (ou zwitterioniques) est une voie très prometteuse pour la création de vecteurs à ADN bio-compatibles.

Dans le deuxième chapitre, nous nous intéressons donc à identifier les domaines d'existence de phases lamellaires dopées avec de la BSA pour trois systèmes de tensioactifs (PC/Simulsol/H₂O, C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O et AOT/H₂O/NaCl). Dans la suite, nous étudions les propriétés de diffusion de la protéine ainsi que celles d'une petite molécule (fluorophore) en fonction de la dilution du système.

Chapitre II : Insertion d'un actif hydrosoluble dans une phase lamellaire lyotrope

A - Diagrammes de phase des différents systèmes

L'un des objectifs de cette thèse est d'étudier l'encapsulation d'un actif hydrosoluble, d'intérêt biologique, dans une phase lamellaire afin d'obtenir des oignons dopés en vue d'applications médicales. Le choix du tensioactif s'est donc porté, dans un premier temps, sur la lécithine dont la composition est très proche de celle des membranes cellulaires. Les résultats obtenus sur la phase lamellaire du système PC/Simulsol/H₂O sont, tout d'abord, détaillés. L'objectif est de mettre en évidence les preuves pertinentes de l'insertion d'un dopant dans une phase lamellaire.

Au vu des résultats obtenus avec les phases lamellaires à base de lécithine, deux autres systèmes lamellaires ont été étudiés : le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O et le système AOT/H₂O/NaCl.

I – Diagramme de phase du système PC/Simulsol/H₂O/BSA

1) Formulation des systèmes

Le système PC/Simulsol/H₂O (rapport massique PC/Simulsol = 7/3) est lamellaire pour des fractions volumiques allant de $\phi_m \sim 1$ à $\phi_m \sim 0.48$. Pour des dilutions plus importantes, le système se sépare en deux phases : une phase lamellaire en limite de dilution ($\phi_m \sim 0.5$) et un excès d'eau.

L'essentiel de l'étude sur l'encapsulation de la protéine a été mené en fonction de la dilution et du rapport massique protéine/tensioactif (p/t). La protéine est d'abord solubilisée dans l'eau. Cette solution est ensuite utilisée pour hydrater la phase lamellaire à la dilution souhaitée. Les échantillons sont ensuite homogénéisés par des centrifugations successives. L'équilibre est atteint en quelques heures. Les phases lamellaires obtenues sont toutes biréfringentes. La turbidité des échantillons, généralement utilisée pour vérifier l'homogénéité des mélanges est, dans notre cas, peu utile puisque la phase lamellaire sans protéine est déjà légèrement turbide.

2) Diffraction des rayons X

La technique de diffraction des rayons X permet d'étudier l'évolution de la période de répétition smectique, d , en fonction de la composition de la phase lamellaire. Pour un système binaire la période smectique est définie, en l'absence d'excès de surface important, par la relation géométrique suivante ⁸⁵ :

$$d = \delta / \phi_m \quad (1)$$

Avec δ l'épaisseur de la bicouche et ϕ_m la fraction volumique en membrane dans l'échantillon. Pour un système ternaire ou quaternaire, le même type de loi peut être écrite si

⁸⁵ voir chapitre I

l'on sait dans quel milieu vont aller les différents constituants du système. En particulier, pour une phase lamellaire dopée avec un dopant hydrophile, on conserve la loi de dilution donnée par l'expression (1). A l'inverse, un dopant membranaire doit conduire à la relation géométrique :

$$d = \delta / (\phi_m + \phi_d) \quad (2)$$

Avec ϕ_d la fraction volumique en dopant.

La figure I-1 présente quelques spectres de diffraction des rayons X obtenus en faisant varier le rapport massique p/t pour le système quaternaire PC/Simulsol/H₂O/BSA à une fraction volumique en membrane constante $\phi_m = 0.75$.

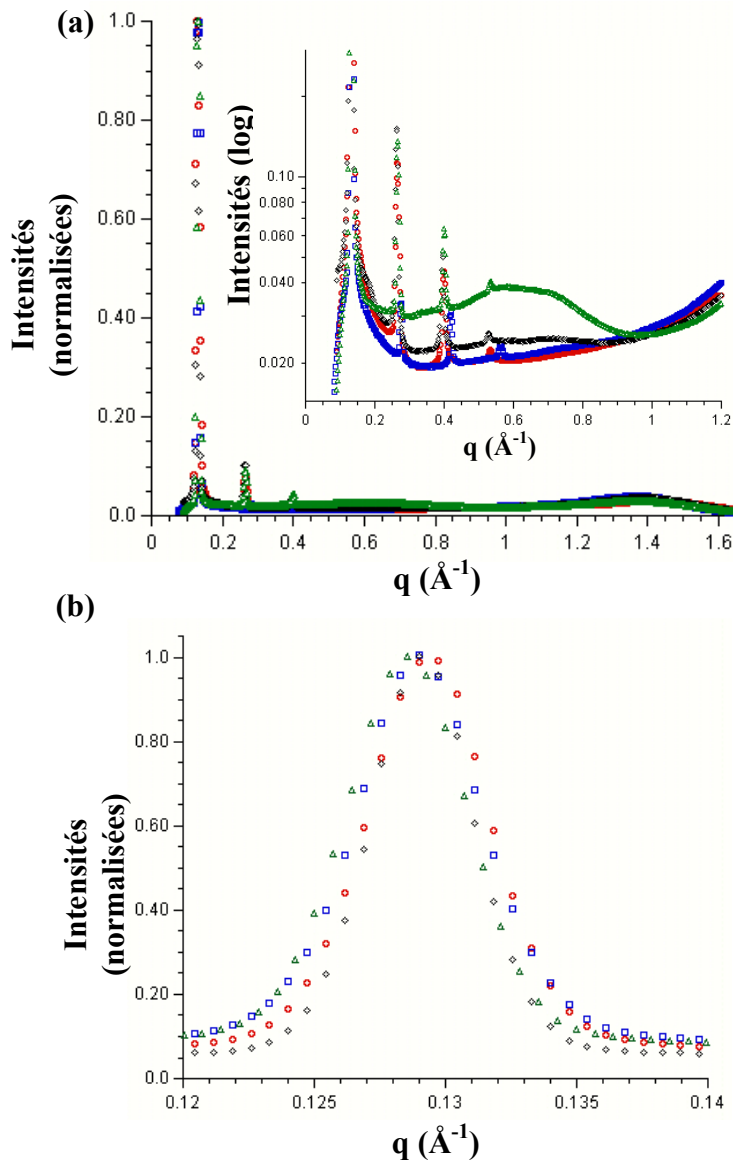


Figure I-1. (a) Spectres rayons X obtenus sur des échantillons du système PC/Simulsol/H₂O/BSA pour quatre rapports massiques p/t : 0 (○), 0.15 (□), 0.36 (◇), 1.14 (△). Encart : mêmes données, intensités en log. (b) Premiers ordres de Bragg des différents spectres. L'absence d'évolution de la position des pics en fonction du rapport p/t est un argument fort en faveur de l'insertion de la protéine dans la membrane de la phase lamellaire. Les intensités sont normalisées.

Les spectres obtenus (a) présentent des pics de Bragg dont les positions sont définies par $q_0 = q_0$, $q_1 = 2 q_0$, $q_2 = 3 q_0$ (...) où q_0 est la position du premier pic de Bragg. Ce type de spectre est caractéristique d'une périodicité unidimensionnelle et donc d'une phase lamellaire. De plus, le caractère fluide des bicouches est conservé quand on varie le rapport p/t (pic « liquide » à 1.38 \AA^{-1} caractéristique d'une organisation « liquide » des molécules au sein d'une bicouche). L'observation d'une diffusion diffuse à 0.6 \AA^{-1} est liée à la protéine indépendamment de la présence de lipides. Elle est interprétée comme étant due à la diffusion du rayonnement par des structures internes à la protéine⁸⁶.

On note que la position du premier pic de Bragg (b) ne dépend pas du rapport p/t. Cette observation permet de supposer que la protéine est, à cette dilution, insérée dans les membranes de la phase lamellaire. En effet, si la protéine était dans la phase aqueuse du système, la fraction volumique en membrane de la phase lamellaire, et donc le pas smectique, dépendrait du rapport p/t. De même, le facteur de forme de la bicouche, responsable de la modulation des intensités relatives des différents ordres de diffraction, ne semble pas varier. Cette constatation permet de supposer que l'épaisseur et la forme générale de la bicouche sont préservées lorsque p/t varie.

La figure I-2 présente l'évolution de la période smectique en fonction de la fraction volumique en eau, ϕ (avec $\phi = 1/(\phi_m + \phi_{BSA})$), pour différents rapports p/t. L'évolution de la périodicité se fait de manière linéaire et la valeur de la pente est la même quelle que soit le rapport p/t. Cette observation semble indiquer que la protéine s'insère dans la membrane sans en modifier l'épaisseur et ce pour toutes les dilutions étudiées.

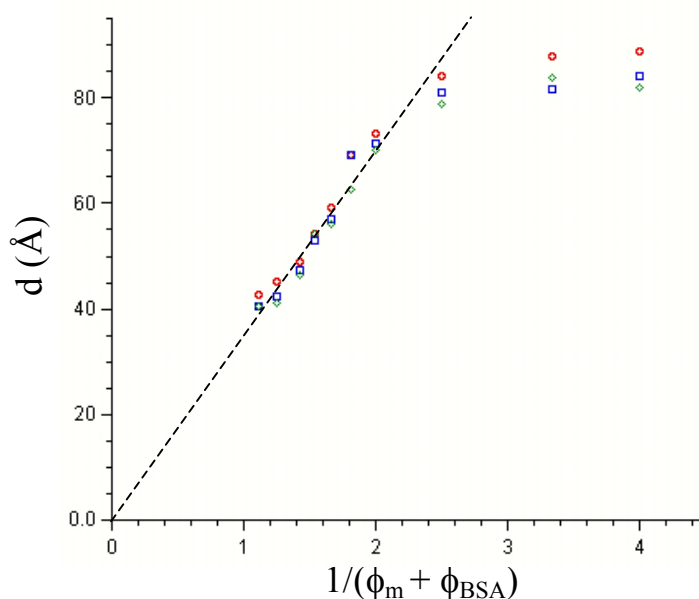


Figure I-2. Evolution de la période smectique en fonction de la dilution en considérant que la protéine est dans la membrane de la phase lamellaire. Rapports massiques p/t : 0 (○), 0.15 (□), 0.36 (△). L'épaisseur de la bicouche ne dépend pas du rapport p/t. Pour tous les systèmes on a $\delta \sim 36 \text{ \AA}$.

Les résultats obtenus en utilisant la diffraction des rayons X vont dans le sens d'une incorporation totale de la protéine dans la membrane et ce même pour des systèmes avec des concentrations extrêmement élevées en protéine. L'analyse de l'allure générale des spectres

⁸⁶ Par exemple les hélices α

semble indiquer que cette incorporation ne modifie pas, ou peu, la forme générale des bicouches. Ces résultats sont surprenants. En effet, la BSA est une protéine fortement hydrophile et, bien qu'elle possède des propriétés d'association avec les lipides ⁸⁷, on s'attendrait à ce qu'elle soit majoritairement localisée dans la phase aqueuse du système. De plus, l'insertion d'une protéine dans une bicouche est un phénomène coûteux d'un point de vue énergétique. Enfin, en cas d'insertion, en quantités importantes, d'une molécule dans la membrane, on s'attend à une forte évolution du facteur de forme de la bicouche. On notera pour conclure que la validité du raisonnement explicité ci-dessus est intimement lié à l'homogénéité de l'échantillon. Néanmoins, ces premières expériences laissent penser que la BSA peut être insérée dans le système PC/Simulsol/H₂O en très grandes quantités sans modifier l'organisation du système et notamment le caractère lamellaire.

3) Effet du cisaillement. Taux d'encapsulation

a) Effet du cisaillement

A ce stade de l'étude, il semblait intéressant de tester l'effet du cisaillement du système. Les phases lamellaires dopées ont donc été cisillées et dispersées dans l'eau afin de vérifier que la formation d'ognons était préservée. Le tableau I-1 présente les tailles caractéristiques des objets formés, par cisaillement et dispersion dans l'eau, de systèmes à une fraction volumique en membrane, ϕ_m , égale à 0.6. Ces expériences sont réalisées en diffusion dynamique de la lumière (méthode homodyne) pour différents rapports p/t.

p/t	0	0.15	0.36
R (μm)	0.29	0.43	0.58

Tableau I-1. Rayon hydrodynamique des objets formés par cisaillement des systèmes lamellaires dopés en BSA en fonction du rapport p/t mesuré en diffusion dynamique de la lumière.

La taille des objets obtenus après cisaillement et dispersion dans l'eau est fortement dépendante de la concentration en protéine.

b) Taux d'encapsulation

L'obtention, par cisaillement, d'objets colloïdaux laisse espérer que le processus de formation des ognons est conservé en dépit du dopage. Il convient alors de s'assurer que la protéine est piégée à l'intérieur des objets formés. Audrey Casemayou a, au cours de son stage, mesuré les taux d'encapsulation par une méthode de colorimétrie. La figure I-3 présente les taux d'encapsulation obtenus en fonction de la fraction massique en BSA (ϕ_{BSA}) pour des systèmes à une fraction volumique en membrane, ϕ_m , égale à 0.6.

⁸⁷ Voir Partie I / Chapitre I

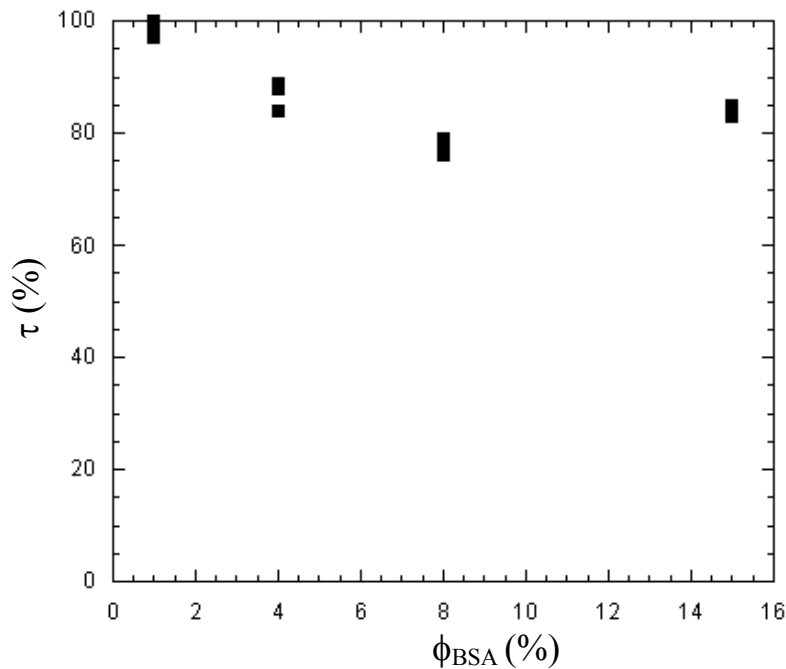
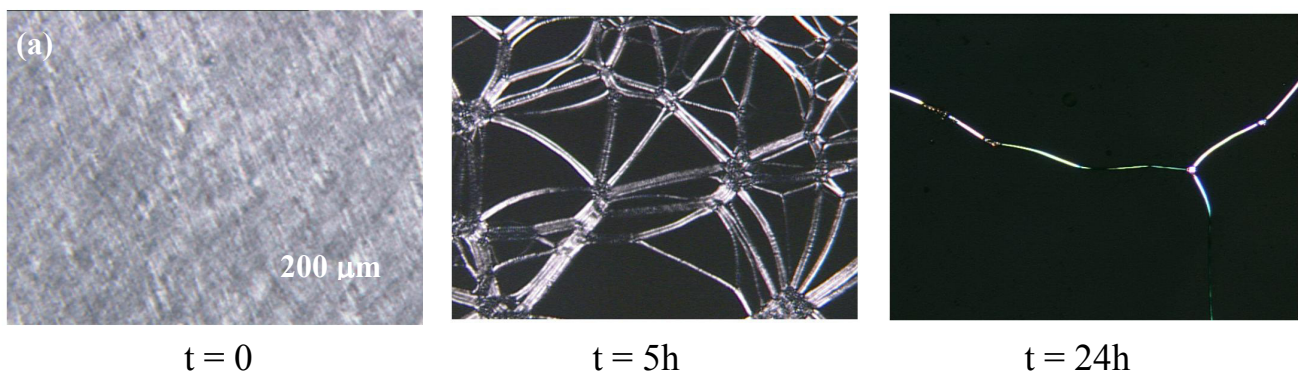


Figure I-3. Taux d'encapsulation en fonction de la fraction massique en BSA (ϕ_{BSA}). Le taux d'encapsulation est supérieur à 75% quelle que soit la concentration en protéine.

Ce taux d'encapsulation, $\tau \sim 80\%$, semble peu dépendant de la concentration en protéine dans l'échantillon. Il est, pour tous les systèmes, très élevé et permet d'envisager des applications intéressantes.

4) Observation en microscopie optique et microscopie de fluorescence

L'observation des échantillons en microscopie optique et en microscopie de fluorescence permet l'étude des propriétés d'orientation des systèmes. Les échantillons sont scellés entre une lame et une lamelle de verre séparées par un « espaceur » de 50 μm . Ils sont ensuite observés en microscopie optique en lumière polarisée. La figure I-4 présente quelques clichés montrant l'évolution des textures observées pour le système PC/Simulsol/ H_2O (a) et de celles du système PC/Simulsol/ H_2O /BSA à un rapport p/t ~ 0.0135 (b) au cours du temps. La phase lamellaire s'oriente progressivement en orientation homéotrope. Il apparaît, au cours de l'orientation, un réseau de stries huileuses reliées entre elles par des nœuds.



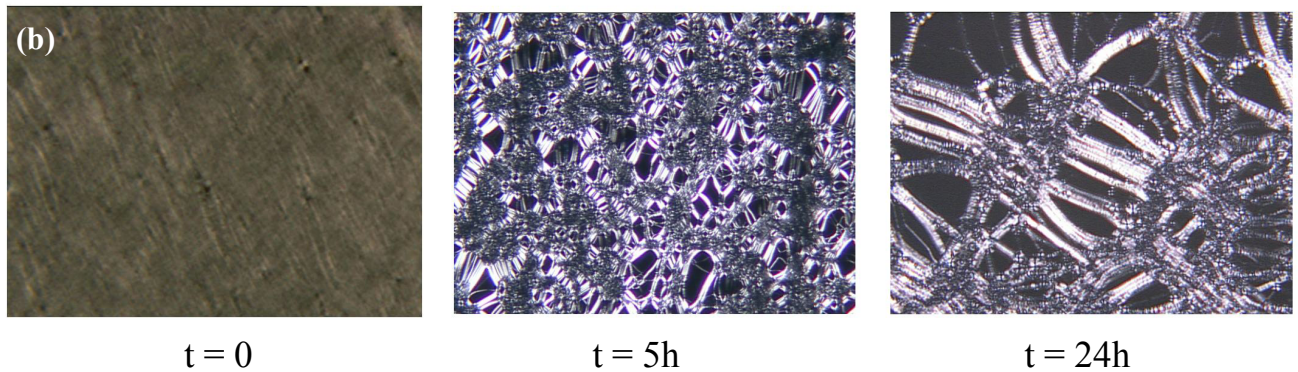


Figure I-4. Même échelle pour toutes les images. (a) Images entre polariseur et analyseur croisés d'une phase lamellaire $\phi \sim 0.4$ sans BSA ($p/t = 0$) au cours du temps. La phase lamellaire s'oriente sur un temps caractéristique de 24h. (b) Images entre polariseur et analyseur croisés d'une phase lamellaire $\phi_m \sim 0.6$ dopée à un rapport $p/t = 0.0135$ au cours du temps. La phase lamellaire s'oriente plus lentement que la phase sans protéine. Le réseau de défauts persiste beaucoup plus longtemps que pour le système sans protéine.

Dans le système sans protéine, ce réseau de stries disparaît rapidement pour laisser une orientation presque sans défauts. Pour le système dopé avec de la BSA, le réseau de stries, beaucoup plus dense, semble évoluer plus lentement et forme des nœuds beaucoup plus gros.

Afin de préciser ces observations, nous avons utilisé la microscopie de fluorescence. Pour cela nous avons dopé les échantillons avec de la BSA marquée à la rhodamine (BSA*). La phase lamellaire n'est, au départ, pas orientée. Elle apparaît relativement homogène aux temps courts. Pourtant, on observe des petites tâches plus intenses. A mesure que l'échantillon s'oriente en géométrie homéotrope, la fluorescence se retrouve confinée hors des zones orientées. La figure II-I-6 présente une image en microscopie optique (a) et la superposition d'une image en microscopie optique en lumière polarisée et d'une image obtenue en fluorescence (b).

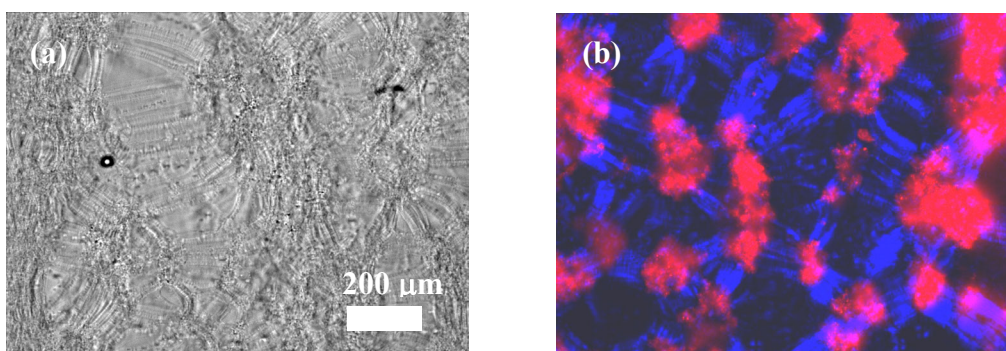


Figure I-5. (a) Image en microscopie optique d'une phase lamellaire $\phi_m \sim 0.6$ dopée à un rapport $p/t = 0.0135$. (b) Superposition de l'image en microscopie optique en lumière polarisée et en microscopie de fluorescence. La protéine est expulsée dans les nœuds du réseau.

Il apparaît clairement que la protéine se regroupe dans les nœuds de la phase lamellaire. Cette observation semble caractéristique de l'expulsion d'un dopant. En effet, G. Basappa et al. ont étudié le comportement sous cisaillement d'une phase lamellaire mélangée à des billes de latex de $1\ \mu\text{m}$ ⁸⁸. Leur étude montre que les billes sont, au cours de l'orientation de la phase lamellaire, regroupées dans les nœuds du réseau. La BSA semble présenter le même comportement.

Lorsque l'échantillon est bien orienté, il ne reste plus qu'une fluorescence résiduelle (~ 5 à 10% de l'intensité moyenne) dans les zones homéotropes. Cette fluorescence peut avoir deux origines : une fraction de la BSA ou une fraction du fluorophore libre (non attaché à la protéine) insérée dans la phase lamellaire.

5) Expériences de FRAP : origine de la fluorescence résiduelle

La détermination de l'origine de cette fluorescence résiduelle est essentielle. En effet, elle doit permettre de conclure si une quantité, même très faible, de protéine est insérée dans la phase lamellaire à l'équilibre. Afin de déterminer si la fluorescence résiduelle provient d'une fraction de BSA ou de fluorophores libres, nous avons mis au point une expérience de FRAP afin de mesurer les coefficients de diffusion d'une molécule fluorescente dans deux configurations différentes : en orientation homéotrope et en utilisant une texture ongon. L'orientation homéotrope d'une phase lamellaire permet de remonter au coefficient de diffusion dans le plan des couches (D_{\perp}). Ce point est illustré figure I-6 (a). La texture ongon permet de sonder les propriétés de diffusion d'un dopant à travers les membranes. Pour autant cette texture ne permet pas de remonter directement au coefficient de diffusion dans l'axe d'empilement des couches (D_{\parallel}). Le coefficient de diffusion mesuré est un coefficient « hybride » entre D_{\parallel} et D_{\perp} (figure I-6 (b)).

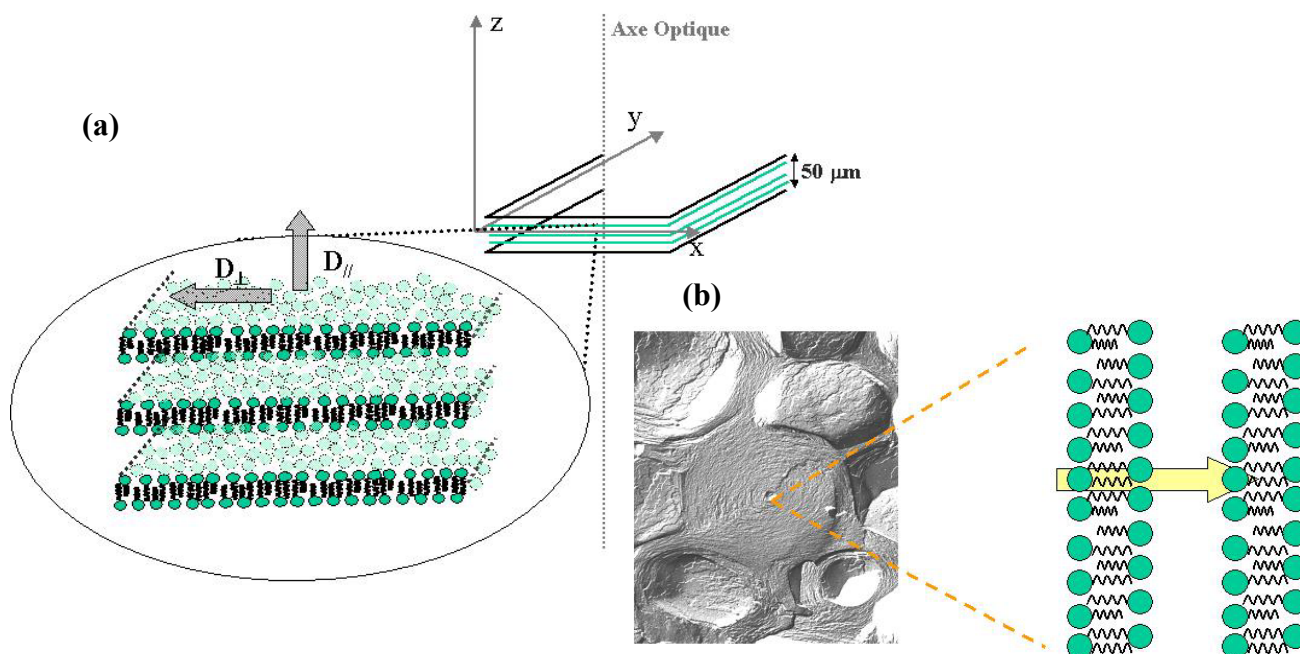


Figure I-6. (a) L'orientation homéotrope permet de sonder les propriétés de diffusion dans le plan des couches (D_{\perp}). (b) La texture ongon permet de sonder la diffusion d'une particule perpendiculairement aux couches.

⁸⁸ G. Basappa et al. Eur. Phys. J. B **12**, 269-276

La méthode d'extraction des coefficient de diffusion est explicitée en annexe A. Le tableau I-2 présente les valeurs des coefficients de diffusion extraits des expériences de FRAP dans les deux orientations (homéotrope et ognons) pour la BSA* et pour la rhodamine libre.

Système	Texture/Orientation	Coefficient de diffusion ($m^2.s^{-1}$)	Erreur (sur 5 expériences)
Rhodamine	Homéotrope	$2.5 \cdot 10^{-11}$	$0.5 \cdot 10^{-11}$
	Ognons	$1.4 \cdot 10^{-12}$	$0.4 \cdot 10^{-12}$
BSA-Rhodamine	Homéotrope	$2.7 \cdot 10^{-11}$	$0.6 \cdot 10^{-11}$
	Ognons	$1.2 \cdot 10^{-12}$	$0.3 \cdot 10^{-12}$

Tableau I-2. Coefficients de diffusion extraits des expériences de retour de fluorescence dans les deux géométries présentées figure I-6 pour les échantillons contenant de la BSA marquée et de la rhodamine.

Les coefficients de diffusion mesurés pour la BSA dans les deux géométries sont très proches de ceux extraits des expériences sur les échantillons formulés uniquement avec le fluorophore. Cette observation est une indication forte quand à la nature de l'espèce fluorescente dans les zones homéotropes des échantillons formulés avec de la BSA*. Il s'agit d'une portion de fluorophore non lié à la protéine et donc libre de diffuser. Pour les échantillons formulés avec de la BSA*, on notera que, pour les expériences en texture ognons, seule une fraction (~10%) de l'intensité totale est récupérée après le photo blanchiment. Cela signifie qu'une grande partie de l'intensité de fluorescence provient d'une espèce qui ne diffuse pas : la BSA.

Il n'y a donc pas, ou très peu, de BSA insérée dans les phases lamellaires des systèmes étudiés.

6) Cryo – TEM

Il convient alors de revenir sur les mesures de taux d'encapsulation. En effet, si la protéine n'est pas insérée dans la phase lamellaire, il est très peu probable qu'elle soit piégée dans des vésicules de type SphérulitesTM (dans lesquelles la structure lamellaire est conservée). L'observation des suspensions de colloïdes en microscopie électronique doit permettre d'identifier la structure de ces derniers. La figure I-7 présente quelques clichés obtenus sur deux suspensions d'ognons avec et sans protéine.

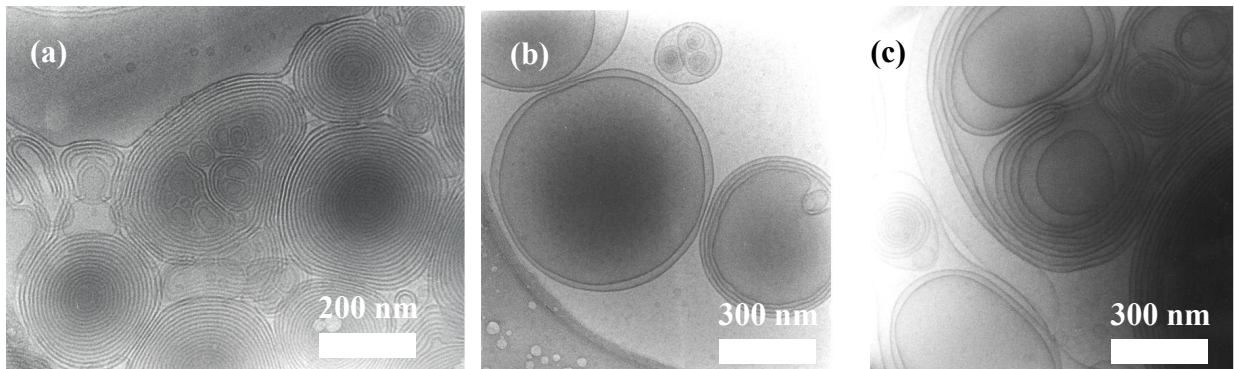


Figure I-7. (a) Images obtenues en cryo-TEM des Sphérulites obtenus par cisaillement d'une phase lamellaire sans protéine. (b) et (c) p/t ~ 0.36 . Clichés réalisés par O. Regev.

La présence de protéine semble perturber le processus de formation des Sphérulites. Les objets formés sont composés d'un cœur aqueux et ne sont plus multi-lamellaires jusqu'au centre. Cette structure particulière est probablement due au cisaillement d'une phase lamellaire hétérogène. La figure I-8 présente de manière schématique l'effet du cisaillement sur un tel système.

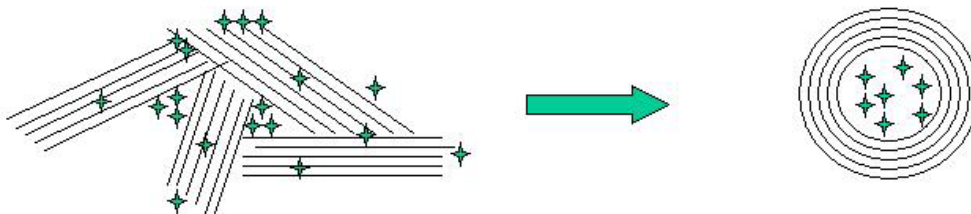


Figure I-8. Effet du cisaillement sur un système lamellaire hétérogène.

Il semble donc que les taux d'encapsulation mesurés ne soient pas dus à la formation d'ognons mais plutôt à la formation d'objets colloïdaux composés de quelques bicouches entourant un cœur aqueux fortement chargé en protéine. Ce résultat, s'il est décevant dans le cadre de cette étude, reste prometteur quand à la création de vecteurs fortement chargés en protéines en vue d'application en biologie.

7) Conclusions

Pourquoi le système exclu-t-il la protéine ? L'hypothèse la plus simple est de considérer un phénomène d'expulsion purement stérique. En effet, pour sa dilution maximale, l'épaisseur de la couche aqueuse, d_w , du système PC/Simulsol/H₂O est de l'ordre de 40 Å. Cette épaisseur est plus faible que le diamètre estimé de la protéine ($2 R_H \sim 80$ Å). Or, une particule confinée entre deux membranes va déformer la membrane localement. Cette

déformation a un coût énergétique ⁸⁹. Si l'énergie nécessaire à cette déformation est supérieure à l'entropie de mélange du système, la protéine sera expulsée. Dans le cas de la lécithine, la rigidité des bicouches, κ , est très élevée ($20 \sim k_B T$) et il est vraisemblable que ce coût énergétique soit important.

Si il apparaît clairement que, dans les conditions expérimentales testées, la BSA n'est pas insérée dans la phase lamellaire, les résultats obtenus en diffraction des rayons X restent surprenants. En effet, l'absence d'évolution de la période smectique en fonction du rapport p/t indique que, si la protéine n'est pas dans la phase lamellaire, elle ne modifie pas l'hydratation de cette dernière. Cela suppose que la protéine capte exactement la même quantité d'eau que les lipides quelle que soit la charge en protéine. Cette observation s'est, de plus, révélée applicable quelle que soit la dilution du système. Ces résultats impliquent que les potentiels chimiques de l'eau en présence de lipides ou de BSA soient rigoureusement identiques. De plus ce phénomène a été observé sur d'autres protéines testées (IgG, HSA...).

Si ce phénomène reste en grande partie surprenant, on peut néanmoins avancer une hypothèse. La limite de dilution du système PC/Simulsol/H₂O (avec ou sans BSA) est atteinte pour une fraction volumique en eau de l'ordre de 50% ($\phi \sim 0.5$). Or, on sait que les lipides, comme la plupart des protéines solubles, ne sont considérés comme pleinement hydratés que lorsqu'ils ont, dans leurs couches de premières hydratations, à peu près leurs poids en eau. La quantité exacte d'eau nécessaire dépend bien évidemment de chaque molécule. Pourtant, si l'on considère que, dans notre cas, à la limite de dilution du système, aucun des constituants n'est totalement hydraté, alors on peut considérer que les molécules d'eau sont réparties uniquement en fonction de la tendance des différentes espèces à s'hydrater. Ces tendances sont généralement décrites comme très proches.

Afin de comprendre en quoi la formulation des systèmes pouvait modifier les propriétés d'insertion de la protéine, l'idée suivie a été de travailler sur des systèmes « modèles », i.e. des systèmes lamellaires dont les propriétés (limite de dilution, rigidité des membranes) étaient plus modulables que celles des phases de lécithine. Deux nouveaux systèmes ont donc été étudiés. Le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O d'une part et le système AOT/H₂O/NaCl d'autre part. Le premier est un système, largement caractérisé au laboratoire, dont le pas smectique peut atteindre plus de 1000Å. La singularité de ce système est la rigidité extrêmement faible des bicouches formées. Le second système est composé de tensioactifs chargés (AOT). La nature des interactions entre bicouches donc peut être contrôlé par l'ajout de sels.

II – Diagramme de phase du système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O/BSA

Le diagramme de phase du système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O est rappelé au chapitre I. Ce système a été choisi principalement pour sa limite de dilution très importante et la rigidité extrêmement faible des bicouches au sein de la phase lamellaire ($\kappa \sim k_B T$). De plus ce système a l'avantage d'être très bien caractérisé et bien connu au laboratoire ⁹⁰. Le rapport C₁₂E₅/C₆E₀ a été fixé afin d'obtenir le système possédant la limite de dilution la plus élevée possible à température ambiante ($\rho \sim 0.29$). Les systèmes sont obtenus par hydratation, grâce à une solution de protéine, d'un mélange des tensioactifs (appelé prémixé).

⁸⁹ Voir Chapitre I

⁹⁰ Voir Chapitre I

1) Microscopie de fluorescence

Comme nous venons de le voir, l'observation du système en microscopie de fluorescence permet de s'assurer de l'homogénéité des phases lamellaires dopées. Les échantillons sont hydratés avec une solution de protéine à une fraction massique en protéine de 0.1% (BSA*).

Les systèmes les moins dilués ($\phi_m > 0.45$) présentent un comportement identique à celui décrit ci-dessus pour le système PC/Simulsol/H₂O/BSA (démixtion de la protéine). Les systèmes les plus dilués ($\phi_m < 0.05$) montrent une séparation de phase entre une phase lamellaire sans protéine et une phase isotrope de BSA en solution. Entre ces deux limites, les échantillons sont lamellaires et homogènes en microscopie en lumière polarisée et en microscopie de fluorescence. L'orientation des systèmes en géométrie homéotrope est très rapide entre lame et lamelle. La figure II-1 présente des images de microscopie confocale obtenues pour différentes dilutions. Aux faibles dilutions, on observe un faible marquage des défauts en fluorescence (excès d'intensité de 10-20 % environ). Aux dilutions plus importantes, la fluorescence est homogène dans tout l'échantillon et aucune démixtion n'est observée. Ces observations permettent de s'assurer que les échantillons sont homogènes et que la protéine est bien insérée dans la phase lamellaire.

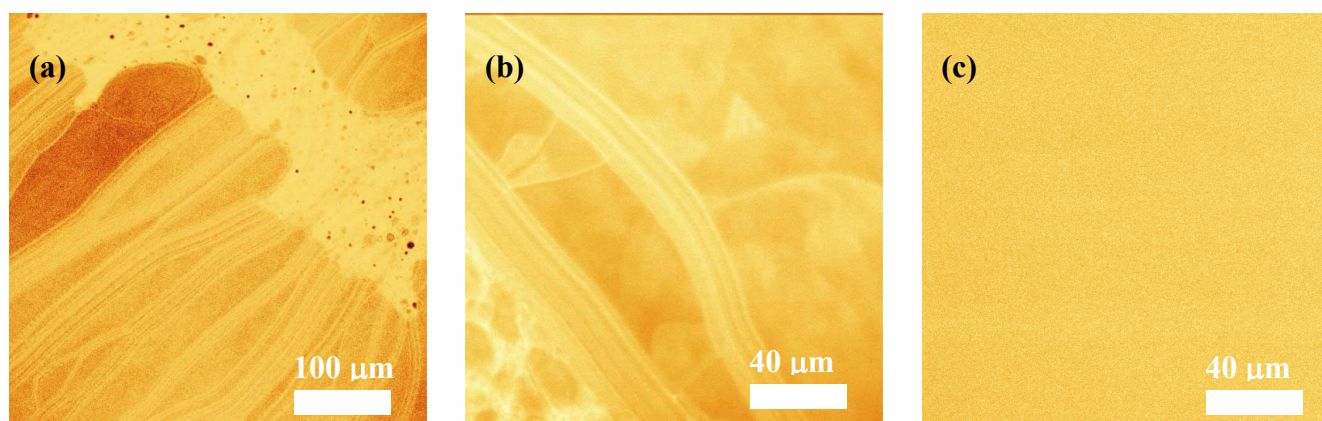


Figure II-1. (a) Image en microscopie confocale d'un échantillon du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/BSA^*$ pour une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.4$. (b) $\phi_m = 0.3$. (c) $\phi_m = 0.1$.

On peut penser, *a priori*, que ce marquage des défauts (excès de fluorescence sur les stries huileuses) est dû à la fraction de fluorophore libre identifiée ci-dessus. En effet, le marquage de la protéine en fluorescence est réalisé par une liaison chimique entre la molécule fluorescente et certains acides aminés répartis tout au long de la chaîne peptidique constituant la protéine. Les fluorophores (trois par protéine en moyenne) doivent donc être répartis (et donc orientés) aléatoirement dans la protéine. Pour autant les échantillons dopés avec de la rhodamine (voir figure II-2) montrent un marquage des défauts différent, i.e. un défaut d'intensité au niveau des stries huileuses. Le marquage des défauts identifié pour les échantillons dopés avec de la BSA* ne provient donc pas de l'orientation particulière de la fraction de fluorophore libre. Il faut donc considérer que les fluorophores liés à la protéine ne sont pas répartis aléatoirement dans la protéine et que le marquage des défauts aux faibles dilutions est la conséquence d'une orientation particulière de la protéine par rapport aux bicouches.

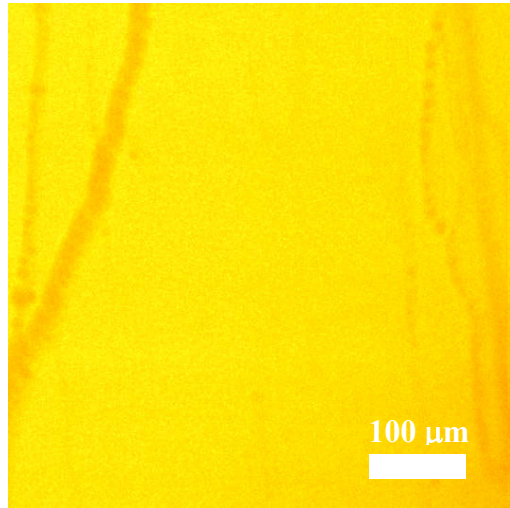


Figure II-2. Image en microscopie confocale d'un échantillon du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/Rhd$ pour une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.5$.

2) Diffraction des rayons X

L'étude du pas smectique de la phase lamellaire de ce système n'est possible, au laboratoire, que pour les échantillons faiblement dilués. Au delà d'une certaine dilution, le facteur de structure du système n'est plus détectable. La figure II-3 présente l'évolution de la période smectique pour les systèmes $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ et $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/BSA$ (0.1%).

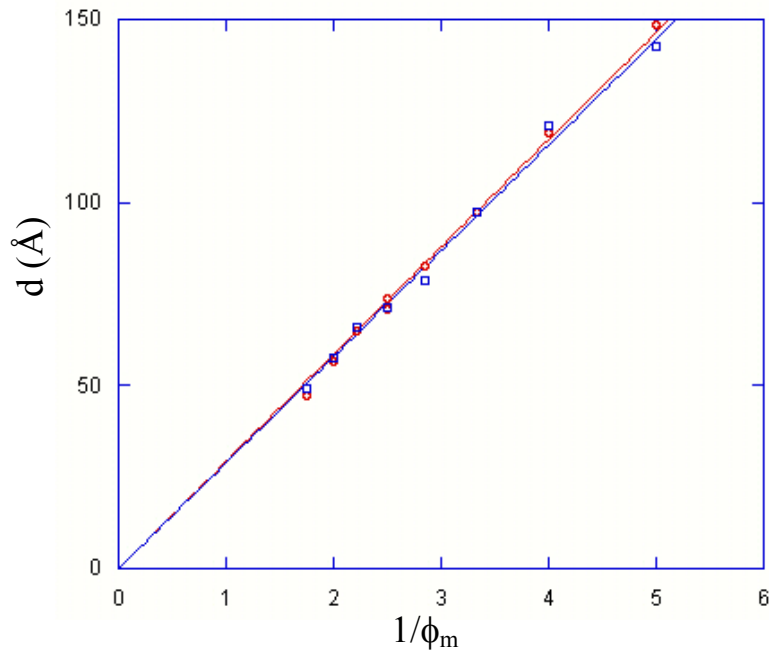


Figure II-3. Evolution de la période smectique en fonction de la dilution du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ pour un système sans BSA (□) et un système dopé avec de la BSA (0.1% en masse) (○). L'épaisseur de la bicouche est d'environ 28.7 Å.

On s'assure donc que les systèmes avec et sans protéine sont bien lamellaires jusqu'à des dilutions importantes. Ce point est confirmé par l'observation en microscopie en lumière polarisée des textures des différents échantillons. L'évolution de la période smectique est identique pour le système avec protéine et le système sans protéine. Cette similitude est attendue compte tenu de la très faible quantité de protéine insérée (0.1% en masse). L'épaisseur de la bicouche est alors d'environ 28.7 Å.

On peut se demander si la présence du dopant entre les bicouches modifie les propriétés de la phase lamellaire (constantes élastiques...). Il est en effet vraisemblable qu'une concentration, même très faible, d'objets insérés entre les bicouches modifie de manière importante les interactions entre membranes. Ce type de modification doit être particulièrement important lorsque le système est faiblement dilué (typiquement $d_w \sim 2 R_H$, avec R_H le rayon hydrodynamique de la particule). P. Sens et M. S. Turner ont montré que la présence, dans le solvant d'une phase lamellaire, d'un dopant déformant localement la membrane d'une phase lamellaire devait induire une augmentation de la diffusion diffuse au voisinage des pics de Bragg⁹¹.

La figure II-4 présente le premier ordre de Bragg pour des systèmes avec et sans protéine à une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.40$, dilution pour laquelle l'épaisseur de la couche d'eau ($d_w \sim 40$ Å) est inférieure à la taille de la BSA (~ 80 Å).

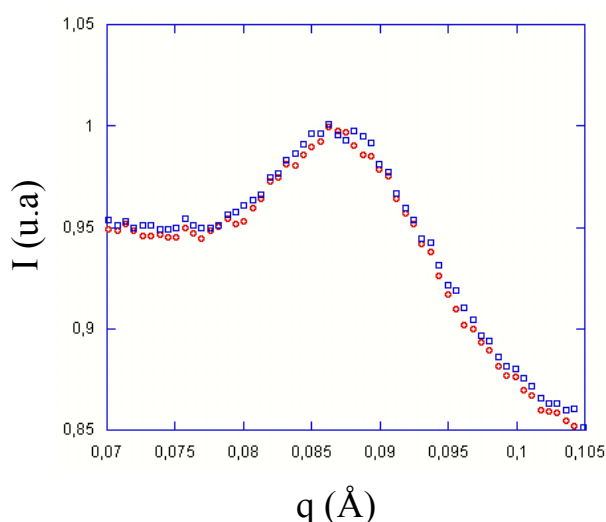


Figure II-4. Premiers ordres de Bragg (intensités normalisées) pour un système sans BSA (□) et un système dopé avec de la BSA (0.1%) (○). La fraction volumique en membrane est identique pour les deux systèmes : $\phi_m = 0.40$. L'épaisseur de la couche aqueuse est d'environ 40 Å.

Les pics de Bragg des deux systèmes sont identiques. Nos expériences ne permettent donc pas de caractériser l'influence de la présence du dopant sur les propriétés élastiques du système pour des échantillons faiblement dopés. Des expériences complémentaires (« hautes résolutions ») sont nécessaires afin d'étudier l'influence du dopage sur les propriétés de diffusion d'une phase lamellaire dopée.

3) Expériences de FRAP

En procédant de la même manière que pour le système PC/Simulsol/H₂O, nous avons sondé les propriétés de diffusion de la protéine dans le plan des couches et dans la direction d'empilement des couches. En effet, même si les images obtenues en microscopie confocale indiquent clairement que la protéine est insérée dans la phase lamellaire, il convient de

⁹¹ P. Sens et M. S. Turner, Eur. Phys. J. E, 4, 2001, 115

s'assurer que l'on peut distinguer la diffusion de la protéine de celle de la fraction de fluorophore libre. Le tableau II-1 résume les résultats obtenus pour un échantillon à une fraction volumique en membrane $\phi_m=0.4$. Pour toutes les expériences, on retrouve, après l'expérience de FRAP, 100% de l'intensité initiale. Ce résultat permet de s'assurer que toutes les molécules marquées sont mobiles

Système	Texture/Orientation	Coefficient de diffusion ($m^2.s^{-1}$)	Erreur (sur 5 expériences)
Rhodamine	Homéotrope	$6.2 \cdot 10^{-11}$	$0.5 \cdot 10^{-11}$
	Ognons	$9.0 \cdot 10^{-12}$	$0.4 \cdot 10^{-12}$
BSA*	Homéotrope	$4.4 \cdot 10^{-12}$	$1.6 \cdot 10^{-12}$
	Ognons	$8.2 \cdot 10^{-13}$	$2.3 \cdot 10^{-13}$

Tableau II-1. Coefficients de diffusion extraits des expériences de retour de fluorescence pour les échantillons contenant de la BSA* et de la rhodamine dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ ($\phi_m=0.4$).

Les résultats présentés montrent que les coefficients de diffusion mesurés pour des échantillons formulés avec de la BSA* sont très différents de ceux obtenus avec le fluorophore libre (environ un ordre de grandeur). Le coefficient de diffusion mesuré sur les échantillons formulés avec la BSA est donc celui de la protéine. En réalité, comme dans le cas du système PC/Simulsol/H₂O, il existe une faible fraction de fluorophore libre dans le système (~ 5 - 10%). Cependant, cette rhodamine diffusant bien plus rapidement que la protéine, elle n'influe quasiment pas sur le coefficient de diffusion extrait pour la protéine. En effet, une fraction de 10% de fluorophore diffusant environ dix fois plus rapidement que la protéine ne va perturber que très légèrement (quelques %) le coefficient de diffusion extrait des expériences de FRAP.

4) Diagramme de phase

La figure II-5 présente le diagramme de phase obtenu, pour des échantillons dopés avec de la BSA-rhodamine (0.1%), en fonction de la dilution et du rapport massique $C_6E_0/C_{12}E_5$. Le point particulièrement intéressant de ce diagramme est l'existence d'une phase lamellaire dans un régime de dilution pour lequel $d_w < 2R_H$. Pour des dilutions encore plus faibles ($d_w \ll 2R_H$) le système se sépare en deux phases : une phase de protéines agrégées et une phase lamellaire sans protéine. Aux fortes dilutions la limite de dilution du système est modifiée. En effet, à cette concentration en protéine et pour un rapport $\rho = 0.29$, les systèmes les plus dilués ($\phi_m < 0.05$) sont diphasiques (isotrope + phase lamellaire) alors que des systèmes sans protéines (mais préparés à partir du même mélange de tensioactifs) sont lamellaires et homogènes⁹².

⁹² Voir Chapitre I

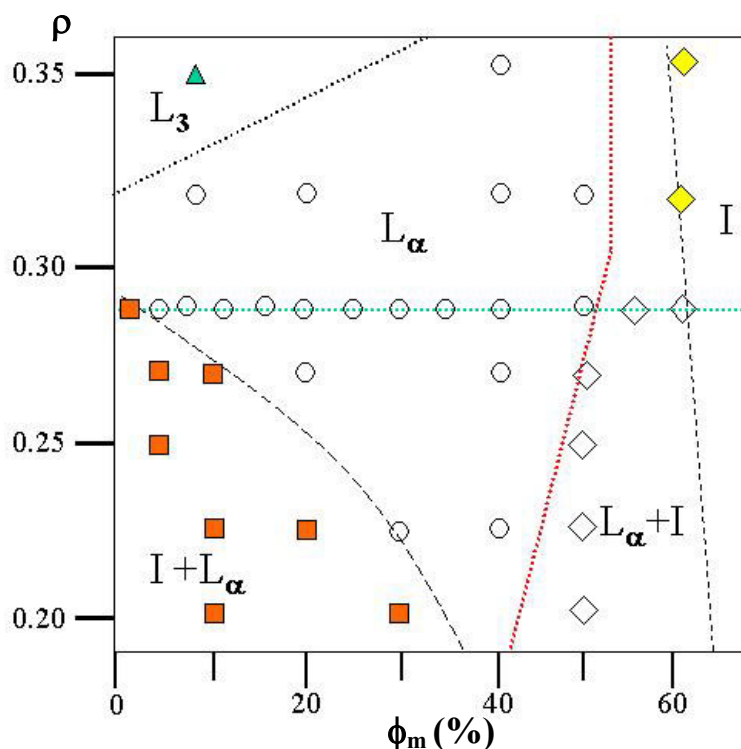


Figure II-5. (a) Diagramme de phase schématique du système du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/BSA$ en fonction de ρ (rapport massique $C_6E_0/C_{12}E_5$) et de la fraction volumique en membrane pour une température de $21^\circ C$. Il a été réalisé pour une fraction massique en protéine de 0.1%. Les différentes phases sont : phase éponge L_3 (\blacktriangle) ; diphasique isotrope (protéine) + phase lamellaire (\blacksquare) ; phase lamellaire dopée (\circ) ; isotrope (\blacklozenge) et diphasique phase lamellaire + protéine agrégée (\diamond) .

Puisque le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ permet l'insertion d'une protéine il est intéressant de tenter de doper la phase avec le maximum de BSA. La quantité de protéine maximale pouvant être insérée dans la phase lamellaire semble relativement faible. Même pour des systèmes fortement dilués ($d_w \gg 2R_H$) la quantité maximale de BSA est de l'ordre de 1% en masse. Au dessus de cette concentration, il y a séparation de phases entre une phase lamellaire dopée en protéine et une phase lamellaire faiblement dopée. Pourtant, l'insertion de la protéine devrait, à ces dilutions, être guidée principalement par l'entropie de mélange du système. Il semble donc que la présence, en grande quantité, de la protéine déstabilise la phase lamellaire. Cet effet pourrait être dû à la diminution des fluctuations de positions des bicouches induite par la présence du dopant. Un tel effet doit, en effet, diminuer les interactions répulsives entre bicouches et donc la limite de dilution du système.

L'existence d'une phase lamellaire dopée homogène pour des dilutions telles que ($d_w \ll 2 R_H$) est particulièrement motivante. Elle pourrait permettre de clarifier le rôle de la rigidité des bicouches sur le dopage de phases lamellaires peu diluées. Des expériences préliminaires ont montré que la diminution de la proportion d'hexanol en regard de celle du $C_{12}E_5$ entraînait une séparation de phase (lamellaire-protéine en solution) dans des rapports pour lesquels les échantillons sans protéines restaient homogènes (lamellaires). Si il n'est pas possible de tirer des conclusions définitives en l'absence d'expériences complémentaires, on peut néanmoins souligner le rôle probable de la faible rigidité des bicouches du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ pour comprendre la stabilité du dopage aux faibles dilutions.

5) Conclusions

Le système $C_6E_0/C_{12}E_5/H_2O$ permet d'insérer de la BSA sur une grande gamme de dilutions. On notera, en particulier, que l'insertion de la protéine est possible pour des dilutions telles que $d_w < 2 R_H$. Ce système est donc particulièrement intéressant pour l'étude de l'effet d'un dopant dans le domaine concentré du diagramme de phase de la phase lamellaire. La quantité maximale de protéine pouvant être insérée dans le système est estimée à 1% en masse.

III – Diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl/BSA

Le diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl/BSA est rappelé au chapitre I. La limite de dilution de ce système est telle que l'on peut obtenir des systèmes dont l'épaisseur de la couche aqueuse, d_w , est supérieure à $2 R_H$. De plus, la molécule d'AOT est chargée négativement, comme la protéine, ce qui permet d'espérer pouvoir observer des différences importantes de comportement avec le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/BSA$, en particulier à faible dilution. Comme auparavant, les échantillons sont obtenus en hydratant le tensioactif avec une solution de protéine.

1) Microscopie de fluorescence

La figure III-1 présente des images de microscopie confocale du système AOT/H₂O/NaCl(1%)/BSA*(0.1%). Les échantillons sont lamellaires et homogènes pour des concentrations en membrane allant de $\phi_m = 0.25$ à $\phi_m = 0.08$. Au delà de cette dilution la limite de dilution est atteinte et l'échantillon se sépare en une phase de vésicules (de type oignons) et une solution de protéine. Pour des fractions volumiques en membranes supérieures à 0.25, il y a séparation de phases entre une phase lamellaire sans protéine et une solution isotrope de protéine. Comme pour le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O/BSA^*$, on observe un faible marquage des défauts en fluorescence.

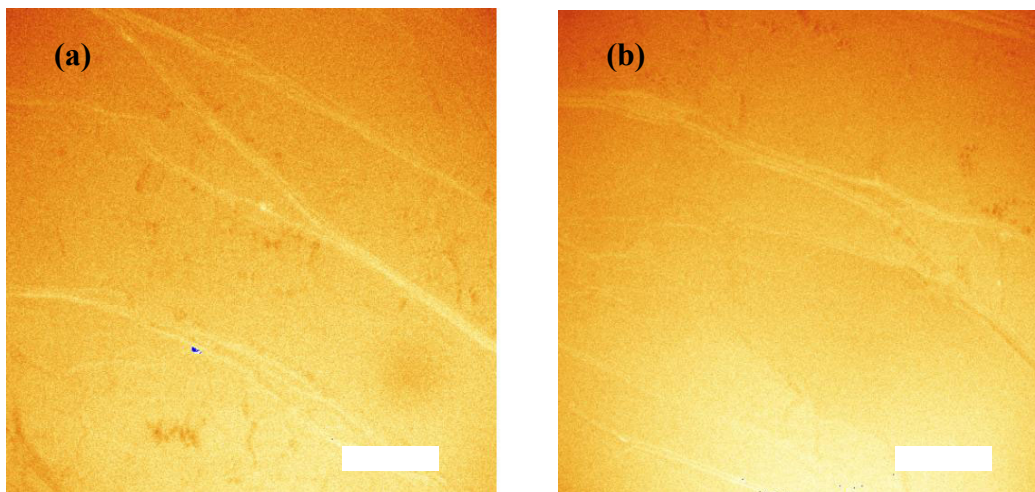


Figure III-1. (a) Image obtenue en microscopie confocale d'un échantillon du système AOT/H₂O/NaCl/BSA* pour une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.18$. (b) $\phi_m = 0.10$.

La figure III-2 présente une phase lamellaire dopée avec de la rhodamine. Comme pour le système précédent, le marquage des défauts est différent de celui observé pour la BSA*. C'est donc une nouvelle fois la protéine qui est à l'origine du marquage des défauts.

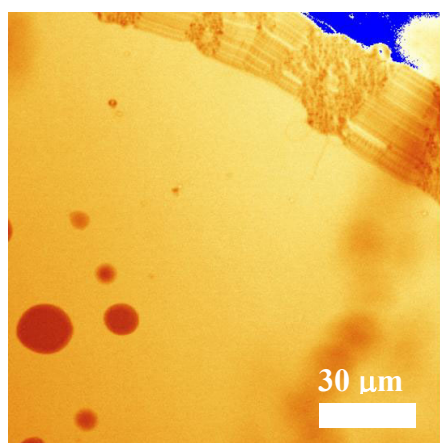


Figure III-2. Image obtenue en microscopie confocale d'une phase lamellaire d'AOT/H₂O/NaCl/Rhd ($\phi_m = 0.1$). On observe un marquage des défauts (strie huileuse en haut à droite de l'image) signe d'une orientation particulière du fluorophore par rapport à la bicouche.

2) Diffraction des rayons X

Comme pour le système C₆E₀/C₁₂E₅/H₂O, il convient de s'assurer que la structure lamellaire et que la loi de dilution sont conservées lorsque l'on dope le système avec de la protéine. La figure III-3 présente l'évolution de la période smectique pour différentes dilutions du système.

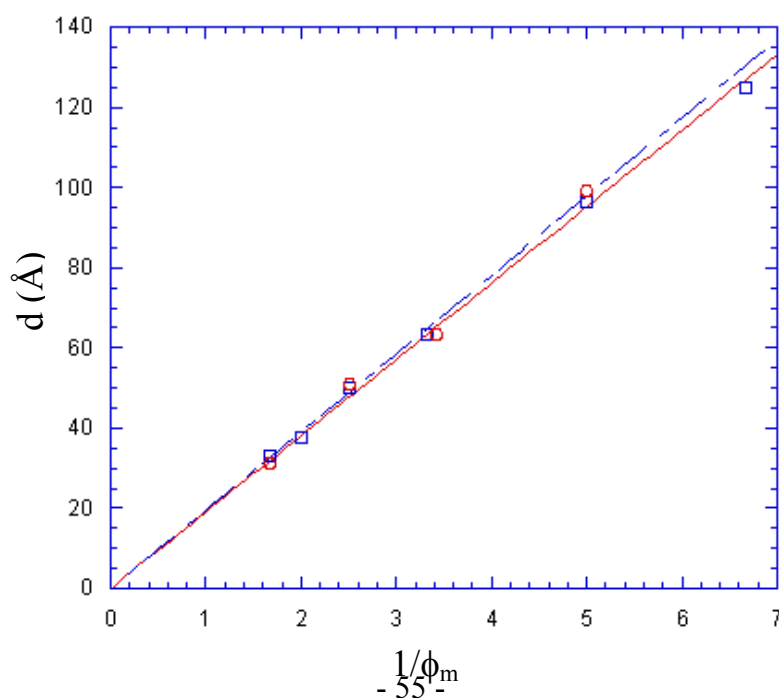


Figure III-3. Evolution de la période smectique en fonction de la dilution du système AOT/H₂O/NaCl pour un système sans BSA (□) et un système dopé avec de la BSA (0.1%) (○). L'épaisseur de la bicouche est d'environ 19.5 Å.

L'addition du dopant ne perturbe donc pas l'organisation smectique du système. Ces résultats sont confirmés par l'observation des systèmes en microscopie en lumière polarisée. La variation de la période smectique est conservée pour la phase lamellaire dopée. L'épaisseur de la bicouche est alors d'environ 19.5 Å.

3) Expériences de FRAP

Il convient également de s'assurer qu'il est possible de remonter au coefficient de diffusion de la protéine grâce aux expériences de FRAP. Le tableau III-1 présente les valeurs des coefficients de diffusion obtenus dans les géométries homéotrope et oignons. Les expériences sont réalisées pour des échantillons à une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.2$. Pour toutes les expériences, on retrouve, après l'expérience de FRAP, 100% de l'intensité initiale.

AOT	Texture/Orientation	Coefficient de diffusion (m ² .s ⁻¹)	Erreur (sur 5 expériences)
Rhodamine	Homéotrope	7.5 10 ⁻¹¹	1.5 10 ⁻¹¹
	Oignons	4.3 10 ⁻¹²	0.3 10 ⁻¹²
BSA-Rhodamine	Homéotrope	1.4 10 ⁻¹¹	0.2 10 ⁻¹¹
	Oignons	1.2 10 ⁻¹²	0.4 10 ⁻¹²

Tableau III-1. Coefficients de diffusion extraits des expériences de retour de fluorescence dans les deux géométries présentées figure I-6 pour les échantillons ($\phi_m = 0.2$) contenant de la BSA* et de la rhodamine.

Une nouvelle fois, ces valeurs permettent d'affirmer que l'espèce diffusant majoritairement dans les systèmes avec BSA* est bien la protéine et pas le fluorophore libre.

4) Diagramme de phase

Le diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl/BSA*(0.1%) a été réalisé en utilisant les techniques de microscopie confocale, de microscopie en lumière polarisée et de diffraction des rayons X. Il est représenté figure III-4. Il montre l'existence d'une phase lamellaire dopée pour des fractions volumiques en membranes supérieures à 0.25. La présence de la protéine en faible quantité ne semble pas modifier la limite de dilution du système. En dessous d'une dilution critique ($\phi_m \sim 0.25$), le système se sépare en deux phases : une phase lamellaire sans protéine et une phase isotrope contenant de la protéine.

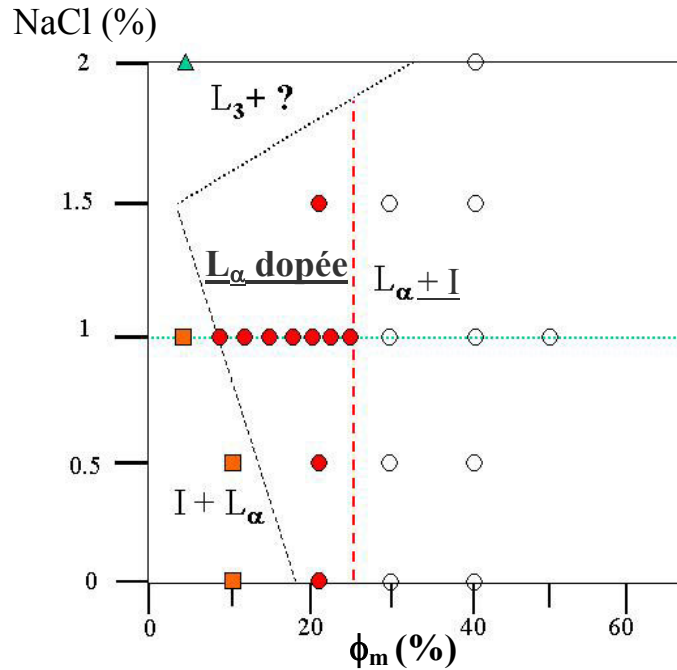


Figure III-4. Diagramme de phase schématique du système AOT/H₂O/NaCl/BSA* à une concentration massique en protéine de 0.1% et pour une température de 21°C, en fonction de la concentration en sels (NaCl). Phase éponge L₃ (▲) ; diphasique isotrope (protéine) + phase lamellaire (■) ; phase lamellaire avec protéine (●) ; diphasique lamellaire sans protéine + solution de protéine (○).

Des expériences préliminaires ont permis de montrer qu'il était possible d'insérer des quantités relativement importantes (~ 4% en masse) dans ce système pour les dilutions les plus importantes. Au dessus de cette concentration, il y a séparation de phases entre une phase lamellaire sans protéine et une phase isotrope de protéine.

5) Conclusion

Le diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl/BSA montre l'existence d'un domaine pour lequel la protéine est insérée dans la phase lamellaire. Ce domaine est limité aux fortes dilutions par la limite de dilution de la phase lamellaire sans protéine et aux faibles de dilutions par une dilution proche de $\phi_m = 0.25$. L'épaisseur de la couches aqueuse à cette dilution ($d_w \sim 66 \text{ \AA}$) est proche de la taille de la protéine ($2R_H \sim 80 \text{ \AA}$). La quantité maximale de protéine pouvant être insérée dans la phase diluée est estimée autour de 4% en masse.

IV – Conclusions

Les trois systèmes étudiés présentent chacun un comportement singulier au regard de l'encapsulation de la BSA entre les bicouches de la phase lamellaire. Pour le système PC/Simulsol/H₂O, il ne semble pas possible d'obtenir des échantillons homogènes quelles que soient la dilution du système et/ou la concentration en protéine. Pour le système AOT/H₂O/NaCl des échantillons dopés avec de la protéine ont été obtenus jusqu'à une dilution minimum telle que $d_w \sim 2 R_H$. Le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O permet un dopage pour une large gamme de dilution, y compris des dilutions telles que d_w soit nettement inférieur à 2 R_H. Enfin, la quantité maximale de protéine pouvant être insérée dans le régime dilué semble

dépendante de la formulation (1% en masse pour le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ et 4% en masse pour le système $AOT/H_2O/NaCl$).

Pour le système AOT, l'étude du diagramme de phase en fonction de la concentration en sels doit permettre de clarifier le rôle des interactions électrostatiques dans la démixtion du système aux faibles dilutions.

Pour le système PC/Simulsol, il serait intéressant de tester, dans le détail, le comportement de systèmes contenant une proportion plus importante de co-tensioactif (C_6E_0).

Bien que tous les tests préliminaires aient échoué sur plusieurs formulations à base de lécithine, ce tensioactif reste le mieux adapté aux applications en biologie. L'étude des objets colloïdaux formés sous cisaillement peut également s'avérer prometteuse.

B - Diffusion d'un actif hydrosoluble dans une phase lamellaire. Effet du confinement

I - Introduction

Nous avons mis en évidence l'existence d'un domaine de stabilité d'une phase lamellaire dopée avec de la BSA dans deux systèmes. L'étude des interactions liées au confinement d'un dopant pourrait permettre de comprendre les mécanismes mis en jeu dans la stabilité du dopage, ce qui est l'un des enjeux essentiel pour optimiser l'encapsulation.

L'idée poursuivie ici est de mesurer les coefficients de diffusion dans le plan des couches (D_{\perp}) de trois espèces fluorescentes. Les deux premières espèces étudiées sont des fluorophores : tétraméthylrhodamine et FITC. La troisième est la BSA*. A notre connaissance, une seule étude a porté sur la diffusion, dans le plan des couches, d'un actif inséré dans le solvant d'une phase lamellaire en fonction de la dilution de celle-ci. Cette étude, réalisée par P. Fabre et al., porte sur la diffusion de particules magnétiques de taille nanométrique dans une couche d'huile et montre une variation importante du coefficient de diffusion dans le plan des couches en fonction de la dilution⁹³. Les auteurs observent une évolution du coefficient de diffusion singulièrement différente de celle attendue pour une sphère indéformable entre deux plans solides.

L'objectif de ce qui suit est de comprendre comment un actif inséré dans une phase lamellaire voit ses propriétés de diffusion dans le plan des couches modifiées par la présence des membranes. Cette étude est donc réalisée en fonction de la dilution des systèmes. La figure I.1 présente les principales grandeurs intervenant dans ce problème. L'utilisation d'une petite molécule fluorescente permet de sonder ces interactions à une échelle quasi-atomique. La BSA, en revanche, permet de sonder le comportement d'un objet de taille nanométrique.

⁹³ P. Fabre et al, Europhys. Lett., 20 (3), 1992, 229

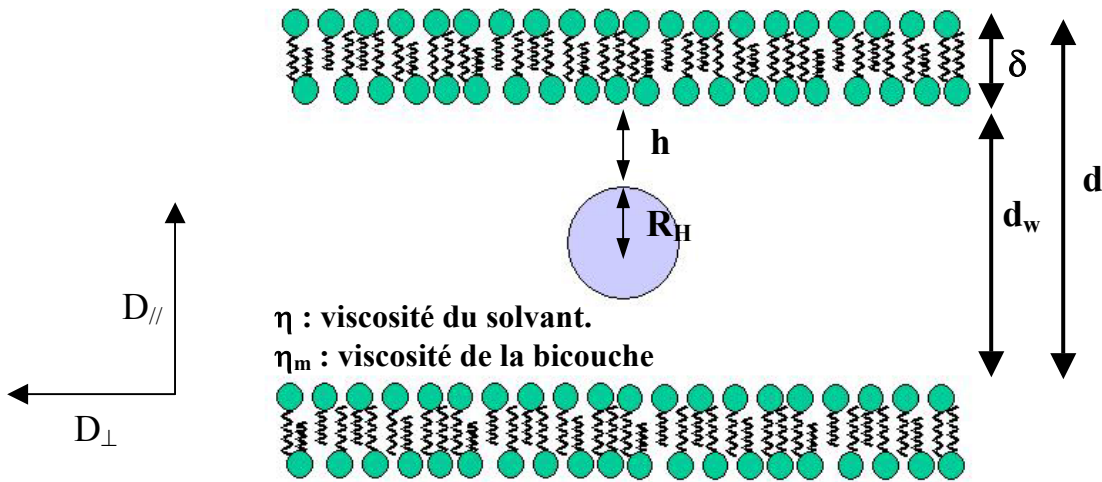


Figure I.1. Représentation schématique d'une phase lamellaire dopée avec une particule hydrophile. Ce schéma présente les différentes grandeurs pertinentes dans la variation du coefficient de diffusion du dopant dans le plan des couches : l'épaisseur de la couche d'eau séparant le dopant de la membrane, h ; le rayon hydrodynamique de la particule, R_H ; la viscosité du solvant, η ; et la viscosité de la membrane, η_m . L'étude est réalisée en faisant varier le pas smectique, d , à épaisseur de membrane, δ , constante. C'est donc l'épaisseur de la couche d'eau, d_w , qui varie.

II – Quelques rappels sur la diffusion

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les propriétés de diffusion d'une molécule dopante hydrophile dans la direction perpendiculaire à l'axe d'empilement des couches. Le problème est similaire à celui traité par P. Fabre et al. dans les ferrosmectiques. Cependant, dans notre cas, certains des systèmes étudiés permettent d'obtenir des phases lamellaires dont l'épaisseur de la couche d'eau peut être variée afin d'atteindre deux limites du problème : lorsque l'épaisseur de la couche d'eau est inférieure à la taille des particules dopantes et lorsque l'épaisseur de la couche d'eau devient très grande devant la taille des particules. Il est donc intéressant de rappeler quelques propriétés de la diffusion dans ces deux limites avant de s'intéresser à la diffusion entre deux parois.

1) Diffusion d'une particule dans un liquide

Une particule dans un solvant est soumise à l'effet de l'agitation thermique. Cet effet se traduit par un mouvement Brownien de la particule. Ce mouvement aléatoire, ou diffusion, se caractérise par le coefficient de diffusion de l'espèce. L'énergie d'excitation est l'énergie thermique ($k_B T$). La force s'opposant à ce mouvement est, dans un liquide simple, la force de Stokes :

$$f = 6 \pi \eta R_H v \quad (1)$$

Avec a une constante (6 pour une sphère, 4 pour un cylindre), η la viscosité du solvant, R_H le rayon hydrodynamique de la particule et v sa vitesse. La friction, λ , exercée sur la particule est définie par $f = \lambda v$.

En utilisant la relation d'Einstein sur la diffusion ⁹⁴, on trouve l'expression du coefficient de diffusion :

$$D = \frac{k_B T}{\sum_i \lambda_i} = \frac{k_B T}{a \pi \eta R_H} \quad (2)$$

2) Diffusion dans une bicouche de tensioactif

Si dans notre étude nous nous sommes intéressés à la diffusion d'une particule dans le solvant de la phase lamellaire, l'influence de la viscosité de la membrane peut devenir prépondérante en cas d'interactions fortes entre la membrane et le dopant ou dans les systèmes peu dilués.

Une particule ⁹⁵ dans une bicouche diffuse librement dans un espace restreint à quasiment deux dimensions (à l'épaisseur de la bicouche près). Le calcul du coefficient de diffusion dans ce type de système a été réalisé par Saffman ^{96, 97}. L'expression de ce coefficient devient :

$$D = \frac{1}{4} \frac{k_B T \left(\ln \left(\frac{\eta_m \delta}{\eta R_H} \right) - \gamma \right)}{\pi \eta_m \delta} \quad (3)$$

Avec γ la constante d'Euler, δ l'épaisseur de la bicouche, η_m la viscosité de la membrane et η la viscosité du solvant de part et d'autre de la bicouche. Le résultat obtenu indique que le coefficient de diffusion ne dépend, à deux dimensions, que de manière logarithmique de la taille de la particule. Ce résultat a été confirmé par de nombreuses études expérimentales ^{13, 98}.

3) Diffusion d'une particule sphérique entre deux plans rigides

L'étude théorique de la diffusion d'une sphère confinée entre deux plans rigides a fait l'objet d'un nombre important de travaux. Dans sa vision la plus simple, l'approche théorique considère une sphère diffusant à proximité d'un plan et parallèlement à celui-ci. La force de

⁹⁴ A. Einstein, Annalen der Physik, 17, 1905, 549

⁹⁵ Lipide, protéine...

⁹⁶ Saffman, J. Fluid Mech., 73, 1976, 593-602

⁹⁷ Saffman et Delbrück, M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 1975, 3111-3113

⁹⁸ W. L. C. Vaz et al., Biochemistry, 21, 1982, 5608 (A voir)

friction imposée par le déplacement de la particule le long de la paroi, à une distance h de celle-ci, peut être vue comme provenant du cisaillement de la couche d'eau séparant la particule du plan de la paroi (figure II.1).

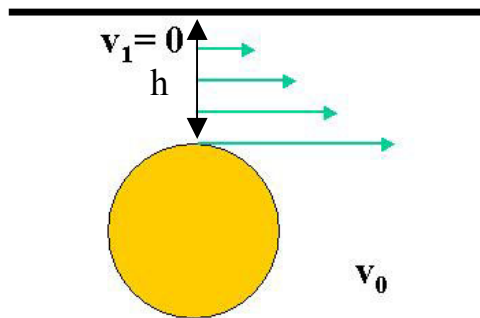


Figure II.1. Représentation schématique de l'influence d'une paroi solide sur le coefficient de diffusion d'une particule sphérique. Le cisaillement du solvant imposé par la paroi freine la particule.

H. Faxen a calculé le coefficient de diffusion d'une particule diffusant entre deux parois⁹⁹. L'expression de ce dernier est donnée par :

$$D \sim D_0 \left(1 - 2 \frac{R_H}{d_w} \right) \quad (4)$$

Avec D_0 la valeur du coefficient de diffusion de la particule en l'absence des murs définie par l'expression (2), R_H le rayon hydrodynamique de la particule et d_w l'épaisseur de la couche de solvant séparant les deux parois.

La validité générale de cette expression a été confirmée expérimentalement même si de nombreux raffinements ont été apportés depuis sur le simple modèle additif^{100, 101, 102}. On notera cependant que ces corrections sont très faibles (typiquement logarithmiques¹⁰³). Elles ne seront pas prises en compte dans ce qui suit.

4) Diffusion d'une particule dans une phase lamellaire

La diffusion d'une molécule dans une phase lamellaire est un problème bien plus complexe que celui de la diffusion d'une sphère entre deux plans solides. L. Bocquet et J-L Barrat ont montré que les équations de Navier-Stokes restaient valables à des échelles moléculaires¹⁹. Pour autant, une phase lamellaire lyotrope est caractérisée par la fluidité des bicouches, leurs plasticités et leurs fluctuations. Ces propriétés peuvent induire des différences importantes sur la diffusion d'une particule par rapport à la vision modèle d'un objet diffusant entre deux parois planes, solides et indéformables. De plus les molécules utilisées ne sont pas sphériques. L'annexe B discute des influences respectives de ces différences.

⁹⁹ H. Faxen, Ark. Mat. Astron. Fys., 18, 1924, 1

¹⁰⁰ L. P. Fauchaux et A. J. Libchaber, Phys. Rev. E, 49 (6), 1994, 5158

¹⁰¹ T. Benesch et S. Yiaccoumi, Phys. Rev. E, 68, 2003, 021401

¹⁰² B. Lin et al., Phys. Rev. E, 62 (3), 2000, 3909

¹⁰³ L. Bocquet et J-L Barrat, J. Phys. : cond. Matt, 8, 1996, 9297

III - Diffusion d'une petite molécule fluorescente

L'étude de la diffusion d'une molécule de petite taille (~1-2 nm) est motivée par les interrogations existantes sur la limite de validité des modèles hydrodynamiques à des échelles extrêmement faibles. Un modèle purement hydrodynamique ne prend pas en compte des interactions qui peuvent dominer à ces échelles comme les forces d'hydratation ou l'incorporation partielle de la molécule dans la bicouche.

L'étude porte sur deux fluorophores : la tétraméthylrhodamine et la FITC (fluorescéine). La FITC est une molécule très soluble dans l'eau. La rhodamine est une molécule relativement soluble dans l'eau mais portant une charge positive qui peut lui permettre d'interagir avec les membranes chargées ou zwitterioniques.

L'interaction entre une molécule fluorescente et une membrane est identifiable en observant un échantillon dopé en microscopie de fluorescence. En effet, en cas d'interaction impliquant une orientation de la molécule fluorescente, le fluorophore marque les défauts (stries huileuses, coniques focales) de la phase lamellaire. Comme nous l'avons vu plus haut, la tétraméthylrhodamine possède une interaction non-négligeable avec les membranes dans les systèmes de C₁₂E₅/C₆E₀ et d'AOT. Le même type d'interaction a été identifié pour le système PC/Simulsol.

La FITC semble peu interagir avec les membranes des différents systèmes selon les mêmes critères.

1) Vérification du caractère « diffusif » du mouvement des fluorophores

Avant d'analyser les variations des coefficients de diffusion des différentes espèces en fonction de la dilution, il convient de s'assurer que le phénomène à l'origine du retour de fluorescence est bien le mouvement brownien des particules. Ce type de mouvement se caractérise par l'évolution de la moyenne quadratique de la position d'une particule en fonction du temps. Le mode de transport est la diffusion si et seulement si :

$$\langle r^2 \rangle \propto Dt \quad (5)$$

L'élargissement d'une tache de photoblanchiment gaussienne doit alors être décrit par $\sigma^2 \propto 4 D_{\perp} t$, avec σ la largeur à mi-hauteur de la tache de photo blanchiment, D_{\perp} le coefficient de diffusion et t le temps. La figure III-1 présente l'évolution de la largeur à mi-hauteur d'une tache de photoblanchiment gaussienne en fonction du temps pour les deux fluorophores dans les trois systèmes et pour deux dilutions.

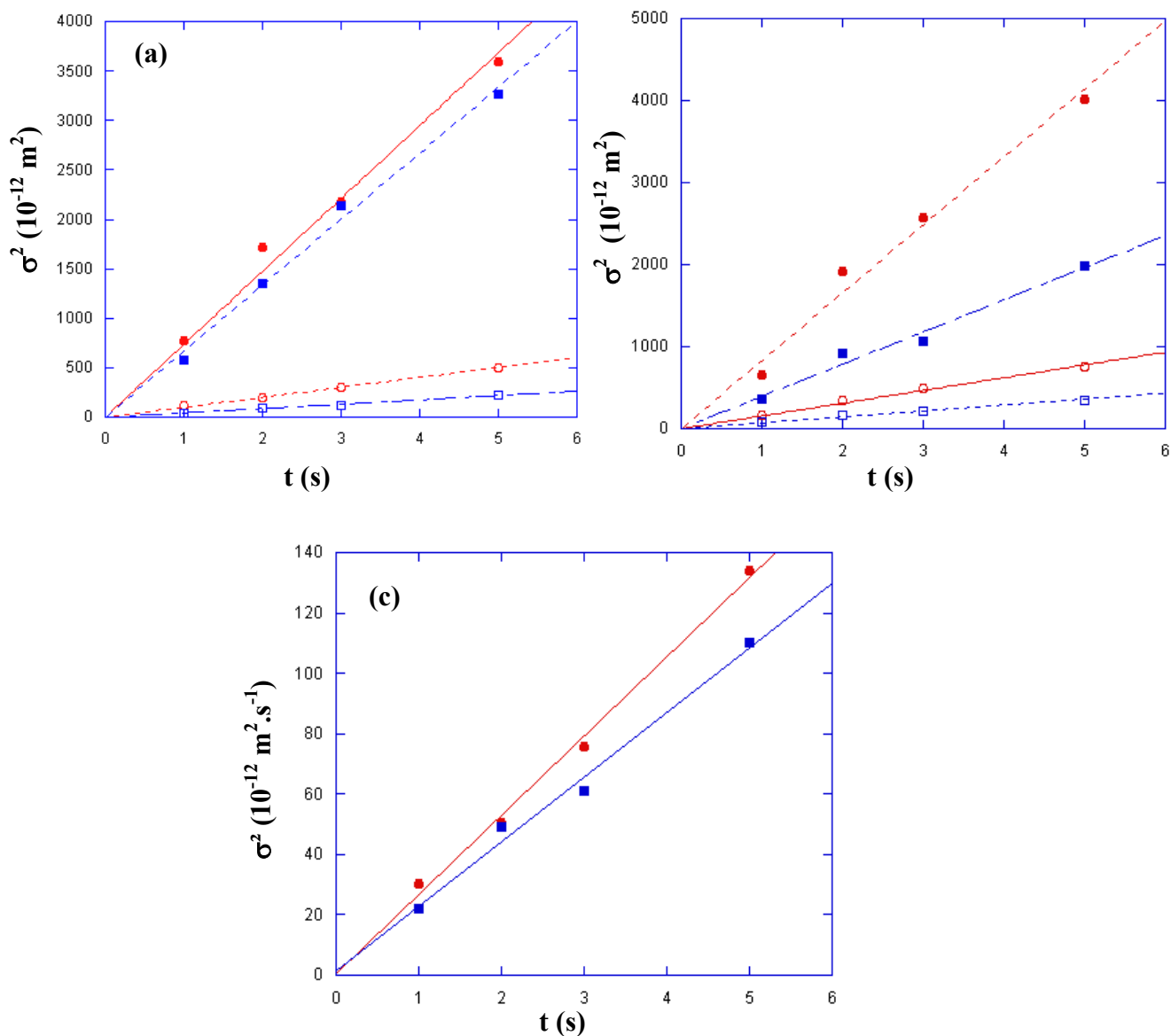


Figure III-1. Evolution de la largeur à mi-hauteur d'un profil de fluorescence gaussien en fonction du temps pour les deux fluorophores.

(a) Système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$.

$\phi_m = 0.6$: Rhodamine (\square), fluorescéine (\circ)

$\phi_m = 0.2$: Rhodamine (\blacksquare), fluorescéine (\bullet)

(b) Système $AOT/H_2O/NaCl$.

$\phi_m = 0.5$: Rhodamine (\square), fluorescéine (\circ)

$\phi_m = 0.1$: Rhodamine (\blacksquare), fluorescéine (\bullet)

(c) Système $PC/Simulsol/H_2O$.

$\phi_m = 0.8$: Rhodamine (\blacksquare), FITC (\bullet)

L'ensemble de ces courbes montre clairement un comportement linéaire de σ^2 en fonction du temps. Nous pouvons donc conclure que le phénomène à l'origine du retour de fluorescence mesuré dans tous les cas est la diffusion.

2) Système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$

Le diagramme de phase du système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ est rappelé au chapitre I. L'incorporation d'un fluorophore (FITC ou rhodamine $5.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$) ne modifie pas ce diagramme de phase au premier ordre. Les coefficients de diffusion sont tirés d'expériences de FRAP sur des échantillons orientés en géométrie homéotrope. L'annexe A détaille la méthode d'extraction du coefficient de diffusion. Les expériences sont réalisées pour différentes dilutions de la phase lamellaire. La figure III-2 présente les résultats obtenus pour les deux dopants insérés en fonction de l'épaisseur de la couche d'eau entre deux bicouches ($d_w = d - \delta$) et de l'inverse de celle-ci.

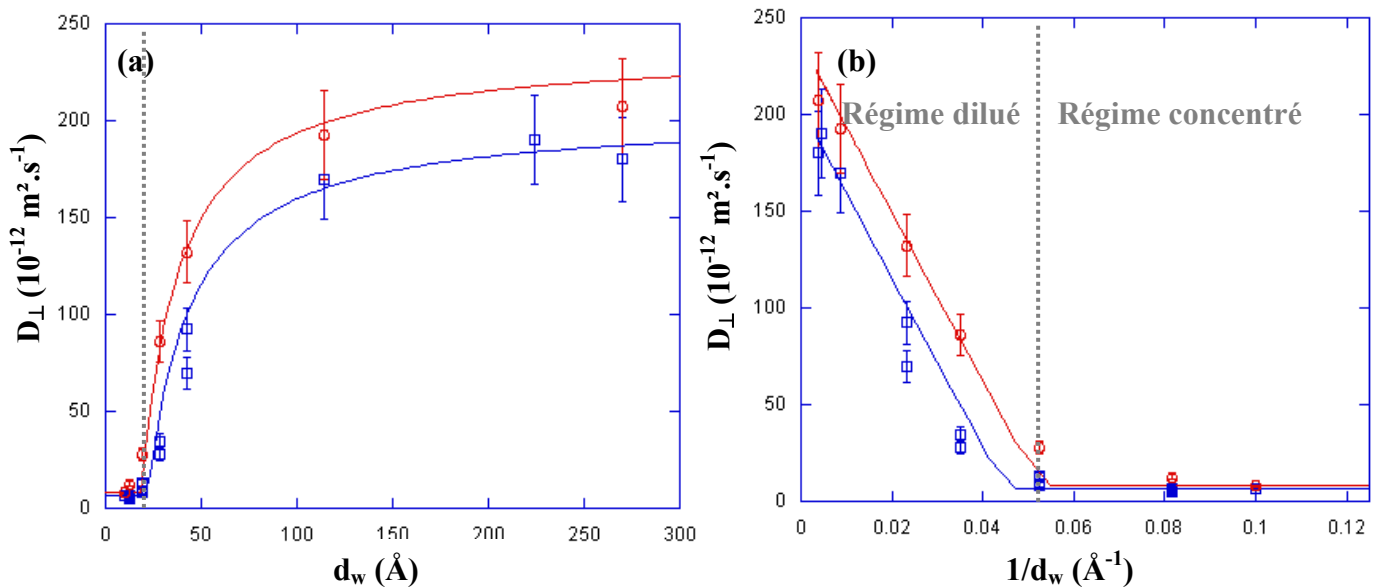


Figure III-2. (a) Système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$. Evolution des coefficient de diffusion perpendiculaire pour la rhodamine (\square) et la fluorescéine (\circ) en fonction de l'épaisseur de la couche d'eau. On note pour les deux espèces une augmentation sensible du coefficient de diffusion. (b) Mêmes données tracées en fonction de $1/d_w$. On distingue nettement les deux régimes. Les ajustements sont réalisés grâce à l'expression (6) (modèle de diffusion entre deux plans fluides : lignes pleines).

La figure III-2 montre une forte évolution de D_{\perp} en fonction de la dilution pour les deux espèces. Le comportement des deux fluorophores peut être décrit par deux régimes. Pour les fortes dilutions, D_{\perp} tend vers une valeur limite. Cette valeur est proche du coefficient de diffusion du dopant dans l'eau pour les deux espèces ($D \sim 193 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la rhodamine, $D \sim 230 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la fluorescéine). Pour les faibles dilutions, le coefficient de diffusion semble saturer à une valeur limite. Cette valeur est très proche pour les deux fluorophores ($D_{\perp} \sim 6.3 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la rhodamine, $D_{\perp} \sim 8.1 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la FITC). Elle correspond au coefficient de diffusion d'un marqueur membranaire. En effet, des expériences réalisées avec un lipide marqué (DHPE-FITC) montrent que la valeur du coefficient de diffusion de ce marqueur membranaire est $D_{\perp} \sim 7.9 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Cette valeur est proche des valeurs limites des coefficients de diffusion des deux espèces dans le régime concentré. Le passage d'un régime à l'autre semble se produire pour une valeur de d_w proche du diamètre hydrodynamique des molécules ($R_H \sim 1 \text{ nm}$ pour les deux fluorophores).

Le comportement des deux molécules ne peut donc pas être interprété par un modèle de diffusion d'une particule entre deux plans solides. En effet, dans un tel système, le

coefficient de diffusion doit s'annuler lorsque l'épaisseur de la couche aqueuse est égale à la taille des particules. Nous avons donc cherché à prendre en compte la fluidité des bicouches pour rendre compte de ce comportement. Le modèle est détaillé en annexe B (I). Il prend en compte la fluidité des bicouches de tensioactifs pour évaluer le coefficient de diffusion en considérant que la particule va entraîner une portion de la bicouche dans son sillage. L'expression du coefficient de diffusion est alors donnée par l'expression :

$$D = \frac{D_0}{1 + \frac{2 \alpha \delta \beta(R)}{3 R \left[\frac{2 \alpha \delta \beta(R) h}{3 R^2} + 1 \right]}} \quad (6)$$

Avec D_0 la valeur du coefficient de diffusion de la particule en solution, α le rapport des viscosités de la membrane et du solvant ($\alpha = \eta_m / \eta$), δ l'épaisseur de la bicouche et $\beta(R)$ un terme rendant compte de l'influence de la taille du disque de lipides entraîné (expression **(B-3)**).

On connaît la valeur de la viscosité de l'eau ($\eta \sim 1.002 \cdot 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 20°C). La valeur de la viscosité de la membrane est extraite du coefficient de diffusion du lipide marqué (expression **(3)**; $\eta_m \sim 89 \cdot 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$). L'épaisseur de la bicouche a été mesurée par diffraction des rayons X et est égale à $\delta \sim 28.7 \text{ \AA}$. Il ne reste alors qu'un seul paramètre libre : le rayon de la particule, R . Ce rayon intervient dans l'expression de D_0 ainsi que dans la correction apportée par la fluidité des bicouches. Afin de simplifier la procédure d'ajustement, le terme $\beta(R)$ est fixé avec les valeurs des rayons hydrodynamiques extraites des valeurs du coefficient de diffusion en solution des deux espèces ($R_{\text{Rhd}} \sim 12 \text{ \AA}$ et $R_{\text{FITC}} \sim 10 \text{ \AA}$). L'influence de ce terme est très faible (logarithmique) sur le résultat de l'ajustement.

Seule la partie diluée de la courbe fait l'objet d'un ajustement puisque la partie concentrée est à peu près constante. Les valeurs obtenues pour les rayons hydrodynamiques des deux espèces ($R_{\text{rhd}} \sim 11 \text{ \AA}$ et $R_{\text{FITC}} \sim 9 \text{ \AA}$) sont proches des valeurs de R_H mesurées pour les fluorophores en solution. L'approche hydrodynamique est donc satisfaisante pour expliquer les données obtenues sur ce système. On notera que l'influence de la viscosité finie de la membrane n'est sensible que pour les faibles dilutions pour lesquelles elle permet de rendre compte de manière satisfaisante de la valeur du coefficient de diffusion dans le régime concentré. Aux fortes dilutions, cette fluidité n'a pas d'effet mesurable sur les propriétés de diffusion.

3) Système AOT/H₂O/NaCl

Le diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl est rappelé au chapitre I. Comme pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O, ce diagramme reste, au premier ordre, inchangé par l'insertion de rhodamine ou de FITC à des concentrations importantes ($5 \cdot 10^{-4}$ molaire). La figure III-3 présente les valeurs de D_{\perp} obtenues pour différentes dilutions de la phase lamellaire en fonction de l'épaisseur de la couche d'eau pour les deux fluorophores.

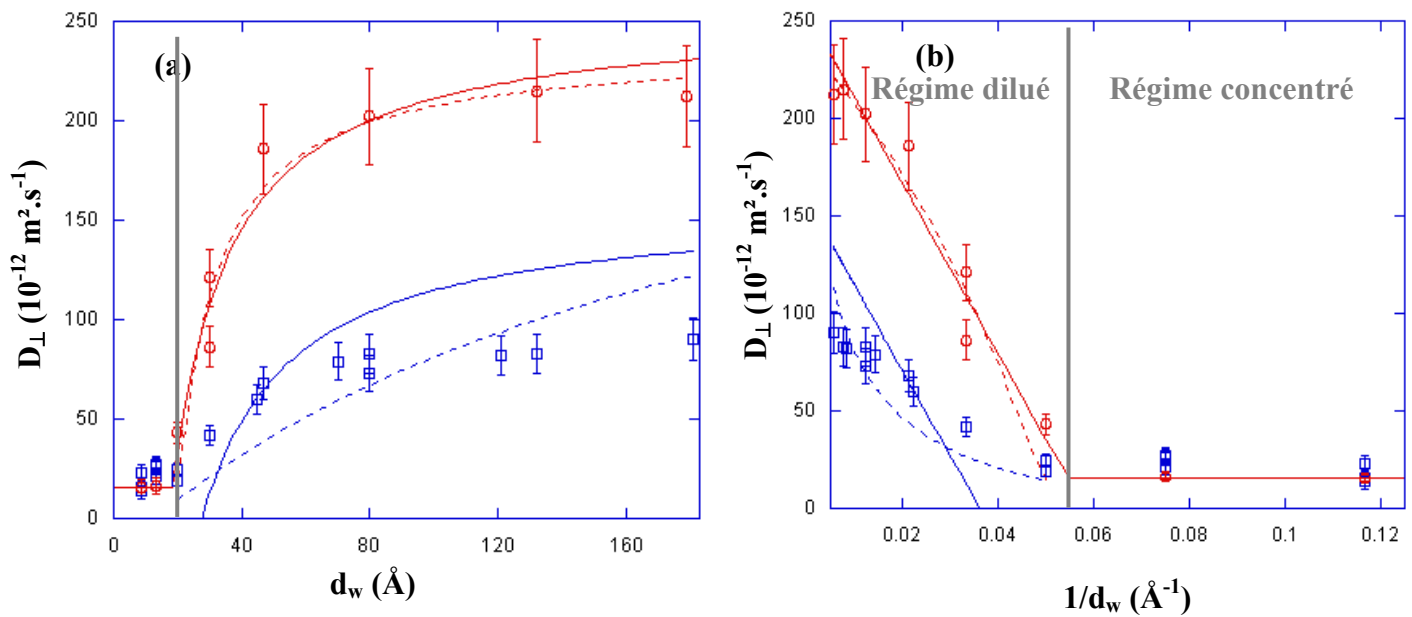


Figure III-3. Evolution des coefficients de diffusion perpendiculaire pour la rhodamine (□) et la fluorescéine (○) en fonction de l'épaisseur de la couche d'eau dans le système AOT/H₂O/NaCl. On note pour les deux espèces une augmentation sensible du coefficient de diffusion. Les ajustements sont fait grâce à deux modèles : hydrodynamique (expression (6), ligne pleine) et adsorption/désorption (7), ligne pointillée).

On observe globalement le même comportement que pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O. Aux faibles valeurs de d_w , la particule diffuse comme un marqueur membranaire (DHPE-FITC). Le coefficient de diffusion mesuré pour la molécule de DHPE marquée avec de la fluorescéine est $D_{\perp} \sim 18.3 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour ce système. Cette valeur est très proche de la valeur limite trouvée pour les deux fluorophores dans le régime très concentré ($D_{\perp} \sim 15.7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la molécule de FITC et $D_{\perp} \sim 17.6 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la molécule de Rhodamine). Aux fortes dilutions, pour la FITC, le coefficient de diffusion augmente sensiblement puis semble tendre vers le coefficient de diffusion du fluorophore dans l'eau. En revanche, pour la rhodamine, le coefficient de diffusion semble saturer à des valeurs sensiblement plus basses ($D_{\perp} \sim 90 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) que la valeur obtenue en solution ($D \sim 193 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

Le modèle hydrodynamique discuté pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O est utilisé pour la FITC. On a $\eta_m \sim 50 \cdot 10^{-2} \text{ kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (valeur extraite du coefficient de diffusion du lipide DHPE-FITC), $\delta \sim 19.5 \text{ Å}$ (voir partie A). Une nouvelle fois, le comportement des propriétés de diffusion semble pouvoir être modélisé uniquement par l'hydrodynamique. La valeur du rayon extraite ($R_{\text{FITC}} \sim 9 \text{ Å}$) est proche de la valeur estimée pour le fluorophore en solution ($R_H \sim 10 \text{ Å}$). Cette valeur est également compatible avec la valeur extraite des données sur le système C₁₂E₅/C₆E₀.

Pour la rhodamine, en revanche, l'ajustement obtenu avec le modèle hydrodynamique n'est clairement pas satisfaisant. De plus, l'observation des échantillons en fluorescence indique qu'il existe une interaction entre la bicouche et la molécule fluorescente (orientation), même aux fortes dilutions. On notera que l'existence d'une charge positive sur la molécule de rhodamine¹⁰⁴ est clairement compatible avec une interaction entre la molécule et les tensioactifs (anioniques). Cependant, une telle interaction ne devrait pas, *a priori*, modifier à

¹⁰⁴ Voir Chapitre I

elle seule de manière sensible le coefficient de diffusion compte tenu de la teneur élevée en sels dans le système (1% en masse).

Afin d'interpréter les résultats obtenus sur la rhodamine, nous avons essayé de prendre en compte l'existence d'une interaction entre la membrane et le dopant. On considère donc le cas d'une espèce possédant une affinité à la fois pour la membrane et le solvant. Cette espèce est donc séparée, dans l'échantillon, entre une fraction diffusant dans la membrane et une fraction diffusant dans le solvant. Le modèle est explicité en annexe B (II). L'évolution du coefficient de diffusion est alors donnée par l'expression :

$$D = \frac{D_F (d - \delta)}{d \left(1 + \frac{\delta (K - 1)}{d} \right)} + \frac{K D_m \delta}{d \left(1 + \frac{\delta (K - 1)}{d} \right)} \quad (7)$$

Avec D_F le coefficient de diffusion de l'espèce dans la partie aqueuse de la phase lamellaire donné par l'expression (6), D_m le coefficient de l'espèce dans la bicouche donné par l'expression (3), δ l'épaisseur de la bicouche, d le pas smectique et K la constante d'échange entre la molécule en solution et la molécule insérée dans la membrane.

Les ajustements sont obtenus en fixant D_m et δ . Les valeurs tirées de ces ajustements sont le rayon d'interaction de la particule avec la membrane (qui est caractéristique du passage d'un régime à l'autre et qui intervient dans le terme D_F) d'une part et la constante d'échange entre la membrane et le solvant, K , d'autre part.

Le modèle d'échange ne permet pas un ajustement plus satisfaisant des résultats obtenus avec la rhodamine ($K \sim 4.11$ et $R_{\text{rhd}} \sim 11 \text{ \AA}$) puisqu'il ne permet pas de rendre compte de l'apparente saturation du coefficient de diffusion aux fortes dilutions. L'interprétation de ces données reste donc problématique.

On notera, par ailleurs, que le modèle d'échange permet d'ajuster les données obtenues avec la FITC. On a alors $K_{\text{FITC}} \sim 0.41$ et $R_{\text{FITC}} \sim 9 \text{ \AA}$. Cette observation n'a rien de surprenant puisque ce modèle prend en compte l'hydrodynamique tout comme celui présenté plus haut. Ces deux modèles ne sont pas antinomiques. Le modèle d'échange est une extension du modèle hydrodynamique. La valeur de K indique une affinité relativement faible de la fluorescéine pour la membrane. Pour cette valeur de K , l'échange n'a que très peu d'influence sur la diffusion. L'ajustement obtenu est cependant légèrement meilleur que celui obtenu avec le modèle hydrodynamique et il est donc possible qu'une interaction, même faible, existe entre la fluorescéine et la membrane.

4) Système PC/Simulsol/H₂O

La figure III-4 présente les résultats obtenus pour l'évolution des coefficients de diffusion perpendiculaires des deux espèces (rhodamine et FITC) dans une phase lamellaire de lécithine. La faible limite de dilution du système ne permet d'obtenir des résultats que pour des dilutions relativement faibles. On constate que, pour ce système également, la valeur limite du coefficient de diffusion aux faibles dilution ($D_{\perp} \sim 4.7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la FITC et $D_{\perp} \sim 6.1 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la rhodamine) semble correspondre à celle d'un marqueur membranaire de rayon hydrodynamique comparable ($R_H \sim 4\text{-}5 \text{ \AA}$) à celui du dopant : $D_{\perp} \sim 6.4 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la DHPE-FITC.

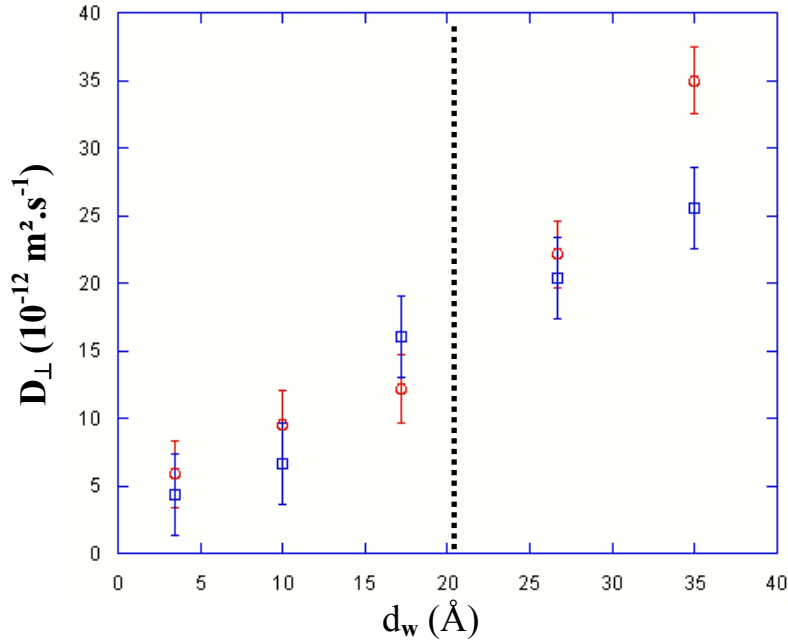


Figure III-4. Evolution du coefficient de diffusion perpendiculaire pour la rhodamine (□) et la fluorescéine (○) en fonction de l'épaisseur de la couche d'eau. On note pour les deux espèces une augmentation sensible du coefficient de diffusion. La ligne pointillée indique le passage d'un régime concentré ($d_w < R_H$) à un régime intermédiaire ($d_w > R_H$).

Il est bien évidemment impossible d'ajuster ces données avec les deux modèles présentés ci-dessus puisque ceux-ci ont pour objectif de préciser la nature de l'évolution du coefficient de diffusion dans le régime dilué et que ce dernier n'est accessible que sur une gamme de dilution très réduite compte tenu de la limite de dilution relativement faible du système. On notera que la variation des coefficients de diffusion au passage du régime concentré au régime dilué se fait continûment pour les deux espèces. De plus les observations des échantillons dopés en microscopie de fluorescence semblent indiquer l'existence d'une interaction entre le fluorophore et la membrane dans le cas de la rhodamine.

5) Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence un certain nombre de caractères communs à la diffusion de deux dopants de petite taille dans deux systèmes de phases lamellaires de tensioactifs. L'existence de deux régimes, l'un concentré pour lequel le dopant diffuse comme si il était piégé par la membrane et l'autre dilué pour lequel la particule diffuse, dans la majorité des cas, comme dans le solvant. Le passage d'un régime à l'autre semble, au regard des données présentées, principalement guidé par l'hydrodynamique.

Le fait que des molécules, de tailles quasi-atomiques et de structures moléculaires fortement anisotropes, se comportent, dans leurs propriétés de diffusion, comme des sphères parfaites, et ce jusqu'à confinements importants ($d_w \sim 2 R_H$) reste à nos yeux énigmatique. On peut invoquer la diffusion de rotation des molécules pour expliquer l'absence d'influence de l'anisotropie des particules. En effet, sous l'effet de l'agitation thermique, les molécules vont non seulement diffuser dans l'espace mais aussi subir une rotation erratique. Cette diffusion de rotation très rapide permet de comprendre pourquoi le fluorophore se comporte comme une sphère parfaite jusqu'à des confinements importants. Pour autant, même le comportement

d'une sphère parfaite à de telles échelles reste un problème extrêmement complexe d'un point de vue hydrodynamique ¹⁰⁵. Un modèle hydrodynamique rudimentaire, comme celui utilisé ci-dessus (expression (6)), ne prend absolument pas en compte tous les effets pouvant devenir prépondérant à de telles échelles. La qualité des ajustements obtenus semble indiquer que ces différentes influences sont moyennées à l'échelle des expériences de FRAP.

Le cas de la rhodamine dans le système AOT/H₂O/NaCl reste inexpliqué. L'existence d'une interaction électrostatique attractive entre la membrane et le dopant ne permet pas, à elle seule, d'expliquer le comportement de la molécule aux fortes dilutions (pour lesquelles l'interaction électrostatique doit devenir négligeable). L'introduction d'un phénomène d'équilibre entre deux populations (l'une dans la membrane et l'autre dans le solvant), n'explique pas l'apparente saturation du coefficient de diffusion au delà de $d_w \sim 80 \text{ \AA}$. Pour expliquer ce comportement, il faut considérer que la molécule de rhodamine forme des agrégats (des micelles par exemple), en présence d'AOT. Cette hypothèse a déjà été proposée pour interpréter des données similaires obtenues sur la diffusion de marqueurs dans un film smectique ¹⁰⁶. Pourtant, les expériences préliminaires réalisées indiquent que le coefficient de diffusion de la rhodamine en solution n'est pas modifié par l'ajout d'AOT (1% en masse). L'explication de ce comportement reste donc une question ouverte.

Pour le système PC/Simulsol/H₂O, aucune conclusion n'est possible malgré l'interaction entre le fluorophore et la membrane identifiée en microscopie de fluorescence. L'existence d'un régime confiné aux faibles dilutions semble indiquer que le comportement des fluorophores dans ce système est comparable à ceux décrits plus-haut.

IV - Diffusion d'une protéine (BSA) dans une phase lamellaire

La BSA est une macromolécule fortement hydrosoluble, faiblement chargée, de rayon hydrodynamique $R_H \sim 40 \text{ \AA}$ à pH 7. L'étude de ses propriétés de diffusion doit permettre de sonder certaines interactions mises en jeu dans la stabilité du dopage. Puisqu'il n'a pas été possible d'insérer la protéine dans une phase lamellaire de lécithine, cette étude porte uniquement sur les systèmes C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O et AOT/H₂O/NaCl.

Le FRAP va nous permettre de sonder les propriétés de diffusion du dopant pour des systèmes faiblement dopés. Comme pour l'étude des propriétés de diffusion d'une petite molécule, l'étude sur les phases lamellaires dopées avec de la BSA* a consisté à étudier la variation du coefficient de diffusion dans la direction perpendiculaire au directeur pour différentes dilutions du système. Pour cela, nous avons à nouveau travaillé sur des échantillons orientés en géométrie homéotrope.

1) Système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O

Le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O est le système le plus prometteur pour l'obtention de phases concentrées en protéines à des fins thérapeutiques. Cependant, faute de temps, l'obtention d'une telle phase n'a pas été possible dans le cadre de ce travail et seuls des systèmes faiblement dopés ont été obtenus pour cette protéine. La fraction massique en protéine dans la phase aqueuse sera, par la suite, toujours égale à 1%.

Comme pour les petites molécules, il est indispensable de s'assurer, dans un premier temps, que le phénomène à l'origine du retour de fluorescence est la diffusion des molécules.

¹⁰⁵ A ces échelles, les bicouches ne peuvent plus être considérées comme des plans parfaits mais comme des surfaces rugueuses, les forces de type « hydratation » deviennent importantes.

¹⁰⁶ J. Bechhoefer,* J.-C. Géminard, L. Bocquet, et P. Oswald, Phys. Rev. Lett., 79 (24), 1997, 4922

La figure IV-1 présente l'évolution de la largeur à mi-hauteur de la tâche de photo blanchiment en fonction du temps pour deux dilutions : $\phi_m=0.40$ et $\phi_m=0.15$.

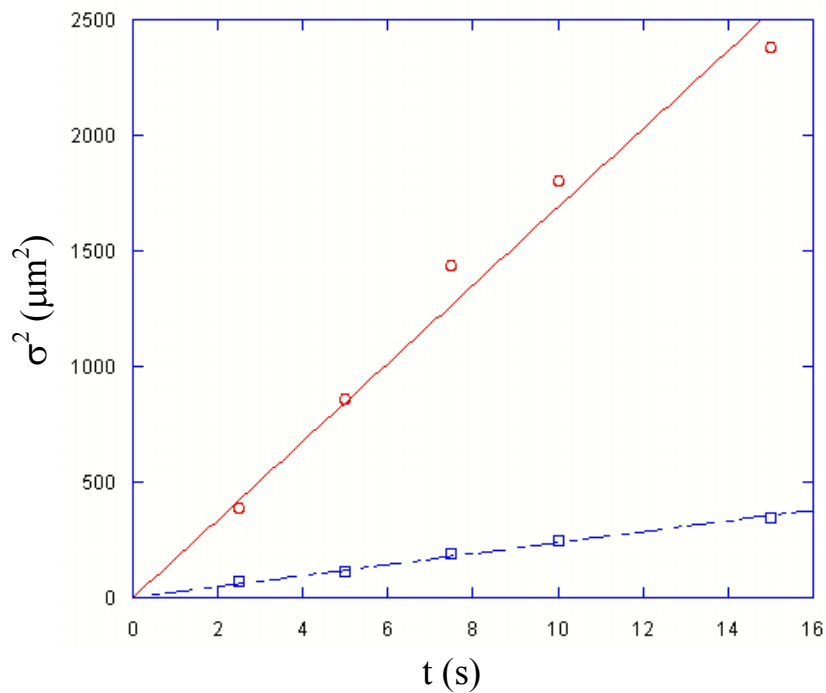


Figure IV-1. Système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ dopé avec de la BSA*. Evolution de la largeur à mi-hauteur du profil de photo blanchiment en fonction du temps pour deux dilutions : $\phi_m=0.15$ (○) et $\phi_m=0.40$ (□). Les ajustements sont réalisés par des droites dont l'ordonnée à l'origine est forcée à 0. Le comportement linéaire σ^2 permet de conclure que le comportement est « diffusif ».

Une nouvelle fois, le comportement linéaire de σ^2 en fonction du temps montre que le phénomène de propagation est bien la diffusion.

La figure IV-2 présente les résultats obtenus pour la BSA* insérée dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ pour une fraction massique en protéine dans la phase aqueuse de 1%.

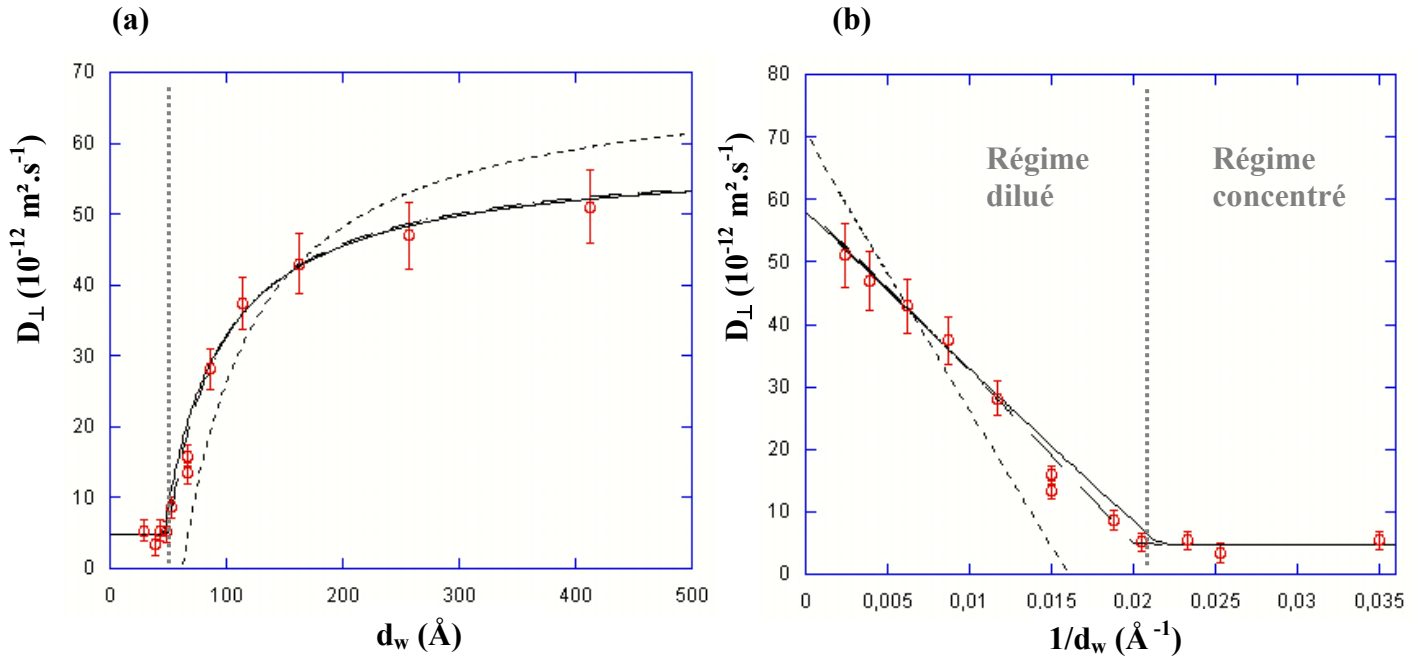


Figure IV-2. Système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ dopé avec de la BSA*. (a) Evolution du coefficient de diffusion de la BSA en fonction de la dilution de la phase lamellaire (d_w). (b) Mêmes données en fonction de $1/d_w$. Ajustement : sphère indéformable entre deux plans fluides (expression (6), pointillés serrés), particule anisotrope entre deux plans fluides (expression (8), courbe pleine), modèle d'échange (expression (7), pointillés espacés).

Les résultats obtenus montrent clairement deux régimes distincts :

- Le premier régime (régime dilué) dans lequel le coefficient de diffusion tend vers la valeur du coefficient de diffusion de l'espèce en solution ($D_{BSA} \sim 59 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Cette valeur est en excellent accord avec des études sur la diffusion de la BSA en solution : $D \sim 60 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ¹⁰⁷ et $D \sim 59 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ¹⁰⁸.
- Le second régime (régime concentré) pour lequel D_{\perp} semble saturer à une valeur limite ($D_{\perp} \sim 4.8 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Cette valeur limite est proche, mais légèrement inférieure, à celle du coefficient de diffusion d'un marqueur membranaire dans le même système. La différence entre le coefficient de diffusion limite ($D_{\perp} \sim 4.7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) et le coefficient de diffusion d'un lipide marqué ($D_{\perp} \sim 7.9 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) peut alors s'expliquer par la différence de taille entre les deux objets ($R_H \sim 4$ Å pour le lipide et $R_H \sim 40$ Å pour la BSA). La figure IV-3 présente l'évolution de D_{\perp} en fonction du rayon de l'objet diffusant prédite par l'expression (3) ainsi que les valeurs limites des coefficients de diffusion de la protéine, du lipide, de la rhodamine et de la fluorescéine aux faibles dilutions dans ce système. Les prédictions théoriques sont en bon accord avec les résultats expérimentaux obtenus. Ce comportement indique que la diffusion de la protéine est dominée par les propriétés de diffusion de la bicouche aux faibles dilutions.

¹⁰⁷ G. I. Loeb et H. A. Scherage, J. Phys. Chem. 60, 1956, 1633

¹⁰⁸ M. Placidi et C. Cannistraro, Europhys. Lett., 43 (4), 1998, 476

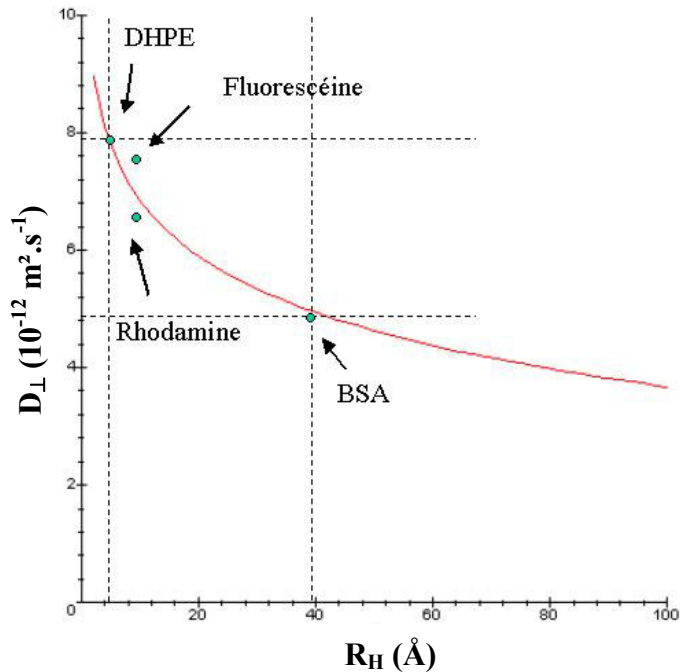


Figure IV-3. Prédiction de l'évolution du coefficient de diffusion perpendiculaire d'un actif inséré dans une bicouche en fonction de son rayon, R , d'après l'expression (3). La viscosité de la bicouche est fixée à la valeur extraite de l'expérience réalisée sur le lipide DHPE-FITC. L'épaisseur de la bicouche est donnée par les expériences de diffraction : $\delta = 28.7 \text{ \AA}$. La valeur du coefficient de diffusion de la BSA ($R_H \sim 40 \text{ \AA}$) est extraite graphiquement de la figure. On trouve : $D_{\perp} \sim 4.9 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Cette valeur est en très bon accord avec celle mesurée dans le régime concentré de la figure IV-2 : $D_{\perp} \sim 4.7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Le passage d'un régime à l'autre s'effectue pour une épaisseur de la couche d'eau ($d_w \sim 5 \text{ nm}$) sensiblement inférieure au diamètre hydrodynamique de la protéine ($2R_H \sim 8 \text{ nm}$).

La figure IV-2 présente également différents ajustements correspondants à des hypothèses physiques différentes. L'insuffisance du modèle de diffusion d'une particule sphérique entre deux murs liquides présenté ci-dessus (expression (6)) est manifeste (ajustement en pointillés serrés). Outre le modèle d'adsorption/désorption (courbe en pointillés espacés, expression (7)), on considère donc le cas d'une particule anisotrope diffusant entre deux parois fluides (courbe pleine). Ce dernier modèle est explicité en annexe B (III). Il prend en compte la diminution du rayon d'interaction de la particule avec la membrane induite par l'orientation de cette dernière. L'expression du coefficient de diffusion devient (expression (8)) :

$$D = \frac{D_0}{1 + \frac{2}{3} \frac{\alpha \delta \beta(R)}{R_H \left(1 + \frac{2}{3} \frac{\alpha \delta \beta(R) \left(\frac{1}{2} d_w - R_I \right)}{R_I^2} \right)}} \quad (8)$$

Avec D_0 le coefficient de l'espèce en solution, α , δ et $\beta(R)$ les grandeurs intervenant dans la contribution liée à la fluidité des bicouches et R_I le rayon d'interaction de la particule avec la paroi. On fixe le terme $\beta(R)$ avec la valeur du rayon hydrodynamique extrait du coefficient de diffusion de la protéine en solution.

Comme l'illustre la figure IV-2 le modèle combinant la fluidité des membranes et une anisotropie de la particule permet un ajustement satisfaisant du régime dilué ainsi que de la valeur du coefficient de diffusion dans le régime concentré. On trouve $R_H \sim 39 \text{ \AA}$ et $R_I \sim 22 \text{ \AA}$. R_I est le rayon intervenant dans le terme de confinement et R_H le rayon hydrodynamique

qui détermine le comportement aux fortes dilutions. Ces valeurs sont en bon accord avec des résultats récents obtenus sur la forme de la protéine en solution. Amit Das et al. ont en effet montré que la BSA possédait, en solution, une forme ellipsoïdale prolata dont les deux rayons étaient $R_1 \sim 52.2 \text{ \AA}$ et $R_2 \sim 24.2 \text{ \AA}$ ¹⁰⁹. Le rayon mineur est proche du rayon extrait des ajustements. De plus, le rayon hydrodynamique obtenu est proche de celui extrait des expériences sur la protéine en solution. Ces arguments sont donc en faveur de l'approche hydrodynamique. On notera enfin que l'interaction entre la protéine et la membrane identifiée en microscopie de fluorescence est tout à fait compatible avec l'hypothèse d'une orientation particulière de la protéine aux faibles dilutions.

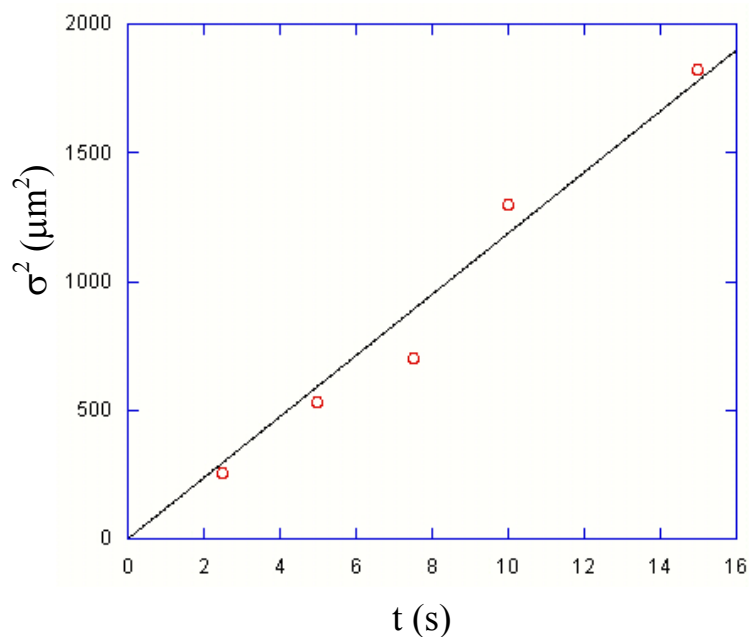
Une anisotropie de la protéine semble donc pouvoir rendre compte des comportements observés. Pour autant, cette analyse n'indique pas de manière univoque la vision microscopique pertinente dans le problème. En effet, l'anisotropie effective d'une particule peut correspondre à des phénomènes physiques différents. En particulier, l'anisotropie réelle de la protéine et son orientation par rapport aux bicouches et la plasticité des membranes pourraient avoir les mêmes conséquences sur les propriétés de diffusion de la protéine.

L'ajustement obtenu grâce au modèle d'échange est également satisfaisant ($K \sim 0.21$ et $R_H \sim 39 \text{ \AA}$). Cependant, la démixtion de la protéine lorsque le confinement devient très important ($d_w < 30 \text{ \AA}$) semble contradictoire avec l'hypothèse d'une insertion de la protéine dans la bicouche. L'hydrodynamique semble donc dominante dans ce système.

2) Système AOT/H₂O/NaCl

Le diagramme de phase du système AOT/H₂O/NaCl est rappelé au chapitre I. Le diagramme de phase de ce système dopé avec de la BSA est détaillé dans la première partie de ce chapitre. Comme pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O, on s'intéresse à l'étude des interactions entre le dopant et les membranes.

La figure IV.4 montre l'évolution de la largeur à mi-hauteur du profil de photo blanchiment en fonction du temps. L'évolution de σ^2 permet, encore une fois, de considérer que le retour de fluorescence est dû à la diffusion.



¹⁰⁹ A. Das et al., Pramana – Journal of Physics, 63 (2), 2004, 363-368

Figure IV-4. Système AOT/H₂O/NaCl dopé avec de la BSA*. Evolution de la largeur à mi-hauteur du profil de photo blanchiment en fonction du temps pour un échantillon formulé à $\phi_m=0.15$. La variation linéaire de la largeur à mi-hauteur, σ^2 , est caractéristique d'un phénomène de propagation dominé par la diffusion.

La figure IV-5 présente les résultats des expériences de FRAP pour différentes dilutions de la phase lamellaire dopée. La concentration de BSA* dans l'eau est la même pour tous les échantillons : 1% en masse. Comme pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O, la courbe obtenue, pour les fortes dilutions, tend vers la valeur du coefficient de diffusion en solution ($D_{BSA} \sim 59 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Le système ne présente, en revanche, pas de régime concentré homogène. Comme expliqué dans la première partie de ce chapitre, le système dopé se sépare en deux phases en deçà d'une certaine dilution ($\phi_m \sim 0.25$) : l'une, isotrope, concentrée en protéine et l'autre, lamellaire, ne contenant pas (ou peu) de protéine. Le coefficient de diffusion de la BSA dans les zones concentrées en protéines ($D_{\perp} \sim 1.1 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) est bien plus faible que la valeur attendue pour la diffusion d'une protéine en solution. La taille effective de l'objet diffusant est donc probablement largement plus importante que celle d'une protéine isolée. Cette observation permet d'envisager que la protéine est très fortement concentrée dans cette nouvelle phase.

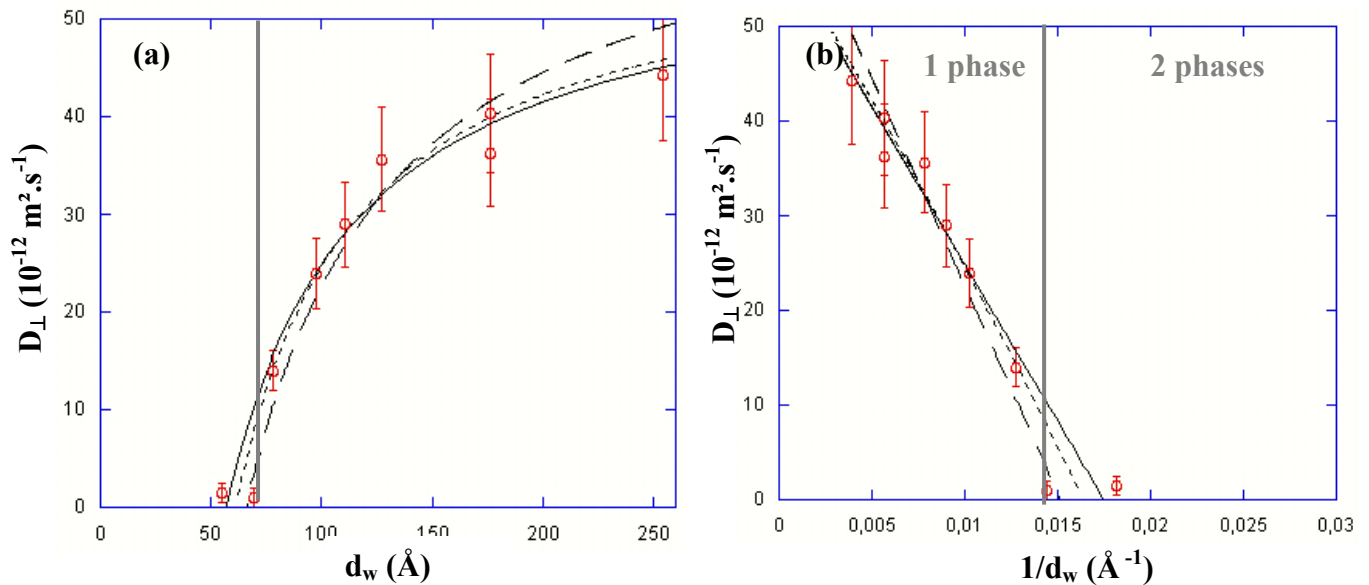


Figure IV-5. Système AOT/H₂O/NaCl dopé avec de la BSA* (a) Evolution du coefficient de diffusion de la BSA en fonction de la dilution de la phase lamellaire (d_w). (b) Mêmes données en fonction de $1/d_w$. Ajustements : sphère indéformable entre deux plans fluides (expression (6), pointillés espacés), particule anisotrope entre deux plans fluides (expression (8), courbe pleine), modèle d'échange (expression (7), pointillés serrés).

La figure IV-5 présente également les ajustements obtenus pour les différentes hypothèses discutées pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O. Le modèle d'une sphère indéformable (pointillés espacés, expression (6)) permet un ajustement satisfaisant des données (On trouve $R_H \sim 33.1 \text{ \AA}$). Cependant, la valeur du rayon hydrodynamique extraite est sensiblement plus faible que celle de la molécule en solution. L'introduction d'une anisotropie de la particule

(ligne pleine, expression (8)) permet un ajustement légèrement meilleur de la partie diluée de la courbe. Cette fois la viscosité de la bicouche est arbitrairement fixée à une valeur élevée afin de rendre compte des valeurs obtenues juste avant la démixtion. On trouve $R_H \sim 37.7 \text{ \AA}$ et $R_I \sim 28.7 \text{ \AA}$. Ce résultat est compatible avec la vision d'une particule anisotrope diffusant entre deux murs. Puisqu'il n'est pas possible d'obtenir des échantillons plus dilués, il est cependant difficile de trancher de manière définitive sur l'influence d'une anisotropie éventuelle de la particule dans ce système. On notera cependant que la démixtion intervient pour une épaisseur de la couche aqueuse ($d_w \sim 66 \text{ \AA}$) sensiblement inférieure au diamètre hydrodynamique de la particule ($2 R_H \sim 80 \text{ \AA}$) ce qui est compatible avec une anisotropie de cette dernière.

Le modèle d'échange (adsorption/désorption expression (7), courbe en pointillés serrés) permet également un ajustement satisfaisant des données ($K \sim 0.12$ et $R_H \sim 36 \text{ \AA}$) mais un tel phénomène est très peu probable puisque la membrane et la protéine portent des charges de mêmes signes (-) et que le confinement conduit à une démixtion de la protéine.

3) Discussion

Les expériences décrites ci-dessus ont mis en évidence une évolution des propriétés de diffusion de la BSA globalement similaire à celle observée pour une petite molécule : deux régimes, l'un pour les faibles dilutions, pour lequel la diffusion est dominée par les interactions de la particule avec la membrane (confinement dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0$ et démixtion dans le système AOT), et l'autre régime, dilué, pour lequel le coefficient tend continûment vers sa valeur en solution. Pour les deux systèmes, le passage entre les deux régimes ne correspond pas exactement au comportement qu'imposerait une sphère parfaite entre deux murs fluides. Cette observation peut être interprétée comme la conséquence d'une anisotropie de la particule.

On peut alors se demander si cette anisotropie mesurée correspond nécessairement à une anisotropie réelle de la particule. En effet la diffusion d'une particule dans une phase lamellaire est un problème bien plus complexe que celui d'une sphère entre deux plans solides. Nous allons voir que plusieurs phénomènes peuvent, en réalité, conduire à une anisotropie « effective » de la protéine dans ses propriétés de diffusion. La figure IV-6 présente quelques phénomènes pouvant conduire à des modifications importantes de ces propriétés : une anisotropie réelle de la particule déjà discutée plus haut (a), une déformation locale des bicouches au voisinage de la particule (b), les fluctuations de position des bicouches excitées thermiquement (c) et une anisotropie induite par le confinement (déformation de la molécule).

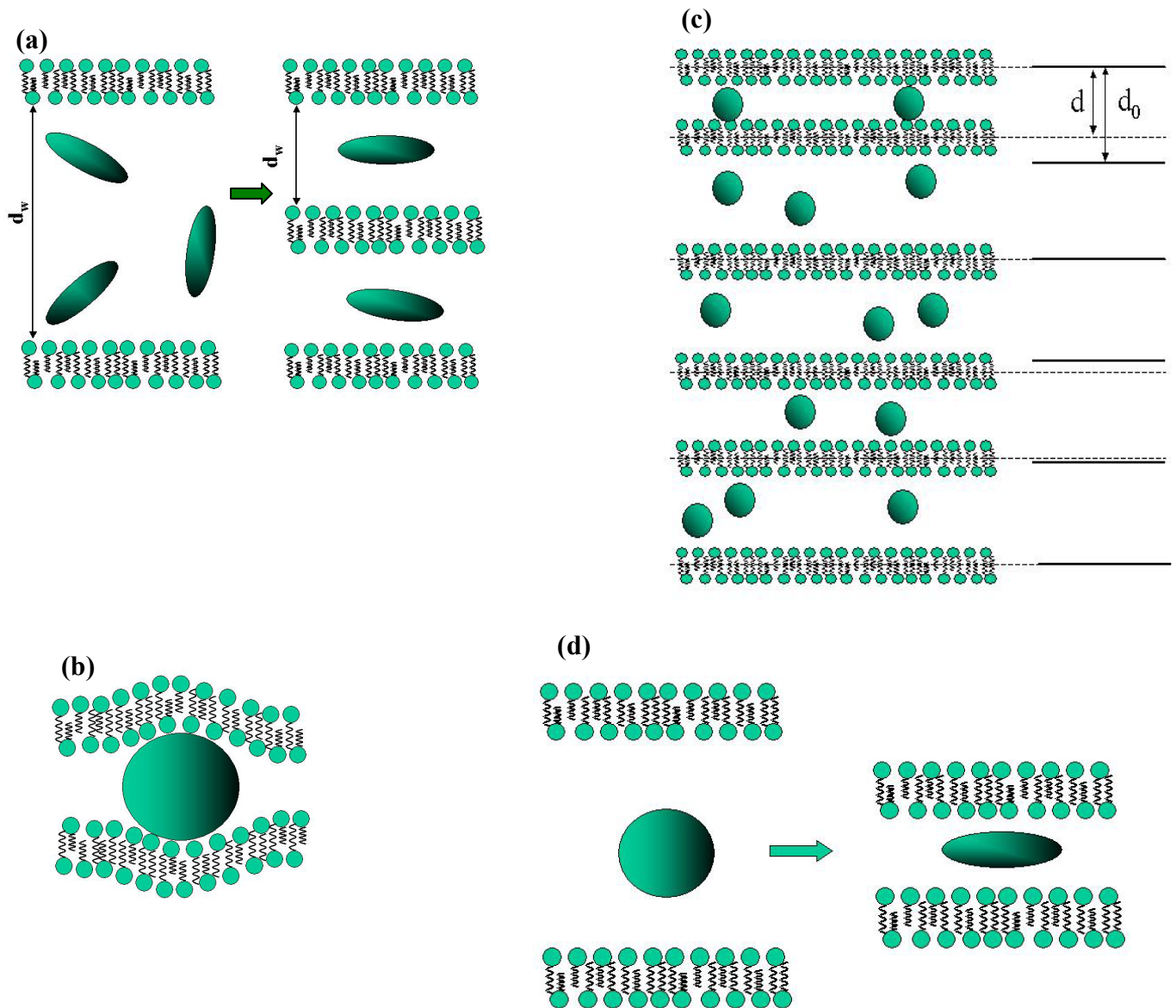


Figure IV-6. Quelques phénomènes pouvant influencer sur la diffusion d'une particule dans une phase lamellaire. (a) Anisotropie de la particule. (b) Déformation locale des bicouches. (c) Fluctuations de position des bicouches. (d) Déformation de la molécule induite par le confinement

- Déformation locale des bicouches

La présence d'une molécule dopante diffusant dans la phase aqueuse va entraîner une déformation locale des bicouches. Si le calcul exact de la déformation et de son influence sur la diffusion dépasse le cadre de ce travail, on peut considérer que l'effet principal de ce type

de déformation sera la diminution du rayon effectif de la particule dans son interaction avec la paroi. Cet effet doit donc conduire à une anisotropie « effective » de la particule compatible avec les résultats présentés ci-dessus.

- Influence des fluctuations de position des bicouches

Une phase lamellaire est un système qui, soumis à l'énergie thermique, peut se déformer fortement. En particulier, les bicouches vont fluctuer autour de leurs positions moyennes. Ces fluctuations vont entraîner des variations locales de l'épaisseur de la couche aqueuse au sein de laquelle diffuse la particule, entraînant une modification des propriétés de diffusion de cette dernière. L'influence de ces fluctuations de position des bicouches est discutée en annexe B (IV). Le coefficient de diffusion effectif mesuré lors d'une expérience de FRAP est alors défini par l'expression (9) :

$$D_{\text{eff}} = \frac{\int_{2R}^{\infty} P(d)_{d_0} D(d)}{\int_{2R}^{\infty} P(d)_{d_0}} \quad (9)$$

Avec $P(d)_{d_0}$ la probabilité, connaissant le pas smectique moyen d_0 , pour que la particule diffuse entre deux membranes localement distante de d . L'expression de cette probabilité est définie par :

$$P(d)_{d_0} = e^{\left(-\frac{\alpha^2 (d-d_0)^2}{d_0^4} \right)} \quad (10)$$

Avec α une constante pour un système donné.

Nous avons vu que les deux fluorophores, insérés dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$, se comportaient, du point de vue de leurs propriétés de diffusion, comme des sphères de rayon hydrodynamique $R_H \sim 10 \text{ \AA}$. La protéine ($R_H \sim 40 \text{ \AA}$), en revanche, semble se comporter comme une particule anisotrope. L'anisotropie mesurée de la BSA peut-elle être due à l'influence des fluctuations de position des bicouches ? Un tel phénomène est-il compatible avec les résultats obtenus pour les fluorophores ?

La figure IV-7 présente l'évolution théorique (expression (9)) du coefficient de diffusion de particules sphériques ($R_H = 10 \text{ \AA}$ et $R_H = 40 \text{ \AA}$) confinées entre deux membranes fluctuantes pour deux valeurs de la constante α .

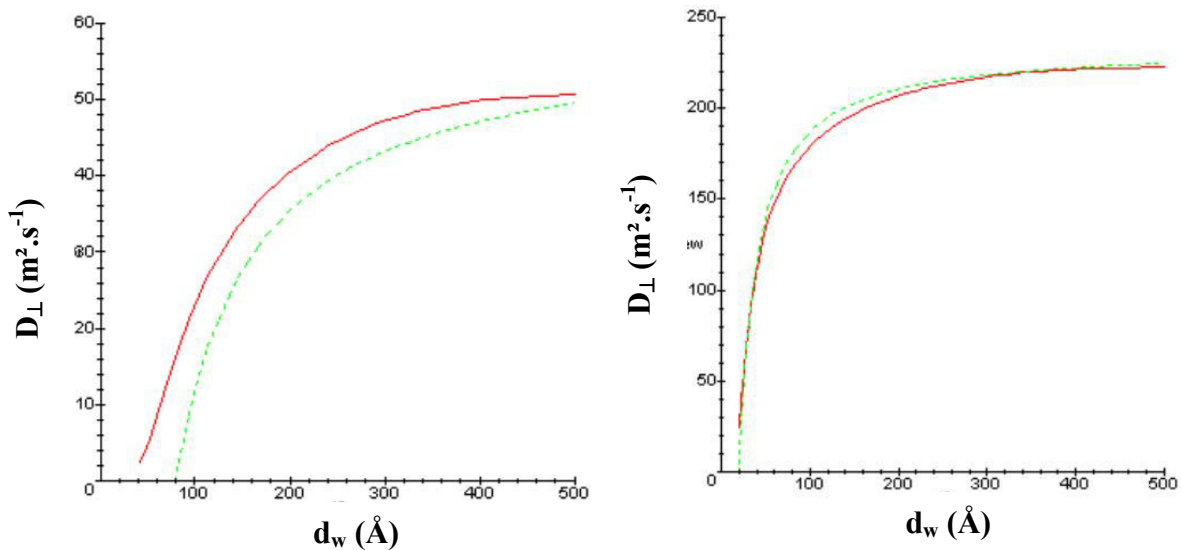


Figure IV-7. Evolution théorique du coefficient de diffusion d'une particule sphérique confinée entre deux plans fluctuants distants, en moyenne, de d_0 (expression (9)). (a) $R_H = 40 \text{ \AA}$. $\alpha=10000$, courbe pointillée, $\alpha=100$, courbe pleine. (b) $R_H = 10 \text{ \AA}$. $\alpha=10000$, courbe pointillée, $\alpha=100$, courbe pleine.

On voit que les fluctuations de position des bicouches peuvent influencer fortement sur le coefficient de diffusion d'une sphère de rayon $R_H = 40 \text{ \AA}$ et modifier de manière beaucoup moins prononcée le coefficient de diffusion d'une sphère de rayon $R_H = 10 \text{ \AA}$. Ce raisonnement montre qu'il est possible d'expliquer l'anisotropie mesurée de la BSA ainsi que l'absence d'anisotropie des fluorophores par l'influence des fluctuations de position des bicouches.

Afin de tester l'influence de ces fluctuations, il est nécessaire de pouvoir modifier les propriétés élastiques des membranes. Pour le système AOT/ H_2O / NaCl , l'existence d'interactions électrostatiques permet de contrôler précisément ces fluctuations en faisant varier la concentration en sels. Nous avons donc réalisé des mesures sur ce système pour deux concentrations massiques en sels (NaCl) : 0%, teneur pour laquelle les interactions répulsives entre membranes sont de nature électrostatique et 1%, teneur pour laquelle les interactions répulsives sont principalement dues aux fluctuations de position des bicouches. Les expériences réalisées sur des échantillon formulés à une fraction massique en membrane, ϕ_m , égale à 0.18 semblent indiquer que le coefficient de diffusion de la BSA n'est pas modifié par la modification de la nature des interactions entre membranes. Elles indiquent donc que le phénomène à l'origine de l'anisotropie effective de la particule ne semble pas être les fluctuations de position des bicouches dans ce système. Des expériences complémentaires restent à réaliser pour valider ce résultat.

- Changement de conformation de la BSA induit par le confinement

Nous avons vu en introduction que la structure de la BSA pourrait être suffisamment flexible pour permettre des réorganisations de celle-ci lorsque la protéine est en solution. Il est

alors concevable que l'anisotropie mesurée de la protéine soit induite par le confinement de la protéine entre les bicouches de la phase lamellaire.

Afin de tester l'hypothèse d'un tel changement de conformation de la protéine, des expériences de spectroscopie infrarouge ont été réalisées en collaboration avec Bernard Desbat. Le principe de ces expériences est le suivant : on envoie sur l'échantillon un faisceau de lumière infrarouge et on récupère le spectre de la lumière réfléchi sur l'échantillon. Ce spectre est alors caractérisé par les longueurs d'onde d'absorption d'un certain nombre de liaisons chimiques. Certaines de ces liaisons sont caractéristiques des protéines.

Ces expériences pourraient permettre de remonter à l'orientation et à la conformation des différentes espèces. En particulier, l'étude de l'évolution des bandes caractéristiques des hélices α , des feuilletts β ou des structures aléatoires de la protéine devrait nous permettre de mettre en évidence des changements de conformation de la protéine en fonction de la dilution. Du fait de la complexité de nos systèmes (mélanges d'amphiphiles, de solvant et de protéine) et de la faible concentration en protéine dans nos échantillons, l'analyse quantitative des données est cependant rendue délicate. Les premières expériences sont toutefois encourageantes puisqu'elles semblent montrer des modifications de la forme et des intensités relatives des bandes associées à la structure de la protéine en fonction de la dilution du système. Ces expériences vont dans le sens d'une diminution de la portion d'hélices α au profit de structures aléatoires. On notera que ce type de modification de la structure de la BSA est de même nature que celle subie par la protéine dans ses changements de conformation induits par le pH. En effet, K. Nakamura et al. ont montré que la transition entre les conformations N et F de la BSA se traduit par la diminution de la proportion d'hélices α au profit de structures aléatoires¹¹⁰. De plus cette transition conduit à une augmentation de l'anisotropie de la protéine.

Si les expériences que nous avons réalisé doivent être prises avec précaution, un tel phénomène (changement de conformation induit par le confinement) pourrait se révéler très intéressant pour tester, par exemple, les propriétés physico-chimiques de différentes conformations d'une protéine dont les mêmes changements de conformation seraient également induit par des modifications des conditions de pH ou de température par exemple.

V - Conclusion et perspectives

a) Conclusion

Des expériences de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) ont été réalisées sur trois systèmes (AOT, Lécithine, C₁₂E₅) dopés avec trois molécules (fluorescéine, rhodamine et BSA). L'évolution du coefficient de diffusion en fonction du confinement (épaisseur de la couche d'eau) a été étudiée.

Le tableau V-1 résume les différents comportements observés.

¹¹⁰ K. Nakamura et al., FEBS Letters, 417, 1997, 375

C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O	Fluorescéine	Rhodamine	BSA*
D _⊥ (d _w >>2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime dilué	244	184	56.3
D _⊥ (d _w <2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime concentré	8.1	6.3	4.7
D (H ₂ O) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) En solution	230	193	59
D _⊥ (DHPE) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹)	7.9	7.9	7.9
Modèle	Parois fluides	Parois fluides	Parois fluides + anisotropie

AOT/H₂O/NaCl	Fluorescéine	Rhodamine	BSA*
D _⊥ (d _w >>2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime dilué	240	90	58.2
D _⊥ (d _w <2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime concentré	15.7	17.6	N/A
D (H ₂ O) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) En solution	230	193	59
D _⊥ (DHPE) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹)	18.3	18.3	18.3
Modèle	Parois fluides	Echange ? (K=4.11)	Parois fluides + anisotropie

PC/Simulsol/H₂O	Fluorescéine	Rhodamine	BSA*
D _⊥ (d _w >>2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime dilué	N/A	N/A	N/A
D _⊥ (d _w <2R _H) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) Limite régime concentré	4.7	6.1	N/A
D (H ₂ O) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹) En solution	230	193	59
D _⊥ (DHPE) (10 ⁻¹² m ² .s ⁻¹)	6.4	6.4	6.4
Modèle	N/A	N/A	N/A

Tableau V-1. Résumé des différents résultats obtenus pour les trois systèmes avec les trois dopants. Les deux premières lignes donnent les coefficients de diffusion limites obtenus à partir des rayons hydrodynamiques tirés des différents modèles. Les modèles correspondent aux différentes hypothèses faites : parois fluides (expression (6)), échange (expression (7)), anisotropie (expression (8)). Le modèle indiqué correspond au modèle le plus simple permettant d'interpréter le passage d'un régime à l'autre.

Pour tous les systèmes testés, le confinement (diminution du pas smectique) a un effet important sur la diffusion et, à l'exception du système AOT dopé avec de la BSA ou une séparation de phase intervient aux faibles dilutions, permet d'identifier deux régimes : l'un confiné (concentré) dans lequel la molécule semble diffuser de manière solidaire avec les lipides et l'autre dilué dans lequel le coefficient de diffusion tend continûment vers une valeur limite. A l'exception de la rhodamine dans le système AOT/H₂O/NaCl, le coefficient de diffusion semble tendre vers celui obtenu pour la molécule en solution. Selon les systèmes et les molécules dopantes, plusieurs différences notables ont été identifiées par rapport au cas idéal de la diffusion d'une sphère indéformable diffusant entre deux parois solides :

- Caractère fluide des bicouches :

La figure V-1 présente les coefficients de diffusion, normalisés par les valeurs des coefficients de diffusion en solution, D_0 , obtenus pour le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O, pour la rhodamine ($R_H \sim 11 \text{ \AA}$) et la fluorescéine ($R_H \sim 9 \text{ \AA}$) en fonction du rapport R_H/d_w .

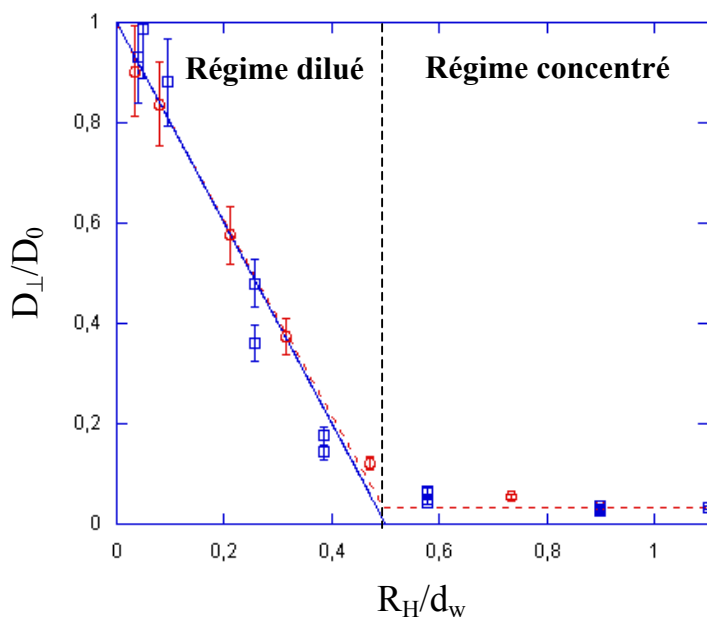


Figure V-1. L'évolution du coefficient de diffusion perpendiculaire de la fluorescéine (\circ) et de la rhodamine (\square) dans le système C₁₂E₅/C₆E₀/H₂O peut être interprétée comme étant celle d'une sphère indéformable entre deux parois fluides (courbe pointillée).

Le comportement de ces dopants aux fortes dilutions peut être interprété par un modèle de diffusion d'une sphère entre deux plans rigides (courbe pleine). L'introduction de la fluidité des bicouches permet d'expliquer le passage du régime dilué au régime concentré (courbe pointillée). Le modèle développé permet un ajustement satisfaisant de la valeur limite du coefficient de diffusion aux faibles dilutions. Le passage d'un régime à l'autre se produit pour une valeur de R_H/d_w proche de 0.5. Cette description permet également d'interpréter les données obtenues pour la molécule de fluorescéine dans le système AOT/H₂O/NaCl.

- Anisotropie de la particule :

La figure V-2 présente les données obtenues pour la BSA dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ dans la même représentation.

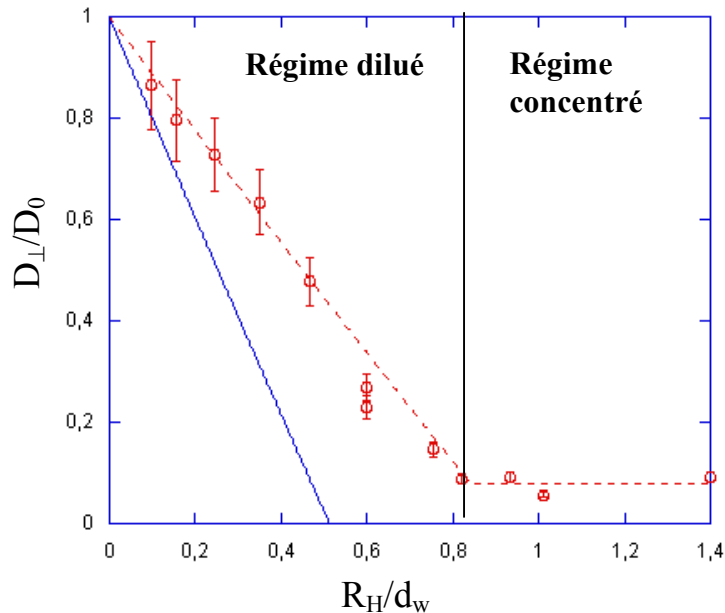


Figure V-2. L'évolution du coefficient de diffusion perpendiculaire de la BSA dans le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$ peut être interprétée comme étant celle d'une particule anisotrope entre deux parois fluides (courbe pointillée).

L'existence d'un régime concentré permet de conserver la vision d'une particule diffusant entre deux parois fluides. En revanche, le passage du régime dilué au régime concentré se produit pour une valeur de R_H/d_w incompatible avec la représentation d'une sphère indéformable (courbe pleine). Une anisotropie de la protéine permet de rendre compte de ce comportement (courbe pointillée).

Le comportement de la BSA dans le système AOT/H₂O/NaCl peut également être interprété par ce modèle même si il n'existe pas de régime concentré dans ce cas précis.

- La rhodamine dans le système AOT/H₂O/NaCl :

Pour la rhodamine, dans le système AOT/H₂O/NaCl, l'évolution des propriétés de diffusion n'est, pour l'instant, pas totalement comprise. Une description purement hydrodynamique ne permet pas d'interpréter les résultats. Ces derniers ne semblent pas non plus pouvoir être interprétés comme un équilibre de concentration entre deux populations de rhodamine (l'une dans la membrane et l'autre dans l'eau) malgré l'interaction entre le dopant et la membrane identifiée en microscopie de fluorescence.

- Système PC/Simulsol/H₂O :

La faible limite de dilution de ce système ne permet pas d'interpréter les données obtenues pour les deux fluorophores. On notera cependant que le coefficient de diffusion des

deux molécules aux faibles dilutions est, comme pour les deux autres systèmes, proche de celui d'un marqueur membranaire.

La possibilité d'étudier la diffusion d'une particule est finalement limitée dans ce système puisque, par ailleurs, l'insertion de la BSA s'est révélée impossible.

b) Perspectives

Pour le système $C_{12}E_5/C_6E_0/H_2O$, l'insertion de la BSA dans des échantillons pour lesquels l'épaisseur de la couche aqueuse est largement inférieure à la taille de la protéine dans sa conformation native soulève de nouvelles questions : le confinement induit-il un changement de conformation ? les membranes se déforment-elles autour de la protéine ? La BSA rentre-t-elle, au moins partiellement, dans la bicouche ? La protéine est-elle, en solution, spontanément anisotrope ?

La poursuite de ce travail devrait permettre de mieux comprendre le comportement d'un dopant en milieu confiné (faibles dilutions), ainsi qu'un affinement des modèles proposés.

C - Conclusion générale

Nous avons mis en évidence différents comportements de systèmes lamellaires au regard de l'insertion d'un dopant.

Pour une molécule de petite taille (fluorophore), l'insertion dans une phase lamellaire ne semble pas liée au confinement. Les deux fluorophores testés (rhodamine et FITC) peuvent être insérés dans les trois systèmes quelle que soit la dilution. Les propriétés de diffusion de ces molécules dans le plan des couches sont, en revanche, fortement dépendantes de la dilution. Aux faibles dilutions, la diffusion des molécules est dominée par les propriétés de diffusion des bicouches. Les fluorophores sont alors soit piégés par les membranes, soit insérés dans celles-ci, et diffusent de manière solidaire avec les lipides. Aux fortes dilutions, le comportement des molécules semble, dans la plupart des cas, tendre vers leur comportement en solution. Le passage d'un régime à l'autre est intimement lié à la taille de la molécule dans tous les cas. Un modèle simple incluant le caractère fluide des bicouches permet de rendre de compte de manière quantitative du passage d'un régime à l'autre. Le comportement de la rhodamine dans le système AOT reste incompris.

Pour la BSA, l'insertion dépend fortement du système lamellaire. Trois comportements différents ont été observés pour les trois formulations :

- Le dopant ne rentre pas dans la phase lamellaire (membranes rigides faiblement gonflées : cas de la lécithine).
- Le dopant peut être inséré dans la phase lamellaire jusqu'à un confinement correspondant à une épaisseur de la couche aqueuse à peu près égale au diamètre de la particule. En dessous, la protéine est expulsée de la phase lamellaire (membranes chargées : AOT).
- Le dopant peut être inséré dans la phase lamellaire jusqu'à des dilutions telles que l'épaisseur de la couche aqueuse soit sensiblement inférieure au diamètre de la protéine (membranes neutres et très flexibles : $C_{12}E_5$).

Les propriétés de diffusion de la protéine semblent indiquer une anisotropie, réelle ou « effective », de la molécule.

Cette étude a montré que l'utilisation conjointe des techniques de diffraction des rayons X, de microscopie optique et de retour de fluorescence en géométrie contrôlée nous permet d'obtenir des informations précises sur les propriétés de diffusion de dopants insérés

entre deux bicouches. Cette étude est rendue possible par l'utilisation de systèmes orientés en géométrie homéotrope ce qui nous permet d'extraire sans ambiguïté le coefficient de diffusion perpendiculaire. Le couplage de cette approche avec des expériences permettant de remonter à l'orientation et à la structure de la protéine (spectroscopie infrarouge par exemple) nous semble particulièrement intéressant afin de caractériser l'interaction entre la protéine et les membranes en fonction du confinement.

Enfin, ce travail permet d'envisager l'étude des interactions entre des membranes et différentes protéines « moins modèles », i.e. ayant un intérêt biologique dans le domaine de la vectorisation ou impliquées dans la formation de corpuscules protéiques dans les végétaux ¹¹¹ par exemple.

¹¹¹ Agrégats de protéines entourés de membranes

Annexe A : Expériences de FRAP

Les expériences de FRAP ont été réalisées sur le microscope confocal. Le principe de ces expériences est rappelé au chapitre I.

1) Préparation des lames

Afin de remonter au coefficient de diffusion perpendiculaire, il est particulièrement intéressant de travailler en géométrie homéotrope (figure A.1). Les échantillons sont placés entre une lame et une lamelle de verre séparées par un « espaceur » de $50\ \mu\text{m}$. Les deux lames sont alors scellées par une *colle polymère* (vernis à ongle) pour éviter toute évaporation du solvant. Les échantillons s'orientent alors très majoritairement en géométrie homéotrope après un temps très variable selon la nature du système. Quelques minutes sont nécessaires pour les systèmes $\text{C}_{12}\text{E}_5/\text{C}_6\text{E}_0/\text{H}_2\text{O}$ et $\text{AOT}/\text{H}_2\text{O}/\text{NaCl}$, plusieurs heures pour le système $\text{PC}/\text{H}_2\text{O}$. Dans cette géométrie, les bicouches sont toutes perpendiculaires à l'axe optique et la diffusion mesurée est donc la diffusion perpendiculaire quelque soit l'orientation.

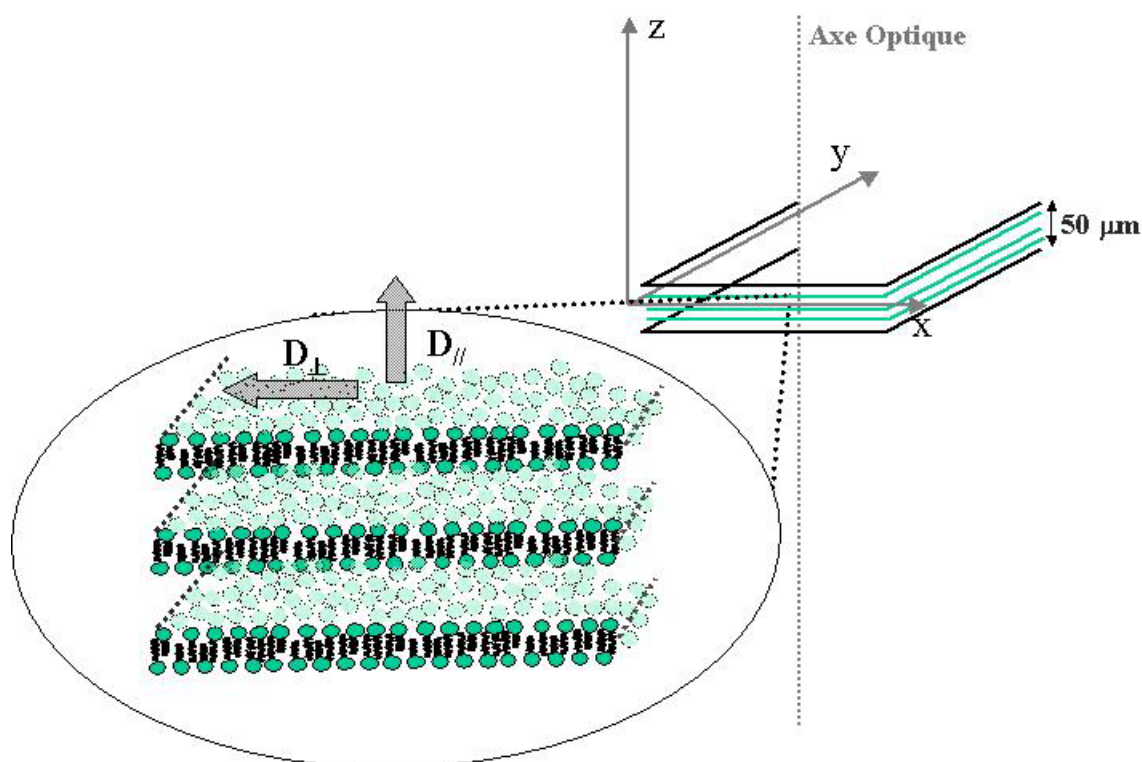


Figure A-1. L'orientation homéotrope d'une phase lamellaire permet de remonter au coefficient de diffusion d'un dopant dans le plan des couches. Cette orientation est d'autant plus rapide et de bonne qualité que l'épaisseur entre les deux lames de verres est fine.

2) Extraction des coefficients de diffusion

L'acquisition d'une image sur le microscope confocal se fait grâce à un photomultiplicateur. Cette acquisition est réalisée sur un temps variable mais qui reste toujours de l'ordre de la seconde. Compte tenu de la variabilité importante des coefficients de diffusion attendue dans ces expériences il était intéressant de mettre au point un protocole qui permettait de faire toutes les expériences dans les mêmes conditions tout en sondant différentes échelles (et donc différentes valeurs des coefficients de diffusion).

L'idée suivie est d'utiliser la tache laser du microscope confocal comme motif de photo blanchiment en faisant varier le temps d'application du laser, τ . Cette tâche peut, en première approximation, être considérée comme ponctuelle lorsque l'on travaille avec un objectif à fort grossissement (x63). La concentration en fluorophore au cours du temps est donnée par la loi de Fick en coordonnées cylindriques :

$$C(r, t) = \frac{c_0 e^{\left(-\frac{1}{4} \frac{r^2}{D_{\perp} t}\right)}}{4 \pi D_{\perp} t} \quad (\text{A-1})$$

L'intensité de fluorescence, à un temps t , après un photo blanchiment d'une durée τ , peut alors s'écrire :

$$I(r, t, \tau) = \int_0^{\tau} \frac{1}{4} \frac{c_0 e^{\left(-\frac{1}{4} \frac{r^2}{D_{\perp} (t-\tau_1)}\right)}}{D_{\perp} (t-\tau_1)} d\tau_1 \quad (\text{A-2})$$

Cette expression devient :

$$I(r, t, \tau) = -\frac{c_0 \text{Ei}\left(1, \frac{1}{4} \frac{r^2}{(t-\tau) D_{\perp}}\right)}{4 \pi D_{\perp}} + \frac{c_0 \text{Ei}\left(1, \frac{1}{4} \frac{r^2}{t D_{\perp}}\right)}{4 \pi D_{\perp}} \quad (\text{A-3})$$

Avec E_i la fonction exponentielle intégrale, r la distance au centre de la zone de photo blanchiment et D_{\perp} le coefficient de diffusion de l'espèce dans le plan des couches. Le profil de fluorescence obtenu dépend des propriétés de diffusion de l'objet. D'une expérience, on peut extraire un profil qui est ajusté numériquement (EXCEL) grâce à l'expression (A-3). On en tire le coefficient de diffusion perpendiculaire. Les expériences sont reproduites plusieurs fois afin d'obtenir une statistique raisonnable. La température de la salle est régulée par une climatisation (22 ± 1 °C). La viscosité du solvant (H_2O), η , est alors d'environ $1.0 \cdot 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$. La taille sondée par une expériences de FRAP réalisée dans ces conditions est variable selon la valeur du coefficient de diffusion, le temps t auquel est réalisée l'acquisition et le temps d'application du laser. En jouant sur les deux derniers paramètres, on peut mesurer des coefficients de diffusion sur une gamme allant de $10^{-12} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ à $5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$ sur des temps de l'ordre de quelques secondes.

3) Expériences sur des systèmes en texture oignons

La préparation des lames est légèrement différente pour les échantillons en texture oignon. L'échantillon est alors placé entre lame et lamelle sans « espaceur ». Il est alors cisailé par frottement de la lamelle sur la lame. Il est alors impossible de sceller le capillaire sans risquer un mélange du vernis avec le système. Les expériences doivent donc être faites rapidement (typiquement 5 à 10 minutes) afin de limiter l'évaporation du solvant. L'extraction du coefficient de diffusion se fait comme expliqué ci-dessus. On notera que le coefficient de diffusion obtenu n'est pas le coefficient de diffusion parallèle mais un coefficient de diffusion « hybride » entre les coefficients de diffusion parallèle et perpendiculaire.

Annexe B : Diffusion d'une particule dans une phase lamellaire lyotrope

La diffusion d'une sphère indéformable entre deux plans solides est une vision très simplifiée du problème de la diffusion d'un actif hydrosoluble dans une phase lamellaire lyotrope. En effet, les bicouches de tensioactifs sont des parois fluides, fluctuent et peuvent être déformées. Il est intéressant de décrire, ne serait-ce que qualitativement, l'effet de ces différences sur la diffusion d'un dopant. En effet, on se convaincra aisément que le calcul hydrodynamique exact des influences respectives de ces dernières est extrêmement complexe. Nous avons donc cherché à modéliser de la manière la plus simple possible les effets du caractère fluide des bicouches. Une discussion plus sommaire est engagée sur quelques autres facteurs.

I – Influence de la fluidité des membranes

La fluidité d'une membrane peut avoir un effet sur la diffusion d'une molécule dans son voisinage. En effet, la paroi va s'opposer au mouvement de la particule par l'existence d'une force liée au cisaillement de la couche d'eau séparant la particule de la paroi. Ce cisaillement est totalement défini, dans le cas de parois solides, par les conditions aux limites suivantes : la vitesse du fluide à proximité de la particule est égale à la vitesse de la particule et cette vitesse s'annule sur la paroi. Pour une paroi fluide, la vitesse ne s'annule plus sur la paroi.

Pour évaluer l'influence de la fluidité des membranes, on fait l'hypothèse qu'une particule se déplaçant au voisinage d'une paroi, avec une vitesse v_0 , va entraîner avec elle une partie de la bicouche, cet élément se déplaçant à la vitesse v_1 . La figure B-1 illustre ce phénomène.

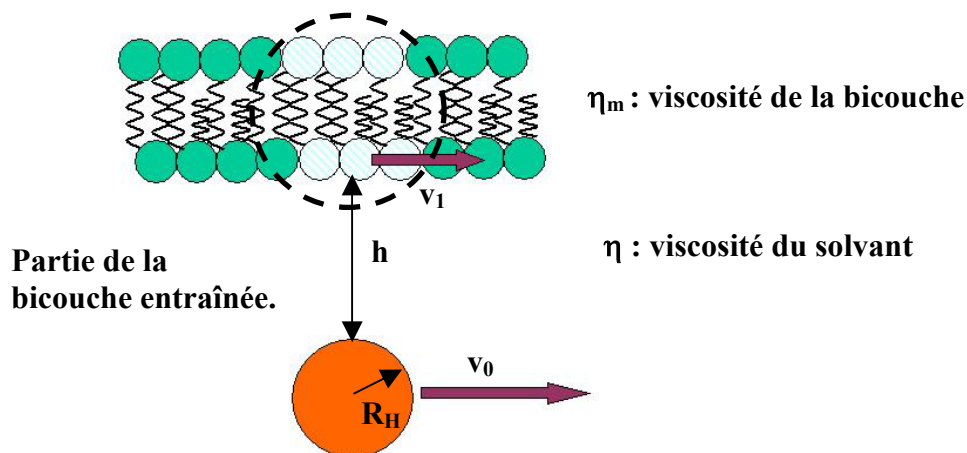


Figure B-1. Influence de la viscosité d'une bicouche sur les propriétés de diffusion d'un dopant. Le dopant diffusant à proximité de la bicouche va entraîner dans son sillage une partie de celle-ci. Ceci aura pour effet de limiter le freinage de la particule par la paroi.

Dans la modélisation choisie, la vitesse v_0 de la particule est supérieure à la vitesse v_1 d'entraînement de la portion de membrane. Cela doit se traduire concrètement par le fait que la matière n'est pas conservée pour la partie de membrane entraînée. On peut rapprocher ce raisonnement de celui du cisaillement d'une couche de liquide qui est défini par un champ de vitesse et non par les vitesses individuelles des molécules d'eau au sein de la couche.

On peut exprimer la force de friction exercée sur la particule à partir de l'énergie dissipée quand la particule se déplace à égale distance des deux parois :

$$f = a \eta R v_0 + \frac{b \eta R^2 (v_0 - v_1)}{h} + c \eta_m \delta \beta(R) v_1 \quad (\text{B-1})$$

Avec

$$h = \frac{d_w}{2} - R \quad (\text{B-2}) \quad \text{et} \quad \beta(R) = \left(\ln \left(\frac{\eta_m \delta}{\eta R} \right) - \gamma \right)^{-1} \quad (\text{B-3})$$

Avec a , b et c trois constantes, η la viscosité du solvant, R le rayon hydrodynamique de la particule, h la distance de la particule à la paroi, η_m la viscosité de la membrane et δ l'épaisseur d'une bicouche. Le premier terme de l'expression **(B-1)** est la force de Stokes, le second traduit le cisaillement de la couche d'eau entre la particule et la paroi, le troisième correspond à l'énergie dissipée par le mouvement d'une partie de la membrane dans le sillage de la particule.

Les contraintes de part et d'autre de l'interface solvant-bicouche doivent être égales. Ceci impose :

$$\frac{b \eta R^2 (v_0 - v_1)}{h} = c \eta_m \delta \beta(R) v_1 \quad (\text{B-4})$$

On en déduit la vitesse d'entraînement d'une partie de bicouche, v_1 , en fonction de la vitesse de la particule, v_0 :

$$v_1 = \frac{v_0}{\frac{c \alpha \delta \beta(R) h}{b R^2} + 1} \quad (\text{B-5})$$

Avec

$$\alpha = \frac{\eta_m}{\eta} \quad (\text{B-6})$$

On peut alors en déduire l'expression de la force totale s'opposant au déplacement d'une particule :

$$f = a \eta R v \left(1 + \frac{c \alpha \delta \beta(R)}{a R \left(\frac{c \alpha \delta \beta(R) h}{b R^2} + 1 \right)} \right) \quad (\text{B-7})$$

Cette expression est homogène à une force et dépend linéairement de la vitesse. On peut donc en déduire la friction ($f = \lambda v_0$) effective subie par la particule et utiliser la relation d'Einstein¹¹² pour déduire le coefficient de diffusion d'une particule entre deux plans liquides :

$$D = \frac{D_0}{1 + \frac{c \alpha \delta \beta(R)}{a R \left(\frac{c \alpha \delta \beta(R) h}{b R^2} + 1 \right)}} \quad (\text{B-8})$$

Avec D_0 le coefficient de diffusion de la particule en l'absence des parois. Les différentes limites du modèle permettent de déterminer les constantes c/a et c/b . En effet, l'expression **(B-8)** doit tendre vers la formule **(4)** quand la viscosité diverge (murs solides). Cette condition fixe le rapport $b/a = 1$. De plus, on peut raisonnablement supposer que, pour des confinements importants (i.e. la particule piégée entre deux membranes) la particule diffuse comme si elle était solidaire de la bicouche. L'expression **(B-8)** doit alors tendre vers l'expression **(3)**. Cette limite impose le rapport $c/a \sim 2/3$. On en déduit le rapport $c/b \sim 2/3$. On obtient finalement :

$$D = \frac{D_0}{1 + \frac{2 \alpha \delta \beta(R)}{3 R \left(\frac{2 \alpha \delta \beta(R) h}{3 R^2} + 1 \right)}} \quad (\text{B-9})$$

¹¹² A. Einstein, Annalen der Physik, 1905

Ce modèle très simple permet une description de l'influence de la viscosité finie d'une bicouche de tensioactifs.

II - Echanges de dopant entre la membrane et le solvant / adsorption-désorption

Pour des molécules possédant une affinité pour la membrane et le solvant, la variation des propriétés de diffusion peut être décrite comme résultant d'un équilibre chimique entre deux populations : une fraction des molécules dopantes étant dans l'eau et l'autre étant dans la membrane ou liée à la membrane. La figure B-2 illustre ces deux mécanismes.

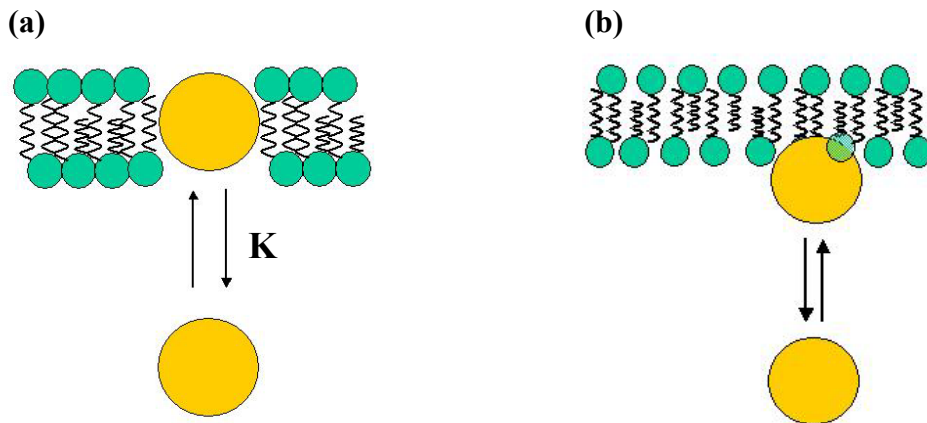


Figure B-2. Mécanisme d'échange (a) ou d'adsorption/désorption (b) de la particule entre le solvant et la membrane.

Le coefficient de diffusion d'une particule de petite taille dans une membrane est bien plus faible que celui de la même particule dans l'eau. On peut alors distinguer deux cas :

- Si le temps caractéristique d'échange entre la membrane et le solvant est supérieur au temps d'une expérience de FRAP (~1-5 s), le profil de FRAP sera la superposition des profils correspondant aux deux coefficients de diffusion.
- Si ce temps est plus court que le temps d'acquisition, le coefficient de diffusion sera un coefficient moyen qui peut s'écrire :

$$D = \frac{D_F (d - \delta)}{d \left(1 + \frac{\delta (K - 1)}{d} \right)} + \frac{K D_m \delta}{d \left(1 + \frac{\delta (K - 1)}{d} \right)} \quad (\text{B-10})$$

Avec D_F le coefficient de diffusion de l'espèce dans la partie aqueuse de la phase lamellaire donné par l'expression (4), D_m le coefficient de l'espèce dans la bicouche, δ l'épaisseur de la bicouche, d le pas smectique et K la constante d'échange entre la molécule en solution et la molécule insérée dans la membrane. Une valeur de K élevée révèle alors une forte affinité pour la membrane. Cette expression est valable dans le cas d'une pénétration d'une partie des molécules dopantes dans la membrane et dans le cas d'un mécanisme d'adsorption/désorption. L'expression (B-10) n'est valable que pour les dilutions pour lesquelles $d > 2R_H$. Aux faibles dilutions ($d < 2R_H$), le dopant dans la phase de solvant sera coincé, de part et d'autre, par les bicouches et le coefficient de diffusion sera défini par l'expression (3).

III – Diffusion anisotrope : anisotropie de la particule, influence de la plasticité des couches

1) Diffusion d'une particule anisotrope

Les molécules utilisées, en particulier les protéines, sont des objets relativement complexes du point de vue de leur structure. En tout état de cause, ce ne sont pas des sphères parfaites mais des objets plus ou moins anisotropes. Le confinement induit par la présence des parois peut avoir pour conséquence d'orienter ces molécules. L'effet de cette orientation sera la réduction du rayon effectif de la particule pour son interaction avec la membrane. La figure B-3 illustre ce phénomène.

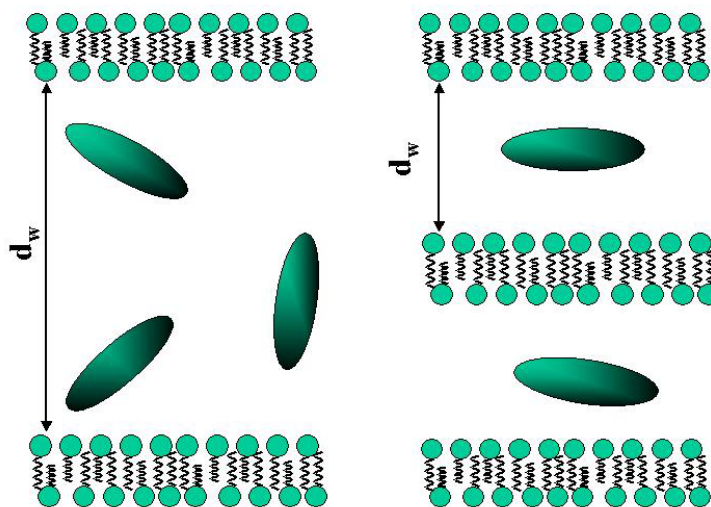


Figure B-3. Orientation d'une particule anisotrope induite par le confinement.

Les propriétés de diffusion d'une particule anisotrope diffusant entre deux plans solides peuvent être décrites, en première approximation, par l'expression suivante :

$$D = D_0 \left(1 - 2 \frac{R_f}{d_w} \right) \quad (\text{B-11})$$

Avec R_I le rayon d'interaction de la particule avec les parois (dans le cas d'une ellipsoïde c'est le rayon mineur) et D_0 le coefficient de diffusion de l'espèce en solution défini par l'expression (2) (chapitre II partie B).

On peut généraliser le raisonnement présenté ci-dessus sur l'influence de la fluidité des bicouches au cas d'une particule anisotrope. L'expression du coefficient de diffusion devient :

$$D = \frac{D_0}{1 + \frac{2}{3} \frac{\alpha \delta \beta(R)}{R_H \left(1 + \frac{2}{3} \frac{\alpha \delta \beta(R) \left(\frac{1}{2} d_w - R_I \right)}{R_I^2} \right)}} \quad (\text{B-12})$$

Cette expression doit rendre compte de l'influence de l'anisotropie d'une particule sur l'évolution de ses propriétés de diffusion en fonction du confinement.

2) Plasticité des bicouches

Les bicouches de tensioactifs sont des membranes flexibles. La conséquence de cette flexibilité est qu'une particule diffusant à proximité d'une membrane crée une force qui va déformer la membrane localement (voir figure B-4). Cette déformation augmente la distance entre le mur et l'objet et réduit donc la dissipation visqueuse liée au cisaillement du solvant. Si le calcul exact du terme correctif au coefficient de diffusion dépasse le cadre de ce travail, on notera cependant que l'effet dominant doit être la réduction du rayon effectif de la particule, relativement au modèle de Faxen, dans son interaction avec la paroi. Finalement le comportement de la particule doit être proche de celui d'une particule anisotrope.

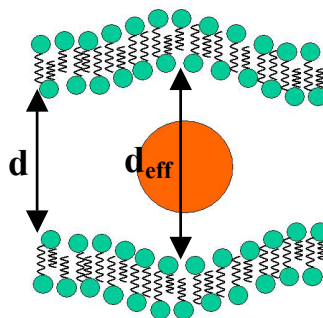


Figure B-4. Déformation des bicouches au voisinage d'une particule.

3) Conclusion

On voit clairement que les systèmes étudiés sont bien plus complexes que le système modèle d'une sphère indéformable entre deux plans solides. Il est cependant possible de modéliser, de manière semi-quantitative, l'influence de différents paramètres sur les propriétés de diffusion d'une espèce dopante. L'objectif de cette étude n'est donc pas une compréhension totale des phénomènes mis en jeu dans la diffusion d'une molécule dans une phase lamellaire mais simplement de tenter de mettre en évidence quelques caractéristiques de cette diffusion en fonction de l'épaisseur de la couche de solvant.

IV - Influence des fluctuations de position des membranes

Les fluctuations de position des membranes sont excitées thermiquement. Elles sont notamment responsables de la portée limitée de l'ordre smectique. L'influence de ces fluctuations sur la diffusion d'un dopant peut être prise en compte en considérant que les molécules dopantes évoluent entre deux plans dont l'espacement est variable (figure B-5).

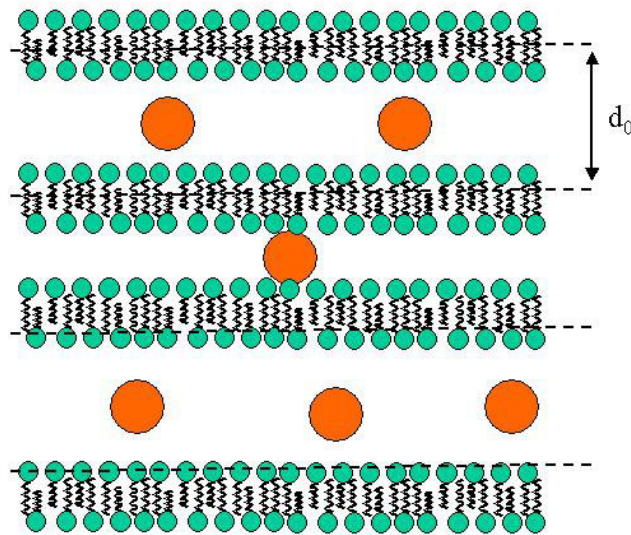


Figure B-5. Illustration de l'influence des fluctuations de positions des bicouches sur les propriétés de diffusion d'un dopant dans une phase lamellaire.

On peut évaluer la probabilité pour que deux bicouches soient localement espacées d'une distance d connaissant la période smectique moyenne d_0 . L'énergie libre du smectique présente un minimum correspondant au pas smectique moyen. Au voisinage de ce minimum, le module de compressibilité à potentiel chimique constant peut s'écrire ¹¹³ :

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial d^2} v(d) \right)_{d_0} = \bar{B} \quad (\text{B-13})$$

¹¹³ Nallet et al., J. Phys. II France, 4, 1994, 1477

Avec \bar{B} le module de compressibilité du smectique à potentiel chimique constant défini au chapitre I, $v(d)$ l'énergie par unité de surface du smectique.

Le coût énergétique d'un déplacement d'une bicouche par rapport à sa position de référence, peut alors s'écrire comme ¹¹⁴:

$$V = \frac{\xi^2 \bar{B} (d - d_0)^2}{d_0} \quad (\text{B-14})$$

Avec ξ une longueur caractéristique. Connaissant l'expression de \bar{B} , on peut exprimer la probabilité, pour une particule diffusant dans la phase lamellaire, de se trouver dans une zone dans laquelle l'écart entre deux bicouches est égal à $d \neq d_0$ connaissant le pas smectique moyen d_0 . On a :

$$P(d)_{d_0} = e^{\left(-\frac{\alpha^2 (d - d_0)^2}{d_0^4} \right)} \quad (\text{B-15})$$

Avec α une constante pour un système donné. Le coefficient de diffusion effectif mesuré grâce à la technique de FRAP peut alors être exprimé comme la valeur moyenne des coefficients de diffusion d'un grand nombre de particules diffusant dans un environnement hétérogène :

$$D_{\text{eff}} = \frac{\int_{2R}^{\infty} P(d)_{d_0} D(d)}{\int_{2R}^{\infty} P(d)_{d_0}} \quad (\text{B-16})$$

Avec R une longueur de coupure qui doit être proche du rayon de la particule. Cette expression permet de rendre compte de manière simple de l'influence des fluctuations de positions des bicouches dans un smectique sur la diffusion d'une particule. La valeur de la constante α peut varier d'un système à l'autre.

¹¹⁴ On considère ici les fluctuations de positions d'une bicouche entière

Partie II

Transition smectique - cholestérique dans
un mélange de molécules amphiphiles

Chapitre I : Introduction générale, description du système

I - Etats de la matière, symétries et transitions de phases

1) Mésophases

Le passage entre l'état liquide (isotrope) et l'état cristallin n'est, pour certains matériaux, pas direct¹¹⁵. Entre ces deux états apparaissent des phases dites « cristal liquides », ou mésophases, caractérisées par un degré d'organisation plus important que celui de l'état isotrope mais plus faible que celui de l'état cristallin. Ce degré d'organisation peut notamment être exprimé en terme de brisure de symétries. En effet, l'état liquide est caractérisé par son invariance par rapport à certaines transformations : translations, rotations, projections par rapport à un plan donné... A mesure que le système s'organise, par exemple en descente de température, il perd certaines de ces propriétés d'invariance. On peut illustrer ces transformations en prenant l'exemple d'une phase de molécules allongées (ellipsoïdes de révolution) :

- Dans la phase isotrope (I : figure I-1 (a)), les molécules sont désorganisées et peuvent prendre toutes les orientations et toutes les positions de l'espace avec la même probabilité.
- Dans la phase nématique (N : figure I-1 (b)), les molécules sont alignées les unes par rapport aux autres selon une direction définie par le directeur \mathbf{n} . Le système n'est alors plus invariant au regard de certaines rotations ; celles autour d'un axe perpendiculaire à \mathbf{n} . Il reste néanmoins invariant au regard de toutes les translations.
- Dans la phase smectique A (Sm A : figure I-1 (c)), les molécules s'organisent en couches parallèles entre elles, en conservant un ordre liquide dans le plan perpendiculaire à la direction d'empilement. Les molécules sont orientées selon l'axe d'empilement. Cette phase n'est plus invariante par rapport à toutes les translations mais seulement pour des translations discrètes (d'un multiple du pas smectique) le long de l'axe d'empilement.
- Dans la phase smectique C (Sm C : figure I-1 (d)), les molécules sont inclinées selon une direction donnée par rapport à l'axe d'empilement smectique. Cette phase possède une symétrie plus basse que celle de la phase smectique A car l'orientation des molécules privilégie un axe particulier en plus de l'axe d'empilement.

¹¹⁵ P. M. Chaikin et T.C. Lubensky, Principles of Condensed Matter Physics, Cambridge University Press, 1995

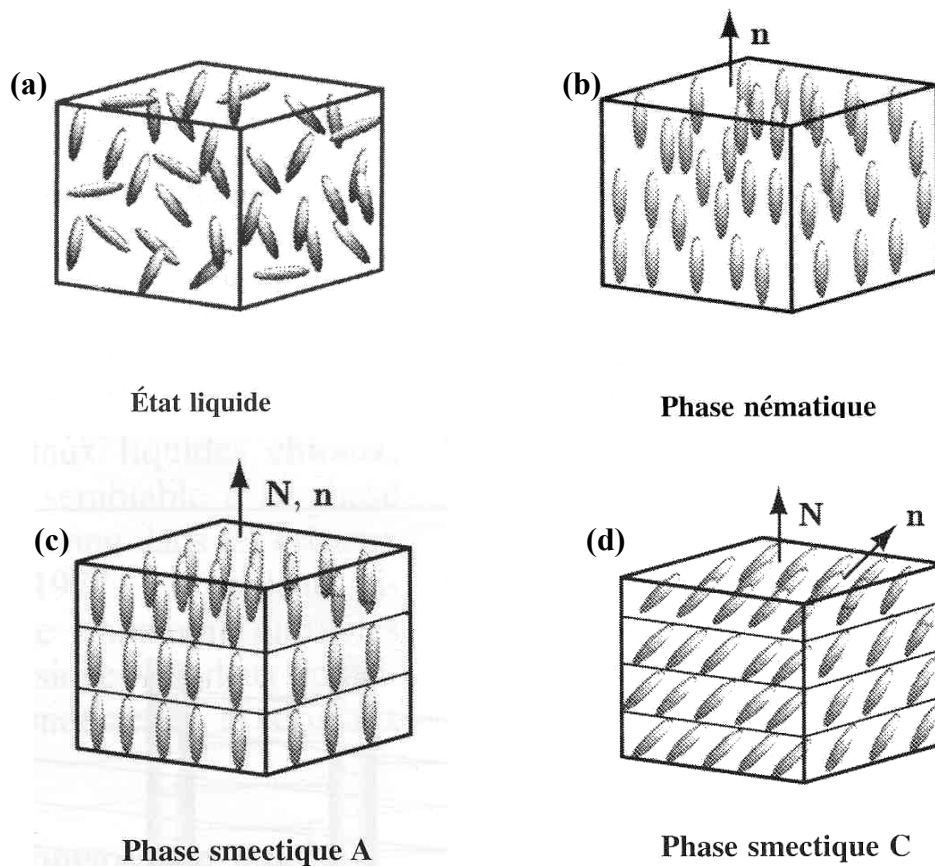


Figure I-1. (a) Phase liquide (isotrope), (b) phase nématique, (c) smectique A, (d) smectique C.

2) Transition de phase

Le passage d'un système d'un état à un autre état possédant des propriétés d'invariances différentes est appelé transition de phase. Une transition de phase se caractérise par son ordre. Une transition est dite du premier ordre si elle est discontinue. Elle est du second ordre si la transition est continue. En pratique, on définit pour chaque transition un paramètre d'ordre. Ce dernier doit être nul dans l'une des phases et non nul dans l'autre. La variation du paramètre d'ordre se fait de manière continue pour une transition de phase du second ordre et de manière discontinue pour une transition du premier ordre.

3) Phase cholestérique

Si l'on ajoute à une phase nématique un excès de l'un des deux énantiomères d'un composé chiral (optiquement actif), on obtient une phase cholestérique (N^*). La structure de cette dernière est, localement, identique à celle de la phase nématique (pas d'ordre de position, ordre d'orientation selon une direction privilégiée). Cependant, à plus grande échelle, on observe une rotation continue du directeur nématique \mathbf{n} autour d'un axe : l'axe cholestérique \mathbf{P} (figure I-2). La distance sur laquelle le directeur a tourné de 2π est appelée pas cholestérique (P_0). Cette distance est typiquement de l'ordre du micron.

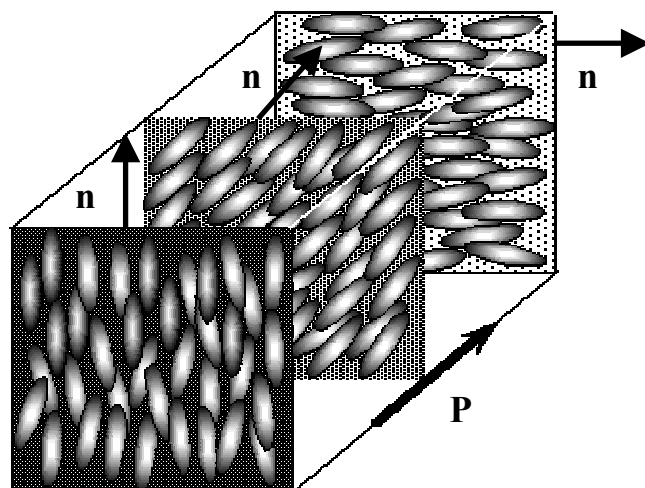


Figure I-2. Représentation schématique d'une phase cholestérique. La structure locale est celle d'un nématique. A plus grande échelle, la phase se caractérise par une rotation de 2π , sur une distance P_0 , du directeur le long d'un axe privilégié (P).

En tout état de cause, la phase nématique et la phase cholestérique n'ont pas les mêmes propriétés d'invariance. Ce sont deux phases distinctes. Cependant, compte tenu de l'organisation locale de la phase cholestérique, cette dernière est souvent appelée phase nématique torsadée.

4) Cristaux liquides lyotropes

Les différentes phases décrites ci-dessus correspondent à des organisations possibles des molécules d'un matériau pur. Le cas des cristaux liquides lyotropes, pour lesquels deux espèces chimiques au moins sont mélangées (tensioactif et solvant), doit être examiné avec précaution. Des différences de comportement importantes sont attendues entre les cristaux liquides thermotropes et les systèmes lyotropes. Pour autant certaines phases découvertes dans les thermotropes ont un équivalent indiscutable dans les systèmes lyotropes. En particulier, la phase L_α des systèmes lyotropes possède les mêmes symétries (couches fluides et empilement unidirectionnel) que la phase smectique A des systèmes thermotropes (elle est par contre composée de deux constituants). Pour cette raison la phase L_α est appelée phase smectique lyotrope.

II - Défauts dans les phases lamellaires

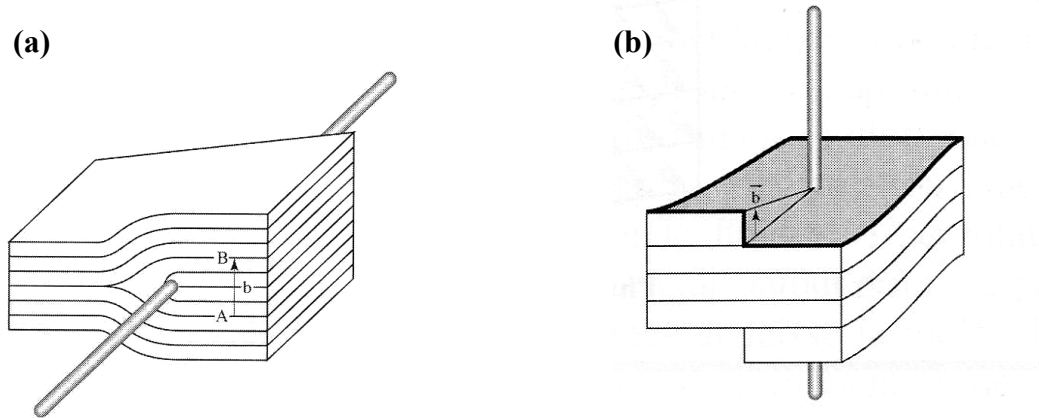
1) Dislocations vis et coin

La présence de défauts structuraux dans les systèmes organisés est attestée par de nombreuses études. Ils sont caractérisés par une singularité du paramètre d'ordre et peuvent être ponctuels ou linéaires (dislocations).

Dans les phases smectiques possédant un ordre liquide dans le plan des couches, les défauts existants sont linéaires¹¹⁶, i.e. ils correspondent à des lignes de singularités. Les deux types de défauts linéaires compatibles avec un réseau unidimensionnel sont les dislocations coins (fig. II-1 (a)) et les dislocations vis (fig. II-1 (b)). Ces défauts peuvent être construits géométriquement par le processus de Voltera qui consiste à découper le smectique selon un

¹¹⁶ M. Kleman, Points, Lines and Walls in Anisotropic Fluids and Ordered Media, Wiley, 1983

demi plan et à effectuer une translation de l'une des parties limitées par ce dernier de n couches (avec n entier) dans la direction d'empilement des couches. Selon que la coupe se fait dans le plan des couches ou perpendiculairement à celui-ci, la dislocation sera, respectivement, de type coin ou de type vis. Le nombre n définit la force du défaut, ou vecteur de Burgers \mathbf{b} , et on a $|\mathbf{b}| = nd$, avec d la périodicité smectique du système. Le vecteur de Burgers est orienté selon l'axe d'empilement des couches.



processus de Voltera. (b) Dislocation vis de vecteur de Burgers 1 dans un smectique construite par le processus de Voltera.

2) Défauts dans les phases smectiques lyotropes

Pour les smectiques lyotropes la « zoologie » des défauts possibles est un peu plus grande du fait de l'existence de deux milieux (solvant et membrane). La figure II-2 présente quelques représentations microscopiques de défauts possibles dans les smectiques lyotropes : passage, pont, pore, dislocation vis. Dans la phase L_α ces défauts vont, selon leurs géométries, connecter alternativement soit la phase de solvant, soit la phase de tensioactif, soit les deux phases simultanément.

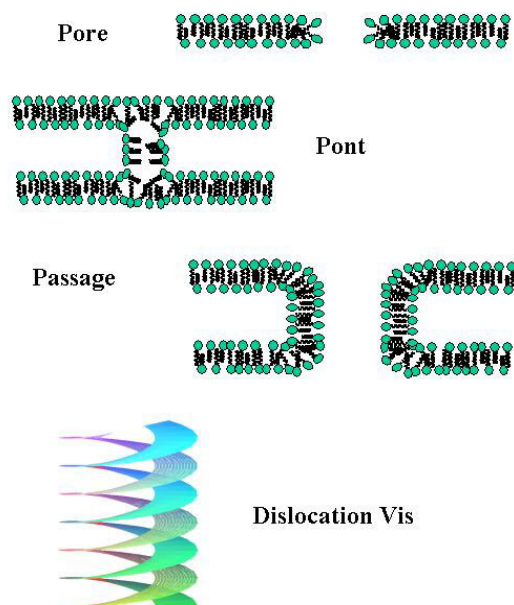


Figure II-2. Différents types de défauts possibles dans les systèmes lyotropes. Ces défauts connectent alternativement, l'eau (pore), les lipides (pont), ou les deux phases (passages ou dislocation vis). Ces défauts doivent également modifier le pas de la phase lamellaire : l'augmentant dans le cas des ponts, le diminuant dans le cas des pores, des passages ou des dislocation vis.

On notera en particulier que, pour des dislocations vis de vecteurs de Burgers 2, deux descriptions microscopiques sont compatibles avec la description géométrique du défaut : le type « escalier de Chambord » et le type « poignée vis » (figure II-3).

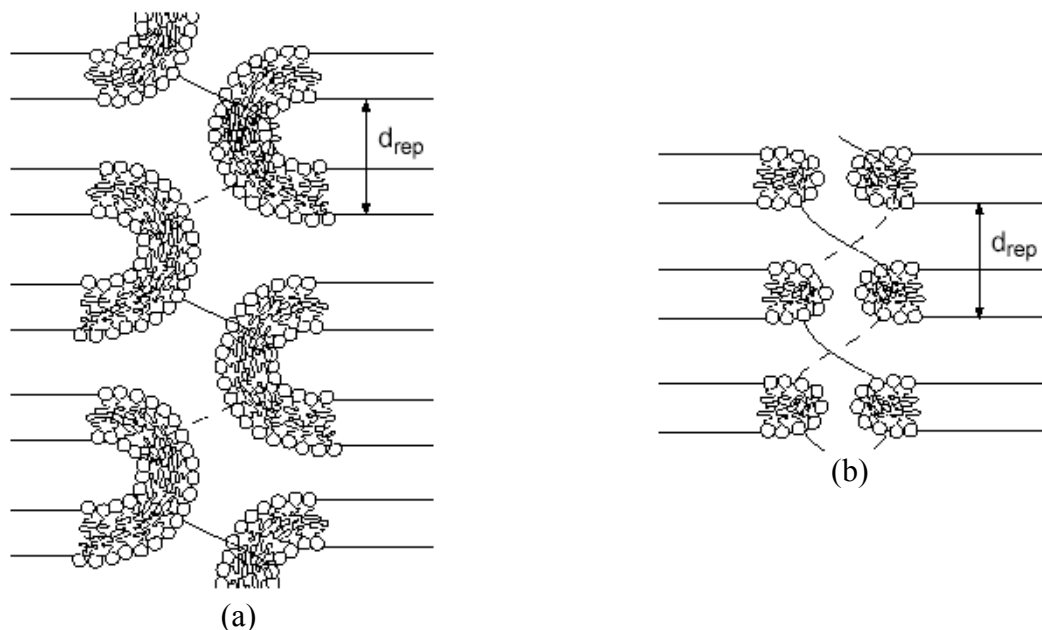


Figure II-3. Deux modèles microscopiques de dislocations vis de vecteur de Burgers 2 (a) Type « poignée vis ». Dans cette description, la dislocation est construite à partir d'une seule hélice supportant deux membranes. (b) Type « escalier de Chambord ». La dislocation vis est alors constituée de deux hélices imbriquées. Le choix de l'un ou l'autre des scénarii dépend des propriétés de courbure spontanée de la bicouche.

Dans les phases lyotropes, les dislocations vis ont un cœur aqueux¹¹⁷. Il existe également dans ces systèmes des dislocations coins.

3) Défauts à l'équilibre thermodynamique

Dans la majorité des cas, les défauts décrits ci-dessus apparaissent du fait de l'application d'une contrainte extérieure (bords de lamelle, déformation imposée...). Ces défauts ne sont alors pas excités thermiquement et doivent être vus comme des défauts de texture¹¹⁸.

Dans certains systèmes, ces défauts apparaissent spontanément au sein de l'échantillon. Ils sont alors à l'équilibre thermodynamique. De tels défauts sont excités thermiquement aléatoirement au cours du temps. Ils peuvent apparaître en grand nombre à l'approche de certaines transitions de phase et sont souvent considérés comme responsables de ces dernières^{119, 120, 121}. C'est de ce type de défauts dont il est question dans ce qui suit.

¹¹⁷ R. D. Kamien et T. C. Lubensky, J. Phys. II France, 7, 1997, 157-163

¹¹⁸ Comme les coniques focales ou les stries huileuses des phases lamellaires qui sont des organisations particulières de défauts de texture microscopiques

¹¹⁹ R. Strey & al. Langmuir, 6, 1990, 1635-1639

¹²⁰ S.L. Keller, Phys. Rev. Lett., 78 (25), 1997, 4781

¹²¹ D. Constantin & P. Oswald, Phys. Rev. Lett., 85 (20), 2000

III - Analogie entre la transition conducteur normal- supraconducteur dans les métaux et la transition nématique-smectique A dans les cristaux liquides

La transition de phase smectique-nématique a fait l'objet d'un important travail expérimental et théorique au cours des trente dernières années. Il est intéressant, pour une bonne compréhension du prochain chapitre, de se familiariser avec les principaux concepts qui ont émergés de ces travaux. Pour la plupart, ils sont issus d'une analogie entre la transition conducteur normal - supraconducteur en présence d'un champ magnétique et la transition smectique-nématique en présence de chiralité. Après un très bref rappel sur les supraconducteurs, l'analogie est décrite rapidement. Un certain nombre de conséquences de cette dernière sont ensuite abordées.

1) Transition conducteur normal – supraconducteur en présence d'un champ magnétique extérieur

On distingue deux types de supraconducteurs selon le comportement d'un matériau en présence d'un champ magnétique extérieur. Ce comportement est dicté par le paramètre de Ginzburg, $K=\lambda/\xi$, avec λ la longueur de London (longueur de pénétration d'un champ magnétique extérieur) et ξ la longueur de cohérence du paramètre d'ordre. Selon que K est inférieur ou supérieur à une valeur seuil, $1/\sqrt{2}$, le supraconducteur sera de type I ou II respectivement. Les matériaux de type I ont une transition conducteur normal – supraconducteur du premier ordre (figure III-1 (a)). Les matériaux de type II ont deux transitions du second ordre entre l'état supraconducteur et l'état conducteur normal (figure III-1 (b)). Entre ces deux transitions apparaissent alternativement les phases dites d'Abrikosov ^{122, 123} caractérisées par l'existence de vortex, organisés ou non, perméables au champ magnétique au sein d'un matériau par ailleurs supraconducteur.

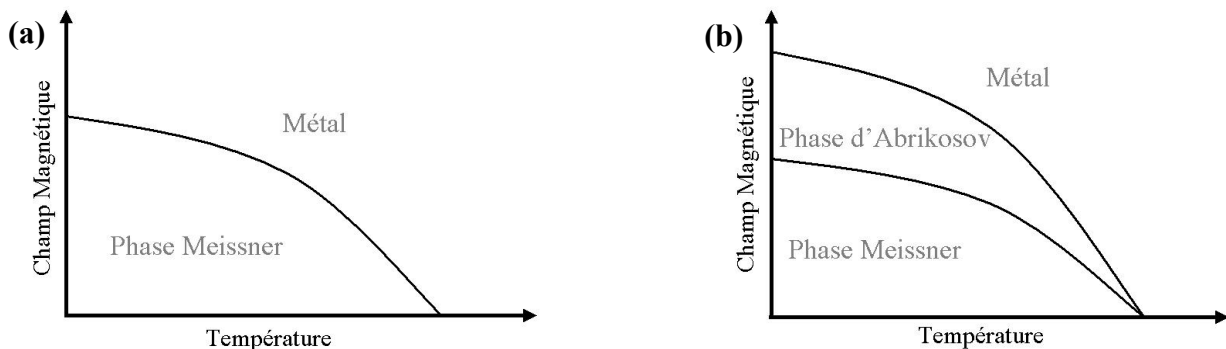


Figure III-1. (a) Diagramme de phase schématique de la transition conducteur normal –
– conducteur normal est du premier ordre.

Diagramme de phase schématique de la transition conducteur normal – supraconducteur en présence d'un champ magnétique pour un matériau de type II ($K > 1/\sqrt{2}$). La phase intermédiaire (Abrikosov) est un état mixte caractérisé par la pénétration des lignes de champ magnétique à travers des vortex.

¹²² A. A. Abrikosov, Zh. Eksp, Teor, Fiz. 32, 1957, 1442

¹²³ A. A. Abrikosov, Sov. Phys.- JETP 5, 1957, 1174

2) Analogie entre la transition conducteur normal- supraconducteur dans les métaux et la transition nématique-smectique A dans les cristaux liquides

Cette analogie a été établie par P.G. de Gennes en 1972¹²⁴. Après une brève introduction sur les origines de cette analogie, nous nous intéresserons à décrire les conséquences de cette dernière sur les propriétés de la transition smectique - cholestérique.

a) Paramètre d'ordre de la transition

La transition de phase nématique - smectique A implique l'apparition d'un ordre lamellaire. Cette transformation conduit à une brisure de symétrie de translation entre la phase nématique, qui est invariante par rapport à toutes les translations, et la phase smectique, qui n'est invariante que pour des translations discrètes (multiples du pas smectique d) dans la direction perpendiculaire aux couches.

Le paramètre d'ordre de la transition doit être invariant par rapport à toutes les transformations laissant invariante la phase de symétrie la plus basse¹ (i.e. la phase smectique). De plus, il doit être nul dans l'une des phases et non-nul dans l'autre. Il s'écrit finalement sous la forme d'une fonction complexe :

$$\Psi(\mathbf{r}) = \Psi_0(\mathbf{r}) \exp(i\phi(\mathbf{r})) \quad (1)$$

Où le terme $\phi(\mathbf{r})$ représente la modulation périodique de densité dans le système.

Le paramètre d'ordre de la transition conducteur normal-supraconducteur (densité de paires de Cooper) s'écrit exactement sous la même forme.

b) « Effet Meissner » dans une phase smectique A

Par définition, dans une phase Sm A, le directeur \mathbf{n} est confondu avec la normale aux couches. On peut décrire toute déformation du smectique par un gradient de la phase ϕ du paramètre d'ordre. Cette déformation peut s'écrire :

$$\delta\mathbf{n} = d/2\pi \nabla\phi \quad (2)$$

On a donc :

$$\nabla\wedge\delta\mathbf{n} = 0 \quad (3)$$

La phase Sm A n'admet donc pas de déformation pour lesquelles $\nabla\wedge\delta\mathbf{n} \neq 0$ et par conséquent la torsion des couches ($\mathbf{n}\cdot\nabla\wedge\delta\mathbf{n} \neq 0$) ou les déformations de courbure nématique (de type « bend » : $\mathbf{n}\wedge(\nabla\wedge\delta\mathbf{n}) \neq 0$). Dans la phase nématique en revanche, tous les types de torsions sont acceptés.

Pour la transition conducteur normal-supraconducteur, on remarque que, par définition, l'expression d'un champ magnétique est de la forme :

$$\mathbf{B} = \nabla\wedge\mathbf{A} \quad (4)$$

¹²⁴ P.G. de Gennes, Solid State. Comm., 10, 1972, 753

¹ P. M. Chaikin et T.C. Lubensky, Principles of Condensed Matter Physics, Cambridge University Press, 1995

Où \mathbf{A} est le potentiel vecteur. De plus, le champ magnétique doit s'annuler à l'intérieur du supraconducteur. L'expression du potentiel vecteur est donc :

$$\mathbf{A} = \hbar/q \nabla\phi(\mathbf{r}) \quad (5)$$

Où $\phi(\mathbf{r})$ est la phase du paramètre d'ordre de la transition conducteur normal-supraconducteur, q est la charge et \hbar est la constante de Planck. Le potentiel vecteur peut donc être vu comme l'analogie de la déformation de courbure d'une phase smectique A et l'expulsion des lignes de champ magnétique par un matériau supraconducteur est analogue à l'expulsion de la torsion et de la courbure dans la phase smectique A.

c) Dislocation vis dans les smectiques, vortex dans les supraconducteurs

Si l'on considère une dislocation vis dans un smectique A d'une part et un vortex dans un matériau supraconducteur d'autre part, la distribution de la phase du paramètre d'ordre, $\phi(\mathbf{r})$, est la même autour du défaut (variation de 2π autour du défaut). De plus le paramètre d'ordre s'annule au cœur du défaut pour les deux systèmes. Enfin une forte analogie existe entre l'expression de l'inclinaison i du directeur par rapport à la normale aux couches près du cœur du défaut et le courant j dans les vortex de supraconducteurs¹²⁵. Cette inclinaison est, dans la phase smectique A, dictée par la longueur de pénétration de la torsion qui est alors analogue à la longueur de pénétration d'un champ magnétique extérieur dans un matériau supraconducteur.

d) Effet de la chiralité sur une phase nématique

Si l'on rajoute un excès de l'un des deux énantiomères d'un composé optiquement actif (chiral) dans une phase nématique, on obtient une phase cholestérique, aussi appelée phase nématique torsadée (les deux phases sont localement très semblables, seule la torsion macroscopique permet de les différencier). Cette dernière est caractérisée par une rotation de 2π , sur une distance P_0 , du directeur le long d'un axe privilégié. Le coût énergétique de tout écart à la valeur d'équilibre de cette torsion peut-être décrit par l'énergie de Frank. Ce terme est analogue à la correction de l'énergie de la transition conducteur normal - supraconducteur en présence d'un champ magnétique extérieur.

La chiralité dans les cristaux liquides nématogènes est alors l'analogie du champ magnétique dans les matériaux supraconducteurs.

e) Energie libre de la transition smectique-nématique

C'est à partir de ces analogies fortes que P.G. de Gennes a construit une densité d'énergie libre pour la phase smectique A à l'approche de la transition smectique – cholestérique en présence de chiralité.

Sans entrer dans trop de détails, l'expression obtenue présente des analogies marquées avec l'énergie de Landau - Ginzburg¹²⁶ décrivant la transition conducteur normal - supraconducteur en présence d'un champ magnétique extérieur. On notera cependant que l'anisotropie du smectique induit quelques différences subtiles.

¹²⁵ P. Oswald et P. Pieranski, Les cristaux liquides, Tome II, Editions Scientifiques GB, 2002

¹²⁶ V. L. Ginzburg & L.D. Landau, Zh. Eksp. Teor. Fiz. 20, 1950, 1064

La phase smectique A est alors décrite comme l'analogie d'un supraconducteur anisotrope. Dans ces conditions les comportements prévisibles pour les supraconducteurs doivent pouvoir être transposés, au moins en partie, aux smectiques.

On notera cependant que cette analogie a des limites. En effet, si dans le cas des matériaux supraconducteurs le champ magnétique est une contrainte extérieure, dans le cas des cristaux liquides la chiralité est une propriété intrinsèque du matériau. Cette différence fondamentale explique pourquoi il n'y a pas d'équivalent à la lévitation d'un supraconducteur (qui est une réaction d'un supraconducteur à l'application d'un champ magnétique extérieur) dans les cristaux liquides.

IV - Conséquences sur la transition smectique - cholestérique

1) Smectiques de type I et de type II

En établissant cette analogie P.G. de Gennes remarquait qu'il devait exister deux types de phases smectiques. Par analogie avec les supraconducteurs, qui sont de type I ou de type II selon la valeur du paramètre de Ginzburg (K), de Gennes décrit deux comportements dans les smectiques selon la valeur de : $K=\lambda/\xi$ (avec λ la longueur de pénétration de la torsion et ξ la longueur de cohérence du paramètre d'ordre). La longueur de pénétration de la torsion, λ , dans un smectique A représente la distance sur laquelle le directeur est incliné par rapport à la normale aux couches en cas de distorsion imposée (au voisinage d'une dislocation vis par exemple). Les smectiques de type I ($K < 1/\sqrt{2}$) doivent présenter une transition smectique-cholestérique du premier ordre comme les supraconducteurs de type I (figure IV-1). Les smectiques de deuxième espèce (type II : ($K > 1/\sqrt{2}$)) doivent avoir deux transitions du second ordre avec, entre les deux transitions, un équivalent des phases de réseaux de flux d'Abrikosov (figure IV-1), i.e. un état mixte possédant une organisation des couches de type smectique et une torsion macroscopique de type cholestérique. En concluant son analogie, de Gennes remarquait que si une telle phase intermédiaire existait, elle devait apparaître dans une région du diagramme de phase proche de la phase smectique C. En effet λ , diverge à la transition Sm A - Sm C (dans la phase Sm C les molécules sont inclinées). Donc K diverge également et le système passe nécessairement type II à l'approche de la phase Sm C.

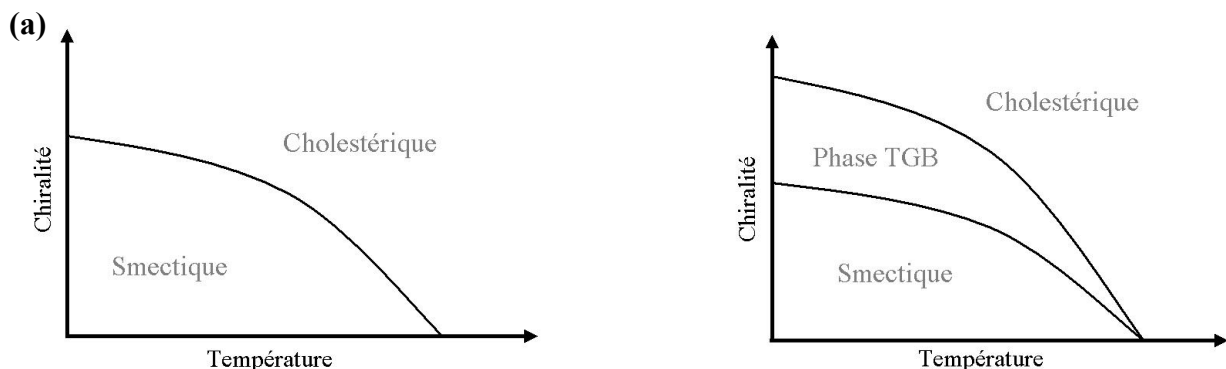


Figure IV-1. (a) Diagramme de phase schématique de la transition smectique – cholestérique pour un système de type I. La transition est du premier ordre. (b) Diagramme de phase schématique de la transition smectique – cholestérique pour un système de type II. L'état mixte (Twist Grain Boundary, noté TGB) est caractérisé par une torsion de type cholestérique et une organisation des couches smectique.

2) Phases à torsion par joint de grain (TGB : Twist Grain Boundary)

Presque vingt ans plus tard, Renn et Lubensky proposèrent une approche théorique de la structure de ces nouvelles phases¹²⁷. Nous avons souligné plus haut l'analogie existante entre les vortex dans les supraconducteurs et les dislocations vis dans les smectiques. L'hypothèse la plus simple est donc d'imaginer, comme dans les supraconducteurs de type II, un réseau de dislocations vis parallèles entre elles. Compte tenu de l'organisation en couches de la phase smectique, cette configuration est cependant interdite (voir figure IV-2).

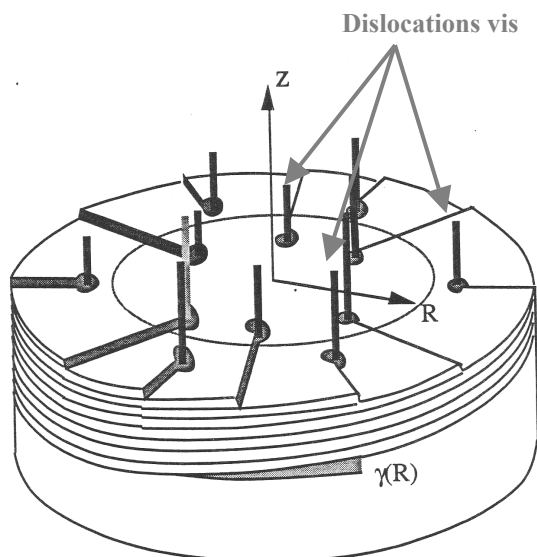


Figure IV-2. La disposition des dislocation vis en réseau triangulaire est interdite. En effet, dans cette configuration, l'inclinaison des plans smectiques par rapport au plan xy , caractérisée par l'angle γ , diverge avec la distance au centre, R . Les plans smectiques s'inclinent de plus en plus par rapport aux dislocations qui perdent donc leur caractère vis.

Les auteurs imaginent alors une structure formée de plans équidistants de dislocations vis parallèles entre elles au sein d'un plan (figure IV-3). Ces plans de dislocations, ou joints de grains, séparent des blocs smectiques. Les couches sont inclinées d'un bloc à l'autre comme l'illustre la figure IV-4. Ils appelèrent cette phase TGB pour Twist Grain Boundary (phase smectique à torsion de joints de grains). La découverte expérimentale des phases TGB est intervenue très rapidement après la prédiction de leur existence^{128, 129}. Depuis, plusieurs types de phases TGB ont été prédites théoriquement^{130, 131, 132} et identifiées expérimentalement¹³³.

¹²⁷ Renn & Lubensky, Phys. Rev. A, 38 (4), 1988, 2132

¹²⁸ J.W. Goodby et al., Nature (London), **337**, 1989, 449

¹²⁹ J.W. Goodby et al., J. Am. Chem. Soc., **111**, 1989, 8119

¹³⁰ T.C. Lubensky, S.R. Renn, Phys. Rev. A, **41**, 1990, 4392

¹³¹ S.R. Renn, T.C. Lubensky, Mol. Cryst. Liq. Cryst., **209**, 1991, 349

¹³² S.R. Renn, Phys. Rev. A, **45**, 1992, 953

¹³³ Voir ci-dessous

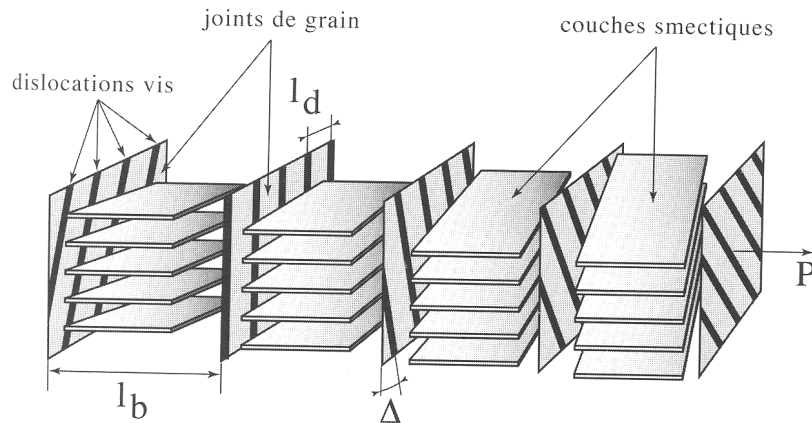


Figure IV-3. Représentation schématique d'une phase TGB. La phase smectique est découpée en blocs séparés par des plans de dislocations vis, les joints de grain. Les couches sont inclinées d'un bloc à l'autre d'un angle Δ (rotation autour de l'axe cholestérique (P), voir figure IV.4). Les joints de grain sont distants de l_b . Au sein d'un joint de grain, les dislocation vis sont séparées de l_d .

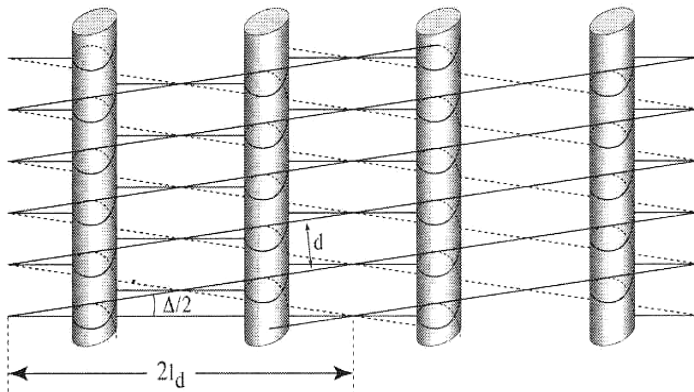


Figure IV-4. Parois de dislocations vis (Kléman). Les couches en avant de la feuille (traits pleins) sont inclinées d'un angle Δ par rapport aux couches en arrière (traits pointillés).

La disposition des dislocations vis adoptée dans la phase TGB est liée à la compétition entre deux frustrations. La première est liée à la structure en couche de la phase smectique qui proscrit un réseau triangulaire de dislocations parallèles qui serait préféré autrement. Les dislocations doivent être inclinées les uns par rapport aux autres pour satisfaire cette condition (figure IV-2). La seconde est la frustration cholestérique qui interdit l'existence d'une double torsion dans l'échantillon (figure IV-5). Cette frustration impose qu'un axe de torsion soit choisi aux dépens de l'autre et donc que les dislocations se rassemblent pour former des plans de dislocations vis parallèles, inclinés les uns par rapport aux autres, seul moyen de privilégier une orientation particulière.

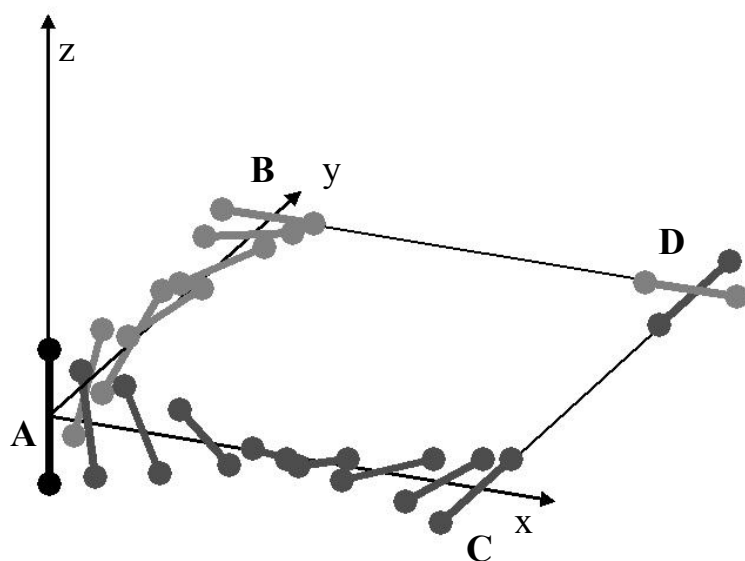


Figure IV-5. Représentation schématique de la frustration cholestérique. Si le système donnait satisfaction aux tendances locales des molécules à s'incliner sur les parcours AB et AC, deux orientations différentes devraient coexister au point D.

Différentes phases TGB ont été observées et prédites, en voici quelques unes :

- TGB_A : Au sein de chaque bloc smectique, la symétrie de la phase est de type smectique A¹³⁴.
- TGB_C : Au sein de chaque bloc smectique, la symétrie est de type smectique C¹³⁵.
- TGB_C* : Au sein de chaque bloc, la structure est celle d'un smectique C chiral¹³⁶.
- N_L* : Les dislocations vis ne sont plus organisées en plans mais forment un liquide bidimensionnel de défauts^{137, 138, 139, 140}. Cette dernière phase, si elle n'est pas une phase TGB au sens stricte du terme, reste un état intermédiaire entre la phase smectique et la phase cholestérique.

La figure IV-6 présente un diagramme de phase théorique calculé par S.R. Renn¹⁴¹ présentant certaines de ces phases et montrant leurs emplacements respectifs en fonction de la chiralité (C) et de la température (τ).

¹³⁴ J.W. Goodbye et al., Nature, 337, 1989, 449

¹³⁵ H.T. Nguyen et al., J. Phys. II France, 2, 1992, 1889

¹³⁶ M. Brunet et al., Eur. Phys. J. E, 7, 2002, 5-11

¹³⁷ Chan T et al., Phys. Rev. E, 52, 1995, 5000

¹³⁸ L. Navailles et al., J. Phys. II France, 6, 1996, 1243.

¹³⁹ L. Navailles et al., Phys. Rev. Lett., 81, 1998, 4168

¹⁴⁰ C. Ybert et al., Europhysics Letters, 63 (6), 2003, 840-845

¹⁴¹ S.R. Renn, Phys. Rev. A, 45, 2, 953 (1992)

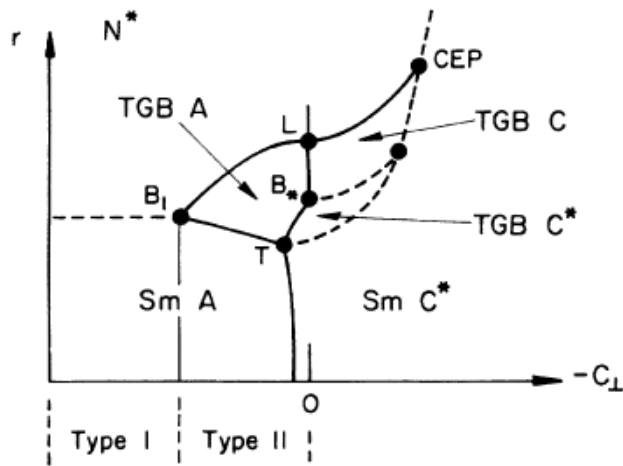
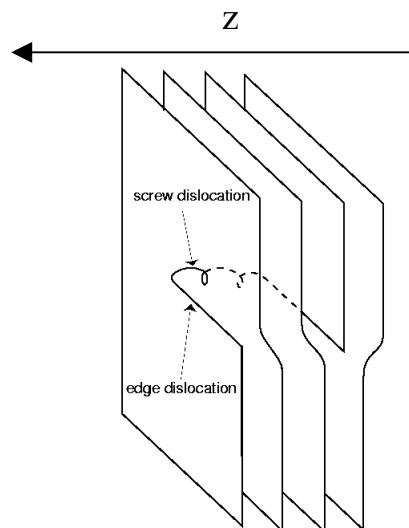


Figure IV-6. Diagramme de phase théorique montrant la disposition des différentes phases TGB.

3) Boucles de dislocations

Nous avons vu ci-dessus qu'un système de type smectique A expulse la torsion. Nous avons également vu qu'une densité de dislocations vis infinies créaient inévitablement une torsion (figure IV-2). Ces deux phénomènes ont une conséquence très importante sur les conditions d'existence de défauts, comme les dislocations vis et coins, à l'équilibre thermodynamique dans un smectique. Ces défauts ne peuvent être infinis. Pour des raisons topologiques¹⁴² ils sont alors contraints d'exister sous la forme de boucles de dislocations^{143, 144, 145} composées de deux dislocations vis de signes opposés et de deux dislocations coins, également de signes opposés (figure IV-7).



. Représentation schématique d'une boucle de dislocation. Elle est constituée de deux dislocations vis de signes opposés et de deux dislocations coins également de signes opposés.

¹⁴² Raccordement des couches au sein de l'échantillon

¹⁴³ M. Allain, J. Phys. France, 46, 1985, 225

¹⁴⁴ M. Allain, Europhys. Lett, 2, 1986, 597

¹⁴⁵ M. Allain et M. Kléman, J. Phys., 48, 1987, 1799

Dans la phase smectique il existe donc nécessairement autant de dislocations vis des deux signes. L'existence de ces boucles permet au système de conserver une torsion nulle à l'échelle macroscopique (la torsion est confinée à l'échelle d'une boucle de dislocations : typiquement λ). L'absence de déformation à longue portée rend l'énergie d'excitation d'un tel défaut relativement faible.

On notera pour finir que la représentation d'une boucle de dislocations donnée figure IV-7 est une représentation schématique. Il est en effet possible, que, du fait de l'entropie de mélange entre les dislocations de type vis et de type coin, une boucle de dislocation soit, en réalité, composée d'un nombre important de fragments, alternativement de type coin et vis.

L'hypothèse aujourd'hui dominante sur la nature de la transition smectique – nématique dans les cristaux liquides thermotropes est celle d'une transition induite par un débouclage des dislocations. En effet, avant Renn et Lubensky, d'autres auteurs se sont penchés sur la nature de la transition smectique-nématique. Deux travaux sont à retenir en particulier. Helfrich construisit un modèle microscopique de boucles de dislocations et quantifia les interactions entre ces objets¹⁴⁶. Nelson et Toner montrèrent comment une densité finie de dislocations coins et/ou vis infinies pouvait faire passer un système de smectique à nématique¹⁴⁷. Nous reviendrons sur ces travaux dans le second chapitre.

V - Introduction au système DMPC/C₁₂E₅/H₂O

1) Introduction

L'étude des propriétés des mélanges de lécithine/détergent est motivée par la très grande richesse des phases présentes dans les diagrammes de phase de ces systèmes. La nature et les propriétés des différentes transitions de phases observées ont fait l'objet d'un travail important au cours des vingt dernières années. En particulier, dans les phases composées de bicouches, de nombreuses études ont porté sur le rôle de défauts excités thermiquement dans ces transitions de phases.

L'idée à la base de ce travail est d'utiliser deux espèces, l'une préférant les interfaces planes, l'autre ayant une courbure spontanée fortement dépendante de la température pour contrôler la nucléation de défauts en faisant varier la température^{148, 149}. Pour cela, nous utilisons le DMPC et le C₁₂E₅. Dans leurs diagrammes de phases respectifs dans l'eau, les deux tensioactifs forment des bicouches mais celles-ci ont des propriétés très différentes. La membrane de DMPC (lécithine) est rigide avec une courbure spontanée quasi-nulle. Le C₁₂E₅ crée des membranes relativement flexibles et ayant une courbure spontanée fortement dépendante de la température. De plus la variation de courbure spontanée se fait, pour le C₁₂E₅, dans le sens contraire à celui habituellement observé pour les tensioactifs : la courbure spontanée augmente quand la température diminue (probablement du fait de la déshydratation des têtes polaires à haute température^{150, 151}). En mélangeant ces deux molécules, on s'attend donc à voir des comportements fortement dépendants de la température, des concentrations relatives des deux espèces et de la dilution.

¹⁴⁶ W. Helfrich, J. de Phys., 39, 1978, 1199

¹⁴⁷ D.R Nelson et J. Toner, Phys. Rev. B, 24, 1981, 363

¹⁴⁸ S. König & al. Nuovo Cimento D 16, 1994, 1585

¹⁴⁹ O. Dhez et al, Eur. Phys. J. E, 3, 2000, 377-388

¹⁵⁰ D. J. Mitchell et al., J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1, 79, 1983, 975

¹⁵¹ P. G. Nilsson et al., J. Phys. Chem, 87, 1983, 1377

La structure de la molécule de DMPC est représentée figure V-1 (a). Son diagramme de phase dans l'eau est rappelé figure V-1 (b)¹⁵². La molécule de DMPC est chirale puisqu'elle possède un carbone asymétrique. Une molécule est dite chirale si elle n'est pas superposable à son image dans un miroir. Cette molécule existe sous deux formes, appelées énantiomères – isomères de configuration -, symétriques par rapport à un plan. Le mélange en quantités égales des deux énantiomères est appelé mélange racémique. Un mélange contenant une quantité plus importante de l'un des deux énantiomères est dit non-racémique. Dans la suite, le DMPC racémique sera appelé DMPC_{rac} (1,2-Dimyristoyl-rac-glycero-3-phosphocholine DL-β,γ-Dimyristoyl-α-lecithin). Le DMPC non-racémique sera noté DMPC_{sn} (1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine DL-β,γ-Dimyristoyl-α-lecithin). La molécule de DMPC, lorsqu'elle est extraite de composés naturels, n'est présente que sous la forme d'un des deux énantiomères.

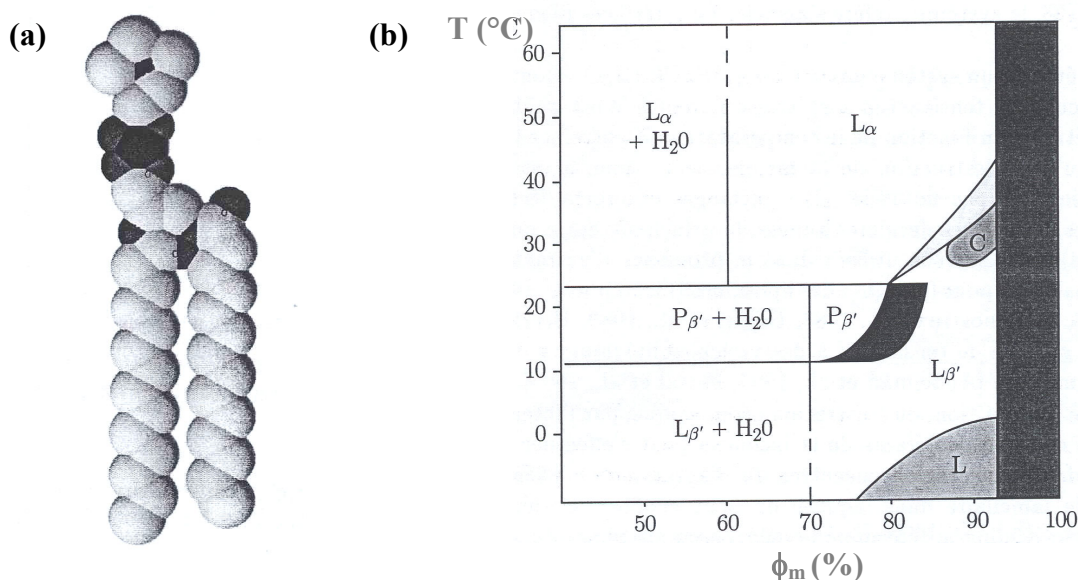


Figure V-1. (a) Structure de la molécule de DMPC ($C_{36}H_{72}NO_8P$). Elle est composée de deux chaînes carbonées hydrophobes et d'une partie hydrophile et est zwitterionique. Cette molécule est chirale. (b) Diagramme de phase du système DMPC/H₂O en fonction de la température.

La figure V-2 présente la structure de la molécule de C₁₂E₅ (Penta-ethyleneglycol mono n-dodecyl ether) (a) et son diagramme de phase dans l'eau¹⁵³ (b).

¹⁵² Janiak et al., J. Biol. Chem, 254, 1979

¹⁵³ R. Strey et al., J. Chem. Soc. Faraday Trans. 86, 1990, 2253

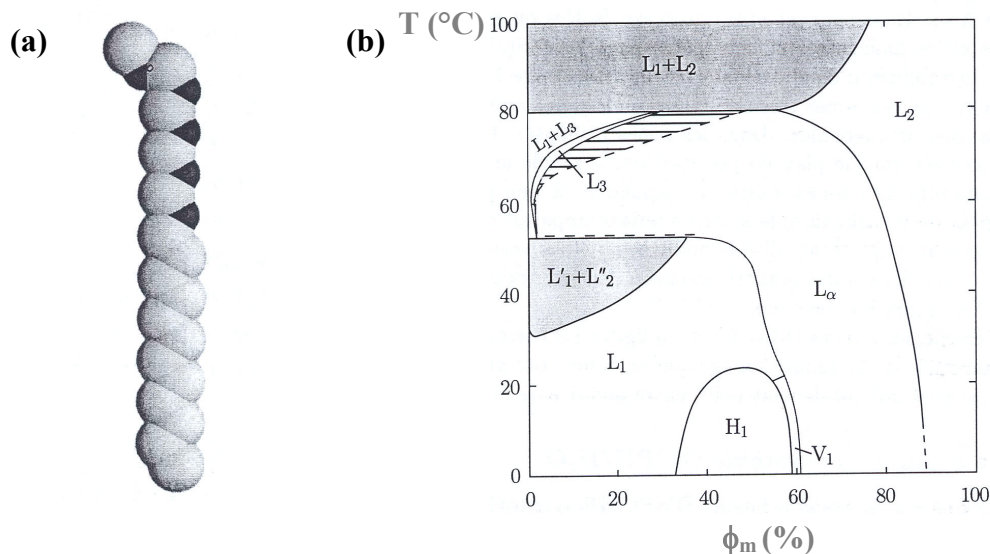


Figure V-2. (a) Structure de la molécule de $C_{12}E_5$. Elle est formée d'une chaîne carbonée et de cinq groupement PEG. Cette molécule ne porte pas de charge. (b) Diagramme de phase du système $C_{12}E_5/H_2O$. L_α : phase lamellaire ; H_1 : phase hexagonale ; V_1 phase cubique ; L_1 phase isotrope de micelles ; L_2 : phase isotrope de micelles inverses ; L_3 : phase éponge.

2) Diagramme de phases

Le diagramme de phase du système $C_{12}E_5/DMPC_{sn}/H_2O$ a été étudié par Sabine König au cours de son travail post-doctoral^{33, 34}. Ce diagramme de phase est partiellement présenté sur les figures V-3 et V-4. Il montre, entre autre, l'apparition d'une phase cholestérique pour un rapport molaire surfactant/lipide $R_{s/l} \sim 3.1$ et pour des fractions volumiques en membranes allant de $\phi_m=0.40$ à $\phi_m=0.29$ (figure V-4). L'utilisation de $DMPC_{rac}$ transforme la phase cholestérique en phase nématique sans par ailleurs modifier, au premier ordre, le diagramme de phase. Cette phase vient s'insérer entre la phase L_α et la phase L_β . On notera que la transition smectique-nématique se produit, en température, dans le sens opposé à celui habituellement observé. En effet, la phase qui possède la symétrie la plus basse (smectique) apparaît lorsque la température augmente. Le comportement inclusif singulier de la phase nématique en fait donc un candidat particulièrement intéressant pour l'étude de cette transition. En effet, si l'on peut concevoir que, pour la plupart des systèmes possédant une transition smectique-nématique, la destruction de l'ordre smectique est liée aux fluctuations thermiques, celles-ci ne peuvent être seules responsables dans le cas du système $C_{12}E_5/DMPC/H_2O$. A partir de cette constatation, Sabine Koenig avait émit l'hypothèse que cette transition pouvait être contrôlée par l'apparition de défauts.

³³ S. König & al. Nuovo Cimento D 16, 1994, 1585

³⁴ O. Dhez & al. Eur. Phys. J E 3, 2000, 377-388

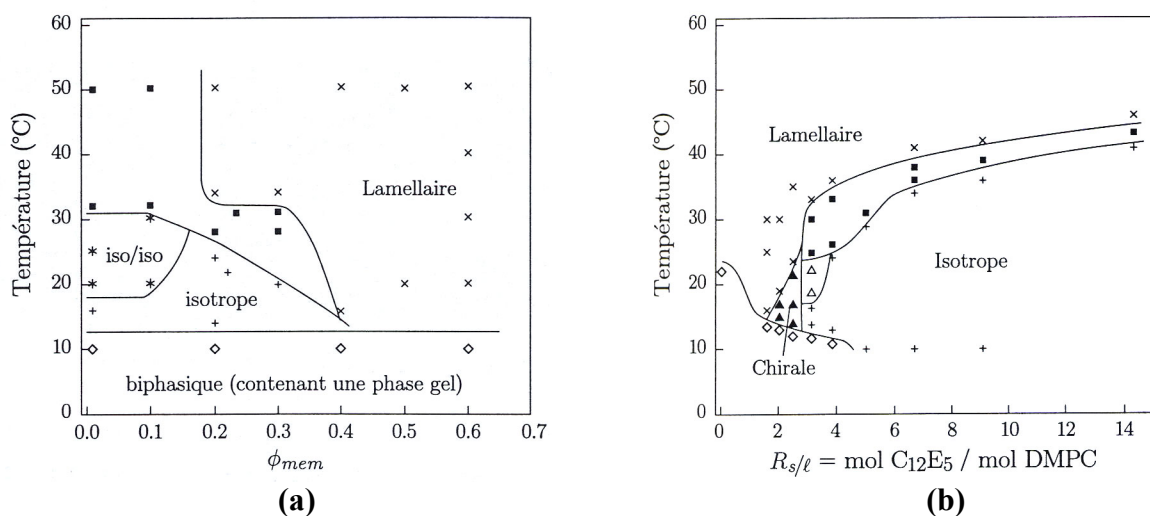


Figure V-3. (a) Coupe du diagramme de phase du système DMPCsn/C12E5/H2O à un rapport $R_{s/l} = 3.9$ ($R_{s/l} = \text{mol } C_{12}E_5 / \text{mol } DMPC_{sn}$), pour différentes fractions volumiques en membranes ϕ_m . (b) Coupe du diagramme de phase à $\phi_m = 0.3$ pour différents rapport $R_{s/l}$. \blacktriangle Phase chirale, $+$ phase isotrope, \times phase lamellaire, Δ biphasique isotrope chirale, \blacksquare biphasique isotrope lamellaire, $*$ biphasique isotrope/isotrope, \diamond biphasique contenant la phase L_β .

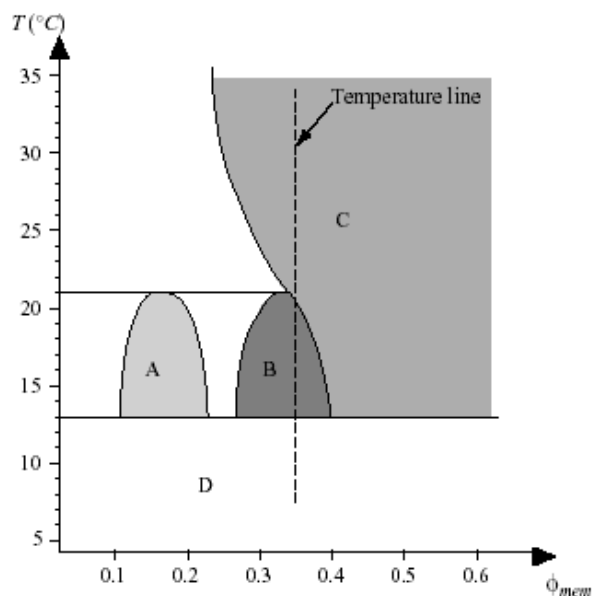


Figure V-4. Reproduction schématique du diagramme de phase $C_{12}E_5/DMPC/H_2O$ pour un rapport $R_{s/l} \sim 3.1$. ϕ_m est la fraction volumique en membrane. A : isotrope, B : nématique/cholestérique et C lamellaire (L_α^*). On notera le caractère inclusif de la phase nématique/cholestérique (N/N^*). La ligne pointillée représente la concentration étudiée par O. Dhez durant sa thèse.

3) Mise en évidence de défauts

Au cours de sa thèse, Olivier Dhez a étudié cette transition pour des échantillons à une fraction volumique en membrane $\phi_m = 0.35$ et un rapport molaire $C_{12}E_5/DMPC R_{s/l} = 3.1$ ^{154, 34, 155}. Cette étude, réalisée principalement en diffusion des rayons X ou des neutrons et en étudiant le diagramme d'orientation du système sous cisaillement, a permis de mettre en évidence l'apparition d'un nombre important de défauts possédant la symétrie de dislocations vis, probablement de vecteur de Burgers 2, dans la phase L_α à l'approche de la transition smectique-nématique. Un bref rappel du travail d'O. Dhez est présenté dans l'encart ci-après.

VI – Conclusion

L'objectif du travail qui suit est de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse de la formation de dislocations vis à l'approche de la transition smectique-cholestérique du système $DMPC/C_{12}E_5/H_2O$. Pour cela, l'idée est d'utiliser, dans un premier temps, le retour de fluorescence (FRAP) afin de suivre l'évolution des propriétés de diffusion de molécules marquées dans le système. En effet, l'apparition de ce type de défauts doit connecter les membranes et les couches aqueuses de la phase lamellaire et donc permettre une diffusion plus rapide dans la direction du directeur ($D_{//}$). En étudiant l'évolution du coefficient de diffusion parallèle en fonction de la température, on s'attend donc à voir une évolution entre une phase lamellaire sans défauts (à haute température) et une phase lamellaire possédant une forte densité de défauts à l'approche de la transition smectique-nématique.

Faisant l'hypothèse de l'influence de la géométrie des défauts sur les propriétés de diffusion, Doru Constantin et Patrick Oswald ont mis en évidence l'apparition de défauts de type pont dans le système $C_{12}EO_6/H_2O$ à l'approche de la transition smectique/isotrope⁷. Les expériences présentées au chapitre II sont faites dans le même esprit.

Dans la suite, nous nous intéressons à quantifier et caractériser les défauts. Cette étude est réalisée à partir des techniques de diffraction des rayons X et de cryofracture. La description de l'organisation microscopique des défauts est esquissée. Les résultats obtenus nous amènent alors à reconsidérer le diagramme de phase du système à l'approche de la transition smectique-nématique.

Dans la deuxième partie du chapitre, nous étudions quelques propriétés de la phase cholestérique et de la transition smectique-cholestérique en s'appuyant sur les techniques de microscopie optique, de diffraction des rayons X, de retour de fluorescence et de calorimétrie. Enfin, nous identifions certains mécanismes de la transition smectique-cholestérique, notamment grâce à des expériences de cryofracture.

¹⁵⁴ O. Dhez Thèse de l'Université Bordeaux I

³⁴ O. Dhez & al., Eur. Phys. J E 3, 2000, 377-388

¹⁵⁵ O. Dhez et al., Eur. Phys. Lett., 55(6), 2001, 821-826

⁷ D. Constantin & P. Oswald, PRL, 85 (20), 2000

Chapitre II : Transition smectique - cholestérique dans un système lyotrope

A – Etude de la phase lamellaire à l’approche de la transition smectique - cholestérique

Ce chapitre présente les résultats obtenus sur le système DMPC/C₁₂E₅/H₂O en utilisant les techniques de FRAP¹⁵⁶, de diffraction des rayons X, de microscopie en lumière polarisée et de cryofracture. L’objectif principal de ce travail est de confirmer ou d’infirmer l’hypothèse de la création de défauts à l’approche de la transition smectique-nématique et, le cas échéant, de caractériser ces défauts.

Le FRAP nous permet de remonter aux propriétés de diffusion d’une espèce hydrophile insérée dans la couche aqueuse de la phase lamellaire et d’une molécule hydrophobe piégée dans la membrane de la phase lamellaire. Réalisées sur des échantillons orientés, ces expériences permettent la mesure du coefficient de diffusion de ces sondes dans la direction d’empilement des couches afin de confirmer la création de défauts connectant les deux phases.

Une fois ces propriétés établies, la diffraction des rayons X nous permet, d’une part, d’évaluer la densité de défauts en fonction de la température et de la fraction volumique en membrane et d’autre part d’extraire le facteur de forme de ces derniers.

La cryofracture est ensuite utilisée pour tenter de confirmer la structure des défauts (visualisation) et pour mettre en évidence une éventuelle organisation de ceux-ci.

La fin de cette partie est consacrée à une mise à jour du diagramme de phase grâce aux résultats obtenus avec les techniques de microscopie en lumière polarisée, de diffusion des rayons X et de cryofracture.

I - Expériences de FRAP : mise en évidence de défauts connectant les différentes phases

1) Introduction

Les motivations ayant conduites à l’utilisation du FRAP sont expliquées sommairement au chapitre I. L’hypothèse est que, à l’approche de la transition smectique - cholestérique, la phase lamellaire est fortement perturbée par l’apparition de défauts. Si ces défauts sont, comme l’indique le travail d’Olivier Dhez, des dislocations vis, les propriétés de diffusion de différentes sondes insérées dans le système doivent évoluer fortement à l’approche de la transition, particulièrement dans la direction d’empilement des couches.

¹⁵⁶ voir partie I pour une présentation générale du FRAP

La possibilité d'un écoulement dans la direction d'empilement des couches fut évoquée en premier lieu par W. Helfrich¹⁵⁷. Cette diffusion, appelée perméation, est décrite par la loi phénoménologique suivante¹⁵⁸ :

$$\dot{u} - v_z = \lambda_p G \quad (1)$$

Où u est le déplacement des couches, v_z la vitesse suivant la normale aux couches (axe z) et G la force élastique couplée au déplacement u . λ_p est un coefficient de perméation macroscopique relié au coefficient de diffusion $D_{//}$ par l'expression :

$$\lambda_p = D_{//} \Omega / k_B T \quad (2)$$

Où Ω est le volume moléculaire.

Les valeurs théoriques¹⁵⁹ et expérimentales¹⁶⁰ de ce paramètre sont très proches pour les systèmes thermotropes ($D_{//} \sim 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; $\lambda_p \sim 10^{-16} \text{ kg}^{-1} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{s}$). Pour les systèmes lyotropes, les valeurs de λ_p sont extrêmement faibles en l'absence de défauts ($\lambda_p \sim 10^{-33} \text{ kg}^{-1} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{s}$ pour le système lécithine/H₂O¹⁶¹) mais peuvent augmenter de manière spectaculaire en présence de défauts et notamment de dislocations vis. On a, par exemple, $\lambda_p \sim 10^{-17} \text{ kg}^{-1} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{s}$ pour le système C₁₂E₅/H₂O¹⁶², système pour lequel de tels défauts ont été observés¹⁶³.

En 1987, P. Oswald calcule la variation du coefficient de diffusion parallèle dans un smectique en présence de dislocations vis¹⁶⁴. Des simulations numériques récentes ont, depuis, confirmé qualitativement le résultat de ce calcul¹⁶⁵.

La figure I-1 illustre le processus de diffusion dans la direction parallèle aux couches induit par la présence de dislocations vis pour des défauts de vecteur de Burgers 2 (le principe est le même quelle que soit la force du défaut). La vision la plus simple du problème est celle du parking à plusieurs étages. Dans ces parkings, les différents niveaux sont souvent reliés par des rampes hélicoïdales qui rappellent des dislocations vis. Un véhicule passe d'un niveau à un autre par l'intermédiaire de ces rampes sans discontinuité. De la même manière, dans un smectique ponctué de dislocations vis, un marqueur diffuse dans la direction d'empilement des couches en tournant autour du cœur de la dislocation sans changer de couche. Dans un système lyotrope, composé de deux phases (eau et membrane), une dislocation vis connecte à la fois la phase de membrane et la phase aqueuse. Si l'on dope la phase aqueuse ou la phase de membrane avec, respectivement, un marqueur fluorescent hydrophile ou un marqueur fluorescent hydrophobe, on doit pouvoir remonter à l'évolution des propriétés de diffusion pour les deux phases.

¹⁵⁷ W. Helfrich, Phys. Rev. Lett., 23, 372-374, 1969

¹⁵⁸ P. Martin et al. Phys. Rev. A, 2401-2420, 1972

¹⁵⁹ G.J. Krüger, Phys. Rev., 82, 1982, 231-269

¹⁶⁰ P. Oswald, Thèse d'état, Orsay, 1985

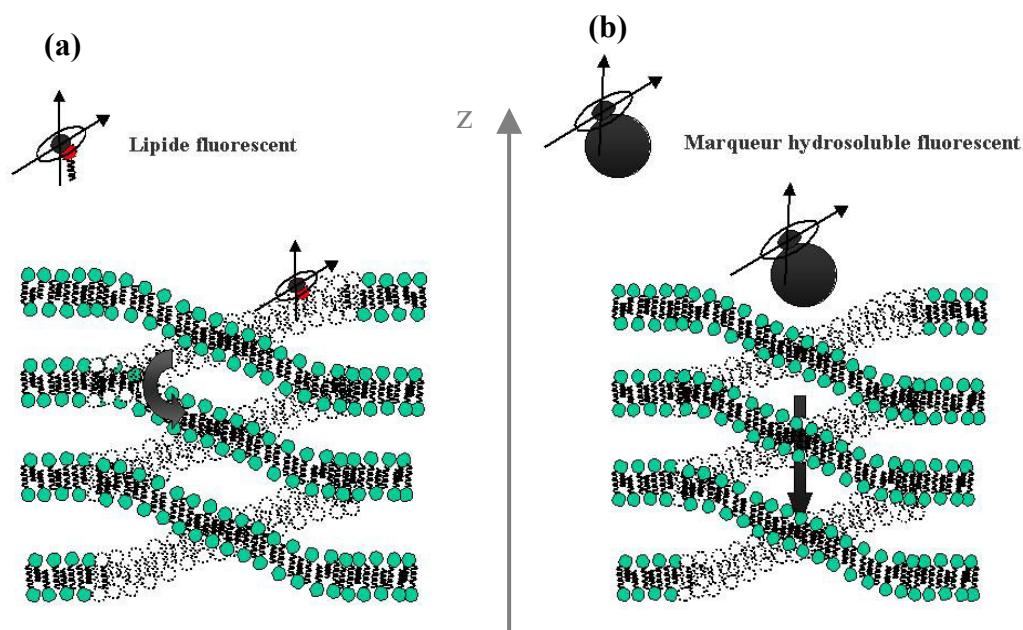
¹⁶¹ W. K. Chan et al., J. Physique, 42 1981, 1007-1013

¹⁶² P. Oswald et al., J. Physique, 46, 1985, 831-838

¹⁶³ M. Allain, J. Physique, 46, 1985, 225-234

¹⁶⁴ P. Oswald, C.R. Acad. Sci. Ser. Gen. Ser. 2 304, 1987, 43

¹⁶⁵ R. L. Blumberg Selinger, Phys. Rev. E, 65, 051702-1, 2002



connecte la phase lipidique de couche en couche. (b) Elle connecte également la phase aqueuse. L'apparition de ce type de défaut doit influencer le coefficient de diffusion parallèle à la fois pour un marqueur membranaire et pour un marqueur hydrophile. Selon la nature du cœur du défaut, eau ou lipides, la connectivité sera plus importante pour cette phase.

Comme dans la première partie de cette thèse, la dénomination des coefficients de diffusion (\perp et \parallel) se fait par rapport à la direction d'empilement des couches (axe z). La diffusion parallèle (D_{\parallel}) se fait dans la direction du directeur et donc perpendiculairement aux couches. La diffusion perpendiculaire (D_{\perp}) se fait dans le plan des couches.

2) Echantillons étudiés

Les échantillons étudiés grâce à la technique de FRAP ont tous la même dilution : $\phi_m = 0.35$. Ils sont soit dopés avec un marqueur lipophile (DHPE-Rhd ou DHPE-FITC 1% en masse de l'échantillon) soit dopés grâce à un marqueur fortement hydrosoluble (Calcéine 10^{-3} M). La formulation des échantillons se fait très simplement en insérant les différents constituants dans les bonnes proportions puis en homogénéisant au vortex et par centrifugations successives. L'équilibre est atteint en quelques heures.

Le diagramme de phase reste, au premier ordre, inchangé en présence du fluorophore et tous ces échantillons possèdent la transition smectique - cholestérique à la température attendue (précision de 0.5°C). Les échantillons étudiés ont été formulés avec le DMPC_{sn} et présentaient donc une phase cholestérique. Quelques expériences ont été réalisées sur des échantillons formulés avec du DMPC_{rac} . Elles semblent montrer les mêmes comportements que ceux présentés ci-après.

3) Dispositif expérimental

Les expériences de FRAP ont été réalisées sur le microscope confocal qui permet un contrôle de la texture parallèlement aux mesures de fluorescence. La régulation en température autour de la température ambiante est assurée par une platine Mettler alimentée par une source d'azote gazeux (15°C) refroidit par circulation dans de l'azote liquide (cf. fig. I-2 : schéma du montage). Ce dispositif permet une régulation de la température avec une précision de l'ordre de 0.2 °C. L'extinction de fluorescence est réalisée respectivement par une raie laser à 540 nm pour le DHPE-Rhd et à 488 nm pour la calcéine et le DHPE-FITC.

Pour des raisons d'encombrement dû à la présence de la platine Mettler, l'utilisation de l'objectif à fort grossissement (x63) s'est révélée impossible. L'utilisation de l'objectif x10 modifie légèrement le traitement des données collectées par rapport aux expériences présentées dans la première partie. En effet, la zone d'extinction de fluorescence (taille de la trace laser) ne peut plus être considérée comme ponctuelle mais, peut, en première approximation, être traitée comme de forme gaussienne. La largeur à mi hauteur (FWHM) de la tache laser a été quantifiée en photoblanchissant l'échantillon dans la phase L_{β} (chaînes carbonées ordonnées), phase dans laquelle les lipides diffusent beaucoup plus lentement et où l'on peut donc considérer que la diffusion durant le temps d'acquisition est pratiquement nulle. Cette largeur à mi-hauteur a été estimée égale à 7.26 μm dans les conditions utilisées pour réaliser les expériences de FRAP.

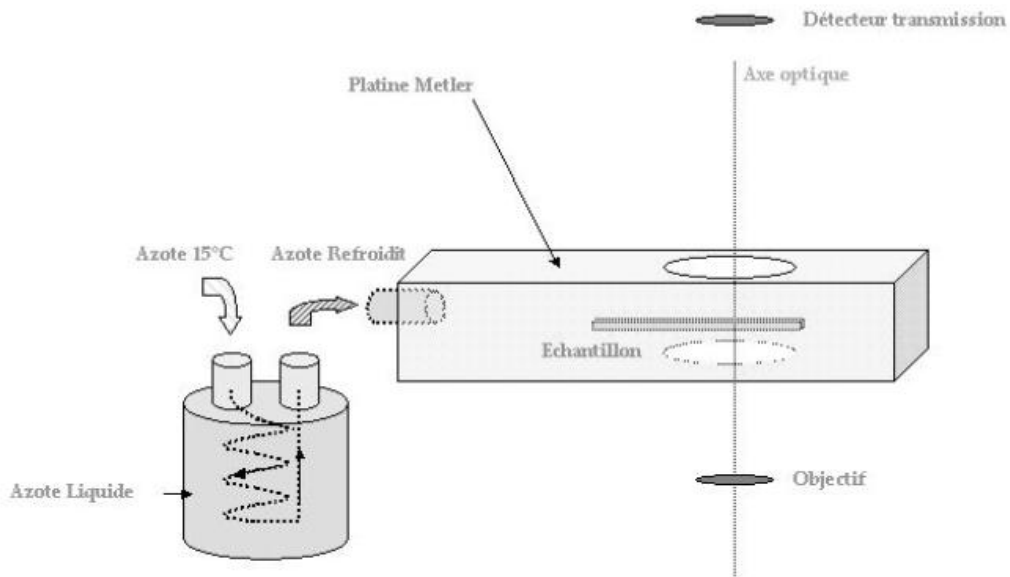


Figure I-2. Dispositif expérimental. L'échantillon est placé sur une platine chauffante Mettler. Une entrée d'azote gazeux, préalablement refroidit par une circulation dans de l'azote liquide, permet de réguler la température autour de la température ambiante avec une bonne précision ($\sim 0.2^{\circ}\text{C}$).

4) Orientation planaire des échantillons

Dans la première partie de cette thèse, nous avons vu comment l'obtention d'une phase lamellaire en orientation homéotrope permettait de remonter au coefficient de diffusion perpendiculaire. Ici, c'est le coefficient de diffusion parallèle qui nous intéresse. L'idée que nous avons suivie est celle d'utiliser des échantillons orientés de façon planaire. Comme l'illustre la figure I-3, cette orientation permet de remonter aux deux coefficients de diffusion (\parallel et \perp). En effet, l'axe optique du microscope étant dans le plan des bicouches, le retour de fluorescence peut être suivi dans les deux directions.

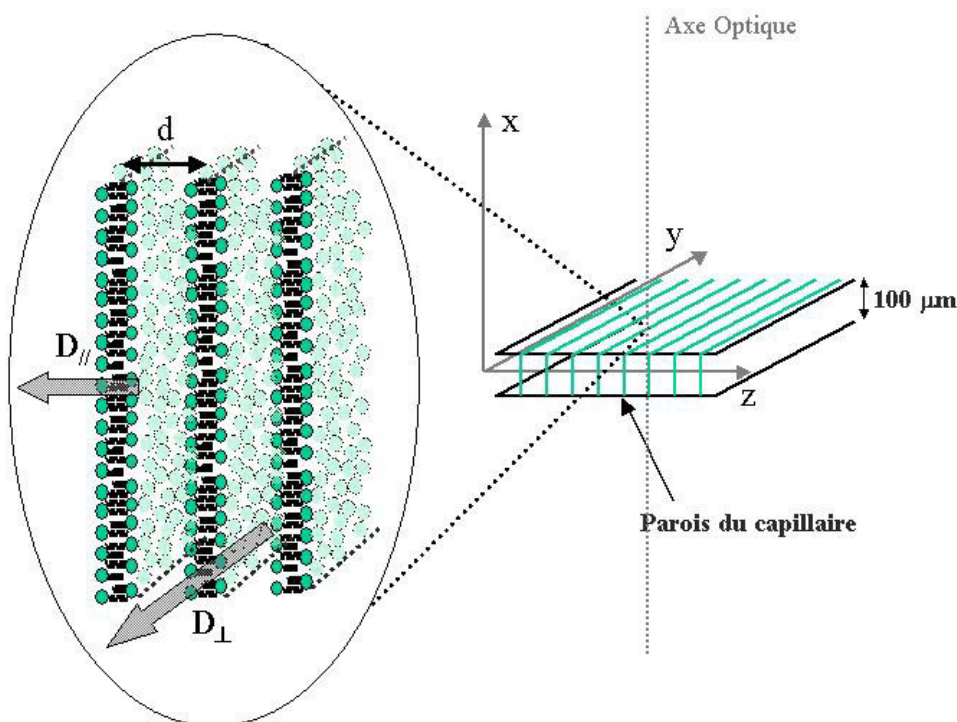


Figure I-3. L'orientation planaire des échantillons permet de remonter aux coefficients de diffusion D_{\parallel} et D_{\perp} .

Olivier Dhez avait, dans son diagramme d'orientation, observé qu'une orientation planaire des échantillons pouvait être obtenue en cisillant le système à l'approche de la température de transition smectique - cholestérique. En s'inspirant de ce résultat, un protocole d'orientation a donc été mis au point.

Afin de s'affranchir de l'évaporation de l'échantillon durant le cisaillement, celui-ci est inséré dans un capillaire plat de $100 \mu\text{m}$ d'épaisseur. Ce dernier est alors scellé à la flamme. On centrifuge ce capillaire, alternativement 10 fois « tête-en-haut/tête-en-bas », 1 min à 1000 rpm et à une température de 21°C . Les échantillons s'orientent alors majoritairement en planaire. On notera cependant que l'orientation obtenue dans notre cas n'est pas due à l'ancrage planaire des membranes sur les surfaces (i.e. ancrage chimique) et quelle est donc intrinsèquement instable puisque c'est l'ancrage homéotrope qui est spontanément préféré. Néanmoins l'orientation obtenue reste correcte pendant plusieurs heures si l'on prend bien soin de ne pas franchir la transition smectique-nématique et en

l'absence de choc thermique important. Ce temps est suffisant pour réaliser les expériences de FRAP.

5) Vérification de la qualité de l'orientation grâce à la fluorescence

Pour obtenir des résultats fiables, la qualité de cette orientation est essentielle. Pour les systèmes dopés avec des lipides fluorescents, la qualité de l'orientation planaire a pu être vérifiée en comparant les intensités de fluorescence dans les zones homéotropes et dans les zones planaires. L'annexe A (I) discute de l'influence de l'orientation d'un système sur l'intensité de fluorescence. Pour le lipide marqué à la FITC, l'orientation du fluorophore par rapport à la membrane correspond à une orientation du dipôle d'excitation dans le plan des couches. Pour une orientation planaire parfaite on s'attend donc à $I_{\text{homeo}} = 2 I_{\text{planaire}}$. Ces considérations ne sont bien entendu valables que si le fluorophore est très bien orienté par rapport à la bicouche. Cela semble être le cas dans notre système.

Pour vérifier la qualité de l'orientation obtenue, après le cisaillement, on replace le capillaire à 35°C et on compare l'intensité de fluorescence de la zone planaire avec celle d'une zone homéotrope. La figure I-4 présente une image obtenue en microscopie en lumière polarisée et l'image correspondante en fluorescence. L'intensité de fluorescence dans les zones homéotropes est sensiblement supérieure à celle des zones planaires. Lorsque une zone planaire est bien orientée, on a $I_{\text{homeo}} \sim 1.90 I_{\text{planaire}}$.

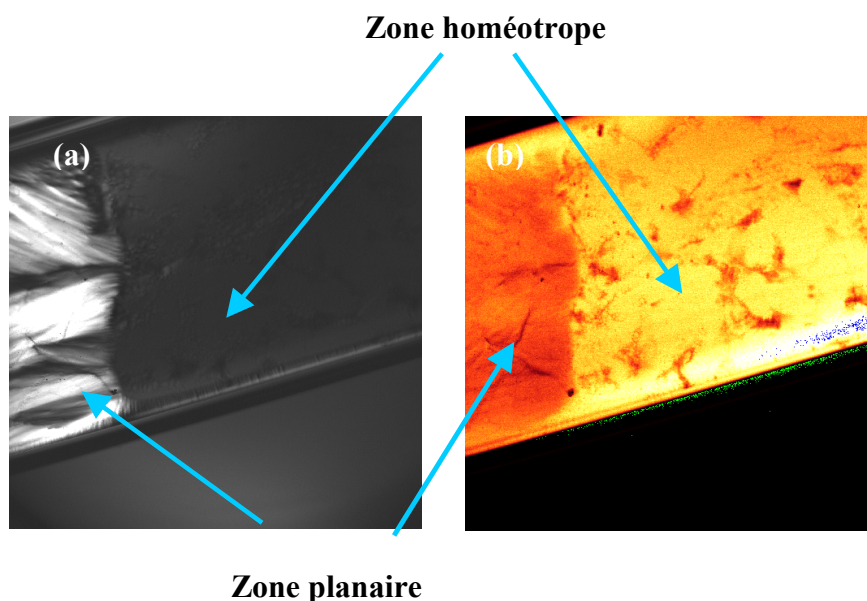


Figure I-4. Vérification de la qualité de l'orientation par mesure de l'intensité de fluorescence. Un fluorophore peut être considéré comme un dipôle excité par l'onde électromagnétique incidente (faisceau exciteur).

- a) Image en transmission d'un échantillon présentant les deux orientations.
- b) Même image en fluorescence. L'intensité de fluorescence peut être quantifiée dans une zone homéotrope et dans une zone planaire. Pour les zones planaires bien orientées, on a $I_{\text{homeo}} \sim 1.90 I_{\text{planaire}}$.

On notera que cette comparaison n'est valable que pour une phase lamellaire sans défauts. En effet, en présence de défauts, la membrane est courbée et l'orientation moyenne du fluorophore varie. Dans notre cas, l'intensité de fluorescence dans les zones planes croît de façon non négligeable à l'approche de la transition. Afin de vérifier que cette variation d'intensité ne correspond pas à une réorientation globale de l'échantillon, mais bien à l'apparition de défauts, une remontée en température a été faite systématiquement après les expériences de FRAP pour vérifier que l'on retrouvait bien l'intensité initiale correspondante à l'orientation plane dans la phase lamellaire sans défauts (35°C). Cette vérification nous permet d'assurer qu'il n'y a pas de réorientation de l'échantillon durant le temps nécessaire à l'expérience de FRAP.

6) Extraction des coefficients de diffusion

Pour fixer les idées sur ce qui va suivre, la figure I-5 montre les images en fluorescence obtenues pour une phase dopée avec des lipides FITC pour deux températures différentes : 32°C, température à laquelle la phase lamellaire ne présente, *a priori*, pas de défaut, et 21°C où l'on s'attend à voir des défauts en grande quantité. L'image obtenue après photo blanchiment est soustraite à une image prise juste avant l'expérience afin de s'affranchir des modulations d'intensité qui ne sont pas liées au photo blanchiment.

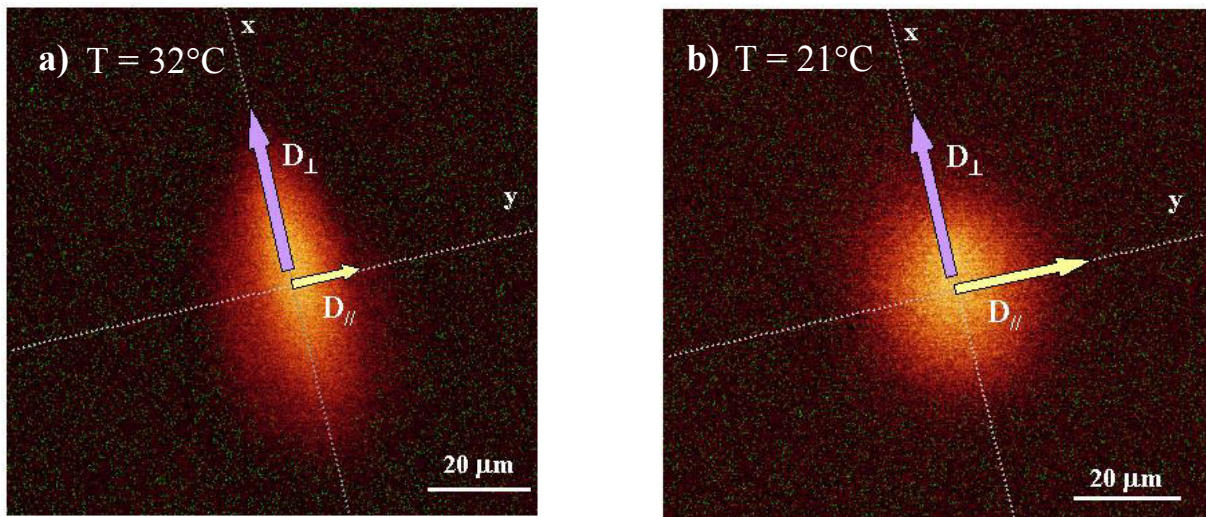


Figure I-5. Images corrigées après photoblanchiment pour deux températures différentes.

a) $T = 32^\circ\text{C}$, la tache est fortement asymétrique indiquant une forte anisotropie entre le coefficient de diffusion parallèle et l'absence de défaut (ou une faible densité).

b) $T = 21^\circ\text{C}$, la diffusion est moins anisotrope indiquant que le passage à travers les membranes est plus aisé à cette température pour un marqueur hydrophobe.

Le calcul des profils d'intensité dans les deux directions ($D_{//}$ et D_{\perp}) est réalisé en annexe A (II). L'expression de l'intensité de fluorescence en fonction du temps dans la direction d'empilement des couches est définie par :

$$c(z, t) \propto \frac{c_0 e^{-\left(\frac{z^2}{\sigma^2 + 4D_{\parallel} t}\right)}}{\sqrt{\sigma^2 + 4D_{\parallel} t}} \quad (3)$$

L'intensité de fluorescence en fonction du temps dans le plan des couches est définie par :

$$c(y, t) \propto \frac{c_0 e^{-\left(\frac{y^2}{\sigma^2 + 4D_{\perp} t}\right)}}{\sqrt{\sigma^2 + 4D_{\perp} t}} \quad (4)$$

Avec σ la largeur à mi-hauteur de la tâche de photo blanchiment

Concrètement, le capillaire est placé dans la platine Mettler. A chaque palier en température, un intervalle de temps de 30 minutes est respecté pour atteindre l'équilibre. La température est alors la même dans tout le capillaire. On localise une zone orientée de façon planaire puis on photo blanchit pendant 300 ms. L'acquisition est faite après 3s à 5s. On extrait alors deux profils, l'un perpendiculaire, l'autre parallèle que l'on ajuste avec les expressions (3) ou (4). La figure I-6 présente trois profils ainsi que leurs ajustements.

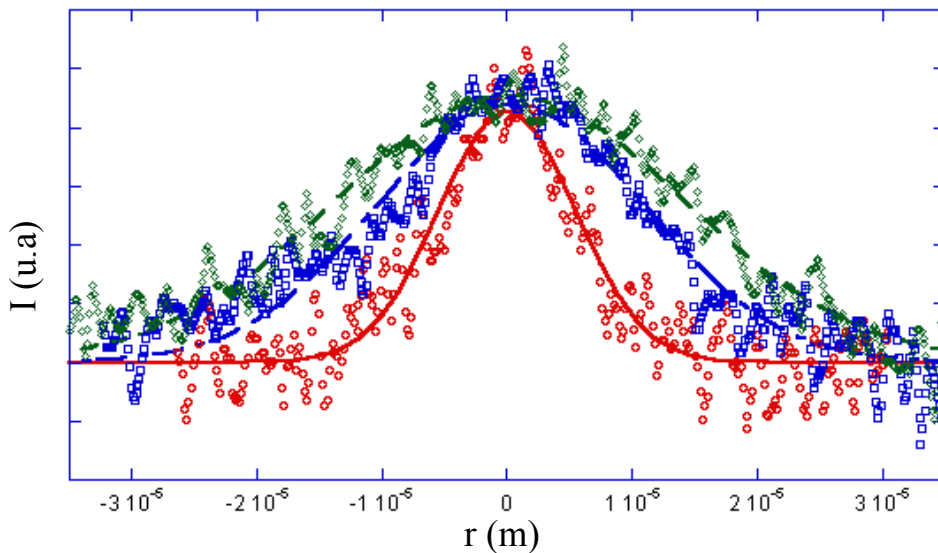
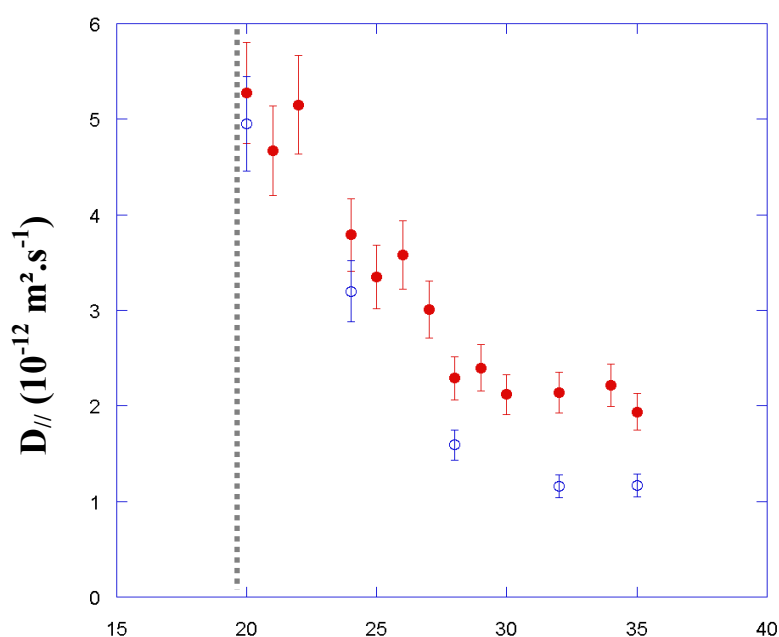


Figure I-6. Profils de fluorescence obtenus et ajustements correspondants dans trois conditions pour un marqueur membranaire. (○) Phase L_{β} à 4°C. L'ajustement est réalisé avec une gaussienne (courbe pleine). On trouve $\sigma \sim 7.3 \mu\text{m}$. (□) 21°C, dans la direction d'empilement des couches. L'ajustement est réalisé avec l'expression (3) (pointillés espacés). (◇) 21°C, dans le plan des couches. L'ajustement est réalisé avec l'expression (4) (pointillés serrés).

7) Résultats

a) Marqueurs membranaires

La figure I-7 a présente l'évolution des valeurs du coefficient de diffusion parallèle obtenues en fonction de la température pour les systèmes dopés avec le lipide FITC ou le lipide Rhodamine. En dessous de 30°C, on note une augmentation sensible (d'un facteur 5 environ) de celui-ci à l'approche de la température de transition smectique/nématique (ligne pointillée). Cette augmentation peut être interprétée comme résultant de l'apparition de défauts connectant les membranes. En dessous de la transition (dans le domaine cholestérique), l'échantillon perd son orientation planaire et il devient donc impossible de mesurer $D_{//}$.



●) et lipides rhd (○). Chaque point

est mesuré à 20°C et 30°C. La température de transition smectique-nématique est indiquée par la ligne pointillée.

La figure I-8 présente l'évolution du coefficient de diffusion perpendiculaire sur la même gamme de température. On notera une évolution moins marquée ($10.1 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ à 20°C et $27.9 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ à 40°C soit un facteur 2.8 environ) et surtout en sens inverse de celle observée pour $D_{//}$. Cette évolution du coefficient de diffusion dans le plan des membranes (D_{\perp}) est probablement explicable par la variation de la viscosité de la membrane en fonction de la température. En effet, le coefficient de diffusion perpendiculaire mesuré pour une bicouche de DMPC pur varie de $3.5 \cdot 10^{-12}$ à $9.5 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (soit un facteur 2.7) sur la même gamme de température ¹⁶⁶.

¹⁶⁶ Winchil L. C. Vaz et al., Biochemistry, 1985, 24, 781

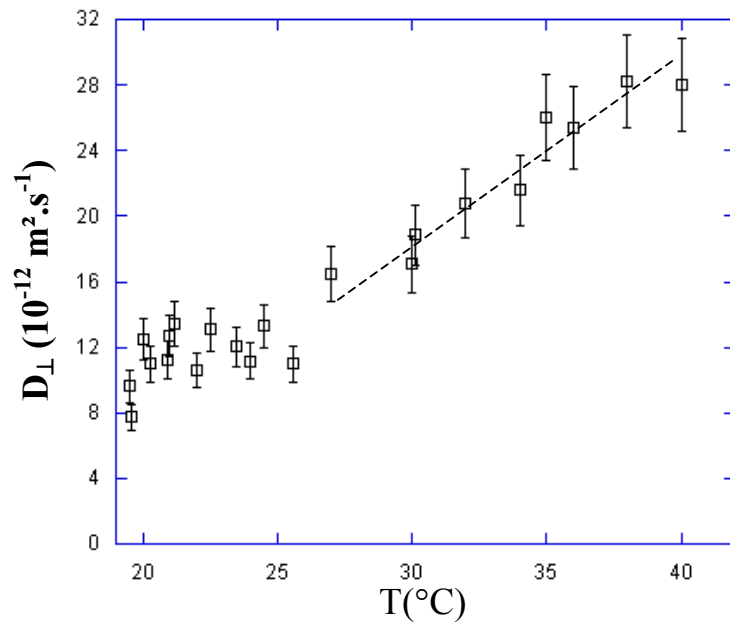


Figure I-8. Evolution du coefficient de diffusion perpendiculaire en fonction de la température pour le système marqué avec un marqueur membranaire. On note une augmentation importante du coefficient de diffusion quand la température augmente. Cette évolution peut être interprétée comme étant due à la variation de la viscosité de la membrane.

On peut corriger les données obtenues en tenant compte de la variation de la viscosité de la membrane. On extrait la variation du coefficient de diffusion perpendiculaire à haute température, entre 30 et 40°C, gamme pour laquelle la phase lamellaire ne présente, *a priori*, pas de défaut. Cette variation est affine en fonction de la température. Les données obtenues dans les deux directions sont donc divisées par un terme correcteur donné par l'équation de la droite obtenue. La figure I-9 présente les variations des deux coefficients de diffusion ainsi normalisés.

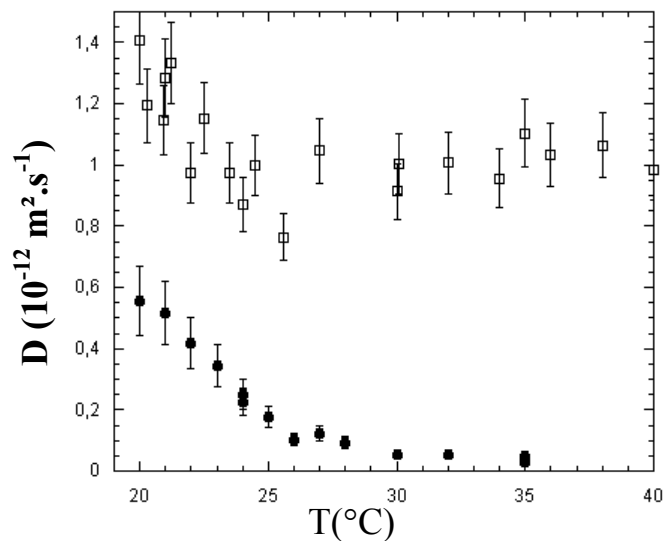
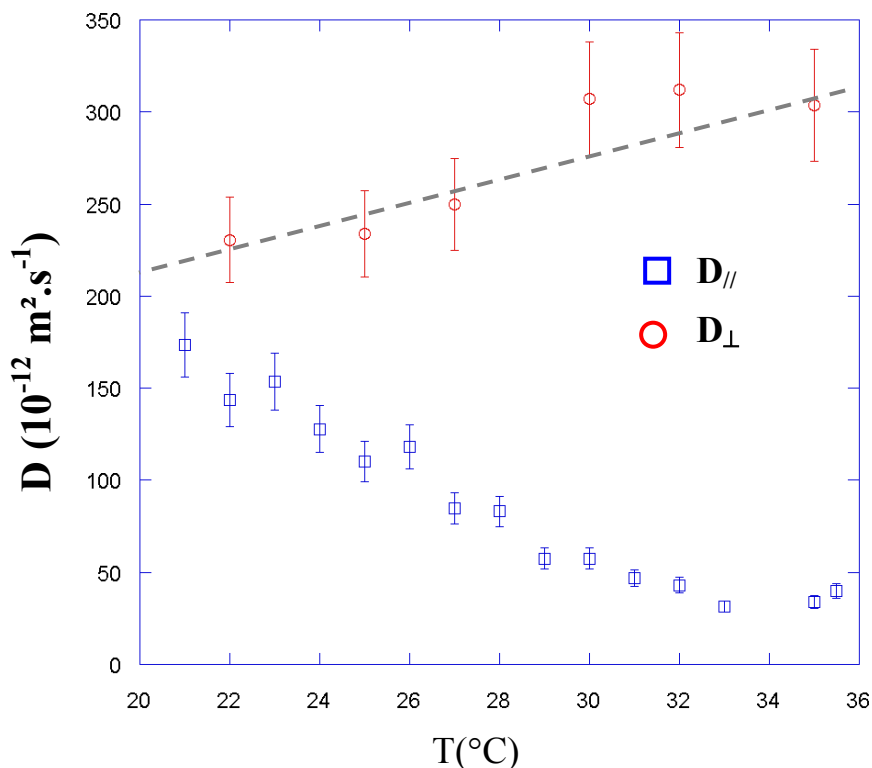


Figure I-9. Evolutions des coefficients de diffusion perpendiculaire (□) et parallèle (●) normalisés pour une sonde membranaire.

L'augmentation sensible du coefficient de diffusion parallèle par rapport au coefficient de diffusion perpendiculaire est compatible avec l'apparition de défauts connectant les membranes de la phase lamellaire à l'approche de la transition. On notera que le coefficient de diffusion perpendiculaire normalisé semble également augmenter de manière non négligeable à l'approche de la transition smectique - cholestérique. Si nous n'avons pas d'interprétation définitive sur ce phénomène, nous pensons que ce comportement est lié à la disparition de défauts de texture ¹⁶⁷ à l'approche de la transition. L'observation du système en microscopie optique en lumière polarisée montre que certains défauts, notamment les stries huileuses, s'affinent puis disparaissent lorsque l'on approche de la transition. Ce processus semble, au moins partiellement, réversible.

b) Marqueur hydrophile : la calcéine

La figure I-10 montre les résultats obtenus avec un marqueur hydrophile (calcéine) dans les deux directions sur la même gamme de température. Une nouvelle fois le coefficient de diffusion parallèle augmente de façon sensible à l'approche de la transition indiquant clairement l'ouverture de passages « aqueux » à travers la membrane. L'évolution du coefficient de diffusion perpendiculaire peut être expliquée par la variation de la viscosité de l'eau (η) sur ce domaine de température. En effet, η varie linéairement de $1.002 \cdot 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 20°C à $0.7194 \cdot 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ à 35°C . Cette variation de η semble en bon accord avec la variation du coefficient de diffusion de la calcéine.



¹⁶⁷ Par exemple des stries huileuses.

Figure I-10. Evolution du coefficient de diffusion parallèle (\square) et perpendiculaire (\circ) en $D_{//}$ augmente à l'approche de la transition comme dans le cas du marqueur lipophile (d'un facteur 6 environ). D_{\perp} décroît quand la température diminue. Cette variation peut être expliquée par la variation de la viscosité du solvant dans cette gamme de température : la ligne pointillée représente l'évolution de l'inverse de la viscosité de l'eau (à un facteur près).

De la même manière que pour le marqueur membranaire, on peut corriger ces données en prenant en compte l'évolution de la viscosité de l'eau. La figure I-11 présente les données normalisées.

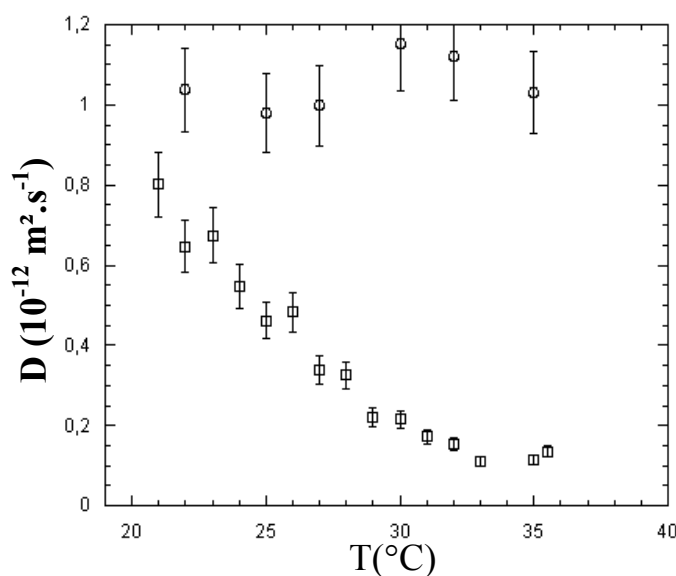


Figure I-11. Evolutions des coefficients de diffusion parallèle (\square) et perpendiculaire (\circ) normalisés pour un marqueur hydrosoluble.

Comme pour le marqueur membranaire, l'augmentation sensible du coefficient de diffusion parallèle par rapport au coefficient de diffusion perpendiculaire indique l'apparition probable de défauts connectant le solvant de la phase lamellaire à l'approche de la transition smectique - cholestérique.

c) Interprétations

La forte augmentation conjointe des coefficients de diffusion parallèles ($D_{//}$) pour les deux types de sondes (hydrosoluble et liposoluble) permet de conclure sans ambiguïté que l'on a bien formation d'une quantité importante de défauts connectant à la fois la phase aqueuse et la membrane à l'approche de la transition smectique/cholestérique. Bien que le FRAP ne permette pas de trancher définitivement quand à la géométrie des défauts (passages ou dislocations vis donneraient le même comportement), ces résultats, viennent confirmer les conclusions de Olivier Dhez quant à la création probable, à l'approche de la transition smectique/cholestérique, d'un nombre important de défauts de type dislocation vis.

II - Quantification de la densité de défauts : étude par diffraction des rayons X

L'échantillon étudié par O. Dhez présentait, à l'approche de la transition, une diminution importante de sa période smectique. Cette évolution était interprétée comme résultant de la formation des défauts possédant un cœur aqueux. Une étude plus large doit donc permettre de quantifier l'apparition des défauts, à la fois en fonction de la température et de la concentration. Cette étude doit permettre une meilleure compréhension de la transition en termes de densités de défauts.

1) Expériences

L'évolution du pas smectique de la phase lamellaire ($R_{s/l} = 3.1$) a été étudiée pour des concentrations en membrane allant de 0.31 à 0.55 pour des températures comprises entre 15°C et 40°C. Les échantillons sont sous forme de poudre (capillaires cylindriques de 1.5 mm de rayon). La figure II-1 représente la variation du pas smectique (d) en fonction de l'inverse de la fraction volumique en membrane ($1/\phi_m$) pour différentes températures.

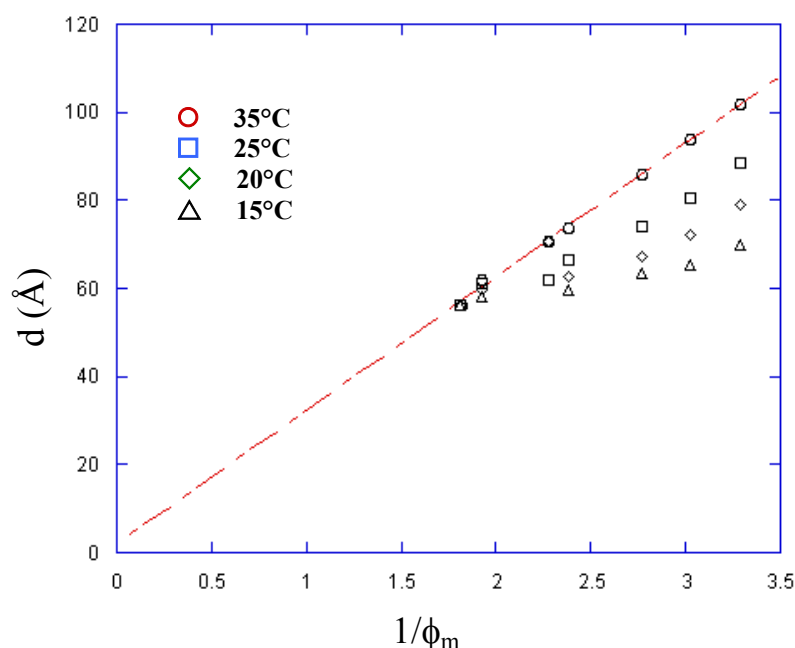


Figure II-1. Evolution du pas smectique (d) en fonction de l'inverse de la fraction volumique en membrane pour différentes températures : 35°C (○), 25°C (□), 20°C (◇), 15°C (△). La ligne pointillée est l'interpolation linéaire à 35°C

La ligne pointillée représente l'interpolation linéaire sur les mesures à 35°C. Cette droite passe presque par zéro indiquant que cette phase ne présente pas, ou peu, de défauts ($d = \delta/\phi_m$ avec $\delta \sim 31$ Å). Pour les températures plus basses, en revanche, la loi géométrique de dilution ne s'applique plus. Ceci peut s'expliquer par l'apparition de défauts possédant un cœur aqueux.

L'évolution du pas smectique en fonction de la température pour différentes fractions volumiques en membrane est représentée figure II-2. Les lignes pointillées sont un guide permettant de localiser des différentes phases (identifiées en microscopie optique).

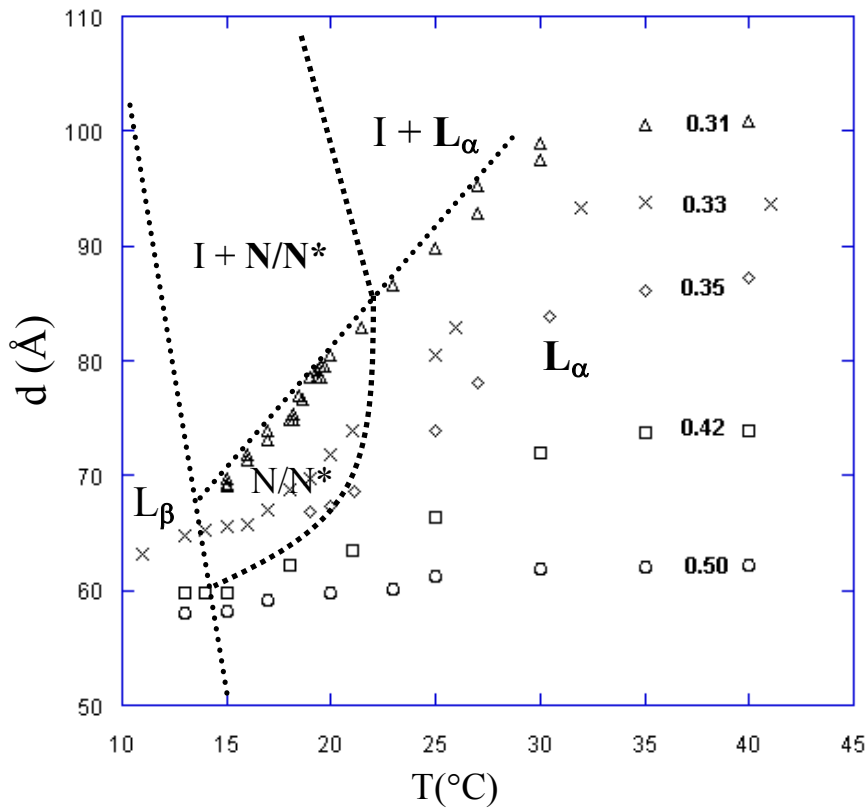


Figure II-2. Evolution du pas smectique en fonction de la température pour différentes fractions massiques en membrane : $\phi_m=0.50$ (○), 0.42 (□), 0.35 (◇), 0.33 (×), 0.31 (△). Les différentes phases présentes sont rappelées sur le graphique. Seuls les trois échantillons les plus dilués ($\phi_m=0.31$, 0.33 , 0.35) présentent une phase cholestérique.

On observe, pour tous les échantillons testés, une diminution importante de la période smectique en descente en température. Cette diminution est d'autant plus importante que l'échantillon est dilué. On notera qu'elle se produit même pour des échantillons qui ne présentent pas de phase cholestérique à basse température ($\phi_m = 0.42$ et $\phi_m = 0.50$). Cette évolution de la périodicité du système est totalement réversible ce qui est compatible avec l'existence de défauts excités thermiquement.

2) Interprétations

Si on considère une dislocation vis comme étant principalement composée d'un cœur aqueux, on peut écrire :

$$\varphi_{\text{eau}} = \alpha + (1-\alpha) \varphi_2 \quad (5-a)$$

$$\alpha = V_1/V; \quad (5-b)$$

Où φ_{eau} est la fraction volumique en eau dans l'échantillon, φ_2 est la fraction volumique en eau restante entre les membranes et α la fraction volumique en défauts (V_1 est le volume occupé par les défauts et V le volume total de l'échantillon).

De plus, pour une phase lamellaire, on peut donc écrire :

$$d = \delta / (1 - \varphi_2) \quad (6)$$

L'expression (5-a) nous donne l'expression de φ_2 :

$$\varphi_2 = (\varphi_{\text{eau}} - \alpha) / (1 - \alpha) \quad (7)$$

La relation exprimant le pas smectique d'une phase lamellaire en fonction de la densité de défauts est alors :

$$d = \delta (1 - \alpha) / (1 - \varphi_{\text{eau}}) \quad (8)$$

On obtient l'expression de la densité volumique de défauts en fonction du pas smectique :

$$\alpha = (\delta + d(\varphi_{\text{eau}} - 1)) / \delta \quad (9)$$

A partir des valeurs de d mesurées en diffraction des rayons X on peut donc estimer une quantité de défauts en fonction de la température ou de la fraction volumique. Il est à noter que ce rapide calcul ne prend pas en considération la géométrie des défauts à proprement parler (Rayon de cœur, longueur...) et qu'aucune hypothèse n'est donc faite, *a priori*, sur la nature microscopique de ceux-ci.

La figure II-3 montre l'évolution de la densité de défauts (expression (9)) en fonction de la température pour les cinq fractions volumiques étudiées en diffraction des rayons X. Cette évolution semble affine dans tous les cas.

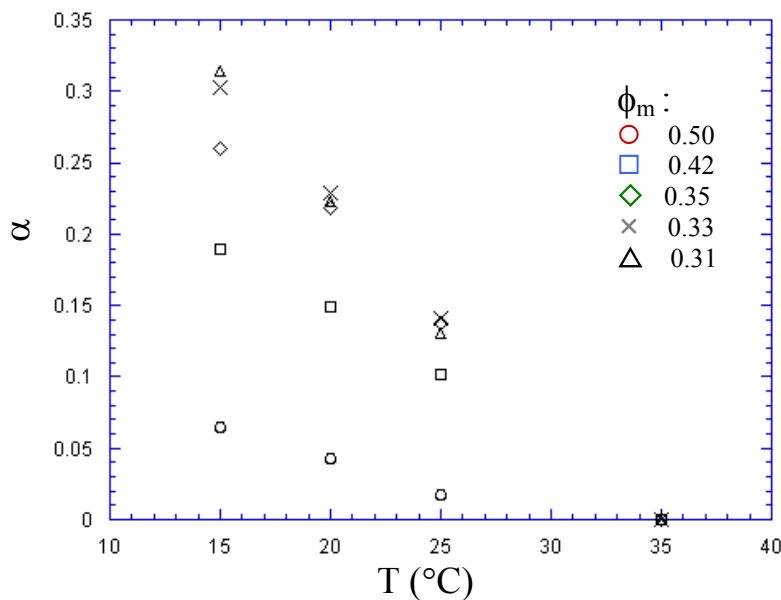


Figure II-3. Evolution de la fraction volumique en défauts α en fonction de la température $\phi_m=0.50$ (○), 0.42 (□), 0.35 (◇), 0.33 (×), 0.31 (△). La densité de défauts croît continûment en descente de température.

On notera les densités très importantes de défauts pour les échantillons les plus dilués ($\alpha \sim 0.25$ à la transition smectique/nématique pour l'échantillon à $\phi_m = 0.31$, et jusqu'à $\alpha \sim 0.30$ dans le cholestérique). Pour ces échantillons ces résultats laissent penser que près d'un tiers de l'échantillon est sous forme de défauts, et donc que près de la moitié de l'eau initialement présente entre les membranes se trouve dans les défauts. Pour autant, aucune séparation de phase macroscopique ou microscopique n'est constatée.

3) Facteur de forme des défauts : taille du cœur aqueux

La figure II-4 (a) présente la figure de diffraction obtenue pour un échantillon à $\phi_m=0.35$ à $T= 24^\circ\text{C}$ lorsque l'axe du faisceau est perpendiculaire au plan des couches ¹⁶⁸. On observe un anneau isotrope pouvant être interprété comme étant le facteur de forme d'un objet circulaire dans le plan des couches : le cœur aqueux des défauts. La figure II-4 (b) montre le regroupement circulaire correspondant. Ce facteur de forme permet d'extraire un rayon caractéristique correspondant au rayon de cœur des défauts ¹⁶⁹.

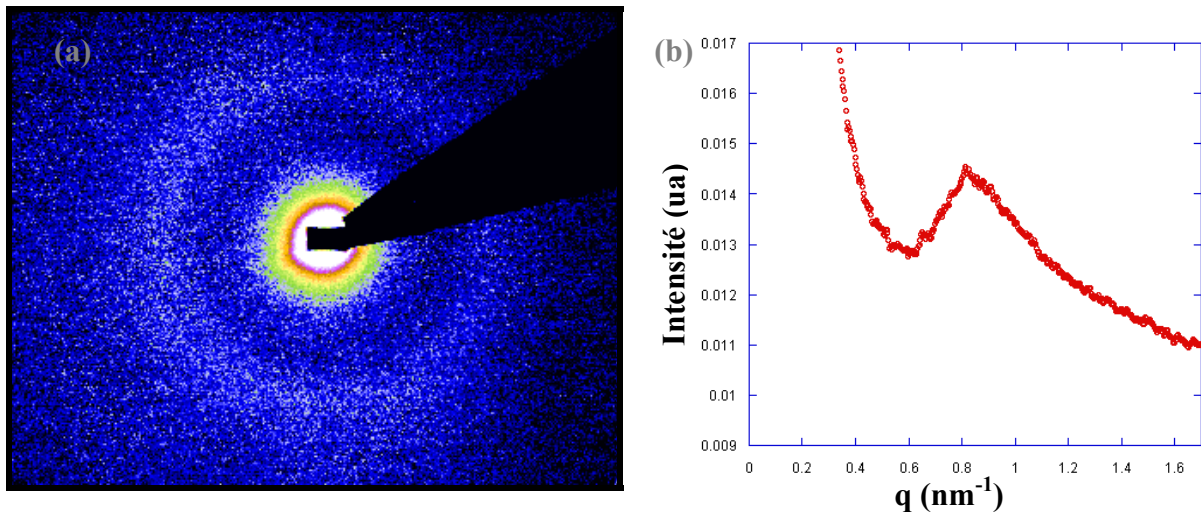


Figure II-4. (a) Figure de diffraction obtenue pour un échantillon à $\phi_m=0.35$ pour une température de 24°C . La faible diffusion diffuse est interprétée comme étant le facteur de forme du cœur aqueux des dislocations vis. (b) Regroupement circulaire de la figure de diffraction (a). En considérant que ce signal provient du cœur aqueux des dislocations vis, on peut tirer la taille caractéristique de ces derniers, $R_C \approx 55 \text{ \AA}$.

Cette expérience permet d'estimer le rayon du cœur aqueux des défauts à 24°C pour un échantillon à $\phi_m = 0.35$: $R_C \approx 55 \text{ \AA}$.

4) Conclusion

La diminution de la période smectique, d , à l'approche de la transition smectique – cholestérique ainsi que la faible diffusion diffuse observée ci-dessus sont compatibles avec l'apparition de défauts possédant un cœur aqueux et donc de dislocations vis. Cependant, comme pour les expériences de FRAP, ces arguments ne permettent pas, à eux seuls,

¹⁶⁸ dans cette configuration on s'affranchit du signal lié à l'empilement smectique.

¹⁶⁹ En ajustant le maximum de la figure II-4 (b) avec le premier maximum de l'intensité diffusée par un cercle de rayon R_C variable.

d'identifier formellement la nature des défauts créés. De même, si l'étude en diffraction des rayons X a permis une quantification grossière de la densité de défauts dans la partie du diagramme de phase étudiée, l'analyse plus fine de ces données nécessite la prise en compte de la structure microscopique de ces derniers.

Les techniques utilisées ci-dessus pour mettre en évidence la création de défauts sont des techniques indirectes. Les conclusions tirées sont donc à prendre avec précaution. En effet, si les variations de coefficients de diffusion mesurées grâce au FRAP sont compatibles avec l'existence de défauts connectant à la fois les membranes et le solvant, elles ne démontrent en rien leur existence. De plus, elles ne donnent aucune indication quant à la nature ou la symétrie des éventuels défauts. De même, les arguments basés sur la diffusion des rayons X (diminution de la période smectique, diffusion diffuse anisotrope et facteur de forme des défauts) doivent être manipulés avec prudence. On ne peut pas exclure, a priori, la possibilité d'une micro-séparation de phase ou d'un autre type de défauts. Pour ces raisons il est intéressant de visualiser directement les défauts et d'identifier leur structure et leur organisation éventuelle.

III - Cryofracture : observation et caractérisation des défauts

1) Dispositif expérimental

La technique de cryofracture permet l'observation directe de l'organisation microscopique du système. Si il faut rester prudent sur l'interprétation des clichés compte tenu du nombre important d'artefacts inhérents à cette technique, la combinaison d'expériences quantitatives (RX, FRAP) et de l'observation de la structure microscopique d'un système doit permettre de conclure de façon fiable.

Nous avons donc fracturé un échantillon ($\phi_m=0.34$) à plusieurs températures afin d'observer les modifications du système à l'approche de la transition smectique - cholestérique. Le procédé de fracture et de réplique des échantillons est rappelé en annexe B. Ces expériences ont été réalisées au laboratoire en collaboration avec Olivier Mondain-Monval et Joanna Kahn.

2) Observations

A haute température (35°C, fig. III-1) on observe une phase lamellaire classique sans défaut particulier (L_α). La fracture est faite selon un plan faiblement incliné par rapport aux couches. On observe alors une succession de plateaux, les bicouches, et de marches correspondantes à un saut d'une couche à l'autre de la phase lamellaire. Un saut apparaîtra noir ou blanc selon son orientation par rapport à l'axe de déposition du platine et du carbone et selon qu'il corresponde au passage d'une couche à la couche supérieure ou inférieure. La hauteur du saut doit correspondre au pas smectique. A 35°C on trouve $d_{\text{cryo}} \sim 10 \pm 2$ nm. Cette valeur apparaît compatible avec la valeur du pas smectique mesurée en diffraction des rayons X ($d = 101.5 \pm 2$ Å) à la même température. L'absence de défauts à cette température est tout à fait compatible avec les mesures de FRAP et de diffraction des rayons X.

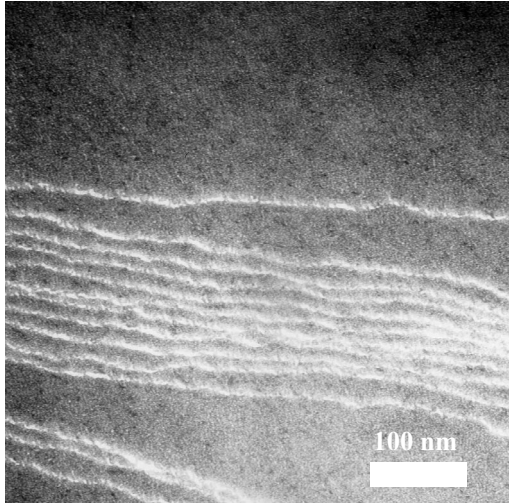


Figure III-1. Image en microscopie électronique d'une réplique de la phase lamellaire à haute température (35°C). La fracture s'est faite selon un plan légèrement incliné par rapport au plan des couches. On observe une alternance de plateaux et de sauts (lignes blanches). Ce type de relief est caractéristique d'une phase lamellaire. Cette phase ne présente pas de défaut particulier.

La figure III-2 présente quelques clichés obtenus à 27°C. La fracture s'est produite dans un plan faiblement incliné par rapport à celui des couches. A faible grossissement (a), on observe une texture lamellaire plus irrégulière dans le plan des couches que celle observée à haute température. La surface des bicouches semble ondulée. La taille caractéristique des ondulations est de l'ordre de 200 nm. A plus fort grossissement (b), ce défaut de planéité des membranes semble induit par l'existence de petits « cratères ». Ces « cratères » correspondent à un trou (ou une bosse) dans la bicouche et semblent avoir une forme légèrement allongée ((c) et (d)). Leur longueur caractéristique est de l'ordre de 40-50 nm, leur largeur de l'ordre de 20 nm. Cette observation peut être interprétée par l'existence de défauts faiblement anisotropes même si la nature exacte de ces derniers est difficile à extraire des clichés obtenus.

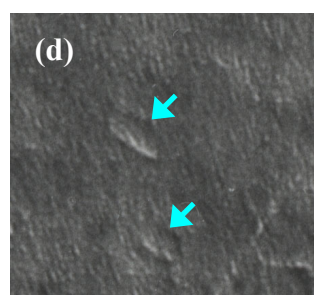
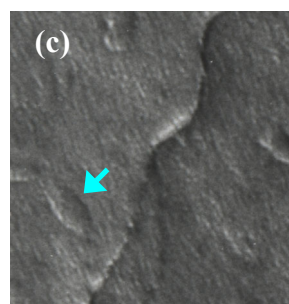
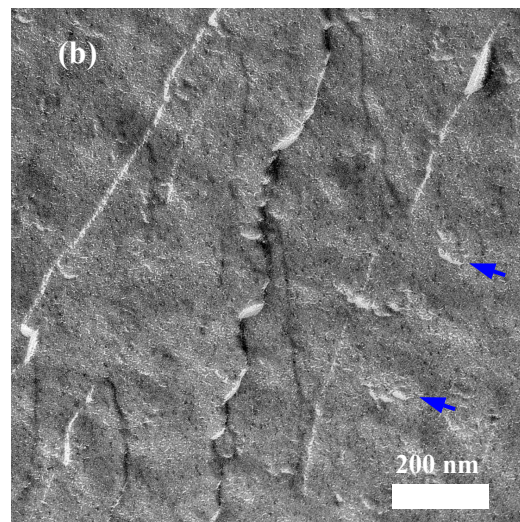
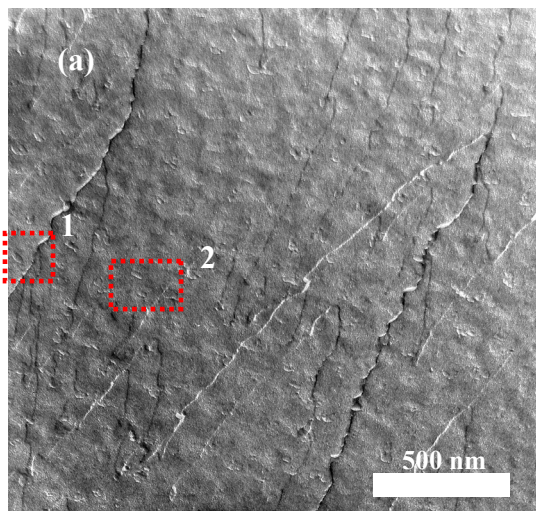


Figure III-2. Réplique de la phase lamellaire à $T=27^{\circ}\text{C}$. (a) Observation dans le plan des couches à faible grossissement. La surface des couches semble ondulée. (b) A plus fort grossissement, on observe des petits « cratères » anisotropes (flèches). (c) Zoom sur la zone marquée 1. (d) Zoom sur la zone 2. Les défauts (flèches) sont anisotropes.

La figure III-3 montre deux clichés obtenus à 24°C . Le plan de fracture correspond au plan des couches. On observe une texture lamellaire ponctuée de nombreux « cratères » anisotropes. Leur longueur moyenne est de l'ordre de 80-100 nm quand leur largeur est de l'ordre de 15-20 nm. La distance moyenne entre défauts est d'environ 100 nm.

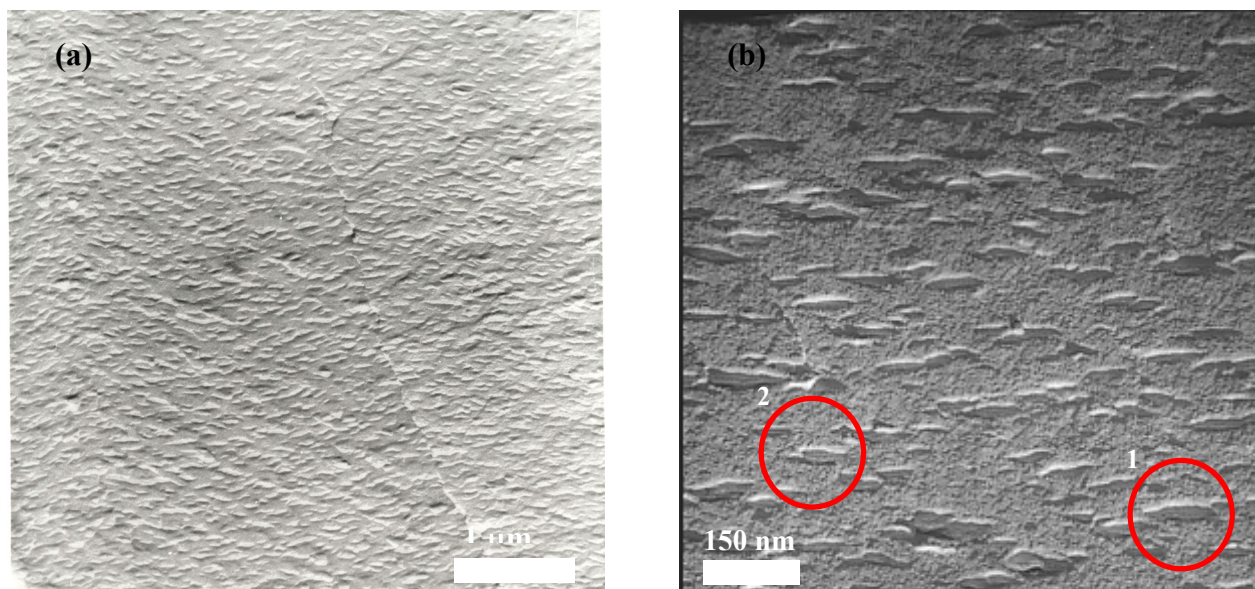


Figure III-3. Image en microscopie électronique d'une réplique d'un échantillon fracturé à 24°C . (a) La fracture est faite selon le plan des couches. (b) On observe une quantité importante de défauts anisotropes. Les figures III-4 (a) et (b) présentent des zooms sur les zones marquées 1 et 2. La rugosité apparente de la bicouche est due à la taille finie des particules de platine (~ 2 nm).

Un zoom sur ces objets (figure III-4 : zone 1 (a) et 2 (b) de la figure III-3) permet de voir une fine ligne claire ressemblant à un saut de couche au centre des défauts parallèlement à leur grand axe. De plus, on observe que la texture au cœur des défauts (lisse) n'est pas la même que celle en dehors des défauts (rugueuse). W. Jahn a montré¹⁷⁰ que des phases différentes peuvent être caractérisées par des textures différentes en cryofracture. En particulier, une microémulsion eau/huile se distingue par l'existence de domaines avec des rugosités apparentes très différentes (lisse pour l'eau et rugueuse pour l'huile).

¹⁷⁰ W. Jahn et R. Strey, J. Phys. Chem., 92, 1988,2294-2301

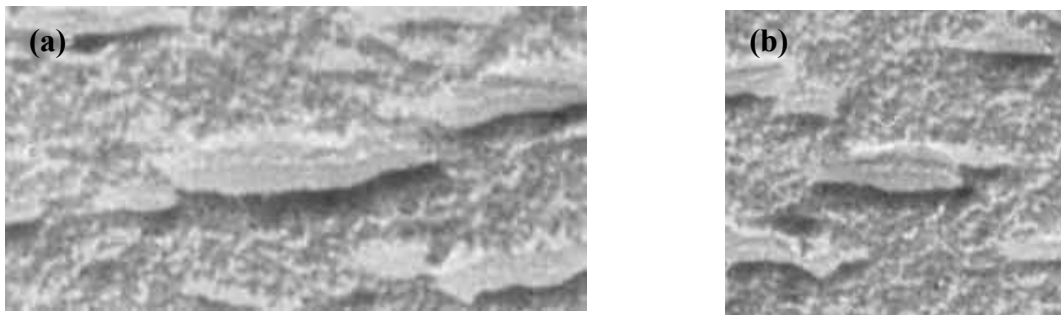


Figure III-4. Zooms sur la figure III-3. (a) Zone 1. (b) Zone 2. On observe une différence de texture entre l'intérieur du défaut (lisse) et l'extérieur (rugueux) caractéristique d'un changement de milieu. On devine une fine ligne claire au centre du défaut.

3) Interprétations

Ces observations indiquent que les défauts observés ont une structure très particulière. Nous allons voir que ces défauts sont des boucles de dislocations de vecteurs de Burgers 2. La figure III-5 montre une représentation schématique d'une boucle de dislocation de vecteur de Burgers 1 ((a) et (b)) ainsi qu'une coupe imaginaire dans le plan d'une couche ((c) et (d)). La coupe obtenue ne présente pas de trait au centre du défaut.

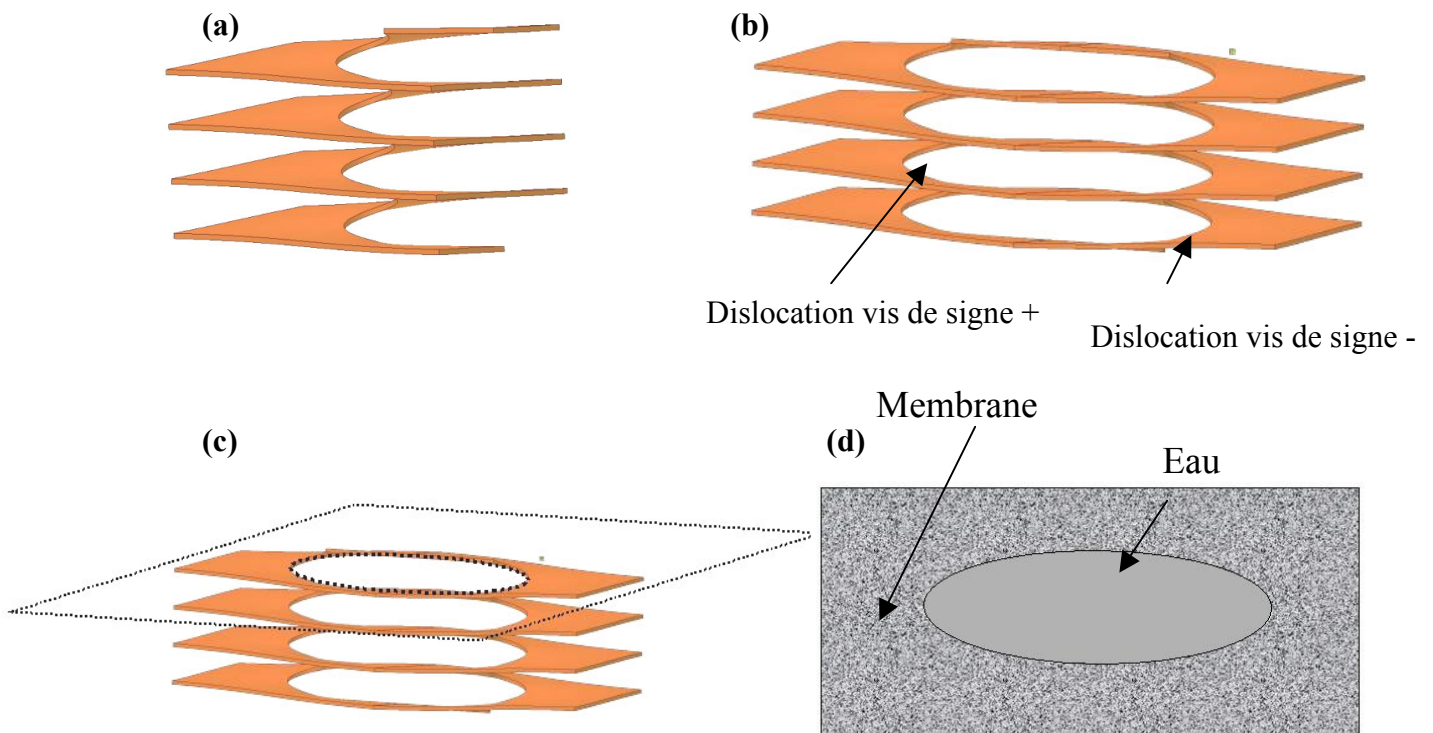


Figure III-5. Les échelles sont dilatées pour une meilleure compréhension. (a) Vue en perspective d'une dislocation vis de vecteur de burgers 1. Seules les membranes sont représentées. (b) Section (selon z) d'une boucle de dislocations constituée de deux dislocations vis de signes opposés et de deux dislocations coins (non visibles sur la section). (c) Coupe imaginaire dans le plan d'une couche. (d) Résultat attendu en cryofracture. Les textures sont explicitées dans le texte : texture lisse pour l'eau, texture rugueuse pour la membrane.

La figure III-6 montre une représentation schématique d'une boucle de dislocations de vecteur de Burgers 2 ((a) et (b)) ainsi qu'une coupe imaginaire dans le plan d'une couche ((c) et (d)). Cette coupe présente les mêmes caractéristiques que les défauts observés en cryofracture sur nos échantillons.

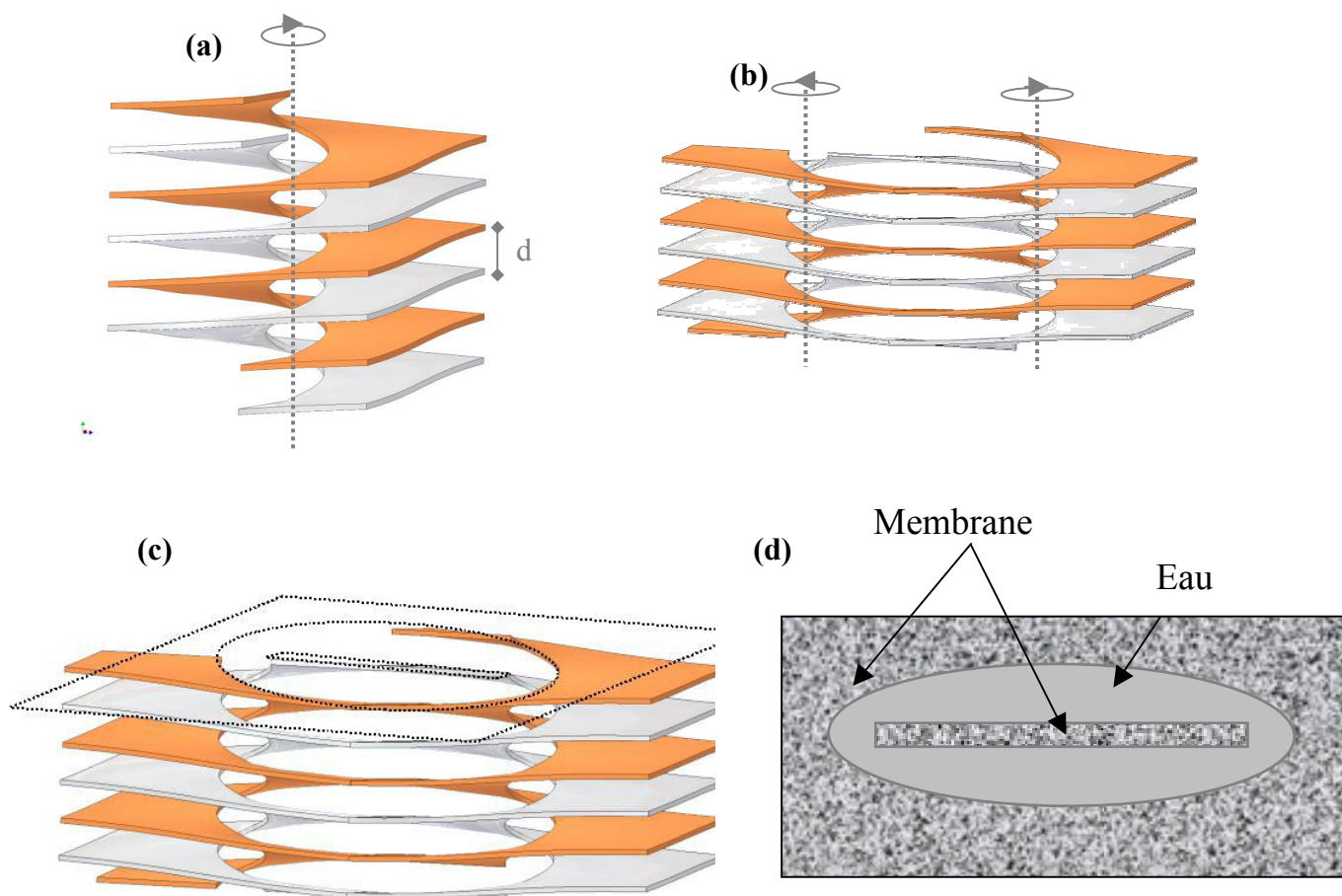


Figure III-6. Les échelles sont dilatées pour une meilleure compréhension. (a) Vue en perspective d'une dislocation vis de vecteur de burgers 2 (les deux couleurs sont à visée artistique uniquement). Seules les membranes sont représentées. (b) Section (selon z) d'une boucle de dislocations constituée de deux dislocations vis de signes opposés et de deux dislocations coins (non visibles sur la section). (c) Coupe imaginaire dans le plan d'une couche. (d) Résultat attendu en cryofracture. Texture lisse pour l'eau, texture rugueuse pour la membrane.

La similitude entre la construction figure III-6 (d) et les images de cryofracture (figure III-4 (a) et (b)) permet de décrire les défauts observés en cryofracture comme des coupes de boucles de dislocations de vecteur de Burgers 2. Comme l'illustre la figure III-5, des boucles de dislocations de vecteur de Burgers 1 ne donneraient pas de ligne au centre du défaut. Des

boucles de vecteurs de Burgers b supérieure ($b > 2$) donneraient plusieurs stries au sein d'un même défaut.

La largeur des défauts (~ 15 nm) est proche de la taille caractéristique des défauts identifiés en diffraction des rayons X par Olivier Dhez ($2 R_d \sim 11-14$ nm). Par ailleurs, la distribution relativement homogène de la taille des boucles est un argument fort en faveur de l'existence de ces défauts à l'équilibre thermodynamique. Rétrospectivement, on peut penser que les défauts observés à 27°C sont de même nature mais de plus petite taille. Le vecteur de Burgers de ces défauts n'est, en revanche, pas déterminé¹⁷¹.

4) Conclusion

Les expériences de cryofracture dans la phase lamellaire à l'approche de la transition smectique - cholestérique ont permis de mettre en évidence la création de défauts identifiés comme étant des boucles de dislocations. La force des défauts à 24°C est de $2d$. Si l'observation de dislocations dans les phases smectiques n'est pas nouvelle^{172, 173, 174, 175}, la distribution de taille relativement homogène semble caractéristique de notre système.

Ce résultat vient clairement renforcer tous les arguments accumulés au cours de ce travail (FRAP, diffraction) et dans les travaux précédant (analyse du facteur de forme des défauts, variations des caractéristiques du systèmes - exposant de Caillé, intensité – etc...). A ce point, on peut donc conclure sans ambiguïté que le système DMPC/ $C_{12}E_5$ / H_2O présente, à l'approche de la transition smectique-nématique, une densité importante de défauts. Ces défauts sont des boucles de dislocations composées de deux dislocations vis de taille finie et de signes opposés reliées entre elles par deux dislocations coins également de taille finie et de signes opposés excitées thermiquement. Il apparaît également que, pour certaines températures proches de la transition, le vecteur de Burgers est égal à $2d$.

IV – Discussion

L'identification de la nature des défauts nous permet de revenir sur les expériences de FRAP et de diffraction des rayons X afin d'affiner l'interprétation des résultats. En particulier, la structure microscopique des dislocations vis doit permettre de comparer ne serait-ce que qualitativement les résultats obtenus par les deux techniques.

1) Organisation microscopique des défauts

Ayant identifié certains des défauts créés comme étant des boucles de dislocations de vecteur de Burgers 2, il convient de s'interroger sur la structure microscopique des défauts. Dans le chapitre d'introduction, nous avons discuté de l'existence de deux organisations microscopiques possibles correspondant à la description géométrique d'un tel défaut : la structure de type « escalier de Chambord » et la structure de type « poignée vis ». La figure IV-1 présente ces deux organisations.

¹⁷¹ En tout état de cause, il devrait être supérieur ou égal à 2.

¹⁷² J. A. N. Zasadzinski, J. Phys. France, 51, 1990, 747-756

¹⁷³ M. Allain, J. Phys. France, 46, 1985, 225

¹⁷⁴ M. Allain, Europhys. Lett, 2, 1986, 597

¹⁷⁵ M. Allain et M. Kléman, J. Physique, 48, 1987, 1799

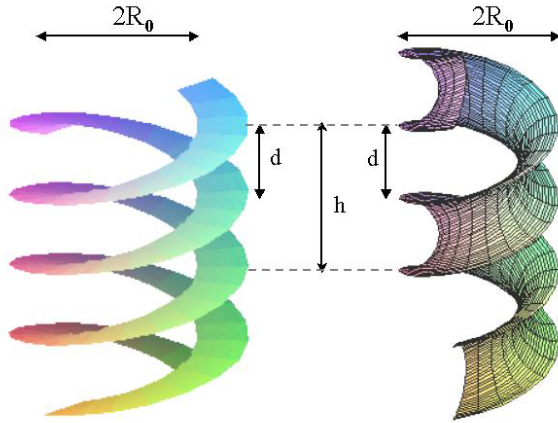


Figure IV-1. Représentation des deux visions microscopiques d'une dislocation vis de vecteur de Burgers 2π . (a) « Escalier de Chambord ». (b) « Poignée vis ». Les surfaces considérées sont tracées pour une membrane sans épaisseur.

Ces deux organisations doivent donner des évolutions différentes de certains paramètres du système. En particulier, on notera que la fraction volumique en eau dans les défauts doit être différente selon la structure des défauts. L'analyse de la diminution de la période smectique peut donc, en théorie, nous permettre d'identifier cette dernière.

L'évaluation de la fraction volumique en eau dans les défauts en fonction de leur organisation microscopique est explicitée en annexe C. On trouve :

- a) Pour une dislocation vis de type « escalier de Chambord »

$$\phi_{Deff} = 1 - 2 \frac{V_C}{V_T} \quad (10)$$

Avec V_C et V_T définis par les expressions :

$$V_C = \frac{1}{4} R \delta^2 \pi^2 - \frac{1}{6} \pi \delta^3 \quad (11)$$

$$V_T = 2 \pi R_0^2 d \quad (12)$$

et

$$R = \frac{1}{2} \sqrt{4R_0^2 + d^2} \quad (13)$$

Avec R_0 le rayon de la dislocation vis.

- b) Pour une dislocation vis de type « poignée vis » :

$$\phi_{Deff} = 1 - \frac{V_P}{V_T} \quad (14)$$

Avec V_T défini par l'expression (12) et V_P défini par :

$$V_P = R d \delta \pi^2 - \pi d^2 \delta - \frac{1}{3} \pi \delta^3 \quad (15)$$

R est défini par l'expression (13).

c) Interprétations

La figure IV-2 présente l'évolution de la fraction volumique en eau dans les deux types de défauts en fonction de leur rayon, R_0 , pour un échantillon dont le pas smectique est de 100 Å.

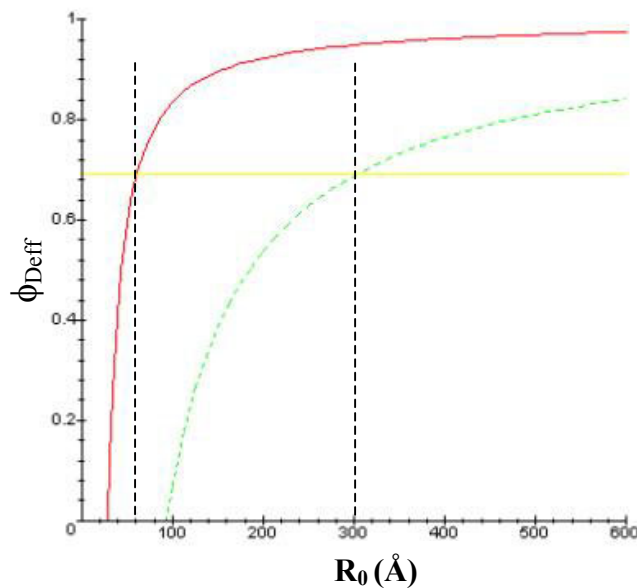


Figure IV-2. Evolution théorique de la fraction volumique en eau dans une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 de type « escalier de Chambord » (courbe pleine) ou de type « poignée vis » (ligne pointillée) en fonction du rayon R_0 du défaut. La ligne constante représente la fraction volumique en eau dans la phase lamellaire en l'absence de défauts.

La présence de dislocations vis n'entraînera une diminution du pas smectique que si la fraction volumique en eau dans le défaut est supérieure à la fraction volumique en eau entre les bicouches (celle-ci est représentée par la ligne constante sur la figure IV-2). Une dislocation vis de type « poignée vis » ne conduit à une diminution de la période lamellaire que pour des valeurs du rayon, R_0 , supérieures à 300 Å. Cette valeur limite n'est clairement pas compatible avec les valeurs estimées du rayon des dislocations vis en cryofracture ($R_0 \sim 75$ Å) ou par Olivier Dhez dans son modèle de diffraction par une dislocation vis ($R_0 \sim 60-70$ Å).

Å). La fraction volumique d'un défaut de type « escalier de Chambord », en revanche, permet d'expliquer la variation de la période smectique pour des valeurs du rayon raisonnables ($R_0 > 60 \text{ \AA}$). Cet argument permet de privilégier fortement l'hypothèse de boucles de dislocations de type « escalier de Chambord ».

Un autre argument vient renforcer cette hypothèse : dans un échantillon formulé avec davantage de DMPC et moins de $C_{12}E_5$ ($R_{s/l} \sim 2.8$, $\phi_m \sim 0.33$), des défauts de vecteur de Burgers 3 ont été observés. La figure IV-3 présente un tel défaut observé en microscopie électronique après cryofracture à 18°C et réplification.

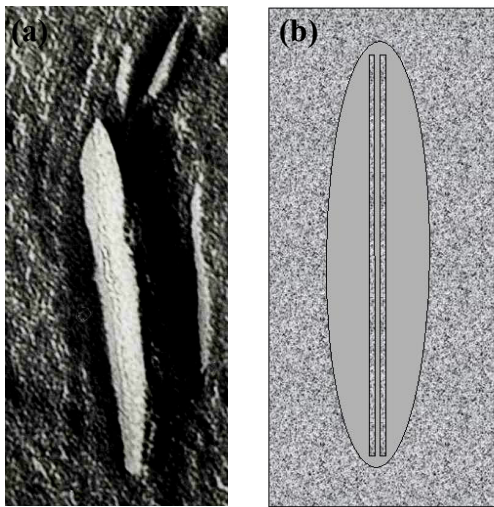


Figure IV-3. (a) Cliché obtenu en microscopie électronique après cryofracture à 18°C sur un échantillon formulé à $R_{s/l} \sim 2.8$ et $\phi_m \sim 0.33$. On distingue nettement deux lignes sombres au cœur du défaut, parallèles au grand axe de celui-ci. (b) Représentation schématique de la texture attendue pour une boucle de dislocations de vecteur de Burgers 3. Cette représentation présente les mêmes caractéristiques que le défaut observé en (a).

Si la description géométrique d'une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 est compatible avec les deux descriptions microscopiques proposées ci-dessus, on se convaincra aisément qu'une dislocation vis de vecteur de Burgers 3 est nécessairement formée de trois hélices alternées. Cette structure est donc de même nature que la structure « escalier de Chambord ». Cet argument vient renforcer l'hypothèse sur l'organisation microscopique des défauts formés.

On notera de plus que l'augmentation de la force du défaut lorsque l'on diminue la quantité de $C_{12}E_5$ semble confirmer l'hypothèse selon laquelle la variation de la courbure spontanée de ce dernier est responsable de la création des défauts.

2) Retour sur les expériences de FRAP et de diffraction des rayons X

Ayant identifié la nature et la structure des défauts, on peut désormais revenir sur les résultats obtenus en diffraction des rayons X et en retour de fluorescence (FRAP). En se basant sur les différents points détaillés ci-dessus, on peut définir les défauts excités comme des boucles de dislocations constituées, outre les deux dislocations coins, de deux dislocations vis de type « escalier de Chambord ». La figure IV-4 présente ce défaut.

On définit le rayon d'une dislocation vis en fonction du rayon du cœur aqueux du défaut par :

$$R_0 = R_C + \frac{\delta}{2} \quad (16)$$

La densité de défauts α extraite des mesures de pas smectique peut être vue comme une densité de cylindres aqueux de rayon R_C . Il convient alors de s'assurer que les résultats obtenus grâce au retour de fluorescence sont comparables, ne serait-ce que qualitativement. Ceci peut être fait pour l'échantillon étudié grâce aux deux techniques ($\phi_m=0.35$).

a) Premier modèle

En utilisant le modèle développé par P. Oswald⁹, on peut estimer la quantité de défauts en fonction des coefficients de diffusion mesurés. Afin de s'affranchir des évolutions des valeurs des viscosités pour l'eau et la bicouche ainsi que de l'influence de défauts en quantité indépendante de la température (domaine haute température), on considèrera le rapport $D_{\text{deff}}/D_{\perp}$, avec :

$$D_{\text{deff}} = D_{//} (T) - D_{//} (T=35^{\circ}\text{C}) \quad (17)$$

En considérant que les défauts sont des dislocations vis¹⁷⁶ infinies, dont le cœur est uniquement rempli d'eau, on peut écrire :

- Pour la partie lipidique d'une part :

$$D_{\text{deff}}/D_{\perp} = 6\pi (b/\xi)^2 [0.07+0.009 \ln(\xi/R_C)] \quad (18)$$

Où b est la force de la dislocation, R_C est le rayon du cœur aqueux (avec $R_C \sim b/2$ ¹⁷⁷) et ξ la distance moyenne entre deux dislocations. Si on pose α comme étant la densité surfacique de défauts dans l'échantillon, on peut écrire :

$$\alpha = R_C^2/\xi^2 \quad (19)$$

$$D_{\text{deff}}/D_{\perp} \sim 24 \pi \alpha [0.07+0.009 \ln(1/\alpha^{1/2})] \quad (20)$$

Cette contribution au coefficient de diffusion est due à la structure hélicoïdale des défauts.

- Pour la partie aqueuse d'autre part :

$$D_{\text{deff}}/D_{\perp} \sim \alpha + 24 \pi \alpha [0.07+0.009 \ln(1/\alpha^{1/2})] \quad (21)$$

Où le premier terme vient de la diffusion dans le cœur de la dislocation (constitué uniquement d'eau) et le deuxième est le même que pour la partie lipidique.

¹⁷⁶ on néglige l'influence des dislocations coins

¹⁷⁷ Le calcul de P. Oswald utilise cette approximation

Connaissant D_{def}/D_{\perp} et D_{\perp} , on peut donc extraire une densité de défauts correspondante. La figure IV-5 montre les valeurs de α obtenues en fonction de la température pour un marqueur membranaire (DHPE - FITC) et pour le marqueur hydrophile.

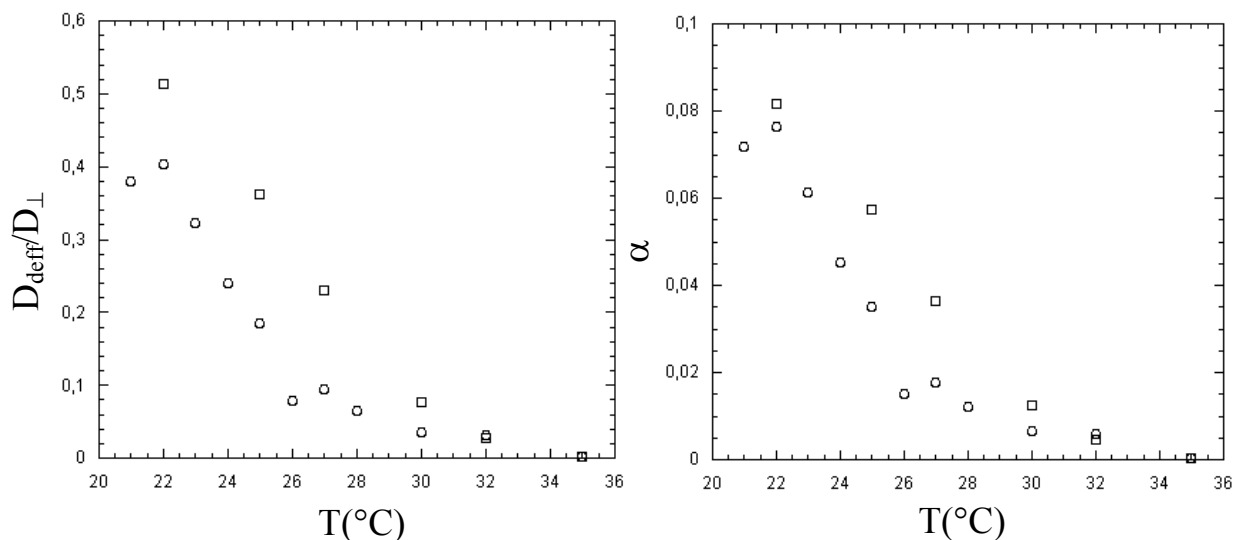


Figure IV-5. (a) Evolution de D_{def}/D_{\perp} en fonction de la température pour le marqueur membranaire (○) et la calcéine (□). (b) Densités de défauts extraites pour le lipide (expression (20)) et pour le marqueur hydrosoluble (expression (21)).

La densité de défauts extraite pour le marqueur membranaire est légèrement plus faible que celle obtenue pour la calcéine. Il est donc possible que d'autres défauts, connectant uniquement la phase aqueuse, soient présents dans l'échantillon. Cependant, on remarquera que cette analyse repose sur des approximations (rayon de cœur exclusivement rempli d'eau et égal à $b/2$) pouvant influencer fortement les valeurs obtenues.

Les valeurs de α extraites en diffraction des rayons X sont plus importantes que celles obtenues grâce à la technique de FRAP dans l'hypothèse de défauts de vecteur de Burgers 2 (approximativement un facteur 2). Le modèle utilisé ne permet donc pas de rendre de compte de manière quantitative des évolutions des coefficients de diffusion mesurés en retour de fluorescence. Il rend cependant qualitativement compte de ces évolutions. On notera que les simulations numériques citées au début de ce chapitre semblent indiquer que les expressions (20) et (21) surestime la variation de D_{def}/D_{\perp} pour une quantité de défauts donnée ce qui semble en accord avec notre analyse.

b) Modèle de boucles de dislocations

L'existence de boucles de dislocations permet la comparaison des résultats des expériences de retour de fluorescence et de diffraction des rayons X sous un autre jour. En effet, l'existence de tels défauts va créer différents modes possibles de diffusion dans la direction d'empilement des couches. Outre la diffusion dans le cœur aqueux des défauts discutée ci-dessus, les boucles vont créer des « rampes » permettant aux marqueurs de changer de progresser dans la direction d'empilement sans changer de couche. La figure IV-6 illustre ce phénomène.

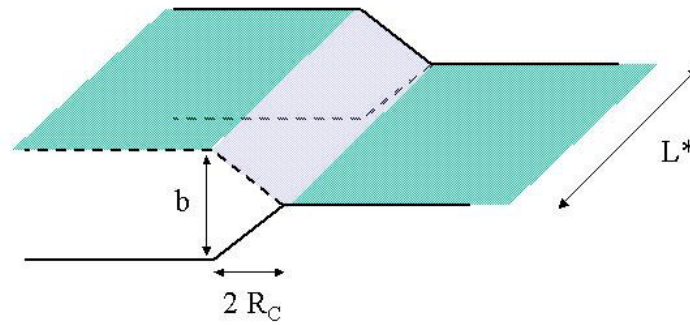


Figure IV-6. Représentation schématique d'une boucle de dislocations (perspective).
Lorsqu'un marqueur diffuse à travers un tel objet, il progresse de b dans la direction d'empilement des couches.

Ce mode de diffusion, si il doit être négligeable lorsque les boucles de dislocations sont de taille limitée, peut devenir prépondérant lorsque cette dernière devient grande devant la taille du cœur aqueux des dislocations vis. L'influence de ce mode de diffusion est discutée en annexe C (II). La contribution des rampes formées par les boucles de dislocations à la diffusion pour les deux types de marqueurs est donnée par l'expression suivante :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} \approx \frac{L^* \alpha b^2}{\pi R_C (b^2 + 4 R_C^2)} \quad (22)$$

Pour la partie aqueuse, il convient d'ajouter à l'expression (22) un terme correspondant à la diffusion dans le cœur des défauts. On a alors :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} \approx \alpha + \frac{L^* \alpha b^2}{\pi R_C (b^2 + 4 R_C^2)} \quad (23)$$

La figure IV-7 présente l'évolution des rapports des coefficients de diffusion parallèles et perpendiculaires pour les deux types de sondes prédit par les expressions (22) et (23) pour des boucles de dislocations de vecteur de Burgers 2 dont les dislocations coins sont espacées d'une distance $L^* = 900 \text{ \AA}$ (ce qui correspond à la tailles des boucles mesurée à 24°C), pour un rayon du cœur aqueux des défauts égal à 55 \AA . Connaissant D_{def}/D_{\perp} à cette température, on peut extraire une densité de défauts pour les deux types de sondes.

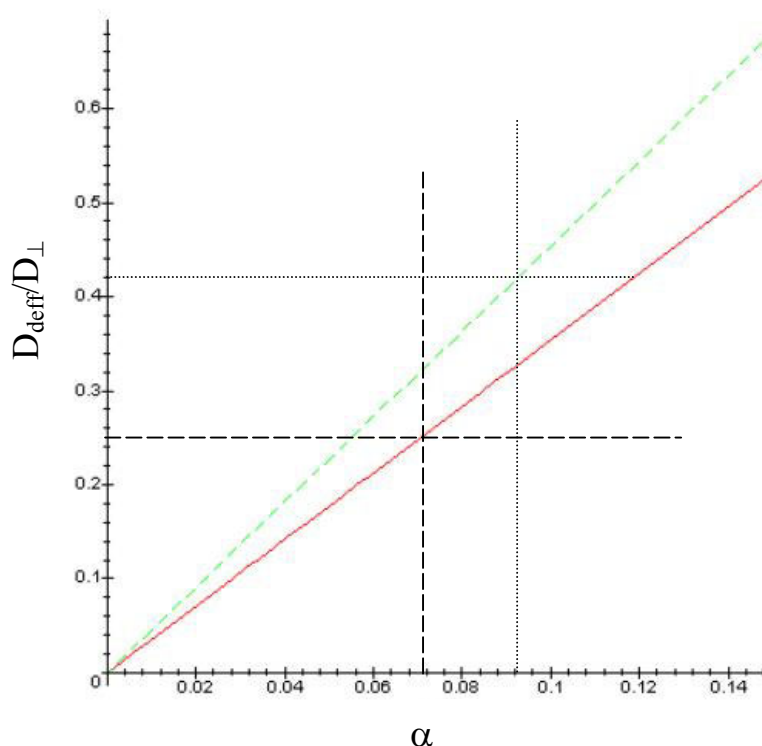


Figure IV-7. Evolution des rapports des coefficients de diffusion parallèle et perpendiculaires (D_{\parallel}/D_{\perp}) pour les deux types de marqueurs en fonction de la fraction volumique en défaut, α . Ligne pointillée : marqueur hydrosoluble. Ligne pleine : marqueur membranaire. Les différents paramètres sont : $L^* = 900 \text{ \AA}$, $b = 160 \text{ \AA}$ ($2d$), $R_C = 55 \text{ \AA}$. La taille des défauts est celle extraite des expériences de cryofracture à 24°C . Les densités de défauts correspondantes sont : $\alpha \sim 0.07$ pour le marqueur membranaire et $\alpha \sim 0.09$ pour le marqueur hydrophile.

Les valeurs de α extraites grâce à ce modèle ($\alpha \sim 0.07$ pour le marqueur membranaire et $\alpha \sim 0.09$ pour le marqueur hydrophile) sont sensiblement inférieures à la valeur extraite des expériences de diffraction des rayons X à cette température ($\alpha \sim 0.15$). Ce modèle est, bien entendu, très rudimentaire et il ne prend pas en compte, par exemple, la courbure des membranes autour des boucles de dislocations ou la taille finie des dislocations vis. Il est donc peu surprenant que les valeurs de densités de défauts extraites soient différentes de celles obtenues en diffraction des rayons X par exemple. Une modélisation plus complète devrait cependant permettre de comparer ces résultats de manière quantitative.

2) conclusion

La mise en évidence de la nature et de la structure des défauts a permis de vérifier que les valeurs des densités de défaut extraites par différentes techniques étaient qualitativement comparables. Il serait particulièrement intéressant d'approfondir le modèle de diffusion induite par les boucles de dislocations en incluant la courbure des couches au voisinage des défauts. Un tel modèle devrait permettre de rendre compte quantitativement de l'influence des défauts sur les propriétés de diffusion d'une sonde dans la direction d'empilement des couches.

Ayant caractérisé les défauts créés, nous allons maintenant nous intéresser à leur organisation. On notera que les défauts observés figure III-3 sont tous orientés dans la même

direction. Cette caractéristique semble générale à tous les clichés obtenus à cette température (24°C). Les défauts s'orientent les uns par rapport aux autres selon un ordre de type nématique. Les défauts identifiés à 27°C ne sont, en revanche, pas orientés.

La phase lamellaire observée à 24°C semble donc biaxe : un axe d'empilement des bicouches avec un ordre de position à longue portée (normale aux couches) et un axe correspondant à l'orientation privilégiée des boucles de dislocation (axe nématique) dans le plan des couches. Cette observation indique une brisure de symétrie, et donc une transition de phase entre la phase smectique haute température (phase L_α classique) et la phase smectique à l'approche de la transition.

V - Mise en évidence et caractérisation d'une phase smectique biaxe lyotrope

La figure III-3 montre une orientation privilégiée des boucles de dislocations dans la phase smectique. Cet ordre d'orientation (nématique), associé au caractère smectique de la phase en fait un équivalent, du point de vue des symétries, des phases smectiques biaxes dans les cristaux liquides thermotropes¹⁷⁸. Il convient alors de préciser les caractéristiques de cette nouvelle phase.

1) Retour sur la cryofracture

La figure V-1 présente une image obtenue en cryofracture à 24°C à grande échelle. Elle montre que l'ordre d'orientation des boucles est un ordre à longue portée. La figure V-1 (b) présente la transformée de Fourier de la zone indiquée sur l'image V-1 (a). Le signal obtenu est fortement anisotrope ce qui est caractéristique d'une orientation privilégiée.

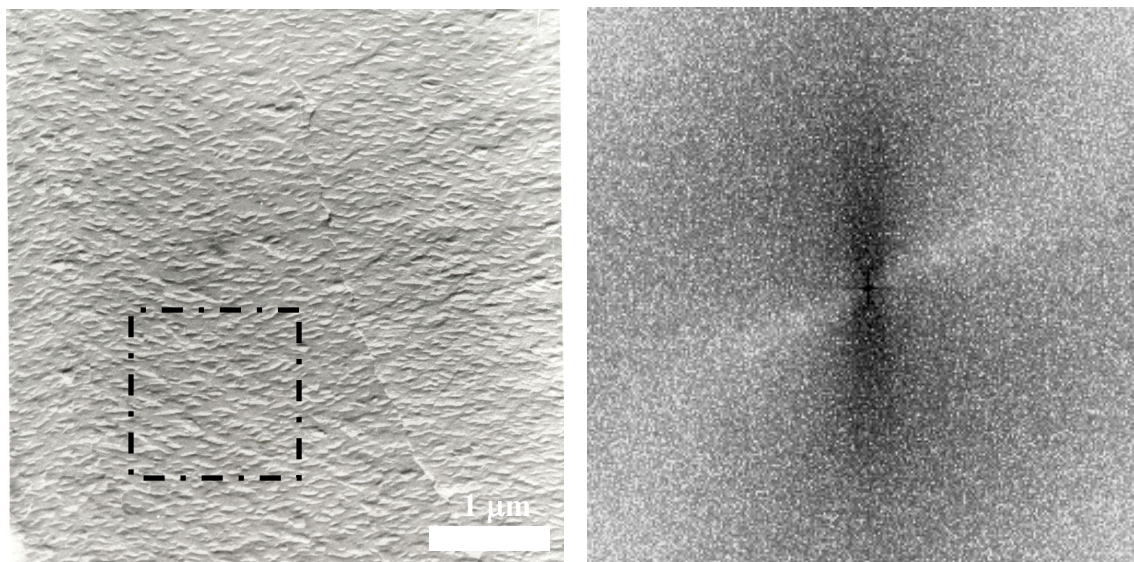


Figure V-1. (a) Image en microscopie électronique d'un échantillon fracturé à 24°C. On observe un grand nombre de défauts anisotropes orientés à grande échelle. (b) La transformée de Fourier (FFT) de l'image est fortement anisotrope.

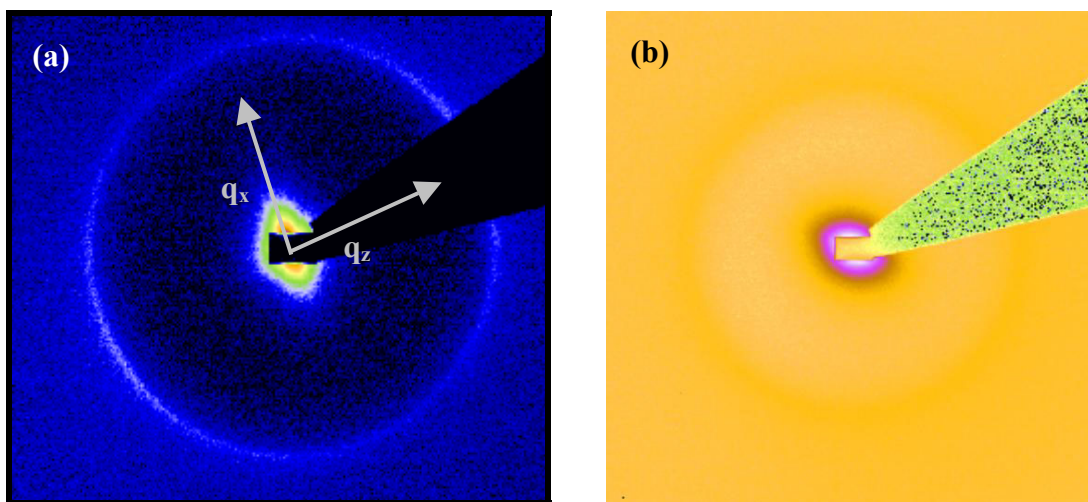
¹⁷⁸ P. G. de Gennes, The Physics of Liquid Crystals, Oxford University Press, 1974

Une autre observation peut être faite sur l'image de la figure V-1 (a) : tous les défauts présents ont le même sens d'ombrage (bande blanche en haut, bande noire en bas) ce qui signifie que tous présentent le même type de profil lors de la fracture, par exemple un relief vers le bas et un creux vers le haut. Cette constatation incite à penser que tous les défauts sont donc non seulement orientés mais aussi polarisés : toutes les dislocations droites sont du même côté, toutes les gauches de l'autre. Cette observation reste cependant à confirmer. On remarquera qu'une telle hypothèse n'est pas illogique puisqu'une boucle de dislocation est un objet polarisé ¹⁷⁹.

Les expériences de cryofractures ont permis de mettre en évidence l'existence d'une phase intermédiaire entre la phase smectique A et la phase cholestérique. La nature de cette phase reste à caractériser même si les symétries observées sur les clichés indiquent clairement qu'il doit s'agir d'une phase de type smectique C orthogonale (axe nématique dans le plan des couches).

2) Diffusion anisotrope aux petits angles

La figure V-2 présente les figures de diffraction des rayons X obtenues sur un échantillon à $\phi_m=0.33$ pour deux températures : 22.6°C et 18.0°C. Sur la figure V-2 (a), l'anneau est le premier ordre de diffraction correspondant à l'empilement smectique, l'échantillon est orienté majoritairement selon q_z . Aux petits vecteurs d'onde, il apparaît clairement une forte diffusion diffuse anisotrope, orientée dans la direction perpendiculaire à l'axe d'empilement des couches, q_x . En orientation homéotrope (axe du faisceau perpendiculaire au plan des couches), on observe toujours cette diffusion diffuse anisotrope (b). En revanche, dans la phase cholestérique, la diffusion diffuse n'est plus présente (c).



¹⁷⁹ Du fait du caractère chiral des deux dislocations vis

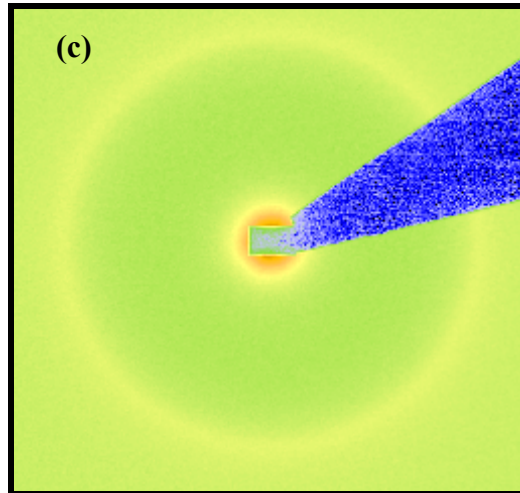
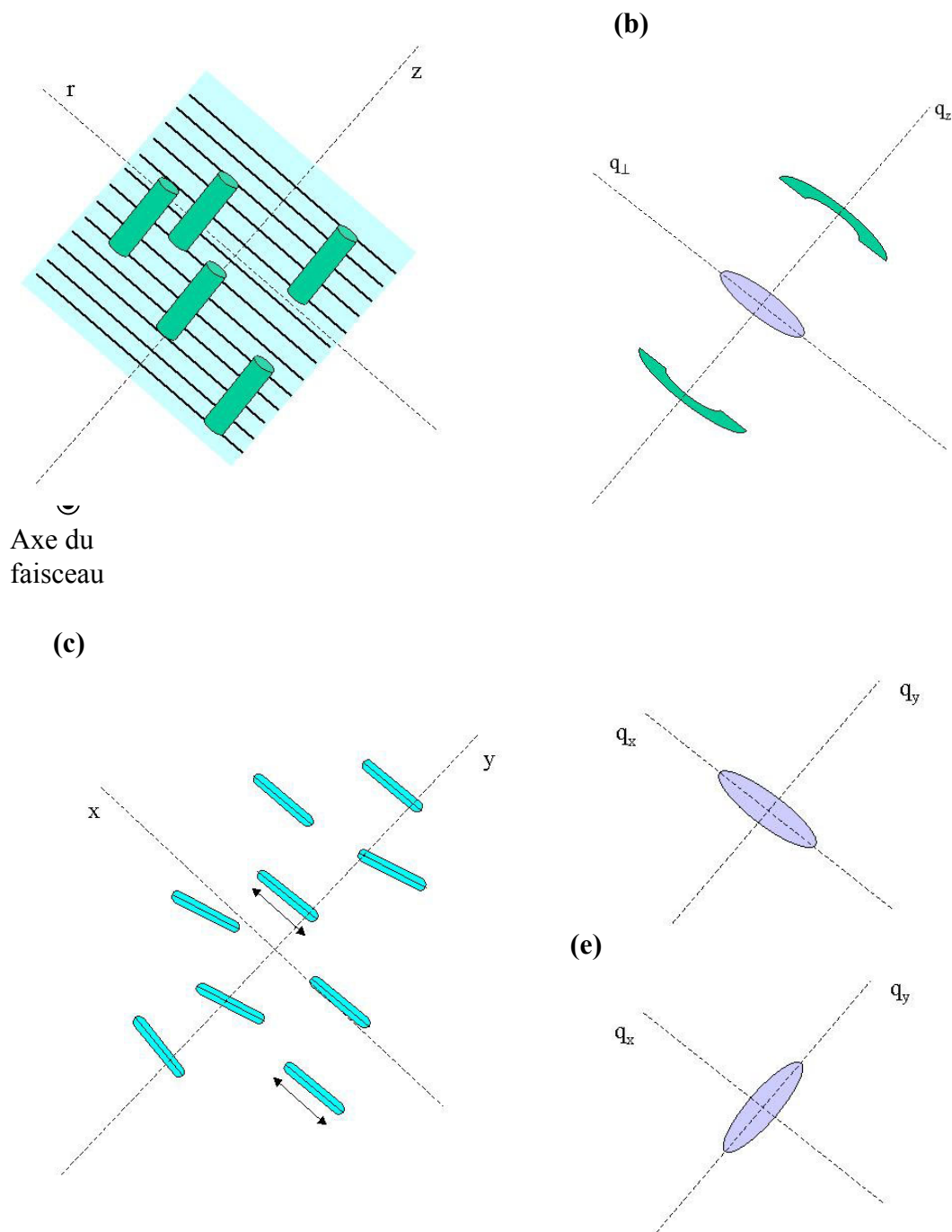


Figure V-2. Figures de diffraction obtenues sur un échantillon à $\phi_m=0.33$. (Intensités en log). $T = 22.6^\circ\text{C}$. (a) Le smectique est orienté majoritairement selon q_z (orientation planaire dans le capillaire). Aux petits vecteurs d'onde, on observe une diffusion diffuse fortement anisotrope. (b) Échantillon orienté en géométrie homéotrope. La diffusion diffuse est également anisotrope dans le plan des couches. (c) Échantillon cholestérique ($T=18^\circ\text{C}$), la diffusion diffuse n'est pas présente dans la phase cholestérique.

La figure V-3 présente les organisations possibles correspondantes aux figures de diffraction (a) et (b) de la figure V-2.



perpendiculairement au directeur. L'axe de faisceau incident est perpendiculaire au plan de feuille. (b) Signal correspondant en diffraction des rayons X : deux tâches de diffractions correspondant à l'empilement smectique selon q_z et un signal anisotrope aux petits vecteurs d'onde. (c) Echantillon orienté en géométrie homéotrope. (d) La diffusion diffuse peut correspondre au facteur de structure des dislocations vis au sein d'une boucle. (e) Elle peut également être interprétée comme le facteur de structure nématique des boucles de dislocations.

Une distribution d'objets perpendiculaires au plan des couches (a) peut expliquer le signal obtenu en orientation planaire (b). Une organisation, ou une structure anisotrope de ces objets permet d'interpréter les données obtenues en géométrie homéotrope (c) (d) (e). Des spectres V-2 (a) et (b), on peut donc déduire que la diffusion diffuse aux faibles vecteurs d'onde correspond à une organisation selon un axe privilégié dans le plan des couches d'objets orientés selon la normale aux couches. Cette organisation peut être interprétée comme le facteur de structure (nématique) des boucles de dislocations (figure V-3 (e)). Elle peut également être due au facteur de structure des deux dislocations vis de chaque boucle (figure V-3 (d)). Ce type de signal a été prédit par R. D. Kamien et T. C. Lubensky pour un smectique ponctué de boucles de dislocations excitées thermiquement à l'approche d'une transition smectique – nématique¹⁸⁰. Les données en notre possession ne permettent pas, à ce jour, de trancher entre les deux possibilités. Cette diffusion anisotrope n'est pas présente à basse température dans la phase cholestérique.

La distance caractéristique extraite des spectres obtenus dans une configuration plus appropriée à l'étude de cette diffusion est de l'ordre de 130 nm à 22.6°C ce qui est proche de la distance moyenne entre boucles de dislocations mesurée en cryofracture (~ 100 nm) à 24°C mais également proche de la taille caractéristique de ces boucles (~ 80 - 100 nm).

De nouvelles expériences sont nécessaires afin de préciser l'origine exacte de cette diffusion diffuse. Cependant, ce type de spectre confirme sans ambiguïté le caractère biaxe orthogonal de la phase lamellaire à l'approche de la transition smectique - cholestérique.

3) Microscopie en lumière polarisée

L'observation de la transition smectique A - smectique C en microscopie en lumière polarisée n'est pas aisée. En effet, l'échantillon s'oriente fortement en configuration homéotrope à l'approche de la transition smectique-nématique. Le caractère biaxe est alors difficilement observable puisque la texture apparaît uniformément noire.

On observe cependant, dans les zones homéotropes, en dessous de 25°C, une faible opalescence (flickering). Cette modulation d'intensité pourrait être liée aux fluctuations du directeur nématique de boucles de défauts. Cette propriété des smectiques biaxes est bien connue dans les systèmes thermotropes^{181, 182}.

Pour observer le caractère biaxe, il faut réorienter le smectique, par exemple en le cisillant. La figure V-4 présente quelques images obtenues en microscopie en lumière polarisée après un tel cisaillement.

¹⁸⁰ R. D. Kamien et T. C. Lubensky, J. Phys. II France 7, 1997, 157-163

¹⁸¹ P. G. de Gennes, The Physics of Liquid Crystals, 1974, Oxford University Press, 277

¹⁸² Y. Galerne et al., Phys. Rev. Lett. 29, 1971, 561

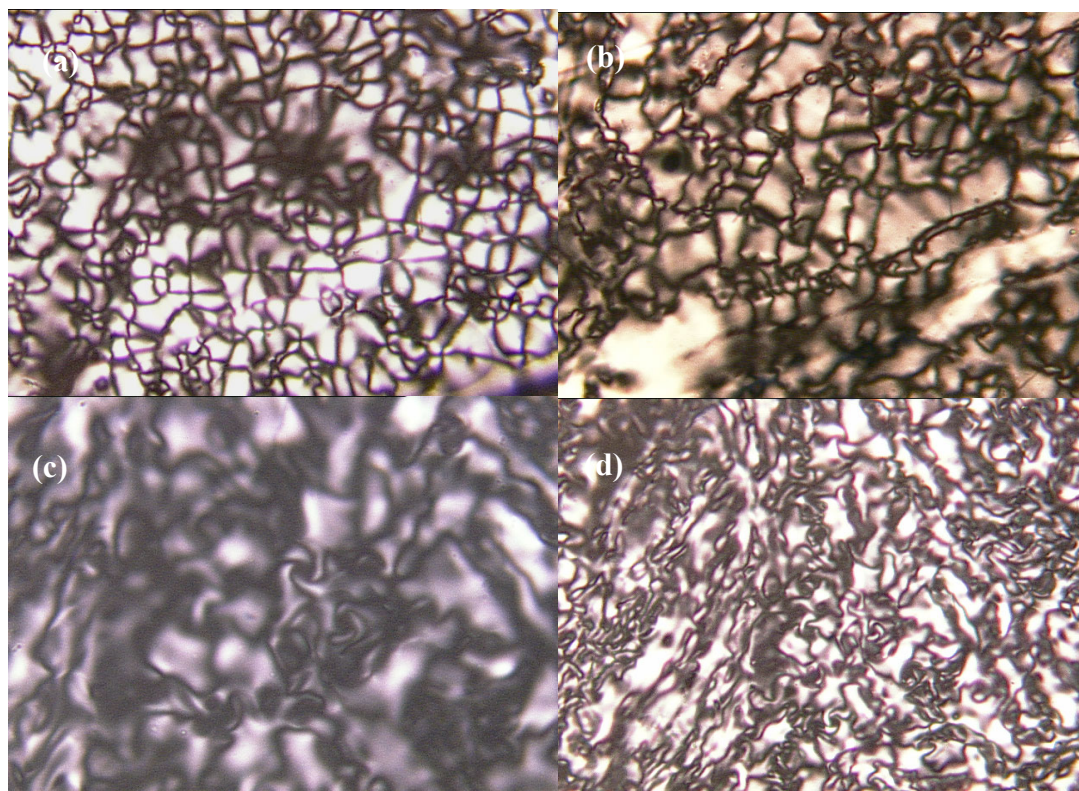


Figure V-4. Images entre polariseur et analyseur croisés de la phase lamellaire au dessus de la transition smectique-nématique. (a) 24°C texture « schlieren ». Tous les défauts possèdent quatre branches, (b) 22.5°C idem, (c) 22.0°C texture schlieren (4 branches ?), (d) 21°C texture schlieren.

Entre 24 et 21°C, on observe une texture schlieren caractérisée (au moins entre 24 et 22°C) par l'existence de défauts à quatre branches uniquement. Ce type de texture apparaît dans un domaine où l'échantillon est clairement smectique (diffraction des rayons X). La texture et l'organisation en couche de l'échantillon sont compatibles avec l'hypothèse d'une phase smectique biaxe. On notera que ces observations doivent cependant être prises avec précaution. En effet, les phases lamellaires lyotropes classiques, de type L_{α} , présentent très souvent des textures schlieren.

4) Conclusion

L'existence de phases de symétrie smectique C dans les systèmes lyotropes est extrêmement rare. On notera l'existence d'un système thermotrope, qui, dilué dans l'eau subit une transition smectique A - smectique C ¹⁸³. L'explication probable à cette rareté est la difficulté à propager une interaction selon l'axe d'empilement des couches du fait de la présence de solvant entre les membranes.

La phase lamellaire du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O à l'approche de la transition smectique - nématique semble correspondre à la description d'une phase smectique C orthogonale ¹⁸⁴. Cette phase peut être décrite comme une phase nématique de boucles de dislocations dont le directeur est dans le plan des couches. Elle est donc smectique et biaxe orthogonale. A notre connaissance, deux types de symétries smectiques biaxes orthogonales

¹⁸³ S. Ujiie et Y. Yano, Chem. Comm., 2000, 79-80

¹⁸⁴ Axe nématique dans le plan des couches

sont recensées dans les phases smectiques : la symétrie C_M ¹⁸⁵ et la symétrie C_P ¹⁸⁶ (voir figure V-5). La symétrie C_M autorise les défauts de texture nématique de force $S = \pm 1/2$ tandis que la C_P les interdit. De plus, la symétrie C_P possède des propriétés de polarisation spontanée compatibles avec la polarisation possible des boucles de dislocations observée en cryofracture. A ce point de l'étude, c'est donc l'hypothèse d'une phase smectique C_P qui est privilégiée. Une étude plus approfondie permettrait de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. En particulier l'existence de propriétés ferroélectriques ou anti-ferroélectriques serait riche d'enseignement.

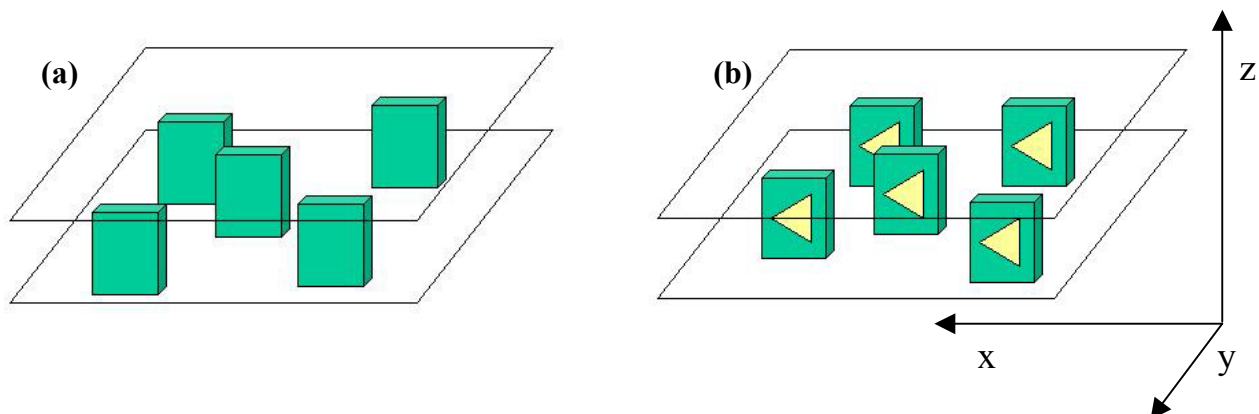


Figure V-5. Présentation des symétries smectique C pouvant correspondre à l'orientation des boucles de dislocations. Les couches sont empilées selon l'axe z . (a) Symétrie smectique C_M . La phase possédant cette symétrie est invariante par rapport à son image par rapport au plan (y,z) . (b) Symétrie smectique C_P . Elle n'est plus invariante par rapport au plan (y,z) . Selon que les boucles de dislocations sont polarisées ou non, la symétrie de la phase sera C_M ou C_P respectivement.

VI – Conclusion

L'étude de la phase lamellaire a permis de confirmer largement l'hypothèse faite par O. Dhez de la création, en grande quantité, de boucles de dislocations à l'approche de la transition smectique-nématique dans le système DMPC/ $C_{12}E_5/H_2O$.

L'existence de boucles de dislocations, qui peuvent être décrites comme des boucles de vortex appariés excités thermiquement, nous invite à regarder la transition smectique-nématique du système étudié comme un nouvel exemple de transition induite par le débouclage de paires vortex¹⁸⁷. De nombreux systèmes ont, en effet, été étudiés sous cette approche : transition superfluide – fluide¹⁸⁸, transition supraconducteur – conducteur normal^{189, 190}, transition smectique-nématique dans les cristaux liquides thermotropes¹⁹¹.

De plus, en descente de température, ces défauts s'orientent, probablement via des interactions élastiques. La phase de défauts orientés est biaxe (axe d'empilement smectique et

¹⁸⁵ Décrite par Mc Millan. H. Leube et H. Finkelmann, Makromol. Chem., 192, 1991, 1317

¹⁸⁶ H. R. Brand et al., Macromolecules, 25, 1992, 7223

¹⁸⁷ Transition de type Kosterlitz-Thouless. J.M. Kosterlitz et D. J. Thouless, J. Phys. C, 6, 1973, 1181

¹⁸⁸ R. P. Feynman, Application of Quantum Mechanics to Liquid Helium : Progress in Low Temperature Physics (Vol. I), Amsterdam, 1955

¹⁸⁹ A. A. Abrikosov, Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 86, 1952, 489

¹⁹⁰ V. L. Ginzburg & L.D. Landau, Zh. Eksp. Teor. Fiz. 20, 1064 (1950)

¹⁹¹ Renn & Lubensky, Physical Review A, 38, 4, 2132 1988

axe nématique d'orientation des boucles de dislocations). La symétrie du système est alors celle d'une phase smectique C orthogonale. Des expériences complémentaires doivent être menées pour préciser la structure de cette phase. Ces résultats nous permettent de préciser le diagramme de phase du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O. La figure VI-1 présente le diagramme de phase incluant la phase smectique C (L_C).

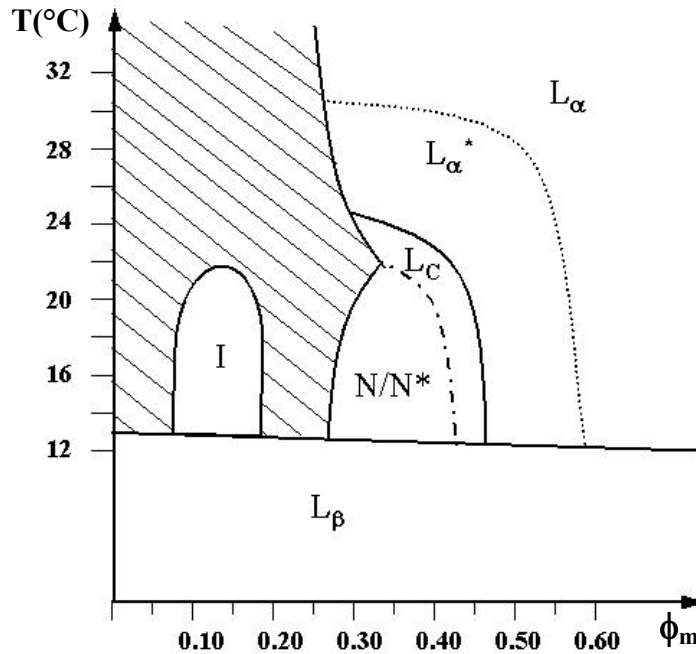


Figure VI-1. Diagramme de phase du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O pour un rapport $R_{s/l} = 3.1$. La phase smectique C (L_C) vient s'insérer entre la phase L_α et la phase cholestérique. La phase notée L_α* n'est pas une phase à proprement parlé (elle possède toujours la symétrie d'une phase smectique A), elle indique uniquement la phase lamellaire percée de boucles de dislocations non orientées.

L'existence d'une phase smectique biaxe entre la phase L_α et la phase nématique/cholestérique est très motivante. En effet, l'analogie entre les transitions supraconducteur - conducteur normal et smectique-nématique présentée au chapitre précédent prévoit l'apparition de nouvelles phases à proximité du point triple NAC (nématique, smectique A, smectique C), en présence de chiralité. Le système DMPC/C₁₂E₅/H₂O semble présenter ces trois phases dans un domaine restreint de son diagramme de phase. Si la description microscopique actuelle de cette nouvelle phase ne correspond pas de manière évidente à l'une des phases smectiques C connues dans les systèmes thermotropes, les propriétés de celle-ci doivent cependant être compatibles avec l'analogie présentée dans le chapitre précédent. En particulier, l'orientation, à longue portée, des boucles de dislocations peut être interprétée comme liée à la longueur de pénétration de la torsion intervenant dans le paramètre K de la transition. L'existence de phases TGB lyotropes est donc envisageable.

Plus généralement, il convient de s'interroger sur la nature de la phase nématique/cholestérique de ce système. En particulier, une vision microscopique pertinente de la transition smectique-nématique en terme de boucles de dislocations reste à valider.

B – Etude de la transition smectique – cholestérique. Transition smectique – nématique au voisinage d’un point triple NAC dans un système lyotrope

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons confirmé l’apparition de boucles de dislocations dans la phase smectique à l’approche de la transition smectique - nématique. Nous avons également mis en évidence l’existence d’une phase intermédiaire entre la phase L_α (de symétrie smectique A) et la phase cholestérique/nématique. Cette phase apparaît comme un équivalent, d’un point de vue des symétries, d’une phase smectique C dans les cristaux liquides thermotropes. Ce chapitre est consacré à la description de la phase cholestérique et de la transition smectique – nématique du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O.

Après un bref rappel bibliographique sur les phases nématiques/cholestériques lyotropes, la transition smectique nématique est étudiée par diffraction des rayons X et en microscopie en lumière polarisée. Le FRAP est ensuite utilisé pour sonder l’organisation des différentes phases. Une analyse de l’évolution du pas cholestérique est alors détaillée en terme de densité de défauts. L’influence de la proximité d’un point triple NAC sur les propriétés de la transition smectique-nématique dans les systèmes thermotropes nous invite, dans la dernière partie, à rechercher de nouvelles phases et notamment des phases TGB et plus généralement à étudier la nature de la transition smectique/cholestérique dans notre système.

I - Nature de la phase nématique/cholestérique

1) Phases nématiques lyotropes

Si, dans les cristaux liquides thermotropes (généralement formulés à partir d’une seule molécule), l’unité de base des mésophases est la molécule, la nature de cette « brique élémentaire » n’est pas évidente pour les cristaux liquides lyotropes. Pour ces systèmes, en effet, l’existence de deux milieux continus (solvant et membrane) permet d’exclure la vision moléculaire adoptée pour les cristaux liquides thermotropes.

Les premiers systèmes nématiques lyotropes de composés amphiphiles en solution dans l’eau ont été découverts par Flautt¹⁹² et Rosevear¹⁹³. Depuis, d’autres systèmes nématiques lyotropes ont été caractérisés. Ces systèmes sont généralement préparés à partir d’un mélange de deux molécules tensioactives dont les propriétés de courbure sont différentes¹⁹⁴. L’identification d’une phase nématique se fait comme pour les cristaux liquides thermotropes par l’observation en microscopie en lumière polarisée^{195, 196}, en diffraction des rayons X¹⁹⁷ ou par ses propriétés d’alignement en présence d’un champ magnétique¹⁹⁸.

Il est aujourd’hui bien établi que plusieurs systèmes lyotropes possèdent une transition smectique-nématique. Pour ces systèmes, l’ajout d’un composé chiral entraîne une torsion de type cholestérique dans la phase nématique. L’hypothèse dominante sur la nature de ces phases nématiques/cholestériques est, qu’à la transition, la membrane de la phase lamellaire se sépare en micelles anisotropes (ou bicelles, cf. figure I-1 (a)) ayant la forme de disques de lipides. La phase nématique/cholestérique est alors vue, par analogie avec les cristaux liquides

¹⁹² K. D. Lawson et T.J. Flautt, J. Am. Chem. Soc., 89, 1967, 5490

¹⁹³ F. B. Rosevear, J. Soc. Cosmet. Chem. 19, 1968, 581

¹⁹⁴ N. Boden, dans *Micelles, membranes, microemulsions and monolayers*, Springer, 1994

¹⁹⁵ K. Radley et A. Saupe, Mol. Phys., 35, 1978, 1405

¹⁹⁶ L. J. Yu et al., J. Am. Chem. Soc., 102, 1980 4879

¹⁹⁷ L. Q. Amaral et al., Mol. Cryst. Liq. Cryst. Lett., 56, 1980, 203

¹⁹⁸ B. J. Forrest et al., Chem. Rev., 81, 1981, 1

thermotropes discotiques ¹⁹⁹ comme un liquide de disques possédant un ordre d'orientation sans ordre de position (cf. figure I-1 (b)). Dans la phase nématique, les bicelles sont orientées les unes par rapport aux autres le long de l'axe perpendiculaire à leur surface (le directeur).

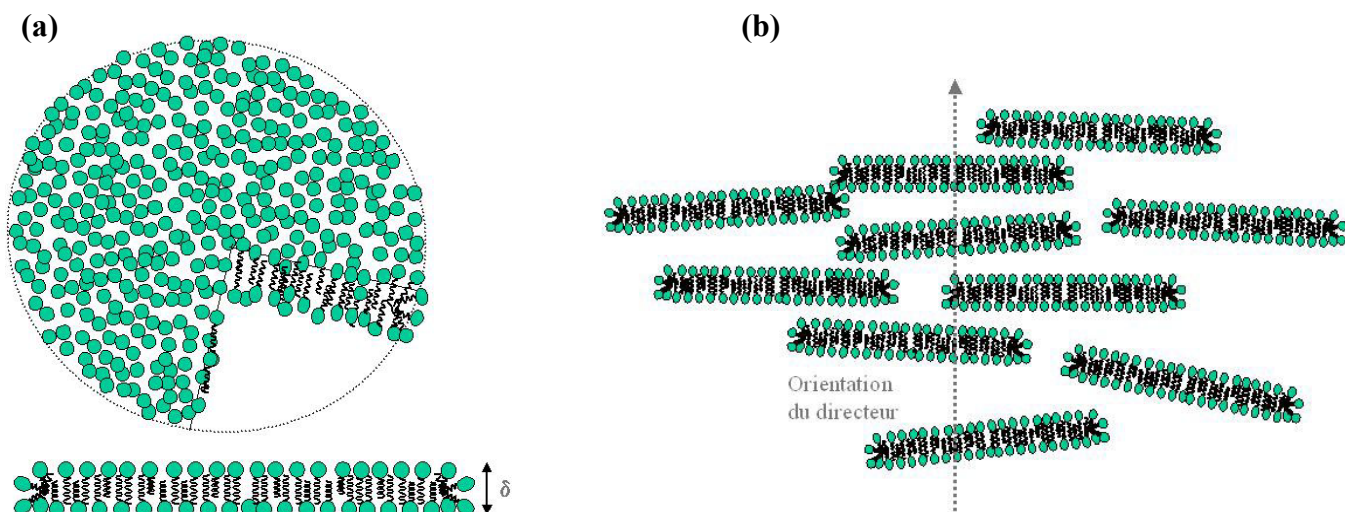


Figure I-1. (a) Représentation schématique d'une bicelle. Il s'agit d'un disque de lipide, de l'épaisseur d'une bicouche (δ). (b) représentation schématique d'une phase nématique de bicelles. Les bicelles s'orientent dans la direction perpendiculaire à leurs surfaces. D'après la littérature, une bicelle mesure entre 10 et 80 nm ³⁹.

L'un des arguments majeur sous-tendant l'existence des bicelles est la forte courbure détectée à l'approche et au delà de la transition sur des échantillons orientés ²⁰⁰. Cette courbure est interprétée par les auteurs comme étant la conséquence de la destruction de la membrane en bicelles (qui doivent en effet être fortement courbées sur leurs bords). Un autre argument avancé est la texture des images obtenues en cryofracture dans la phase nématique ^{201, 202}. La figure I-2 présente deux clichés obtenus en microscopie électronique après cryofracture d'un échantillon de chlorure de décylammonium/chlorure d'ammonium/H₂O ⁴⁷. Cette texture semble montrer des objets distincts décrits par les auteurs comme étant des disques de lipides. De plus, ces disques sont toujours présents à plus basse température dans la phase smectique. La transition smectique-nématique est interprétée comme une condensation, sous forme de plans régulièrement espacés, de bicelles (b).

¹⁹⁹ En forme de disques. Se dit par opposition aux systèmes calamitiques (« en forme de bâtonnets »)

²⁰⁰ Ref RMN

²⁰¹ J. A. N. Zasadzinski et al., Ordering and Organization in Ionic Solutions, World Scientific Press, 355 - 364

²⁰² J. A. N. Zasadzinski et S. Bailey, J. of Elec. Micro. Tech., 13, 1989, 309

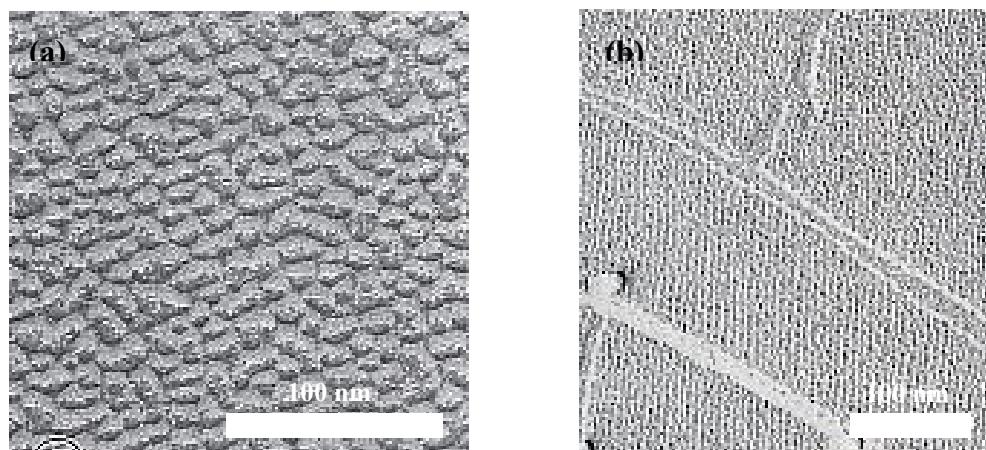


Figure I-2. Images en microscopie électronique obtenues sur des répliques d'un échantillon du système chlorure de décylammonium/chlorure d'ammonium/H₂O⁴⁷. (a) Phase nématique de bicelles à 41°C. La texture observée est caractérisée par des objets anisotropes identifiés comme étant des bicelles. (b) Phase lamellaire juste en dessous de la transition smectique – nématique (27°C). L'aspect rugueux et ordonné de la phase lamellaire semble indiquer que les micelles se sont condensées pour former des bicouches.

La phase cholestérique (N*) est une phase possédant un ordre local de type nématique (N). L'existence d'une torsion n'est due qu'à l'excès de l'un des deux énantiomères d'une molécule chirale. Si les mécanismes microscopiques qui conduisent à l'apparition d'une torsion restent mal compris, de nombreuses études ont porté sur les propriétés des phases cholestériques thermotropes²⁰³ et lyotropes²⁰⁴. Une phase cholestérique de bicelles est vue, toujours par analogie avec les cristaux liquides thermotropes discotiques²⁰⁵, comme un nématique de disques de molécules tensioactives dont le directeur tourne de 2π , sur une distance P_0 , le long d'un axe privilégié, **P** (figure I-3).

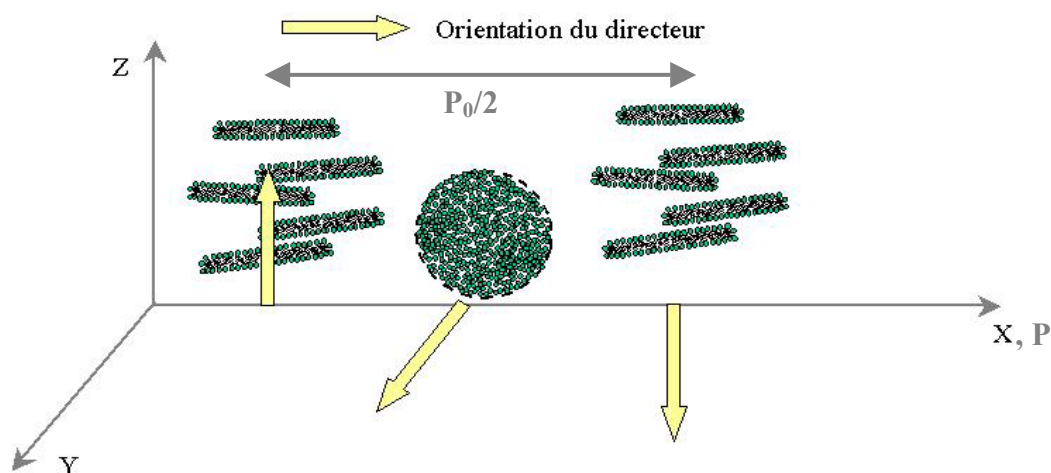


Figure I-3. Représentation schématique d'une phase cholestérique de bicelles sur une distance correspondante à un demi pas.

²⁰³ H.S. Kitzerow et al., Chirality in Liquid Crystals, Springer, 2001 (revue sur les phases chirales thermotropes)

²⁰⁴ H. Dörfler, Adv. In Coll. And Interface Sci., 98, 2002, 285-340 (revue sur les phases chirales lyotropes)

²⁰⁵ Dont les molécules ont une forme de disque

On remarquera que si l'idée d'une phase nématique de disques de lipides, séparés par du solvant, n'a rien de déroutante, *a priori*, l'idée d'une propagation de la torsion à longue portée dans un tel système semble plus improbable. L'explication donnée à l'existence d'une torsion macroscopique est liée à l'existence supposée d'un pontage (liaisons hydrogènes) entre molécules chirales d'une bicelle à l'autre. Bien que des études aient révélé la présence de dislocations vis dans ces systèmes, celles-ci sont, semble-t-il, présentes en quantités beaucoup plus faibles que dans le système DMPC/C₁₂E₅/H₂O.

L'identification de défauts de type boucle de dislocations, à l'équilibre thermodynamique, dans la phase lamellaire à l'approche de la transition smectique / cholestérique du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O est, selon nous, peu compatible avec l'hypothèse de la formation de bicelles. Cette observation permet de supposer que le mécanisme de la transition de phase smectique – nématique mis en jeu dans notre système est différent de celui évoqué ci-dessus. Dans ce qui suit, nous allons étudier différentes caractéristiques de la phase cholestérique et de la transition smectique/cholestérique.

2) Orientation de la phase cholestérique sous champs magnétique

En l'absence de contrainte extérieure, la phase cholestérique apparaît de façon désorganisée (figure I-4 (a)). Afin d'étudier la phase cholestérique et la transition smectique/cholestérique le plus précisément possible, il est intéressant de travailler sur des échantillons orientés. De nombreux systèmes cholestériques peuvent être orientés sous champs magnétique. D'une manière générale, il est possible d'orienter un système cholestérique si la différence de susceptibilité magnétique ($\Delta\chi$) de la membrane est inférieure à zéro. Alors, et c'est le cas de notre système, l'axe du cholestérique est orienté dans la direction du champ magnétique. Dans le cas contraire ($\Delta\chi > 0$) le champ magnétique déroule le cholestérique et l'on obtient une phase nématique. Pour éviter toute confusion, rappelons que l'orientation dont il est question ici (orientation de l'axe cholestérique) n'est pas de même nature que celle dont il a été question jusqu'à présent (orientation du directeur).

Les échantillons sont donc placés dans le champ magnétique (7T) de la RMN pendant deux heures, à 16°C, avec l'axe du capillaire orienté parallèlement au champ (**B**). Le résultat est présenté figure I-4 (b). Les échantillons sont orientés sur tout le capillaire.

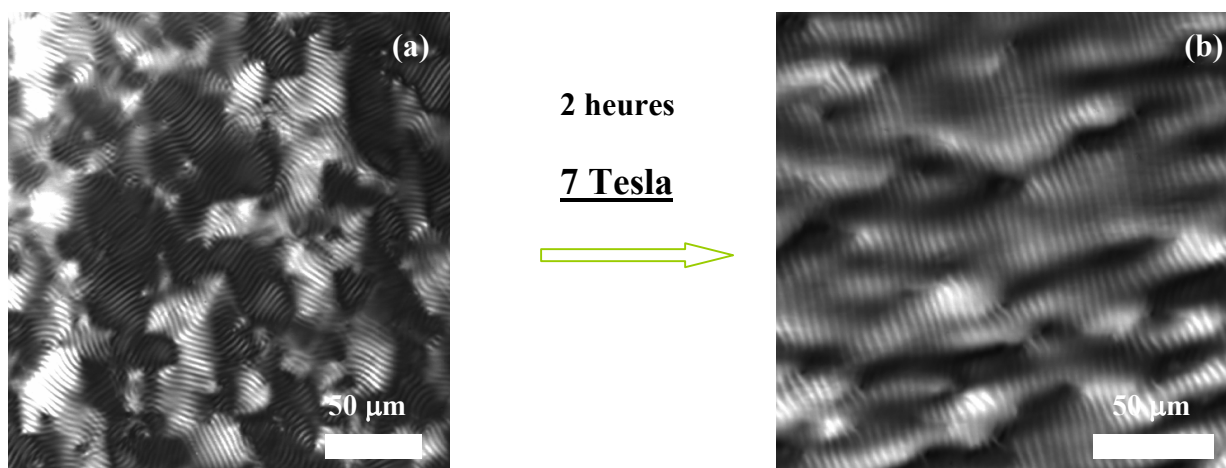


Figure I-4. Orientation de la phase cholestérique dans un champ magnétique. (a) Texture « empreintes digitales » obtenue pour un échantillon non orienté. Chaque domaine correspond à une orientation particulière de l'axe cholestérique dans le plan du capillaire. (b) Échantillon orienté pendant deux heures dans un champ magnétique (7T). Cette orientation est conservée sur toute la longueur du capillaire (typiquement 2-3 cm).

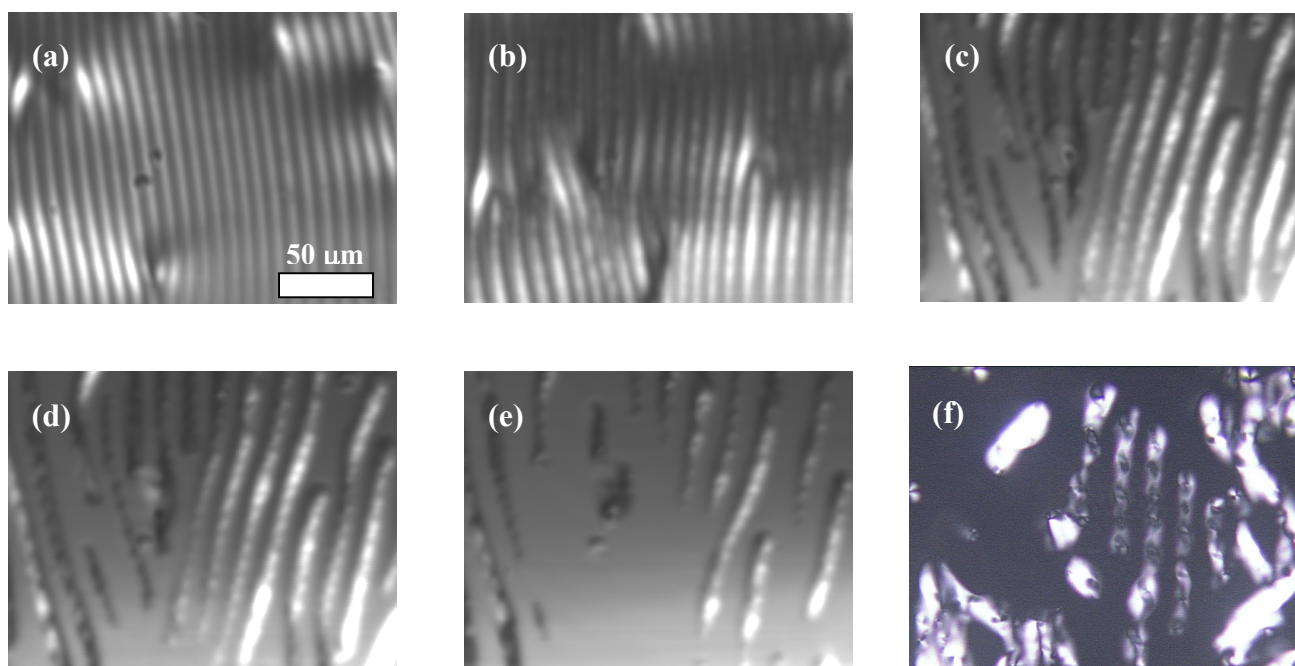
L'orientation obtenue est de très bonne qualité sur toute la longueur du capillaire. Elle peut être conservée plusieurs jours.

3) Propriétés optiques et structurales de la phase cholestérique

a) Microscopie optique en lumière polarisée

La phase nématique/cholestérique est définie, d'un point de vue des symétries, par ses propriétés d'invariance. Sur le plan expérimental, cette phase peut être mise en évidence par différentes techniques. La microscopie en lumière polarisée permet d'identifier les différentes mésophases grâce à leur textures respectives. Ces textures sont, à bien des égards, révélatrices des symétries propres à chacune de ces phases^{206,207}. La phase cholestérique se différencie de la phase nématique par la rotation continue du directeur le long d'un axe privilégié, P. La texture d'une phase cholestérique en orientation homéotrope (axe P dans le plan du capillaire) est donc faite d'une succession périodique de bandes sombres et claires. La phase cholestérique étant invariante par rotation d'un angle de $\pm \pi$ radian autour de l'axe cholestérique, on définit le demi-pas cholestérique comme la distance séparant deux lignes blanches²⁰⁸.

La figure I-5 présente les clichés obtenus en observant la transition pour un échantillon à $R_{s/l} \sim 3.1$ à une fraction volumique en membrane $\phi_m=0.33$. L'expérience est réalisée en montée en température par paliers de quinze minutes tous les 0.1°C . La transition se fait continûment.



²⁰⁶ H. Sackmann et D. Demus, Mol. Cryst. 2, 1966, 81

²⁰⁷ S. Diele, Mol. Cryst. Liquid Cryst. 16, 1972, 105

²⁰⁸ M. Kléman, Points, lignes, parois dans les fluides anisotropes et les solides cristallins, Vol. 1, Les éditions de Physique.

Figure I-5. Observation de la transition smectique-cholestérique en montée en température pour un échantillon à $\phi_m=0.33$. Même échelle pour toutes les photos. (a) 19.4°C, alternance de bandes claires et obscures caractéristiques d'une texture cholestérique, (b) 20.4°C, apparition d'une légère modulation le long des stries. (c) 20.6°C, renforcement de la modulation. Apparition de zones orientées homéotropes : perte de la modulation sinusoïdale. (d) 20.7°C, élargissement des zones orientées aux dépens de la symétrie hélicoïdale. (e) 20.8°C, texture filament. La transition se fait continûment. (f) texture en filaments à 21°C.

On notera que la persistance d'une torsion résiduelle dans des structures de type « filaments » après la perte de la modulation périodique est un élément fort en faveur d'une transition de phase du second ordre. La modulation dans la direction perpendiculaire à l'axe cholestérique ne semble pas due aux parois du capillaire puisque sa période ne pas varie lorsque l'on modifie l'épaisseur du capillaire. Son origine est, pour le moment, inconnue.

b) Diffraction des rayons X

En diffraction des rayons X, l'absence d'ordre de position dans la phase nématique permet de la distinguer d'une phase smectique. La figure I-6 présente l'évolution du premier ordre de diffraction du système en fonction de la température. Outre le décalage de la position du pic vers les grands vecteurs d'onde, on observe un élargissement progressif du pic pour des températures correspondantes aux textures cholestériques.

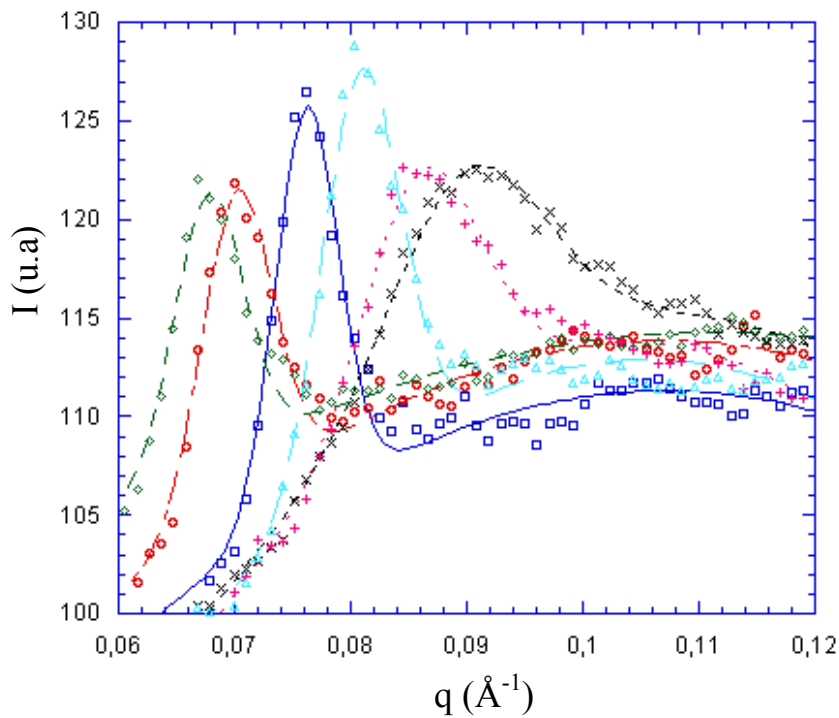


Figure I-6. Spectres de diffraction obtenus sur un échantillon à $R_{s/l} = 3.1$ et $\phi_m = 0.31$ pour différentes températures : 27°C (\diamond), 25°C (\circ), 20°C (\square), 19°C (\triangle), 17°C ($+$), 15°C (\times). Les ajustements sont réalisés grâce à deux gaussiennes.

L'ajustement du pic de Bragg grâce à une fonction gaussienne nous permet de suivre l'élargissement de la largeur à mi-hauteur de ce dernier. La figure I-7 présente l'évolution de la largeur à mi-hauteur du pic de Bragg, celle de la période smectique en fonction de la température ainsi que la nature de la phase identifiée en microscopie en lumière polarisée.

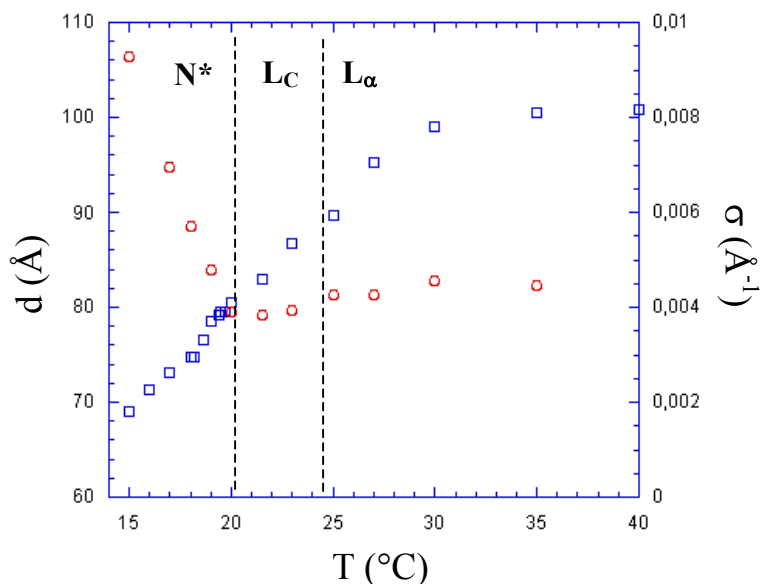


Figure I-7. Evolution de la largeur à mi-hauteur (O) et de la période smectique (□) en fonction de la température.

La période smectique varie continûment de part et d'autre de la transition smectique - cholestérique. La largeur à mi-hauteur semble à peu près constante dans la phase smectique (L_{α}), elle est proche de la résolution instrumentale ($\Delta q \sim 4 \cdot 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$). La largeur du pic diminue légèrement à l'approche de la transition. Ce phénomène peut être interprété comme étant lié à l'augmentation de la taille des domaines et donc à la disparition de défauts de texture. Elle augmente fortement, de manière continue, en deçà de la température de transition smectique - cholestérique. Cet élargissement se fait de manière progressive et peut être interprété comme la destruction de l'ordre de position smectique dans le système. L'étude faite par Olivier Dhez durant sa thèse montrait le même comportement.

4) Etude calorimétrique

La calorimétrie est un outil puissant pour étudier les transitions de phase. En comparant les flux de chaleur entrant et sortant de l'échantillon, elle permet d'évaluer la chaleur (enthalpie) nécessaire pour augmenter sa température et d'en déduire la chaleur absorbée (ou rendue) par le système. Cette chaleur absorbée est caractéristique des changements structuraux intervenant, notamment, lors des transitions de phase du premier ordre. On peut également supposer que la création de défauts puisse être détectée grâce à cette méthode en raison de l'énergie nécessaire à la création de ces défauts, particulièrement si ceux-ci apparaissent en grand nombre et ont une énergie de cœur importante.

La figure I-8 présente le résultat obtenu pour les échantillons à $\phi_m=0.33$, $\phi_m=0.35$, $\phi_m=0.42$.

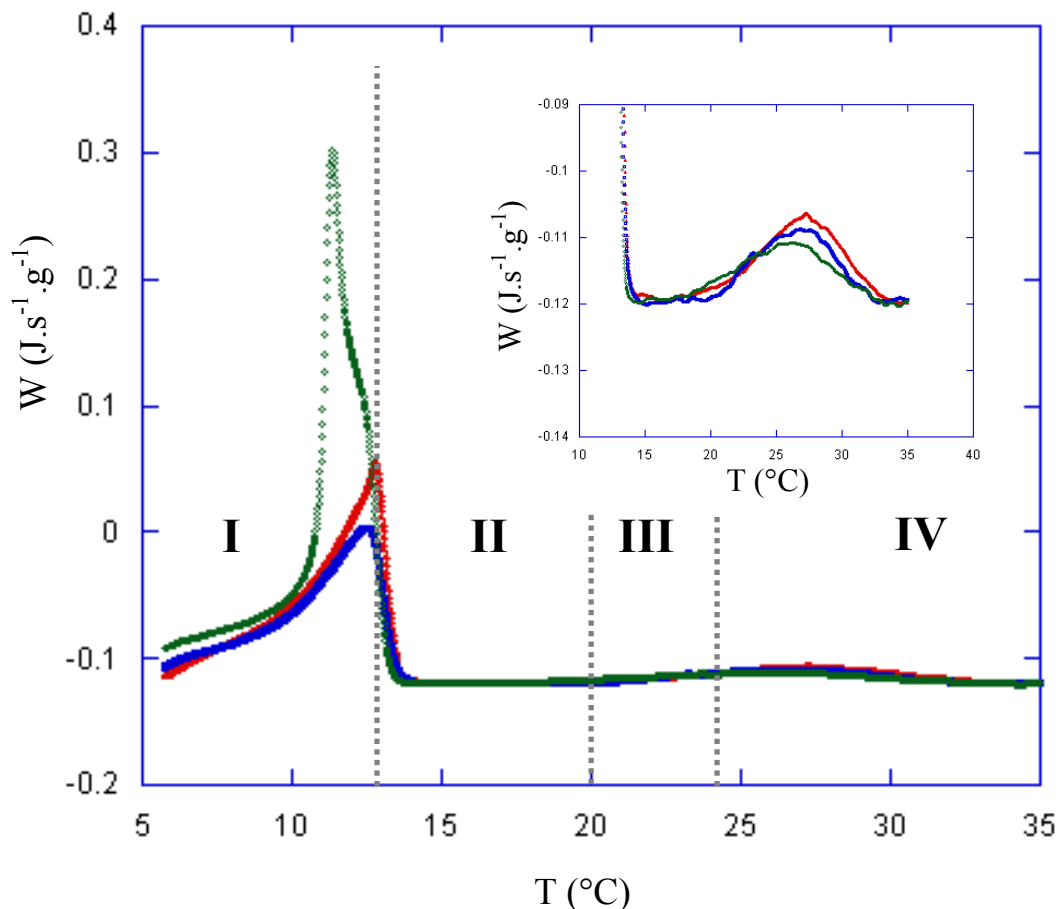


Figure I-8. Quantité de chaleur libérée par le système pour trois échantillons à $\phi_m=0.33$ (\square), $\phi_m=0.35$ (\circ), $\phi_m=0.42$ (\diamond) en montée en température ($1^\circ\text{C}/\text{min}$). Les lignes pointillées indiquent les transitions de phases pour le système à $\phi_m=0.35$. Les phases présentes sont : **I** L_β , **II** N^* , **III** $Sm C$, **IV** $Sm A$ (L_α). La transition $L_\beta \rightarrow N^*$ est fortement premier ordre. L'encart montre un zoom de la courbe à haute température. Cette chaleur spécifique est probablement liée à l'apparition des défauts.

La calorimétrie permet de détecter la transition N/N^*-L_β , fortement du premier ordre. L'ordre de cette transition est largement confirmé par l'observation en microscopie en lumière polarisée ou l'on voit clairement une coexistence de phase (nucléation d'une phase dans l'autre) à l'approche de la température de transition. L'ordre liquide des chaînes aliphatiques dans la phase cholestérique est remplacé par un ordre solide dans la phase L_β . On notera que, en montée de température, cette transition intervient à 13.5°C , alors qu'en descente, elle intervient autour de 10.5°C . Ce phénomène est bien connu sous le nom de surfusion et correspond à un abaissement de la température de transition, en descente de température, du fait de la barrière énergétique élevée de la nucléation de cristaux d'une phase cristalline dans une phase liquide en l'absence de perturbation extérieure. Il est notamment observable dans le cas de la transition $\text{H}_2\text{O}_{\text{liquide}}-\text{H}_2\text{O}_{\text{solide}}$.

La transition smectique-cholestérique (autour de 20°C) n'est pas observable en calorimétrie avec le dispositif disponible au laboratoire. Cela peut signifier soit que la transition est du second ordre, soit que la transition est faiblement du premier ordre (elle devrait, dans ce cas, être observable en calorimétrie dite « haute résolution »). L'analogie entre les smectiques A et les supraconducteurs prévoit des transitions de premier ou deuxième ordre selon la valeur du paramètre de Ginzburg (K) ²⁰⁹. Pourtant, le couplage entre le paramètre d'ordre smectique et les fluctuations du directeur ²¹⁰, à l'approche de la transition, pourrait rendre la transition du premier ordre même pour les systèmes de type II ²¹¹. On notera cependant que Helfrich a montré que si ces fluctuations étaient dues à l'existence de boucles de dislocations excitées thermiquement la transition pouvait être du second ordre ²¹². Les différentes expériences présentées jusqu'ici semblent en faveur d'une transition continue et donc du second ordre.

Une analyse plus fine de la courbe de calorimétrie entre 20°C et 30°C permet de déceler l'existence d'une bosse très large (cf. encart de la figure I-8), en montée et en descente de température. Le maximum de celle-ci ne correspond pas à la température de transition smectique-nématique déterminée en microscopie en lumière polarisée ($T_{sm-n} \sim 20^\circ\text{C}$ pour l'échantillon $\phi_m=0.35$). Sachant que la largeur du signal mesuré en calorimétrie pour une transition du premier ordre doit être proportionnelle à l'énergie échangée lors de cette transition, on peut exclure l'hypothèse d'une telle transition en comparant les intensités et largeurs de la transition $L_{\beta'}/N^*$ et du signal de la « bosse ».

On peut alors interpréter cette dernière comme étant caractéristique de la formation des boucles de dislocations dans la phase L_α . Afin de vérifier la validité de cette hypothèse, nous allons comparer l'énergie mesurée en calorimétrie à celle nécessaire à la formation de défauts. L'énergie totale par unité de volume, e , correspondant au signal mesuré en calorimétrie est définie par :

$$e = \int \frac{W}{a} dT \quad (24)$$

Avec a la vitesse de montée en température (1°C/min). L'intégrale représente l'aire de la « bosse ». On trouve :

$$\frac{e}{V} \sim 4 \cdot 10^6 \text{ J.m}^{-3}$$

L'évaluation de l'énergie de courbure associée à la formation des défauts est réalisée en annexe C (III). L'énergie de courbure par unité de volume s'écrit :

$$\frac{e}{V} \sim 2 \frac{\alpha L \kappa}{R_C^2 \delta b} \quad (25)$$

²⁰⁹ Voir Partie II / Chapitre I

²¹⁰ P. G. de Gennes, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 21,1973, 49

²¹¹ T. C. Lubensky et al., Phys. Rev. B, 17, 1978

²¹² W. Helfrich, J. Phys. France, 39, 1978, 1199-1208

Avec L la longueur de la zone de membrane courbée sur un pas d'hélice définie par :

$$L \sim \sqrt{4\pi^2 R^2 + b^2} \quad (26-a)$$

$$R = R_C + \frac{1}{2} \delta \quad (26-b)$$

α est la fraction volumique en dislocations vis dans le système (~ 0.3), R_C le rayon de cœur du défaut (55 Å), δ l'épaisseur de la (31 Å) bicouche, b le vecteur de Burgers des défauts (2d) et κ ($\kappa \sim 10 \text{ k}_B T$) la rigidité des bicouches. On obtient l'énergie de courbure par unité de volume stockée dans les défauts :

$$\frac{e}{V} \sim 1 \cdot 10^6 \text{ J.m}^{-3}$$

L'énergie estimée est sensiblement inférieure à l'énergie détectée en calorimétrie bien que du même ordre de grandeur. On se convaincra aisément que l'énergie associée à l'orientation des boucles et donc à la transition smectique A – smectique C est très inférieure à l'énergie de formation des défauts (voir annexe C). En effet, en utilisant les relations (C-27) et (C-31), on voit que le rapport de l'énergie nécessaire à l'orientation des défauts, e_0 , sur celle nécessaire à leur formation, e , s'écrit comme :

$$\frac{e_0}{e} \sim \frac{1}{8} \frac{\delta b}{\pi L h} \quad (27)$$

Avec L définie par l'expression (26-a) et h la longueur des dislocations vis. Or on a $L > b$ et $h \gg \delta$. L'énergie d'orientation est donc sensiblement plus faible que l'énergie de courbure nécessaire à la formation des défauts. Ce raisonnement permet de privilégier l'hypothèse selon laquelle l'enthalpie détectée en calorimétrie au dessus de la température de transition smectique-nématique est probablement l'énergie de formation/destruction des défauts. Les deux transitions de phases SmA/SmC et SmC/N* semblent donc être des transitions de phases du second ordre²¹³.

5) Expérience de FRAP

Afin de sonder si l'intégrité des bicouches est préservée dans la phase nématique/cholestérique, nous avons mesuré le coefficient de diffusion perpendiculaire (D_{\perp}) d'un marqueur membranaire de part et d'autre de la transition. En effet, si la phase lamellaire se désagrège au passage de la transition, en formant des micelles par exemple, on s'attend à observer une variation brutale de D_{\perp} puisque, dans la phase lamellaire, c'est la diffusion des lipides à l'intérieur d'une bicouche infinie qui est mesurée, tandis que, dans la phase nématique, c'est la diffusion des bicelles elles mêmes qui est sondée à l'échelle des expériences de FRAP ($\sim 30 \mu\text{m}$). Ce point est illustré figure I-9.

²¹³ dans la limite de la résolution instrumentale disponible au laboratoire

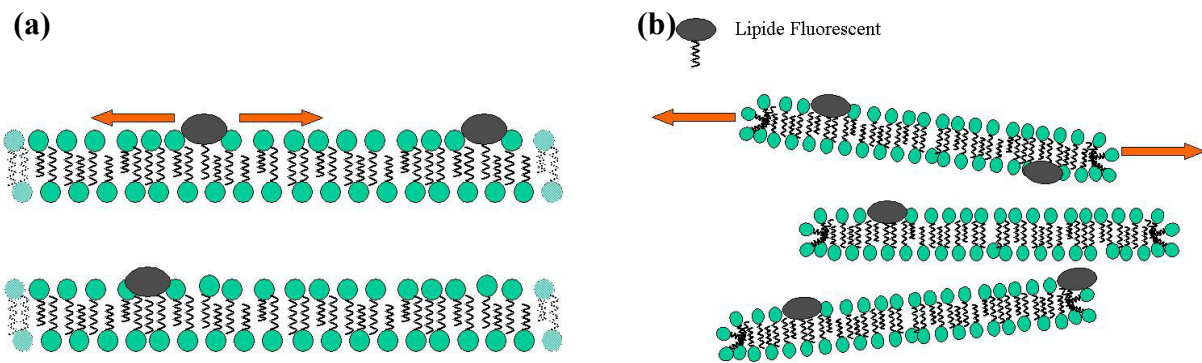
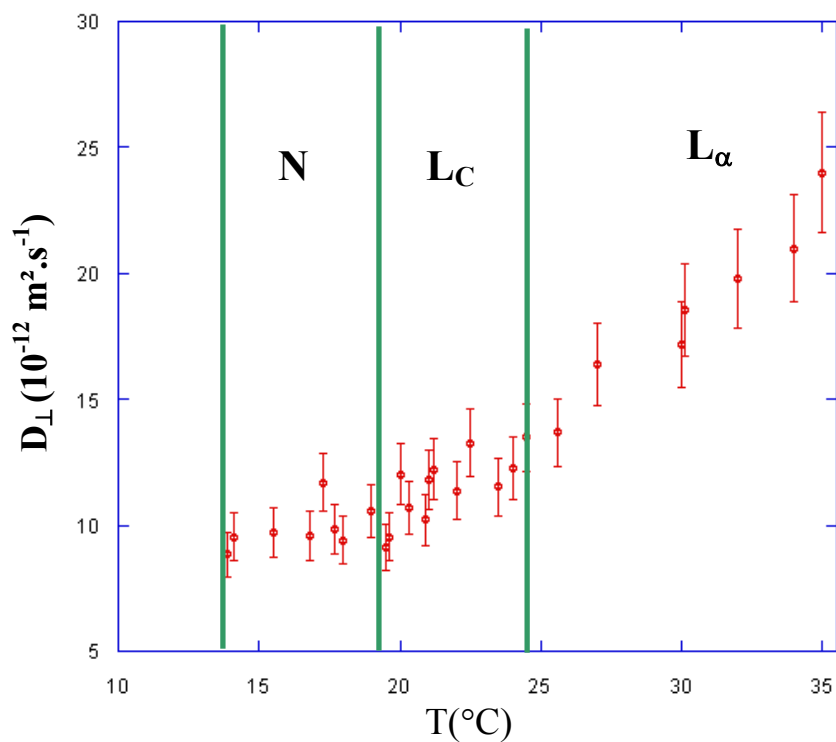


Figure I-9. Principe de l'expérience de FRAP autour de la température de transition smectique/nématique. (a) Dans la phase lamellaire (au dessus de la transition) la diffusion mesurée est celle des lipides dans une bicouche de dimension largement supérieure à l'échelle sondée. (b) Dans la phase nématique, c'est la diffusion des bicelles que l'on regarde puisque la taille de celles-ci (~50 nm) est largement inférieure à l'échelle sondée (~30 μm). On néglige les échanges de lipide fluorescent entre bicelles.

Les expériences sont réalisées sur un échantillon formulé avec du DMPC_{rac} afin d'éviter tout artefact lié à l'apparition d'une torsion lorsque l'on franchit la transition et donc un changement d'orientation. La phase lamellaire du système C₁₂E₅/DMPC_{rac}/H₂O est formée comme expliqué au chapitre II. L'orientation homéotrope compatible avec la mesure de D_⊥ est obtenue en faisant des aller-retours en température lents de part et d'autre de la transition smectique - cholestérique. La figure I-10 représente la variation du coefficient de diffusion perpendiculaire (D_⊥) de part et d'autre de la transition smectique/nématique pour le système C₁₂E₅/DMPC_{rac}/H₂O (racémique) dopé avec un lipide (DHPE-FITC 1% en masse) (φ_m = 0.33).



La variation du coefficient de diffusion D_{\perp} se fait continûment au passage de la transition smectique - cholestérique. Cette variation progressive s'explique difficilement si les membranes sont détruites au passage de la transition. On peut en déduire que la phase cholestérique du système étudié semble constituée de bicouches d'extension latérale supérieure à plusieurs dizaines de microns. Comme pour le système formulé à partir de DMPC_{sn} la variation du coefficient de diffusion parallèle à l'approche et au delà de la transition smectique/nématique ne semble pas pouvoir être interprété en termes de variation de la viscosité de la bicouche. Ce dernier semble à peu près constant dans la phase nématique. Cette observation est probablement liée à la disparition de défauts de texture à l'approche de la transition.

On peut raisonnablement déduire de ces expériences que la phase nématique/cholestérique du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O est constituée de bicouches d'extension latérale supérieure à plusieurs dizaines de microns.

6) Discussion

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons vu que la phase smectique, à l'approche de la transition smectique/nématique, était ponctuée de boucles de dislocations. Les expériences de FRAP décrites ci-dessus semblent indiquer que la phase nématique, comme la phase lamellaire, est constituée de membranes d'extension latérale supérieure à plusieurs dizaines de microns (taille sondée par les expériences de FRAP). De plus, l'empilement de ces bicouches semble préservé au travers de la transition (évolution de la période de répétition d continue) bien que l'ordre associé à cet empilement passe de smectique à liquide. La question qui se pose est la suivante : peut-on rendre compte de la transition smectique cholestérique observée à partir de l'existence de dislocations vis ?

L'idée de décrire les transitions de phases comme une désorganisation provenant de l'apparition de défauts n'est pas nouvelle. Dans sa version la plus simple, le modèle d'Ising²¹⁴, dans lequel les moments magnétiques pointent soit vers le haut soit vers le bas, peut être abordé de cette façon. L'état microscopique du système est décrit par l'orientation de chaque moment (description classique) ou en termes de défauts (bordures) séparant des régions de polarisations différentes. D'autres transitions ont été étudiées sous cette approche, notamment la transition superfluide-fluide²¹⁵ et la transition conducteur-normal/supraconducteur.

Partant de l'analogie entre la transition nématique-smectique A et la transition conducteur normal-supraconducteur²¹⁶, Helfrich a proposé un modèle de transition smectique A-nématique via un débouclage de boucles de dislocations excitées thermiquement²¹⁷. Il prédit une transition de phase continue quand l'énergie libre du défaut change de signe (débouclage). Dans ce travail, la stabilité des boucles de dislocations est également discutée.

²¹⁴ P. M. Chaikin et T.C. Lubensky, Principles of Condensed Matter Physics, Cambridge University Press, 1995

²¹⁵ Feynman, R. P., Progress in Low Temperature Physics, Vol. I, 1964

²¹⁶ Voir Chapitre I

²¹⁷ W. Helfrich, Journal de Physique 39, 1978, 1199

Cette idée fut poursuivie par Nelson et Toner ²¹⁸. Leurs travaux montrent que l'existence des défauts de taille infinie va créer un champ de courbure qui, couplé à la torsion des couches, va permettre à celle-ci d'exister dans une phase smectique A. L'énergie libre d'un smectique ponctué de dislocations vis et/ou coins infinies s'écrit alors comme l'énergie d'un nématique. Ils montrent également que l'existence d'une densité finie de dislocations vis et/ou coins dans un smectique détruit l'ordre de position des bicouches. De ce point de vue un smectique possédant une densité finie de dislocations vis et/ou coins de taille infinie se comporte, d'un point de vue structural, exactement comme un nématique.

Une phase smectique possédant des dislocations « débouclées » est donc une phase nématique. Cette observation permet de décrire la transition smectique/nématique comme une transition de débouclage des boucles de dislocations.

Contrairement aux systèmes thermotropes, notre système permet une quantification des densités de défauts. Dans la suite, nous nous intéressons donc à décrire la phase cholestérique en termes de bicouches percées d'un grand nombre de dislocations vis débouclées. De tels défauts vont créer une torsion macroscopique dans l'échantillon.

7) Evolution du pas cholestérique en fonction de la température

Le pas cholestérique est caractéristique de la torsion existante dans le système, celle-ci étant due à l'ajout d'un excès de l'un des deux énantiomères de la molécule chirale (DMPC). L'analyse de l'évolution du pas en fonction de la température donne des informations quantitatives sur cette torsion. La figure I-11 représente l'évolution du pas cholestérique en fonction de la température pour différentes fractions volumiques en membrane pour des échantillons formulés uniquement avec du DMPC_{sn}. On voit une divergence du pas cholestérique à la transition N*/SmC.

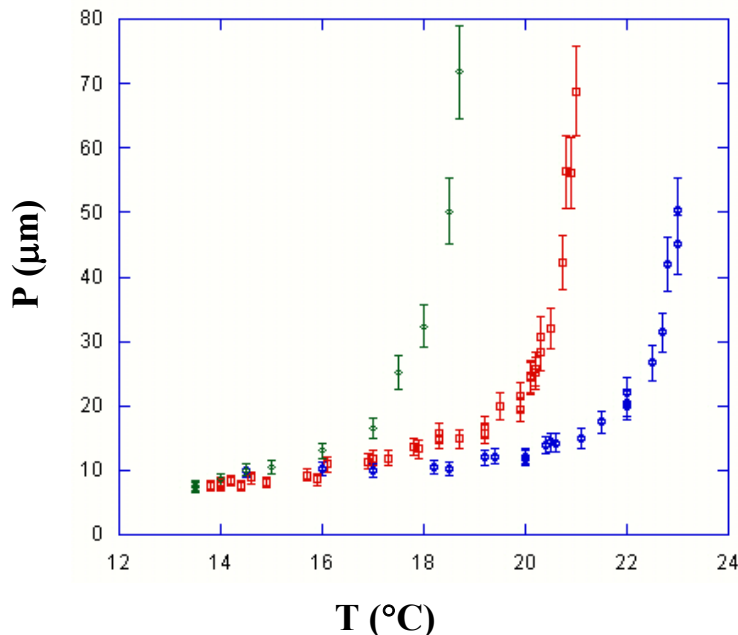


Figure I-11

$\phi_m = 0.40$ (◇), 0.33 (□), 0.31 (○). On note une divergence du pas à la transition semble saturer à une valeur faiblement dépendante de la fraction volumique en membrane.

²¹⁸ D.R Nelson et J. Toner, Phys. Rev. B 24 (1981) 363

8) Relation entre le pas cholestérique et la densité de défauts

Puisque, dans notre système, nous avons la chance de pouvoir quantifier le nombre de défauts, il est intéressant d'étudier l'évolution du pas cholestérique en fonction de la quantité de défauts. Dans la phase smectique, les dislocations sont regroupées sous la forme de boucles de dislocations contenant chacune une dislocation de chaque signe, la torsion globale est donc nulle. A la transition, les dislocations se débouclent mais la torsion reste nulle (pas cholestérique infini). Dans la phase cholestérique, le biais chiral privilégie un type de dislocations vis. On a donc un système possédant des dislocations des deux sens auxquelles s'ajoute un excès $\Delta\alpha = \alpha^+ - \alpha^-$ de dislocations vis de l'un des signes. Seul cet excès de dislocations vis participe à la torsion cholestérique.

Par la suite, on s'inspirera de l'exemple des phases TGB dans lesquelles les dislocations vis se regroupent en parois de dislocations. Pour ces systèmes, des considérations géométriques simples permettent d'écrire l'angle entre les membranes au passage d'une paroi de défauts.

$$\Delta\theta \sim b/l_d \quad (28)$$

Où l_d est la distance entre deux dislocations vis en excès au sein d'une paroi et b le vecteur de Burgers des défauts. L'orientation des couches change de $\Delta\theta$ à chaque passage d'une paroi. La torsion moyenne par unité de longueur peut alors s'écrire :

$$\langle n.\text{rot}(n) \rangle = b/(l_b l_d) \quad (29)$$

Où l_b est la distance moyenne entre deux parois. Si on pose $\xi^+ = l_d = l_b$ (dans les TGB_A on a, en général, $l_d \sim l_b$ ²¹⁹), on peut relier la densité de défauts en excès, $\Delta\alpha^+$, à la rotation moyenne. On a :

$$\Delta\alpha = R_C^2/(\xi^+)^2 \quad (30-a)$$

$$\xi^+ = R_C/(\Delta\alpha)^{1/2} \quad (30-b)$$

D'où une torsion moyenne :

$$\langle n.\text{rot}(n) \rangle = b/(\xi^+)^2 \sim b\Delta\alpha/R_C^2 \quad (31)$$

On en tire la valeur du pas cholestérique en fonction de la densité de défauts en excès :

$$\Delta L/\Delta\theta = P_0/2\pi \sim R_C^2/b\Delta\alpha \quad (32)$$

On a donc :

$$P_0 \sim 2\pi R_C^2/b\Delta\alpha \quad (33)$$

L'idée la plus simple semble être de considérer que, dans la phase cholestérique, toutes les dislocations vis sont débouclées dès la transition. Puisque les défauts semblent être excités

²¹⁹ L. Navailles et al., Phys. Rev. Lett., 81, 1998, 4168

thermiquement (tous les phénomènes décrits sont réversibles), ils sont renouvelés en permanence dans l'échantillon et, une fois débouclés, doivent tous sentir le biais chiral induit par la présence de DMPC_{sn}. Or, la densité de défauts dans la phase smectique juste avant la transition est déjà très élevée ($\alpha \sim 0.2$). Cette constatation devrait conduire à l'existence d'un pas cholestérique fini (et non divergent) à la transition. La divergence du pas cholestérique est donc contradictoire avec l'hypothèse d'un débouclage massif de dislocations excitées thermiquement. On doit donc considérer que le débouclage des défauts se fait de manière continue.

On peut alors tenter d'estimer la quantité de défauts en excès créant la torsion cholestérique. La figure I-12 (a) présente la variation de l'inverse du pas cholestérique et de la densité de défauts totale en fonction de la température pour un échantillon formulé à $\phi_m=0.31$. Cette dernière est extraite des expériences de diffraction des rayons X présentées dans la première partie de ce chapitre. A l'approche de la transition, $1/P$ tend vers zéro rapidement alors que la densité de défauts a toujours un comportement affine.

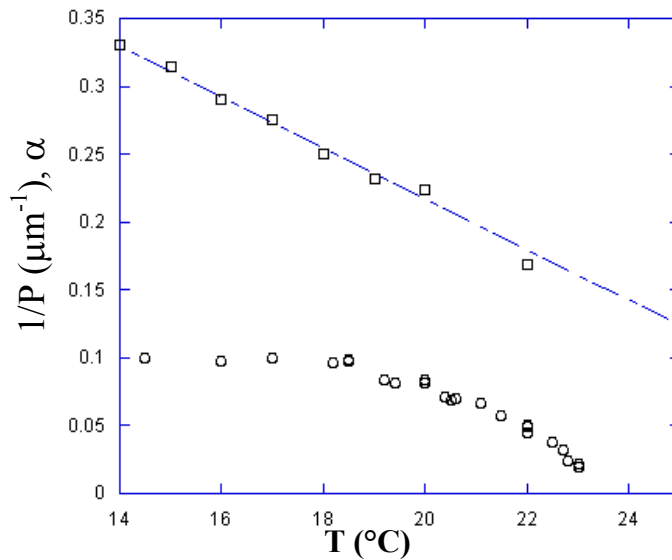


Figure I-12. Evolution de la densité de défauts dans l'échantillon (\square) et de l'inverse du pas cholestérique (\circ) en fonction de la température pour un échantillon à $\phi_m=0.31$.

Des valeurs de pas cholestérique, on peut extraire les valeurs des densités de défauts participant à la torsion macroscopique, i.e. $\Delta\alpha$, en utilisant l'expression (33). On peut alors en déduire l'évolution du rapport $\Delta\alpha/\alpha$ qui représente l'excès relatif de défauts du signe privilégié par le biais chiral. On prend $R_C = 60 \text{ \AA}$, $b = 2d$. La figure I-13 présente l'évolution de ces deux grandeurs pour l'échantillon à $\phi_m=0.31$.

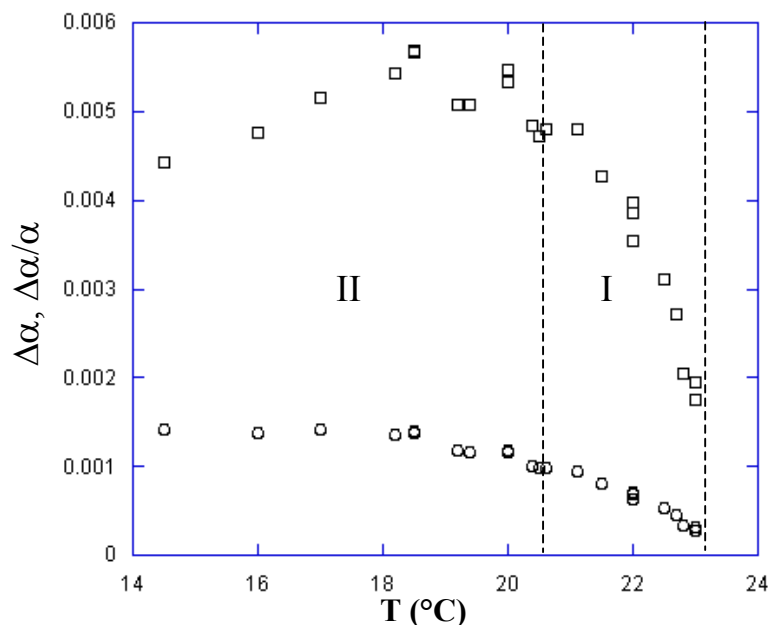


Figure I-13. Evolution de la densité de défauts en excès du signe privilégié par le biais chiral, $\Delta\alpha$, (○) extraite de l'évolution du pas cholestérique grâce à l'expression (33) et de l'excès relatif ($\Delta\alpha/\alpha$) de ces défauts (□). La variation de la densité de dislocations vis en excès semble être rapide juste après la transition (zone I) puis semble saturer (zone II). Seul un défaut sur deux cent environ participe alors à la torsion cholestérique.

L'excès relatif de dislocations vis du signe privilégié par le biais chiral ($\Delta\alpha/\alpha$) croît rapidement juste après la transition (zone I). Il existe donc une zone (2-3°C) dans laquelle tous les défauts ne sont pas débouclés. Loin de la transition, cette grandeur semble saturer (zone II). Tous les défauts sont alors débouclés. Seul un défaut sur deux cent environ participe alors à la torsion dans la phase cholestérique (à 16°C).

Le débouclage continu des boucles de dislocations est un nouvel argument en faveur d'une transition smectique-nématique du second ordre.

Le rapport $\Delta\alpha/\alpha$ est directement relié au biais chiral induit par la présence de l'excès du composé optiquement actif au sein de l'échantillon. Le suivi de ce paramètre en fonction de la fraction volumique en membrane ou du rapport $R_{s/l}$, par exemple, serait riche d'enseignement. Il doit permettre de quantifier le « pouvoir chiral » de la molécule de DMPC.

II – Transition Smectique – Cholestérique : A la recherche d'une phase TGB lyotrope

Les considérations théoriques exposées au chapitre I sur la transition smectique-nématique montrent l'importance de la proximité du point NAC (coexistence des phases nématique-smectique A-smectique C) dans la nature de la transition (type I ou type II) et notamment dans l'apparition éventuelle de nouvelles phases (TGB). Si la localisation exacte du point triple NAC dans le diagramme de phase étudié n'a pas été possible, il n'en demeure pas moins que la succession des trois phases, sur une gamme de température relativement restreinte ($\sim 5^\circ\text{C}$) est une indication forte de la proximité de celui-ci. De plus, l'évolution des différents paramètres (intensité, exposant de caillé...), le suivi des textures à travers la transition, l'absence d'enthalpie liée à la transition smectique-nématique, semblent aller en faveur d'une transition continue et donc d'un système de type II. Ces éléments invitent à étudier plus précisément la transition smectique-cholestérique et notamment à rechercher l'existence éventuelle d'une phase TGB. L'existence théorique d'une telle phase a été prédite par R. Kamien et T.C. Lubensky²²⁰. Nous en retiendrons, dans un premier temps, une phrase :

« Though we know of no report for an experimental observation of this phase, we see no reason why it should not exist. ».

On notera enfin que, dans l'article prédisant l'existence des phases TGB²²¹ pour les cristaux liquides thermotropes, Renn et Lubensky isolent deux paramètres essentiels à l'apparition d'une phase TGB : un pas hélicoïdal grand à l'approche de la transition smectique – nématique et des fluctuations thermiques suffisamment faibles du directeur pour conserver l'ordre smectique. Dans notre système, les valeurs élevées du pas cholestérique et le fait que la transition smectique-nématique se produise en descente en température (donc qu'elle ne soit pas provoquée pas les fluctuations thermiques) permettent d'espérer qu'une telle phase puisse exister.

1) Retour sur la cryofracture à 24°C

L'échantillon fracturé à 24°C présentait, par endroit, des parois de dislocations²²². La figure II-1 présente une telle structure. Ces défauts, composés d'un réseau de dislocation vis, sont des parois de torsion. Une paroi fait tourner le smectique brutalement. Ces structures sont clairement identifiables et sont généralement rencontrées dans les phases TGB des systèmes thermotropes.

Cependant, dans ces phases, plusieurs de ces parois s'organisent pour former l'hélice cholestérique²²³. Dans notre cas, à 24°C , nous n'avons observé que quelques parois isolées et le système ne présentait pas de torsion macroscopique²²⁴. On peut donc interpréter ces clichés comme étant des fluctuations TGB dans une phase majoritairement smectique. Pourtant, l'observation de telles structures est très encourageante. En effet, à notre connaissance, tous les systèmes présentant ce type de structure, présentent au moins une phase TGB dans leurs diagrammes de phases.

²²⁰ R. Kamien et T. C. Lubensky, J. Phys. II France, 7, 1997, 157-163

²²¹ Renn & Lubensky, Physical Review A, 38, 4, 2132 1988

²²² J. A. N. Zasadzinski, J. Phys. France, 51, 1990, 747-756

²²³ K. J. Ihn et al., Science, 258, 1992, 275-278

²²⁴ En microscopie optique en lumière polarisée

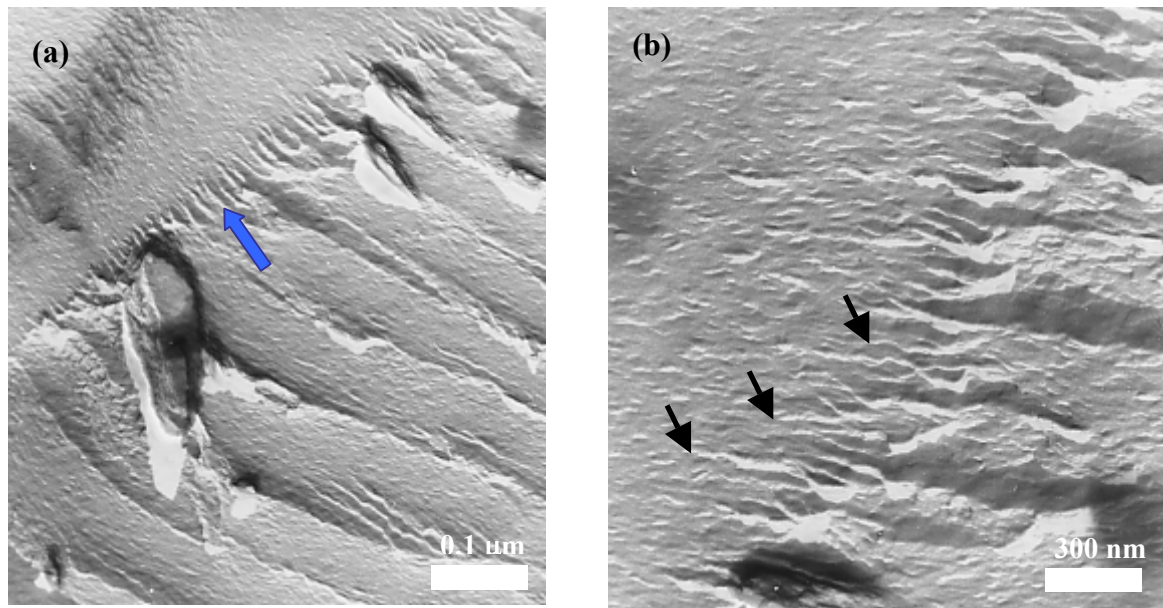
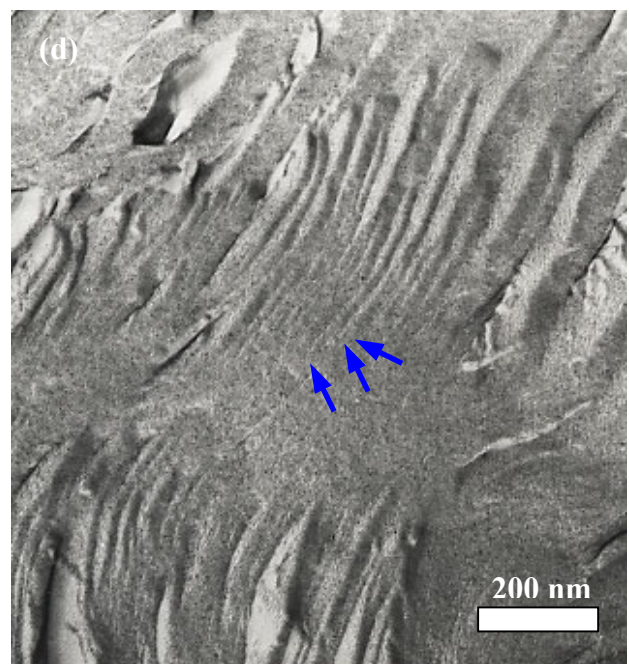
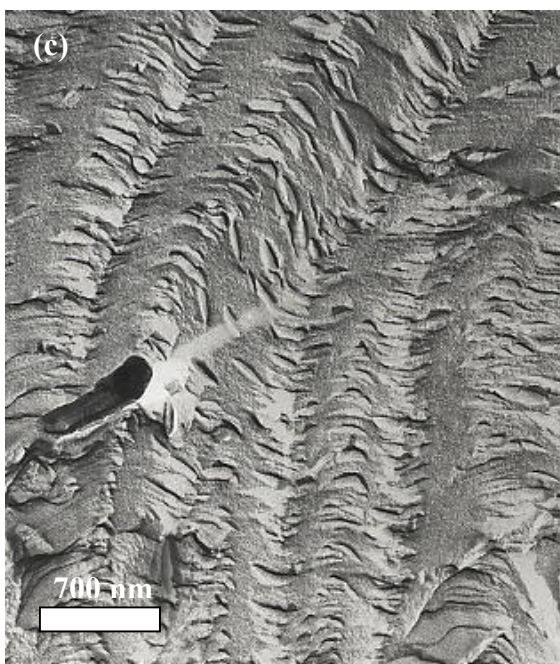
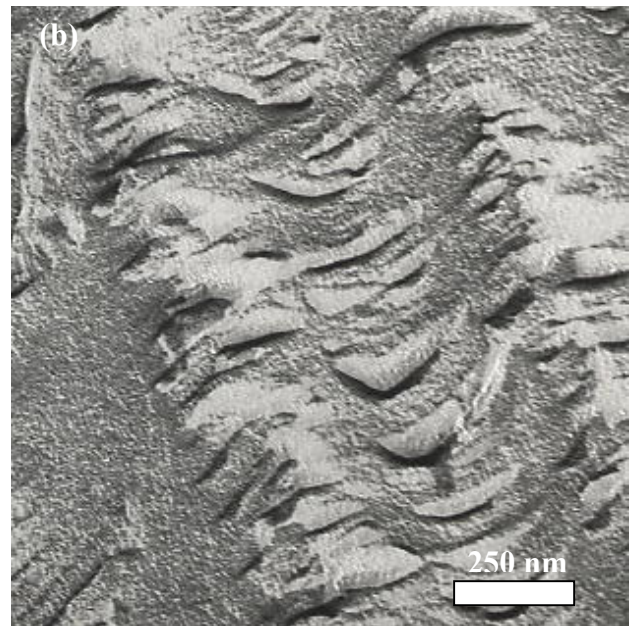
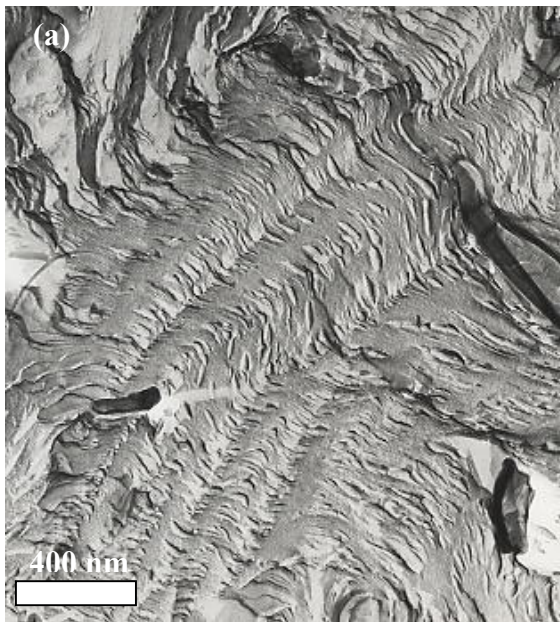


Figure II-1. Image en cryofracture de l'échantillon fracturé à 24°C. On aperçoit, dans certaines zones, des parois de dislocations vis. (a) Phase smectique présentant au moins une parois de dislocation (flèche). (b) Zoom sur une parois de dislocation. Les dislocations vis sont situées aux extrémités de chaque fourche (flèches). Ce type de paroi est rencontré dans les phases TGB_A .

2) La phase TGB

Si tous les éléments présentés dans ce chapitre semblent aller dans le sens de l'existence d'une phase TGB (existence de dislocations vis, transition continue...) l'échantillon étudié le plus largement ($R_{s/1} \sim 3.1$) n'a pas permis la mise en évidence claire de ce type de phase.

Des expériences de cryofracture réalisées sur un échantillon de composition très proche ($R_{s/1} \sim 2.8$ et $\phi_m = 0.33$) permettent d'avancer quelques arguments sur la nature de la transition smectique/cholestérique du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O. La figure II-2 présente quelques clichés de microscopie électroniques obtenus sur un système fracturé à la température de transition smectique/cholestérique (18°C).



$C_{12}\tilde{E}_s/DMPC (R_{s/l}) \sim 2.8$ et $\phi_m = 0.33$ et fracturé à 18°C . (a-c) On observe une modulation périodique d'objets anisotropes. Ces objets sont des boucles de dislocations. Les boucles s'organisent en plan perpendiculairement à leur grand axe. Ces plans semblent s'organiser à leur tour en un réseau unidimensionnel. (d) A certains endroit, les défauts sont débouclés et forment des parois de torsion. On distingue alors les dislocations vis non-appareillées (flèches) qui donnent l'aspect fourchu au parois.

Les clichés obtenus montrent que les boucles de dislocations s'organisent en plan perpendiculairement à leur grand axe au voisinage de la température de transition smectique-cholestérique. Ces plans semblent, à leur tour, s'organiser selon un réseau unidimensionnel. A certains endroits de l'échantillon, les dislocations semblent débouclées.

La figure II-3 présente un cliché obtenu sur le même échantillon. Ce cliché montre l'existence de parois de torsion faisant tourner les couches smectiques.

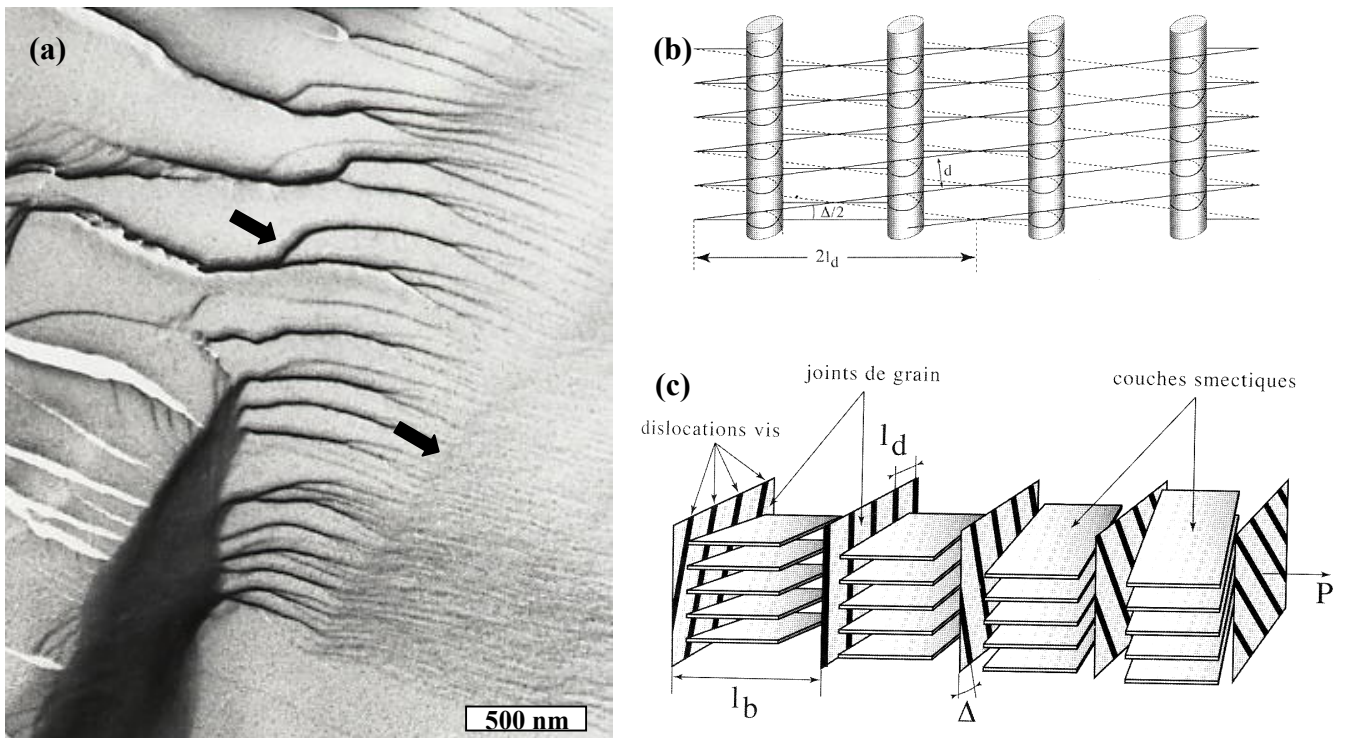


Figure II-3. Image en microscopie électronique d'un échantillon formulé à un rapport C12E5/DMPC $R_{s/l} \sim 2.8$ ($\phi_m = 0.33$) et fracturé à 18°C . L'image présente une torsion induite par deux joints de grains consécutifs (flèches pleines). On voit clairement l'inclinaison des couches smectiques varier à chaque passage d'une paroi.

L'existence de plusieurs joints de grains formant une structure hélicoïdale, mais dont les grains sont composés de couches smectiques est une indication forte de l'existence d'une phase TGB à cette température. La distance entre parois de torsion est proche de la distance entre plans de boucles de dislocations identifiée ci-dessus (~ 500 nm).

3) Microscopie en lumière polarisée

La figure II-4 présente les textures observées à la transition, en montée en température pour cet échantillon. On observe une texture de type filament.

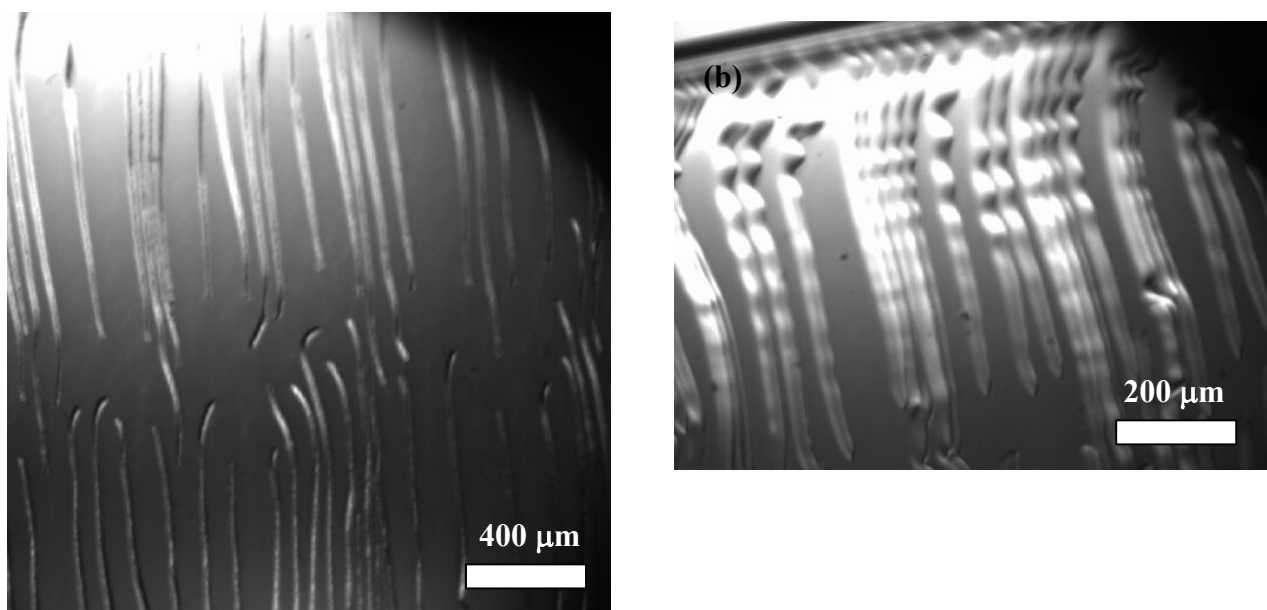


Figure II-4. Image en microscopie en lumière polarisée des textures observées à la transition smectique nématique (18°C). (a) 0.1 °C.min⁻¹. On observe une texture de type « filaments ». (b) 0.5 °C.min⁻¹.

Ce type de texture est considéré comme caractéristique d'une phase TGB^{225, 226}. Elle peut être interprétée comme étant liée à la croissance d'une phase TGB dans une phase smectique orientée (homéotrope).

4) Discussion

Les expériences présentées ci-dessus indiquent de manière claire l'existence probable d'une phase de « type TGB » dans le diagramme de phase du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O. Elles permettent également d'esquisser un mécanisme pour cette transition en termes d'organisation et de débouclage des boucles de dislocations. Afin de démontrer clairement l'existence d'une phase TGB et de préciser sa nature (TGB_A, TGB_C...), des expériences complémentaires sont nécessaires. En particulier, la symétrie de la phase TGB (rotation discontinue et périodique du directeur) reste à établir de manière définitive par diffraction des rayons X. De même, la coexistence d'un ordre de position de type smectique et d'une torsion macroscopique reste à démontrer. Pour cela, l'utilisation d'une source de rayons X intense et offrant une bonne résolution est nécessaire. La possibilité d'orienter la phase cholestérique (par un champ magnétique) devrait grandement faciliter cette étude.

III – Conclusion

L'étude du système DMPC/C₁₂E₅/H₂O autour de la température de transition smectique-nématique/smectique-cholestérique a permis de caractériser partiellement les deux transitions de phases identifiées. L'ensemble des données présentées est en faveur de transitions SmA/SmC et SmC/N* continues (second ordre). Les trois phases semblent

²²⁵ D. S. Shankar Rao et al., Phys. Rev. Lett., 87 (8), 2001, 85504-1

²²⁶ P. E. Cladis et al. Phys. Rev. Lett., 72 (2), 1994, 226

constituées de bicouches d'extension latérale supérieure à plusieurs dizaines de microns. Les propriétés de ces phases semblent intimement liées à l'organisation microscopique des défauts : boucles de dislocations ou pas de défauts dans la phase L_α , boucles de dislocations orientées dans la phase L_C , dislocations débouclées dans la phase cholestérique (N^*). Un état intermédiaire entre la phase L_C et la phase N^* , dans lequel une fraction seulement des défauts est débouclée semble correspondre à une phase de type TGB.

C – Conclusion générale

I – Synthèse des différents résultats

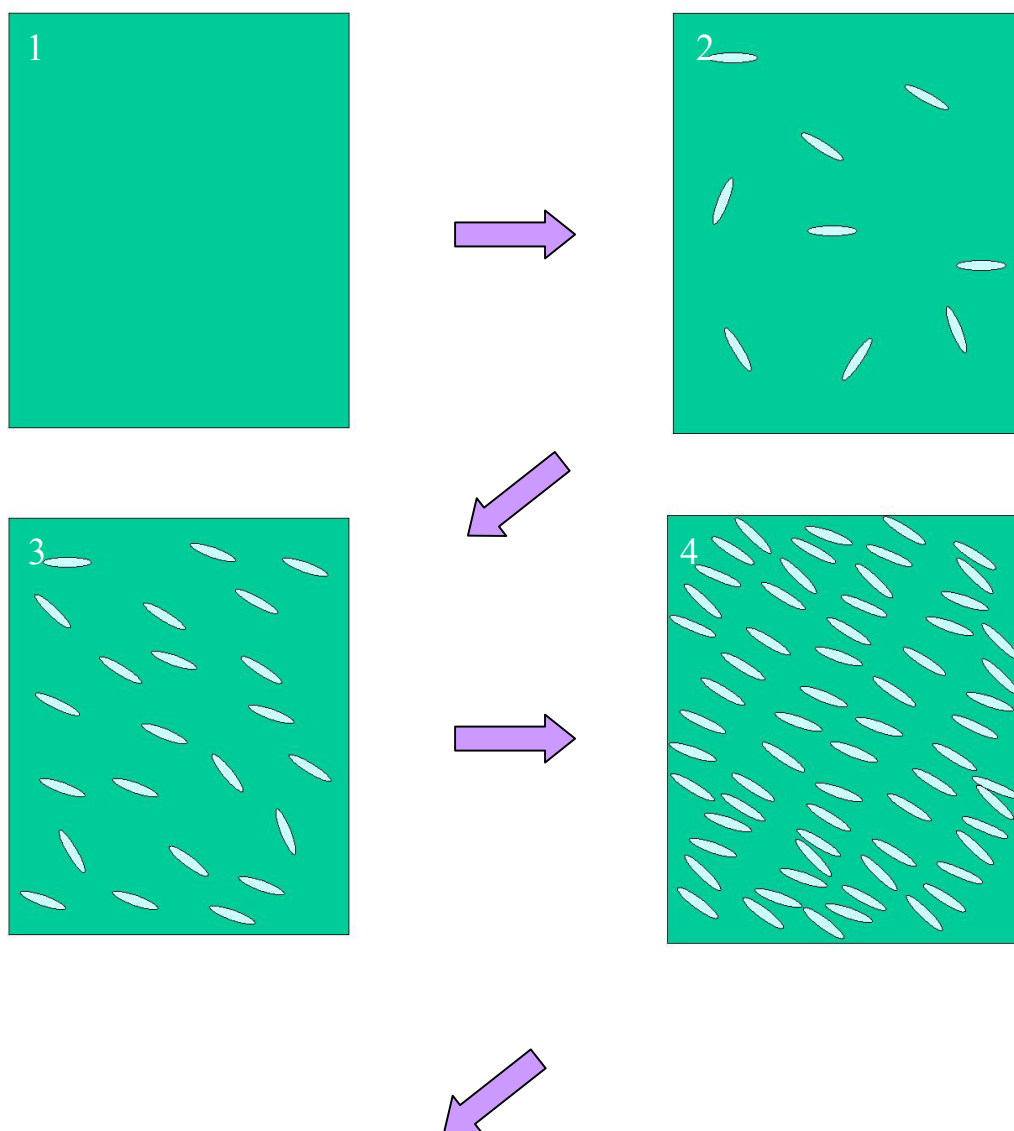
Les différents résultats présentés permettent d'avancer un scénario cohérent quand à la nature des modifications subies par le système DMPC/ $C_{12}E_5$ / H_2O en fonction de la température. L'idée principale est de considérer que la température influe principalement sur la courbure des bicouches en modifiant les propriétés de courbure spontanée de la molécule de $C_{12}E_5$. Dans cette description, les différents comportements observés peuvent être résumés comme suit (voir figure I-1) :

- Etape 1 : A haute température ($>30^\circ C$), la courbure spontanée des bicouches est faible. Le système forme donc des membranes planes. Le système est alors lamellaire et ne crée pas, ou peu, de défauts.
- Etape 2 : En descente en température ($30-25^\circ C$), les propriétés de courbure spontanée de la molécule de $C_{12}E_5$ augmentent. La courbure spontanée de la bicouche est donc modifiée. Afin de satisfaire cette courbure, la membrane se courbe en créant des défauts de type boucle de dislocations. Ces défauts sont excités thermiquement. L'organisation interne de ces défauts est de type « escalier de Chambord »²²⁷. La force de ces derniers varie très probablement avec la température. Partant de dislocations de grands vecteurs de Burgers à haute température, l'augmentation de la courbure conduit à des dislocations de vecteur de Burgers 2 à $24^\circ C$. La courbure locale est, dans ce type de défauts, très forte et semble difficilement compatible avec les propriétés de courbure de la molécule de DMPC. On peut donc imaginer qu'il y a une ségrégation locale des deux composants des bicouches : le $C_{12}E_5$ migrant préférentiellement vers les bords des défauts et le DMPC restant dans les parties planes des membranes.
- Etape 3 : Lorsque la densité de défaut atteint une valeur critique ($\sim 25^\circ C$), les boucles de dislocations s'orientent les unes par rapport aux autres, probablement du fait des interactions élastiques propagées par le smectique. Il semble également que la polarité des défauts entraîne une polarisation de la phase. Les propriétés d'invariance du système sont alors celles d'une phase smectique C dont la nature exacte reste à déterminer.
- Etape 4 : La densité de défauts augmentant encore, les boucles de dislocations s'organisent en plans équidistants. Cette transition peut être décrite comme une transition nématique-smectique à deux dimensions de boucles de dislocations.
- Etapes 5 et 6 : Finalement, la courbure spontanée des bicouches devient telle que la taille des dislocations vis diverge. Il y a alors débouclage progressif des défauts.

²²⁷ Cette dénomination ne se limite pas, dans ce cas, à des dislocations de vecteur de Burgers 2. Elle souligne, en revanche, l'organisation microscopique du défaut : plusieurs hélices imbriquées soutenant chacune une et une seule membrane.

L'organisation préalable des boucles est compatible avec la formation de parois de torsion équidistantes et donc d'une phase TGB au voisinage de cette température. Un très léger excès de dislocations vis d'un signe particulier peut alors se développer entraînant l'apparition d'une torsion de type cholestérique dans les mélanges non-racémiques.

- Etape 7 : Pour finir, le débouclage des défauts se poursuivant, le système perd son caractère smectique. La phase est alors nématique/cholestérique. Elle est constituée de bicouches d'extension latérale supérieure à plusieurs dizaines de microns. Son organisation précise reste à définir en termes d'organisation de défauts. On peut cependant la décrire comme un ensemble de bicouches « disloquées ».



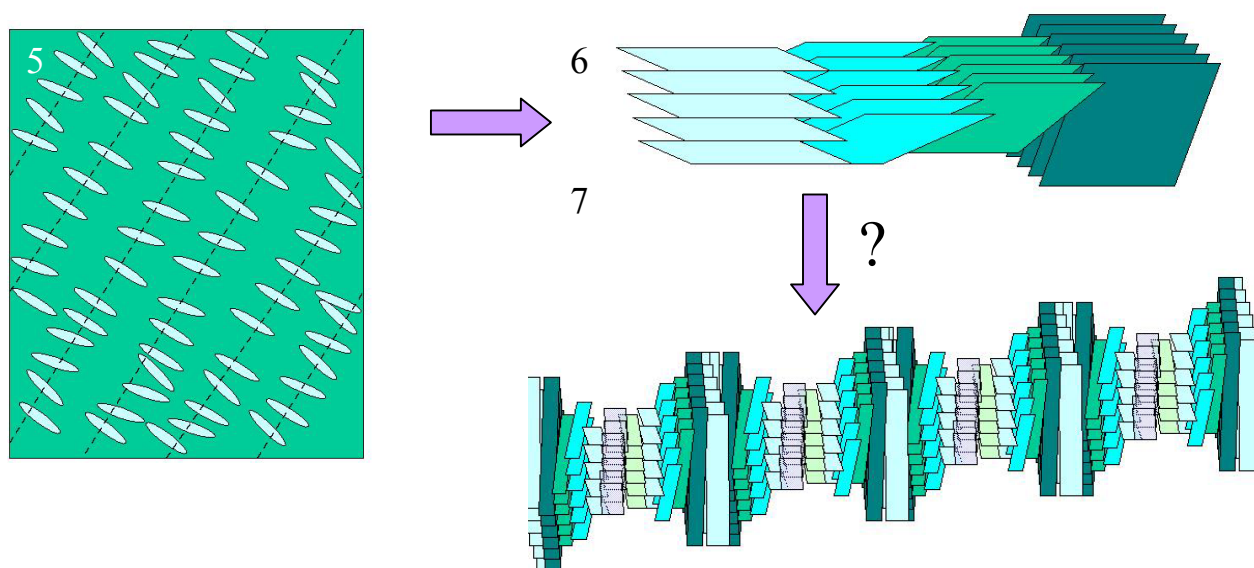


Figure I-1. Résumé des différentes étapes identifiées correspondant à différentes organisations des défauts. (voir texte).

Un modèle théorique prenant en compte l'évolution de la courbure spontanée du système en fonction de la température devrait permettre de rendre compte d'une grande partie des observations réalisées. La mise au point d'un tel modèle est actuellement en cours (Roux et al.).

II – Perspectives

La première question qui se pose est celle de la structure de la phase cholestérique. Nous ne sommes pas parvenus à identifier de manière claire l'organisation microscopique de cette phase dans le cadre de ce travail. L'observation directe de la structure locale de cette phase serait particulièrement intéressante.

Le système DMPC/C₁₂E₅/H₂O apparaît, d'une certaine manière, comme un système « modèle » de transition smectique-nématique impliquant des dislocations vis. C'est, en effet, à notre connaissance, le premier système de ce type pour lequel l'existence de défauts à l'équilibre thermodynamique est identifiée dans le smectique à l'approche de la transition smectique-nématique. De plus, les densités de défauts sont précisément quantifiables de part et d'autre de la transition. Enfin, les tailles caractéristiques (en particulier le pas cholestérique) sont au moins un ordre de grandeur au dessus des tailles rencontrées dans les cristaux liquides thermotropes. Ce système permet donc probablement d'observer des phénomènes avec beaucoup plus de détails que pour ses « cousins » thermotropes. Ce système peut donc être d'une grande utilité pour comprendre certains mécanismes microscopiques de la transition smectique-cholestérique.

Le diagramme de phase complet du système reste à préciser (température, concentration en C₁₂E₅, chiralité...). Quelques expériences préliminaires réalisées montrent des comportements « intrigants » lorsque l'on varie le rapport C₁₂E₅/DMPC, par exemple. La

figure II-1 présente quelques clichés obtenus à la température de transition smectique-nématique pour différents rapports $R_{s/l}$.

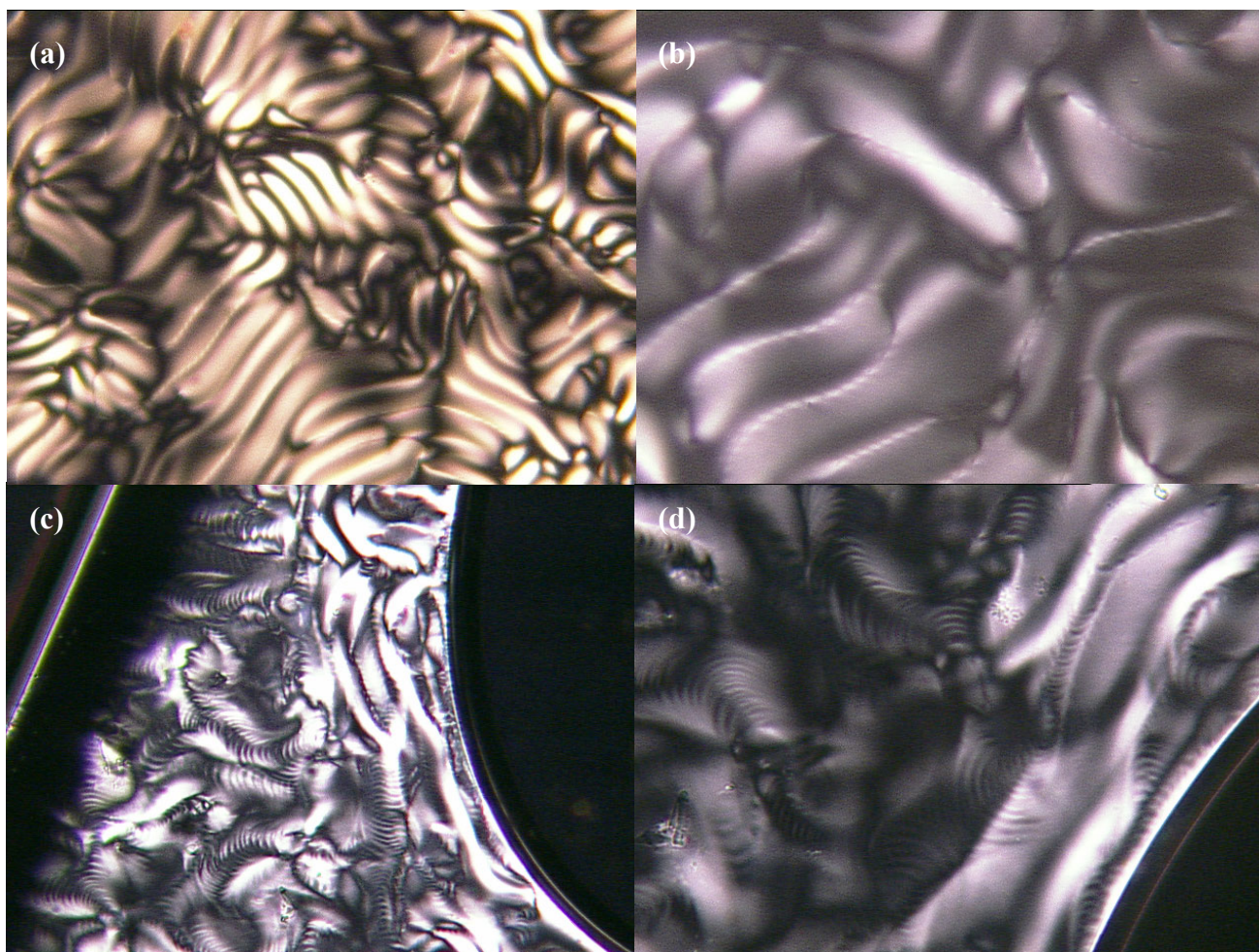


Figure z73-C/8. Images en microscopie en lumière polarisée de différents échantillons formulés à différents rapports $R_{s/l}$. (a) $R_{s/l} \sim 3.2$, $\phi_m \sim 0.33$. La texture observée ne semble plus correspondre à une rotation continue du directeur (22°C). (b) $R_{s/l} \sim 3.2$, $\phi_m \sim 0.33$ (24°C). Cet échantillon présente, à la transition, des défauts singuliers. (c) $R_{s/l} \sim 3.4$, $\phi_m \sim 0.33$ (24°C). On observe, à la transition, en plus de la modulation cholestérique, une texture fortement striée (d) $R_{s/l} \sim 3.4$, $\phi_m \sim 0.33$.

Ces textures ne semblent plus correspondre à une texture de type cholestérique. En effet, la modulation d'intensité entre deux bandes claires semble moins forte que dans le cas d'une phase cholestérique (a). De plus, des défauts particuliers apparaissent à l'approche de la transition (b). Finalement, pour l'échantillon formulé à un rapport $R_{s/l} \sim 3.4$, une texture fortement striée apparaît à la transition (c) (d). Cette nouvelle modulation est perpendiculaire à la modulation de type cholestérique. Si l'existence de textures striées est largement répertoriée dans les systèmes thermotropes, son origine dans notre système reste difficilement interprétable avec les différentes phases recensées dans notre travail.

Il est donc probable que de nouvelles phases soient, à terme, identifiées. L'un des enjeux de cette étude sera de montrer dans quelles limites un système lyotrope peut être décrit

Chapitre II : Transition smectique - cholestérique dans un système lyotrope

par un formalisme élaboré pour des corps purs. La transposition des résultats obtenus sur ce système aux cristaux liquides thermotropes n'est, en effet, pas évidente. A notre connaissance, l'existence de boucles de dislocations excitées thermiquement n'a pas été démontrée dans ces systèmes à l'approche de la transition smectique-nématique à part dans le cas, très particulier, des phases TGB.

Ce travail amène finalement plus de questions qu'il n'apporte de réponses définitives. S'il existe bien des phases TGB lyotropes, de quelles phases s'agit-il ? TGB_A , TGB_C , TGB_{C^*} , NL^* ou de nouvelles phases ? Quels sont les mécanismes microscopiques qui conduisent au débouclage des boucles de dislocations à la transition ? Quelle est la structure précise de la phase cholestérique ?

Annexe A : Fluorescence / Expériences de FRAP

I – Vérification de la qualité de l'orientation grâce à la fluorescence

Comme souligné dans la première partie de cette thèse²²⁸, la transition conduisant à l'excitation d'un fluorophore est fortement dipolaire. Considérons un marqueur fluorescent inséré dans une membrane dont le groupe fluorescent est orienté parallèlement à cette dernière. En géométrie homéotrope (figure A-1), seule la projection de l'amplitude du champ électromagnétique du faisceau incident, non polarisé, sur le dipôle va participer à l'excitation.

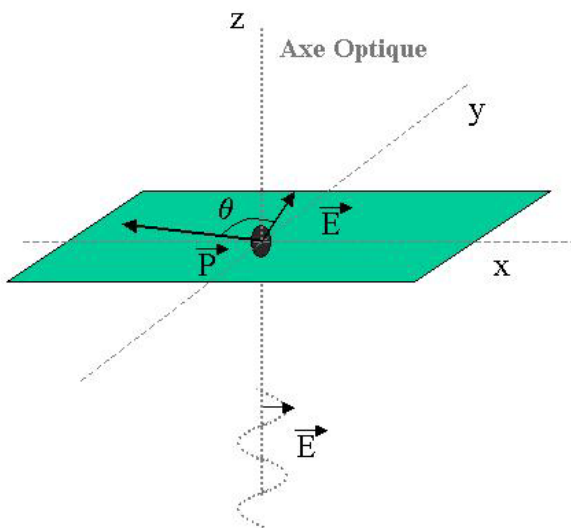


Figure A-1. Rayonnement d'un dipôle en géométrie homéotrope. Les vecteurs P et E sont dans le plan (x,y) . Seule la projection de E sur P excitera le dipôle.

L'intensité moyenne d'émission pourra alors s'écrire :

$$I \propto I_0 \varepsilon c \langle \cos^2(\theta) \rangle \quad (\text{A-1})$$

Avec I_0 l'intensité d'excitation, ε le rendement du fluorophore, c la concentration en marqueur. Soit une intensité telle que :

$$I \propto \frac{1}{2} I_0 \varepsilon c \quad (\text{A-2})$$

On peut raisonner de la même manière pour l'orientation planaire (figure A-2).

²²⁸ Voir Partie I / Chapitre I

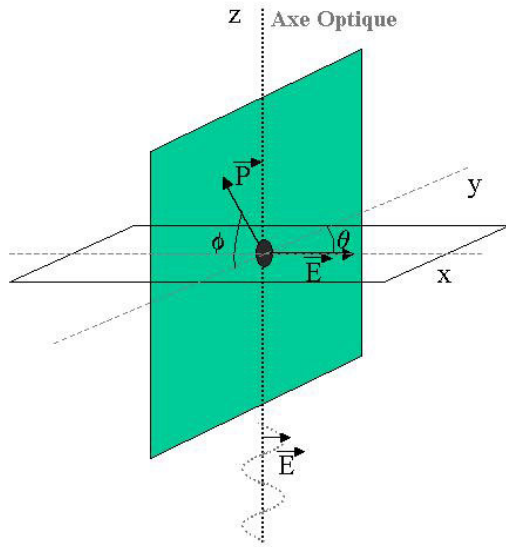


Figure A-2. Rayonnement d'un dipôle en géométrie planaire. Le vecteur P est dans le plan (y,z) . Le vecteur E est dans le plan (x,y) . Seule la projection de E sur P excitera le dipôle.

L'intensité émise s'écrit :

$$I \propto I_0 \varepsilon c \langle \cos^2(\theta) \cos^2(\phi) \rangle \quad (\text{A-3})$$

Soit :

$$I \propto \frac{1}{4} I_0 \varepsilon c \quad (\text{A-4})$$

Si l'on considère que tous les autres phénomènes affectant les ondes d'excitation ou d'émission (absorption, diffusion...) sont indépendants de l'orientation de la phase, on a $I_{\text{homéo}} = 2 I_{\text{planaire}}$.

Ce raisonnement n'est, bien entendu, recevable que si le dipôle de fluorescence est fortement aligné dans le plan des couches. La figure A-3 présente la molécule de DHPE-FITC utilisée dans les expériences du chapitre II. Le groupe fluorescent est plan et possède un degré de liberté de rotation autour de l'axe x . Inséré dans une bicouche, ce groupe va majoritairement s'orienter parallèlement au plan de la membrane.

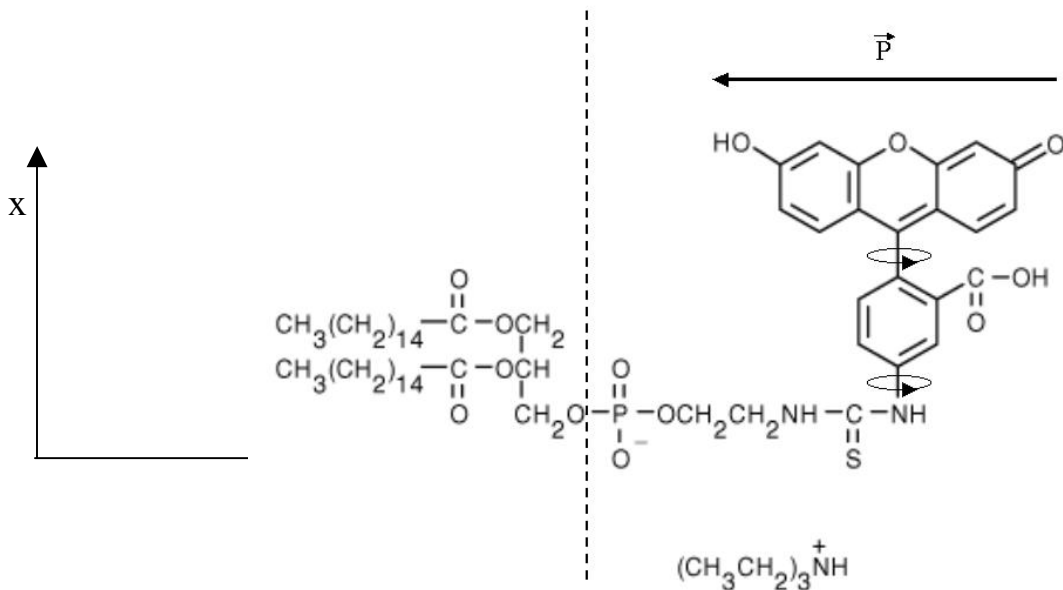


Figure A-3. Molécule de DHPE-FITC utilisée pour les expériences présentées au chapitre II et le dipôle associé. La libre rotation du groupe fluorescent permet de supposer que celui-ci va s'orienter majoritairement parallèlement à la surface de la membrane.

II – Extraction des coefficients de diffusion

La méthode d'extraction du coefficient de diffusion est légèrement différente de celle utilisée dans la partie précédente du fait de l'utilisation de l'objectif x10. La taille de la zone de photoblanchiment ne peut plus être considérée comme ponctuelle. En première approximation, on peut considérer que cette tache est gaussienne de révolution dans le plan (x,y) et constante selon z. Dès lors, on suit la logique développée en annexe I. En orientation planaire, on s'attend à une diffusion anisotrope : l'une, parallèlement au directeur ($D_{//}$), l'autre perpendiculairement au directeur (D_{\perp}).

La loi de Fick à deux dimensions s'écrit, pour un système anisotrope :

$$c(z, y, t) = \frac{1}{4} \frac{c_0 e^{\left(-\frac{1}{4} \frac{z^2}{D_{//} t}\right)} e^{\left(-\frac{1}{4} \frac{y^2}{D_{\perp} t}\right)}}{\sqrt{\pi D_{//} t} \sqrt{\pi D_{\perp} t}} \quad (\text{A-5})$$

En séparant les variables on obtient :

$$c_1(z, t) = \frac{1}{2} \frac{c_z e^{\left(-\frac{1}{4 D_{//} t} z^2\right)}}{\sqrt{\pi D_{//} t}} \quad (\text{A-6})$$

$$c_2(y, t) = \frac{1}{2} \frac{c_y e^{\left(-\frac{1}{4 D_{\perp} t} y^2\right)}}{\sqrt{\pi D_{\perp} t}} \quad (\text{A-7})$$

Les profils initiaux de photo blanchiment s'écrivent :

$$c_1(z, 0) = c_{z_0} e^{\left(-\frac{z^2}{\sigma^2}\right)} \quad (\text{A-8})$$

$$c_2(y, 0) = c_{y_0} e^{\left(-\frac{y^2}{\sigma^2}\right)} \quad (\text{A-9})$$

La convolution de (A-6) et (A-8) donne l'intensité de fluorescence dans la direction x :

$$c(z, t) \propto \frac{c_0 e^{\left(-\frac{z^2}{\sigma^2 + 4 D_{//} t}\right)}}{\sqrt{\sigma^2 + 4 D_{//} t}} \quad (\text{A-10})$$

La convolution de (A-7) et (A-9) donne l'intensité de fluorescence dans la direction y :

$$c(y, t) \propto \frac{c_0 e^{\left(-\frac{y^2}{\sigma^2 + 4 D_{\perp} t}\right)}}{\sqrt{\sigma^2 + 4 D_{\perp} t}} \quad (\text{A-11})$$

Annexe B : Cryofracture

I – Technique de cryofracture

1) Réplication

La cryofracture a été largement utilisée, au cours des vingt dernières années, pour la caractérisation des systèmes organisés²²⁹. Cette technique repose sur un principe simple : l'objectif est de congeler un échantillon de manière suffisamment rapide pour éviter toute réorganisation du système. En particulier, pour des systèmes formulés avec de l'eau, la congélation doit permettre de « vitrifier » le solvant, i.e. de figer la structure du système avant que l'eau n'ait le temps de cristalliser. Cette condition implique que le gradient de température appliqué à l'échantillon soit de l'ordre de 10000 K.s^{-1} . Le transfert de chaleur est d'autant plus efficace que le rapport surface/volume est grand. Pour cette raison, l'échantillon est placé entre deux « plaques » de cuivre d'environ 25 mm^2 et distante d'environ $100 \mu\text{m}$. On procède ensuite comme suit :

- L'échantillon est placé sur une platine Mettler régulée en température (même dispositif que pour les expériences de FRAP).
- On attend environ 10 minutes pour laisser au système le temps de s'équilibrer.
- Il est alors plongé rapidement dans un bain de propane liquide ($\sim 77 \text{ K}$) puis transféré dans de l'azote liquide ($\sim 77 \text{ K}$).
- L'échantillon est alors fracturé à froid ($\sim 148 \text{ K}$) et sous vide ($\sim 10^{-9} \text{ bar}$).
- On dépose ensuite sur la surface fracturée une fine couche de platine et de carbone sublimés. Cette couche est donc « moulée » sur la surface.
- On dissout l'échantillon dans un solvant approprié afin de ne conserver que la couche de platine renforcée par le carbone. Cette dernière est appelée réplique.

Jusqu'à la réplique, il faut veiller à ce que la température de l'échantillon ne remonte jamais au dessus de 137 K , température de recristallisation de l'eau. Le platine, matériau opaque aux électrons, sert d'agent de contraste pour la microscopie électronique. Il est envoyé sur l'échantillon avec une orientation particulière. Il se fixe alors de manière différente selon le relief rencontré sur l'échantillon. C'est cette modulation de la quantité de platine qui est observée en microscopie électronique. Le carbone est transparent aux électrons et sert à renforcer la « réplique » de platine.

Idéalement, le carbone et le platine se fixent exactement à l'emplacement auquel ils frappent l'échantillon. Malheureusement, une fraction non-négligeable de ce dépôt va s'agréger et former de petits cristallites. La résolution est fixée par la taille de ces agrégats. Elle est typiquement de 2 à 5 nm .

²²⁹ J. A. N. Zasadzinski et S. M. Bailey, J. Elec. Micro. Tech., 13, 1989, 309

2) Fracture d'une phase lamellaire

La fracture d'un échantillon se produit selon une surface définie par un équilibre entre les plans de moindre résistance et la direction de fracture. Dans une phase lamellaire, les plans de moindre résistance sont les plans des couches. Une phase lamellaire sera donc fracturée préférentiellement dans le plan des couches. A certains endroits, lorsque le plan des couches s'éloigne trop de la direction selon laquelle est dirigée la fracture, le système est alors fracturé dans la direction d'empilement des couches. La figure B-1 illustre ce phénomène de coupe.

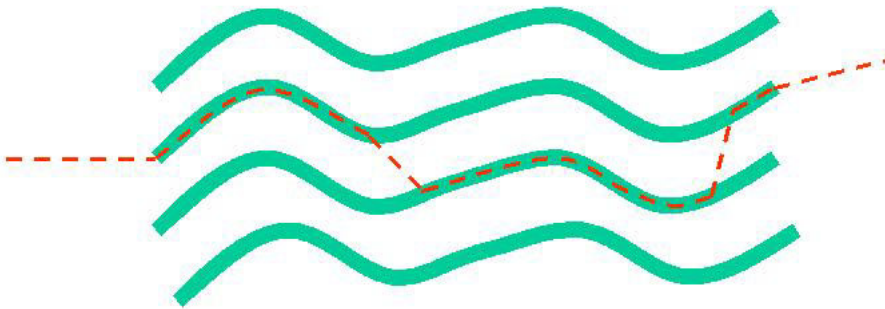


Figure B-1. Principe de la fracture d'une phase lamellaire. La fracture se fait préférentiellement dans le plan des couches. Parfois, le plan de rupture (ligne pointillée) doit être corrigée pour ne pas trop dévier de la direction de fracture.

La réplique consiste à projeter du platine et du carbone sublimés selon un axe incliné par rapport à la normale au plan de fracture ($\sim 45^\circ$). La densité locale de platine est alors fonction de l'orientation de la phase (figure B-2).

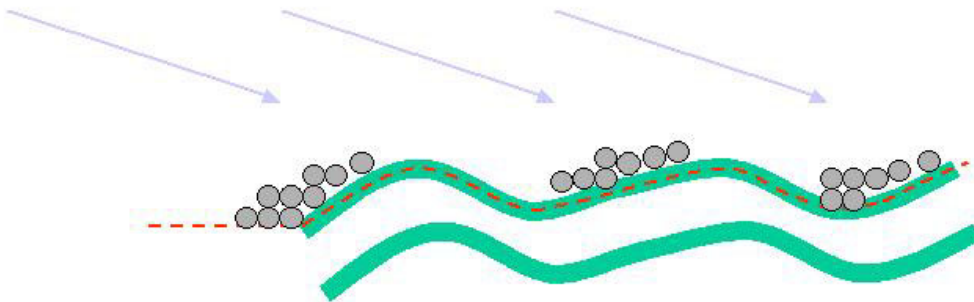


Figure B-2. La réplique permet de marquer le relief laissé par la fracture. Le platine et le carbone sublimés vont se concentrer sur les surfaces les plus exposées. La densité de platine est donc fonction de l'orientation locale de la phase.

Annexe C : Quelques estimations

I – Calcul de l'excès de surface engendré par une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 selon la structure microscopique du défaut

3) Rappels

Comme expliqué en introduction, une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 peut être représentée par deux descriptions microscopiques différentes : « escalier de Chambord » et « poignée vis ». La figure C-1 présente les deux types de représentations possibles. Dans une dislocation de type « escalier de Chambord », le défaut est défini par deux hélices alternées²³⁰, de pas $h = 2d$, séparées entre elles par une distance égale à d . Une dislocation de type « poignée vis », au contraire, n'est définie que par une seule hélice, toujours de pas $h = 2d$. Celle-ci est alors soutenue par deux membranes qui sont reliées entre elles comme l'illustre la figure C-1 (b).

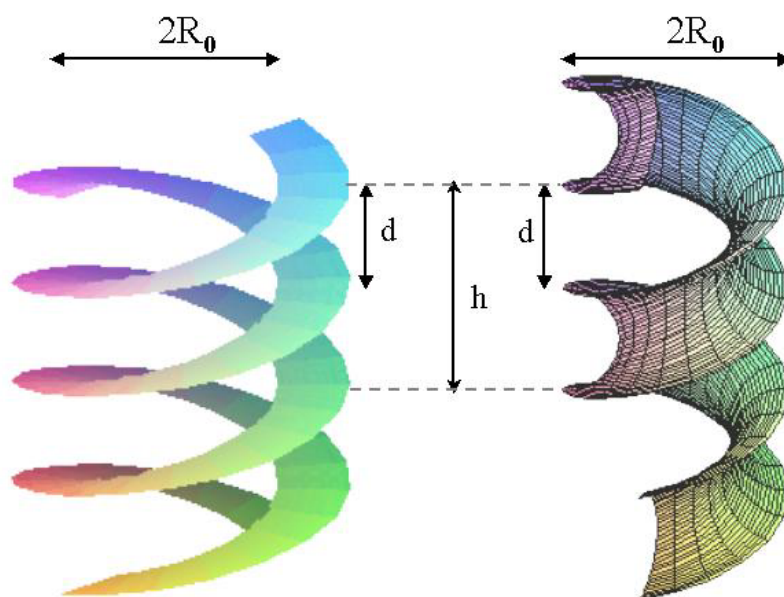


Figure C-1. Représentation des deux visions microscopiques d'une dislocation vis de vecteur de Burgers 2. (a) « Escalier de Chambord ». (b) « Poignée vis ». Les surfaces considérées sont tracées pour une membrane sans épaisseur.

La densité de défaut extraite des expériences de diffraction des rayons X dépend fortement de la représentation. En effet, le volume d'eau et de tensioactifs dans les deux types de défauts ne sont pas les mêmes. Le calcul du volume de ces défauts...

4) Evolution du pas smectique et défauts

²³⁰ à l'image d'une molécule d'ADN par exemple, ou, bien entendu du double escalier central du château de Chambord d'où cette représentation tire son nom.

Annexe C : Quelques estimations

La diminution du pas smectique, d , à l'approche de la transition de phases smectique-nématique est interprétée comme étant liée à l'apparition de défauts, de type dislocation vis, possédants un cœur aqueux. La fraction volumique en eau totale, ϕ_{Eau} , dans l'échantillon peut être reliée à la fraction volumique en eau entre les bicouches, ϕ_{Lam} , et la fraction volumique en eau dans les défauts, ϕ_{Deff} par l'expression :

$$\phi_{Eau} = \alpha \phi_{Deff} + (1 - \alpha) \phi_{Lam} \quad (C-1)$$

Avec α la fraction volumique en défauts dans l'échantillon.

Le pas smectique est alors défini par la fraction volumique en eau restant entre les membranes, ϕ_{Lam} , et s'écrit :

$$d = \frac{\delta}{1 - \phi_{Lam}} \quad (C-2)$$

L'existence de défauts possédant un cœur aqueux n'entraînera une diminution du pas smectique que si la fraction volumique en eau entre les bicouches, ϕ_{Lam} , est inférieure à la fraction volumique en eau totale dans l'échantillon, ϕ_{Eau} . Cette condition est vérifiée si :

$$\phi_{Deff} > \phi_{Eau} \quad (C-3)$$

5) Dislocation de type escalier de Chambord

La figure C-2 montre l'une des hélices d'une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 de type « escalier de Chambord ». Le volume de tensioactif dans un tel défaut peut être estimé de la manière suivante :

En première approximation, le volume d'une hélice peut s'écrire comme le volume de la partie intérieure d'un tore de rayon R défini par :

$$R = \frac{1}{2} \sqrt{4R_0^2 + d^2} \quad (C-4)$$

Avec R_0 le rayon de la dislocation et d le pas smectique.

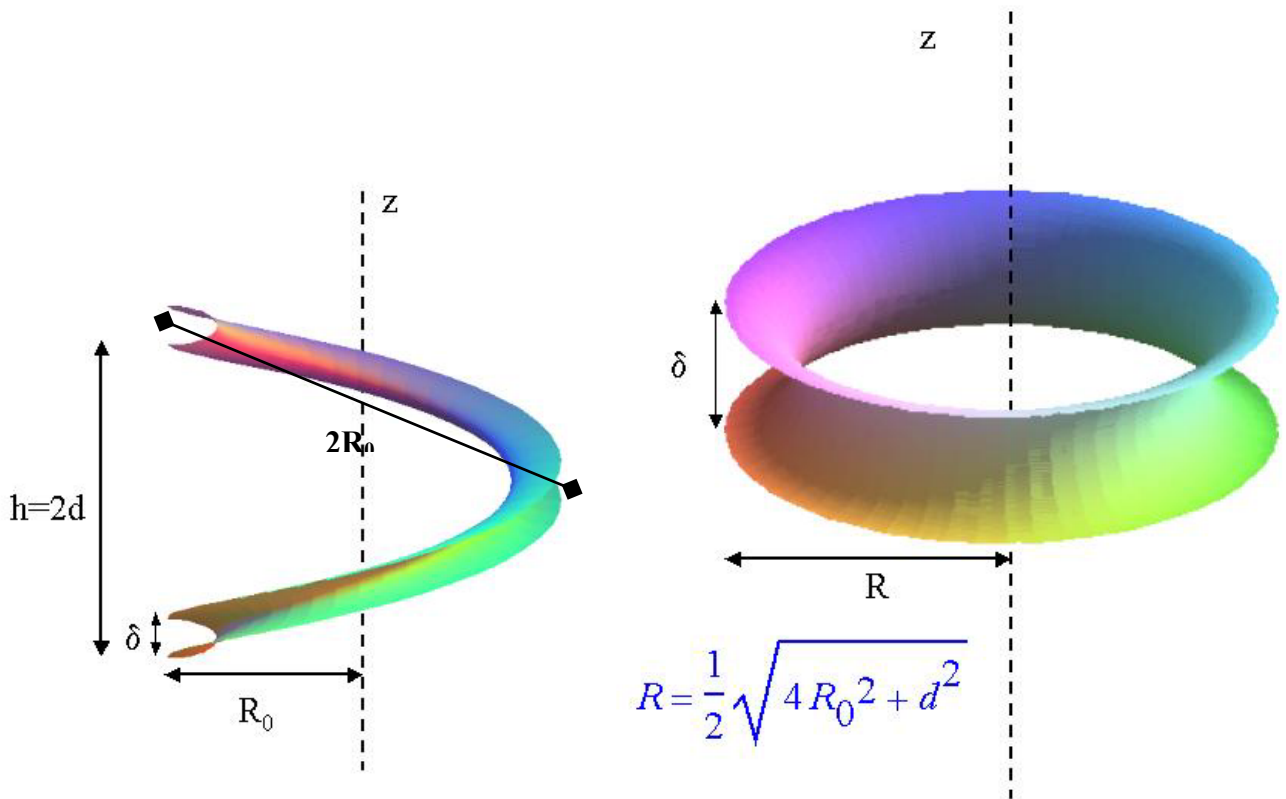


Figure C-2. Le calcul du volume occupé par les lipides est, en première approximation, celui du volume de la partie intérieure d'un tore de rayon R (expression (C-4)).

En utilisant le système de coordonnées cylindriques, on peut définir l'élément de volume du demi-tore intérieur (voir figure C-3).

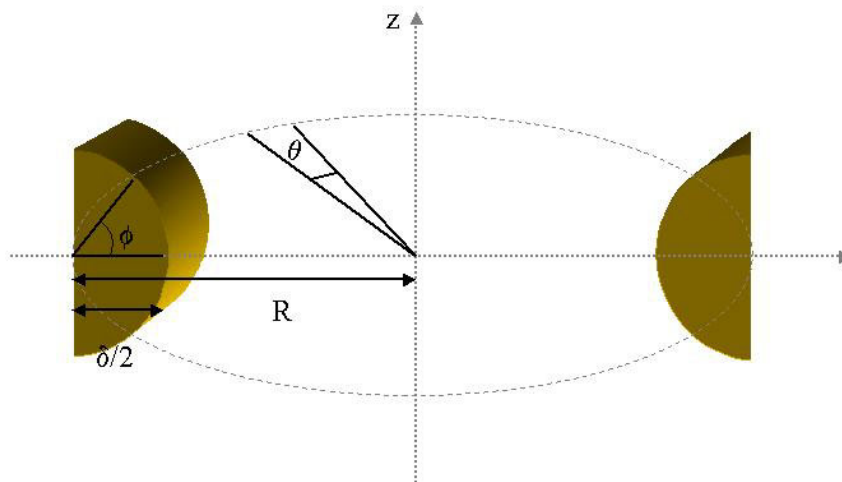


Figure C-3. Élément de volume du demi tore intérieur.

Annexe C : Quelques estimations

Le volume de lipides dans une hélice, sur un pas de l'hélice (i.e. sur une rotation de 2π autour de l'axe z), s'écrit alors :

$$V_L = \int_0^{2\pi} d\theta \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} d\phi \int_0^{\frac{\delta}{2}} \rho_1 \left(R - \rho_1 \cos(\phi) \right) d\rho_1 \quad (\text{C-5})$$

Tous calculs faits, on trouve :

$$V_L = \frac{1}{4} R \delta^2 \pi^2 - \frac{1}{6} \pi \delta^3 \quad (\text{C-6})$$

Le volume total du défaut correspondant est défini par le volume d'un cylindre de rayon R_0 et de hauteur $2d$:

$$V_T = 2 \pi R_0^2 d \quad (\text{C-7})$$

Puisqu'il y a deux hélices imbriquées, la fraction volumique en eau dans le défaut s'écrit finalement :

$$\phi_{Deff} = 1 - 2 \frac{V_L}{V_T} \quad (\text{C-8})$$

6) Dislocation vis de type « poignée vis »

En raisonnant de la même manière que ci-dessus, on peut calculer le volume de lipide pour une dislocation vis de vecteur de Burgers 2 de type « poignée vis ». La figure C-4 présente le volume calculé.

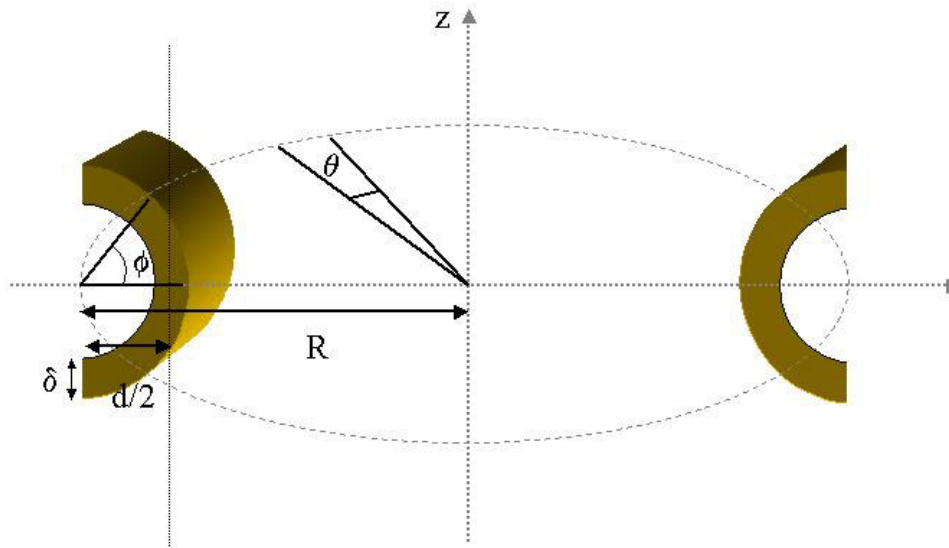


Figure C-4. Le calcul du volume occupé par les lipides est, en première approximation, celui du volume de la partie intérieure ($r < R$) d'un tore creux de rayon R .

Le volume de lipides, sur un pas d'hélice, s'écrit :

$$V_L = \int_0^{2\pi} d\theta \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} d\phi \int_{\frac{d}{2}-\frac{\delta}{2}}^{\frac{d}{2}+\frac{\delta}{2}} \rho_1 (R - \rho_1 \cos(\phi)) d\rho_1 \quad (\text{C-9})$$

Tous calculs faits, on trouve :

$$V_L = R d \delta \pi^2 - \pi d^2 \delta - \frac{1}{3} \pi \delta^3 \quad (\text{C-10})$$

Puisqu'il n'y a qu'une seule hélice qui définit le défaut, la fraction volumique en eau dans les défauts s'écrit alors :

$$\phi_{D_{eff}} = 1 - \frac{V_L}{V_T} \quad (\text{C-11})$$

Avec V_T toujours défini par l'expression (C-7).

II – Diffusion dans une phase lamellaire ponctuée de boucles de dislocations

1) Rappels

Pour des raisons topologiques, l'existence de dislocations vis excitées thermiquement dans une phase smectique A est indissociablement liées à l'existence de boucles de dislocations constituées de deux dislocations vis de signes opposés et de deux dislocations coins, également de signes opposés²³¹. La figure C-5 présente une portion, en z, d'un tel défaut.

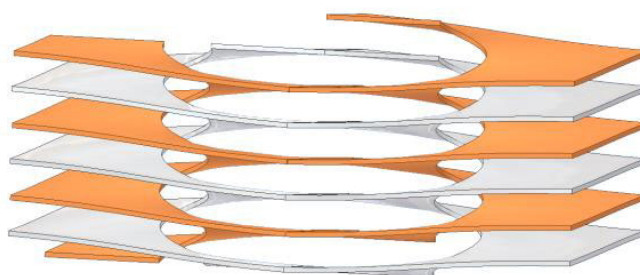


Figure C-5. Représentation d'une portion, selon la direction d'empilement des couches, d'une boucle de dislocations de vecteur de Burgers 2. Ce type de défaut va induire une augmentation de la diffusion dans la direction d'empilement des couches.

En l'absence de défauts, la diffusion dans la direction d'empilement des couches dans une phase L_α est gouvernée par le phénomène de perméation. Dans un système lyotrope, ce phénomène correspond au « saut », par exemple, d'une molécule de solvant à travers une bicouche. Ce mode de transport est, la plupart du temps, très lent. L'existence de boucles de dislocations dans une phase lamellaire va permettre aux molécules des deux milieux (solvant et bicouche) de diffuser rapidement dans la direction d'empilement des couches sans « saut » à travers l'autre milieu²³². L'objectif de cette annexe est d'estimer l'évolution du coefficient de diffusion selon la normale aux couches, $D_{//}$, en fonction de la quantité de défauts. On considère des dislocations vis de vecteur de Burgers b et possédant un cœur aqueux de rayon R_0 . De plus, on néglige l'influence des dislocations coins dans le processus de diffusion (ce qui est raisonnable si celles-ci sont d'une longueur très inférieure à celles des dislocations vis).

2) Estimation du coefficient de diffusion $D_{//}$ en fonction de la quantité de défauts

La présence de boucles de dislocations dans une phase lamellaire va modifier les propriétés de diffusion d'un marqueur dans la direction d'empilement des couches de différentes manières. La figure C-6 présente les deux types de transport possibles en fonction du milieu dans lequel le marqueur diffuse. Pour un marqueur diffusant dans le solvant, le

²³¹ Voir Partie II / Chapitre I

²³² Voir Partie II / Chapitre II

cœur aqueux des dislocations permet une diffusion très rapide dans la direction d'empilement des couches (figure C-6 (a)). Les boucles de dislocations permettent à un marqueur, quel que soit le milieu dans lequel il diffuse, de progresser dans la direction d'empilement des couches, en diffusant à travers une boucle de dislocation (figure C-6 (b)).

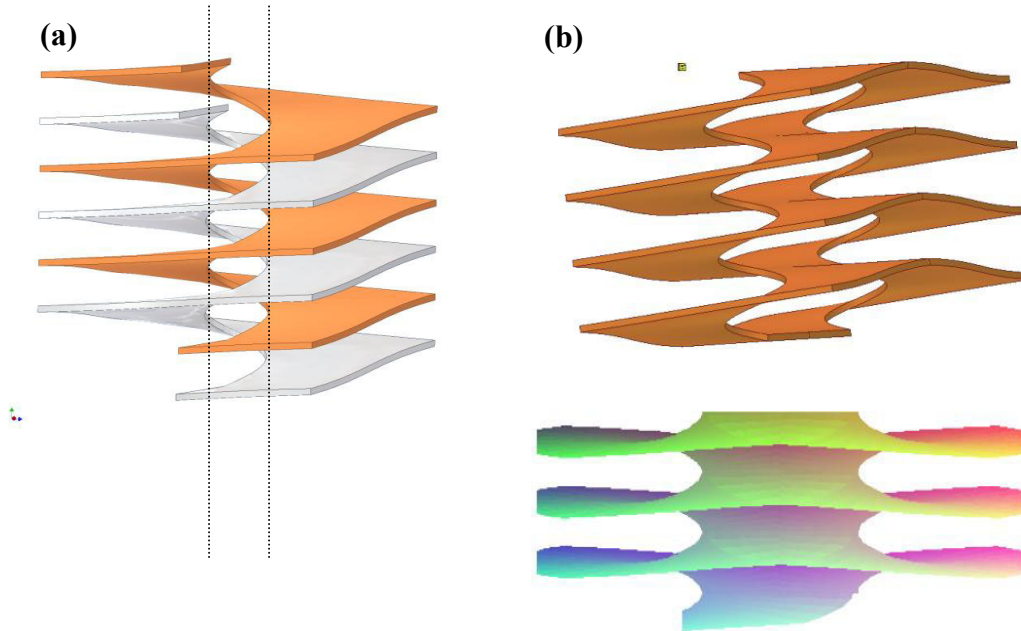


Figure C-6. Différents modes de diffusion induits par l'existence de boucles de dislocations. (a) Diffusion d'un marqueur inséré dans le solvant à travers le cœur aqueux. (b) Représentation en perspective d'une boucle de dislocation. Un tel défaut crée une rampe permettant la diffusion des deux types de marqueurs dans la direction d'empilement des couches.

Afin d'estimer les contributions de chacune de ces composantes à la diffusion dans la direction d'empilement des couches, on s'appuie sur le raisonnement suivant : on considère que la diffusion, à deux dimensions, des marqueurs se fait de manière isotrope sur une surface dont la topologie est, elle, anisotrope. Le coefficient de diffusion dans la direction d'empilement des couches, $D_{//}$, est alors relié au coefficient de diffusion dans le plan des couches, D_{\perp} , par une relation purement géométrique liée à la topologie. On considère que les défauts sont de longueur infinie. On peut alors écrire :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} = \frac{\alpha l_{//}^2}{l^2} \quad (\text{C-12})$$

Avec α la fraction surfacique de défauts, l la distance à parcourir, en suivant la surface, pour progresser d'une distance $l_{//}$ dans la direction d'empilement des couches.

Annexe C : Quelques estimations

- Diffusion d'un marqueur hydrophile dans le cœur aqueux d'une dislocation vis

Si l'on considère le cœur d'une dislocation vis comme un cylindre d'eau, un marqueur dans le cœur du défaut progressera dans la direction d'empilement des couches indépendamment de l'existence des membranes. On a alors :

$$\frac{l_{//}^2}{l^2} = 1 \quad (\text{C-13})$$

Le rapport des coefficients de diffusion s'écrit alors :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} = \alpha \quad (\text{C-14})$$

Cette contribution à la diffusion dans la direction d'empilement des couches est identique à celle créée par l'existence de pores.

- Diffusion d'un marqueur à travers une boucle de dislocation

La figure C-7 montre une représentation schématique d'une phase lamellaire ponctuée de boucles de dislocations dont la distance moyenne, centre à centre, est égale à ξ (a). On considère une densité, β , de boucles de dislocations de taille L^* et de largeur $2 R_C$, avec R_C le rayon de cœur d'une dislocation vis (b). On considère que chaque fois qu'un marqueur « traverse » une boucle de dislocations, il progresse de b dans la direction d'empilement des couches (c).

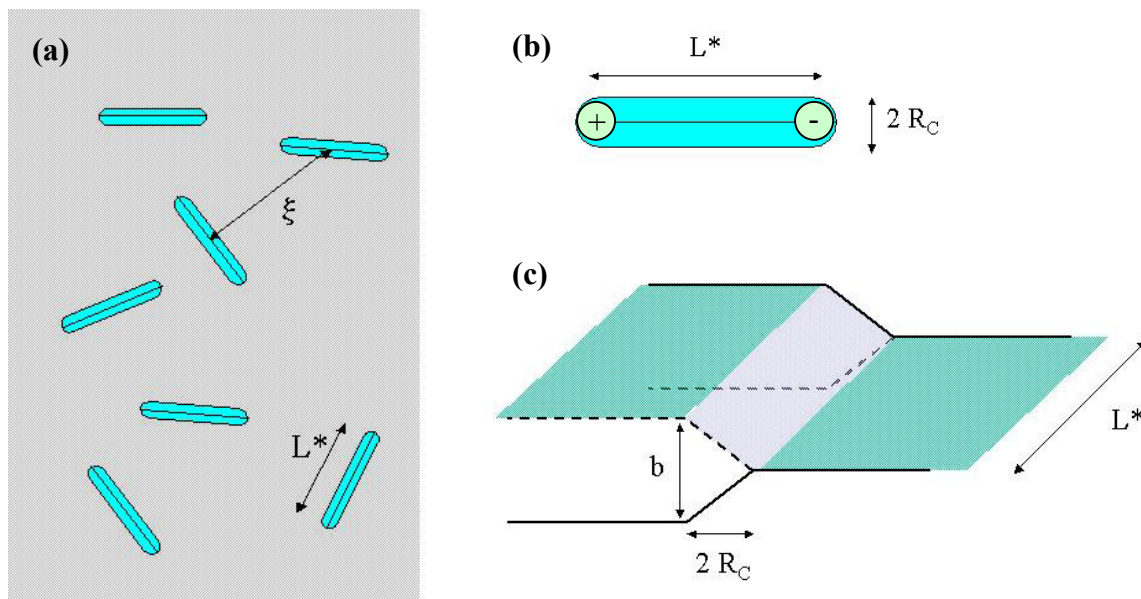


Figure C-7. (a) Représentation schématique d'une membrane ponctuée de boucles de dislocations (axe optique parallèle au directeur). (b) Une boucle de dislocations est définie, dans le plan des couches par sa longueur, L^* , et sa largeur, $2R$. (c) Lorsqu'un marqueur diffuse à travers une boucle de dislocations, il progresse de $b/2$ dans la direction d'empilement des couches

Annexe C : Quelques estimations

En considérant que la longueur des boucles de dislocations est très supérieure à leur largeur, on peut écrire :

$$\beta = 2 \frac{L^* R_C}{\pi \xi^2} \quad (\text{C-15})$$

$$\alpha = \frac{2 R_C^2}{\xi^2} \quad (\text{C-16})$$

On en déduit l'expression de β :

$$\beta = \frac{L^* \alpha}{\pi R_C} \quad (\text{C-17})$$

Le rapport des distances à parcourir dans les deux directions est défini par :

$$\frac{l_{//}}{l} = \frac{b}{\sqrt{b^2 + 4 R_C^2}} \quad (\text{C-18})$$

En suivant le même raisonnement que pour les autres contributions à la diffusion, on peut exprimer le rapport des coefficients de diffusion :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} = \beta \frac{l_{//}^2}{l^2} \quad (\text{C-19})$$

Soit :

$$\frac{D_{//}}{D_{\perp}} \approx \frac{L^* \alpha b^2}{\pi R_C (b^2 + 4 R_C^2)} \quad (\text{C-20})$$

Ce mode de diffusion doit exister pour les deux types de sondes : hydrosoluble et membranaire.

III – Ordres de grandeur des énergies de cœur des défauts et de l'entropie des boucles de dislocations

1) Energie de courbure

L'énergie de courbure libérée lors de la destruction des défauts peut s'écrire :

$$e_0 = \int \frac{1}{2} \kappa C_0^2 dS \quad (\text{C-21})$$

Avec κ la constante élastique de la bicouche. En considérant que dans une dislocation vis la courbure est principalement liée à l'énergie de bout de la membrane près du cœur aqueux, on peut estimer l'énergie de courbure sur un tour d'hélice pour une dislocation vis de type « escalier de Chambord » :

$$e_0 \sim \frac{1}{4} \pi \delta C_0^2 \kappa L \quad (\text{C-22})$$

Avec L la longueur de la vis sur un pas d'hélice définie par :

$$L \sim \sqrt{4\pi^2 R^2 + b^2} \quad (\text{C-23})$$

La courbure est alors définie par :

$$C_0 \sim \frac{2}{\delta} \quad (\text{C-24})$$

En considérant un smectique possédant un nombre total n de tours d'hélices, pour des dislocations de vecteur de Burgers 2 de type « escalier de Chambord », l'énergie totale stockée dans les défauts est donnée par :

$$e = 2 n e_0 \quad (\text{C-25})$$

Le nombre de défauts, n , peut être relié à la densité, α , de défauts mesurés en diffraction des rayons X :

Annexe C : Quelques estimations

$$\alpha \sim \frac{n \pi R_C^2 b}{V} \quad (\text{C-26})$$

On en déduit l'expression de l'énergie par unité de volume stockée dans les défauts :

$$\frac{e}{V} \sim 2 \frac{\alpha L \kappa}{R_C^2 \delta b} \quad (\text{C-27})$$

Le rayon des défauts est donné par :

$$R = R_C + \frac{1}{2} \delta \quad (\text{C-28})$$

En prenant le rayon de cœur extrait des expériences de diffraction des rayons X, $R_C = 55 \text{ \AA}$, $d = 65 \text{ \AA}$, $\delta = 31 \text{ \AA}$, $\alpha = 0.3$ et $\kappa = 10 k_B T$ on peut estimer l'énergie stockée par l'intégralité des dislocations vis. On trouve :

$$\frac{e}{V} \sim 1 \cdot 10^6 \text{ J.m}^{-3}$$

2) Entropie de rotation des boucles de dislocations

L'énergie associée à l'orientation des boucles de dislocations peut être estimée en considérant quelle correspond à la perte d'un degré de liberté de rotation. Cette énergie s'écrit alors :

$$\frac{e_0}{V} \sim \frac{k_B T m}{V} \quad (\text{C-29})$$

Avec m le nombre total de boucles de dislocations dans le système. Ce nombre est égal à la moitié du nombre de dislocation vis dans le smectique. On peut donc écrire la densité α de dislocation vis sous la forme :

$$\alpha \sim 2 \frac{m \pi R_C^2 h}{V} \quad (\text{C-30})$$

Avec h la longueur des dislocations vis. L'expression (C-29) devient :

$$\frac{e_0}{V} \sim \frac{1}{2} \frac{k_B T \alpha}{\pi R_C^2 h} \quad (\text{C-31})$$

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette thèse se présente en deux parties.

Dans la première, l'objectif était de caractériser comment certaines phases lamellaires L_{α} peuvent être dopées avec des molécules hydrophiles d'intérêt biologique. L'idée sous-jacente étant chaque fois d'encapsuler ces dopants dans des oignons formés en cisailant la phase lamellaire, le tout à des fins médicales.

Une analyse détaillée des mécanismes d'encapsulation de la BSA dans trois systèmes lamellaires lyotropes est présentée. Il est montré, en combinant les résultats expérimentaux des expériences de rayons X, de microscopie et de FRAP, que la BSA peut être encapsulée dans des vésicules multilamellaires du mélange PC/Simulsol/H₂O. Le résultat principal est que la BSA est expulsée de la phase lamellaire et forme des petits amas qui s'hydratent à l'identique de la phase lamellaire, de sorte que les vésicules sont formées d'un cœur de BSA entouré d'une gangue de phase lamellaire. Le même phénomène de démixtion se reproduit dans le deuxième mélange de C12E5/Hexanol/H₂O lorsque la concentration en membrane est, soit très faible (<0.05), soit très forte (>0.45). En revanche la BSA se dissout bien aux concentrations intermédiaires, même lorsque sa taille est deux fois supérieure à l'épaisseur des couches d'eau séparant les membranes. Ce résultat est attribué à la grande flexibilité de ces dernières dans ce système. Il faut néanmoins souligner qu'il est impossible de dissoudre de grandes quantités de BSA dans cette phase (moins de 1%) sous peine de démixtion. Le dernier système étudié (AOT/H₂O/NaCl) présente un comportement différent des deux autres puisqu'il peut être plus fortement dopé en BSA (jusqu'à 4 % en poids), et ceci tant que l'épaisseur des couches d'eau est à peu près égale ou supérieure au diamètre de la molécule de BSA. En deçà de cette dilution, le système démixte.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux propriétés de diffusion de différents dopants confinés entre deux membranes. Cette étude est possible dans une large gamme du rapport de confinement $2R_H/dw$ puisqu'il peut varier typiquement entre 0.03 (forte dilution) et 2 (faible dilution) (dw = épaisseur de la couche d'eau et R_H = rayon hydrodynamique du dopant). C'est là que réside tout l'intérêt de ces systèmes lamellaires.

La première série d'expériences porte sur la diffusion de petites molécules (fluorophores) dans ces différents mélanges. Ainsi dans le mélange C₁₂E₅/Hexanol/H₂O, les mesures de FRAP montrent que les molécules de fluorescéine et de rhodamine diffusent comme le prévoit le modèle hydrodynamique pour une particule entre deux parois solides aux fortes dilutions ($0.03 < 2R_H/dw < 1$). A plus faible dilution, un modèle tenant compte du fait que la molécule diffusante entraîne une portion de bicouche permet de rendre compte de la valeur du coefficient de diffusion mesurée expérimentalement (dans ce cas le coefficient de diffusion tend vers celui d'un marqueur membranaire). Le cas du mélange C₁₂E₅/Hexanol/H₂O est plus intéressant, car si le comportement de la fluorescéine (très soluble dans l'eau) est sensiblement le même que dans le système précédent, celui de la rhodamine est plus complexe, le modèle hydrodynamique ne s'appliquant plus à forte dilution. Dans ce régime, le coefficient de diffusion sature vers une valeur plus faible que celui trouvé dans l'eau libre. Cet effet surprenant, qui semble provenir d'une affinité particulière entre la membrane et la rhodamine, est inexplicable. Enfin le cas du mélange PC/Simulsol/H₂O est analysé. Ce système est moins intéressant puisque cette phase ne peut pas être fortement hydratée. Les mesures montrent néanmoins que les coefficients de diffusion des deux sondes précédentes sont à peu près égaux à ceux de sondes membranaires de tailles similaires en régime peu dilué et augmentent continûment avec la dilution. Il faut toutefois noter qu'aucune variation marquée n'est observée au passage entre les régimes concentré et dilué dans ce système, contrairement à ce qui se passe dans les deux autres.

La seconde série d'expériences portent sur la diffusion de la BSA* (molécule de BSA sur laquelle est greffée une ou plusieurs sondes fluorescentes) dans les deux systèmes où elle

Conclusion générale

est susceptible de s'insérer. Dans le premier ($C_{12}E_5$ /Hexanol/ H_2O) les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus avec la fluorescéine : existence d'un régime dilué et d'un régime concentré, tous deux dominés par l'hydrodynamique. La nouveauté tient au fait que le passage de l'un à l'autre se produit pour une épaisseur d_w nettement plus petite que le rayon hydrodynamique (en eau libre) de la BSA. Cet effet est expliqué par le fait que la molécule de BSA est anisotrope (elle a la forme d'un ellipsoïde allongé) et peut s'incliner pour rester dans la couche aqueuse. Dans le second système (AOT/ H_2O /NaCl), les expériences sont moins concluantes, car la gamme de dilution accessible à l'expérience est assez restreinte. Néanmoins les données obtenues semblent en faveur du modèle hydrodynamique avec anisotropie. Ce travail sur la diffusion en milieu confiné se termine par une discussion assez qualitative de l'origine possible d'une autre source d'anisotropie (effective), pouvant provenir des fluctuations de position des membranes. Cet effet permettrait d'expliquer pourquoi les effets d'anisotropie sont plus forts pour les grosses molécules comme la BSA que pour les fluorophores, nettement plus petits. Mais des mesures sur le système (AOT/ H_2O /NaCl) à deux concentrations en sel différentes semblent infirmer cette hypothèse. D'où la conclusion que la molécule de BSA puisse changer de conformation moléculaire lorsqu'elle est fortement confinée entre les membranes, ce qui augmente son anisotropie. Cette hypothèse est confirmée par des mesures préliminaires de spectroscopie infrarouge.

En conclusion, cette première partie de thèse constitue un travail exploratoire. L'existence claire d'un régime très confiné où les molécules diffusent comme des dopants membranaires et d'un régime dilué où les particules diffusent comme dans le solvant pur (à une exception près, non comprise) est mise en évidence. Ces expériences posent aussi beaucoup de questions fondamentales comme celle du rôle de l'anisotropie des diffuseurs (qui peut être réelle ou induite par le confinement, comme c'est le cas pour la BSA) ou des fluctuations thermiques des couches.

Dans la seconde partie de la thèse est abordé un problème complètement différent, qui est celui de la transition lamellaire-cholestérique et du rôle des dislocations vis dans cette transition. Le système étudié est un mélange connu d'un surfactant non ionique ($C_{12}E_5$), d'un phospholipide chiral (DMPC) et d'eau. Ce système, déjà étudié par O. Dhez et O. Diat, présente une transition lamellaire-cholestérique originale par refroidissement au voisinage de la température ambiante. Le but de ce travail était de confirmer (ou d'infirmer) l'hypothèse émise par les deux auteurs précédents que cette transition est induite par la prolifération de dislocations vis de vecteur de Burgers $2d$ (où d est l'épaisseur d'une lamelle). Ces défauts, doivent connecter à la fois le milieu hydrophile et le milieu hydrophobe (ce qui ne serait pas le cas pour des défauts « ponctuels » de type pores ou ponts). Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé des mesures par FRAP du coefficient de diffusion de sondes fluorescentes lipophiles (lipides FITC et rhodamine) ou hydrosolubles (calcéine) dans la direction normale aux couches, ce qui nécessitait de réaliser des échantillons planaires. La méthode utilisée pour les obtenir a consisté à cisailer à l'aide d'une centrifugeuse, au voisinage de la température de transition, la phase lamellaire contenue dans un capillaire plat scellé aux extrémités. Les mesures de FRAP ont révélé que les coefficients de diffusion des deux sondes lipophiles et de la calcéine augmentaient sensiblement à l'approche de la phase cholestérique dans une plage de 5 à 10°C. En revanche les coefficients de diffusion de ces sondes sont à peu près constants en fonction de la température jusqu'à la transition dans le plan des couches. Ces observations montrent sans ambiguïté que les couches d'eau et de surfactant se connectent simultanément en accord avec la présence attendue de dislocations vis (en revanche, elles ne permettent pas de distinguer les vis de défauts ponctuels du type « passage »).

Conclusion générale

Nous nous sommes ensuite attelé à la quantification de la densité de défauts. Des mesures du pas smectique en rayons X à différentes températures et concentrations montrent sans ambiguïté une forte diminution du pas smectique à l'approche de la phase cholestérique. Cette diminution est attribuée à la formation de défauts à cœur aqueux comme l'avaient déjà suggéré O. Dhez et O. Diat. Un modèle purement géométrique permet de tirer de ces données la densité de défauts en fonction de la température et de la concentration. Le résultat est que la concentration de défauts augmente linéairement avec la température à l'approche de la transition, un effet d'autant plus marqué que la fraction volumique de membranes est faible. Les densités trouvées sont très importantes puisque les défauts peuvent occuper jusqu'à 30% du volume total de la phase à la transition. Le rayon du cœur aqueux des défauts est aussi estimé (de l'ordre de 50-60Å).

Pour distinguer entre des vis et des passages, nous avons ensuite réalisé des expériences de cryofracture. Les traces laissées par les défauts lors d'un clivage parallèlement aux couches (observées en microscopie électronique après réplique des surfaces) montrent sans ambiguïté que la phase est remplie de boucles de dislocations perpendiculaires aux couches, de vecteur de Burgers $2d$. La démonstration est donc faite de l'existence de ces vis particulières, hypothèse déjà avancée dans la thèse d'O. Dhez. La taille des boucles est aussi relativement peu dispersée, ce qui semble en faveur de l'existence de défauts en équilibre thermodynamique. Par contre la structure microscopique du cœur de ces défauts (« escalier de Chambord » ou « poignée vis ») est indécidable à ce stade. Pour répondre à cette question, nous avons calculé la quantité d'eau contenue dans le cœur de ces défauts. Ce calcul amène à la conclusion que les vis en « escalier de Chambord » sont les seules qui peuvent expliquer la variation du pas smectique mesurée en diffraction des rayons X. Cette observation est compatible avec l'observation de vis de vecteur de Burgers 3 observée dans des échantillons très riches en phospholipides.

Mais les observations en cryofracture permettent d'aller plus loin dans l'analyse de la structure de la phase, puisqu'elles montrent que les boucles s'agencent parallèlement entre elles, avec toutes les vis d'un signe donné du même côté. Cette observation montre qu'il existe un directeur c (de type spin) dans le plan des couches. La phase lamellaire est donc biaxe, de symétrie ponctuelle C_p au proche voisinage de la phase cholestérique. Ce résultat est confirmé par rayons X (diffusion diffuse anisotrope) et l'analyse des défauts (de rangs $+1$ et -1) de la texture « schlieren » observée en orientation homéotrope. Ce type d'organisation disparaît à haute température où la phase lamellaire recouvre un caractère normal avec des boucles d'orientations aléatoires et de plus en plus rares quand la température augmente. Ce travail suggère donc fortement l'existence en température d'une transition de type SmA-SmC « orthogonale » (notée L_C) au proche voisinage de la phase cholestérique.

Ce dernier chapitre se termine par une étude de la transition L_C -cholestérique. Des études de textures au microscope polarisant, de rayons X, de FRAP et de calorimétrie montrent que cette transition est continue, vraisemblablement du deuxième ordre. Un scénario est proposé, qui s'inspire de travaux théoriques sur les transitions de phases induites par les défauts (Nelson, Toner, Kamien et Lubenski entre autres, sans oublier Helfrich). Il se résume très schématiquement de la façon suivante. Une partie des boucles de dislocations commence progressivement de se « déboucler ». Cela signifie que la longueur des deux segments de dislocations vis formant ces boucles diverge. Le « biais chiral » provoque alors la disparition d'une partie des dislocations libres (toutes de même signe) ainsi formées. Il en résulte la formation d'une phase cholestérique. Il est suggéré qu'une phase de type TGB puisse se former entre la phase L_C et la phase cholestérique, mais ce résultat, quoique possible, reste spéculatif.

Résumé :

L'étude des propriétés de diffusion moléculaire d'un dopant dans une phase lamellaire orientée nous permet de mettre en évidence les caractéristiques de diffusion dans un milieu fortement anisotrope. En particulier, la variation continue de la dilution du système montre l'existence de deux régimes : un régime dilué où les molécules diffusent comme dans un solvant et un nouveau régime, très confiné, dans lequel les molécules diffusent comme des dopants membranaires. Le développement d'un modèle prenant en compte la fluidité des membranes nous permet d'interpréter ces résultats dans la majorité des cas et révèle l'importance de l'anisotropie des diffuseurs.

Dans la seconde partie, nous nous intéressons à l'étude du mécanisme microscopique mis en jeu dans la transition smectique – cholestérique dans les cristaux liquides lyotropes. En utilisant un système déjà connu au laboratoire (DMPC/C₁₂E₅/H₂O), nous validons expérimentalement le scénario de transition par débouclage de boucles de dislocations proposé théoriquement depuis plusieurs années. Nous proposons ainsi un système expérimental de choix pour l'étude de ce genre de transition, prédites dans différents domaines de la physique de la matière condensée. La visualisation directe des défauts, la mise en évidence de leur structure en boucle, l'observation de leur différentes organisations nous permet également de proposer l'existence de nouvelles phases dans le domaine des cristaux liquides lyotropes (smectique biaxe et phase TGB)

Summary:

We studied the diffusion properties of an hydrophilic molecular probe in a lyotropic lamellar phase which is a strongly anisotropic medium. Two behaviours are observed while varying the dilution of the system: a dilute regime in which molecules diffuse in the aqueous medium restricted by two walls, and a confined regime in which molecules diffuse as membrane probes. A simple model taking into account the membrane fluidity allows us to interpret our results and to illustrate the crucial role of the probe anisotropy.

In the second part of this work, we studied the microscopic mechanisms of the smectic – cholesteric phase transition in lyotropic liquid crystals. We studied a mixture of two amphiphilic molecules with different spontaneous curvatures (DMPC/C₁₂E₅/H₂O). We unveiled the apparition of dislocation loops in the smectic phase when approaching the phase transition. This validates experimentally theoretical predictions implying the unbinding of this kind of defects as the mechanism mediating the phase transition. This system thus appears as a good experimental tool to study this kind of transitions which can occur in several fields of soft condensed matter. Finally, the direct visualization of the defects, the characterization of their structure and of their organization allows us to propose the existence of new phases in the field of lyotropic liquid crystals (biaxial smectic, TGB).

Mots clés :

Diffusion, Phase lamellaire, Transition de phase, dislocation, smectique, cholestérique, Twist Grain Boundary