



HAL
open science

Etude de la rigidité de courbure de monocouches de Langmuir en présence d'un peptide antimicrobien

Eric Saint-Martin

► **To cite this version:**

Eric Saint-Martin. Etude de la rigidité de courbure de monocouches de Langmuir en présence d'un peptide antimicrobien. Analyse de données, Statistiques et Probabilités [physics.data-an]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2007. Français. NNT: . tel-00157944

HAL Id: tel-00157944

<https://theses.hal.science/tel-00157944>

Submitted on 27 Jun 2007

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.

**THESE de DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ GRENOBLE I
- JOSEPH FOURIER**

Ecole Doctorale de Physique

Spécialité :

Physique de la matière condensée et du rayonnement

Sujet de la thèse :

**Etude de la rigidité de courbure de
monocouches de Langmuir en présence d'un
peptide antimicrobien**

Présentée par Eric SAINT-MARTIN (1978-)

pour obtenir le grade de DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ GRENOBLE I

Travail effectué sous la direction de :

- Jean François LEGRAND
- Oleg KONOVALOV

Soutenue le 23 Mai 2007 devant un jury composé de :

M. Jean François LEGRAND
M. Oleg KONOVALOV
Mme Sophie CANTIN RIVIERE
Mme. Annie COLIN
Mme. Catherine QUILLIET
M. Jean DAILLANT

Rapporteur
Rapporteur

Résumé :

Les peptides antimicrobiens appartiennent au système immunitaire inné de nombreux organismes vivants. Ces peptides permettent une réponse rapide contre l'infection par diverses espèces bactériennes, sans détruire les cellules de l'organisme. Cependant, peu de données sont connues sur leur mécanisme d'action, notamment concernant leur action sur la rigidité de courbure des membranes. Une étude de la variation de la rigidité de courbure de monocouches de Langmuir (imitant de façon simplifiée les membranes cellulaires) en présence ou non d'un peptide antimicrobien a donc été réalisée.

Les rigidités de courbure ont été estimées et mesurées à partir de quatre techniques différentes : la technique de Langmuir, la diffraction des rayons X en incidence rasante, la diffusion diffuse des rayons X dans le plan de l'échantillon pour une interface air/liquide et la diffusion diffuse dans le plan d'incidence pour une interface liquide/liquide.

Bien que chaque méthode donne, en fonction de l'« échelle » qu'elle sonde, une valeur différente de la rigidité de courbure pour une monocouche donnée, elles confirment toutes que dans le cas des monocouches imitant les membranes bactériennes, la présence du peptide antimicrobien a pour effet de diminuer la rigidité de courbure. Alors que dans le cas des monocouches imitant les membranes des mammifères, du fait d'une absence d'interactions, la rigidité de courbure des monocouches ne varie pas.

Mots Clés : Rigidité de courbure, Monocouche de Langmuir, Diffraction en incidence rasante, Diffusion Diffuse, Interface Liquide/Liquide

Abstract:

Bending Rigidity study of Langmuir monolayers in presence of an antimicrobial peptide

Antimicrobial peptides are a part of the natural immune response of many living organisms. These peptides allow a rapid response to infection by diverse bacterial species, without destroying the organism's cells. However, the molecular mechanism involved is still unclear, in particular the action on the membranes bending rigidity. Bending rigidity of Langmuir monolayers (mimicking simplified cell membranes) in presence or not of an antimicrobial peptide are investigated in this work.

The bending rigidities were estimated and measured with four methods: Langmuir Technique, Grazing Incidence Diffraction, Grazing Incidence Diffuse Scattering in sample plane for air/liquid interface and Grazing Incidence Diffuse Scattering in incident beam plane on liquid/liquid interface.

Although each method gives, according to the range it probes, different values for the bending rigidity for a given monolayer, they confirm that in case of monolayers mimicking bacterial cell membranes, presence of the antimicrobial peptide decreases the bending rigidity. In the other hand, in case of monolayers mimicking mammalian cell membranes, due to no interactions between peptide and phospholipids, the bending rigidity doesn't change.

Keywords: Bending rigidity, Langmuir Monolayer, Grazing Incidence Diffraction, Diffuse Scattering, Liquid/Liquid Interface.

Remerciements :

Je tiens à remercier tout particulièrement Oleg Konovalov pour son encadrement, ses explications sur les différentes techniques de rayons X et l'exploitation de leurs données expérimentales. Je souhaite souligner la patience dont il a su faire preuve dans ces cas là et ce malgré mon niveau plutôt moyen en anglais et mon minimum de connaissance en optique. J'ai énormément appris sur les rayons X à son contact et j'espère ne pas l'avoir découragé à encadrer un futur étudiant.

Cette thèse a été effectuée au sein de l'équipe de la ligne de lumière ID10 de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) de Grenoble, et je souhaite remercier toute l'équipe pour leur accueil, leur bonne humeur et leur sympathie.

Un grand merci à Jean Daillant et Christian Blot du laboratoire LIONS du CEA Saclay pour leur aide lors des expériences à l'interface liquide/liquide, ainsi que le prêt de la cuve. J'en profite pour remercier également le reste de leur équipe pour l'accueil reçu lors de ma visite au sein de leur laboratoire. Les discussions avec Jean Daillant m'ont aidées à avancer à certains points où j'étais désespérément bloqué.

Je souhaite remercier Jean François Legrand d'avoir accepté de co-diriger cette thèse avec Oleg.

Enfin, je souhaite remercier ma famille et mes amis pour leur soutien et m'avoir poussé à continuer dans les moments de doute.

| | |
|--------------------|---|
| INTRODUCTION | 7 |
|--------------------|---|

| | |
|---|----|
| CHAPITRE 1 : REALISATION ET CARACTERISATION DES MONOCOUCHEs DE LANGMUIR | 13 |
|---|----|

| | |
|---|----|
| 1.1/ LA TECHNIQUE DE LANGMUIR..... | 14 |
| 1.2/ MESURE DE LA TENSION DE SURFACE ET DE LA PRESSION DE SURFACE | 19 |
| 1.3/ PREPARATION DES MONOCOUCHEs | 20 |
| 1.3.1/ <i>Matériel</i> | 23 |
| 1.3.2/ <i>Méthode</i> | 24 |
| 1.4/ RESULTATS | 28 |
| 1.4.1/ <i>Effet de la PGLa</i> | 28 |
| 1.4.2/ <i>Effet du Cholestérol</i> | 31 |
| 1.4.3/ <i>Effet de la température</i> | 31 |
| 1.5/ COMPRESSIBILITE ET RIGIDITE DE COURBURE | 31 |

| | |
|---|----|
| CHAPITRE 2 : POURQUOI UN RAYONNEMENT SYNCHROTRON ? ET CONFIGURATION EXPERIMENTALE | 35 |
|---|----|

| | |
|---|----|
| 2.1/ LE RAYONNEMENT SYNCHROTRON | 36 |
| 2.1.1/ <i>Pourquoi un rayonnement synchrotron</i> | 36 |
| 2.1.2/ <i>Principe de production d'un rayonnement synchrotron</i> | 38 |
| 2.1.2.1/ Les aimants de courbure (ou Bending Magnet) | 39 |
| 2.1.2.2/ Les éléments d'insertions (ou Insertion Device)..... | 39 |
| 2.2/ LA LIGNE DE LUMIERE TROIKA II..... | 41 |
| 2.2.1/ <i>La « Cabane » Optique</i> | 42 |
| 2.2.2/ <i>La « Cabane » Expérimentale</i> | 43 |
| 2.3/ MONTAGE EXPERIMENTAL ET REGLAGES | 45 |
| 2.3.1/ <i>Géométrie des expériences</i> | 46 |
| 2.3.2/ <i>Réglage de l'angle d'incidence</i> | 46 |
| 2.3.3/ <i>La cuve</i> | 48 |
| 2.3.4/ <i>Réglage de la hauteur de la cuve</i> | 50 |
| 2.3.5/ <i>Les fentes</i> | 53 |
| 2.3.6/ <i>Normalisation de l'intensité</i> | 53 |
| 2.3.7/ <i>Le détecteur</i> | 54 |
| 2.3.8/ <i>Mesure du bruit de fond</i> | 55 |

| | |
|--|----|
| CHAPITRE 3 : DIFFRACTION EN INCIDENCE RASANTE..... | 57 |
|--|----|

| | |
|---|----|
| 3.1/ DIFFRACTION EN INCIDENCE RASANTE SUR DES FILMS DE LANGMUIR..... | 58 |
| 3.2/ CALCUL DES PARAMETRES..... | 62 |
| 3.2.1/ <i>Calcul des paramètres a et b</i> | 63 |
| 3.2.2/ <i>Inclinaison (angle de tilt t) et Orientation (angle d'azimut)</i> | 64 |
| 3.3/ MATERIEL ET METHODE | 66 |
| 3.4/ RESULTATS | 67 |
| 3.5/ COMPRESSIBILITE ET RIGIDITE DE COURBURE | 72 |

| | |
|--|----|
| CHAPITRE 4 : DIFFUSION DIFFUSE DANS LE PLAN DE L'ECHANTILLON | 74 |
|--|----|

| | |
|---|-----|
| 4.1/ MONTAGE EXPERIMENTAL..... | 75 |
| 4.2/ MODELE DES ONDES CAPILLAIRES ET RIGIDITE DE COURBURE | 76 |
| 4.3/ ETABLISSEMENT DU MODELE DE DIFFUSION DIFFUSE | 83 |
| 4.3.1/ <i>Intensité diffusée</i> | 83 |
| 4.3.2/ <i>Champ diffusé et Section efficace de diffusion</i> | 85 |
| 4.3.2.1/ Champ de Référence (E_{sc}^{ref}) | 86 |
| 4.3.2.2/ Champ diffusé diffus (δE_{sc})..... | 87 |
| 4.3.2.3/ Section efficace de diffusion | 90 |
| 4.3.3/ <i>Prise en compte de l'aire éclairée vue par le détecteur et de la surface du détecteur</i> | 97 |
| 4.3.3.1/ Aire éclairée vue par le détecteur | 97 |
| 4.3.3.2/ Surface du détecteur | 99 |
| 4.3.3.3/ Réécriture de l'intensité diffusée | 100 |
| 4.3.4/ <i>Contribution des fluctuations de densités du volume</i> | 101 |

| | |
|--|------------|
| 4.3.5/ <i>Tension de surface effective</i> | 106 |
| 4.3.6/ <i>Ajout d'une monocouche sur la surface</i> | 109 |
| 4.4/ AJUSTEMENT DU MODELE SUR LES COURBES EXPERIMENTALES..... | 111 |
| 4.4.1/ <i>Détermination du profil de densité des monocouches</i> | 112 |
| 4.4.2/ <i>Détermination de la rigidité de courbure</i> | 115 |
| CHAPITRE 5 : DIFFUSION DIFFUSE, DANS LE PLAN D'INCIDENCE, A L'INTERFACE LIQUIDE/LIQUIDE | 122 |
| 5.1/CONDITIONS PARTICULIERES POUR UNE INTERFACE LIQUIDE/LIQUIDE | 124 |
| 5.1.1/ <i>Tension de surface</i> | 124 |
| 5.1.2/ <i>Configuration expérimentale</i> | 128 |
| 5.1.3/ <i>La Cuve</i> | 131 |
| 5.1.4/ <i>Bruit de fond</i> | 131 |
| 5.1.5/ <i>Purification de l'hexadécane</i> | 132 |
| 5.1.6/ <i>Préparation des monocouches</i> | 132 |
| 5.3/ RESULTATS | 132 |
| 5.3.1/ <i>Mesure de Réflectivité</i> | 132 |
| 5.3.1.1/ <i>Bruit de fond</i> | 133 |
| 5.3.1.2/ <i>Profil de densité électronique</i> | 135 |
| 5.3.2/ <i>Diffusion Diffuse</i> | 138 |
| 5.3.2.1/ <i>Bruit de fond</i> | 138 |
| 5.3.2.2/ <i>Rigidité de courbure</i> | 139 |
| CONCLUSION | 142 |
| BIBLIOGRAPHIE | 145 |

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses (c'est-à-dire due à une contamination de l'organisme par des bactéries) sont, de nos jours, une des principales causes de décès dans le monde. La seule façon actuellement connue de lutter contre ces bactéries est l'utilisation d'antibiotiques, dont le principe est de tuer les bactéries de façon ciblée.

Le premier antibiotique, identifié dès la fin du XIX^e siècle par Ernest Duchesne, jeune docteur militaire français, fut la pénicilline. Il démontra «que *certaines moisissures (Penicillium glaucum), inoculées à un animal en même temps que des cultures très virulentes de quelques microbes pathogènes (E. coli et B. thyposus d'Ebert), sont capables d'atténuer dans de très notables proportions la virulence de ces cultures bactériennes* ». Il décéda malheureusement à un très jeune âge et, la communauté scientifique, de l'époque, n'ayant pas mesuré l'importance de cette découverte, ses travaux tombèrent dans l'oubli.^[1]

Les propriétés de la pénicilline furent de nouveau mises en évidence, par hasard, en 1928, par Sir Alexander Fleming qui s'aperçut que certaines de ses cultures bactériennes, dans des boîtes de Pétri oubliées, avaient été contaminées par les expériences de son voisin de paille sur un champignon : le *penicillium notatum*. Mais l'importance de cette découverte (ses implications et ses utilisations médicales) ne fut comprise que plus tard. Par la suite, le premier antibiotique de synthèse a permis d'ouvrir une voie nouvelle dans la lutte contre de nombreuses maladies qui étaient considérées comme incurables auparavant. Ainsi, les antibiotiques ont augmenté l'espérance de vie, de ceux qui y ont accès, d'environ 15 ans. Actuellement, il existe plus de 10 000 molécules antibiotiques, mais seules une centaine, dont un quart appartenant aux pénicillines, sont efficaces et utilisables en médecine. La plupart des antibiotiques sont produits par des procaryotes, des champignons, des végétaux supérieurs, des animaux ou des lichens.

Malheureusement, de nos jours, la surconsommation d'antibiotiques (utilisation abusive et intensive) et le mode d'action utilisé par ceux-ci pour détruire les bactéries ont pour conséquence l'apparition de résistances de la part de certaines bactéries. Au point de rendre de nouveau incurables les premières maladies que nous avons traitées avec succès grâce aux antibiotiques... L'hypothèse la plus probable de l'origine de cette résistance étant sans doute que, à cause de son mode d'action (ciblage et interaction avec des protéines spécifiques), l'antibiotique utilisé crée une pression de sélection, ce qui favorise la sélection de mutations naturelles (même rares) conférant à la bactérie une résistance vis-à-vis de l'antibiotique en question et donc un avantage sélectif. Certaines bactéries (bactéries dites compétentes) sont même capables d'intégrer de l'ADN exogène (présent dans le milieu) et donc d'acquérir potentiellement des gènes de résistances aux antibiotiques d'une autre espèce bactérienne.

Pour lutter contre ce phénomène, plusieurs solutions peuvent être envisagées^[1]. La première consiste en une **utilisation plus «prudente» des antibiotiques donnés aux bétails** (Une grande partie des antibiotiques sont effectivement utilisés dans l'élevage, et la majorité d'entre eux ne le sont pas dans le cadre d'un traitement thérapeutique, mais comme facteurs de croissances. Or une partie de ces antibiotiques (6 sur 19) ont également une position importante dans l'utilisation en médecine. Par conséquent, une utilisation abusive de ceux-ci pour les bétails va favoriser l'existence dans la nature des souches résistantes à l'antibiotique concerné). Solution à laquelle il faut ajouter une **utilisation plus mesurée des antibiotiques dans la médecine** (Trop d'antibiotiques sont souvent prescrits alors qu'ils sont inefficaces pour soigner le malade. Par exemple, lorsque le patient est infecté par un virus). La seconde solution pouvant être envisagée, serait de **réaliser, au niveau mondial, une rotation des antibiotiques utilisés** (En effet, on peut espérer que lorsqu'un antibiotique particulier est

retiré de l'environnement du microbe, la pression de sélection, qui conduit à ne garder que les microbes résistants, va également être supprimée. Ceci permettrait, après une période sans utilisation d'un antibiotique et donc sans pression de sélection, de pouvoir à nouveau utiliser cet antibiotique qui ne rencontrerait quasiment plus de résistance.). Enfin, une autre solution pouvant être envisagée se situe tout « simplement » dans **la recherche et la création d'un nouveau type d'antibiotiques**.

Pour cette dernière solution, il faut réussir à trouver une (ou plusieurs) molécule(s) possédant les critères indispensables à un antibiotique ^[2] :

- **Une toxicité sélective** : la molécule doit faire la différence entre l'hôte et les cellules microbiennes. Pour cela, elle doit cibler une molécule ubiquitaire chez les microorganismes, mais rarement présente, voir inexistante, chez les eucaryotes.
- **Une action rapide** : le temps nécessaire pour tuer la bactérie doit être inférieur au temps de « reproduction » de celle-ci afin d'empêcher une adaptation éventuelle par mutation. L'un des facteurs handicapant des molécules actuelles est, en effet, que, quelque soit le mode d'action utilisé pour détruire la bactérie (Action sur la paroi bactérienne, sur la membrane des bactéries, sur l'ADN ou sur le ribosome bactérien), les antibiotiques doivent cibler et interagir avec une autre molécule (généralement une protéine réceptrice ou un peptide récepteur). Ce mécanisme est relativement long, il faut le temps à l'antibiotique d'identifier la molécule cible, d'interagir avec elle, et pour les cibles intracellulaires, il faut également le temps de passer la membrane afin de pénétrer dans la cellule. Tout ceci laisse le temps à la bactérie de s'adapter et de développer une résistance. Soit « accidentellement », par une mutation spontanée de son génome ; soit grâce à l'intégration dans leur génome d'un fragment d'ADN provenant d'une autre bactérie (de la même espèce ou non) déjà résistante à l'antibiotique ou présent dans son environnement (suite à la mort d'une bactérie voisine qui était résistante à l'antibiotique par exemple). Ces modifications de génomes conduisant à différentes méthodes de résistances : le **brouillage** (la bactérie synthétise des protéines qui peuvent séquestrer l'antibiotique ou le dégrader pour le rendre inoffensif (hydrolases, transférases...)). Ce brouillage peut se faire à l'extérieur de la cellule comme à l'intérieur.), le **camouflage** (la bactérie peut modifier la cible de l'antibiotique. Celle-ci n'est pas reconnue et devient insensible à l'antibiotique.), le **blindage** (la bactérie empêche l'accès de l'antibiotique aux cibles intracellulaires par modification de la perméabilité membranaire ou la mise en place d'un système d'expulsion de l'antibiotique. La pompe membranaire refoule l'antibiotique qui entre dans la cellule.), et l'**esquive** (la bactérie substitue une autre molécule à la cible. L'antibiotique, en se fixant sur ce leurre, ne remplit pas son rôle.)
- **Un large spectre d'action** : Il est préférable d'avoir un antibiotique qui peut agir sur diverses espèces microbiennes. En ciblant par exemple une molécule commune, comme une protéine membranaire, cellulaire ou nucléaire.
- **Pas de développement de résistance de la part des microorganismes** : Il faut que le mode d'action de l'antibiotique soit tel que la bactérie aura des difficultés à s'adapter. En ciblant par exemple une molécule difficile, voir impossible à modifier.

La voie la plus simple, pour trouver ces nouvelles molécules, reste de se tourner vers la nature elle-même. Ils existent effectivement de nombreux antibiotiques naturels (ils sont utilisés par exemple depuis des millénaires par certaines espèces de fourmis) mais nous ne l'avons constaté que très récemment.

Parmi ceux-ci, il y a une famille de molécules qui intéresse plus particulièrement la recherche actuelle : les peptides antimicrobiens. Ces peptides appartiennent au système immunitaire inné de nombreux organismes vivants et leur permettent une réponse rapide contre diverses espèces bactériennes (ils ont donc un *large spectre d'action*). Ils vont interagir avec la membrane des bactéries, puis, par un mécanisme encore mal connu, s'insérer dans celle-ci afin de créer des pores. Il s'en suivra une destruction de la cellule. ^[2-7].

Cependant, avant de pouvoir les utiliser comme base pour de nouveaux antibiotiques, il est nécessaire d'étudier et de comprendre leur mécanisme d'action.

A l'heure actuelle, de nombreuses études se sont intéressées au mode d'interaction entre ces peptides et la membrane. Notamment, elles ont montré que dans sa structure primaire, le peptide possède de nombreux acides aminés chargés positivement à pH physiologique et que ce sont eux qui vont interagir avec la membrane des cellules. Lors du passage en structure secondaire (hélice alpha ou feuillet bêta), ces acides aminés vont se « regrouper » en une zone, plus dense et plus hydrophobe, de charge positive, importante pour l'interaction avec les lipides membranaires ^[2, 5]. Ce passage en structure secondaire du peptide peut être induit par le contact avec les phospholipides ^[8, 9]. C'est grâce à cette charge positive que les peptides vont pouvoir distinguer les cellules eucaryotes des cellules bactériennes, via la composition lipidique de leur membrane respective (Fig. 0.1) qui est spécifique à chacun de ces deux types cellulaires (Les peptides antimicrobiens correspondent donc au critère de *toxicité sélective*) ^[2, 10]. En effet, la membrane externe des cellules eucaryotes est, en très grande majorité, composée de lipides zwitterioniques (c'est-à-dire que ces lipides sont non chargés globalement. En fait, selon le pH du milieu, les atomes de la molécule seront non chargés, chargés positivement ou négativement. A pH physiologique, les lipides zwitterioniques, présentent une charge positive et une charge négative constituant un dipôle de charge globale nulle. Ce dipôle étant généralement situé dans ce qui est appelé la tête lipidique (Fig. 0.2)). Dans ce cas, le peptide n'a qu'une très faible affinité pour la membrane (les interactions possibles dominantes étant des interactions hydrophobes). De l'autre côté, la membrane externe des bactéries contient, quant à elle, une grande quantité de lipides chargés négativement à pH physiologique. En conséquence, le peptide présente une affinité plus forte pour ce type de membrane (dans ce cas les interactions hydrophobes sont renforcées par des interactions électrostatiques) (Tableau 0.1) (Fig. 0.1).

Enfin, de par leur cible qui s'avère être la membrane lipidique elle-même plutôt qu'une (ou plusieurs) protéine(s) récepteur(s), ces peptides permettent non seulement une *action rapide* de la part de l'organisme face à l'infection bactérienne, mais également une adaptabilité, donc *un développement de résistance, très difficile* (voire impossible) de la part des bactéries, car il leur est impossible (pour ne pas dire interdit) de changer ou de muter les lipides membranaires qui sont un élément hautement conservé des cellules.

Tableau 0.1 : Composition (en pourcentage) en phospholipides de la membrane externe de cellules eucaryotes et de bactéries ^[11, 12].

| Phospholipides | Cellule du foie | Erythrocyte humain | <i>E. Coli</i> | <i>B. Subtilis</i> |
|--|-----------------|--------------------|----------------|--------------------|
| PhosphatidylEthanolamine (Charge Neutre) | 18,5 | 29,0 | 80,0 | 12,0 |
| PhosphatidylCholine (Charge Neutre) | 34,9 | 30,0 | - | - |
| Sphingomyéline (Charge Neutre) | 17,7 | 27,0 | - | - |
| PhosphatidylSerine (Charge Négative) | 9,0 | - | - | - |
| PhosphatidylGlycérol (Charge Négative) | 4,8 | 13,0 | 15,0 | 70 |
| Autres | 15,1 | 1,0 | 5,0 | 18 |

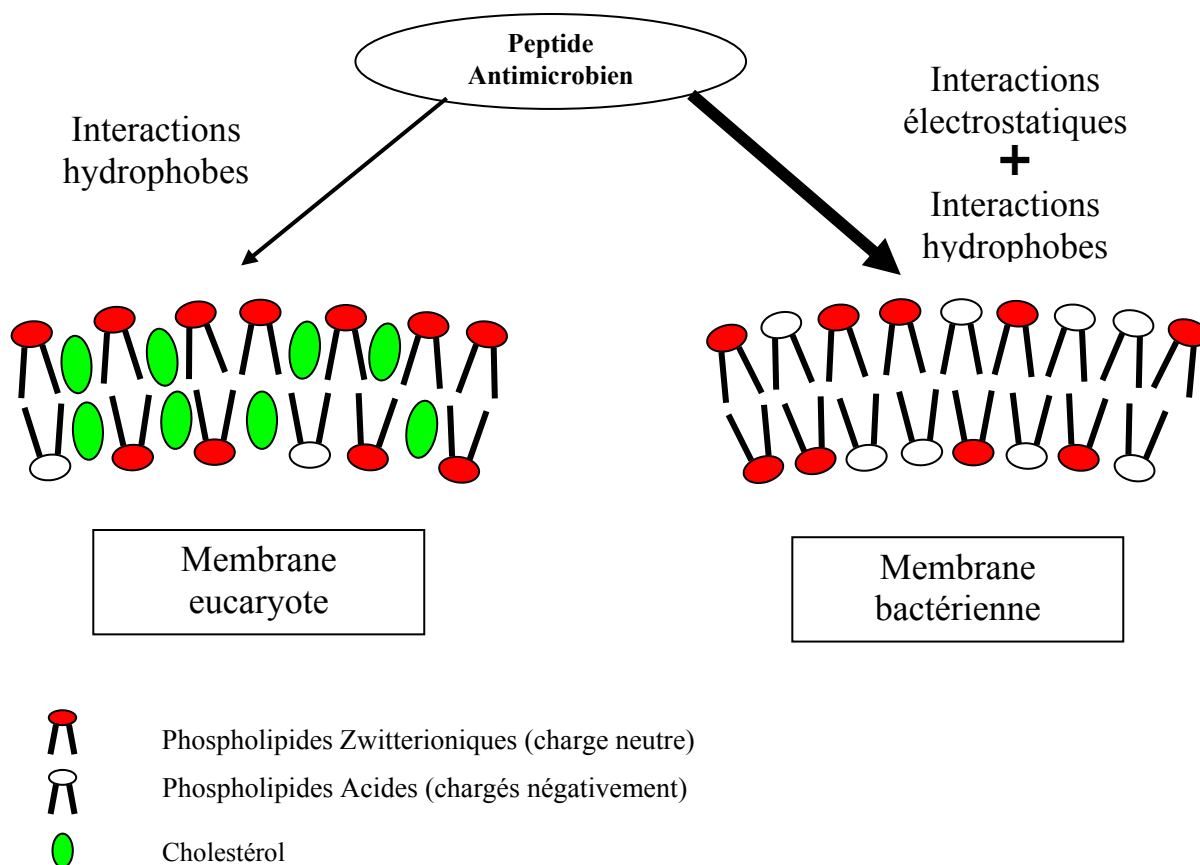


Fig. 0.1 : Différenciation entre les types cellulaires et interactions avec les membranes, pour un peptide antimicrobien : Selon le type de lipides présent, les interactions peptide-membrane seront différentes et le peptide va ainsi pouvoir différencier la cellule eucaryote de la bactérie.

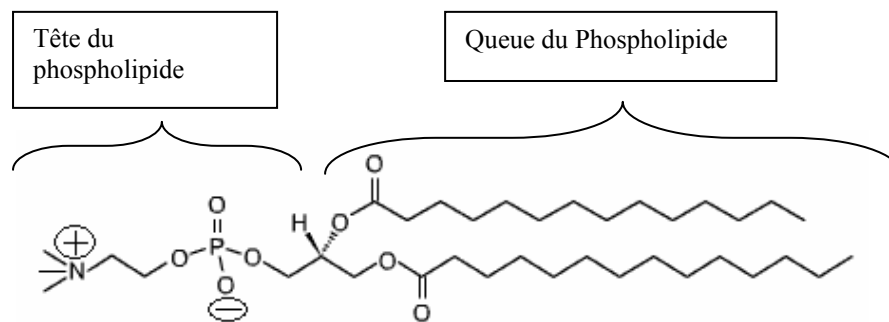


Fig. 0.2 : Exemple de phospholipide zwitterionique, le DMPC (DiMyristoylGlyceroPhosphatidylCholine) : On observe bien le dipôle de la tête, créé par une charge positive sur l'atome d'azote et une charge négative sur l'atome d'oxygène. La charge globale de la molécule restant neutre.

Cependant, malgré ces nombreuses études sur les mécanismes d'interactions entre peptides antimicrobiens et membranes, très peu se sont intéressées à leur effet sur la rigidité de courbure de la membrane (Celle-ci correspondant à l'énergie nécessaire pour courber la membrane. C'est-à-dire la force à fournir pour plier la membrane. Cette force va dépendre de différents paramètres tels que, par exemple, les interactions entre les molécules constituant la membrane. Ces interactions étant dépendantes de la charge des molécules, de leur longueur, etc...)

Est-ce que la présence du peptide va avoir pour conséquence de rendre la membrane plus souple et plus facile à courber pour la détruire, ou, au contraire, la destruction de la membrane cellulaire passe-t-elle par une rigidification de celle-ci ?

A travers cette thèse, nous nous proposons donc d'étudier les variations de la rigidité de courbure de films de phospholipides (imitant les membranes cellulaires eucaryotes et bactériennes) en présence ou non d'un peptide antimicrobien. Pour cela, les expériences ont été réalisées sur des monocouches de Langmuir en utilisant différentes techniques de rayons X (Diffraction en incidence rasante, Diffusion diffuse en incidence rasante et Réflectivité) auprès d'une source de rayonnement synchrotron. La théorie utilisée dans cette thèse, pour exploiter les résultats obtenus par les expériences de diffusion diffuse, a été développée lors de précédents travaux [24-40].

Ce mémoire est organisé selon le déroulement de notre travail.

La première partie est consacrée à la réalisation des monocouches de phospholipides. Le choix de la technique, la technique elle-même, ainsi que le choix des molécules y sont détaillés. Une première estimation de la rigidité de courbure y est également présentée.

La seconde partie est une introduction aux différentes expériences nécessitant des rayons X. Dans cette partie, il sera expliqué ce qu'est un rayonnement synchrotron et pourquoi il nous est nécessaire. Il y sera également décrit, de façon sommaire, la ligne de lumière sur laquelle les expériences ont été réalisées, ainsi que les instruments communs aux expériences et leur configuration dans ces expériences.

Les troisième et quatrième parties sont dédiées à l'étude des monocouches par utilisation de rayons X. La troisième partie traite de la diffraction en incidence rasante, tandis que la quatrième partie présente les expériences de diffusion diffuse en incidence rasante. Elle est divisée en deux chapitres. Le premier traite des expériences faites sur des monocouches réalisées à l'interface Air/Liquide, et le second, d'expériences faites à l'interface de deux liquides non miscibles (huile/eau).

Chapitre 1 :

Réalisation et caractérisation des monocouches de Langmuir

La première étape de notre travail consiste à réaliser des échantillons pouvant simuler les membranes cellulaires mammifères et bactériennes. Dans ce but, la technique de Langmuir a été appliquée afin de réaliser des monocouches de phospholipides (en présence ou non d'un peptide antimicrobien). Cette technique a été préférée à d'autres techniques (comme la réalisation de liposomes géants ou la réalisation de multicouches déposées sur un substrat solide) car il est reconnu que les monocouches ainsi obtenues présentent des propriétés physico-chimiques très proches de celles des membranes cellulaires ^[13,14]. De plus, le fait de travailler avec des monocouches présente l'avantage que celles-ci sont non « bloquées », au niveau de leur courbure, par un substrat solide, comme cela peut être le cas pour les systèmes multicouches. Par conséquent, la rigidité de la monocouche sera plus proche de la rigidité naturelle des membranes, celle-ci n'étant pas entravée par la rigidité du substrat solide. Un autre avantage des monocouches est de pouvoir travailler dans un environnement ne nécessitant pas de conditions particulières. Si nous avons opté pour un système de multicouches, il aurait fallu travailler dans un environnement ayant une humidité constante et contrôlée et ces conditions d'hydratation totale des lipides peuvent présenter des problèmes vis-à-vis des expériences de rayons X que nous souhaitons réaliser plus tard.

1.1/ La technique de Langmuir ^[14-17]

Les monocouches de Langmuir sont constituées d'une couche unique de molécules placée à la surface d'un liquide appelé sous phase (le plus souvent une solution aqueuse). Elles sont formées par des molécules amphiphiles, constituées de deux parties antagonistes (Fig. 1.1) : L'une est hydrophile (généralement polaire) et souvent appelée « tête » (par exemple, les groupements COOH d'un acide gras ou un groupement phosphatidylcholine de certains phospholipides). L'autre partie est, quant à elle, hydrophobe (apolaire) et appelée « queue » (par exemple, une ou plusieurs chaîne(s) alkyle(s) saturée(s), comme dans les acides gras ou les phospholipides). De telles molécules préfèrent naturellement se placer à la surface des solutions aqueuses car très peu solubles dans ces dernières. On dit que ce sont des molécules tensioactives et elles présentent la propriété de provoquer une réduction de la tension de surface.

La tension de surface (γ) est due au fait que, contrairement à des molécules en solution, des molécules situées à une interface, ou une surface, subissent des forces inégales dont l'effet net a pour but de faire « revenir » ces molécules dans la solution, c'est à dire dans la sous phase. Cette tension peut être définie comme « le travail nécessaire pour augmenter la surface d'une unité d'aire ». La tendance des molécules tensioactives à s'accumuler spontanément à l'interface favorise l'expansion de l'interface et provoque ainsi une diminution de la tension de surface.

Si les queues des molécules sont suffisamment hydrophobes, les molécules sont même complètement insolubles, et elles formeront, à la surface de la sous phase, un système 2D : la monocouche ^[14]. Ce système 2D pouvant être caractérisé par différents paramètres thermodynamiques, étant chacun l'analogue d'un paramètre caractérisant les systèmes 3D (Température T, Pression de surface π équivalente à la pression d'un système 3D et Aire de la surface équivalente au volume d'un système 3D) et permettant ainsi une correspondance avec les lois thermodynamiques habituelles.

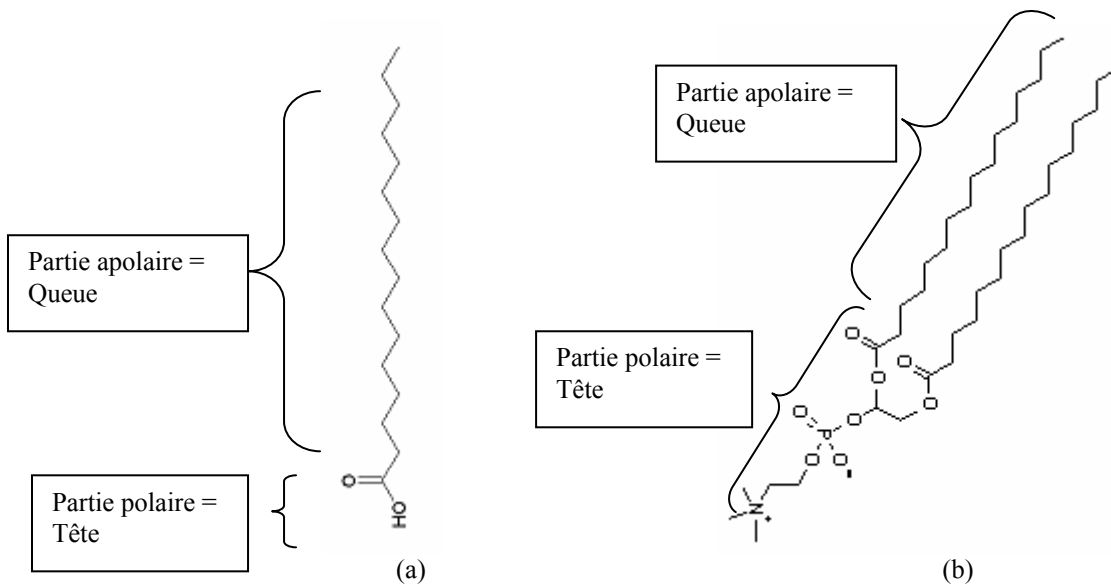


Fig. 1.1 : Exemples de molécules amphiphiles pouvant former des monocouches de Langmuir : (a) un acide gras, (b) un phospholipide

Les monocouches sont réalisées de la façon suivante :

Les molécules amphiphiles se présentant généralement sous forme cristalline à température ambiante, celles-ci sont dans un premier temps dissoutes dans un solvant organique (le plus souvent du chloroforme). Ensuite, un volume, précalculé à l'avance, de cette solution, est déposé, délicatement, goutte à goutte à la surface de la sous phase à l'aide d'une microseringue (Fig. 1.2). Après quelques instants, le solvant s'évapore et un film 2D en phase dite « gaz à deux dimensions » est ainsi obtenu.

Une fois ce film réalisé, il est possible grâce à une barrière mobile de le compresser en réduisant, à vitesse fixée, la surface libre disponible pour les molécules (c'est-à-dire que l'on va ainsi diminuer l'aire moyenne par molécule, A) (Fig. 1.2). La monocouche va, de cette façon, devenir de plus en plus compacte et adopter l'organisation la plus stable pour les molécules.

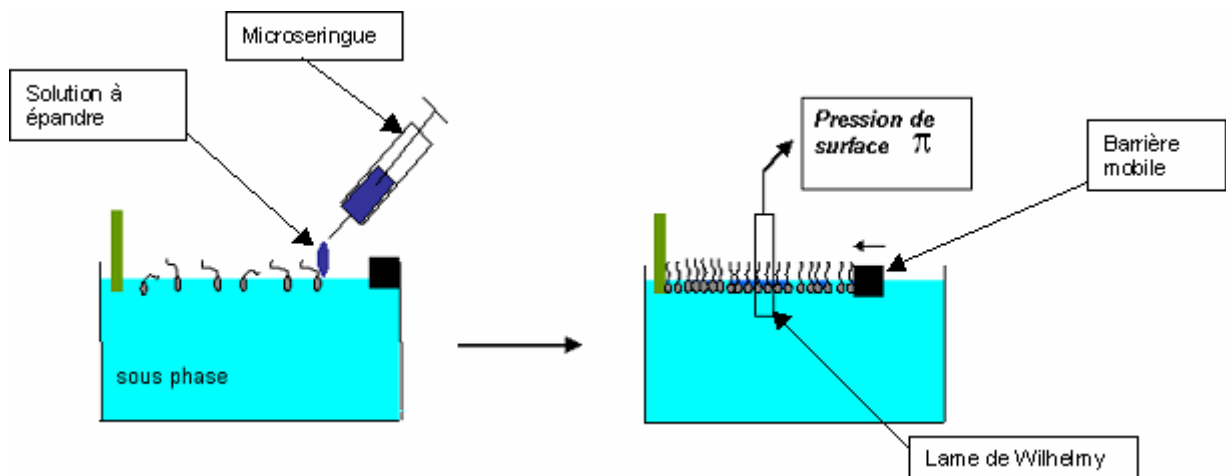


Fig. 1.2 : Schématisation de la préparation d'une monocouche de Langmuir

Durant cette compression, la monocouche va subir des transitions entre plusieurs phases distinctes ^[14, 17] :

- La phase gaz à 2Dimensions : Les molécules sont très éloignées les unes des autres (l'aire par molécule est de l'ordre de la centaine d'Angströms carrés) et n'ont « aucune » interactions entre elles. La monocouche ne présente aucun ordre ou aucune organisation particulière et elle peut être comparée à un gaz pour un système 3D.
- La phase Liquide Expansé : L'aire par molécule diminue au fil de la compression. Les molécules commencent à se rapprocher les unes des autres, mais il n'y a pas encore de réelle organisation de la monocouche.
- La phase Liquide condensé tilté : Dans cette phase, les molécules sont suffisamment proches pour que la monocouche adopte son organisation moléculaire finale au niveau des têtes des molécules. Mais elles restent quand même suffisamment éloignées (l'aire par molécules est suffisamment grande) pour que les queues soient penchées selon un angle, appelé « tilt », par rapport à la normale au plan de la surface de la sous phase.
- La phase Liquide condensé non tilté : L'aire par molécule continuant à diminuer, les queues des molécules vont progressivement se redresser jusqu'à être parfaitement verticale. La phase liquide condensé non tilté est alors atteinte et le film a atteint sa compression maximale. Les molécules sont parfaitement organisées et la monocouche a atteint son organisation finale. Cette phase est parfois aussi appelée *Phase solide* car elle peut être comparée à la phase solide d'un système 3D. Une étude par rayons X de cette phase permet d'affirmer que les monocouches de Langmuir présentent un ordre cristallin à deux dimensions.

Il est possible de suivre ces différentes transitions de phases en mesurant, tout au long de la compression du film, la pression de surface (π) en fonction de l'aire par molécule (A).

La pression de surface peut être définie comme « le travail nécessaire pour diminuer la surface d'une unité d'aire ». Elle est liée à la tension de surface de l'interface sans monocouche et la tension de surface de l'interface avec monocouche.

Supposons que l'on ait une surface recouverte d'une monocouche, d'aire A et de tension de surface γ (Fig. 1.3). Si on souhaite diminuer l'aire de cette surface d'une unité d'aire dA , la tension de surface de cette portion d'aire doit passer de γ à γ_0 (tension de surface de l'interface sans monocouche). L'énergie du système doit donc varier de $(\gamma_0 - \gamma) dA$. Or, la présence de molécules tensioactives sur une interface aura plus tendance à favoriser l'augmentation de la surface plutôt que sa diminution. Par conséquent, pour diminuer la surface de dA , il faut fournir un travail correspondant à la variation d'énergie du système. C'est le travail de la force de pression : $W = \pi dA$, où π (pression de surface) correspond à la différence de tension de surface entre la surface non recouverte et la surface recouverte :

$$\pi = \gamma_0 - \gamma \tag{1.1}$$

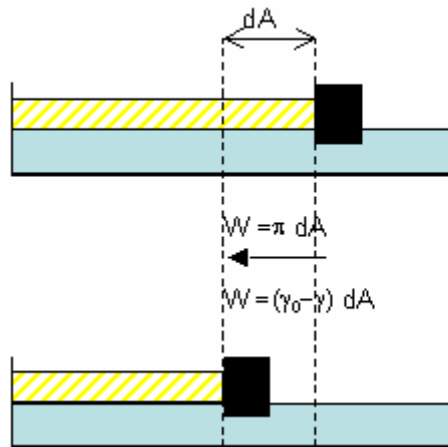


Fig. 1.3 : Travail à fournir pour faire diminuer l'aire d'une surface recouverte d'une monocouche d'une unité d'aire dA

Le suivi de π en fonction de A va permettre de tracer ce qui est appelé une π - A isotherme (isotherme car la mesure se fait à température constante) (Fig. 1.4). L'allure de cette isotherme est caractéristique de la molécule constituant le film. Les différentes transitions de phase rencontrées par la monocouche vont correspondre à un changement de pente de la courbe. Parfois, il est possible, entre deux phases successives, d'observer la présence d'un plateau, celui-ci correspond à une zone de coexistence de deux phases.

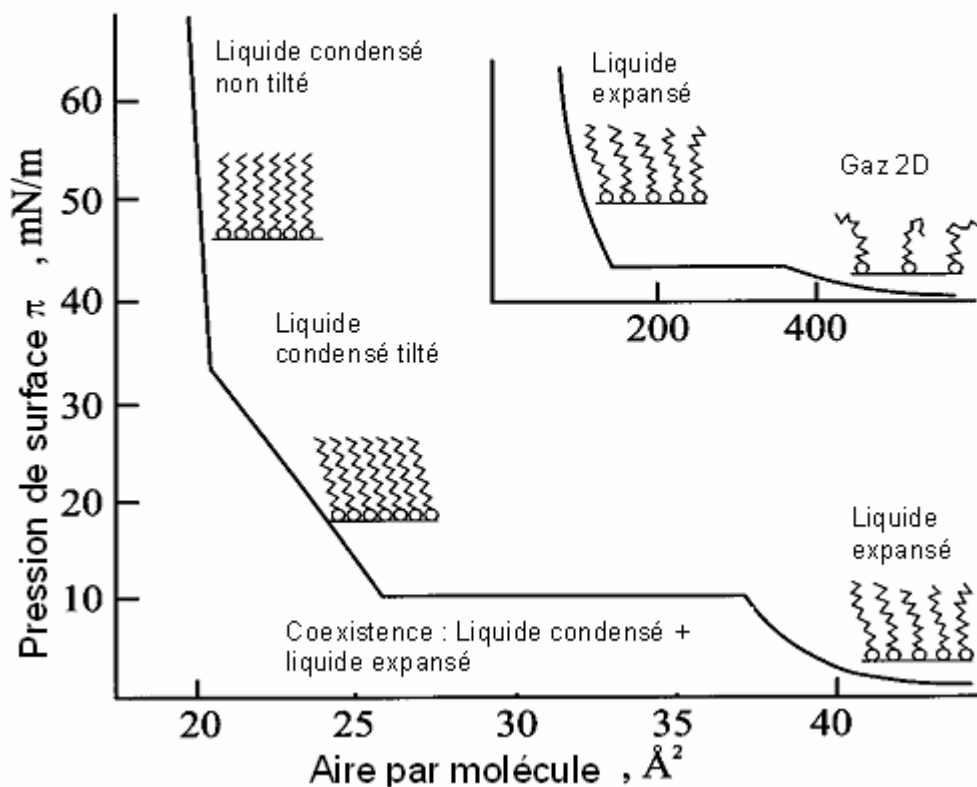


Fig. 1.4 : Isothermes généralement rencontrés pour des monocouches de Langmuir

A partir de cette isotherme de nombreuses informations quantitatives sur les caractéristiques thermodynamiques de la monocouche peuvent être obtenues (Tension de surface pour une aire donnée, aire par molécule pour une pression de surface donnée, pression de collapse, compressibilité surfacique isotherme).

Tout d'abord, grâce à la relation 1.1, il est possible, à partir de la pression de surface (π) renvoyée par le système de mesure et obtenue à partir de la mesure de la tension de surface (par exemple avec une lame de Wilhelmy), de remonter à la tension de surface (γ) du film pour une aire par molécule donnée.

Toujours à partir de l'isotherme, nous allons également pouvoir connaître l'aire par molécule (A), pour une pression de surface donnée, donc une configuration donnée du film. Notamment, en extrapolant la courbe à partir de la phase liquide condensé (ou solide), on peut remonter à A_0 (Fig. 1.5), l'aire moléculaire à pression 0, qui correspond à l'aire hypothétique occupée par une molécule dans la phase condensée et en absence de pression.

Enfin, il va être possible d'extraire, de l'isotherme, deux derniers paramètres caractérisant la monocouche. La pression de collapse (π_c) qui correspond à la pression de surface à partir de laquelle la monocouche va commencer à se détruire et à former des îlots en multicouche. Elle correspond, sur l'isotherme, à la pression la plus haute, où la courbe va changer de pente pour devenir pratiquement horizontale si on continue à compresser le film. (Fig. 1.5) L'autre paramètre est la compressibilité surfacique isotherme du film (χ) qui va correspondre à une variation relative de l'aire par molécule selon une variation relative de la pression de surface

($\chi = -\frac{1}{A} \times \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T$: voir chapitre 1.5).

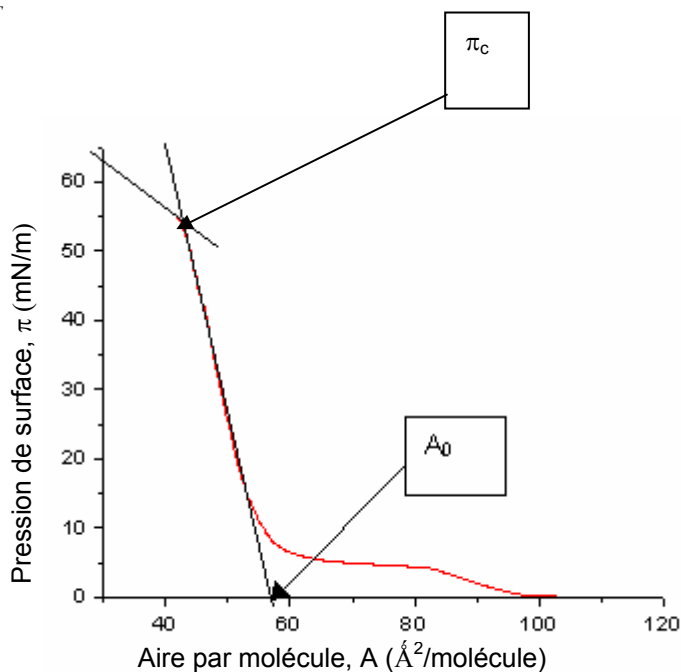


Fig. 1.5 : Extraction de la pression de collapse (π_c) et de l'aire par molécule à pression 0 (A_0) à partir d'une isotherme

1.2/ Mesure de la tension de surface et de la pression de surface^[17,18]

La tension de surface va pouvoir être mesurée par l'intermédiaire d'un système relié à une lame de Wilhelmy. Celle-ci consiste, dans notre cas, en une bande de papier mouillée (papier à chromatographie de densité ρ_p , de longueur L , de largeur l et d'épaisseur e), accrochée à un dynamomètre qui va enregistrer les variations de la force nette F appliquée au papier.

Le papier est amené au contact de l'interface et, sous l'effet de la tension de surface de la sous phase (de densité ρ_L), une partie de celui-ci va être immergée dans la sous phase, sur une profondeur h . (Fig. 1.6).

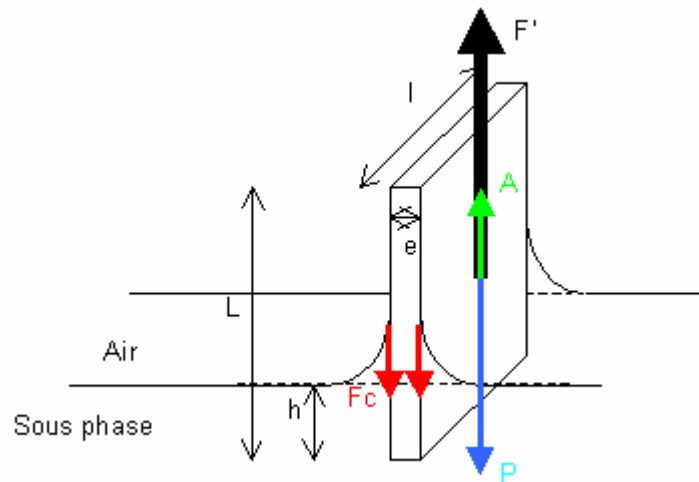


Fig. 1.6 : Schématisation d'une lame de Wilhelmy. La force nette F' à appliquer pour compenser la force nette s'appliquant sur le papier est représentée par la flèche noire, le poids P en bleu, la force capillaire F_c liée à la tension de surface en rouge et la force d'Archimède A en vert.

La force nette F s'appliquant sur le papier, à cet instant, est la somme du poids P du papier (dépendant de L , l , e , ρ_p et de la gravité g), de la force d'Archimède A (dépendante de ρ_L , h , l , e et g) et de la force capillaire F_c liée à la tension de surface s'appliquant sur le papier (dépendante du périmètre de papier immergé $2(l+e)$, de la tension de surface γ et de l'angle de contact entre le papier et la surface θ). Pour compenser cette force, le système va appliquer sur la lame une force F' :

$$F' = P + A + F_c$$

$$F' = -\rho_p L l e g + \rho_L h l e g - 2(l + e) \gamma \cos(\theta)$$
(1.2)

Les dimensions du papier vont rester constantes tout au long de l'expérience, ainsi que la hauteur immergée dans la sous phase. Par conséquent, lors de la compression du film, les variations de la force nette subie par le papier, et compensée par le système, ne dépendront que de la variation de la force capillaire. On peut donc simplifier l'équation à :

$$F' = C - 2(l + e) \gamma \cos(\theta)$$
(1.3)

avec $C = -\rho_p L l e g + \rho_l h l e g = \text{Constante}$.

De plus, le fait d'utiliser un papier à chromatographie permet d'obtenir un angle de contact θ de 0° , car celui-ci à une bonne mouillabilité. Ce qui réduit encore l'équation à :

$$F' = C - 2(l + e)\gamma \quad (1.4)$$

En pratique, le système va mesurer la différence entre la force F' qu'il doit appliquer à l'instant t , correspondant à une interface recouverte d'une monocouche et ayant une tension de surface γ , et la force F'_0 qu'il devait appliquer à $t = 0$, correspondant généralement à l'interface sans monocouche et ayant une tension de surface γ_0 .

On a donc :

$$\begin{aligned} F' - F'_0 &= 2(l + e)(\gamma_0 - \gamma) \\ \Delta F' &= 2(l + e)\pi \end{aligned} \quad (1.5)$$

Finalement, le système renvoi la valeur de la pression de surface π , correspondant à la mesure de la différence de tensions de surface $(\gamma_0 - \gamma)$:

$$\pi = \frac{\Delta F'}{2(l + e)} \quad (1.6)$$

Avec π en mN/m, $\Delta F'$ en mN et $2(l+e)$ en m.

1.3/ Préparation des monocouches

Dans le cadre de notre étude, les monocouches seront réalisées à partir de phospholipides. Le choix de ces phospholipides a été fait dans le but d'imiter de façon simplifiée les membranes cellulaires des bactéries et des cellules des mammifères.

En effet, comme expliqué dans l'introduction, c'est la composition différente en phospholipides (Tableau 0.1 et Fig. 0.1) de ces deux types de membranes qui peut permettre aux peptides de distinguer les deux types cellulaires. La membrane externe des cellules mammifères étant principalement constituée de phospholipides zwitterioniques, et, généralement, en majorité de phospholipides ayant un groupement PhosphatidylCholine comme tête polaire (PC). Tandis que dans le cas des membranes bactériennes, la membrane externe présente une grande quantité de phospholipides chargés négativement, le plus souvent, majoritairement représentés par des phospholipides ayant un groupement PhosphatidylGlycérol pour tête polaire (PG). Le DiPalmitoylPhosphatidylCholine (DPPC, $C_{40}H_{80}NO_8P$, MW=734,1 g/mol) et le DiPalmitoylPhosphatidylGlycérol (DPPG, $C_{38}H_{75}O_{10}P$, MW=740 g/mol) (Fig. 1.7.a) ont donc été choisis respectivement pour réaliser les monocouches qui devront imiter les membranes externes simplifiées des cellules mammifères et bactériennes. Ces phospholipides sont composés de 2 chaînes alkyles de 16 carbones (provenant de l'acide palmitique, $C_{15}H_{31}COOH$, acide gras saturé à 16 carbones) formant la queue hydrophobe de la molécule, et attachées selon le phospholipide soit à un groupement PhosphatidylCholine ($C_{10}H_{20}PO_8N$), soit à un groupement PhosphatidylGlycérol ($C_6H_{15}O_8P$) qui constituent la tête de la molécule. Elles ont toutes deux une longueur d'une trentaine

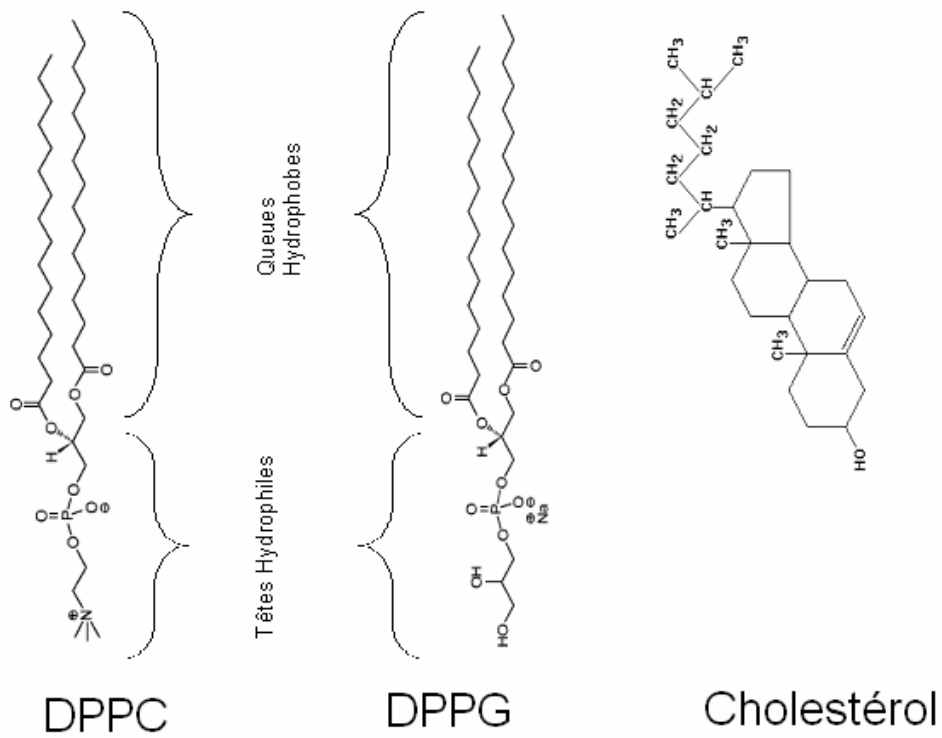
d'angströms, ce qui signifie que les monocouches réalisées auront au maximum (c'est-à-dire en absence de tilt) une épaisseur de 30 angströms.

Les monocouches seront réalisées sur deux types de sous phases. De l'eau ultra pure ou une solution de tampon phosphate à pH=7,4. Le tampon phosphate pH 7,4 a été choisi dans le but de se rapprocher le plus possible du pH physiologique afin d'être certain que les lipides utilisés seront dans le même état de charge (négatif ou neutre) que pour une membrane dans les conditions naturelles.

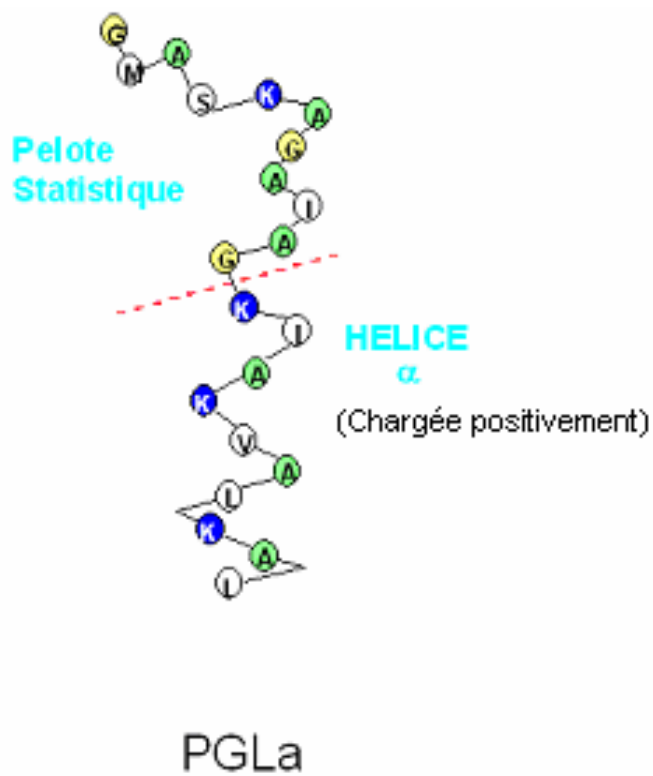
De plus, les membranes des cellules mammifères étant très souvent composées d'un mélange de PC et de Cholestérol (Tableau 0.1 et Fig. 0.1), des monocouches constituées d'un mélange DPPC + Cholestérol ($C_{27}H_{46}O$, MW=386,67 g/mol, Fig. 1.7.a) à différents ratios ont également été réalisées. Ceci toujours dans le but de se rapprocher un peu plus de la composition réelle d'une membrane cellulaire et afin d'étudier l'effet que le Cholestérol peut avoir sur la rigidité d'un film de DPPC.

Le peptide antimicrobien choisi est la Peptidyl-GlycylLeucine-carboxamide (PGLa) (Fig. 1.7.b). Il a été choisi car de précédents travaux ont montré que ce peptide antimicrobien faisait une distinction entre les monocouches constituées de PG et celles constituées de PC [10].

Il s'agit d'un peptide constitué de 21 résidus aminoacides (H_2N -GMASKAGAIAGKI**AK**VAL**KAL**-COOH, MW=1969 g/mol) naturellement présent dans la peau de certaines espèces de grenouilles. La présence de plusieurs acides aminés chargés positivement à pH physiologique (4 K, marqués en gras dans la formule précédente) va favoriser d'une part les interactions entre le peptide et les phospholipides chargés négativement de la membrane bactérienne, et d'autre part favoriser le repliement en hélice α comme structure secondaire par regroupement de ces résidus hydrophobes. Regroupement qui aura pour conséquence de créer une zone fortement chargée positivement, ce qui augmentera encore la force des interactions avec la membrane [2]. Si on suppose que toute la molécule est repliée, l'hélice α ainsi obtenue à une hauteur d'environ 31 angströms [10].



(a)



(b)

Fig. 1.7 : Molécules utilisées pour la réalisation des différentes monocouches : (a) Les Lipides, (b) le peptide antimicrobien

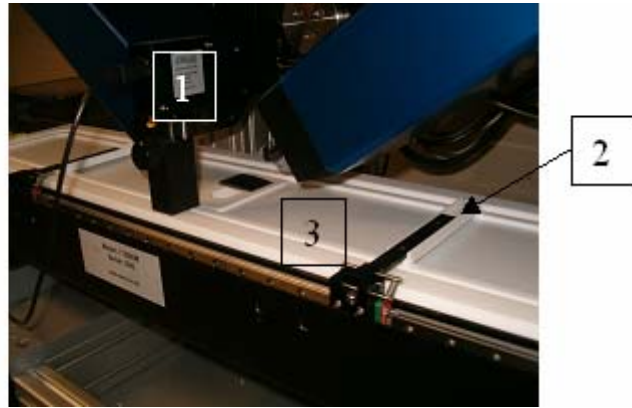
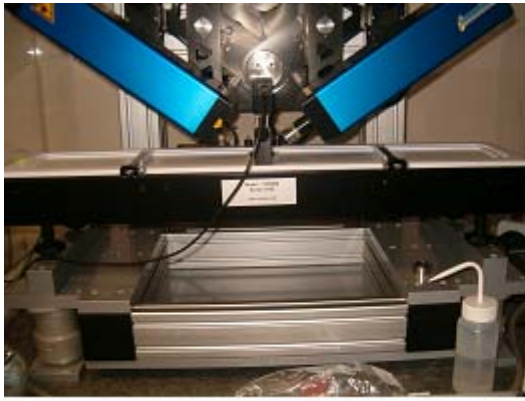
1.3.1/ Matériel

Le DPPC, le DPPG et le Cholestérol ont été achetés chez Sigma avec une pureté supérieure à 99% et utilisés sans purification ultérieure. Ils ont été solubilisés, pour la réalisation des monocouches, dans du chloroforme de qualité HPLC provenant également de chez Sigma. Les solutions ainsi obtenues ont une concentration comprise entre 0,2 et 0,3 mg/ml pour le DPPC et le DPPG, et de 0,4 mg/ml pour le Cholestérol.

La PGLa a été achetée chez Multiple Peptide System (San Diego, CA) et utilisée telle quelle. Selon les expériences, c'est-à-dire selon la méthode choisie pour la mise en contact avec les phospholipides, elle a été solubilisée dans deux milieux différents. Pour une mise en contact direct (avant mise en place des monocouches sur la sous phase) permettant un contrôle plus précis du ratio lipides/peptide, des solutions (dans lesquelles les deux molécules sont mélangées) seront préparées. Dans ce but, la PGLa a été solubilisée (à une concentration de 0,3 mg/ml) dans du chloroforme afin d'avoir un solvant unique. Pour les expériences ne nécessitant pas une connaissance précise de ce ratio et pour lesquelles la mise en contact du peptide avec les lipides est faite après formation de la monocouche de phospholipide, le peptide sera injecté directement dans la sous phase. Dans ce but, la PGLa a été solubilisée (à une concentration de 0,2 mg/ml) dans du tampon phosphate à pH 7,4, afin d'être certain que celle-ci sera sous sa forme où tous les résidus aminoacides K seront chargés positivement, comme à pH physiologique.

Le tampon phosphate d'une concentration finale de 10mM et de pH 7,4 a été réalisé en solubilisant dans 1 litre d'eau ultra pure, 250 mg de Phosphate acide monosodium (NaH_2PO_4) et 1120 mg de Phosphate de sodium disodique (Na_2HPO_4). L'eau ultra pure utilisée comme sous phase et pour la préparation du tampon est obtenue grâce à un système ELGA LABWATER. Elle possède, après passage dans deux systèmes de filtres, une résistivité de 18,2 M Ω .cm.

Les monocouches sont préparées dans des cuves NIMA 712 BAM (L x l = 70 x 10 cm, taux de compression : 10, volume de solution ~ 400ml) ou NIMA 612 (L x l = 60 x 10 cm, taux de compression : 10, volume de solution ~ 300ml), équipées chacune de deux barrières mobiles et d'un système, basé sur une balance de Wilhelmy, pour la mesure de la pression de surface (Fig. 1.8). Elles peuvent de plus, toutes les deux, être thermostatées pour effectuer des mesures d'isotherme à différentes températures.



(a)



(b)

Fig. 1.8 : Cuves NIMA utilisées pour la réalisation des monocouches : (a) NIMA 712 BAM, (b) NIMA 612 On peut voir en (1) le système de mesure de Wilhelmy, (2) Une barrière mobile et (3) la cuve en elle-même

1.3.2/ Méthode (Fig. 1.9)

Un volume prédéfini (tableau 1.1) de la solution que l'on souhaite étudier est déposé à l'interface air/liquide, la sous phase étant soit de l'eau ultra pure soit une solution de tampon phosphate à pH 7,4.

Après une durée de 10 min nécessaire au chloroforme pour s'évaporer totalement, les films sont compressés à une vitesse de 20 cm²/min et à température fixée.

Durant la compression, l'isotherme correspondante est enregistrée afin de caractériser la monocouche. (Figs. 1.10, 1.11, 1.12)

Dans le cas des monocouches de DPPC et de DPPG, des films ont été réalisés à différentes températures afin d'observer d'éventuels changements de comportements du film (modification de la structure, de la température de transition entre les phases, de la pression de collapse, etc...). (Fig. 1.12)

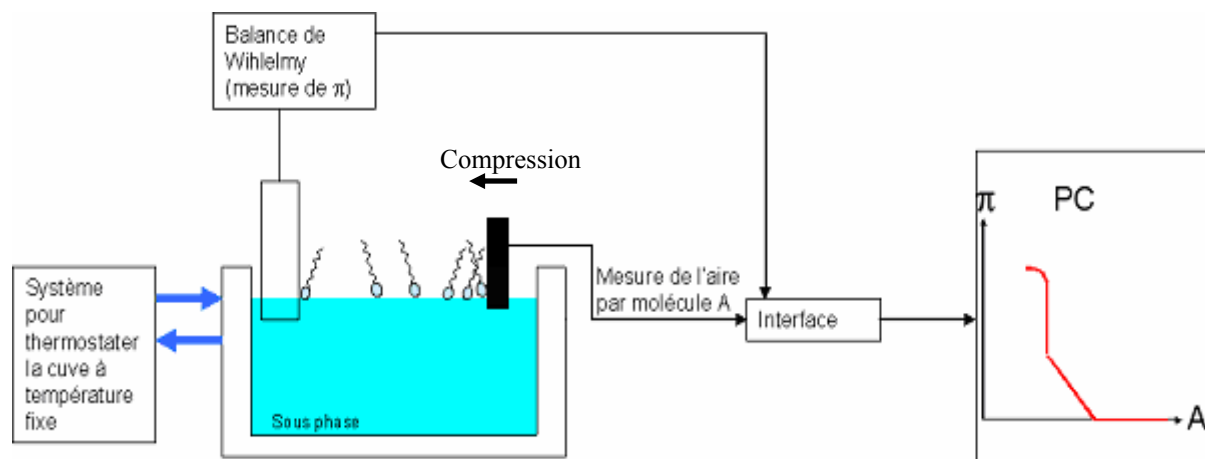


Fig. 1.9 : Schéma du mode opératoire et du système utilisé pour la réalisation des monocouches :

Tableau 1.1 : Volumes déposés à la surface de la sous phase pour la formation de chacune des monocouches étudiées

| Solution | Volume déposé (μl) |
|---------------------------|---|
| DPPC | 75 |
| DPPG | 100 |
| PGLa | 50 |
| DPPC + PGLa | 70 |
| DPPG + PGLa | 100 |
| Cholestérol | 100 |
| DPPC + Cholestérol | 75 |

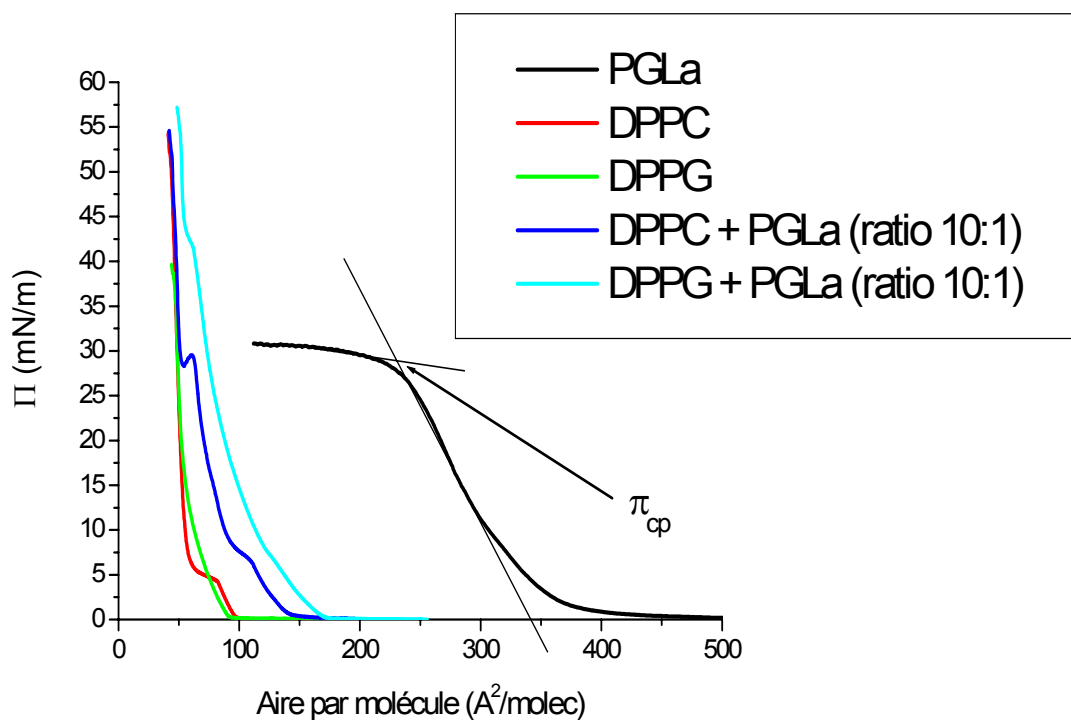


Fig. 1.10 : Isothermes obtenues lors de la compression des films de DPPC, DPPG (en présence ou non de PGLa) et du film de PGLa seule sur une sous phase d'eau pure. T=20°C. Le ratio indiqué correspond au ratio molaire appliqué lors de la préparation des solutions, donc avant dépôt à l'interface pour la réalisation des monocouches π_{cp} est la pression de collapse du peptide.

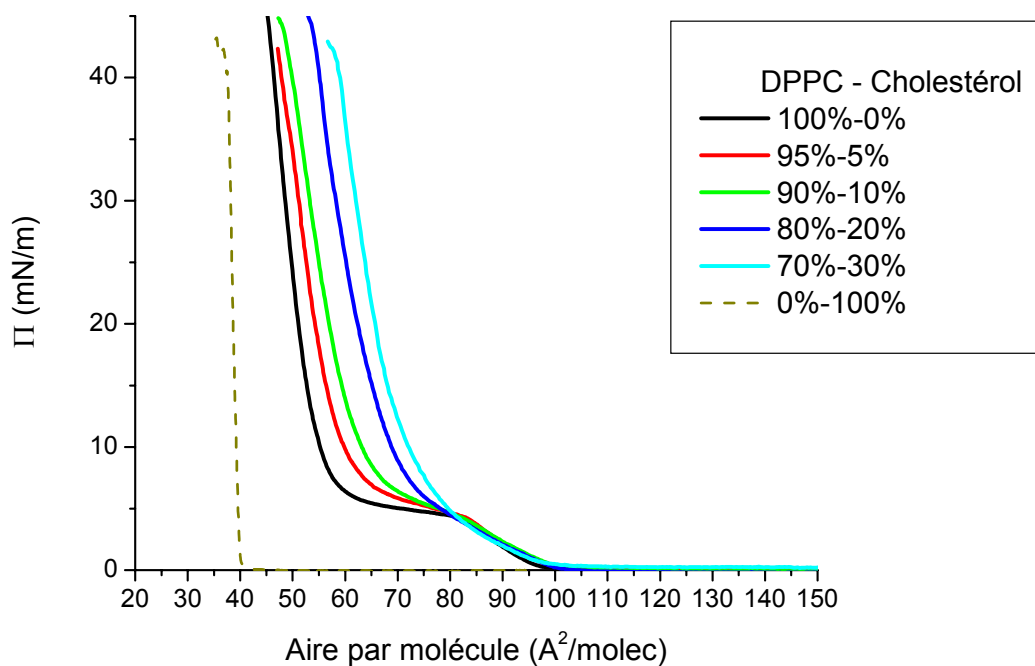
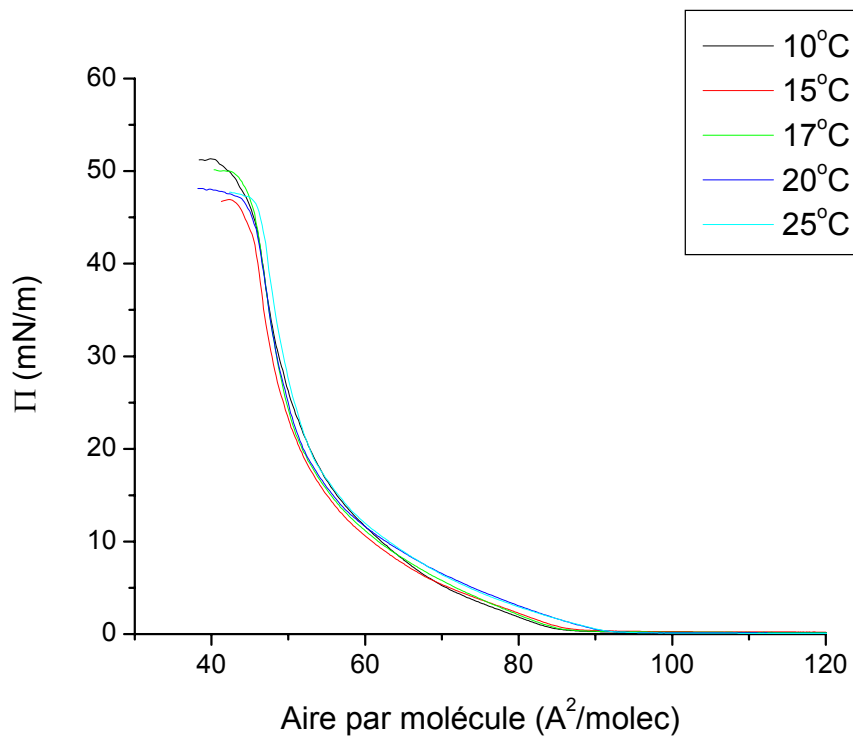
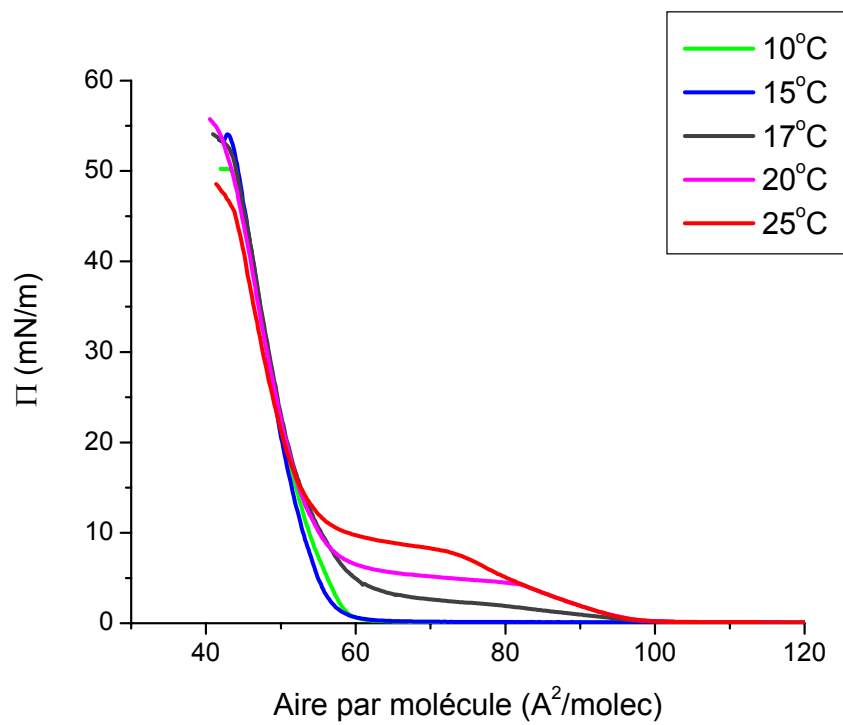


Fig. 1.11 : Isothermes pour un mélange DPPC+Cholestérol à différent pourcentage. Sous phase = Eau pure. T=20°C. Le pourcentage indiqué correspond au pourcentage appliqué lors de la préparation des solutions, donc avant dépôt à l'interface pour la réalisation des monocouches



(a)



(b)

Fig. 1.12 : Isothermes obtenues sur une sous phase d'eau ultra pure à différentes températures (10°C, 15°C, 17°C, 20°C, 25°C) : (a) DPPG, (b) DPPC

1.4/Résultats

1.4.1/ Effet de la PGLa

La Fig. 1.10 nous montre les isothermes obtenues sur l'eau pure et à une température de 20°C pour les films de DPPC et de DPPG en présence ou en absence du peptide, ainsi que l'isotherme obtenue pour le peptide seul.

On constate que dans le cas des films sans peptides, le DPPC passe de la phase liquide expansé à la phase liquide condensé tilté par l'intermédiaire d'une phase de coexistence des deux phases (aux environs de $\pi=5\text{mN/m}$). Dans le cas du DPPG, la phase de coexistence n'est pas observée. Le film passe progressivement et de façon continue de la phase liquide expansé à la phase liquide condensé tilté. Pour le cas du film de PGLa, nous pouvons observer le même mécanisme de transition de phase, continue et sans phase de coexistence.

En regardant maintenant les films de phospholipides réalisés en présence de la PGLa (pour un ratio moléculaire de 10 lipides pour 1 peptide en solution, donc avant réalisation de la monocouche) un décalage, vers les grandes aires par molécule, est tout d'abord observé dans le cas des deux phospholipides. Ce qui confirme la présence du peptide dans la monocouche réalisée (en effet, afin de pouvoir être comparés entre eux, les isothermes de phospholipides et phospholipides + PGLa sont tracées en fonction de l'aire par phospholipide. Ainsi, si pour une pression de surface π donnée, un décalage de l'aire est observé entre la monocouche d'un phospholipide donné et la monocouche du même phospholipide + PGLa, celui-ci est dû à la présence du peptide entre les phospholipides). Ensuite, deux comportements différents sont observés selon le lipide. Dans le cas de la monocouche de DPPG+PGLa, un comportement différent de celui observé pour le DPPG seul peut être remarqué. On peut notamment noter un léger changement de pente entre les différentes phases. Un nouveau film avec de nouvelles caractéristiques thermodynamiques semble donc avoir été formé. Au contraire, dans le cas de la monocouche de DPPC+PGLa, le film semble se comporter comme la somme des isothermes des deux molécules seules. Un premier plateau, correspondant à la zone de coexistence lors du passage liquide expansé/liquide condensé tilté du DPPC, est observé entre 5 et 10 mN/m et une seconde zone d'inflexion, située aux environs de la pression de collapse du peptide (30mN/m sur une sous phase d'eau ultra pure et 20mN/m sur une sous phase de tampon phosphate), est également observée. Passé ce second point, la courbe va suivre le comportement de l'isotherme obtenue pour le DPPC seul. Ces résultats sont en accords avec de précédents travaux ^[10] qui montraient que la PGLa interagissait moléculairement avec le DPPG et que par conséquent, lorsque les deux molécules sont mises en présence l'une de l'autre, un nouveau film, composé d'un mélange des deux types de molécules et ayant ses propres caractéristiques, est formé à l'interface air/liquide. Au contraire, la PGLa n'interagissant pas avec le DPPC, mais étant quand même tensioactive, celle-ci va, à basse pression, venir occuper les espaces libres entre les molécules de DPPC. Le nouveau film ainsi formé, n'est, en fait, qu'une alternance de petits îlots de DPPC et de PGLa. Ensuite, lorsque la pression de collapse du peptide est atteinte, la PGLa étant également soluble dans l'eau et n'interagissant pas avec le DPPC (donc n'ayant rien pour la retenir à l'interface), elle va être progressivement repoussée dans la sous phase (d'où la présence du second point d'inflexion de la courbe) et le film présent à l'interface sera de nouveau un film de DPPC pur (Fig. 1.13). Pour cette raison, lors des expériences utilisant des rayons X, les mesures seront prises à au moins deux points : l'un situé en dessous du point de collapse du peptide π_{cp} (généralement 15mN/m), l'autre au-dessus (généralement 30mN/m).

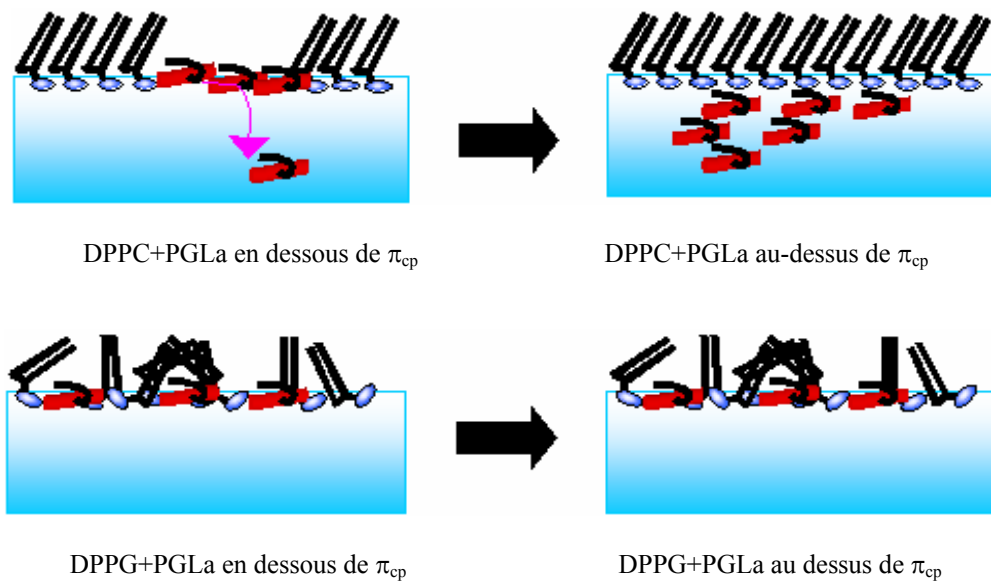


Fig. 1.13 : Schéma de la composition des films en présence de PGLa avant et après la pression de collapse du peptide (π_{cp})

Cette théorie impliquant une interaction entre le DPPG et la PGLa, et aucune interaction entre le DPPC et la PGLa semble être confirmée si, à partir des isothermes, on calcule le ratio Lipides/Peptide effectivement présent dans la monocouche pour une pression de surface donnée. (Fig. 1.14) Pour ce calcul, on considère que l'aire observée par molécule (A) correspond à l'aire occupée par un phospholipide et un fragment de peptide :

$$A = A_{Lipide} + \frac{1}{n} A_{Peptide}$$

On constate que le nombre de DPPG pour 1 molécule de PGLa va très lentement augmenter (c'est-à-dire que le nombre de PGLa diminue lentement) au fur et à mesure de la compression, et ceci même après avoir passé la pression de collapse de la PGLa. Ce qui confirme que de nombreuses molécules de PGLa sont toujours présentes dans la monocouche. Au contraire, le nombre de DPPC pour 1 molécule de PGLa augmente un peu plus rapidement, pour finir par « exploser » après la pression de collapse de la PGLa. Ceci montre bien que, au fil de la compression du film, les molécules de PGLa sont expulsées du film.

Le même comportement a été observé pour les films réalisés sur une sous phase de tampon phosphate.

Ce mécanisme, d'insertion du peptide dans la monocouche, du fait d'interactions entre la PGLa et le lipide (cas du DPPG) ou bien simplement du fait de sa propriété d'être tensioactive (cas du DPPC), a également été vérifié en réalisant un suivi de la variation de l'aire par molécule en fonction du temps, après injection à $t=0$ du peptide dans une sous phase de tampon phosphate (Dans ce cas, la pression de collapse de la PGLa est de 20mN/m) (Fig. 1.15). On constate bien que passé sa pression de collapse, la PGLa ne peut plus s'insérer entre les îlots de DPPC (aucune augmentation de l'air par molécule). Son effet tensioactif n'est donc pas suffisant pour lui permettre de venir se placer entre les molécules de DPPC. Par contre, dans le cas du DPPG, même après sa pression de collapse, la PGLa continue à s'insérer dans le film. Il y a donc autre chose, que son effet tensioactif, qui lui

permet de venir se placer à l'interface. Ce n'est qu'en interagissant avec les molécules de DPPG que cela est possible.

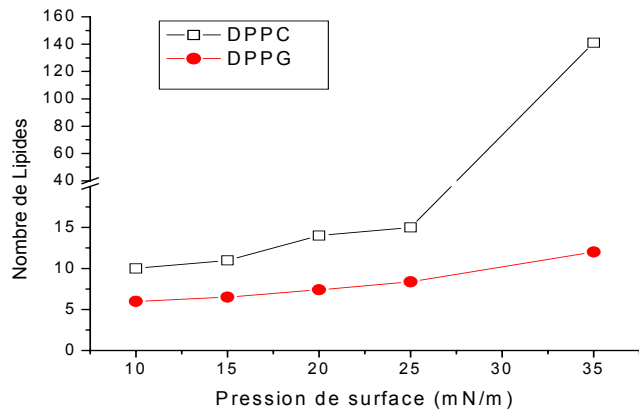
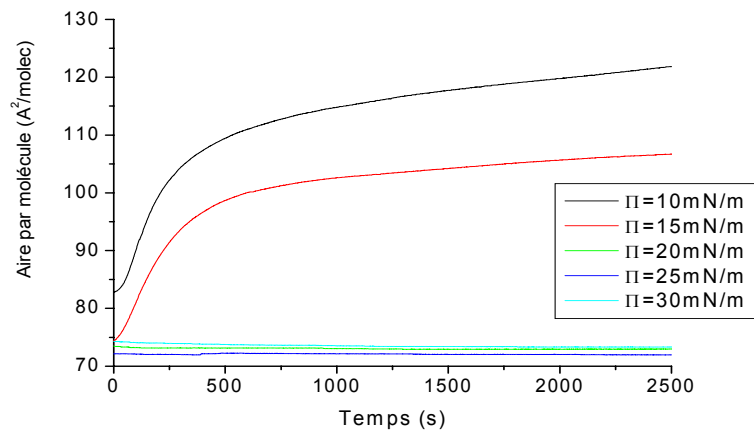
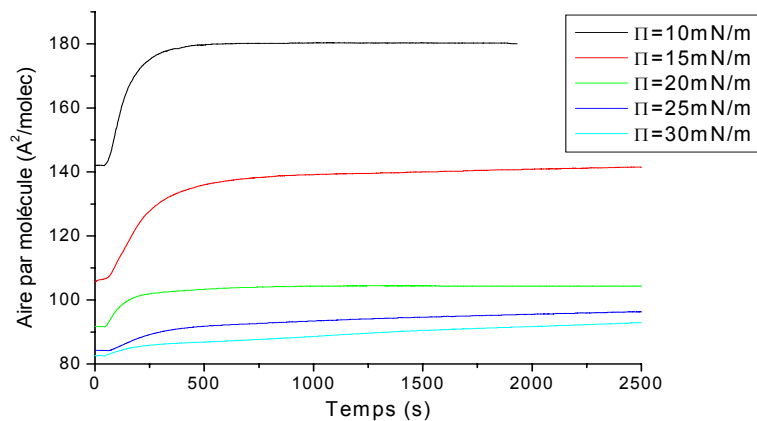


Fig. 1.14 : Nombre de molécules de Phospholipides pour une molécule de peptide dans les monocouches de DPPC+PGLa (en noir) et DPPG+PGLa (en rouge) au fur et à mesure de la compression du film



(a)



(b)

Fig. 1.15 : Variation de l'aire par molécules en fonction du temps après injection dans la sous phase, à $t=0$, de la PGLa pour les films de (a) DPPC et (b) DPPG. Sous phase = tampon phosphate. $T=20^\circ\text{C}$

1.4.2/ Effet du Cholestérol

Dans le cas des films de DPPC réalisés en présence de Cholestérol (mais sans peptide), (Fig. 1.11) les isothermes montrent une disparition progressive de la phase de coexistence en rapport avec l'augmentation progressive de la quantité de Cholestérol dans la solution. Les molécules de Cholestérol interagissant avec les molécules de DPPC, l'aire par molécule (mesurée pour une molécule de DPPC pour les mélanges) va augmenter avec la quantité de Cholestérol présent. Par conséquent, la phase liquide condensé sera atteinte plus rapidement et donc la phase de coexistence tendra à disparaître.

Aucun changement caractéristique de la pente n'est observé ($d\pi/dA = -3,2 \pm 0,4$), ce qui implique que, comme il sera expliqué dans le chapitre 1.5, le Cholestérol ne va pas modifier de façon significative la rigidité de courbure des films de DPPC.

1.4.3/ Effet de la température

La cuve pouvant être thermostatée, des monocouches de DPPC ou de DPPG ont été réalisées à différentes températures. Les isothermes correspondantes sont représentées Fig. 1.12.

Aucune modification notable n'est remarquée sur les monocouches de DPPG. Par contre, on constate que, sur les monocouches de DPPC, avec l'augmentation de la température, la phase de coexistence apparaît de plus en plus tard et est de plus en plus courte, au profit d'une phase liquide expansé qui dure de plus en plus longtemps. Avec l'augmentation de la température, le film devient de plus en plus fluide et la phase cristalline (liquide condensé tilté) devient de plus en plus difficile à atteindre, notamment pour les pressions de surface auxquelles nous souhaitons réaliser nos mesures. Pour cette raison, la majorité des expériences à venir seront réalisées à une température de 20°C et non à température du corps, afin d'être certain que les monocouches aient une phase cristalline aux pressions de surfaces auxquelles nous nous placerons. A priori, si on se base sur la théorie de la compressibilité surfacique isotherme développée au chapitre 1.5, ce choix ne devrait pas avoir trop de conséquence sur la rigidité de courbure, car la pente de la phase liquide condensé tilté reste la même quelque soit la température.

1.5/ Compressibilité et Rigidité de courbure

Dans le cas des systèmes à deux dimensions comme les films de molécules tensioactives, on peut définir, par analogie à la compressibilité volumique des systèmes à trois dimensions, une compressibilité surfacique isotherme (χ)^[19]. Celle-ci va correspondre à une variation relative de l'aire par molécule ∂A selon la pression de surface $\partial\pi$ pour une température fixe.

$$\chi = -\frac{1}{A} \times \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T \quad (1.7)$$

Il est possible d'estimer cette compressibilité pour une pression donnée à partir des isothermes obtenues lors de la compression des monocouches. (Fig. 1.16).

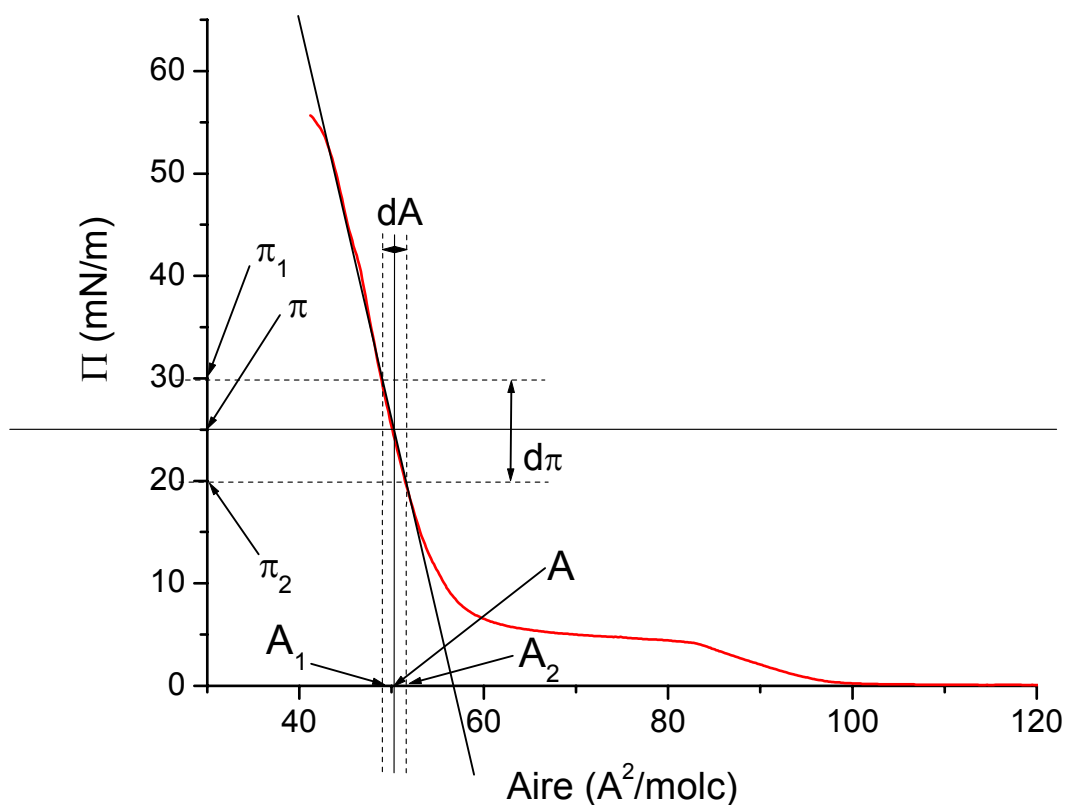


Fig. 1.16 : Détermination de la compressibilité à partir des isothermes

Après avoir réalisé une interpolation linéaire de la phase liquide condensé tilté de l'isotherme, à partir d'une pression choisie, on détermine une échelle de variation ($d\pi = \pi_2 - \pi_1$) autour de celle-ci. Il suffit alors de lire l'aire par molécule correspondant à π , et $(\pi \pm \Delta\pi)$ pour pouvoir calculer $dA = A_2 - A_1$, et ainsi remonter à $\chi = -\frac{1}{A} \times \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T$.

En considérant, en première approximation, le film formé à l'interface air/liquide comme un film homogène, de longueur infinie et avec une épaisseur négligeable devant sa longueur, il est possible, en se basant sur la théorie de Landau^[20] de lier la compressibilité surfacique isotherme calculée précédemment avec la rigidité de courbure du film. D'après cette théorie, on a pour un film homogène d'épaisseur h , de module d'Young E , de rapport de Poisson σ et de compressibilité χ :

$$\frac{1}{\chi} = \frac{Eh}{(1-\sigma^2)} \quad \text{et} \quad \kappa = \frac{Eh^3}{12 \times (1-\sigma^2)} \quad (1.8)$$

d'où : $\kappa = \frac{h^2}{12 \times \chi}$, ou afin de présenter les résultats en unités $k_B T$ (Avec k_B la constante de Boltzmann et T la température en Kelvin) :

$$\kappa = \frac{h^2}{12 \times k_B T \times \chi} \quad (1.9)$$

Il est ainsi possible d'obtenir une estimation de la rigidité de courbure des films de phospholipides à partir de leurs isothermes. Cependant, cette valeur ne sera bien qu'une estimation car elle est basée sur l'hypothèse d'un film homogène, pour lequel, être courbé dans un sens ou dans l'autre coûtera la même énergie au système. Or, les monocouches de phospholipides ne sont pas des films homogènes.

Non seulement ils sont constitués de molécules en deux parties (têtes + queues) réagissant chacune de façon différente à une courbure du film. Les queues peuvent, par exemple, modifier leur tilt afin de mieux se courber. Les têtes peuvent également, si la courbure les fait trop se rapprocher, se repousser les unes des autres du fait de leur charge. Il faut en fait plus voir une monocouche de phospholipide comme deux films indépendants, l'un sur l'autre et réagissant de façon différente à une courbure de la monocouche.

De plus, une monocouche n'est pas réellement homogène dans sa structure et au maximum de sa compacité tant qu'elle n'a pas atteint sa phase solide. C'est-à-dire que, dans notre cas par exemple où les monocouches sont toutes en phase liquide condensé tilté, donc non totalement compressées, le film est en réalité constitué d'un mélange de petits domaines cristallins (ou îlots) « flottants » à l'interface (Fig. 1.17) et non d'un monocristal compact. La conséquence de cette constitution polycristalline est la possibilité, lors de l'apparition d'une courbure de l'interface, de « glissements » ou d'une « pliure » entre deux domaines adjacents. Ces mouvements ne nécessitant que peu ou pas d'énergie et surtout n'imposant aucune rigidité à l'interface. Ainsi, la rigidité de courbure estimée par les isothermes ne sera en fait qu'une moyenne entre la rigidité de courbure imposée par les domaines cristallins et la faible (ou l'absence de) rigidité des mouvements entre domaines.

Les estimations de la rigidité de courbure qui ont été obtenues par cette méthode sont données dans le tableau 1.2 et confirment les comportements observés avec les isothermes. En dessous de la pression de collapse, le peptide s'insère dans les films et provoque une diminution de la rigidité de courbure de ceux-ci. Au-dessus de la pression de collapse, le peptide est « expulsé » du film dans le cas du DPPC. En conséquence, la rigidité du film est de nouveau celle du film de DPPC pure, la rigidité des îlots de PGLa n'entre plus en compte dans la rigidité moyenne. Tandis que pour le film de DPPG, le peptide a été intégré au film et le nouveau film ainsi obtenu a une rigidité de courbure inférieure à celle du film de DPPG pure.

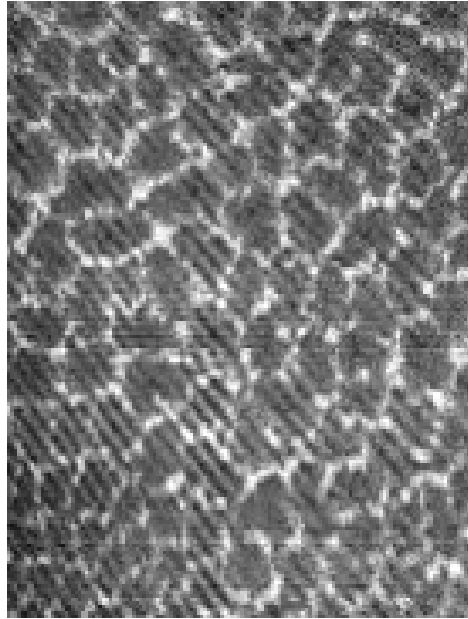


Fig. 1.17 : Monocouche de DPPC, sur une sous phase de tampon à pH 7,3 et à une pression de surface $\pi=25\text{mN/m}$, observée en utilisant la technique du microscope à angle de Brewster. On peut observer en « noir » les domaines cristallins en phase liquide condensé tilté et leurs bords, en « blanc », où peuvent se produire les mouvements entre domaines lors de l'apparition d'une courbure de l'interface.

Source: <http://www.chbmeng.ohio-state.edu/~rathman/research>, Colloid and Interface Research Group, The OHIO State University

Tableau 1.2 : Rigidités de courbure estimées pour les films de DPPC et DPPG en présence ou non de la PGLa

| Molécules | Compressibilité Surfacique Isothermique χ (mN) en dessous de π_{cp} PGLa | Rigidité κ ($k_B T$) en dessous de π_{cp} PGLa | Compressibilité Surfacique Isothermique χ (mN) au dessus de π_{cp} PGLa | Rigidité κ ($k_B T$) au-dessus de π_{cp} PGLa |
|------------------|--|---|--|--|
| DPPC | 5,1 +/- 0,4 | 9 +/- 0,5 | 5,1 +/- 0,4 | 9 +/- 0,5 |
| DPPC+PGLa | 16 +/- 6 | 3 +/- 1 | 5,9 +/- 0,2 | 9 +/- 0,5 |
| DPPG | 4,6 +/- 0,5 | 12 +/- 1 | 4,6 +/- 0,5 | 12 +/- 1 |
| DPPG+PGLa | 22 +/- 2 | 2,5 +/- 0,2 | 13,2 +/- 0,3 | 4,3 +/- 0,3 |

Chapitre 2 :

**Pourquoi un
rayonnement synchrotron ?**

Et

Configuration Expérimentale

La méthode de préparation de nos échantillons étant au point et ceux-ci ayant été caractérisés thermodynamiquement grâce aux isothermes obtenues, des études de diffraction et de diffusion diffuse de rayons X provenant d'un rayonnement synchrotron ont pu être réalisées sur ces monocouches. Les résultats de ces expériences constitueront les troisième, quatrième et cinquième chapitres de ce rapport.

En préambule à ces expériences, nous allons, dans cette partie, nous attarder un peu sur ce qu'est le rayonnement synchrotron et pourquoi il nous est nécessaire. Une brève description de la ligne de lumière ID 10B de l'ESRF (également appelée TROIKA II), où ces expériences ont été réalisées, sera également faite, ainsi qu'une description partielle du montage expérimental (seules les parties communes aux différentes expériences seront décrites) et de quelques réglages importants.

2.1/ Le rayonnement Synchrotron

2.1.1/ Pourquoi un rayonnement synchrotron

Les expériences de diffusion de surface et en particulier les expériences de diffusion diffuse, nécessitent un flux de photons très important. En effet, le signal diffusé est proportionnel au volume du système diffusant. Dans le cas d'une interface de seulement quelques nanomètres d'épaisseur, il est donc extrêmement faible.

Sachant que l'intensité diffusée I vaut, en fonction de l'intensité incidente I_0 [21] :

$$I = \frac{I_0}{w_i h_i} \frac{d\sigma}{d\Omega} \Delta\Omega \quad (2.1)$$

avec w_i et h_i la largeur et la hauteur des fentes situées avant l'échantillon et limitant la taille du faisceau incident (dans notre cas, $w_i \sim 300\mu\text{m}$ et $h_i \sim 100\mu\text{m}$), $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ la section efficace et $\Delta\Omega$ l'angle solide observé par le détecteur. Ce dernier étant dépendant de la dimension ($w_d \times h_d$) des fentes placées devant le détecteur et de la distance (L_d) entre le détecteur et l'échantillon :

$$\Delta\Omega = \frac{w_d h_d}{L_d^2}.$$

Nous verrons plus tard (Chapitre 4) que la section efficace $\frac{d\sigma}{d\Omega}$ est dépendante de nombreux paramètres expérimentaux (densité électronique des milieux inférieur et supérieur, aire de la surface éclairée par le faisceau incident et vue par le détecteur, etc...). Dans notre cas, en fonction de nos choix expérimentaux, on arrive à une section efficace de l'ordre de 10^{-13} .

En supposant que le détecteur soit placé à une distance $L_d \sim 1\text{m}$ de l'échantillon, et possédant une surface utile de 50mm^2 , on arrive finalement à :

$$I \sim 10^{-10} I_0 \quad (2.2)$$

C'est-à-dire que le détecteur reçoit environ 1 photon tous les 10 milliards de photons. En conséquence, afin de conserver des temps de comptages raisonnables ($T=10\text{min}$ par point étant une limite fixée par la fragilité des échantillons) tout en gardant une bonne statistique

(erreur relative de l'ordre de 3% correspondant à un nombre de coups, c'est-à-dire de photons comptés par le détecteur, $N=1000$), le flux Φ arrivant sur la surface diffuse doit être de l'ordre de :

$$\Phi = \frac{N}{T \times \frac{I}{I_0}} \sim 10^{11} \text{ photons/s} \quad (2.3)$$

Or seul les synchrotrons de 3^e génération sont capables de fournir un tel flux.

De plus, la qualité d'une source de rayons X n'est pas jugée uniquement à la vue du flux qu'elle fournit, mais également à la vue de sa brillance, définie comme étant la quantité de photons émis par seconde en tenant compte de la taille de la source et de la divergence du faisceau. Or, la résolution d'une expérience de diffusion dépend cruciallement d'une divergence faible du faisceau incident. Si l'on exige une divergence inférieure à $100\mu\text{rad}$, à la fois horizontalement et verticalement, pour une taille de fente d'entrée de l'ordre de $w_i \times h_i \sim 10^{-2} \text{ mm}^2$, et une bande passante (BP) en énergie de $\delta\lambda/\lambda = 0,01\%$ (qui est typiquement ce que l'on obtient avec un bon monochromateur), on voit qu'une brillance de l'ordre de $10^{18} \text{ photons/s/mm}^2/\text{mrad}^2/0,1\% \text{BP}$ est nécessaire. Brillance qui ne peut également être obtenue que par un rayonnement synchrotron de 3^e génération. (Fig. 2.1)

Le rayonnement synchrotron a été observé pour la première fois au milieu du siècle dernier, mais il a fallu attendre ces quinze dernières années et l'avènement des synchrotrons de 3^e génération pour parvenir à la production d'un faisceau de rayons X suffisamment intense et focalisé pour permettre des expériences de diffusion diffuse sur des monocouches instables.

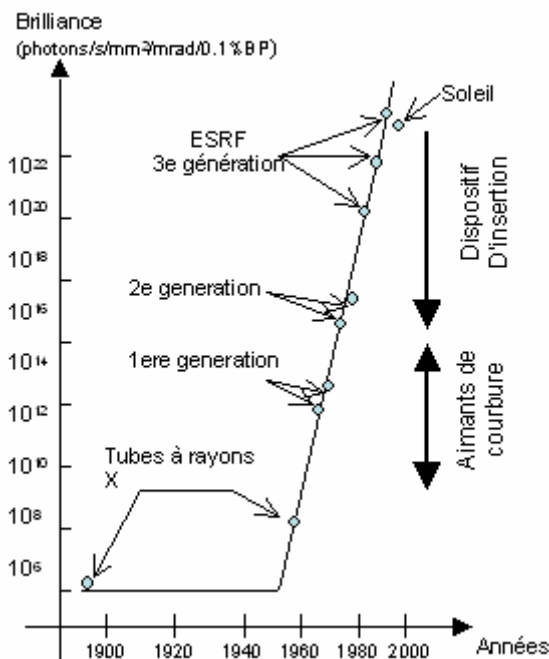


Fig. 2.1 : Evolution de la brillance des sources de rayons X avec le temps

2.1.2/ Principe de production d'un rayonnement synchrotron [21]

Le rayonnement synchrotron est produit par des particules chargées (électrons ou positrons) fortement accélérées. Lors de cette accélération, elles émettent des photons, dont le spectre, en énergie, s'étend sur une large gamme allant des micro-ondes (10 μeV) aux rayons X durs (50 keV). Ceci permet de réaliser des études spectroscopiques, mais également des études structurales de la matière (en utilisant les rayons X), et explique l'utilisation de ce rayonnement dans de nombreux domaines (physique, biologie, chimie, etc....)

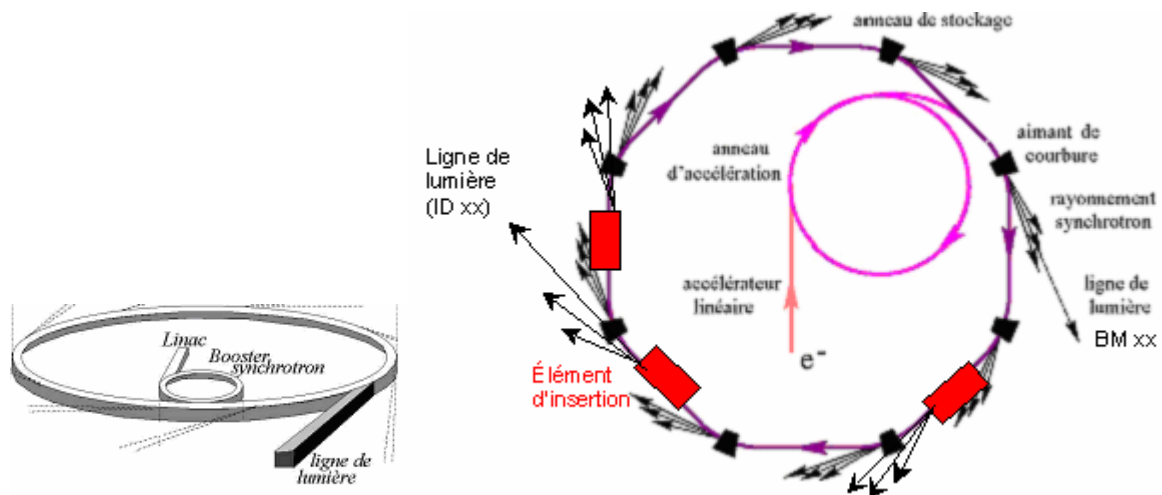


Fig. 2.2 : Schématisation des différentes parties d'un synchrotron : On peut observer les aimants de courbure placés dans les sections courbes de l'anneau de stockage et les éléments d'insertion placés dans les portions droites.

Le principe de fonctionnement d'un synchrotron (Fig. 2.2) est donc d'accélérer des particules chargées. D'abord en utilisant un accélérateur linéaire (LINAC), puis éventuellement dans un accélérateur circulaire (BOOSTER) jusqu'à des énergies de l'ordre du GeV (6 GeV dans le cas de l'ESRF). Les particules sont ensuite transférées dans un anneau de stockage suivant une trajectoire quasi-circulaire. Durant leur parcours dans l'anneau de stockage, les particules vont rencontrer deux groupes différents de systèmes servant à produire les rayons X. Ces groupes sont nommés respectivement les aimants de courbure et les éléments d'insertions. Chacun conduisant à la production d'un rayonnement synchrotron d'intensité et de brillance différente. Quel que soit le système utilisé, aux endroits où les rayons X sont émis, une sortie est aménagée dans l'anneau et on obtient ce que l'on appelle une ligne de lumière (appelées, à l'ESRF, respectivement, en fonction du système utilisé, BM xx ou ID xx)

Une fois émis, le faisceau de rayons X est utilisé de la même manière qu'un faisceau optique : Un monochromateur sélectionne une énergie, il est ensuite dévié par des miroirs, limités par des fentes, son intensité est mesurée par des détecteurs, ... Cependant, en raison de la très haute énergie des photons, certains éléments optiques doivent être fabriqués à partir de matériaux spécifiques (dépôt de nickel, de platine ou de palladium pour les miroirs, tantale ou tungstène pour les fentes). Le flux très élevé du faisceau blanc impose aussi des contraintes sur les composants utilisés (cristal de silicium, diamant), car il occasionne localement de fortes élévations de température. Le trajet du faisceau se fait, dans la mesure du possible, dans le vide, ce qui a pour effet de limiter la diffusion et l'absorption par l'air. Par exemple, après

un parcours d'un mètre dans l'air, l'intensité d'un faisceau à 8 KeV est atténuée d'au moins un facteur 3. Le vide permet en outre de limiter la formation sur les éléments optiques de dépôts résultant de réactions induites, par le faisceau de rayonnement ionisant, entre les surfaces et les particules gazeuses environnantes.

2.1.2.1/ Les aimants de courbure (ou Bending Magnet) (Fig. 2.3)

Leur but premier est de défléchir la trajectoire des particules afin de les forcer à suivre la trajectoire circulaire du synchrotron.

Aux endroits où a lieu la déflexion, les particules vont émettre des rayons X. Cette émission se fait tangentiellement à la trajectoire des particules et les photons sont polarisés linéairement dans la direction de son rayon de courbure. Le caractère relativiste du processus confine le rayonnement dans un cône de faible ouverture angulaire. L'angle de divergence verticale ($1/\gamma$) est lié à l'énergie E de l'électron relativiste et vaut $m_e c^2/E$. Pour une énergie de 6 GeV, comme à l'ESRF, la divergence verticale vaut $\sim 80 \mu\text{rad}$. La divergence horizontale (2θ) est dominée par l'angle sur lequel se fait la déviation de l'électron.

Les synchrotrons de 1^{ère} et 2^e génération utilisent principalement, voire uniquement, les rayons X produits par ce type d'aimants.

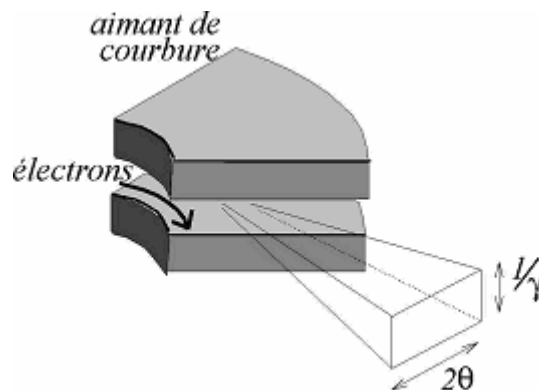


Fig. 2.3 : Rayonnement émis par un aimant de courbure. 2θ correspond à la divergence horizontale du faisceau émis et $1/\gamma$ sa divergence verticale.

2.1.2.2/ Les éléments d'insertions (ou Insertion Device) (Fig. 2.4)

Ce groupe est apparu avec les synchrotrons de 2^e génération et s'est généralisé à la 3^e génération. Il est constitué de deux types de systèmes, les Wiggler et les Onduleurs. Ceux-ci sont placés dans les parties rectilignes (situées entre deux aimants de courbure) de l'anneau de stockage et ont pour but de produire un faisceau de rayon X plus intense et plus brillant que celui obtenu par les aimants de courbure.

Le principe de base de ces deux systèmes est le même. Le faisceau de particules va passer entre deux « plateaux » composés d'un enchaînement d'aimants. La polarité, entre deux aimants successifs, est inversée, ce qui aura pour conséquence de faire osciller les particules dans le plan horizontal, créant ainsi (selon le même principe que pour les aimants de courbure) une émission de photons de hautes énergies à chaque nouveau changement de direction. Les différents pulses de rayonnements ainsi émis étant proches les uns des autres,

ils pourront s'additionner, et former ainsi un faisceau d'intensité plus grande que dans le cas d'une déflexion unique provoquée par les aimants de courbure. De plus, dans le cas de ces systèmes, la divergence horizontale est bien plus faible que celle obtenue par un aimant de courbure et la divergence verticale est inférieure à $m_e c^2/E$. Par conséquent, de tels systèmes fourniront un faisceau de plus grande brillance que celle obtenue avec des aimants de courbure.

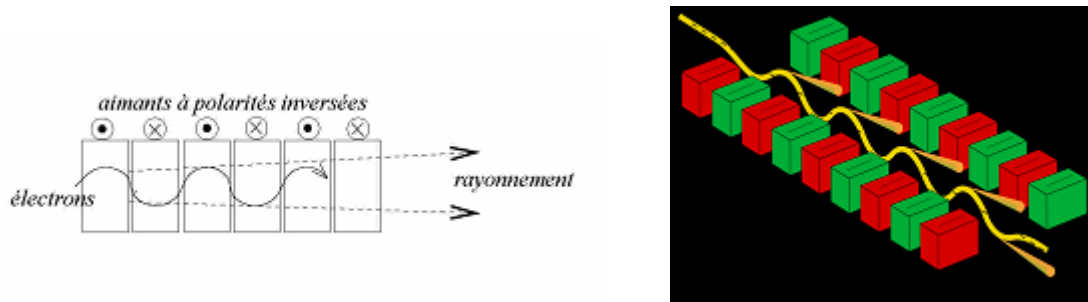


Fig. 2.4 : Rayonnement émis par un élément d'insertion.
Les oscillations se font dans le plan horizontal

La différence entre wiggler et onduleur se situe dans l'amplitude des oscillations réalisées par la trajectoire des électrons. Pour les wiggler, l'amplitude de la déflexion sera supérieure à $1/\gamma$ (divergence verticale du faisceau) et, en conséquence, les pulses de photons émis au cours des oscillations n'interfèrent pas et s'additionnent de façon incohérente, augmentant ainsi le flux de photons (donc l'intensité) émis par le système par rapport à un aimant de courbure (où seul un pulse sera émis), mais moins que dans le cas des onduleurs, où l'amplitude de déflexion est inférieure à $1/\gamma$, et pour lesquels les pulses de photons interfèrent et s'additionnent de manière cohérente (Fig. 2.5).

De plus, contrairement au cas du wiggler (et d'un aimant de courbure), la durée du pulse de lumière émis par un onduleur est longue. Ainsi, le rayonnement électromagnétique émis par un onduleur est caractérisé par des longueurs d'onde bien précises appelées harmoniques (les différentes interférences entre le rayonnement dans chaque section de l'onduleur), alors que dans le cas des wigglers, il sera constitué d'un large spectre continu (Fig. 2.5). La fréquence de chacun de ces harmoniques étant dépendante de la valeur du champ magnétique créé par chacun des dipôles magnétiques, l'onduleur est une source accordable en énergie. Il est donc possible de sélectionner une harmonique précise simplement en modifiant la distance entre les deux plateaux sur lesquels sont situés les aimants. Enfin, même si le flux émis par un onduleur est comparable à celui émis dans un wiggler, la brillance (du fait de la nature collimatée du rayonnement (dans le plan de l'orbite)) est largement supérieure

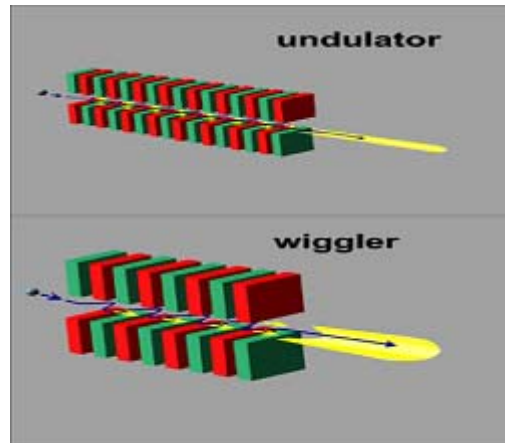


Fig. 2.5 : Comparaison entre wiggler et onduleur : La différence d'amplitude de la déviation du faisceau d'électron aura pour conséquence un faisceau quasi-monochromatique (onduleur) ou constitué d'un spectre continu de courtes longueurs d'ondes.

La ligne de lumière ID 10B utilise un système d'onduleurs qui produit, à partir d'électrons ayant une énergie de 6 GeV, un faisceau de rayons X ayant une divergence horizontale de 28 μrad , une divergence verticale de 17 μrad et un flux de 10^{12} photons/s./mm² pour le faisceau monochromatique arrivant sur l'échantillon après passage par une fente de dimension (h x v) 0,5 x 0,1 mm.

2.2/ La ligne de lumière TROIKA II

La ligne de lumière TROIKA II (aussi appelée ID 10 B) est spécialement équipée pour permettre des expériences de Réflectivité, de Diffraction ou de Diffusion diffuse (dans le plan horizontal ou vertical) sur les interfaces liquide ou solide. Une des spécialités de cette ligne est l'étude de films minces sur des surfaces solides, liquides ou fluides, sur une échelle allant du sub-nanométrique à la centaine de nanomètres

Comme toutes les lignes de lumière de l'ESRF, elle est constituée de deux parties : Une « Cabane » Optique où se font les réglages principaux du faisceau de lumière et une « Cabane » Expérimentale où sont réalisés les réglages pour les expériences. (Fig. 2.6)

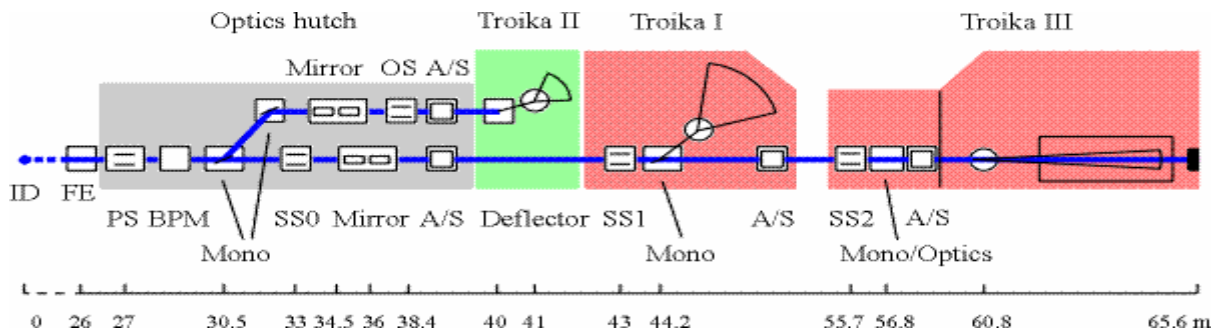


Fig. 2.6 : La ligne de lumière ID 10 : Le faisceau de rayon X issu de l'élément d'insertion 10 situé sur l'anneau de stockage va être partagé entre les lignes de lumière Troïka II (ID 10B), Troïka I (ID 10A) et Troïka III (ID 10C)

2.2.1/ La « Cabane » Optique (Fig. 2.7)

Le faisceau primaire provenant de l'anneau de stockage va être partagé entre la ligne Troïka II et les lignes Troïka I et III. Pour cela, un premier monochromateur M1 d'une épaisseur de 100 μm (suffisamment fin pour limiter l'absorption) va diviser le faisceau blanc provenant de l'anneau en un faisceau blanc qui sera transmis vers Troïka I et III, et un faisceau monochromatique correspondant à l'énergie désirée pour l'expérience. Ainsi, comme le montre la figure 2.8, le faisceau blanc, d'une énergie (sélectionnée au préalable par l'onduleur avec une précision de 1%) correspondant à la longueur d'onde désirée pour l'expérience, va frapper le monochromateur qui va prélever une infime partie de celui-ci en sélectionnant à son tour (avec une précision de 0,01%), dans le spectre, une énergie donnée, permettant ainsi de travailler avec un faisceau monochromatique de la longueur d'onde souhaitée (avec une incertitude de moins de 1%). Le reste du faisceau est transmis vers les lignes TROIKA I et III qui pourront à leur tour sélectionner une partie de ce faisceau et travailler, en même temps que TROIKA II, avec un faisceau de même longueur d'onde (toujours avec une incertitude de moins de 1%). C'est cette différence de précision, dans la sélection de l'énergie, entre l'onduleur et le monochromateur (100 fois plus grande pour le monochromateur) qui donne la possibilité d'utiliser, simultanément, plusieurs monochromateurs sur un même faisceau et donc de partager celui-ci entre les lignes. Le faisceau issu du premier monochromateur alimentera, après avoir subi une réflexion de Bragg par un deuxième monochromateur M2, identique au premier, la ligne de lumière Troïka II. Ces deux monochromateurs vont dévier le faisceau dans le plan horizontal.

Le faisceau, désormais monochromatique, est ensuite dévié, dans le plan vertical, par deux miroirs Mi dont le rôle essentiel de réduire au maximum les harmoniques de hautes énergies. En effet, la présence de ces harmoniques aurait pour conséquence une augmentation importante du bruit de fond lors des expériences. Or un bruit de fond le plus faible possible est très important, notamment pour les expériences de diffusion sur les surfaces liquides. Le second rôle de ces miroirs est d'aider au réglage précis de l'angle d'incidence avec lequel le faisceau arrivera sur l'échantillon.

Le faisceau va ensuite passer au travers d'une fente (la fente optique, de hauteur h_0 et de largeur w_0).

Ce dernier passe ensuite dans la seconde partie de la ligne, la « Cabane » expérimentale.

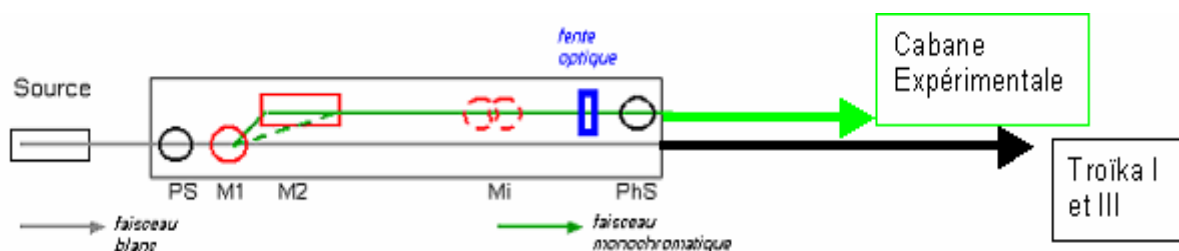


Fig. 2.7 : Représentation de la Cabane Optique de Troïka II. Avec M1 et M2 les deux monochromateurs, Mi les miroirs et la fente optique par lesquels va passer le faisceau avant de rejoindre la « cabane » expérimentale.

(Une vue plus détaillée est visible à l'adresse suivante :

http://www.esrf.fr/UsersAndScience/Experiments/SCMatter/ID10B/BeamlineOverview/id10B_WEB_LAYOUT_optics.pdf)

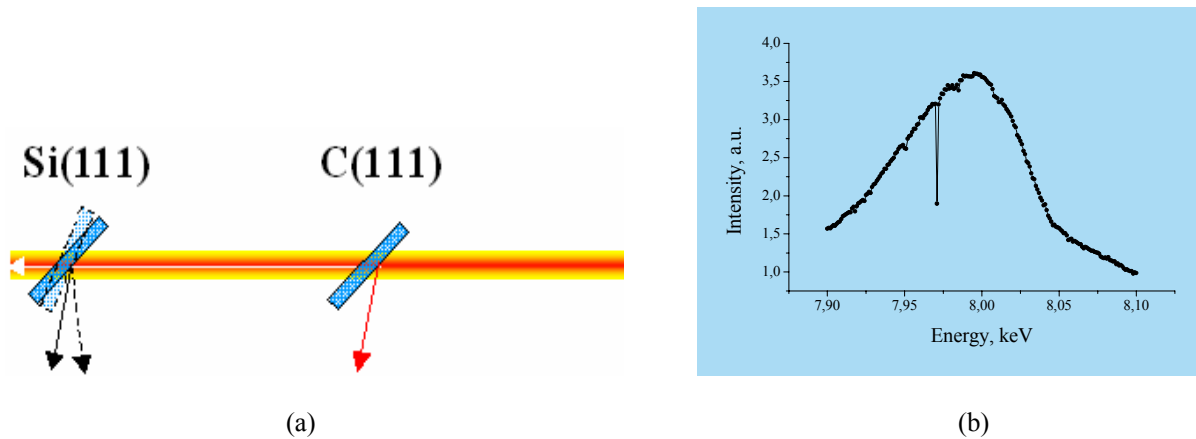


Fig. 2.8 : Principe de fonctionnement du monochromateur M1. Celui-ci va sélectionner et prélever une énergie précise dans le faisceau incident, c'est-à-dire qu'il va se laisser « traverser » par toutes les énergies, du faisceau incident, lui arrivant dessus excepté celle correspondant à l'énergie désirée (d'où le passage sur (a) d'une partie du faisceau de rouge (= le faisceau contient l'énergie souhaitée avant passage par M1) à blanc = l'énergie a été prélevée par M1 et ne fait plus partie du faisceau). Un scan du spectre énergétique du faisceau après passage au travers de M1, réalisé par un second monochromateur, donne la courbe en (b) : On constate un « trou » très fin (~1eV) dans le scan, correspondant à l'énergie prélevée par M1.

2.2.2/ La « Cabane » Expérimentale (Fig. 2.9)

Après son entrée dans la « cabane » expérimentale, le faisceau passe au travers d'une nouvelle fente S0 (de dimension h_i et de largeur w_i) qui va permettre un réglage fin de la taille du faisceau incident. Puis, il traverse une fine feuille de Kapton (épaisseur : 78 μm) qui va diffuser une fine partie du faisceau (proportionnelle au flux) vers un moniteur Mon placé verticalement (Fig. 2.10). Il s'agit d'un détecteur à scintillation constitué de cristaux de NaI dopés au thallium. Les photons X sont absorbés par le cristal, et leur énergie est réémise sous forme de photons optiques. Le nombre de photons est ensuite augmenté par un photomultiplicateur, transformé en courant électrique puis mesuré. Le moniteur permet d'évaluer en temps réel l'intensité du faisceau incident envoyé sur l'échantillon. Cette information est importante car cette intensité est susceptible de varier au cours du temps, en raison des changements d'intensité du faisceau d'électrons dans l'anneau de stockage, et, de dérèglages des éléments optiques situés en amont.

Afin d'éviter une saturation, voir une destruction, du détecteur due à une intensité du faisceau diffusé trop grande, on diminue artificiellement, quand cela est nécessaire, l'intensité du faisceau incident (l'intensité du faisceau diffusé étant liée à celle du faisceau incident) en le faisant passer au travers d'absorbeur(s) Ab. Dans le cas de TROIKA II, les absorbeurs sont placés sur une roue automatique située entre le faisceau et l'échantillon. Ils sont constitués (pour les expériences réalisées à 8 keV) de la superposition d'un nombre croissant de feuilles d'aluminium, d'épaisseur 0,1 μm , et ont une épaisseur finale variant de 0 à 1,9 mm.

Le faisceau atteint ensuite l'échantillon Sa. Celui-ci est placé sur un goniomètre Go permettant de positionner précisément l'échantillon grâce à différents moteurs contrôlant chacun un axe. Dans notre cas, le plus important des moteurs est le moteur nommé zgH qui permet de régler la hauteur de l'échantillon (voir plus bas : Réglage de la hauteur de la cuve). Le goniomètre est réglé de façon à ce que le point d'impact du faisceau sur l'échantillon corresponde à son centre de rotation.

Enfin, après avoir interagi avec l'échantillon et avant d'atteindre le détecteur D qui va mesurer son intensité, le faisceau diffusé va passer par un jeu de fentes collimatrices S1 et S2,

préalablement parfaitement alignées, qui vont permettre de régler la taille du faisceau accepté par le détecteur, c'est-à-dire la résolution angulaire de l'expérience.

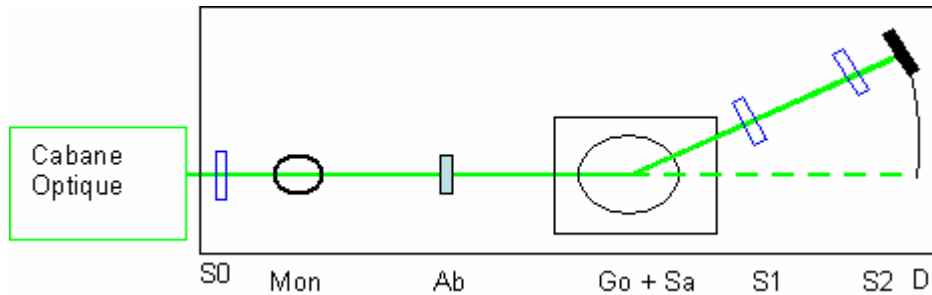


Fig. 2.9 : Représentation de la Cabane Expérimentale de Troïka II. Avec S0 la fente placée avant l'échantillon et affinant la taille du faisceau incident, Mon le moniteur, Ab les absorbeurs optionnels, Go le Goniomètre, Sa l'échantillon, S1 et S2 les fentes collimatrices et D le détecteur.

(Une vue plus détaillée est visible à l'adresse suivante :

http://www.esrf.fr/UsersAndScience/Experiments/SCMatter/ID10B/BeamlineOverview/id10B_WEB_LAYOUT_exp_hutch.pdf)

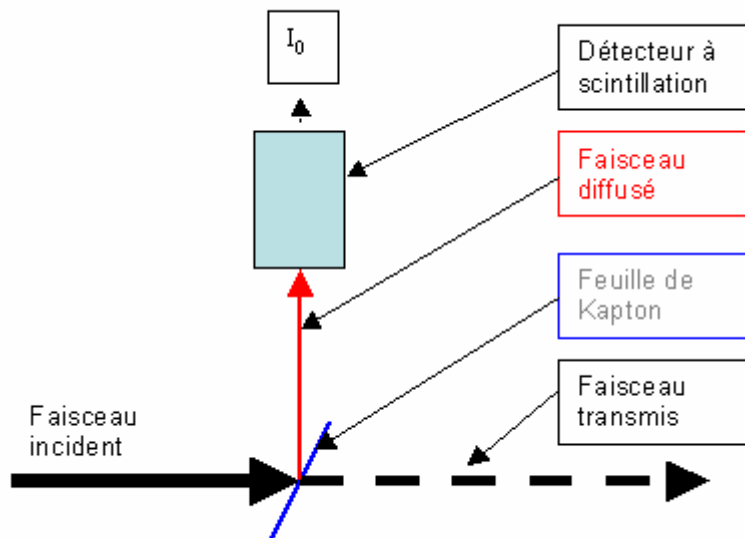


Fig. 2.10 : Principe de fonctionnement du moniteur : Une feuille de Kapton diffuse une partie du faisceau incident vers un détecteur à scintillation qui en mesure l'intensité I_0

2.3/ Montage Expérimental et Réglages

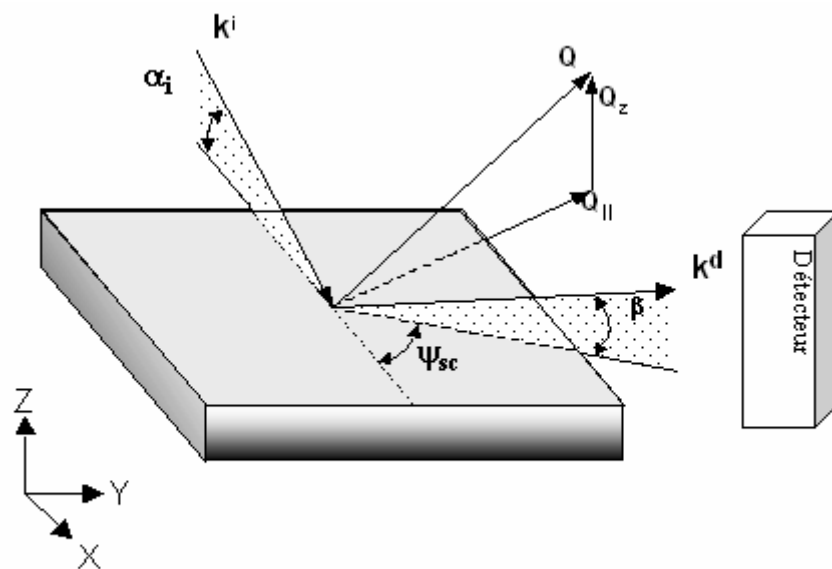
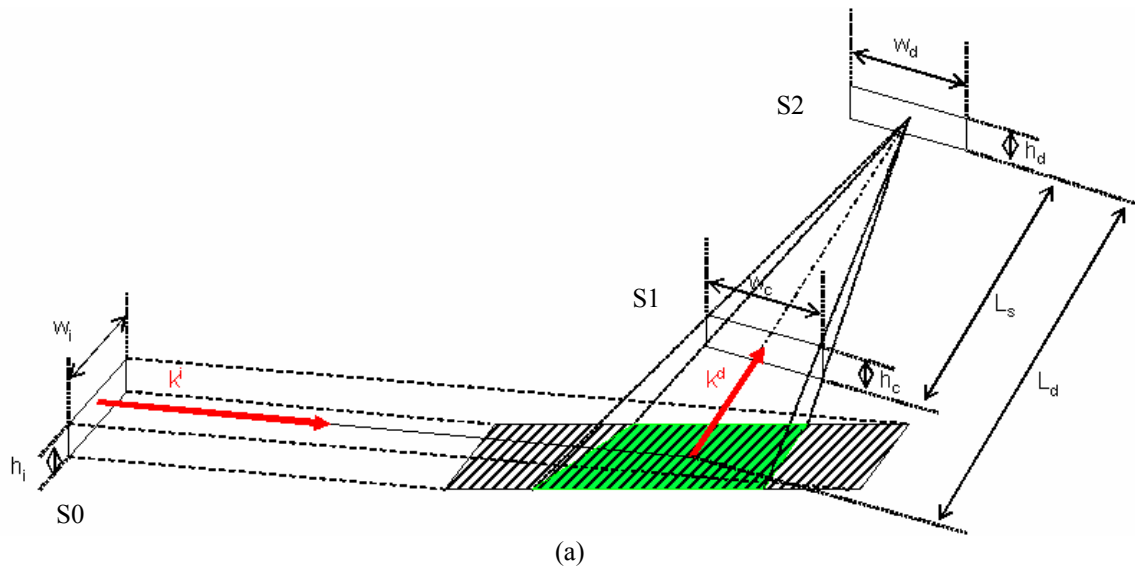


Fig. 2.11 : Géométrie de l'expérience : (a) : h_i , w_i , h_c , w_c , h_d , w_d représentent les dimensions des fentes collimatrices indexées, respectivement, i (ou fente S0, placée avant l'échantillon, dans la cabane expérimentale), c (ou fente S1, placée après l'échantillon) et d (ou fente S2, placée avant le détecteur). L_s est la distance entre les fentes S1 et S2 et L_d la distance entre la fente S2 et le Centre de Rotation du goniomètre (correspondant au centre de l'échantillon) où est placé l'échantillon. (b) : Le faisceau incident va frapper l'échantillon avec un angle α_i (avec $\alpha_i < \alpha_c$), puis après interaction entre le faisceau et l'échantillon, les faisceaux diffusés seront collectés par un détecteur pour divers angles ψ_{sc} et β (avec $\psi_{sc} > 0$ et $\beta > 0$).

2.3.1/ Géométrie des expériences (Fig. 2.11)

Dans le cas des expériences de diffraction et de diffusion diffuse dans le plan de surface, le détecteur est déplacé dans le plan de l'interface, c'est-à-dire que l'on fait varier l'angle ψ_{sc} . Selon le type de détecteur utilisé (par exemple un PSD (Position Sensitive Detector)), il est également possible de mesurer dans le même temps le signal diffusé selon la composante Z, c'est-à-dire en fonction de l'angle β .

Pour cette géométrie, les coordonnées du vecteur de diffusion $Q = k^d - k^i$ s'écrivent en fonction de l'angle d'incidence α_i , de l'angle de diffusion horizontal ψ_{sc} , et de l'angle de diffusion vertical β :

$$\begin{aligned} Q_x &= \frac{2\pi}{\lambda} (\cos \beta \cos \psi_{sc} - \cos \alpha_i) \\ Q_y &= \frac{2\pi}{\lambda} \cos \beta \sin \psi_{sc} \\ Q_z &= \frac{2\pi}{\lambda} (\sin \beta + \sin \alpha_i) \end{aligned} \tag{2.4}$$

On notera $Q_{//} = \sqrt{Q_x^2 + Q_y^2}$, la projection de Q dans le plan de l'interface. Le système de coordonnées a été choisi de manière à ce que (x, y) soit le plan moyen de l'interface et (x, z) le plan d'incidence, le faisceau se propageant vers les x croissant.

2.3.2/ Réglage de l'angle d'incidence

Afin de réaliser des expériences de diffusion sur des monocouches situées à une interface, il faut que le faisceau diffusé provienne de l'échantillon ou de l'interface (dans le cas où celle-ci est nue) et non de la sous phase, c'est-à-dire qu'il doit s'agir d'un faisceau dans lequel la diffusion due aux homogénéités de volume sera limitée et celle due à la contribution de la surface sera dominante. Pour cela il est nécessaire que le faisceau incident ne pénètre pas trop profondément dans la sous phase. Or la profondeur de pénétration du faisceau incident est, en plus d'être dépendante de la densité électronique de la surface, fortement dépendante de l'angle α_i avec lequel le faisceau va frapper la surface de l'échantillon. En effet, il existe, pour chaque type de surface, un angle critique α_c au-dessus duquel, la profondeur de pénétration du faisceau incident fait un bond (Fig. 2.12a) et le faisceau incident pénètre trop profondément. Il faut donc se placer à un angle d'incidence α_i situé en dessous de α_c .

Par ailleurs, lorsque le faisceau incident va venir frapper la surface, celui-ci va se scinder en deux parties. Une partie sera réfléchiée par la surface et l'autre partie sera transmise dans la sous phase pour aller interagir avec l'échantillon (Fig. 2.13). On peut donc écrire de façon simplifiée que :

$$\begin{aligned} \text{Faisceau Total après contact avec la surface} &= \text{Faisceau Réfléchi} + \text{Faisceau Transmis} \\ &= (R \times \text{Faisceau Incident avant surface}) + (T \times \text{Faisceau incident avant surface}) \end{aligned}$$

où R et T représentent, respectivement, les facteurs de réflexion et de transmission du faisceau incident par la surface.

Dans le cas des expériences qui nous intéressent (Diffusion diffuse et Diffraction), c'est le faisceau transmis qui doit être pris en compte. Par conséquent, il faut également s'intéresser

au facteur de transmission T . Or, celui-ci est aussi dépendant de ce même angle critique α_c . On peut constater sur la Fig. 2.12b qu'il passe par un maximum pour $\alpha_i = \alpha_c$ et que si l'angle d'incidence choisi est trop petit par rapport à l'angle critique, une infime partie du faisceau sera transmise (la majeure partie du faisceau incident étant réfléchi par la surface) et par conséquent, l'intensité du faisceau diffusé (dépendante de l'intensité du faisceau incident) sera très faible, voir trop faible pour que l'on puisse mesurer quoi que soit.

Il faut donc trouver un compromis entre une faible profondeur de pénétration et un facteur de transmission suffisamment élevé. Dans notre cas, nous prendrons α_i ($0,115^\circ$) $\sim 0,75 \alpha_c$ ($0,154^\circ$ pour l'eau)

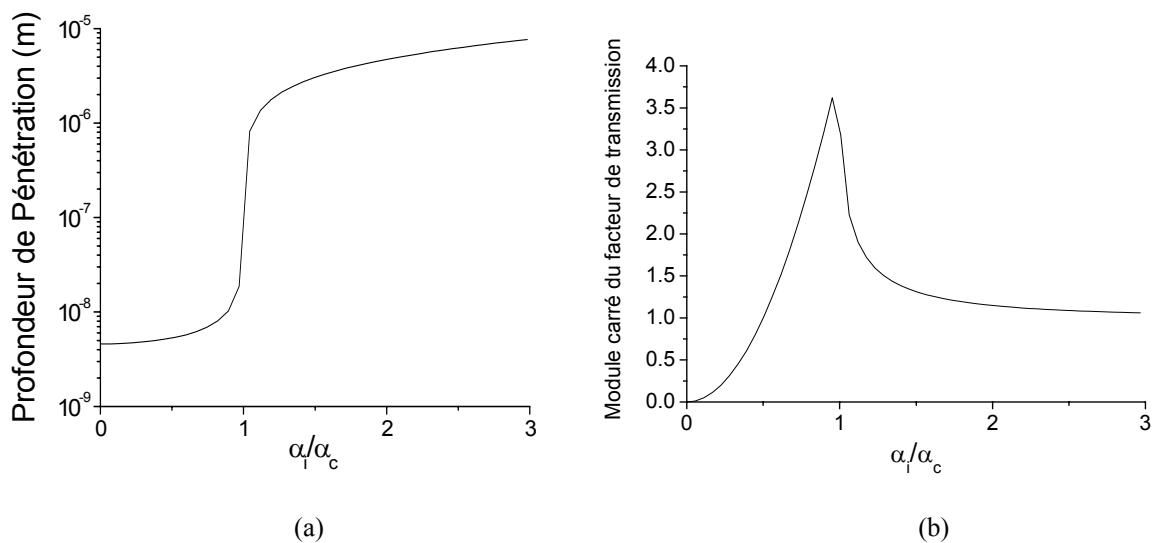


Fig. 2.12 : Profondeur de pénétration de l'onde transmise (a) et module carré du facteur de transmission (b) en fonction de l'angle d'incidence pour une surface d'eau

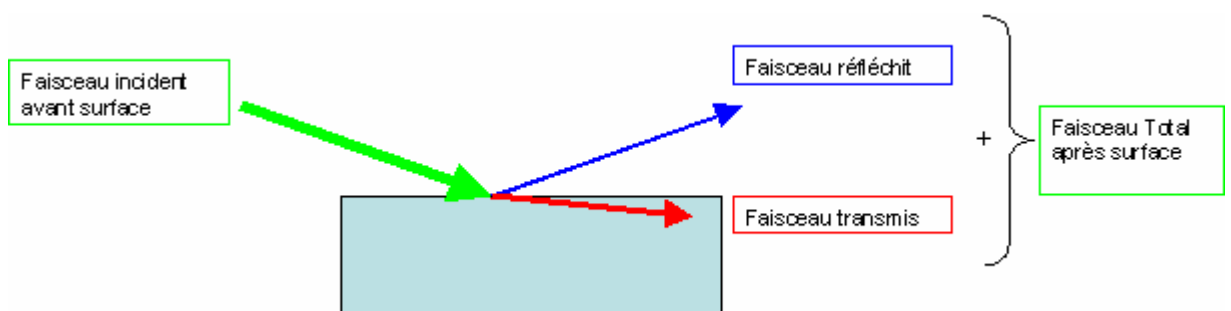


Fig. 2.13 : Schéma simplifié du devenir du faisceau incident après contact avec l'interface

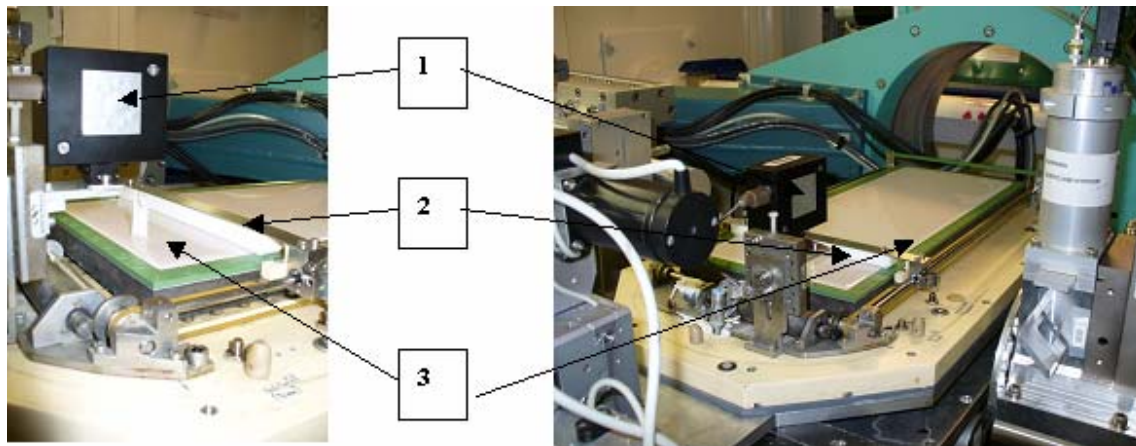
2.3.3/ La cuve

Pour les expériences menées sous rayons X, les monocouches de Langmuir ont été réalisées dans une cuve de Langmuir « faite maison » ($L \times l = 438 \times 170$ mm, taux de compression : 6, volume de solution ~ 370 ml) (Fig. 2.14), spécialement conçue pour ce genre d'expérience et pour s'adapter au goniomètre de la ligne. Elle est constituée d'une cuve en téflon, d'une barrière mobile unique et d'une balance de Wilhelmy provenant de chez NIMA pour mesurer la pression de surface (Fig. 2.14a). Le tout est relié à un système électronique de mesure R&K, situé à l'extérieur de la cabane expérimentale, et permettant de contrôler les différents paramètres (vitesse de compression, Pression de surface, aire moyenne par molécule). Il peut être piloté manuellement ou via un ordinateur.

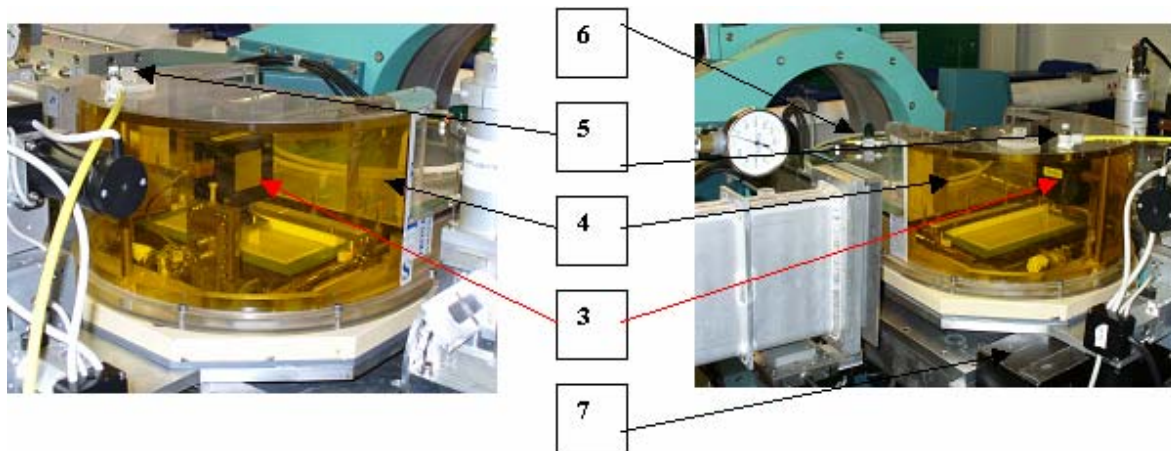
Lors des expériences, cette cuve est recouverte d'un couvercle en Plexiglas afin d'isoler l'atmosphère située au-dessus de la surface, et de permettre l'injection d'un flux continu d'hélium, créant ainsi une atmosphère très pure constituée uniquement d'hélium. Le but de ce remplacement de l'air par une atmosphère d'hélium est de minimiser la diffusion parasite par l'azote et l'oxygène, au-dessus de l'échantillon. Ce couvercle est également muni d'une fenêtre en Kapton dans la zone où passent les faisceaux incident et diffusé. (Fig. 2.14b)

Tout comme les cuves NIMA utilisées précédemment pour la caractérisation thermodynamique des monocouches, cette cuve peut être thermostatée afin de placer la sous phase à une température donnée lorsque cela est nécessaire.

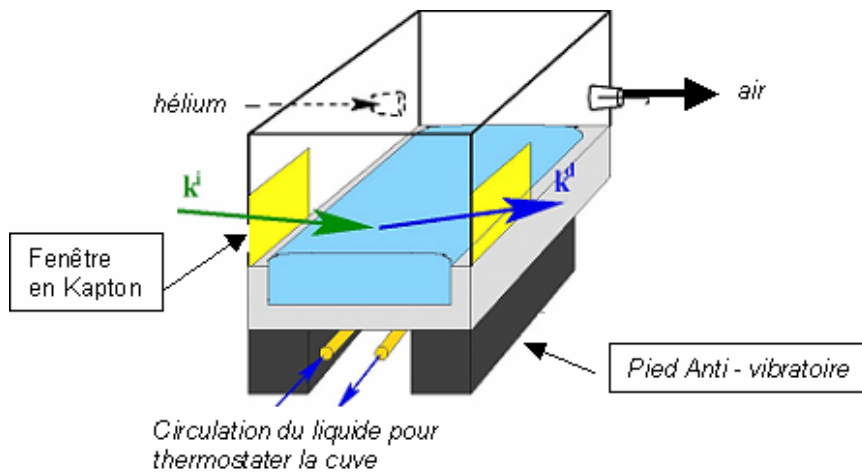
Enfin, la cuve est fixée sur un système de pieds anti-vibratoires permettant d'éliminer les vibrations mécaniques de basses fréquences, et les ondes capillaires correspondantes. Leur présence est indispensable pour une mesure fiable des propriétés de la surface.



(a)



(b)



(c)

Fig. 2.14 : Cuve de Langmuir utilisée pour les expériences sous rayons X et à l'interface Air/Liquide.

(a) : Sans couvercle. On peut voir en (1) la balance de Wilhelmy pour mesurer la pression de surface, (2) la barrière mobile et (3) la cuve en elle-même.

(b) : Avec le couvercle servant à remplacer l'air par une atmosphère d'hélium. On peut voir en (3) la balance de Wilhelmy, (4) la fenêtre en Kapton par laquelle les faisceaux incident et diffusé vont passer, (5) le système d'entrée de l'hélium, (6) le système de sortie de l'air et (7) un pied anti-vibratoire.

(c) : Représentation schématique du système complet. La barrière servant à compresser le film n'est pas représentée

2.3.4/ Réglage de la hauteur de la cuve

Lors des expériences, il est important de bien régler et de vérifier, à chaque mouvement de la cuve, la hauteur de celle-ci. Ceci pour être sûr que l'aire de la surface, que le détecteur intercepte, appartient en totalité à la zone diffusante (donc que le détecteur reçoit le maximum d'intensité possible), c'est-à-dire que cette zone doit être entièrement incluse dans la zone éclairée par le faisceau incident (Fig. 2.15a).

Or, les différentes parties de la ligne (pour les réglages de l'angle d'incidence, le goniomètre et le détecteur) sont réglées telles que le centre du faisceau incident arrive (en absence de cuve) au niveau du centre de rotation du goniomètre et que le centre du faisceau diffusé théorique reparte du même point vers le détecteur (qui regarde ce point quel que soit les angles ψ_{sc} et β).

Etant donné que l'on travaille en incidence rasante, les dimensions de l'aire éclairée par le faisceau incident vont dépendre des caractéristiques (hauteur h_i et largeur w_i) de la fente S0 et de l'angle d'incidence α_i . Les dimensions de la zone « vue » par le détecteur sont dépendantes des caractéristiques (hauteur h_c et largeur w_c) de la fente S1 et des angles β et ψ_{sc} (Fig. 2.11). Ces paramètres n'influencent pas les positions respectives de la zone éclairée par le faisceau incident (correspondant à l'intersection entre le faisceau incident et la surface) et de la zone « vue » par le détecteur (correspondant à l'intersection de l'angle solide avec la surface) sur la surface. Ces positions ne dépendront donc que de la hauteur de la cuve.

Ainsi, avec une hauteur de cuve correctement réglée, l'aire observée par le détecteur sera totalement incluse dans la zone éclairée par le faisceau incident et le maximum d'intensité diffusée est recueilli par le détecteur (Fig. 2.15a).

Au contraire, dans le cas d'une cuve placée plus haut ou plus bas qu'elle ne devrait, la surface éclairée par le faisceau incident est décalée selon l'axe des X, pendant que la zone « vue » par le détecteur est décalée selon l'axe des Y. Ainsi, seule une partie (ou dans le pire des cas, aucune partie) de la zone « vue » par le détecteur correspond à la zone diffusante et le détecteur ne reçoit pas le maximum d'intensité possible (Fig. 2.15b et 2.15c).

L'autre conséquence possible d'un mauvais réglage de hauteur de la cuve va être, du fait du décalage de la zone éclairée selon les X, une modification « artificielle » de l'angle d'incidence α_i . En effet, lorsque l'on remplit la cuve de Langmuir avec de l'eau ou une solution aqueuse, du fait que celle-ci est faite dans un matériau hydrophobe, il y a formation d'un ménisque sur les bords de la cuve (Fig. 2.16).

Or si la cuve est trop haute, il est possible que la surface éclairée par le faisceau incident se décale jusqu'à ce ménisque. L'angle d'incidence étant défini comme l'angle entre la surface et le faisceau, si le faisceau frappe la surface au niveau du ménisque, l'angle d'incidence sera augmenté. Ce qui aura pour conséquence d'augmenter la profondeur de pénétration. Il y aura donc apparition d'une diffusion importante de la part de la sous phase qui viendra parasiter le faisceau diffusé par le reste de la surface frappée par une partie du faisceau incident. (Fig. 2.16b)

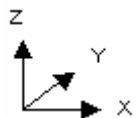
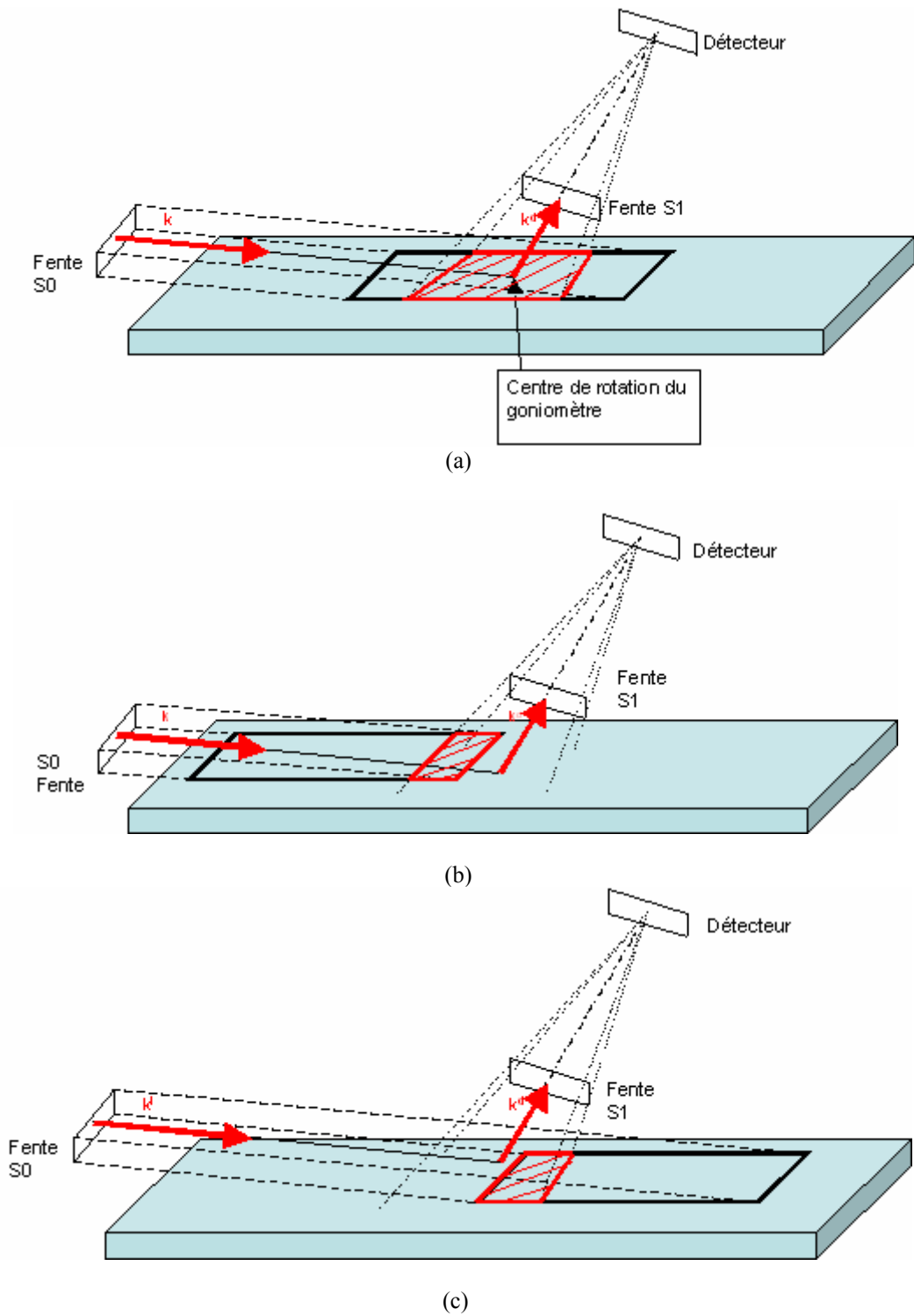


Fig. 2.15 : Conséquence de la hauteur de la cuve.

(a) *La cuve est à la bonne hauteur* : L'aire vue par le détecteur (rouge hachurée) appartient totalement à la zone diffusante (cadre noir) et celui-ci reçoit le maximum d'intensité possible.

(b) *La cuve est trop haute* et (c) *La cuve est trop basse*: L'aire vue par le détecteur appartient partiellement, voir pas du tout, à la zone diffusante et le détecteur ne reçoit pas le maximum d'intensité possible.

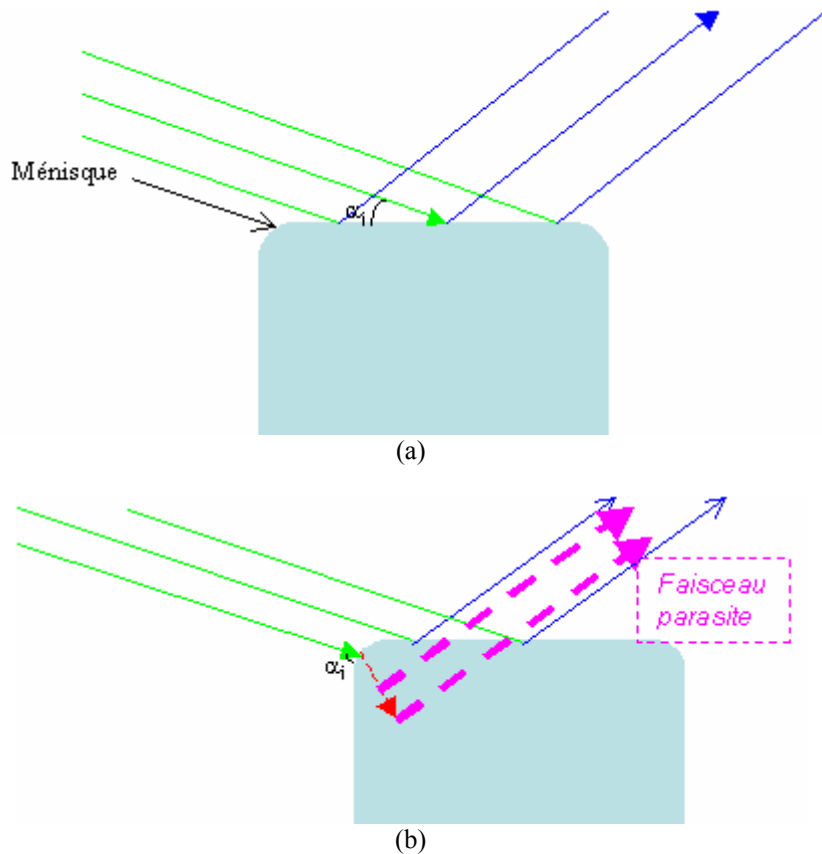


Fig. 2.16 : Effet de la hauteur de la cuve sur l'angle d'incidence et le faisceau diffusé

- (a) La cuve est à la bonne hauteur et l'angle d'incidence est inférieur à l'angle critique. Le faisceau diffusé est dominé par la diffusion de surface.
- (b) La cuve est trop haute et le faisceau va frapper le ménisque formé par la sous phase. L'angle d'incidence, à ce niveau, est supérieur à l'angle critique. Le faisceau incident pénètre plus profondément dans la sous phase et le faisceau diffusé va être dominé par la diffusion de volume.

Dans la pratique, la hauteur de la cuve est ajustée par une mesure en fonction de la hauteur de la cuve (z_gH) du faisceau réfléchi spéculaire (à $\psi_{sc} = 0$) (Fig. 2.17). Le centre du maximum d'intensité obtenue correspondant à la hauteur la plus juste de la cuve.

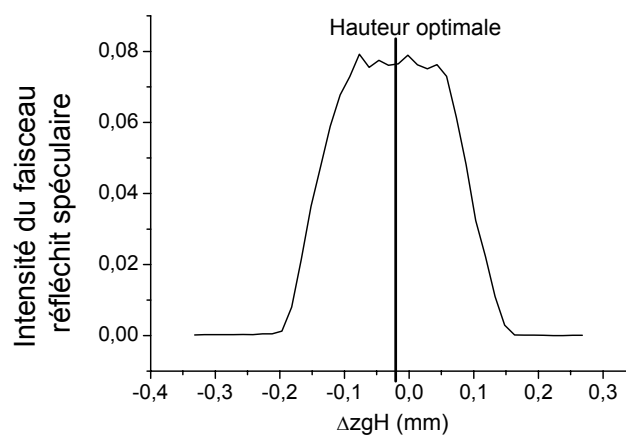


Fig. 2.17 : Ajustement de la hauteur de la cuve. L'intensité du faisceau réfléchi spéculaire est mesurée en fonction de la hauteur z_gH de la cuve. La hauteur correspondante au centre du maximum d'intensité mesurée est réglée comme hauteur optimale.

2.3.5/ Les fentes (Fig. 2.18)

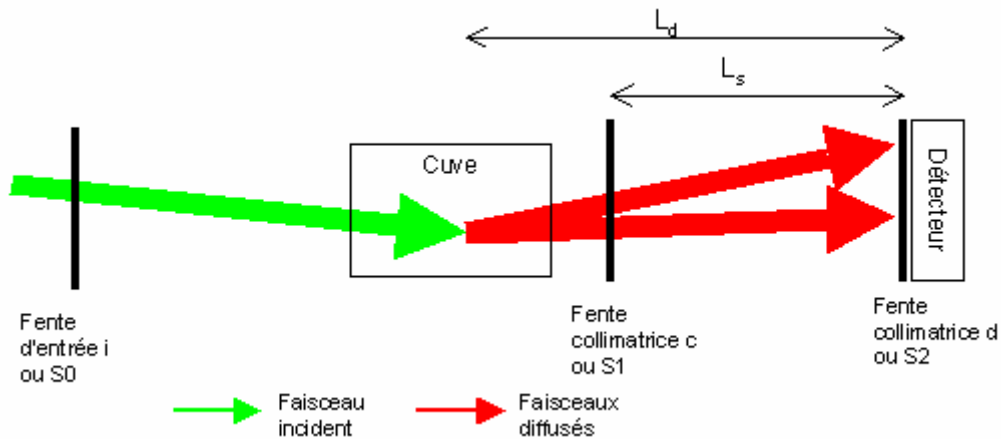


Fig. 2.18 : Rappel de l'ordre des fentes (vue dans le plan vertical)

Les fentes permettent de travailler avec un faisceau « propre » et de géométrie précise. Elles déterminent la résolution angulaire de l'expérience et permettent de normaliser les intensités mesurées. Le choix de leurs dimensions est donc crucial. Comme indiqué sur les Figs. 2.11a et 2.18, elles sont au nombre de trois : la fente d'entrée i (S0) et deux fentes collimatrices c et d (S1 et S2).

La fente S0, de dimension $h_i \times w_i$, permet de régler la taille du faisceau incident et ainsi l'aire éclairée de la surface (zone hachurée Fig. 2.11a).

La fente S1, de dimension $h_c \times w_c$ et placée juste après l'échantillon, sert à régler la taille du faisceau diffusé et sa divergence. Elle sert également à régler la taille de la surface éclairée de l'échantillon qui sera réellement vue par un point du détecteur (zone verte Fig. 2.11a).

La fente S2, placée devant le détecteur et de dimension $h_d \times w_d$, sert à régler la taille du détecteur (en fait, elle définit la surface du détecteur qui sera utilisée pour l'expérience).

Mesurer I/I_0 (intensité normalisée, voir chapitre 2.3.6) implique de connaître l'intensité I_0 du faisceau incident arrivant sur la surface diffusante. Cette mesure ne peut être faite que si les fentes collimatrices S1 et S2 sont plus larges (ou égales) que la fente d'entrée S0, c'est-à-dire si $w_c > w_i$ et $w_d > w_i$. Les dimensions des fentes collimatrices sont connues par avance, et ont été fixées lors de leur construction. Les dimensions de la fente d'entrée peuvent être modifiées et réglées à la dimension désirée par un contrôle via un ordinateur situé dans la cabane de contrôle.

2.3.6/ Normalisation de l'intensité

L'intensité mesurée I_{exp} étant proportionnelle à l'intensité incidente I_0 . Afin de pouvoir comparer nos résultats, une mesure de I_{exp}/I_0 présente donc plus d'intérêt qu'une mesure directe de I_{exp} . Le détecteur mesurant I_{exp} , il est intéressant d'avoir accès à I_0 .

Pour cela, lorsque tous les autres réglages ont été effectués, la cuve est abaissée et l'angle ψ_{sc} réglé sur 0, pour que le détecteur mesure l'intensité du faisceau direct.

I_0 est donc mesurée à un instant précis. Une expérience pouvant durer plusieurs heures, il faut tenir compte d'inévitable variation de I_0 (comme expliqué au chapitre 2.2.2). Ce qui est permis par la mesure effectuée par le moniteur. En effet, le rapport I_0/I_{mon} (où I_{mon} est l'intensité mesurée par le moniteur) ne varie pas lorsque l'intensité diminue dans l'anneau (il

est donc indépendant du temps). De plus, I_{mon} est mesurée tout au long de l'expérience car les variations de I_0 au cours du temps vont avoir pour conséquence des variations sur la mesure I_{exp} . Il faut donc également penser à normaliser l'intensité I_{exp} mesurée à l'instant t par l'intensité I_{mon} mesurée au même instant.

Finalement, pour pouvoir présenter les résultats avec une intensité normalisée, il faudra donc utiliser :

$$\frac{I(t)}{I_0(t)} = \frac{I(t)/I_{mon}(t)}{I_0(t)/I_{mon}(t)} \quad (2.5)$$

Or $I_0(t)/I_{mon}(t) = I_0(t_0)/I_{mon}(t_0) = \text{constante}$

$$\frac{I(t)}{I_0(t)} = \frac{I(t)/I_{mon}(t)}{I_0(t_0)/I_{mon}(t_0)} \quad (2.6)$$

2.3.7/ Le détecteur

Lors de nos expériences, nous avons principalement utilisé des détecteurs linéaires à gaz (ou Détecteur Linéaire à Localisation) placés verticalement, qui permettent de déterminer la position verticale de l'impact des rayons X avec une précision de l'ordre de la fraction de millimètre. Ils sont appelés PSD, pour "Position Sensitive Detectors" (Fig. 2.19). Pour ces détecteurs, le système décompose la hauteur l_r du détecteur en un ensemble de canaux de hauteur constante (Dans notre cas, le PSD a une hauteur de 150mm et est décomposé en ~ 900 canaux). Dans ce cas, la hauteur utile du détecteur ne sera pas déterminée par la hauteur (h_d) de la fente S2 comme définie précédemment, mais par la hauteur d'un canal (h_d') multipliée par le nombre de canaux pris en compte pour l'expérience.

Dans le cas des expériences de diffraction ou de diffusion, les PSD permettent d'obtenir la composante hors du plan (composante en Q_z) des « tiges » de Bragg à deux dimensions ("Bragg rods" en anglais, d'où le nom de "rodscans" donné aux courbes de l'intensité diffusée en fonction de la hauteur du détecteur) sans avoir à déplacer le bras du détecteur, ce qui représente un gain important de temps, surtout lorsque l'échantillon a une durée de vie limitée.

Ces détecteurs fonctionnent selon le principe suivant : Un mélange de gaz rare et de dioxyde de carbone (par exemple, un mélange argon/ CO_2 , ou un mélange xénon/ CO_2) est situé juste derrière la fenêtre d'entrée. Un photon incident ionise un atome de gaz rare, libérant un électron. Ce dernier est accéléré par l'anode, formée de fils verticaux dont le potentiel est de l'ordre du kilovolt. Lorsque l'électron a atteint une vitesse suffisante, il provoque une cascade d'ionisation du gaz, détectée sur l'anode. Cette dernière est couplée à une ligne à retard le long de laquelle se propagent deux signaux électriques en provenance de l'impact, l'un se propageant vers le haut, l'autre vers le bas. La position verticale du photon incident est déduite de l'écart de temps qui sépare l'arrivée des deux signaux électriques aux extrémités de la ligne à retard.

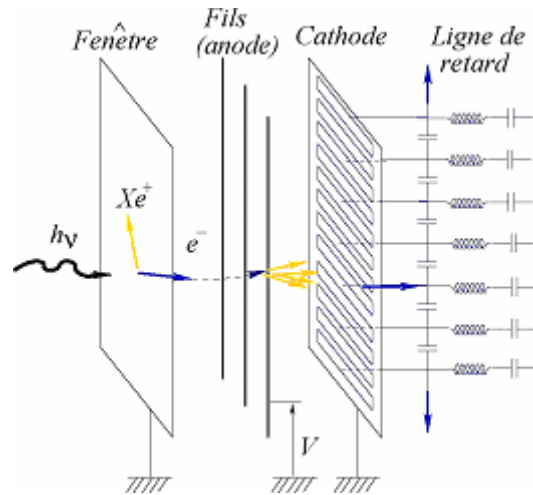
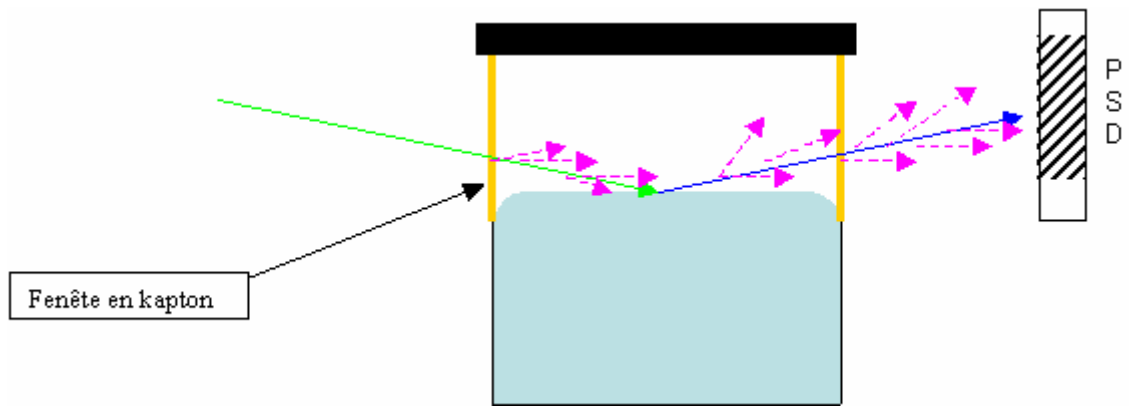


Fig. 2.19 : Principe de fonctionnement d'un détecteur linéaire à gaz (PSD).

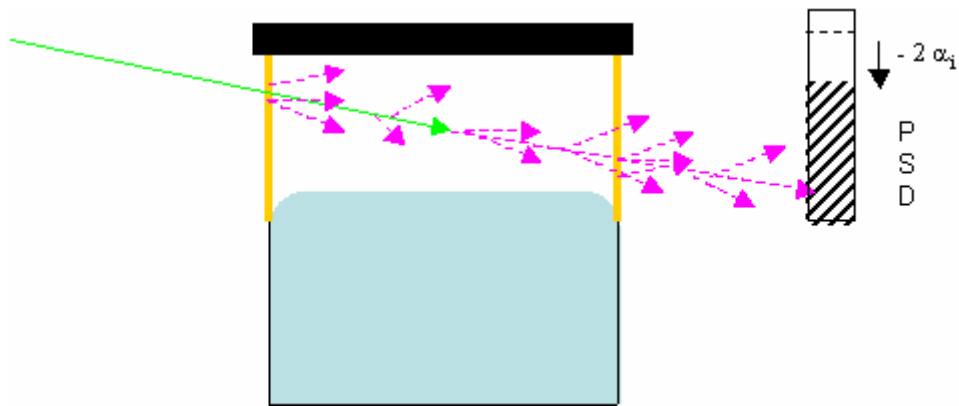
2.3.8/ Mesure du bruit de fond (Fig. 2.20)

Il est essentiel d'évaluer correctement la contribution de toutes les sources de diffusion pouvant parasiter le faisceau diffusé que l'on cherche à mesurer. C'est-à-dire la contribution de la diffusion du faisceau dans l'air, par les fenêtres en Kapton, et par l'atmosphère d'hélium au-dessus de la surface. Une méthode simple et très efficace permet de mesurer ce bruit de fond : une fois le signal mesuré pour une position donnée du détecteur, la cuve est abaissée de quelques millimètres afin que le faisceau passe au travers de tout le montage expérimental sans entrer en contact avec la surface. Le PSD que nous utilisons étant suffisamment long, il n'a pas besoin d'être déplacé vers le bas d'un angle $-2\alpha_i$ pour mesurer les faisceaux provenant du bruit de fond. Il suffit simplement de décaler, vers le bas, la zone des canaux pris en compte pour la mesure, d'un nombre de canaux correspondant à $-2\alpha_i$.

Le signal ainsi mesuré est donc celui envoyé par toutes les sources, sauf celles situées dans l'échantillon. Il suffit ensuite de simplement soustraire le signal correspondant au bruit de fond du signal mesuré lors de l'expérience pour obtenir le signal de diffusion de la surface.



(a)



(b)

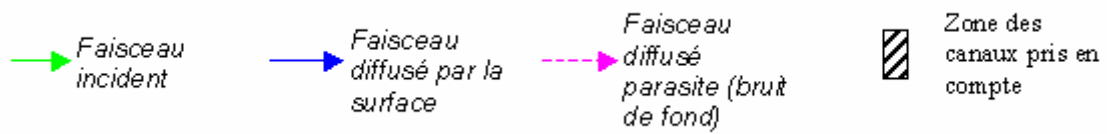


Fig. 2.20 : Mesure du bruit de fond. En (a) le faisceau diffusé mesuré est constitué du faisceau diffusé par la surface et des faisceaux parasites du bruit de fond. En (b), seul les faisceaux provenant du bruit de fond sont mesurés.

Chapitre 3:

Diffraction en incidence rasante

Dans le but de compléter la caractérisation structurale des monocouches de phospholipides, une étude de Diffraction en incidence rasante (Grazing Incidence Diffraction : GID) a été effectuée.

L'objectif de cette partie est d'obtenir des informations complémentaires sur la structure de nos films. En effet, à partir des données obtenues par cette méthode, il va nous être possible de remonter aux paramètres fondamentaux de ceux-ci : l'organisation des molécules dans ce qui est appelée la maille élémentaire, la distance entre ces dernières, leur tilt éventuel par rapport à la normale à la surface, l'aire par molécule, etc.

3.1/ Diffraction en incidence rasante sur des films de Langmuir (GID) ^[14, 22, 23]

Un spectre de diffraction est déterminé par l'arrangement atomique exact du matériau. Il peut s'apparenter à l'empreinte digitale de ce matériau, pour une organisation cristalline donnée des molécules. C'est-à-dire que deux matériaux, ayant une organisation proche mais non identique, ne donneront jamais une même figure de diffraction

Toutes les mesures de diffraction effectuées, jusqu'à présent, sur les films de Langmuir ont montré que ceux-ci consistaient en un ensemble de cristaux 2D orientés aléatoirement et de taille suffisamment petite pour pouvoir avoir toutes les orientations possibles dans l'aire éclairée par le faisceau incident. Ces films équivalent ainsi à une poudre « idéale » en deux dimensions. En conséquence, la collecte d'intensités diffractées selon l'angle ψ_{sc} suffit pour obtenir le spectre de diffraction complet, il n'y a pas besoin de faire tourner l'échantillon. L'analyse du diagramme ainsi obtenu est similaire à celle faite sur un diagramme correspondant à une poudre.

La diffraction par un réseau cristallin n'a lieu que lorsque la condition de Bragg est satisfaite. Dans le cas d'un cristal 2D, la loi de Bragg n'est dépendante que des composantes horizontales du vecteur de diffusion, c'est-à-dire de $Q_{//}$. Par conséquent, dans le cas d'un tel cristal, il y aura diffraction par un ensemble de lignes atomiques (et non par un ensemble de plans atomiques comme pour les cristaux 3D), séparées d'une distance d_{hk} (Fig.3.2), uniquement pour les cas où :

$$|Q_{//}^{hk}| = \frac{4\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\psi_{hk}}{2}\right) = \frac{2\pi}{d_{hk}} \quad (3.1)$$

où h et k sont les indices de Miller correspondant aux coordonnées du vecteur de diffusion, dans le plan, de l'espace réciproque, défini par la maille élémentaire (Fig. 3.1). Ceux-ci sont donc dépendants de la maille choisie. Dans notre cas, après observation des résultats expérimentaux, une maille élémentaire rectangulaire centrée a été choisie.

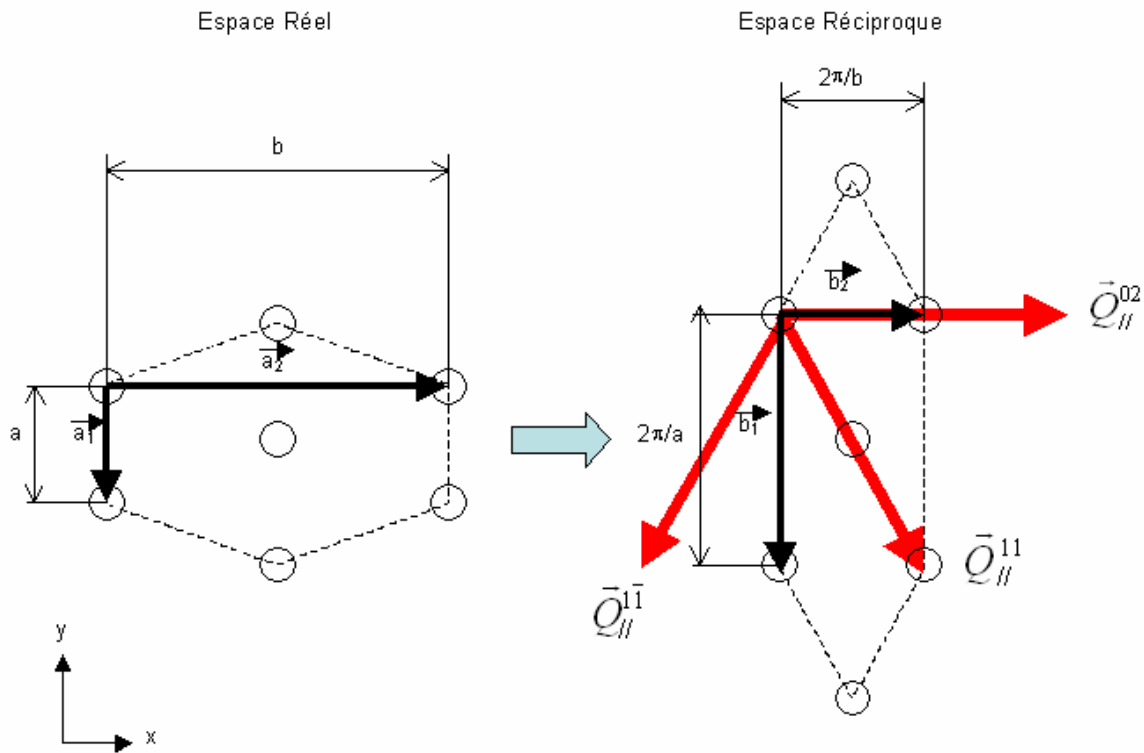


Fig. 3.1 : Maille élémentaire rectangulaire centrée dans l'espace réel et la maille correspondante dans l'espace réciproque. Elles définissent respectivement les plans (\vec{a}_1, \vec{a}_2) et (\vec{b}_1, \vec{b}_2) .
 Dans l'espace réciproque, les vecteurs $\vec{Q}_{//}^{hk}$ sont définis par $\vec{Q}_{//}^{hk} = h\vec{b}_1 + k\vec{b}_2$

Dans le cas des films constitués de molécules type « bâtonnet », comme les phospholipides, et pour une maille élémentaire rectangulaire centrée, les pics de diffractions généralement observés sont ceux correspondant aux vecteurs de diffusion $\vec{Q}_{//}^{hk}$ pour lesquels $hk = 11, 1\bar{1}$ et 02 . Cependant, expérimentalement, seulement deux pics (correspondant à $|\vec{Q}_{//}^{11}|$ et $|\vec{Q}_{//}^{02}|$) seront observés, car les pics 11 et $1\bar{1}$ apparaissent comme dégénérés, ce qui signifie que :

$$|\vec{Q}_{//}^{11}| = |\vec{Q}_{//}^{1\bar{1}}| = \sqrt{\frac{4\pi^2}{b^2} + \frac{4\pi^2}{a^2}} \tag{3.2}$$

L'absence de contrainte selon la composante verticale des vecteurs de diffusion Q_z^{hk} se traduit, dans le réseau réciproque, par des tiges de diffraction (ou Bragg Rods (BR)) (Fig.3.2), le long desquelles l'intensité du faisceau diffracté est répartie. L'intensité totale de ce dernier correspondant à l'intégration de l'intensité en Q_z .

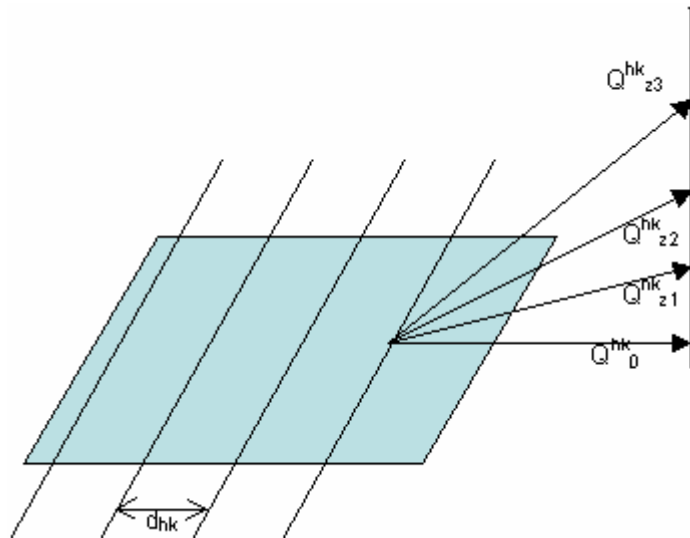


Fig. 3.2 : Diffraction par des lignes atomiques. L'absence de contrainte selon la composante verticale se traduit par des tiges de diffraction ou Bragg Rods.

Pour les molécules de type « bâtonnet », parmi tous les vecteurs Q définissant la tige de diffraction, celui présentant le maximum d'intensité correspond à la normale à l'axe de la molécule. Ainsi, si la molécule est parfaitement droite et ne présente donc aucun tilt, un maximum d'intensité est observé pour le vecteur de diffusion Q pour lequel $|Q_z|=0$ (Fig. 3.3a). Par contre, si la molécule présente un angle de tilt t , le maximum d'intensité sera décalé vers les $|Q_z|$ supérieures (Fig. 3.3b).

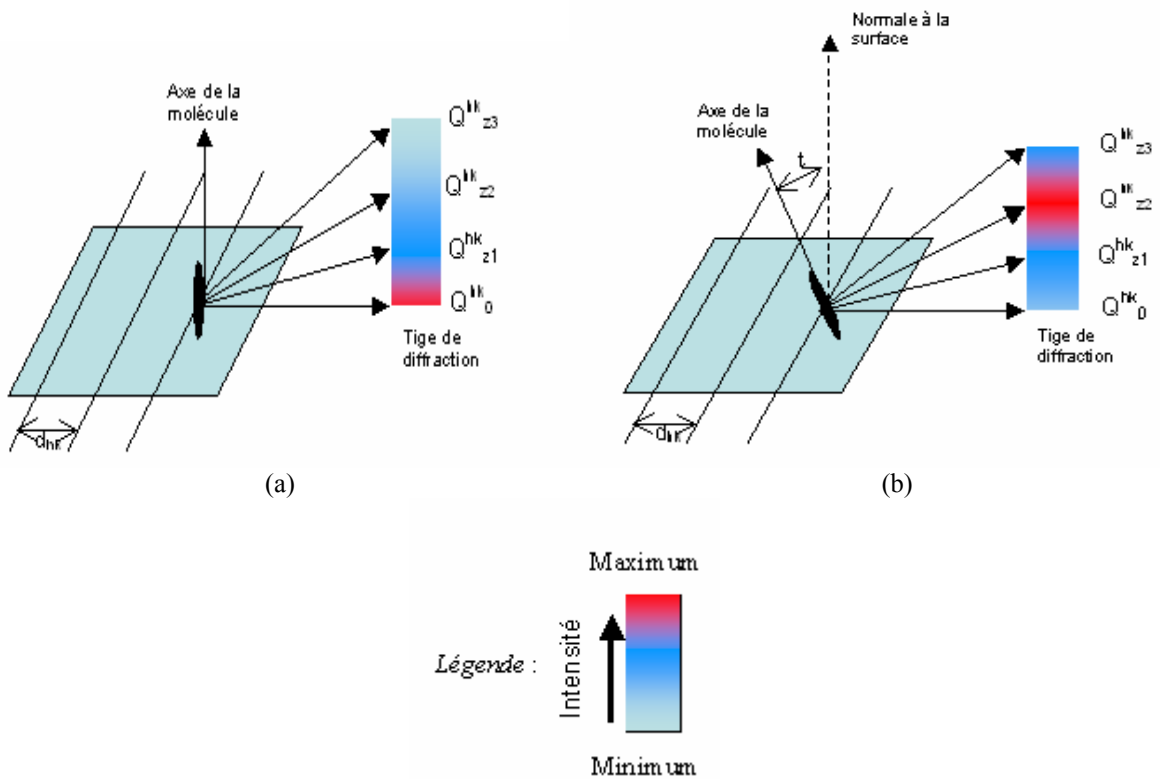


Fig. 3.2 : Répartition de l'intensité le long de la tige de Bragg

- (a) Cas d'une molécule non tiltée : le maximum d'intensité correspond à la composante $Q_z=0$
- (b) Cas d'une molécule présentant un tilt d'angle t : le maximum d'intensité est décalé et correspond au vecteur Q orthogonal à l'axe de la molécule.

Afin de recueillir toutes les données, nécessaire à la caractérisation structurale des monocouches, en une seule mesure, il est intéressant d'utiliser un PSD pour détecteur. Celui-ci permettant effectivement, pour un vecteur de diffusion $Q_{//}^{hk}$ donné, de recueillir, séparément, l'intensité diffractée (donc chaque vecteur Q^{hk}) pour chaque composante Q_z . Il sera ensuite possible de, soit :

- Intégrer l'intensité en Q_z et ainsi, à partir de la courbe donnant l'intensité en fonction de $Q_{//}$, déterminer les $Q_{//}^{hk}$ correspondant aux pics de diffraction (Fig. 3.3). Puis de remonter aux paramètres a et b de la maille élémentaire (voir chapitre 3.2a).
- Tracer, pour les $Q_{//}^{hk}$ correspondant aux pics de diffraction, l'intensité en fonction de Q_z (Fig.3.4), courbe aussi appelée Rodscan. Puis, à partir des Q_z correspondant au maximum d'intensité, de remonter à l'angle de tilt de la molécule (voir chapitre 3.2b).

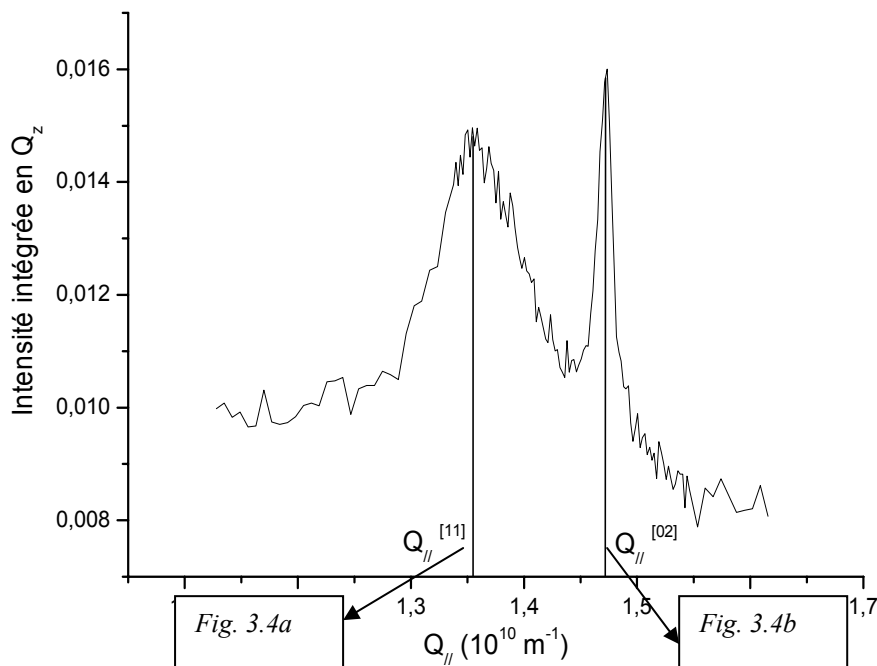


Fig. 3.3 : Exemple de figure de diffraction pouvant être obtenue lors d'une expérience de GID. Ici, cas d'une monocouche de DPPC sur une sous phase d'eau et à une pression de surface de $\pi=20\text{mN/m}$. L'abscisse des pics permettra de remonter aux paramètres de la maille élémentaire.

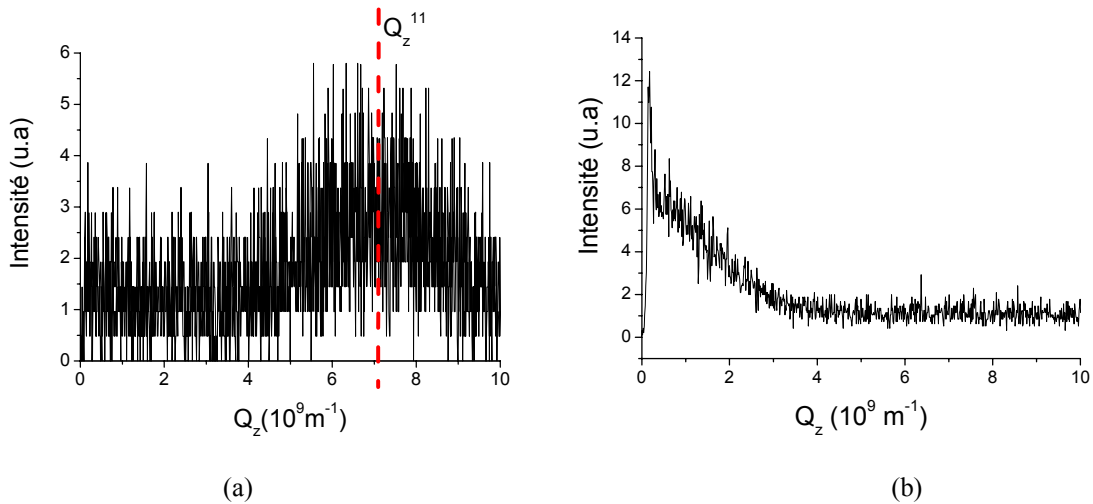


Fig. 3.4 : Exemples de Rodscans correspondant aux pics $Q_{//}^{[11]}$ en (a) et $Q_{//}^{[02]}$ en (b) pour une monocouche de DPPC à une pression de surface de $\pi=20\text{mN/m}$. L'abscisse des pics permettra de calculer le tilt de la molécule

3.2/ Calcul des Paramètres

La méthode de calcul des différents paramètres va dépendre de la maille élémentaire choisie. Dans notre cas, nous avons opté pour une maille rectangulaire centrée (Fig. 3.1). Pour cette maille, il est possible de définir les vecteurs de diffusion \vec{Q}^{hk} par leurs coordonnées dans le repère de l'espace réel (x, y, z) défini Fig. 3.5.

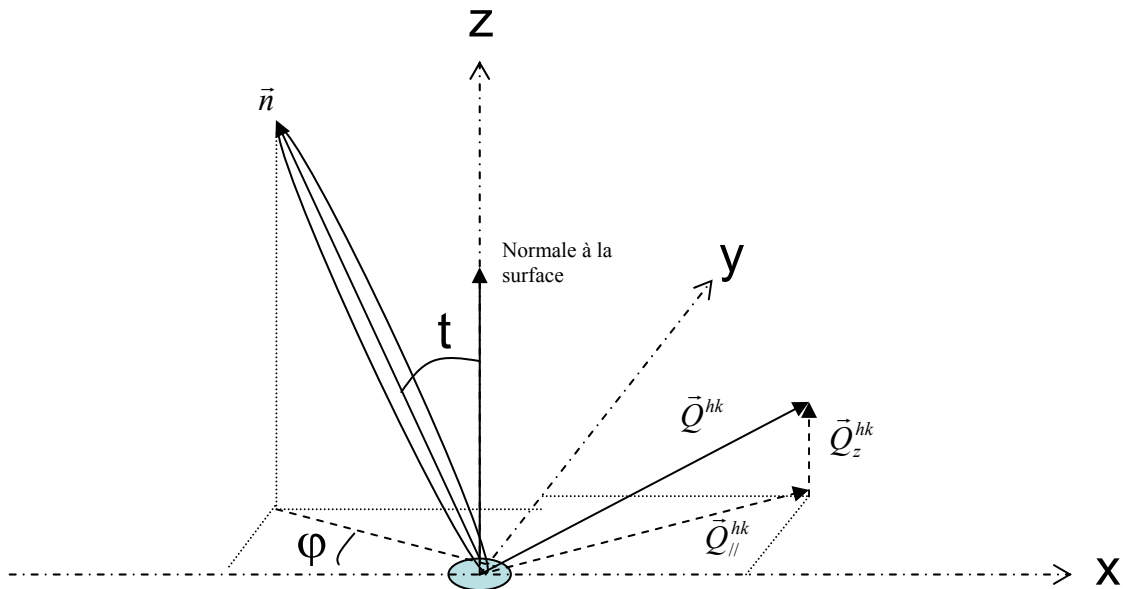


Fig. 3.5 : Coordonnées du vecteur \vec{Q}^{hk} . \vec{n} représente le vecteur directeur correspondant à l'axe des molécules de type « bâtonnet ». t est l'angle de tilt de la molécule par rapport à la normale de la surface et φ (angle d'azimut) est l'angle définissant la direction de la molécule.

On a ainsi, d'après les Figs. 3.5 et 3.1:

$$\bar{Q}^{02} \begin{pmatrix} |\bar{Q}_x^{02}| \\ |\bar{Q}_y^{02}| \\ |\bar{Q}_z^{02}| \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{4\pi}{b} \\ 0 \\ |\bar{Q}_z^{02}| \end{pmatrix} \text{ et } \bar{Q}^{11} \begin{pmatrix} |\bar{Q}_x^{11}| \\ |\bar{Q}_y^{11}| \\ |\bar{Q}_z^{11}| \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{2\pi}{b} \\ -\frac{2\pi}{a} \\ |\bar{Q}_z^{11}| \end{pmatrix} \quad (3.3)$$

3.2.1/ Calcul des paramètres a et b

Remarque: Pour ce calcul, la longueur b est choisie selon la direction des x et la longueur a selon la direction des y.

Ces deux paramètres vont être déterminés à partir de la courbe représentant l'intensité intégrée en Q_z (Fig. 3.3). Ils ne sont donc dépendant que des composantes $Q_{//}$ des vecteurs de diffusion.

Pour ces composantes, on a (Fig. 3.1) :

$$\bar{Q}_{//}^{02} \begin{pmatrix} \frac{4\pi}{b} \\ 0 \end{pmatrix} \text{ et } \bar{Q}_{//}^{11} \begin{pmatrix} \frac{2\pi}{b} \\ -\frac{2\pi}{a} \end{pmatrix} \quad (3.4)$$

Ces vecteurs ont pour norme $|\bar{Q}_{//}^{hk}| = \sqrt{x^2 + y^2}$:

$$|\bar{Q}_{//}^{02}| = \frac{4\pi}{b} \quad (3.5)$$

et

$$|\bar{Q}_{//}^{11}| = \sqrt{\frac{4\pi^2}{b^2} + \frac{4\pi^2}{a^2}} \quad (3.6)$$

Il est ensuite possible, à partir des équations 3.5 et 3.6 de remonter aux paramètres a et b caractérisant la maille élémentaire d'un cristal :

$$a = \frac{4\pi}{\sqrt{4|\bar{Q}_{//}^{[11]}|^2 - |\bar{Q}_{//}^{[02]}|^2}} \quad (3.7)$$

$$b = \frac{4\pi}{|\bar{Q}_{//}^{[02]}|} \quad (3.8)$$

3.2.2/ Inclinaison (angle de tilt t) et Orientation (angle d'azimut)

Ces deux paramètres sont calculés à partir des Rodscans effectués aux angles ψ_{sc} correspondant à $|Q_{//}^{11}|$ et $|Q_{//}^{02}|$ des pics observés précédemment sur la courbe de l'intensité intégrée en Q_z en fonction de $Q_{//}$ (Fig. 3.4).

Dans l'espace réel, les molécules sont inclinées, par rapport à la verticale, d'un angle de tilt t et orientées dans une direction définie par l'angle φ correspondant à l'angle entre l'axe des abscisses X et la projection dans le plan (x,y) de l'axe des molécules (Fig. 3.5). Le vecteur directeur \vec{n} , repérant la direction de l'axe des molécules, est :

$$\vec{n} \begin{pmatrix} -\sin t \cos \varphi \\ \sin t \sin \varphi \\ \cos t \end{pmatrix} \quad (3.9)$$

Comme indiqué plus haut, le vecteur de diffusion \vec{Q}^{hk} orthogonal à l'axe de la molécule correspond au maximum d'intensité. C'est-à-dire quand $\vec{Q}^{hk} \cdot \vec{n} = 0$. Une fois cette condition appliquée aux vecteurs \vec{Q}_{02} et \vec{Q}_{11} , on obtient :

$$-\frac{4\pi}{b} \sin t \cos \varphi + |Q_z^{02}| \cos t = 0$$

et

$$-\frac{2\pi}{b} \sin t \cos \varphi - \frac{2\pi}{a} \sin t \sin \varphi + |Q_z^{11}| \cos t = 0 \quad (3.10)$$

d'où il vient :

$$\begin{aligned} |Q_z^{02}| &= \frac{4\pi}{b} \cos \varphi \tan t \\ \text{et} \\ |Q_z^{11}| &= \frac{2\pi}{ab} (a \cos \varphi + b \sin \varphi) \tan t \end{aligned} \quad (3.11)$$

La résolution du système d'équations à deux inconnues (3.11), conduit à :

$$\begin{aligned} \tan \varphi &= \frac{a (2|Q_z^{11}| - |Q_z^{02}|)}{b |Q_z^{02}|} \\ \text{et} \\ \tan t &= \frac{a (2|Q_z^{11}| - |Q_z^{02}|)}{4\pi \sin \varphi} \end{aligned} \quad (3.12)$$

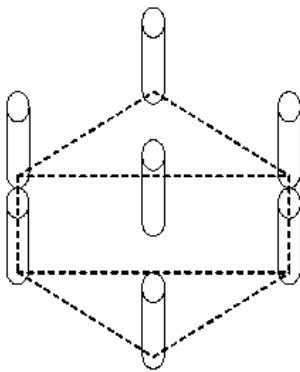
Remarque: Parmi toutes les orientations possibles (azimut) pour les molécules, deux cas particuliers, selon les axes principaux de la maille élémentaires, peuvent être observés :

- Orientation vers le premier voisin (Near neighbour – NN) où $\varphi = 90^\circ$. Dans ce cas, $\cos \varphi = 0$, $|Q_z^{02}| = 0$ et $\sin \varphi = 1$. Il vient alors

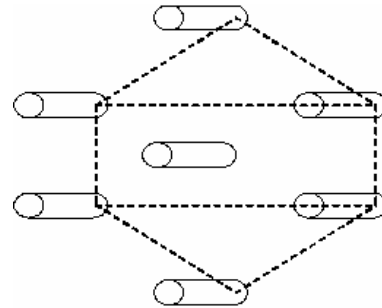
$$\tan t = \frac{a|Q_z^{11}|}{2\pi}$$

- Orientation vers le second voisin (Next Near neighbour – NNN) où $\varphi = 0^\circ$. Dans ce cas, $\cos \varphi = 1$ et il vient alors :

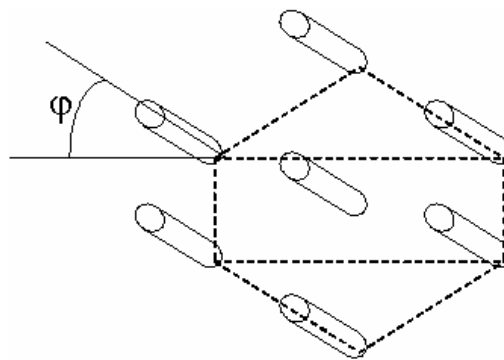
$$\tan t = \frac{b|Q_z^{02}|}{4\pi}$$



NN



NNN



Cas Général

3.3/ Matériel et Méthode

Les monocouches sont réalisées selon la méthode de Langmuir détaillée au chapitre 1.3.2 et en utilisant la cuve décrite au chapitre 2.3.3.

Etant donné que pour mesurer le signal, correspondant à nos pics de diffractions, il est nécessaire de se placer à de grands angles ψ_{sc} ($>16^\circ$), l'intensité de ce signal va être faible ($10^{-10} < I/I_0 < 10^{-8}$). Afin de compenser cette faiblesse du signal, le jeu de fentes S1/S2 placé après l'échantillon (Fig. 2.11) a été remplacé par un collimateur de Soller (Fig. 3.6). Celui-ci est constitué de feuilles parallèles proches qui auront pour effet de « créer » plusieurs fentes collimatrices les unes à côté des autres. La présence de plusieurs fentes au lieu d'une seule permettant ainsi d'utiliser une surface plus grande du détecteur et par la même occasion d'augmenter la surface de l'échantillon vue par le détecteur pour un angle ψ_{sc} (c'est-à-dire un $Q_{//}$) donné (Fig. 3.7), tout en gardant une bonne résolution angulaire (celle-ci est de $0,08^\circ$ par « fente », ce qui correspond à $5,7 \cdot 10^7 \text{m}^{-1}$ pour $\lambda = 0,155 \text{ nm}$, alors que les mesures sont réalisées pour des $Q_{//} > 1,1 \cdot 10^{10} \text{m}^{-1}$). Ce qui aura pour conséquence d'augmenter l'intensité du signal reçu et donc permettre de garder des temps de comptage raisonnables tout en gardant une bonne statistique.

Le faisceau incident est réglé en incidence rasante ($\alpha_i = 0,115^\circ$) et avec une énergie de 8 KeV ($\lambda = 0,155 \text{ nm}$)

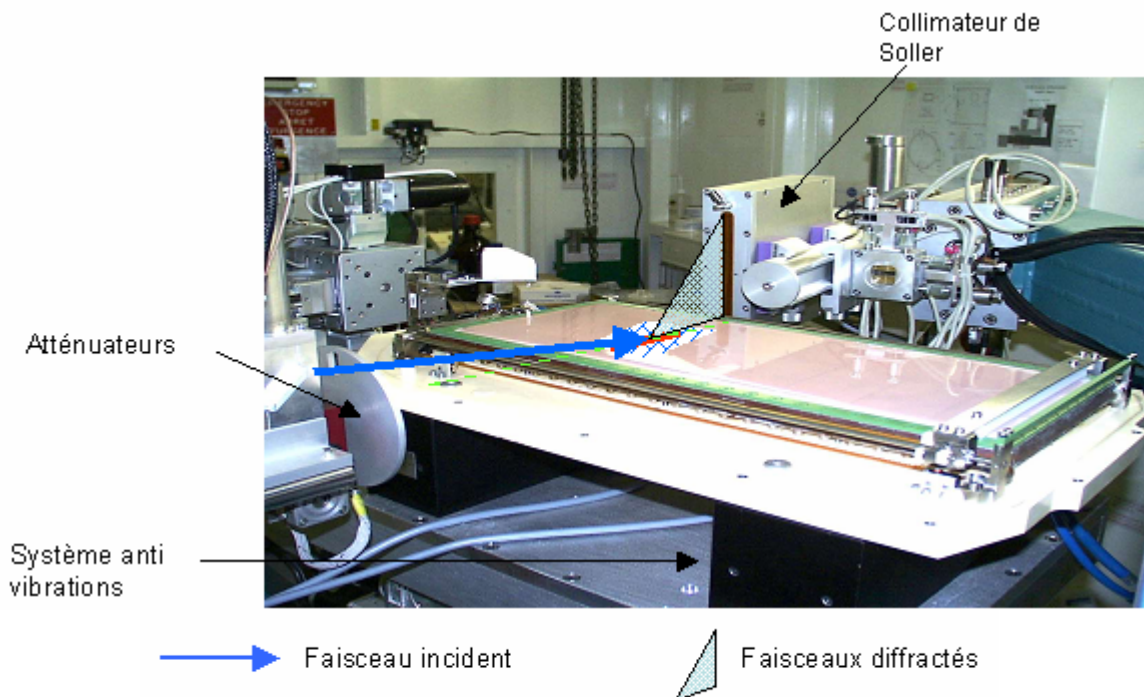


Fig. 3.6 : Photo du montage expérimentale utilisé pour les expériences de diffraction. On peut voir le collimateur de Soller placé après l'échantillon qui va recevoir les faisceaux diffractés.

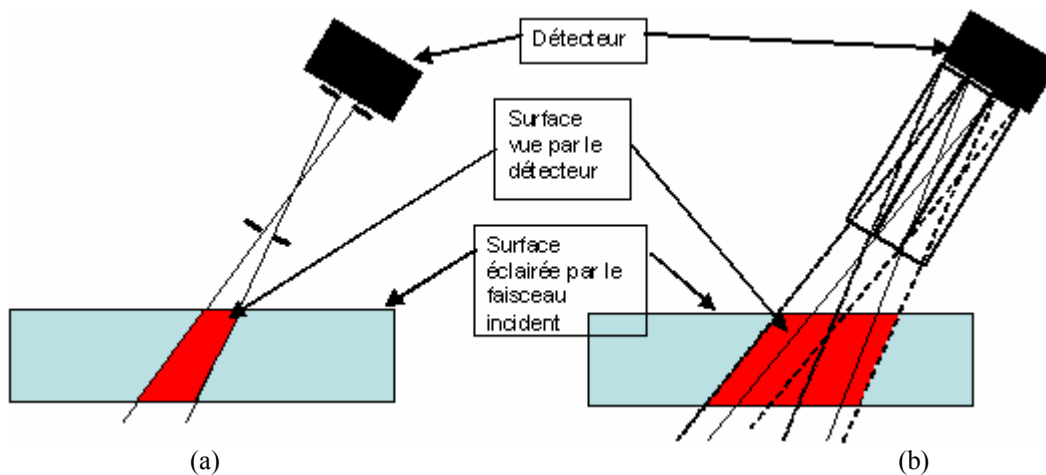


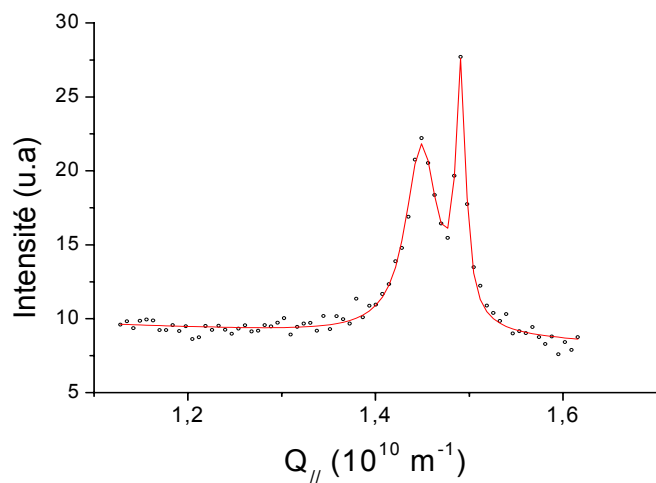
Fig. 3.7 : Comparaison entre un jeu de fente classique (a) et un collimateur de Soller (b)
L'aire vue par le détecteur est supérieure dans le cas du collimateur, ainsi que la surface utilisée sur le détecteur

3.4/ Résultats

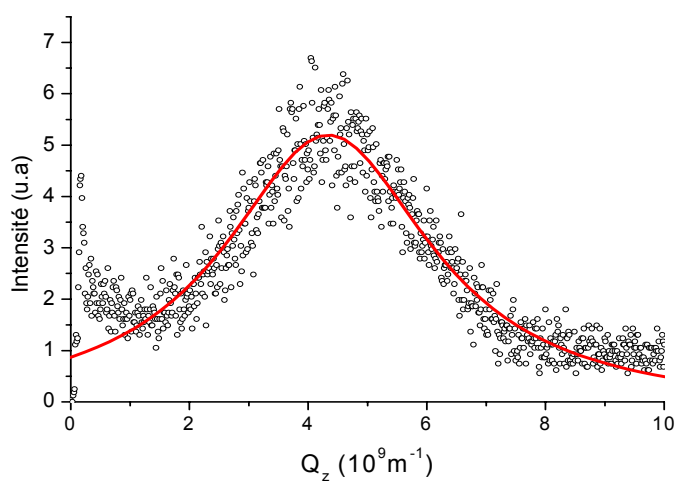
Les mesures ont été réalisées sur les films de DPPC et de DPPG pour différentes pressions de surface ($\pi=15, 20, 25, 30$ et 35 mN/m). Aucune mesure de diffraction n'a été réalisée sur des films de phospholipides en présence du peptide car une étude précédente ^[10] a montré que la présence de la PGLa dans un film de PhosphatidylGlycérol a pour effet de détruire l'organisation de celui-ci. Par conséquent, aucun signal de diffraction lié à l'organisation des molécules de DPPG ne pourra être enregistré. De plus, cette même étude, ainsi que les mesures réalisées par nos soins sur les monocouches de DPPC (Chapitre 1.4), ont montré que la PGLa n'interagissait pas avec les molécules de DPPC, qu'elle ne s'intercalait pas entre les molécules et qu'elle n'allait donc pas modifier l'organisation des films, ni les paramètres de la maille élémentaire définissant le réseau cristallin.

Pour obtenir les $Q_{//}$ et les Q_z correspondant à l'abscisse des pics, les courbes de diffraction et les Rodscans ont été ajustés en utilisant une Lorentzienne (Fig. 3.8).

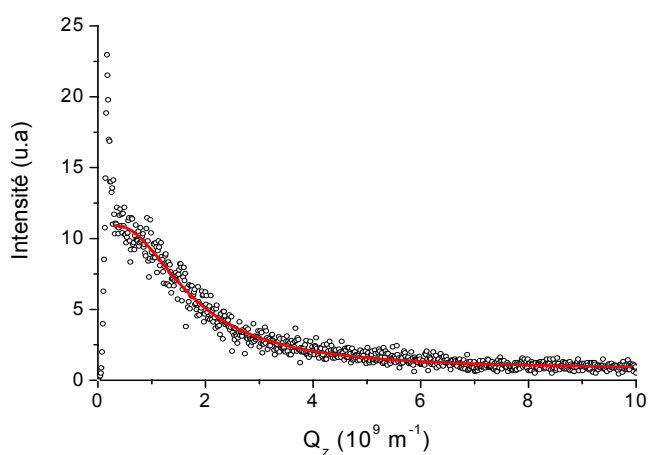
Les résultats sont représentés Figs. 3.9 (DPPC) et 3.10 (DPPG) et sont regroupés dans le tableau 3.1.



(a)

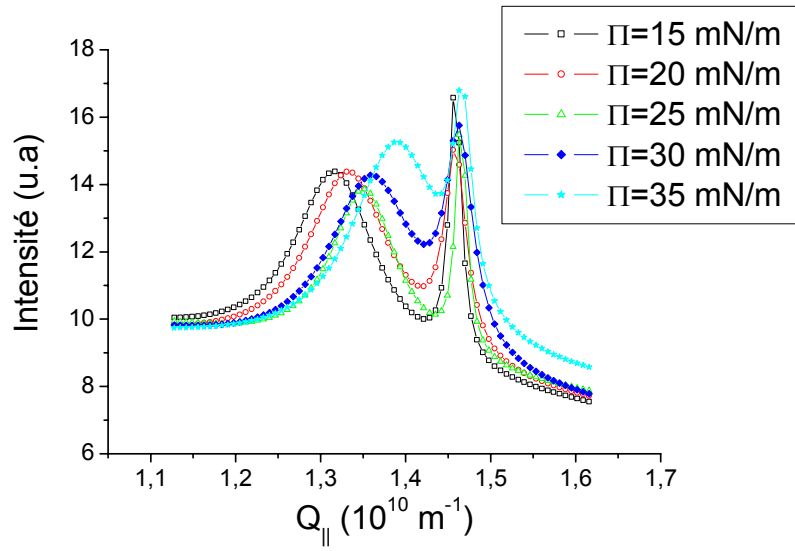


(b)

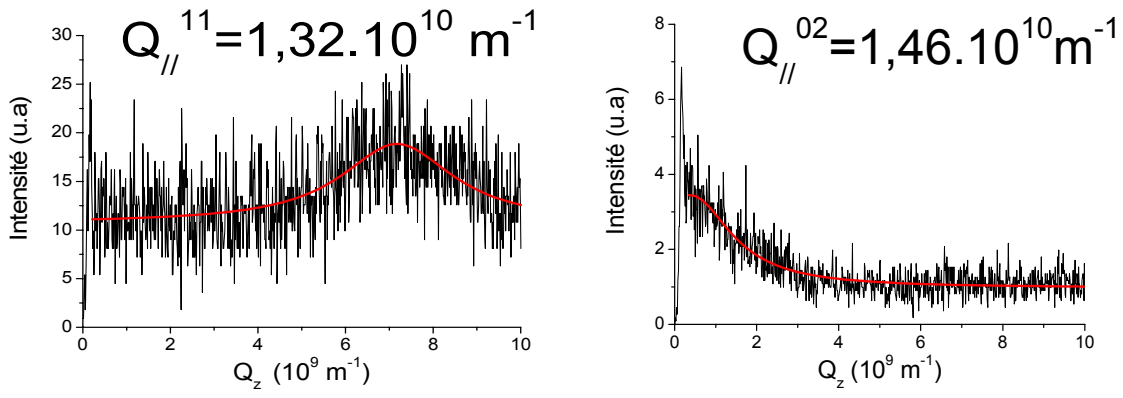


(c)

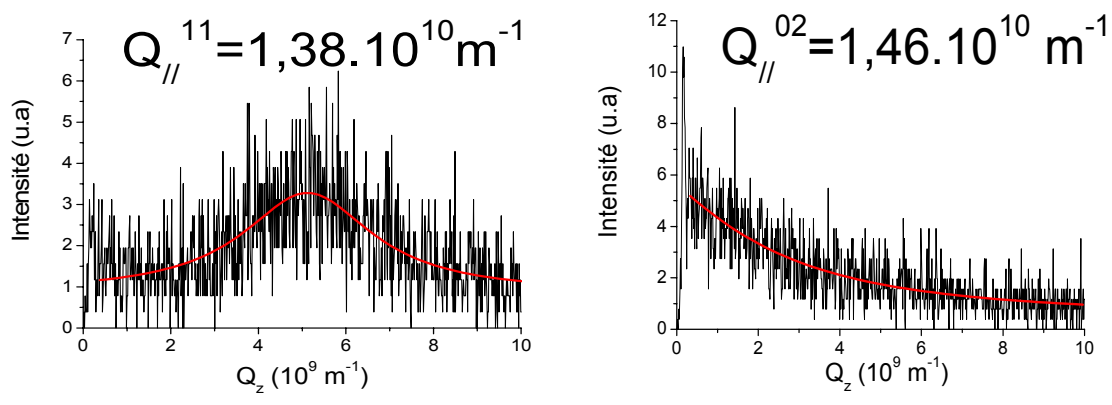
Fig. 3.8: Ajustement par une Lorentzienne d'une courbe de diffraction en (a) et des Rodscans correspondant aux abscisses $Q_{//}$ des pics. Les Rodscans correspondent à $Q_{//}^{11}$ en (b) et $Q_{//}^{02}$ en (c) pour un film de DPPG à une pression de surface $\pi=15\text{mN/m}$ sur une sous phase d'eau. Les courbes expérimentales (cercles) sont présentées avec leur meilleur ajustement (ligne)



(a)



(b)



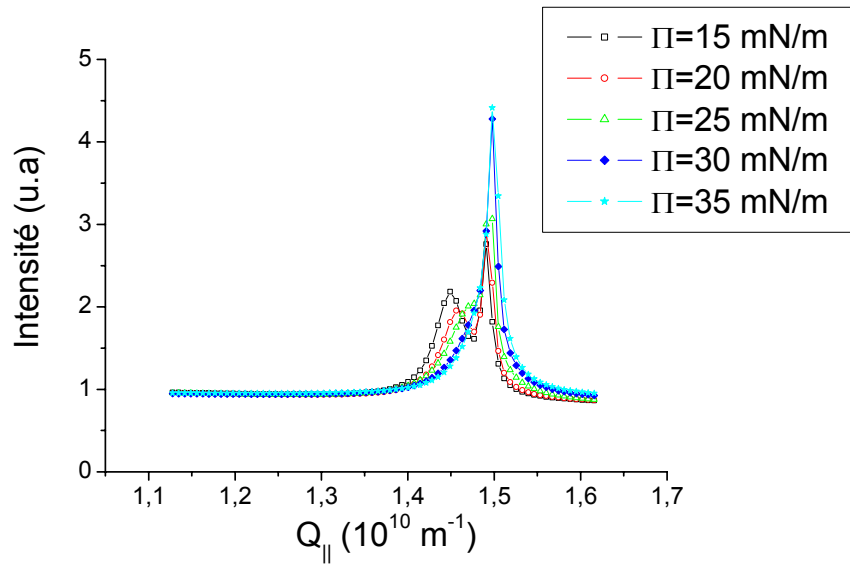
(c)

Fig. 3.9: Ajustement pour les monocouches de DPPC.

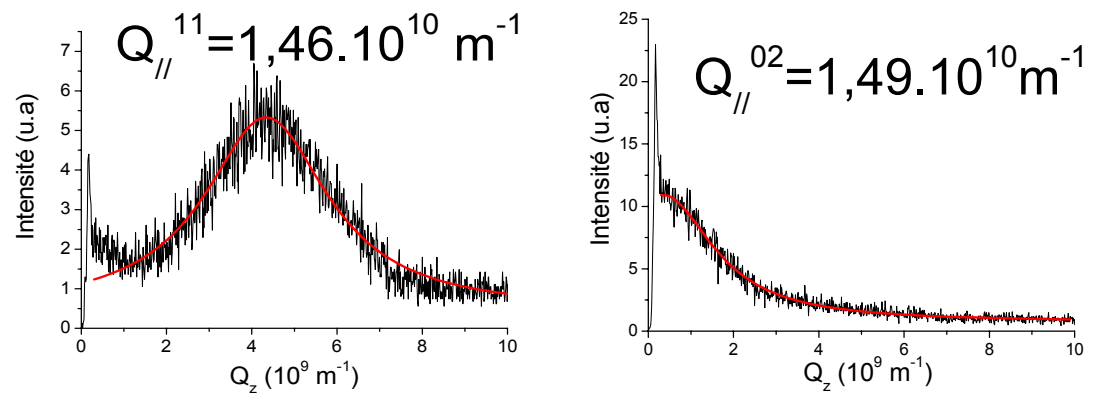
(a) Meilleur ajustement des courbes de diffraction pour chaque pression de surface.

(b) Ajustement des Rodscans correspondant aux pics de diffraction à une pression de surface $\pi=15\text{mN/m}$

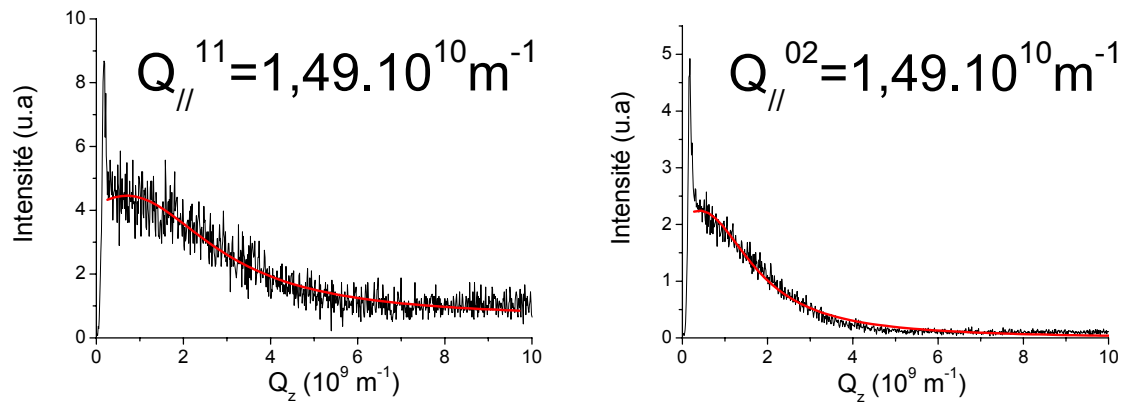
(c) Ajustement des Rodscans correspondant aux pics de diffraction à une pression de surface $\pi=35\text{mN/m}$



(a)



(b)



(c)

Fig. 3.10: Ajustement pour les monocouches de DPPG.

- (a) Meilleur ajustement des courbes de diffraction pour chaque pression de surface
- (b) Ajustement des Rodscans correspondant aux pics de diffraction à une pression de surface $\pi = 15 \text{ mN/m}$
- (c) Ajustement des Rodscans correspondant aux pics de diffraction à une pression de surface $\pi = 35 \text{ mN/m}$

Tableau 3.1 : Résultat des ajustements des courbes de diffraction et de leur Rodscans pour les monocouches de DPPC et DPPG sur des sous phase d'eau et de tampon phosphate

| Sous Phase | Lipide | Pression De Surface (mN/m) | $Q_{//}^{02}$ (10^{10} m^{-1}) | $Q_{//}^{11}$ (10^{10} m^{-1}) | a (10^{-10} m) | b (10^{-10} m) | Aire Par Molécule ($10^{-20} \text{ m}^2/\text{molécule}$) | Q_z^{02} (10^9 m^{-1}) | Q_z^{11} (10^9 m^{-1}) | Azimut φ (deg) | Tilt t (deg) |
|------------|--------|----------------------------|--|--|----------------------------|----------------------------|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|----------------|
| Eau | DPPG | 15 | 1,49 | 1,46 | 4,99 | 8,42 | 42,03 | 0 | 4,34 | 90,00 | 19,02 |
| | | 20 | 1,49 | 1,46 | 5,01 | 8,42 | 42,18 | 0 | 3,92 | 90,00 | 17,36 |
| | | 25 | 1,49 | 1,47 | 4,94 | 8,41 | 41,55 | 0 | 3,49 | 90,00 | 15,35 |
| | | 30 | 1,49 | 1,48 | 4,91 | 8,39 | 41,22 | 0 | 2,47 | 90,00 | 10,93 |
| | | 35 | 1,50 | 1,49 | 4,90 | 8,38 | 41,03 | 0 | 0,70 | 90,00 | 3,12 |
| | DPPC | 15 | 1,46 | 1,32 | 5,69 | 8,61 | 48,95 | 0 | 7,18 | 90,00 | 33,02 |
| | | 20 | 1,46 | 1,33 | 5,64 | 8,61 | 48,51 | 0 | 7,03 | 90,00 | 32,24 |
| | | 25 | 1,46 | 1,35 | 5,53 | 8,59 | 47,54 | 0 | 5,15 | 90,00 | 24,40 |
| | | 30 | 1,46 | 1,36 | 5,46 | 8,58 | 46,86 | 0 | 5,44 | 90,00 | 25,30 |
| | | 35 | 1,46 | 1,38 | 5,38 | 8,58 | 46,15 | 0 | 5,12 | 90,00 | 23,67 |
| Tampon | DPPG | 15 | 1,47 | 1,38 | 5,38 | 8,53 | 45,90 | 0 | 6,93 | 90,00 | 30,69 |
| | | 20 | 1,48 | 1,40 | 5,26 | 8,51 | 44,75 | 0 | 6,10 | 90,00 | 27,06 |
| | | 25 | 1,48 | 1,41 | 5,21 | 8,49 | 44,23 | 0 | 5,72 | 90,00 | 25,38 |
| | | 30 | 1,48 | 1,43 | 5,16 | 8,47 | 43,74 | 0 | 5,25 | 90,00 | 23,33 |
| | | 35 | 1,48 | 1,43 | 5,12 | 8,47 | 43,35 | 0 | 5,15 | 90,00 | 22,76 |
| | DPPC | 15 | 1,46 | 1,32 | 5,74 | 8,61 | 49,45 | 0 | 7,94 | 90,00 | 35,97 |
| | | 20 | 1,46 | 1,33 | 5,63 | 8,60 | 48,45 | 0 | 7,31 | 90,00 | 33,25 |
| | | 25 | 1,46 | 1,35 | 5,54 | 8,59 | 47,59 | 0 | 7,27 | 90,00 | 32,67 |
| | | 30 | 1,46 | 1,37 | 5,44 | 8,58 | 46,69 | 0 | 7,33 | 90,00 | 32,40 |
| | | 35 | 1,47 | 1,38 | 5,36 | 8,57 | 45,90 | 0 | 6,59 | 90,00 | 29,32 |

On constate que dans le cas des deux molécules, au fur et à mesure de la compression, le premier pic (correspondant à la diffraction selon le vecteur $Q_{//}^{11}$) se déplace vers les grands $Q_{//}$. Ce comportement traduit une diminution des paramètres a et b de la maille élémentaire, et par conséquent, comme observé sur les isothermes respectives de chaque phospholipide, d'une diminution de l'aire par molécule. La monocouche devient de plus en plus compacte.

Dans le cas des deux molécules, $|Q_z^{02}| = 0$ (et par conséquent, $\varphi=90^\circ$). Ce qui signifie que nos deux molécules sont orientées vers le premier voisin.

Une diminution de l'angle de tilt (liée à une diminution du $|Q_z^{11}|$) sur le Rodscan correspondant au pic situé en position $|Q_{//}^{11}|$, est également observée. Ceci signifie que les phospholipides se redressent légèrement. Cependant, ces derniers ne se redressent pas totalement et vont conserver un angle de tilt, confirmant que même à haute pression de surface, le film reste dans une phase Liquide condensé tilté.

3.5/Compressibilité et Rigidité de courbure

Tout comme pour les isothermes (chapitre 1.5), en supposant que nous sommes en présence d'un film homogène, il est possible, à partir des résultats obtenus par GID et sur la base de la théorie de Landau ^[20], de calculer la compressibilité surfacique isotherme (χ) du film (Eq.1.7 : $\chi = -\frac{1}{A} \times \left(\frac{\partial A}{\partial \pi} \right)_T$), puis de remonter à une estimation de la rigidité de courbure

$$(\kappa) \text{ de ce dernier (Eq. 1.9: } \kappa = \frac{h}{12 \times k_B T \times \chi} \text{)}.$$

Les résultats, de la rigidité de courbure des films, sont donnés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Rigidité de courbure estimée par la méthode de Landau à partir des résultats des expériences de diffraction

| Molécules | Compressibilité Surfacique Isothermique χ (mN) en dessous de π_{cp} PGLa | Rigidité κ ($k_B T$) en dessous de π_{cp} PGLa | Compressibilité Surfacique Isothermique χ (mN) au dessus de π_{cp} PGLa | Rigidité κ ($k_B T$) au-dessus de π_{cp} PGLa |
|-----------|--|---|--|--|
| DPPC | 3,1 +/- 0,4 | 14,8 +/- 0,3 | 2,92 +/- 0,02 | 17,2 +/- 0,1 |
| DPPG | 1,7 +/- 0,3 | 33 +/- 4 | 1,26 +/- 0,01 | 46 +/- 1 |

Une comparaison, entre les rigidités obtenues à partir des isothermes (tableau 1.2) et celles obtenues à partir des expériences de diffraction, conduit aux constatations suivantes :

Tout d'abord, une augmentation de la rigidité avec l'augmentation de la pression de surface est observée pour les deux monocouches dans le cas des expériences de GID, alors qu'elle reste constante dans le cas des isothermes (où $\kappa=9 k_B T$ pour le DPPC et $12 k_B T$ pour le DPPG).

Ensuite, une grande différence est constatée entre l'estimation de la rigidité de courbure obtenue à partir des isothermes (Tableau 1.2) et celle obtenue à partir des expériences de diffraction. Les expériences de diffraction donnent des rigidités supérieures à celles obtenues lors des mesures sur les isothermes (surtout pour le DPPG où κ passe de $12 k_B T$, pour les isothermes, à $30 k_B T$ en dessous de π_{cp} puis à $45 k_B T$ au-dessus de π_{cp} pour les expériences de GID).

Cette différence de comportement et de valeur s'explique par l'échelle d'observation de chaque technique. En effet, comme expliqué au chapitre 1.5, un film de phospholipides n'est pas composé d'un seul grand cristal uniforme, mais d'un ensemble de petits domaines cristallins pouvant bouger les uns par rapport aux autres lors de la courbure de l'interface. Ainsi, avec la technique de Langmuir, la zone observée correspondant à la taille de la cuve

dans sa totalité, la rigidité estimée sera une moyenne entre la rigidité apportée par les domaines cristallins et celle provenant des mouvements possible entre deux cristaux adjacents. Au contraire, dans le cas des expériences de diffraction, les informations obtenues ne concernent que les domaines cristallins, les éventuels déplacements entre domaines n'influençant pas la structure des domaines, et donc leur diffraction. Par conséquent, la rigidité estimée, à partir des expériences de diffraction, correspondra à la rigidité propre des domaines cristallins.

Enfin, ces deux techniques sont complémentaires, elles permettent de caractériser les monocouches et d'obtenir une estimation de la rigidité de courbure selon deux échelles distinctes. La technique de Langmuir permet une estimation de la rigidité à l'échelle macroscopique (c'est-à-dire sur la totalité de la monocouche), alors que la technique de GID permet une estimation plus microscopique de la rigidité (en se focalisant sur les domaines cristallins du film)

Chapitre 4:
**Diffusion Diffuse dans le plan de
l'échantillon**

Les monocouches, imitant les membranes cellulaires, étant à présent caractérisées thermodynamiquement par la technique de Langmuir et structuralement par GID, nous allons maintenant nous attacher, plus particulièrement, à l'étude de la variation de leur rigidité de courbure lorsque celles-ci sont placées en présence du peptide antimicrobien, la PGLa. L'ordre de grandeur de la rigidité de courbure varie selon la nature des interfaces. Elle vaut en général quelques $k_B T$ ou dizaines de $k_B T$. Les méthodes utilisées pour la mesurer sont souvent indirectes (comme nous avons pu le faire à partir des isothermes ou lors des expériences de diffraction). Cependant, nous allons, ici, essayer de la déterminer directement à partir des spectres de fluctuations de hauteur de la sous phase, en fonction de l'état de la monocouche déposée à sa surface. Dans ce but, des expériences de diffusion diffuse dans le plan de l'échantillon (Grazing Incidence diffuse Scattering in Sample Plane : GISSP) ont été réalisées sur les différentes monocouches caractérisées précédemment (DPPC et DPPG, en présence ou non de PGLa).

Dans l'objectif d'extraire des informations précises sur la rigidité des films ainsi étudiés, un ajustement des courbes correspondant au modèle (basé sur un développement de la théorie des ondes capillaires) par rapport aux courbes obtenues lors des expériences de GISSP a été fait. Dans ce but, un programme informatique a été réalisé.

4.1/ Montage Expérimental

Pour ces expériences, la configuration expérimentale est celle décrite au chapitre 2.3 (la géométrie est rappelée Fig. 4.1). Les mesures seront faites grâce à un PSD, ce qui nous permettra, pour chaque angle de mesure ψ_{sc} , d'enregistrer indépendamment le signal correspondant à chaque angle β , et ainsi d'enregistrer les Rodscans correspondant.

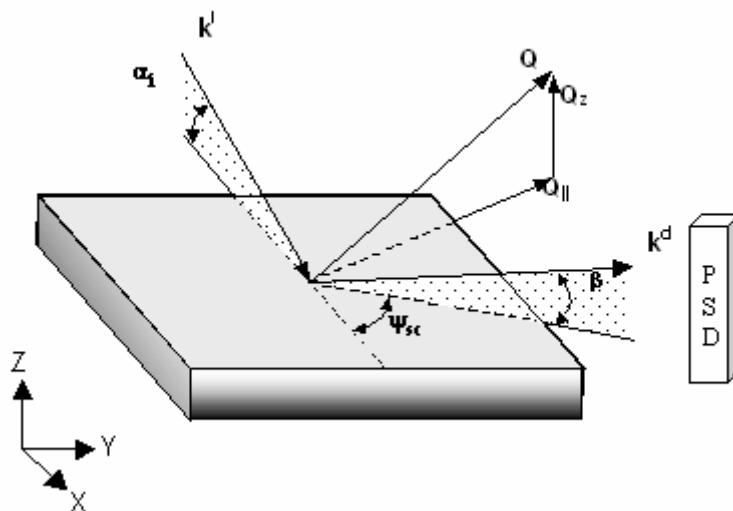


Fig. 4.1: Géométrie de l'expérience. Le faisceau diffusé est enregistré pour différents angles ψ_{sc} et β

Les caractéristiques expérimentales sont les suivantes:

- *Faisceau incident* :
 - E (Energie du faisceau) = 8,0 KeV, ce qui correspond à une longueur d'onde λ de 0,155 nm
 - fente d'entrée S0: $w_i \times h_i = 0,300 \text{ mm} \times 0,100 \text{ mm}$
 - angle d'incidence $\alpha_i = 0,115^\circ$

- *Sous Phase* : Tampon Phosphate de pH=7,4 identique à celui décrit au chapitre 1.3.1
- *Monocouches* : DPPG, DPPC avec ou sans PGLa. Elles sont réalisées selon la méthode de Langmuir détaillée au chapitre 1.3.2 et en utilisant la cuve décrite au chapitre 2.3.3. Les mesures sont réalisées pour différentes pressions de surface, selon les monocouches : $\pi=15\text{mN/m}$, 30mN/m et/ou 40mN/m .
- *Faisceau diffusé* :
 - fente de sortie S1 : $w_c = 0,300$ mm, L_c (distance centre de l'échantillon-Fente S1) = 195 mm
 - fente de sortie S2 : $w_d = 0,500$ mm, L_s (distance entre la fente S1 et la fente S2)=640 mm. L_d (distance centre de l'échantillon-Fente S2) = $L_c+L_d= 835$ mm
 - Angles de mesures : $0,18^\circ < \psi_{sc} < 15^\circ$ et $0,215^\circ < \beta < 5,96^\circ$.
 - Le nombre de canaux utilisé sur le PSD est de 630, chacun ayant une hauteur h_d' (hauteur d'un canal du PSD) = 0,134 mm

4.2/ Modèle des ondes capillaires et rigidité de courbure

Le modèle des ondes capillaires présenté par F. P. Buff, R. A. Lovett et R. H. Stillinger ^[24] en 1965 propose une description statistique de l'interface basée sur les fluctuations de hauteur due à l'agitation thermique. Ce modèle présuppose l'existence d'une tension de surface et un profil de densité qui passe de façon abrupte de la densité du milieu inférieur à celui du milieu supérieur.

Considérons l'interface entre l'air et l'eau, de tension de surface γ_0 , placée dans le champ de pesanteur (Fig. 4.2). On note $\Delta\rho$ la différence de densité entre les deux phases. Lors de l'apparition d'une fluctuation de la hauteur de l'interface, définie par la fonction $\zeta(x,y)$, l'énergie H du système change : l'aire augmente et des masses de liquide sont déplacées. Cette augmentation d'énergie étant finie, le poids statistique de cette fluctuation est non nul, et vaut $\exp(-H/k_B T)$. L'énergie H pouvant être calculée pour chaque fluctuation $\zeta(x,y)$, il est possible de connaître la distribution statistique des fluctuations de l'interface.

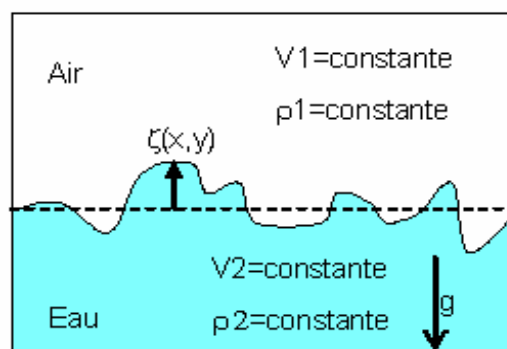


Fig. 4.2 : Représentation de fluctuations de hauteurs entre air et eau.

La hauteur d'un point de coordonnées horizontale $r_i=(x,y)$ situé sur la surface est $z=\zeta(x,y)$

On choisit l'origine des hauteurs telle que la valeur moyenne de $\zeta(x,y)$ soit nulle.

Une fluctuation va s'accompagner d'une augmentation de surface, donc de l'énergie de surface, et d'un déplacement de volume des fluides, d'où une augmentation d'énergie de pesanteur.

Soit $\Delta F=H$, l'excès d'énergie libre du système dû à une fluctuation. On a, pour une fluctuation de hauteur $\zeta(x, y)$ donnée ^[25]:

$$H = \underbrace{\gamma_0 \int dxdy \left(\sqrt{1 + \left(\frac{\partial \zeta}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial \zeta}{\partial y} \right)^2} - 1 \right)}_{\text{Énergie de surface}} + \underbrace{\int dxdy \left(\Delta \rho g \frac{\zeta^2}{2} \right)}_{\text{Énergie de pesanteur}} \quad (4.1)$$

On simplifie le terme d'énergie de surface en supposant que :

$$\left| \left(\frac{\partial \zeta}{\partial x} \right)^2 \right| \ll 1 \text{ et } \left| \left(\frac{\partial \zeta}{\partial y} \right)^2 \right| \ll 1 \quad \forall (x, y)$$

ce qui correspond à des surfaces dont la normale reste proche de l'horizontale. On obtient ainsi :

$$H \approx \frac{\gamma_0}{2} \int dxdy \left(\left(\frac{\partial \zeta}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial \zeta}{\partial y} \right)^2 \right) + \frac{\Delta \rho g}{2} \int dxdy \zeta^2 \quad (4.2)$$

Cette approximation, où l'on néglige les termes d'ordre supérieur à 2 en ζ , est dite gaussienne.

L'expression 4.2 étant quadratique en ζ , il est plus simple de passer dans l'espace de Fourier. On définit:

$$\tilde{\zeta}(\mathcal{Q}_{//}) = \frac{1}{A_{//}} \int dxdy \left(\zeta(x, y) e^{-i\mathcal{Q}_{//}r_{//}} \right) \text{ avec } \mathcal{Q}_{//} = \left(\frac{2\pi}{L_x} p, \frac{2\pi}{L_y} q \right), \quad (4.3)$$

$$\zeta(x, y) = \zeta(r_{//}) = \sum_{\mathcal{Q}_{//}} \tilde{\zeta}(\mathcal{Q}_{//}) e^{i\mathcal{Q}_{//}r_{//}}$$

où p et q sont les vecteurs unités de l'espace de Fourier et $A_{//}=L_x \times L_y$ est l'aire de la projection de la surface sur l'horizontale, supposée rectangulaire et de dimension L_x suivant l'axe des x et L_y selon l'axe des y .

L'égalité de Parseval permet d'écrire :

$$\int dr_{//} \zeta^2(r_{//}) = A_{//} \sum_{\mathcal{Q}_{//}} |\tilde{\zeta}(\mathcal{Q}_{//})|^2 \quad \text{et} \quad \int d(r_{//}) \left(\frac{\partial \zeta}{\partial x} \right)^2 = A_{//} \sum_{\mathcal{Q}_{//}} |Q_x \tilde{\zeta}(\mathcal{Q}_{//})|^2 \quad (4.4)$$

d'où l'on déduit que :

$$H = \frac{\gamma_0}{2} A_{//} \sum_{Q_{//}} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right) \left| \tilde{\zeta}_{Q_{//}} \right|^2$$

$$H = \sum_{Q_{//}} \tilde{H}(Q_{//}) \left| \tilde{\zeta}_{Q_{//}} \right|^2$$
(4.5)

avec :

$$\tilde{H}(Q_{//}) = \frac{\gamma_0}{2} A_{//} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right)$$
(4.6)

de telle sorte que $\tilde{H}(Q_{//}) \times \left| \tilde{\zeta}_{Q_{//}} \right|^2$ soit la contribution à l'énergie totale du mode de vecteur de diffusion $Q_{//}$.

D'après l'équation 4.5, les différents modes contribuent de façon indépendante, proportionnellement au carré de l'amplitude de la fluctuation de vecteur de diffusion $Q_{//}$. Or, d'après le théorème d'équipartition de l'énergie, il y a pour chaque degré de liberté une énergie moyenne égale à $\frac{1}{2} k_B T$. Les modes $Q_{//}$ et $-Q_{//}$ ne sont pas indépendants, mais $\Re(\tilde{\zeta}_{Q_{//}})$ et $\Im(\tilde{\zeta}_{Q_{//}})$ le sont ^[26], donc, puisque:

$$H = \frac{\gamma_0}{2} A_{//} \sum_{Q_{//}} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right) \left[\left(\Re \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 + \left(\Im \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 \right]$$

$$= \frac{\gamma_0}{2} A_{//} \sum_{Q_y, Q_x > 0} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right) \left[\left(\Re \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 + \left(\Im \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 \right]$$
(4.7)

on en déduit que, pour chaque mode $Q_{//}$:

$$\left\langle \gamma_0 A_{//} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right) \left(\Re \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 \right\rangle = \left\langle \gamma_0 A_{//} \left(Q_{//}^2 + \frac{\Delta \rho g}{\gamma_0} \right) \left(\Im \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right)^2 \right\rangle = \frac{1}{2} k_B T$$
(4.8)

et, finalement, on a, pour le spectre de fluctuation de hauteur :

$$\left\langle \left| \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right|^2 \right\rangle = \frac{1}{A_{//} \Delta \rho g + \gamma_0 Q_{//}^2} = \frac{k_B T}{2} \times \frac{1}{\tilde{H}(Q_{//})}$$
(4.9)

Deux remarques peuvent être faites :

Lorsque $2\pi/L_x$ et $2\pi/L_y$ sont petits devant les autres vecteurs d'onde pertinents (par exemple devant $\sqrt{\Delta\rho g / \gamma_0}$), on peut considérer la variable $Q_{//}$ comme continue et on a :

$$\left\langle \left| \tilde{\zeta}(Q_{//}) \right|^2 \right\rangle = \left\langle \tilde{\zeta}(Q_{//}) \tilde{\zeta}(-Q_{//}) \right\rangle$$

- Il est possible de montrer que, si $Q'_{//} \neq -Q_{//}$, alors $\left\langle \tilde{\zeta}(Q_{//}) \tilde{\zeta}(Q'_{//}) \right\rangle = 0$

Des expériences de diffusion de lumière ont permis de vérifier que le spectre des fluctuations de hauteur issu de ce développement du modèle d'ondes capillaires est correct pour des vecteurs de diffusion atteignant 10^6m^{-1} . Lorsque l'échelle de longueur des fluctuations diminue, c'est-à-dire pour de plus grands vecteurs de diffusion, ce modèle n'est plus réaliste. Par exemple, lorsque $Q_{//} \sim 2\pi/\xi$ (où ξ est la largeur intrinsèque de l'interface), il n'est plus possible de négliger l'épaisseur intrinsèque en considérant que l'interface est abrupte. Vu le rôle joué par les grands vecteurs de diffusion sur les propriétés de la surface (par exemple, dans le calcul de la rugosité de l'interface), il est nécessaire d'apporter des corrections au modèle des ondes capillaires tel qu'il est présenté au-dessus.

Le hamiltonien de surface, tel qu'il est présenté au début (Eq. 4.1), peut être vu comme le début d'un développement de l'énergie suivant les dérivées de la fonction ζ :

$$H \approx \int dr_{//} \Delta\rho g \frac{\zeta^2}{2} + \int dr_{//} \frac{\gamma_0}{2} (\nabla \zeta)^2 + \dots \quad (4.10)$$

Ce nouveau développement nous amène à introduire un nouveau terme qui sera lié à la rigidité de courbure κ .

Lors d'une fluctuation locale de hauteur, la surface est courbée. Une énergie, appelée énergie de courbure, est associée à ce phénomène. Un développement au premier ordre a conduit Helfrich ^[27,28] à proposer une expression de l'énergie de courbure, pour une fluctuation de hauteur donnée, comme une fonction de la courbure moyenne C , la courbure spontanée de la surface C_0 et de la courbure gaussienne G :

$$E = \frac{1}{2} \kappa (C - C_0)^2 + \bar{\kappa} G \quad (4.11)$$

avec κ la rigidité de courbure (ou module de courbure), et $\bar{\kappa}$ le module de courbure gaussien. L'énergie de courbure totale (ou « Hamiltonien de Helfrich ») s'écrit :

$$H = \int_{A_{//}} dr_{//} \left(\frac{1}{2} \kappa (C - C_0)^2 + \bar{\kappa} G \right) \quad (4.12)$$

Les fluctuations de hauteur ne pouvant pas changer la topologie de la surface, le terme de courbure gaussienne ($\bar{\kappa} G$) reste constant. La somme sur la surface de ce terme est donc un invariant topologique, et il peut donc être ignoré.

Lorsque le hamiltonien d'Helfrich est intégré au hamiltonien de surface (Eq. 4.10), ce dernier devient donc :

$$H = \int_{A_{//}} dr_{//} \left[\frac{\Delta\rho g}{2} \zeta^2(r_{//}) + \left(\frac{\gamma_0}{2} (\nabla \zeta(r_{//}))^2 \right) + \frac{\kappa}{2} (C - C_0)^2 \right] \quad (4.13)$$

En prenant $C_0 = 0$ et $C = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \approx \frac{1}{2} \Delta \zeta(r_{//})$, où R_1 et R_2 sont les rayons de courbures principaux en un point r , c'est-à-dire le rayon de courbure maximal et le rayon de courbure minimal, en ce point, des différentes courbes obtenues comme intersection de la surface considérée et des plans contenant la normale à la surface au point r .

Et par décomposition en modes de Fourier, comme précédemment, on obtient l'énergie d'un mode de vecteur de diffusion $Q_{//}$ et d'amplitude unité :

$$\tilde{H}(Q_{//}) = \frac{A_{//}}{2} (\Delta\rho g + \gamma_0 Q_{//}^2 + \kappa Q_{//}^4) \quad (4.13)$$

Le théorème d'équipartition de l'énergie permet alors d'écrire le spectre de fluctuations de hauteur:

$$\langle \zeta(-Q_{//}) \zeta(Q_{//}) \rangle = \frac{1}{A_{//}} \frac{k_B T}{\Delta\rho g + \gamma_0 Q_{//}^2 + \kappa Q_{//}^4} \quad (4.14)$$

Le dépôt d'une monocouche de Langmuir aura pour premier effet de réduire la tension de surface γ_0 de l'interface en l'amenant à une nouvelle tension de surface $\gamma = \gamma_0 - \pi$ (où π correspond à la pression de surface à laquelle on se place pour réaliser l'expérience). Le second effet du film sera dû à sa rigidité de courbure propre. En effet, la monocouche va « imposer » sa rigidité à l'interface (faisant, dans le cas de la phase de la monocouche qui nous intéresse, passer celle-ci d'une valeur nulle à une valeur X). La présence de cette rigidité ayant pour conséquence de modifier le spectre de fluctuation.

Le spectre de fluctuation de hauteur fait apparaître deux vecteurs de diffusions caractéristiques :

$$Q_{capillaire} = \sqrt{\frac{\Delta\rho g}{\gamma}}$$

$$Q_{courbure} = \sqrt{\frac{\gamma}{\kappa}}$$

En effet, pour $Q_{//} < Q_{\text{capillaire}}$, le spectre est dominé par la gravité. Lorsque $Q_{\text{capillaire}} < Q_{//} < Q_{\text{courbure}}$, le spectre est dominé par la capillarité (lié à la tension de surface γ). Et pour $Q_{//} > Q_{\text{courbure}}$, c'est la rigidité de courbure qui dominera le spectre de fluctuation de hauteur (Fig. 4.3).

A partir de ce spectre de fluctuation de hauteur (Eq. 4.14), il est ensuite possible par une transformée de Fourier inverse et en supposant que $Q_{\text{capillaire}} \ll Q_{\text{courbure}}$, de remonter à la fonction de corrélation des fluctuations de hauteur $\langle \zeta(r_{//})\zeta(0) \rangle$ et à la rugosité moyenne de la surface $\langle \zeta(0) \rangle$.

On a alors :

$$\langle \zeta(r_{//})\zeta(0) \rangle = \frac{k_B T}{2\pi\gamma} [K_0(r_{//} Q_{\text{capillaire}}) - K_0(r_{//} Q_{\text{courbure}})] \quad (4.15)$$

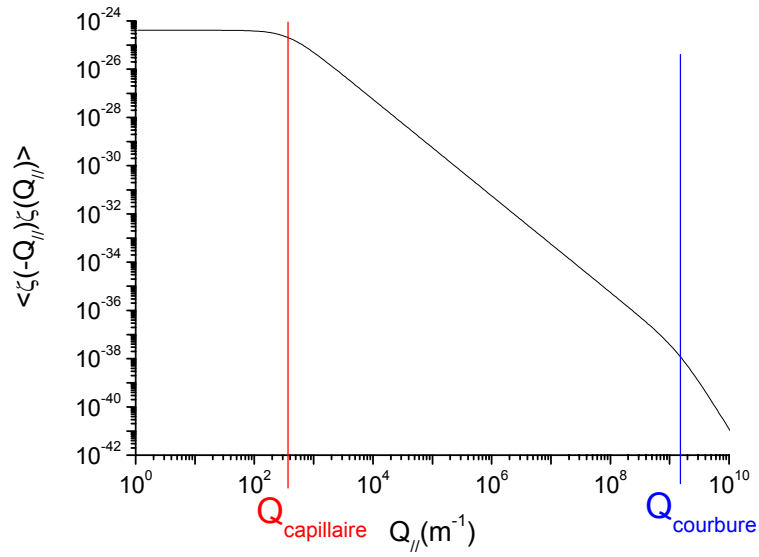
avec K_0 la fonction de Bessel de deuxième espèce et d'ordre 0.

Et :

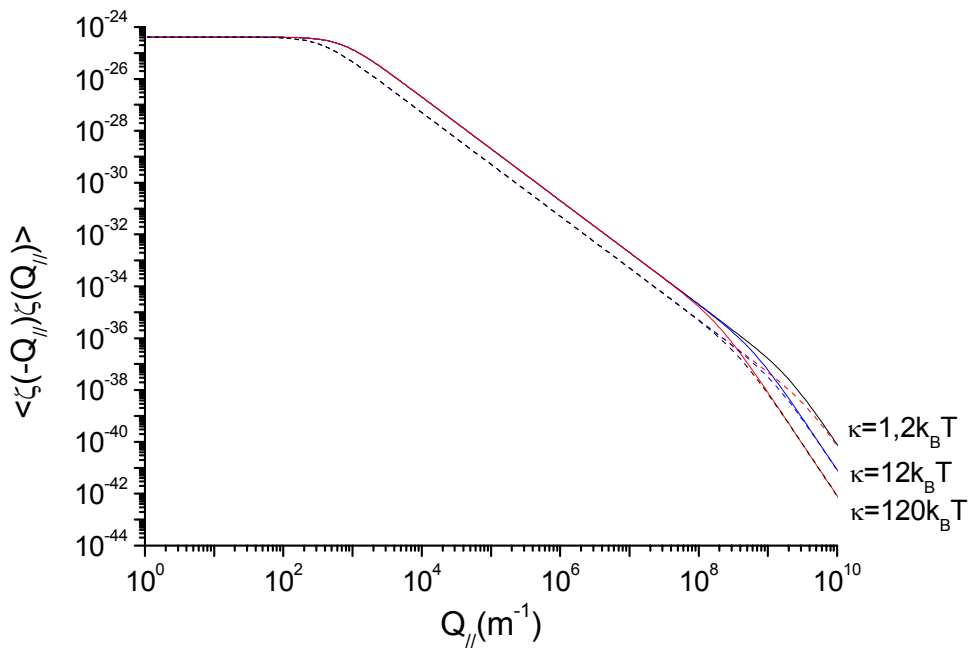
$$\langle \zeta(0)^2 \rangle = \frac{k_B T}{2\pi\gamma} \ln \frac{Q_{\text{courbure}}}{Q_{\text{capillaire}}} \quad (4.16)$$

Tableau 4.1: Exemples de rugosités moyennes (en m) obtenues pour différentes tensions de surface et rigidités de courbure et une température de 20°C. Pour une même rigidité, une diminution de la tension de surface aura pour effet l'augmentation de la rugosité de l'interface. Alors que pour une tension de surface donnée, une augmentation de rigidité aura pour conséquence de diminuer la rugosité

| Rigidité de courbure κ ($k_B T$) | Tension de surface γ (mN/m) | |
|---|------------------------------------|-----------------------|
| | 40 | 72 |
| 1 | $5,02 \cdot 10^{-10}$ | $3,81 \cdot 10^{-10}$ |
| 10 | $4,83 \cdot 10^{-10}$ | $3,67 \cdot 10^{-10}$ |



(a)



(b)

Fig. 4.3 : Spectres de fluctuations de hauteur.

(a) Calculé pour $\gamma=72\text{mN/m}$, $\kappa=8k_B T$ et $A_{//}=1$: On observe les changements de régimes délimités par les vecteurs de diffusions caractéristiques $Q_{\text{capillaire}}$ et Q_{courbure}

(b) Calculés pour $A_{//}=1$, $\gamma=20\text{mN/m}$ (ligne continue) et $\gamma=80\text{mN/m}$ (ligne pointillée). Et pour 3 rigidités de courbures différentes ($\kappa=1, 2 k_B T$; $12 k_B T$ et $120 k_B T$) :

On constate 3 régimes, chacun dominé par un élément de l'équation: Pour $Q_{//} < Q_{\text{capillaire}}$, les effets de gravités sont dominants. Pour $Q_{\text{capillaire}} < Q_{//} < Q_{\text{courbure}}$, ce sont les effets capillaires dépendant de la tension de surface qui dominant. Et pour $Q_{//} > Q_{\text{courbure}}$, la courbe est dominée par la rigidité

4.3/ Etablissement du modèle de Diffusion diffuse

Réaliser une expérience de diffusion diffuse consiste à mesurer, grâce à un détecteur, le nombre de photons incidents diffusés, hors de la direction spéculaire, par une surface. C'est-à-dire l'intensité diffusée par la surface dans les directions ψ_{sc} et/ou β ($\beta > \alpha_i$) (Figs. 2.11 ou 4.1)

4.3.1/ Intensité diffusée

Par définition, l'intensité diffusée par une interface ou une surface vaut ^[21]:

$$I = \frac{I_0}{w_i h_i} \frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d) \Delta\Omega \quad (4.17)$$

où $\frac{I_0}{w_i h_i}$ est le flux incident et $\Delta\Omega = \frac{w_d h_d}{L_d^2}$ est l'angle solide du détecteur. Ces deux paramètres sont définis par les réglages du montage expérimental $\zeta(x, y)$, où w_i et h_i correspondent aux dimensions de la fente d'entrée S0 placée avant l'échantillon, w_d et h_d correspondent aux dimensions de la fente S2 placée devant le détecteur et L_d correspond à la distance entre le centre de rotation du goniomètre (CRG, qui correspond avec le centre de l'échantillon) et la fente S2. Ces paramètres sont fixés au début de l'expérience et ne changeront pas par la suite. La variation de l'intensité mesurée ne sera donc dépendante que de la section efficace de diffusion $\frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d)$.

En réalité, du fait que l'aire de la surface éclairée, par le faisceau incident, vue par le détecteur et que la surface du détecteur ne sont pas de simples points (cas idéal correspondant à l'équation 4.17), le faisceau diffusé arrivant sur le détecteur n'est pas constitué d'un seul vecteur d'onde k_d mais de plusieurs vecteurs d'ondes différents $k'_d = k_d + \Delta k'$ (Fig. 4.4).

Cependant, les réglages appliqués lors de nos expériences (cf. chapitre 4.1) permettent d'avoir une résolution angulaire suffisamment fine pour limiter l'échelle de variation de ces vecteurs d'onde. Selon nos réglages, on a, pour un angle ψ_{sc} réglé expérimentalement, un détecteur recevant des faisceaux diffusés correspondant à des angles $\psi_{sc} \pm 0,027^\circ$ (résolution angulaire horizontale) et pour un angle β donné, des faisceaux correspondant au maximum (c'est-à-dire pour $\psi_{sc} = 0,18^\circ$ et $\beta = 5,96^\circ$) à des angles $\beta \pm 0,25^\circ$ (résolution angulaire verticale). On peut, de ce fait, considérer, en première approximation, que le faisceau diffusé est constitué uniquement d'un seul vecteur d'onde :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d + \Delta k') = \frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d) \quad (4.18)$$

C'est-à-dire que pour des angles ψ_{sc} et β donnés, le détecteur reçoit un faisceau correspondant à un ensemble de vecteurs de diffusion Q , ayant tous la même composante $Q_{//}$ et la même composante Q_z .

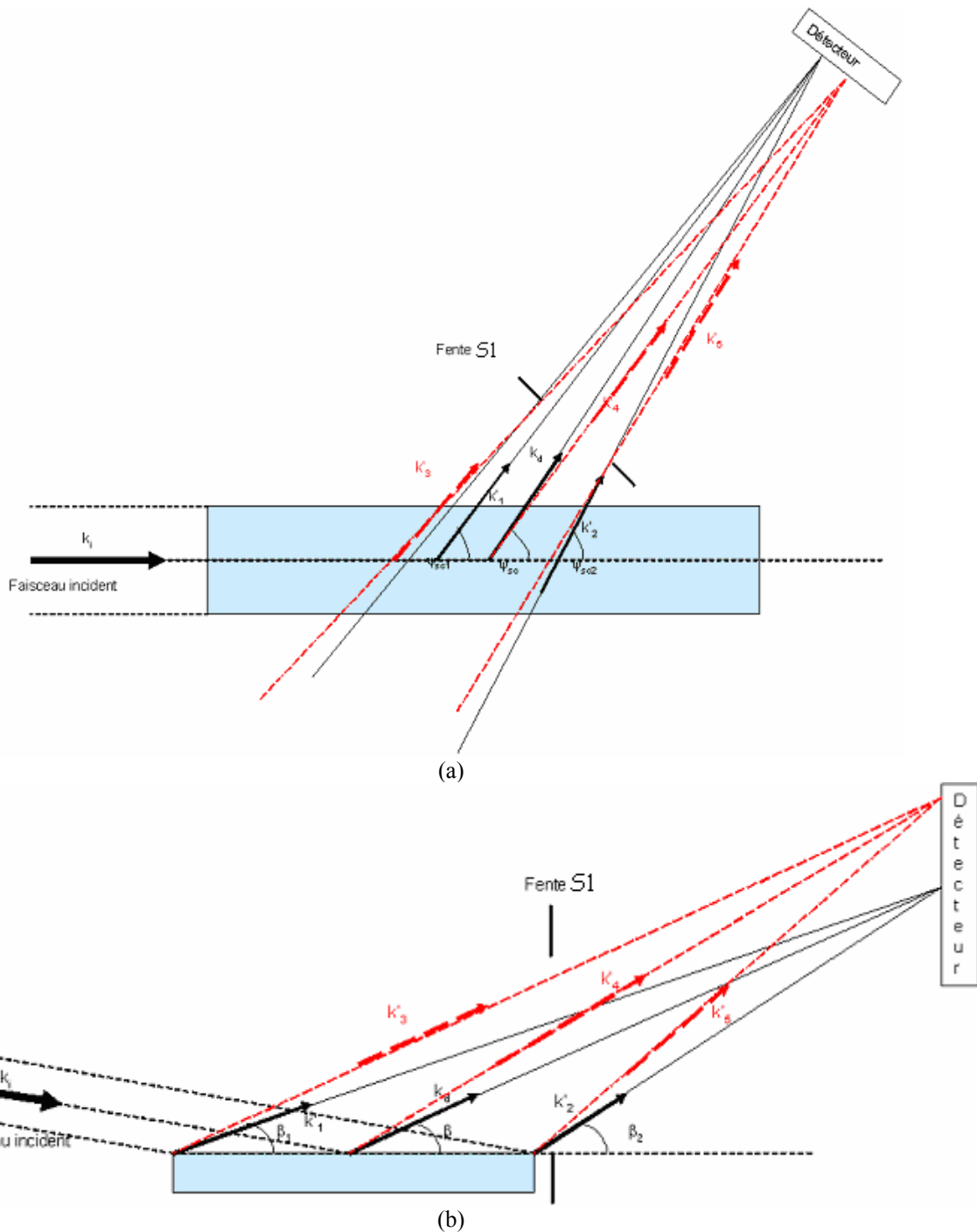


Fig. 4.4: Vecteurs d'ondes reçus par le détecteur.

(a) Vue du dessus ; (b) vue de côté

On constate que du fait des paramètres d'ouverture de la fente S1 et de la position où l'on se place sur le détecteur, le vecteur d'onde k_d caractéristique d'un faisceau diffusé par un point de la surface sera différent. Par conséquent, si on prend le détecteur dans son intégralité, celui-ci ne reçoit pas un seul vecteur d'onde correspondant à des angles ψ_{sc} et β donnés, mais un ensemble de vecteurs d'ondes, chacun correspondant à ses propres angles ψ_{sc} et β .

Remarque : Cette approximation présente également l'avantage de limiter le nombre de calculs à effectuer, par notre programme, pour établir le modèle. Ce qui permet de gagner un temps non négligeable pour l'ajustement des courbes et l'obtention des résultats.

4.3.2/ Champ diffusé et Section efficace de diffusion

Un faisceau incident de rayons X est en fait un rayonnement électromagnétique dont la composante électrique est caractérisée par un champ d'amplitude E_i et son vecteur d'onde k_{in} . Lorsqu'il se propage dans un milieu d'indice n (c'est-à-dire de densité électronique $\rho_e(r)$), suite à l'interaction rayons X-matière, il est diffusé par ce milieu, et le faisceau diffusé peut être caractérisé par un champ diffusé d'amplitude E_{sc} et de vecteur d'onde k_{sc} (Fig. 4.5).

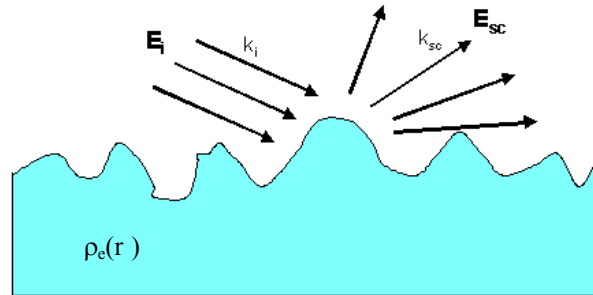


Fig. 4.5 : L'onde incidente caractérisée par son champ électrique E_i et son vecteur d'onde k_i va être diffusée par le milieu, du fait du changement de densité électronique entre les deux milieux. Chaque onde diffusée est caractérisée par son champ électrique E_{sc} et son vecteur d'onde k_{sc} .

Ce champ diffusé peut être calculé pour une interface plane mais rugueuse dans le cadre de l'approximation de Born ^[29]. Celle-ci consiste en un développement perturbatif d'un état de référence pour lequel on sait calculer le champ diffusé.

Pour décrire les faibles perturbations de densité à l'interface, on divise le système perturbé en deux parties :

$$\text{Système Perturbé} = \text{Système de référence non perturbé} + \text{Perturbations}$$

Le système de référence, de densité électronique ρ_e^{ref} est tel que :

- ρ_e^{ref} est proche de la densité réelle ρ_e du milieu. On pose donc :

$$\rho_e = \rho_e^{ref} + \delta\rho_e \tag{4.19}$$

- le champ E_{sc}^{ref} , diffusé par la densité ρ_e^{ref} lorsqu'elle est irradiée par une onde incidente (E_i), est calculable.

L'approximation de Born consiste à calculer le champ diffusé E_{sc} en négligeant les termes d'ordre 2 en $\delta\rho_e$ ^[30]. On définit pour cela les champs δE_{sc} et E^{ref} tel que :

$$E_{sc} = E_{sc}^{ref} + \delta E_{sc} \text{ et } E^{ref} = E_i + E_{sc}^{ref} \tag{4.20}$$

L'approximation consiste à considérer que δE_{sc} est le champ rayonné par les électrons correspondant à $\delta\rho_e$ lorsque ces derniers sont excités par le champ E^{ref} . C'est-à-dire à négliger l'action de δE_{sc} sur $\delta\rho_e$.

4.3.2.1/ Champ de Référence (E_{sc}^{ref})

Le système de référence choisi est ici assimilé à un dioptre plan (Fig. 4.6).

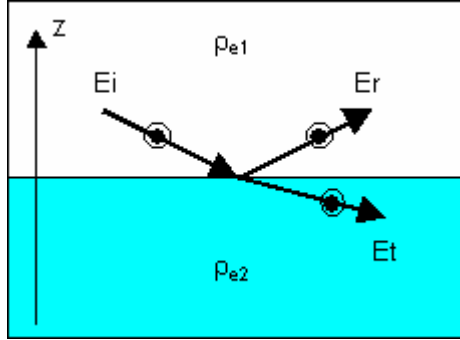


Fig. 4.6: Système de référence. L'onde incidente E_i va donner naissance à une onde transmise E_t et une onde réfléchie E_r

Le champ de référence est constitué de la superposition de l'onde incidente et de l'onde diffusée par le dioptre séparant les deux milieux de densité électronique ρ_{e1} et ρ_{e2} ($E^{ref}=E_i+E_{sc}^{ref}$). L'onde incidente, l'onde réfléchie et l'onde transmise sont notées :

$$E_i(r,t) = E_i e^{i(\omega t - k_i^{in} r)}, E_r(r,t) = E_r e^{i(\omega t - k_r^{in} r)}, E_t(r,t) = E_t e^{i(\omega t - k_t^{in} r)} \quad (4.21)$$

Avec ces notations, le champ diffusé par le système de référence $E_{sc}^{ref}(r,t)$ vaut $E_r(r,t)$ au-dessus et $E_t(r,t)$ en dessous de la surface. Dans notre cas, seul $E_t(r,t)$ nous intéresse.

On suppose que le champ incident est polarisé telle que E_i est perpendiculaire au plan d'incidence. De plus, l'angle d'incidence est suffisamment petit, de telle sorte que $\sin \alpha_i \sim \alpha_i$. Les vecteurs d'ondes transmis s'écrivent :

$$k_{tz}^{in} = \Re e(k_{tz}^{in}) + \Im m(k_{tz}^{in}) \quad (4.22)$$

avec:

$$\Re e(k_{tz}^{in}) = -\frac{1}{\sqrt{2}} \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\left[(\alpha_i^2 - 2(\delta_2 - \delta_1))^2 + 4(\beta_2 - \beta_1)^2 \right]^{1/2} + (\alpha_i^2 - 2(\delta_2 - \delta_1))}$$

$$\Im m(k_{tz}^{in}) = +\frac{1}{\sqrt{2}} \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\left[(\alpha_i^2 - 2(\delta_2 - \delta_1))^2 + 4(\beta_2 - \beta_1)^2 \right]^{1/2} - (\alpha_i^2 - 2(\delta_2 - \delta_1))} \quad (4.23)$$

et:

$$k_{i//}^{in} = k_{t//}^{in} \quad (4.24)$$

On peut également écrire $E_t = t_{12}^{in} E_i$, où t_{12}^{in} est le facteur de transmission du milieu 1 vers le milieu 2. Celui-ci se calcule à partir des conditions de passage des champs électriques et magnétiques à l'interface ^[31]. Il vaut en fonction de l'angle d'incidence (α_i) et de l'angle critique (α_c) :

| $\alpha_i < \alpha_c$ | $\alpha_i > \alpha_c$ |
|--|--|
| $\frac{2 \sin \alpha_i}{\sin \alpha_i + i \sqrt{\sin^2 \alpha_c - \sin^2 \alpha_i}}$ | $\frac{2 \sin \alpha_i}{\sin \alpha_i + \sqrt{\sin^2 \alpha_c - \sin^2 \alpha_i}}$ |

Et pour le module carré ($(t_{12}^{in})^2$) (dont nous aurons besoin ultérieurement pour le calcul de la section efficace) :

| $\alpha_i < \alpha_c$ | $\alpha_i > \alpha_c$ |
|---|---|
| $\frac{4 \sin^2 \alpha_i}{\sin^2 \alpha_c}$ | $\left(\frac{2 \sin \alpha_i}{\sin \alpha_i + \sqrt{\sin^2 \alpha_c - \sin^2 \alpha_i}} \right)^2$ |

4.3.2.2/ Champ diffusé diffus (δE_{sc})

Un électron se trouvant au point r situé sous (ou au voisinage de) l'interface (Fig. 4.7) est éclairé par le champ $E_{sc}^{ref}(r,t) = E_t(r,t) = t_{12}^{in} E_i e^{i(\omega t - k_i^{in} r)}$ créant ainsi un dipôle P_e :

$$P_e = -\frac{\epsilon_0 r_e \lambda^2}{\pi} \times t_{12}^{in} E_i e^{i(\omega t - k_i^{in} r)} \quad (4.25)$$

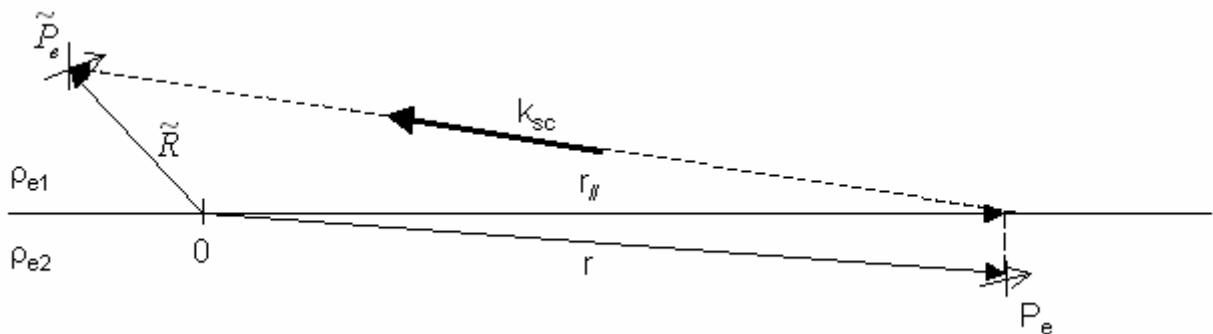


Fig. 4.7 : Représentation du théorème de réciprocité

Pour établir l'expression du champ diffusé dans le cadre de l'approximation de Born, on commence par calculer le champ e_{sc} créé par chacun des dipôles P_e en présence de ρ_e^{ref} et du champ correspondant $E^{ref} = E_i + E_{sc}^{ref}$. La somme sur tous les électrons $\delta \rho_e$ donnant le champ diffusé par la surface réelle. Le champ se propageant sous la surface puis étant réfracté par le

dioptré de référence, et vu que celui-ci ne se décompose pas en ondes planes, le calcul de e_{sc} est délicat à réaliser car il faudrait calculer la diffusion d'une onde sphérique par un dioptré. Le principe de réciprocité (introduit par Croce pour les problèmes de diffusion ^[32]) évite un tel calcul car il permet de ne calculer que les diffusions d'ondes planes par le dioptré : on suppose que le dipôle P_e se trouve au point r . Il rayonne le champ $e_{sc}(\tilde{r}, t)$ au point \tilde{r} .

Soit \tilde{P}_e un autre dipôle rayonnant placé au point \tilde{r} . Il rayonne le champ $\tilde{e}_{sc}(r, t)$ au point r . Par énoncé du principe de réciprocité ^[33], on a :

$$e_{sc}(\tilde{r}, t) \cdot \tilde{P}_e = \tilde{e}_{sc}(r, t) \cdot P_e \quad (4.26)$$

En supposant que $|\tilde{r} - r| \gg \lambda$, $|\tilde{r} - r| \approx |\tilde{r} - r_{||}|$ et en notant $k_i^{sc} = k_i \frac{r_{||} - \tilde{r}}{|r_{||} - \tilde{r}|}$ ($r_{||}$ est la projection de r sur la surface), on a ^[34] :

$$\tilde{e}_{sc}(r_{||}) = \frac{(k_i^{sc} \wedge \tilde{P}_e) \wedge k_i^{sc}}{4\pi \epsilon_0} \times \frac{e^{ik_i^{sc} \cdot r_{||}}}{|\tilde{r} - r_{||}|} \quad (4.27)$$

(\wedge - symbole de la multiplication vectorielle)

Comme $|\tilde{r} - r| \gg \lambda$, \tilde{e}_{sc} a la structure d'une onde plane, si bien que le coefficient de transmission s'applique. Et donc, toujours selon le théorème de réciprocité, on a, en dessous de la surface :

$$\tilde{e}_{sc}(r) = \left(\frac{(k_i^{sc} \wedge \tilde{P}_e) \wedge k_i^{sc}}{4\pi \epsilon_0} \times \frac{e^{ik_i^{sc} \cdot r_{||}}}{|\tilde{r} - r_{||}|} \right) \times t_{12}^{sc} e^{ik_i^{sc} \cdot (r - r_{||})} \quad (4.28)$$

où t_{12}^{sc} est le coefficient de transmission relatif à une onde plane lors de sa réflexion sur le dioptré avec l'incidence $-k_i^{sc}$.

Etant donné que $k_{i||}^{sc} = k_{i||}^{sc}$, l'équation 4.28 peut se simplifier et devient :

$$\tilde{e}_{sc}(r) = \left(\frac{(k_i^{sc} \wedge \tilde{P}_e) \wedge k_i^{sc}}{4\pi \epsilon_0 |\tilde{r} - r|} \right) \times t_{12}^{sc} e^{ik_i^{sc} \cdot r} \quad (4.29)$$

Et d'après le principe de réciprocité, on a :

$$\frac{((k_i^{sc} \wedge \tilde{P}_e) \wedge k_i^{sc}) \cdot P_e}{4\pi \epsilon_0 |\tilde{r} - r|} \times t_{12}^{sc} e^{ik_i^{sc} \cdot r} = e^{sc} \cdot \tilde{P}_e \quad (4.30)$$

Ceci étant valable quelque soit \tilde{P}_e , on en déduit que :

$$e_{sc}(r) = -t_{12}^{in} t_{12}^{sc} \frac{r_e \lambda^2}{\pi} \frac{(k_i^{sc} \wedge E_i) \wedge k_i^{sc}}{4\pi R} e^{iQ \cdot r} \quad (4.31)$$

où $R = |\tilde{r} - r|$ est la distance entre le détecteur et la surface, $r_e = 2,8 \cdot 10^{-15} \text{m}$ est le rayon classique de l'électron, et où le vecteur de diffusion Q est défini par $Q = k_d - k_{in}$ (Fig. 2.11b).

Sachant que ψ_{sc} est l'angle que forment les projections de k_{in} et k_d sur le plan de la surface et que E_i a été choisi polarisé perpendiculairement au plan d'incidence. En supposant que β est petit, on peut écrire:

$$e_{sc} = \frac{k_i^{sc2} r_e \lambda^2 \cos \psi_{sc}}{4\pi R} t_{12}^{in} t_{12}^{sc} E_i e^{iQ \cdot r} \quad (4.32)$$

Il suffit désormais de faire la somme sur tous les électrons de $\delta\rho_e$ pour obtenir le champ diffusé (en prenant $k_i^{sc} \approx \frac{2\pi}{\lambda}$) :

$$\delta E_{sc} = \frac{r_e \cos \psi_{sc}}{R} t_{12}^{in} t_{12}^{sc} E_i \int dr \delta\rho_e(r) e^{iQ \cdot r} \quad (4.33)$$

δE_{sc} se décompose en deux parties : une partie dite cohérente $\delta E_{coh.} = \langle \delta E_{sc} \rangle$, et une partie dite incohérente $\delta E_{incoh.} = \delta E_{sc} - \langle \delta E_{sc} \rangle$. On peut donc écrire ^[35] :

$$\delta E_{sc} = \underbrace{\frac{r_e \cos \psi_{sc}}{R} t_{12}^{in} t_{12}^{sc} E_i \int dr \langle \delta\rho_e(r) \rangle e^{iQ \cdot r}}_{\delta E_{coh.}} + \underbrace{\frac{r_e \cos \psi_{sc}}{R} t_{12}^{in} t_{12}^{sc} E_i \int dr (\delta\rho_e(r) - \langle \delta\rho_e(r) \rangle) e^{iQ \cdot r}}_{\delta E_{incoh.}} \quad (4.34)$$

où $\langle \dots \rangle$ est la moyenne d'ensemble.

Dans le cas où le système est une interface d'étendue infinie dont les propriétés statistiques sont invariantes par translation, on peut montrer que la partie cohérente du champ diffusé est non nulle uniquement dans la direction spéculaire ^[36] et qu'au contraire, la partie incohérente peut être non nulle hors de la direction spéculaire, il s'agit de la diffusion diffuse qui nous intéresse ^[35].

4.3.2.3/ Section efficace de diffusion

La section efficace de diffusion $\frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d)$ est définie par :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega}(k_{in}, k_d) = \frac{\text{Nombre de photons diffusés dans l'angle solide unité } d\Omega \text{ par unité de temps}}{\text{Nombre de photons traversant une unité d'aire de section droite du faisceau incident par unité de temps}}$$

La surface correspondant à l'angle solide $d\Omega$ lorsque l'on se situe à la distance R de la surface est $R^2 d\Omega$. Par conséquent, la section efficace de diffusion diffuse vaut :

$$\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{diffus.} = R^2 \frac{\langle |\delta E_{incoh.}|^2 \rangle}{|E_i|^2} = R^2 \frac{\langle |\delta E_{sc}|^2 \rangle - \langle \delta E_{sc} \rangle^2}{|E_i|^2} \quad (4.35)$$

On peut donc écrire pour l'expression générale de la section efficace de diffusion :

$$\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{diffus.} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 \left\{ \left\langle \left| \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQ \cdot r} \right|^2 \right\rangle - \left\langle \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQ \cdot r} \right\rangle^2 \right\} \quad (4.36)$$

Nous allons maintenant appliquer cette expression générale au cas des fluctuations de hauteur qui correspond à notre modèle, c'est-à-dire une interface air/liquide recouverte d'une monocouche.

Pour cela, intéressons nous dans un premier temps à l'interface. Nous définissons $z = \zeta(r_{//}) = \zeta(x, y)$, comme équation de surface.

L'interface pouvant avoir une épaisseur intrinsèque (Fig. 4.8), on suppose que tout point $(r_{//}, z)$ de l'interface est translaté par des fluctuations du vecteur $\zeta(r_{//}) \hat{z}$ (fluctuations conformes). On définit alors la fonction $\rho_{e \text{ flat}}$ par :

$$\rho_{e \text{ flat}}(r_{//}, z) = \rho_e(r_{//}, z + \zeta(r_{//})) \quad (4.37)$$

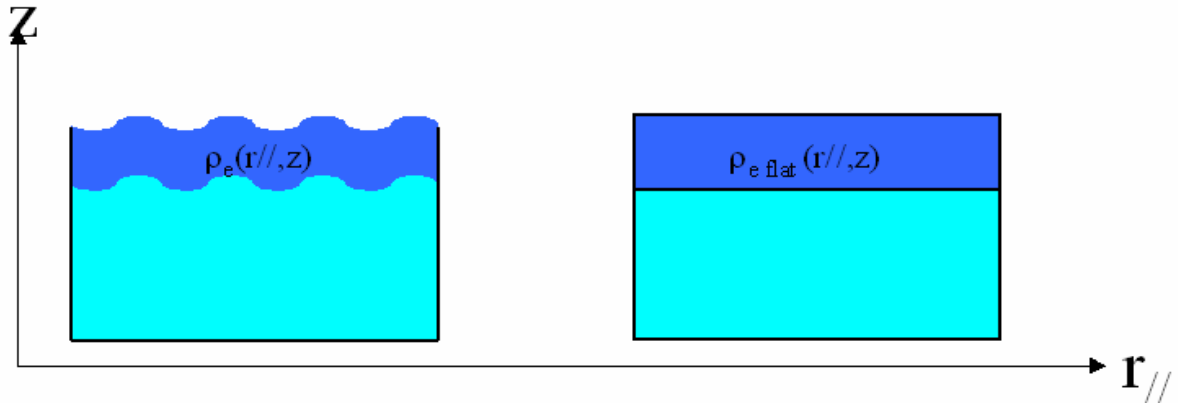


Fig. 4.8 : $\rho_e \text{ flat}(r//, z)$ est la densité électronique qu'aurait le système en l'absence de fluctuations de l'interface.

$\rho_e \text{ flat}$ est la distribution électronique de l'interface en l'absence de fluctuations. Le milieu de référence pour le calcul du champ diffusé étant celui introduit précédemment (dioptré séparant deux milieux homogènes)

$$\begin{aligned}
 \left| \int dr \delta\rho_e(r) e^{iQ \cdot r} \right|^2 &= \int dr \int dr' \delta\rho_e(r) \delta\rho_e(r') e^{i(Q \cdot r - Q^* \cdot r')} \\
 &= \int dr \int dr' e^{iQ_{//} \cdot (r_{//} - r'_{//})} \int dz \delta\rho_e(r_{//}, z) e^{iQ_z z} \int dz' \delta\rho_e(r'_{//}, z') e^{-iQ_z^* z'}
 \end{aligned}
 \tag{4.38}$$

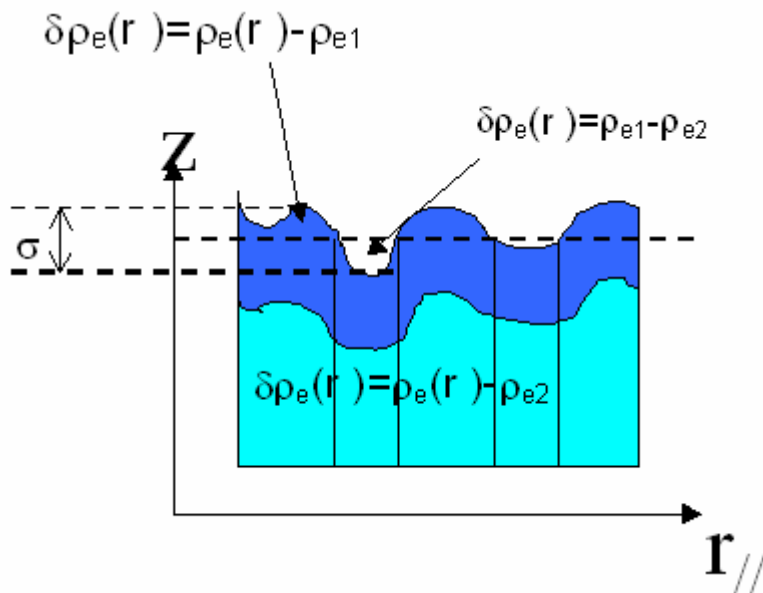


Fig. 4.9 : Intégration de $\delta\rho_e$ sur z , selon les domaines. La différence de densité électronique entre le milieu réel et le milieu de référence est non nulle dans la région interfaciale. ρ_{e1} est la densité électronique du milieu supérieur et ρ_{e2} la densité électronique du milieu inférieur

L'intégration sur z se fait sur différents domaines (Fig. 4.9) :

- Si $\zeta(r_{//}) < 0$ alors :
 - Si $z > 0$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = 0$
 - Si $\zeta(r_{//}) < z < 0$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = \rho_{e1} - \rho_{e2}$
 - Si $z < \zeta(r_{//})$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = \rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e2}$,

et donc

$$\int dz \delta\rho_e(r_{//}, z) e^{iQ_z z} = \int_{-\infty}^{\zeta(r_{//})} dz [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} + \int_{\zeta(r_{//})}^0 dz [\rho_{e1} - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} \quad (4.39)$$

Si $\zeta(r_{//}) > 0$ alors :

- Si $z > \zeta(r_{//})$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = 0$
- Si $0 < z < \zeta(r_{//})$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = \rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e1}$
- Si $z < 0$ alors $\delta\rho_e(r_{//}, z) = \rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e2}$

et donc :

$$\int dz \delta\rho_e(r_{//}, z) e^{iQ_z z} = \int_{-\infty}^0 dz [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} + \int_0^{\zeta(r_{//})} dz [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e1}] e^{iQ_z z} \quad (4.40)$$

Ces deux cas peuvent être synthétisés dans une équation générale :

$$\int dz \delta\rho_e(r_{//}, z) e^{iQ_z z} = \int_{-\infty}^{\zeta(r_{//})} dz [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z - \zeta(r_{//})) - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} + \int_0^{\zeta(r_{//})} dz [\rho_{e2} - \rho_{e1}] e^{iQ_z z} \quad (4.41)$$

En effectuant le changement de variable $Z = z - \zeta(r_{//})$, on obtient :

$$\int dz \delta\rho_e(r_{//}, z) e^{iQ_z z} = e^{iQ_z \zeta(r_{//})} \int_{-\infty}^0 dZ [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, Z) - \rho_{e2}] e^{iQ_z Z} + \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} [e^{iQ_z \zeta(r_{//})} - 1] \quad (4.42)$$

Pour simplifier les notations, on définit :

$$\tilde{\delta\rho}_{\text{flat}}(r_{//}, Q_z) = \int_{-\infty}^0 dz [\rho_{e\text{ flat}}(r_{//}, z) - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} \quad (4.43)$$

On arrive alors à :

$$\begin{aligned}
\left| \int dr \delta\rho_e(r) e^{iQ \cdot r} \right|^2 &= \int dr_{\parallel} \int dr'_{\parallel} e^{iQ_{\parallel} \cdot (r_{\parallel} - r'_{\parallel})} \\
&\times \left\{ \left(\frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \delta\tilde{\rho}_{flat}(r_{\parallel}, Q_z) \right) e^{iQ_z \zeta(r_{\parallel})} + \frac{\rho_{e1} - \rho_{e2}}{iQ_z} \right\} \\
&\times \left\{ \left(\frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{-iQ_z^*} + \delta\tilde{\rho}_{flat}(r'_{\parallel}, Q_z)^* \right) e^{iQ_z^* \zeta(r'_{\parallel})} + \frac{\rho_{e1} - \rho_{e2}}{iQ_z^*} \right\}
\end{aligned} \tag{4.44}$$

$\rho_{e\ flat}(r_{\parallel}, z)$ étant la densité électronique de l'interface en l'absence de fluctuation, les statistiques de $\rho_{e\ flat}(r_{\parallel}, z)$ et de $\zeta(r_{\parallel})$ sont indépendantes, ce qui permet d'écrire, à partir de l'équation précédente :

$$\begin{aligned}
\left\langle \left| \int dr \delta\rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle - \left\langle \left| \int dr \delta\rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle &= \int dr_{\parallel} \int dr'_{\parallel} e^{iQ_{\parallel} \cdot (r_{\parallel} - r'_{\parallel})} \left\langle e^{iQ_z \zeta(r_{\parallel}) - Q_z^* \zeta(r'_{\parallel})} \right\rangle \\
&\times \left[\left\langle \delta\tilde{\rho}_{flat}(r_{\parallel}, Q_z) \delta\tilde{\rho}_{flat}(r'_{\parallel}, Q_z)^* \right\rangle - \left\langle \delta\tilde{\rho}_{flat}(r_{\parallel}, Q_z) \right\rangle \left\langle \delta\tilde{\rho}_{flat}(r'_{\parallel}, Q_z)^* \right\rangle \right] \\
&+ \left| \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \left\langle \delta\tilde{\rho}_{flat}(r_{\parallel}, Q_z) \right\rangle \right|^2 \left[\left\langle e^{i(Q_z \zeta(r_{\parallel}) - Q_z^* \zeta(r'_{\parallel}))} \right\rangle - \left\langle e^{iQ_z \zeta(r_{\parallel})} \right\rangle \left\langle e^{-iQ_z^* \zeta(r'_{\parallel})} \right\rangle \right]
\end{aligned} \tag{4.45}$$

La statistique de $\zeta(r_{\parallel})$ étant gaussienne dans le cas que nous traitons, on a :

$$\left\langle e^{iQ_z \zeta(r_{\parallel})} \right\rangle = e^{-\frac{1}{2} \langle Q_z \zeta(r_{\parallel}) \rangle} \quad \text{et} \quad \left\langle e^{iQ_z \zeta(r_{\parallel})} \right\rangle = e^{-\frac{1}{2} \langle (Q_z \zeta(r_{\parallel}) - Q_z^* \zeta(r'_{\parallel}))^2 \rangle} \tag{4.46}$$

Ainsi, l'équation 4.45 devient:

$$\begin{aligned}
\left\langle \left| \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle - \left\langle \left| \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle &= \int dr_{//} \int dr'_{//} e^{iQ_z(r_{//}-r'_{//})} \left\{ e^{-\Re(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(r_{//}) \zeta(r'_{//}) \rangle} \right. \\
&\times \left[\left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z) \delta \tilde{\rho}_{flat}(r'_{//}, Q_z)^* \right\rangle - \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right\rangle \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right\rangle^* \right] \\
&+ \left. \left| \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z) \right\rangle \right|^2 e^{-\Re(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} \left[e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(r_{//}) \zeta(r'_{//}) \rangle} - 1 \right] \right\}
\end{aligned} \tag{4.47}$$

Compte tenu de l'invariance par translation des fonctions de corrélation $\langle \zeta(r_{//}) \zeta(r'_{//}) \rangle$ et $\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z) \delta \tilde{\rho}_{flat}(r'_{//}, Q_z)^* \rangle$, le changement de variable :

$$r_{//} = r_{//} - r'_{//}$$

permet d'écrire :

$$\begin{aligned}
\left\langle \left| \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle - \left\langle \left| \int dr \delta \rho_e(r) e^{iQr} \right|^2 \right\rangle &= e^{-\Re(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} A_{//}^e \int dr_{//} e^{iQ_z r_{//}} e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0) \zeta(r_{//}) \rangle} \\
&\times \left[\left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(0, Q_z) \delta \tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z)^* \right\rangle - \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right\rangle \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right\rangle^* \right] \\
&+ \left| \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \left\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right\rangle \right|^2 e^{-\Re(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} A_{//}^e \int dr_{//} e^{iQ_z r_{//}} \left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0) \zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right)
\end{aligned} \tag{4.48}$$

où $A_{//}^e$ est l'aire sur laquelle se fait l'intégration, c'est-à-dire l'intersection de l'aire éclairée par le faisceau incident et de l'aire vue par le détecteur.

Finalement pour la section efficace de diffusion, on a pour formule générale :

$$\begin{aligned} \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{diffus.} &= r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}| \left[e^{-\Re e(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} A_{//}^e \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0) \zeta(r_{//}) \rangle} \right. \\ &\times \left[\langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(0, Q_z) \delta \tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z)^* \rangle - \langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \rangle \langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \rangle^* \right] \\ &\left. + \left| \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \langle \delta \tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \rangle \right|^2 e^{-\Re e(Q_z^2) \langle \zeta^2 \rangle} A_{//}^e \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} \left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0) \zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right) \right] \end{aligned} \quad (4.49)$$

Il s'agit, à présent, d'appliquer cette formule au cas d'une interface air/liquide recouverte d'une monocouche. Pour cela nous posons l'hypothèse que nos monocouches sont homogènes.

Dans ce cas, celles-ci peuvent être modélisées comme deux sous-couches de densités électroniques différentes (Fig. 4.10) :

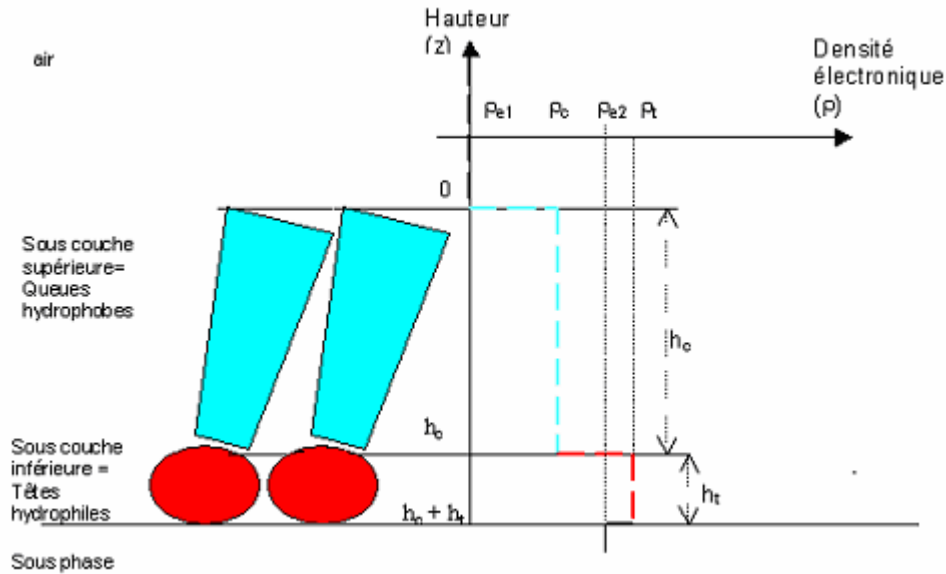


Fig. 4.10: Modélisation des monocouches en deux sous couches distinctes

- La sous-couche inférieure constituée des têtes polaires et d'éventuelles molécules d'eau, de densité électronique ρ_t et d'épaisseur h_t .
- La sous-couche supérieure constituée des queues hydrophobes, de densité électronique ρ_c et d'épaisseur h_c .

Pour la suite, on notera la densité électronique de l'air ρ_{e1} et celle de l'eau ρ_{e2} .

L'équation de la section efficace se simplifie et devient :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \left| \frac{\rho_{e2} - \rho_{e1}}{iQ_z} + \delta\tilde{\rho}_{flat}(Q_z) \right|^2 e^{-\Re(Q_z^2)\langle \zeta^2 \rangle} \times \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} \left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0)\zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right) \quad (4.50)$$

avec :

$$\begin{aligned} \delta\tilde{\rho}_{flat}(r_{//}, Q_z) &= \int_{-\infty}^0 dz [\rho_{e flat}(r_{//}, z) - \rho_{e2}] e^{iQ_z z} \\ &= \int_{-(h_c+h_t)}^{-h_c} dz (\rho_t - \rho_{e2}) e^{iQ_z z} + \int_{-h_c}^0 dz (\rho_c - \rho_{e2}) e^{iQ_z z} \\ &= (\rho_{e2} - \rho_t) \frac{e^{-iQ_z h_t} - 1}{iQ_z} e^{-iQ_z h_c} + (\rho_{e2} - \rho_c) \frac{e^{-iQ_z h_c} - 1}{iQ_z} \end{aligned} \quad (4.51)$$

d'où l'expression de la section efficace :

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma}{d\Omega} &= r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \left[(\rho_{e2} - \rho_{e1}) + (\rho_c - \rho_{e2}) (e^{-iQ_z h_c} - 1) + \right. \\ &\left. (\rho_t - \rho_{e2}) e^{-iQ_z h_c} (e^{-iQ_z h_t} - 1) \right]^2 \times e^{-\Re(Q_z^2)\langle \zeta^2 \rangle} \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} \frac{\left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0)\zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right)}{|Q_z|^2} \end{aligned}$$

(4.52)

Dans le but de faciliter le calcul, S. Mora a vérifié, lors de ses travaux ^[37], qu'il est possible d'approximer le terme : $e^{-\Re(Q_z^2)\langle \zeta^2 \rangle} \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} \frac{\left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0)\zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right)}{|Q_z|^2}$ intervenant dans le calcul de la section efficace pour un spectre de fluctuation quelconque par :

$$\begin{aligned}
& e^{-\Re(Q_z^2)\langle \zeta^2 \rangle} \int dr_{//} e^{iQ_{//} r_{//}} \frac{\left(e^{|Q_z|^2 \langle \zeta(0) \zeta(r_{//}) \rangle} - 1 \right)}{|Q_z|^2} \approx \\
& \exp \left[-Q_z^2 \times \frac{K_b T}{4\pi\gamma} \ln \left(\frac{Q_{//}^2 + \gamma/\kappa}{Q_{//}^2 + \Delta\rho g/\gamma} \right) \right] \times \frac{2\pi\sigma^2}{A_{//} \ln \left(\frac{Q_{courbure}}{Q_{capillaire}} \right) \left(Q_{capillaire}^2 + Q_{//}^2 + \frac{Q_{//}^{4-\eta}}{Q_{courbure}^{2-\eta}} \right)}
\end{aligned} \tag{4.53}$$

où $\sigma^2 = \frac{K_b T}{2\pi\gamma} \ln \left(\frac{Q_{courbure}}{Q_{capillaire}} \right)$ est le carré de la rugosité moyenne de la surface, et

$$\eta = |Q_z|^2 \frac{K_b T}{2\pi\gamma}.$$

Toujours dans l'optique d'un gain de temps lors de l'ajustement des courbes, c'est cette approximation qui a été utilisée lors de la réalisation du programme, servant à modéliser les courbes de diffusion diffuse dans le plan de l'échantillon, pour calculer la section efficace de diffusion due au spectre de fluctuations de hauteur de l'interface.

4.3.3/ Prise en compte de l'aire éclairée vue par le détecteur et de la surface du détecteur

4.3.3.1/ Aire éclairée vue par le détecteur ($A_{//}^e$)

Lors du calcul de la section efficace de diffusion (Eq. 4.49), on a pu voir apparaître le terme $A_{//}^e$ qui correspond à l'aire de la surface éclairée par le faisceau incident qui sera réellement vue par le détecteur.

En effet, selon l'angle ψ_{sc} et/ou β auquel on se place, et en fonction des réglages de la fente S1, placée juste après l'échantillon, le détecteur ne verra pas la même aire éclairée par le faisceau incident (Fig. 4.11). C'est-à-dire qu'il ne recevra pas le même nombre de photons diffusés par la surface. Il faut donc prendre en compte, lors du calcul de la section efficace, l'aire que le détecteur voit réellement afin de prendre en compte la variation du nombre de photons reçus et ainsi prévoir la variation de l'intensité mesurée par le détecteur.

Dans notre cas, la fente S1 étant largement ouverte, l'angle β , auquel la mesure sera effectuée, n'aura aucune influence sur $A_{//}^e$.

On peut ainsi distinguer trois régimes en fonction de l'angle de mesure ψ_{sc} (Fig. 4.11 et 4.12). Dans un premier temps, pour ψ_{sc} égale à 0 ou petit, le détecteur voit toute la surface éclairée (Fig. 4.11a). Ensuite au fur et à mesure que ψ_{sc} augmente, l'aire vue par le détecteur diminue. Elle passe tout d'abord par un régime intermédiaire (Fig. 4.11b) où l'aire n'est pas encore trapézoïdale, puis elle passe dans un régime où l'aire vue par le détecteur a une forme de trapèze et diminue en $1/\sin\psi_{sc}$ (Fig. 4.11c).

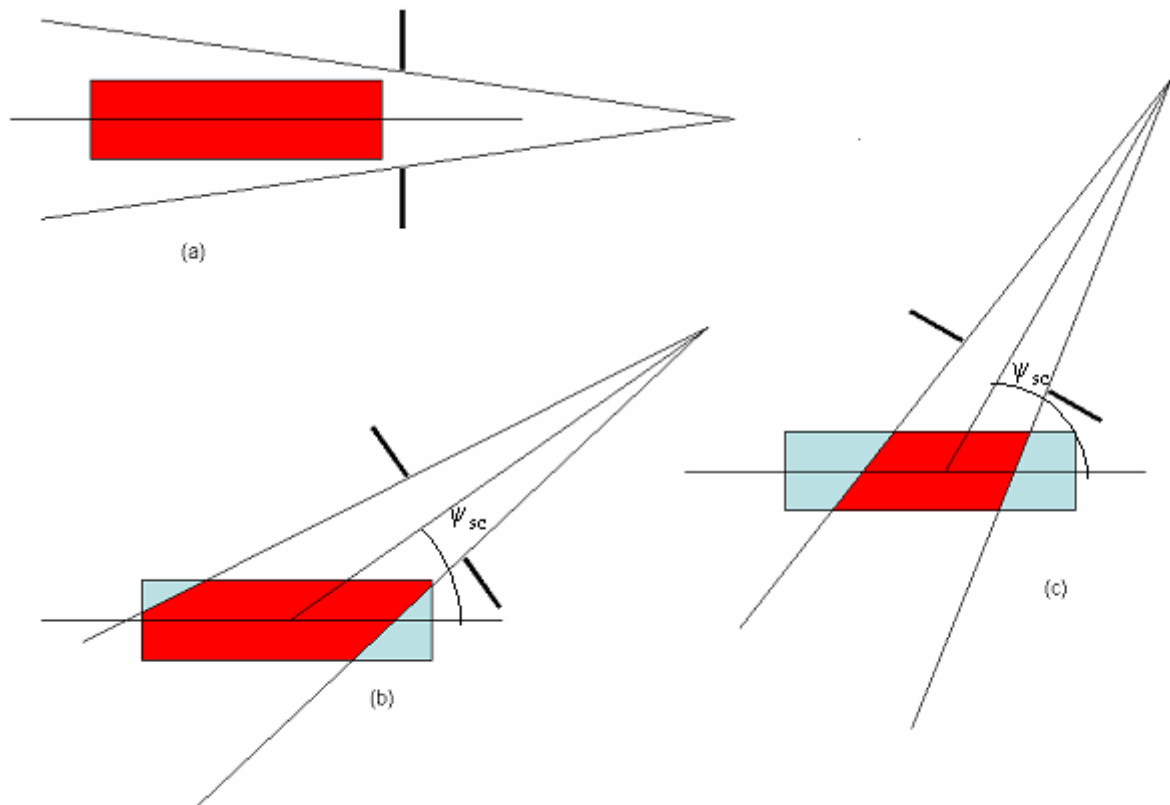


Fig. 4.11: Variation de l'aire éclairée vue par un point du détecteur en fonction de l'angle d'observation ψ_{sc} .
 On distingue 3 régimes:
 (a) $A_{//}^e$ correspond à toute l'aire éclairée par le faisceau incident
 (b) $A_{//}^e$ commence à diminuer mais n'est pas encore trapézoïdale
 (c) $A_{//}^e$ est trapézoïdale et diminue en $1/\sin \psi_{sc}$

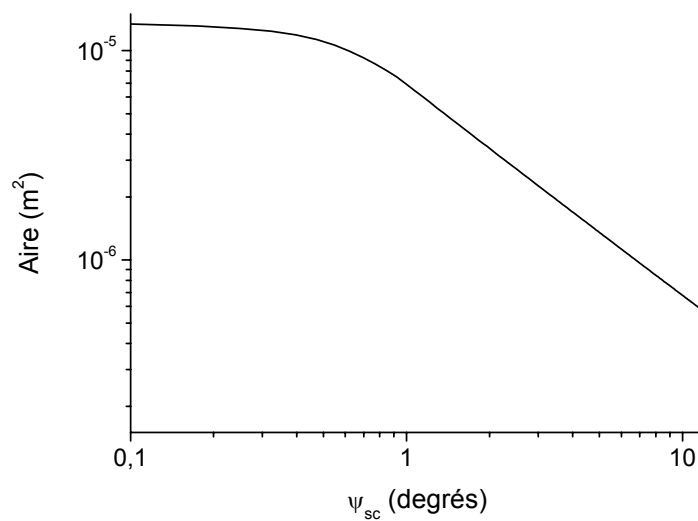


Fig. 4.12: Calcul de l'aire vue par le détecteur pour $w_i \chi_i = 300 \times 100 \mu m$, $w_c = 300 \mu m$ et $Ld = 0,835 m$. On retrouve les 3 régimes décrits précédemment

4.3.3.2/ Surface du détecteur

Afin de bien comptabiliser, dans le modèle, le nombre de photons reçus par le détecteur, et ainsi correctement calculer l'intensité mesurée par celui-ci, il faut également prendre en compte que le détecteur n'est pas ponctuel. En réalité, l'intensité qu'il reçoit est la somme sur toute sa surface de l'intensité reçue par chaque point (ou « pixel » virtuel, où I est supposée constante) du détecteur. Chaque « pixel » voyant sa propre aire éclairée $A_{//}^e$ (Fig. 4.13).

La surface réelle du détecteur étant dépendante de la largeur utilisée sur celui-ci (réglé par la largeur w_d de la fente S2, placée devant ce dernier) et par la hauteur également utilisée sur celui-ci (fonction du nombre de canaux utilisés, chacun ayant une hauteur h_d' fixée par le système de mesure comme expliqué au chapitre 2.3.7, et non pas par la hauteur de la fente S2 car celle-ci est, selon nos réglages, grande devant la hauteur utilisée sur le détecteur: $h_d > N \times h_d'$).

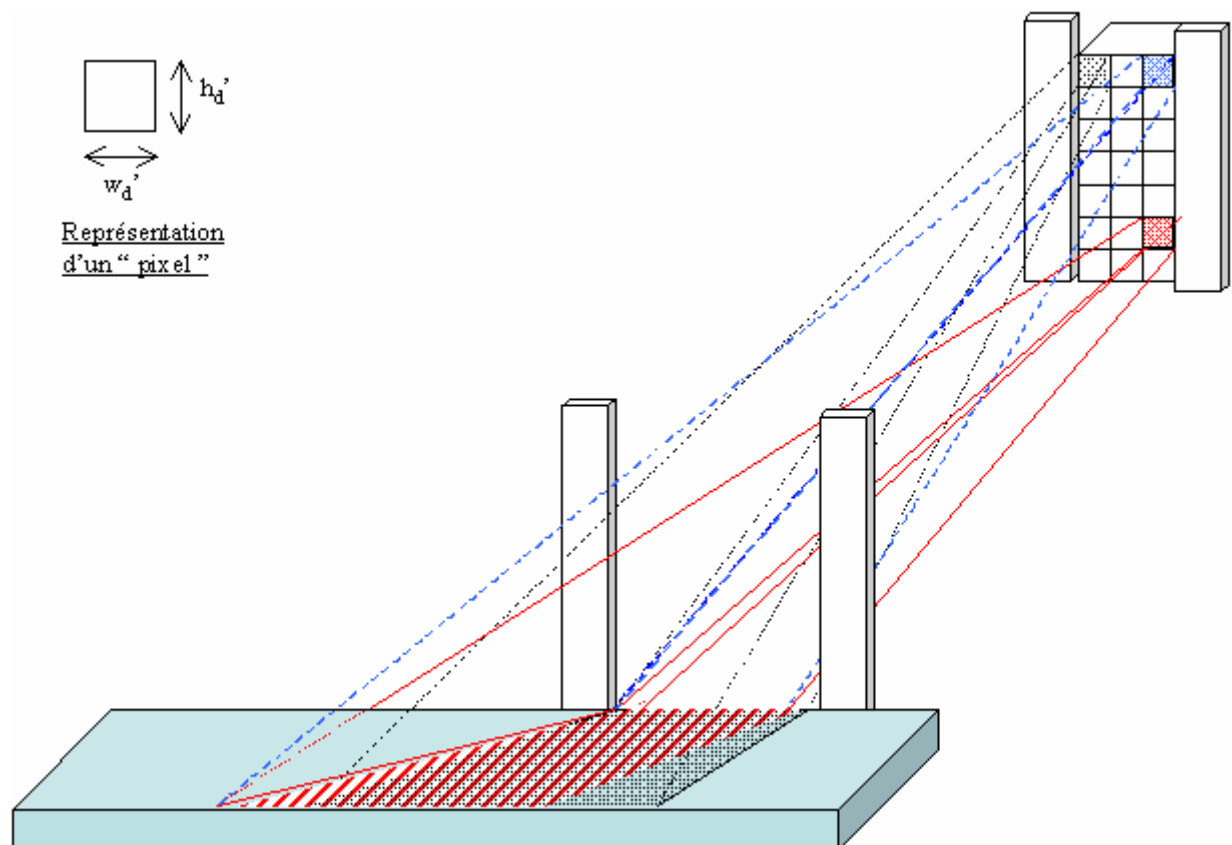


Fig. 4.13 : Aire éclairée vue par différents « pixels ».

On peut observer que deux « pixels » situés sur la même ligne verticale, c'est-à-dire ayant deux angles β différents (« pixels » rouge et bleu) verront la même aire (hachurée rouge). Mais deux « pixels » situés sur la même ligne horizontale, c'est-à-dire ayant deux angles ψ_{sc} différents (canaux noir et bleu) verront deux aires différentes (aire pleine noire pour le canal noir et aire hachurée rouge pour le canal bleu)

4.3.3.3/ Réécriture de l'intensité diffusée

Si l'on prend en compte les deux conditions précédentes, on peut écrire que :

- L'intensité diffusée qui sera reçue par un canal n du PSD vaut :

$$I|_n = \frac{I_0}{w_i h_i} \frac{d\sigma}{d\Omega}|_n \Delta\Omega|_n \quad (4.54)$$

avec la section efficace $\frac{d\sigma}{d\Omega}|_n$ valant :

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma}{d\Omega}|_n &= r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//n}^e |(\rho_{e2} - \rho_{e1}) + (\rho_c - \rho_{e2})(e^{-iQ_z H_c} - 1) + \\ &(\rho_t - \rho_{e2})e^{-iQ_z h_c} (e^{-iQ_z h_t} - 1)|^2 \times \exp \left[-Q_z^2 \frac{K_b T}{4\pi\gamma} \ln \left(\frac{Q_{//}^2 + \gamma/\kappa}{Q_{//}^2 + \Delta\rho g/\gamma} \right) \right] \times \langle \zeta(Q_{//}) \zeta(-Q_{//}) \rangle \end{aligned} \quad (4.55)$$

$$\text{avec } \langle \zeta(Q_{//}) \zeta(-Q_{//}) \rangle = \frac{2\pi\sigma^2}{A_{//} \ln \left(\frac{Q_{courbure}}{Q_{capillaire}} \right) \left(Q_{capillaire}^2 + Q_{//}^2 + \frac{Q_{//}^{4-\eta}}{Q_{courbure}^{2-\eta}} \right)}$$

et l'angle solide $\Delta\Omega|_n$:

$$\Delta\Omega|_n = \frac{w_d' h_d'}{L_d^2} \quad (4.56)$$

w_d' étant la largeur d'un « pixel » virtuel, que nous fixons arbitrairement de façon à diviser la largeur utilisée du PSD, w_d , en M canaux: $w_d = M \times w_d'$. (Pour la suite, M est fixé à 200)

- L'intensité totale reçue par le détecteur, pour un angle ψ_{sc} donné, est la somme sur tous les canaux :

$$I|_{\psi_{sc}} = \sum_n I|_n$$

$$\boxed{= \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \sum_n \text{trans} \times \text{dens} \times \text{fluc} \times A_{//n}^e \times \Delta\Omega|_n} \quad (4.57)$$

avec:

$$trans = |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2$$

$$dens = |(\rho_{e2} - \rho_{e1}) + (\rho_c - \rho_{e2})(e^{-iQ_z H_c} - 1) + (\rho_t - \rho_{e2})e^{-iQ_z h_c}(e^{-iQ_z h_t} - 1)|^2$$

$$fluc = \exp \left[-Q_z^2 \frac{K_b T}{4\pi\gamma} \ln \left(\frac{Q_{||}^2 + \gamma/\kappa}{Q_{||}^2 + \Delta\rho g/\gamma} \right) \right] \times \langle \zeta(Q_{||}) \zeta(-Q_{||}) \rangle$$

Dans le cas de notre configuration expérimentale, l'aire observée par un canal est indépendante de l'angle β , c'est-à-dire qu'elle est indépendante de la position verticale de celui-ci sur le détecteur, la hauteur du polygone correspondant à l'aire observée restant constante pour un angle de mesure ψ_{sc} donné. Par contre, l'aire observée reste dépendante de la position horizontale (x) du canal sur le détecteur (Fig. 4.13).

Dans le même temps, *trans*, *dens* et *fluc* reste dépendant de l'angle β car dépendant de la composante Q_z du vecteur de diffusion.

L'équation 4.57 peut donc s'écrire :

$$I|_{\psi_{sc}} = \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times \sum_x (A_{||x}^e \times \Delta\Omega|_n) \times \sum_{\beta} (trans \times dens \times fluc)$$

$$= \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times res \times \sum_{\beta} (trans \times dens \times fluc)$$

(4.58)

4.3.4/ Contribution des fluctuations de densités du volume

Sur la base de l'équation 4.58, un calcul a été réalisé pour une interface air / tampon phosphate sans monocouche et comparé aux résultats expérimentaux (Fig. 4.14). Les paramètres utilisés sont les suivant:

- Pour le faisceau incident: w_i , h_i , α_i et λ correspondent aux réglages expérimentaux.
- Pour le faisceau diffusé, le calcul de $A_{||x}^e$ et celui de $\Delta\Omega|_n$: w_c , w_d , h_d et L_d sont ceux des réglages expérimentaux, $w_d = 2,5 \mu\text{m}$.
- Pour la surface sans monocouche: $\gamma = 72 \text{ mN/m}$, $\kappa = 0$ $k_B T$ avec $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$ et $T = 293 \text{ K}$, $\alpha_c = 0,154^\circ$, $\Delta\rho g = 9810 \text{ N/m}^3$, $\rho_{e1} = 0 \text{ e}^-/\text{m}^3$, $\rho_{e2} = 3,34 \cdot 10^{29} \text{ e}^-/\text{m}^3$ et évidemment, $\rho_t = \rho_c = 0 \text{ e}^-/\text{m}^3$ et $h_t = h_c = 0 \text{ m}$ car il n'y a pas de monocouche déposée à l'interface.

Les calculs et les mesures expérimentales ont été effectués pour les angles $0,18^\circ < \psi_{sc} < 15^\circ$ et $0,815^\circ < \beta < 5,96^\circ$.

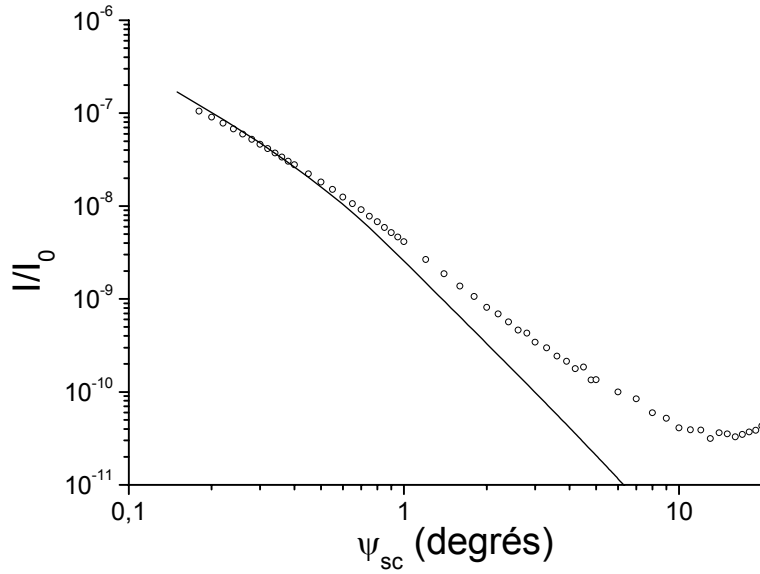


Fig. 4.14 : Comparaison entre le modèle basé sur le spectre de fluctuations de hauteur (ligne continue) et la courbe expérimentale (cercle) pour une solution de tampon phosphate

Un désaccord entre la mesure et le calcul est observé pour les angles $\psi_{sc} > 0,5^\circ$. Cet excès de diffusion est dû à la contribution, à la section efficace de diffusion, des fluctuations de densité électronique au sein de la phase liquide, pouvant être dues à une propagation des ondes sonores dans le milieu inférieur ou aux fluctuations de la composition intrinsèque de ce dernier. C'est-à-dire que, nous devons prendre en compte la diffusion par le volume de liquide :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{d\sigma}{d\Omega}\Big|_{surface} + \frac{d\sigma}{d\Omega}\Big|_{volume} \quad (4.59)$$

Dans le chapitre 4.3.2, la densité électronique de référence ρ_e^{ref} a été choisie telle que, suffisamment loin de l'interface, on ait $\langle \delta\rho_e(r) \rangle = 0$.

Nous allons ici, nous intéresser à la diffusion des inhomogénéités au sein de la phase liquide pour lesquelles l'équation 4.36 s'applique :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 \times \left\langle \int dr_{||} \int dr'_{||} e^{iQ_{||}(r_{||} - r'_{||})} \int dz \int dz' \delta\rho_e(r_{||}, z) \delta\rho_e(r'_{||}, z') e^{i(Q_z z - Q_z^* z')} \right\rangle \quad (4.60)$$

Or,

$$i(Q_z z - Q_z^* z') = iQ_z (z - z') - 2 \text{Im}(Q_z) z' \quad (4.61)$$

En posant l'hypothèse que l'on a une invariance par translation de la fonction de corrélation, non seulement parallèlement mais également perpendiculairement à l'interface et en effectuant le changement de variable $z - z' \mapsto z$, il vient alors:

$$\begin{aligned} \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{volume}} &= r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \times \\ &\iint_{A_{//}^e} dr_{//} e^{iQ_{//} \cdot r_{//}} \int_{-\infty}^0 dz' e^{-2\text{Im}(Q_z)(-z')} \int_{-\infty}^0 dz e^{-iQ_z z} \langle \delta\rho_e(r_{//}, z) \delta\rho_e(0, 0) \rangle \end{aligned} \quad (4.62)$$

et après intégration, on a :

$$\begin{aligned} \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{volume}} &= r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \frac{1}{2\text{Im}(Q_z)} \times \\ &\iint_{A_{//}^e} dr_{//} e^{iQ_{//} \cdot r_{//}} \int_{-\infty}^0 dz e^{-iQ_z z} \langle \delta\rho_e(r) \delta\rho_e(0) \rangle \end{aligned} \quad (4.63)$$

L'intégrale qui reste n'est autre que la transformée de Fourier de la fonction de corrélation :

$$\langle \delta\rho_e(r) \delta\rho_e(0) \rangle = \frac{\Delta\rho_e^2}{\rho_M} \langle \rho_M(0) \rho_M(r) \rangle \quad (4.64)$$

avec $\Delta\rho_e$ - la variation de densité électronique entre les milieux, ρ_M - la densité moléculaire du milieu inférieure et $\langle \rho_M(0) \rho_M(r) \rangle$ - la fonction de répartition des particules.

Donc, on a:

$$\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{volume}} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \Delta\rho_e^2 \frac{1}{2\text{Im}(Q_z)} \times \frac{\langle \rho_M(Q_{//}) \rho_M(-Q_{//}) \rangle}{V\rho_M^2} \quad (4.65)$$

Dans le but de prendre en compte non seulement les corrélations entre molécules, mais également les corrélations entre électrons qui interviennent lorsque l'on approche des distances moléculaires et qui sont décrites par le facteur de forme des molécules $F(Q_{//})$, il faut remplacer $\langle \rho_M(Q_{//}) \rho_M(-Q_{//}) \rangle$ par $|F(Q_{//})|^2 \langle \rho_M(Q_{//}) \rho_M(-Q_{//}) \rangle$.

L'équation 4.65 doit donc être réécrite en fonction du facteur de forme et du facteur de structure $S(Q_{//}) = \frac{\langle \rho_M(Q_{//}) \rho_M(-Q_{//}) \rangle}{V\rho_M}$.

On obtient donc finalement pour la contribution des fluctuations de densité du volume :

$$\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{volume}} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} |t_{12}^{in}|^2 |t_{12}^{sc}|^2 A_{//}^e \Delta \rho_e^2 \frac{1}{2 \text{Im}(Q_z)} \times \frac{|F(Q_{//})|^2 S(Q_{//})}{\rho_M} \quad (4.66)$$

On constate que le résultat est proportionnel à $\frac{1}{2 \text{Im}(Q_z)}$, qui est la longueur de pénétration du

faisceau dans le fluide. Celle-ci est habituellement définie par $d = \frac{1}{2 \text{Im}(k_{tz}^{in})}$, distance verticale

pour laquelle un faisceau de vecteur d'onde k_{12}^{in} voit son énergie diminuer d'un facteur $1/e$ [38]. Cependant, dans le cas des expériences de diffusion, la longueur pertinente à prendre en compte est la distance verticale que doit parcourir le faisceau dans un sens (avec un vecteur d'onde k_{12}^{in}), puis dans l'autre sens (avec un vecteur d'onde k_{12}^{sc}), avant que son énergie ne soit diminuée de ce facteur $1/e$. Cette longueur est appelée la longueur de pénétration effective, d_{eff} , et elle varie selon l'angle de diffusion β que l'on observe. Elle dépend donc à la fois de α_i et de β [39]:

$$d_{\text{eff}} = \frac{1}{2 \text{Im}(k_{tz}^{in} + k_{tz}^{sc})} \quad (4.67)$$

Du fait de la dépendance de d_{eff} à α_i (Fig. 4.15), la contribution de $\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{volume}}$ sera d'autant plus petite que l'angle d'incidence est rasant (Fig. 4.16). En conséquence, en fonction de α_i , le domaine des $Q_{//}$ (c'est-à-dire des ψ_{sc}), pour lesquels la contribution de la diffusion par les fluctuations de hauteur de la surface $\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{\text{surface}}$ est dominante, sera plus étendu ou plus restreint.

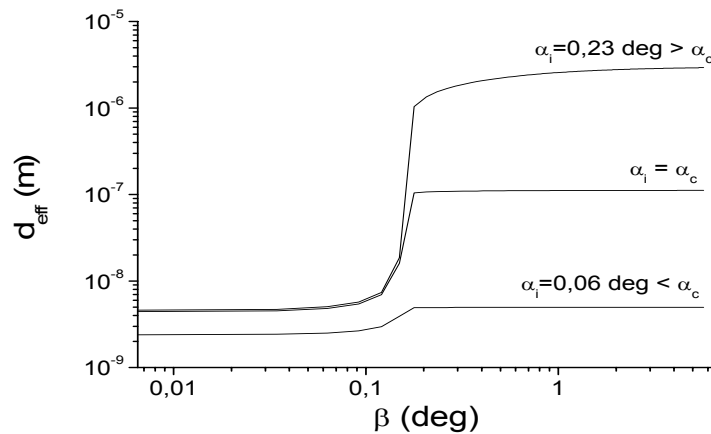
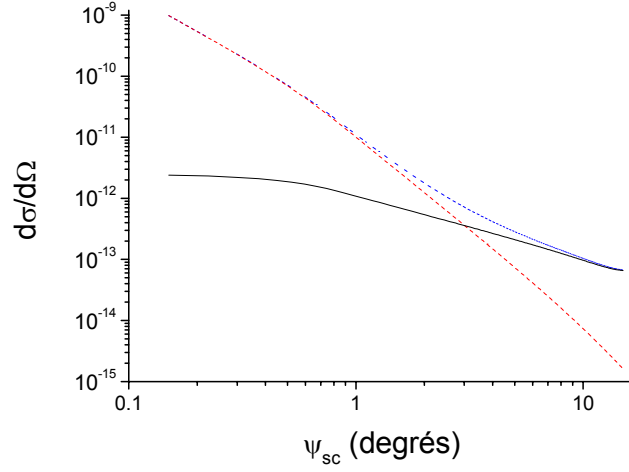
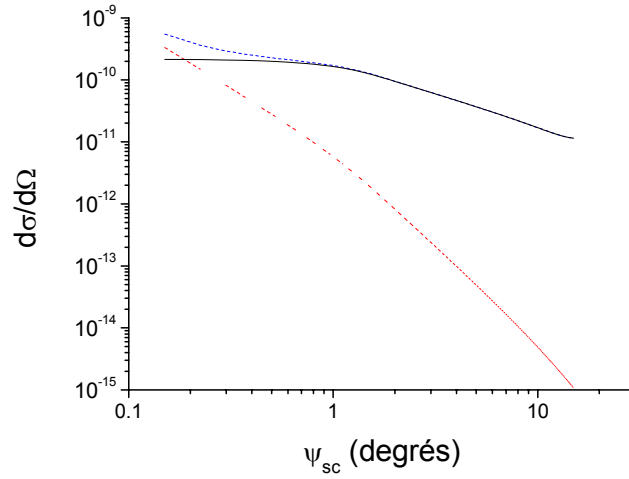


Fig. 4.15: Dépendance de la longueur de pénétration effective en fonction de l'angle d'incidence. Calculs effectués pour de l'eau et une énergie de 8 keV.



(a)



(b)

Fig. 4.16: Contribution à la section efficace des fluctuations de densité (ligne continue) en fonction de l'angle d'incidence. (a) $\alpha_i=0,11^\circ < \alpha_c$ et (b) $\alpha_i=0,22^\circ > \alpha_c$. Dans les deux cas, l'angle β est fixé à une valeur unique de $0,3^\circ$

L'équation 4.54 devient donc :

$$I|_n = \frac{I_0}{w_i h_i} \left(\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{surface} + \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{volume} \right) \Delta\Omega|_n \quad (4.68)$$

et par conséquent :

$$I|_{\psi_{sc}} = \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times res \times \sum_{\beta} \left[trans \times dens \times \left(fluc + \left(d_{eff} \times \frac{|F(Q_{||})|^2 S(Q_{||})}{\rho_M} \right) \right) \right] \quad (4.69)$$

4.3.5/ Tension de surface effective

Le nouveau modèle basé sur l'équation 4.69 a, à son tour, été comparé à la courbe obtenue expérimentalement pour une interface air / tampon phosphate sans monocouche (Fig. 4.17).

Les nouveaux paramètres nécessaires au calcul du modèle sont :

- $|F(Q_{//})|^2$ et $S(Q_{//})$, les facteurs de formes et de structures de l'eau, calculés à partir d'une Lorentzienne pour $|F(Q_{//})|^2$ et d'une Gaussienne pour $S(Q_{//})$. Ces deux équations ayant été établies par un ajustement des données expérimentales provenant de la référence [40].
- ρ_M , la densité moléculaire de l'eau, valant $3,34 \cdot 10^{28}$ molécules/m³.
- Pour le calcul de d_{eff} : $\delta_{\text{eau}}=3,597 \cdot 10^{-6}$, $\beta_{\text{eau}}=1,214 \cdot 10^{-8}$ pour une énergie de 8keV

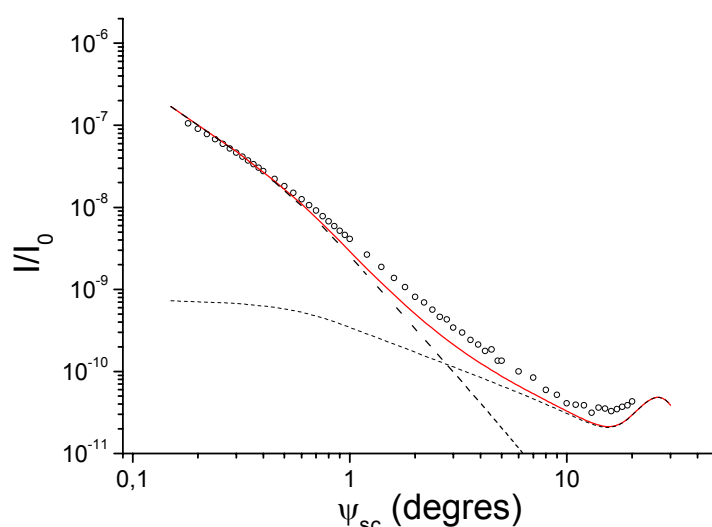


Fig. 4.17 : Comparaison entre le modèle basé sur la somme (ligne continue) de la contribution du spectre de fluctuations de hauteur et de la contribution des fluctuations de densité du volume (lignes pointillées) et la courbe expérimentale (cercle) pour une solution de tampon phosphate

On constate que la courbe théorique est plus proche de la courbe expérimentale que dans le cas précédent. Notamment, un très bon accord entre le signal et le modèle est observé pour les petits angles d'observations ($\psi_{sc} < 0,8^\circ$), c'est-à-dire dans la zone où la contribution des fluctuations de hauteurs est dominante et où la contribution des fluctuations de densité du volume est supposée être très faible, voir négligeable. On a donc bien un signal de surface. De plus aux grands angles d'observations ($\psi_{sc} > 8^\circ$), on a bien au contraire, un signal de volume, puisque le pic de structure de l'eau est observé. Cependant, un excès de diffusion, supérieur à la somme du signal des fluctuations de hauteur et du signal des fluctuations de densité, reste observable pour la zone intermédiaire des angles d'observations : $0,8^\circ < \psi_{sc} < 8^\circ$.

Il a été montré ^[41,42] que la surface des liquides présente, à petite échelle, une rugosité supérieure (Fig. 4.18) à celle prévue par le modèle des ondes capillaires tel que nous l'avons utilisé. Or, une surface plus rugueuse va correspondre à une tension surface plus petite. Nous avons donc intégré dans notre modèle, une tension de surface effective $\gamma(Q_{//})$ qui variera selon l'échelle d'observation de notre système (c'est-à-dire en fonction des $Q_{//}$) et qui remplacera la

tension de surface macroscopique γ_M dans les différentes parties du modèle où cette dernière est impliquée.

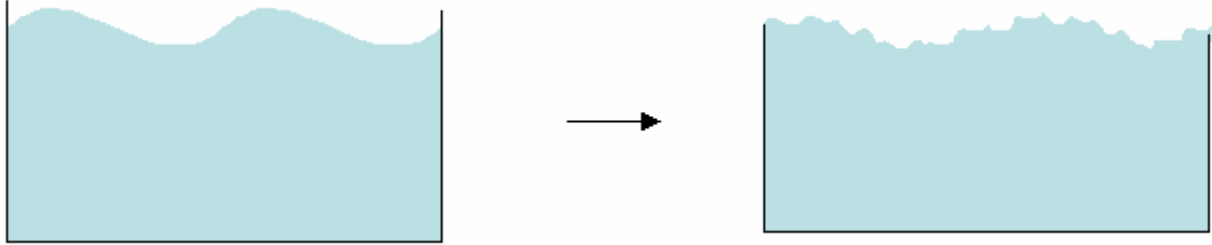


Fig. 4.18 : Passage à une rugosité supérieure à petite échelle

Le rapport $\frac{\gamma(Q_{//})}{\gamma}$ (Fig. 4.19) est calculé selon l'approche de Mecke et Dietrich ^[25] :

$$\frac{\gamma(Q_{//})}{\gamma_M} = \frac{(2 - C_H Q_\xi^2)(1 - (1 + Q_r)e^{-Q_r})}{Q_r^2} + \left(\frac{1}{3} + \frac{4}{\pi^2}\right) \left(0,5 + (1 - (1 + Q_r)e^{-Q_r})\right) \frac{\xi}{r_0^2} \frac{C_H}{Q_\xi^2} \quad (4.70)$$

Avec C_H - amplitude de déformation du profile de densité pour les modes capillaires d'excitations thermiques (0,25nm pour l'eau), $Q_\xi = Q_{//} \times \xi$, où ξ - Longueur de corrélation du Liquide (0,66nm pour l'eau), $Q_r = Q_{//} \times r_0$, où r_0 - Longueur caractéristique des interactions potentielles, c'est-à-dire le diamètre de la molécule (0,7nm pour l'eau).

D'après la figure 4.19, on constate que $\gamma(Q_{//})$ commence par diminuer à partir de sa valeur γ à $Q_{//}=0$, puis atteint un minimum et augmente de nouveau de façon proportionnelle à $Q_{//}^2$. Cette diminution est non négligeable car à son minimum, on constate que $\gamma(Q_{//})$ est presque 3 fois plus petite que la tension de surface originale γ_M . Or, on sait que la tension de surface joue un rôle important dans le calcul la section efficace due aux fluctuations de hauteur, donc dans le calcul de l'intensité diffusée.

Cette variation de la tension de surface avec l'échelle d'observation peut trouver une explication dans la théorie de la densité fonctionnelle ^[25, 41, 42]. La diminution de $\gamma(Q_{//})$ va être due aux forces d'attractions à longue portée, puis, sa réaugmentation sera due à la distorsion du profile de densité quand la surface est courbée.

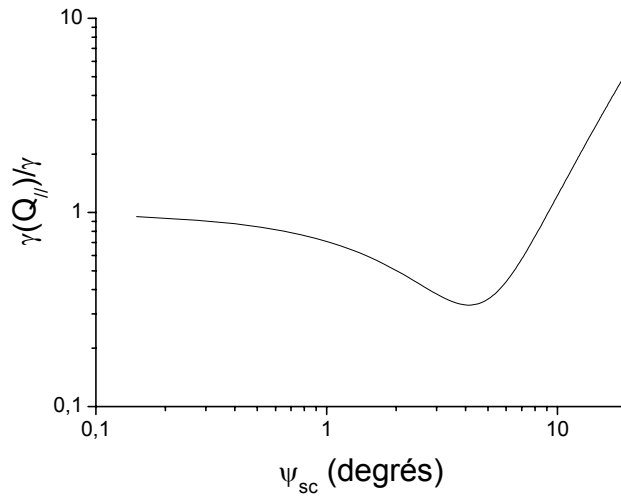


Fig. 4.19: Tension de surface effective calculée pour une surface d'eau, c'est-à-dire avec $\gamma=72\text{mN/m}$. Elle passe par un minimum, puis augmente de nouveau aux grands angles.

Une fois le remplacement de γ_M par $\gamma(Q_{//})$ opéré dans notre modèle, on constate que la courbe calculée correspond mieux à notre courbe expérimentale. (Fig. 4.20)

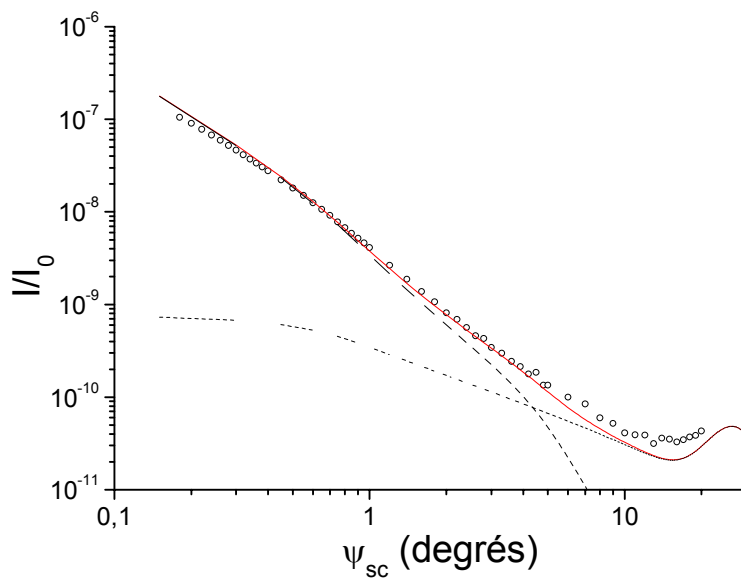


Fig. 4.20: Comparaison entre le modèle basé sur la somme (ligne continue) de la contribution du spectre de fluctuations de hauteur et de la contribution des fluctuations de densité (lignes pointillées) et prenant en compte la tension de surface effective, avec la courbe expérimentale (cercle) pour une solution de tampon phosphate

4.3.6/ Ajout d'une monocouche sur la surface

Dans le but de voir si notre modèle reste valable lorsque l'on ajoute une monocouche à l'interface, une comparaison a été faite entre la courbe calculée par le modèle et une courbe expérimentale obtenue avec une monocouche de DPPG à une pression de surface de 40mN/m (c'est-à-dire une tension de surface $\gamma=32\text{mN/m}$), sur une sous phase de tampon phosphate (Fig. 4.21).

Pour ce calcul, les paramètres utilisés sont les même que précédemment, complétés par les paramètres de la monocouche :

- *Pour la surface avec monocouche:* $\gamma=32\text{mN/m}$, $\kappa=0$ $k_B T$ (le calcul du modèle est réalisé en considérant que l'on a pas de rigidité supérieure à celle de la sous phase), $\rho_t=4,23.10^{29}$ e^-/m^3 , $h_t= 6,84.10^{-10}$ m, $\rho_c=3,13.10^{29}$ e^-/m^3 et $h_c=17,2.10^{-10}$ m. (Nous verrons ultérieurement au chapitre 4.4.1 comment ces paramètres ont été déterminés).

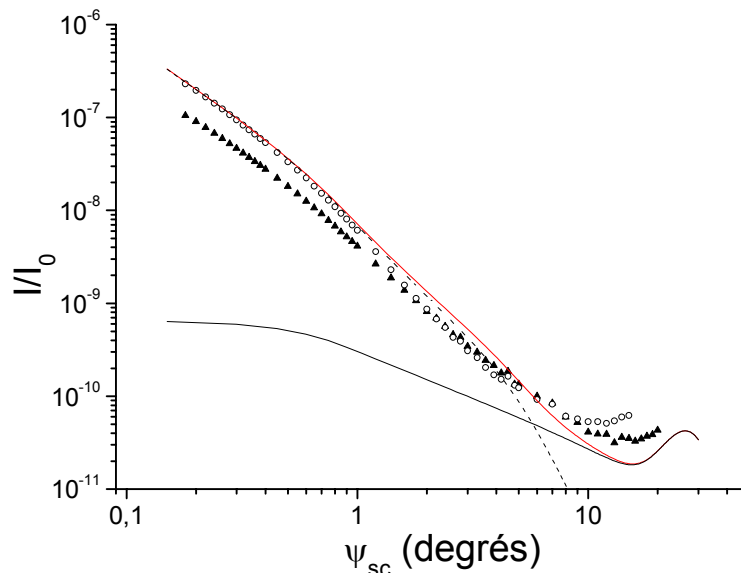


Fig. 4.21 : Comparaison entre le modèle (ligne continue) et la courbe expérimentale (cercle) pour une solution de tampon phosphate recouverte d'une monocouche de DPPG à pression de surface $\pi=40\text{mN/m}$ ($\gamma=32\text{mN/m}$). Le tampon phosphate sans monocouche est également représenté (triangle plein)

On constate que pour les petits angles d'observations ($\psi_{sc} < 1^\circ$), le modèle coïncide avec la courbe expérimentale. Cette zone correspond à la zone avant Q_{courbure} , c'est-à-dire la zone où l'intensité diffusée est dominée par les fluctuations de hauteur, elle-même dominées par la capillarité, liée à la tension de surface. Ainsi, la modification de la tension de surface (de 72mN/m à 32mN/m) dans les paramètres de calcul a suffi à compenser l'augmentation d'intensité observée entre les courbes expérimentales d'une surface sans monocouche et avec monocouche.

Pour les angles compris entre 1° et 6° , correspondant à la zone après Q_{courbure} (dans le cas où la monocouche a une rigidité) et avant que l'intensité diffusée ne soit dominée par la contribution des fluctuations de densité dans la sous phase, l'intensité mesurée est inférieure à l'intensité calculée. Ceci s'explique par le fait que dans cette partie de la courbe, la section efficace de diffusion, due en majorité au spectre de fluctuations de hauteur, est dominée par la rigidité. Dans ce cas, une augmentation de la rigidité due à la présence d'une monocouche,

aura pour conséquence une diminution de l'intensité diffusée. Or pour le calcul de notre modèle, nous avons supposé que la présence de la monocouche n'apportait pas de rigidité supérieure à celle de la sous phase. Il est donc normal que l'intensité calculée soit supérieure à celle observée expérimentalement. Cette différence nous confirme par la même occasion que la présence de la monocouche peut apporter une rigidité de courbure à la surface.

Enfin, pour les angles supérieures à $\psi_{sc} = 6^\circ$, où l'intensité diffusée est dominée par la diffusion par le volume de la sous phase, le modèle et la courbe expérimentale devraient de nouveau être en accord. Or, un excès de diffusion est observé pour la courbe expérimentale. Cet excès correspond à la position du pic de structure de la monocouche. On peut donc supposer que cet excès de diffusion est dû à une contribution, de la part du film, à la section efficace de diffusion. Il faudra donc, comme pour la sous phase, prendre en compte cette contribution du volume de la monocouche dans le calcul de la section efficace de diffusion qui devient :

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{surface} + \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{volume\ SousPhase} + \left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{volume\ Monocouche} \quad (4.71)$$

Sur la base de l'équation 4.66, on pose donc :

$$\left. \frac{d\sigma}{d\Omega} \right|_{Volume\ Monocouche} = r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times A_{||}^e \times trans \times dens \times \left(d_{eff} \times \frac{|F(Q_{||})|_{Film}^2 S(Q_{||})_{Film}}{\rho_{M_{Film}}} \right) \quad (4.72)$$

Avec d_{eff} = épaisseur du film, car toute la monocouche est traversée par les faisceaux incident et diffusé. Le facteur de forme et le facteur de structure étant complexe à calculer pour une monocouche, nous approximerons le facteur $d_{eff} \times |F(Q_{||})|_{Film}^2 \times S(Q_{||})_{Film}$ par une Lorentzienne (que l'on notera L_{Mono}).

L'intensité diffusée devient par conséquent :

$$I|_{\psi_{sc}} = \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times res \times \sum_B \left[trans \times dens \times \left(fluc + \left(d_{eff} \times \frac{|F(Q_{||})|_{Film}^2 S(Q_{||})_{Film}}{\rho_M} \right) + \frac{L_{Mono}}{\rho_{M_{Film}}} \right) \right] \quad (4.73)$$

avec

$$L_{Mono} = \frac{2A_{L_M}}{\pi} \frac{w_L}{4(\psi_{sc} - x_c)^2 + w_L^2} + H_b \quad (4.74)$$

où :

- A_{LM} = Aire sous la courbe
- w_L = Largeur du pic
- x_c = Position du pic
- H_b = Bruit de fond

La courbe basée sur ce modèle a été de nouveau comparée à la courbe expérimentale d'une surface de tampon phosphate recouverte d'un film de DPPG à pression de surface $\pi=40\text{mN/m}$ (Fig. 4.22). Les paramètres sont les mêmes que précédemment, avec en plus, pour la contribution des fluctuations de densité du film :

- $\rho_{M_{Film}}$ = densité moléculaire du DPPG = $2,7 \cdot 10^{29}$ molécules/m³
- Pour la Lorentzienne : $A_{LM} = 1$, $w_L = 5,5^\circ$, $x_c = 21,2^\circ$, $H_b = 0,01$

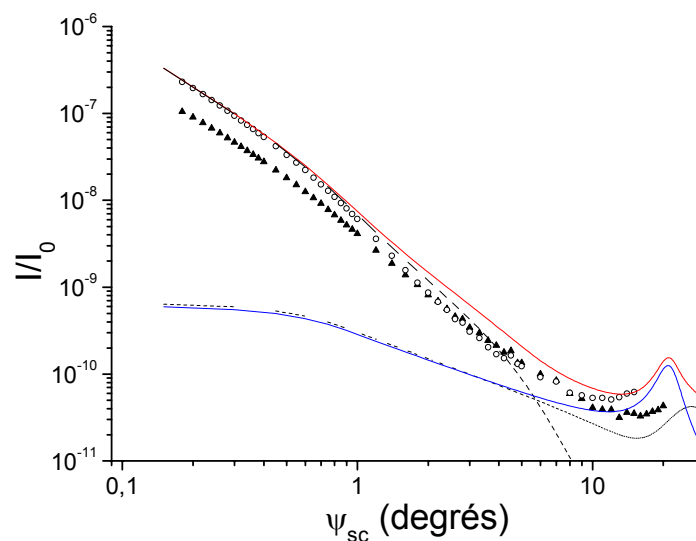


Fig. 4.22 : Comparaison entre le modèle (ligne continue rouge) où on a ajouté la contribution des fluctuations de densité de la monocouche (ligne bleue), et la courbe expérimentale (cercle) pour une solution de tampon phosphate recouverte d'une monocouche de DPPG à pression de surface $\pi=40\text{mN/m}$ ($\gamma=32\text{mN/m}$). Le tampon phosphate sans monocouche est également représenté (triangle plein)

On constate que, en dehors de la partie correspondant à la zone de dominance de la rigidité de courbure, le modèle et la courbe expérimentale s'accordent bien.

4.4/ Ajustement du modèle sur les courbes expérimentales

Le modèle étant en accord avec l'expérience, excepté dans la zone dominée par la rigidité, après avoir déterminé le profil de densité de chaque monocouche, un ajustement du modèle sur les courbes expérimentales permettra de déterminer la rigidité de courbure de chacune des monocouches (la rigidité de courbure étant laissée comme seul paramètre libre).

4.4.1/ Détermination du profil de densité des monocouches

Dans un premier temps, afin de déterminer les paramètres ρ_t , h_t , ρ_c et h_c , c'est-à-dire le profil de densité (Fig. 4.10), de chaque monocouche, un premier ajustement a été réalisé sur les *Rodscans* enregistrés, pour les angles $0,2^\circ < \psi_{sc} < 0,4^\circ$.

Dans cette zone, l'intensité diffusée est dominée par la contribution des fluctuations de hauteur, et plus particulièrement par la tension de surface, tandis que l'effet de la rigidité est minimisé. Ceci permet d'éviter, à cette étape, de devoir compter avec le paramètre inconnu supplémentaire que représente la rigidité. Ainsi, il est possible de fixer κ à une valeur faible (par exemple la valeur de la rigidité de la sous phase nue, $\kappa=0 \text{ k}_B T$ dans notre cas). Tous les autres paramètres sont également fixés et seul ρ_t , h_t , ρ_c et h_c sont laissés libre pour l'ajustement.

Ces ajustements sont réalisés pour $1^\circ < \beta$. Cette échelle a été choisie car, pour les angles inférieurs à 1° , nous avons constaté que, en raison de problèmes techniques sur le détecteur, tous les photons n'étaient pas systématiquement comptés et une différence, non constante, est observée entre le modèle et l'expérience (Figs. 4.23 et 4.24). Par conséquent, afin d'être indépendant de cette variation et de toujours utiliser un ajustement identique et correct, la partie des *rodscans* correspondant à $\beta < 1^\circ$ ne sera pas prise en compte pour les ajustements.

Les calculs de *rodscans* sont réalisés à partir de l'équation 4.73, à la différence que la somme sur tous les angles β n'est pas réalisée. On obtient donc l'intensité calculée pour des angles ψ_{sc} et β donnés :

$$I|_{\psi_{sc}, \beta} = \frac{I_0}{w_i h_i} r_e^2 \cos^2 \psi_{sc} \times res \times trans \times dens \times \left(fluc + \left(d_{eff} \times \frac{|F(Q)|^2 S(Q)}{\rho_M} \right) + \frac{L_{Mono}}{\rho_{M_{Film}}} \right) \quad (4.75)$$

Les résultats sont résumés Figs. 4.23 (DPPC), 4.24 (DPPG) et dans le tableau 4.2:

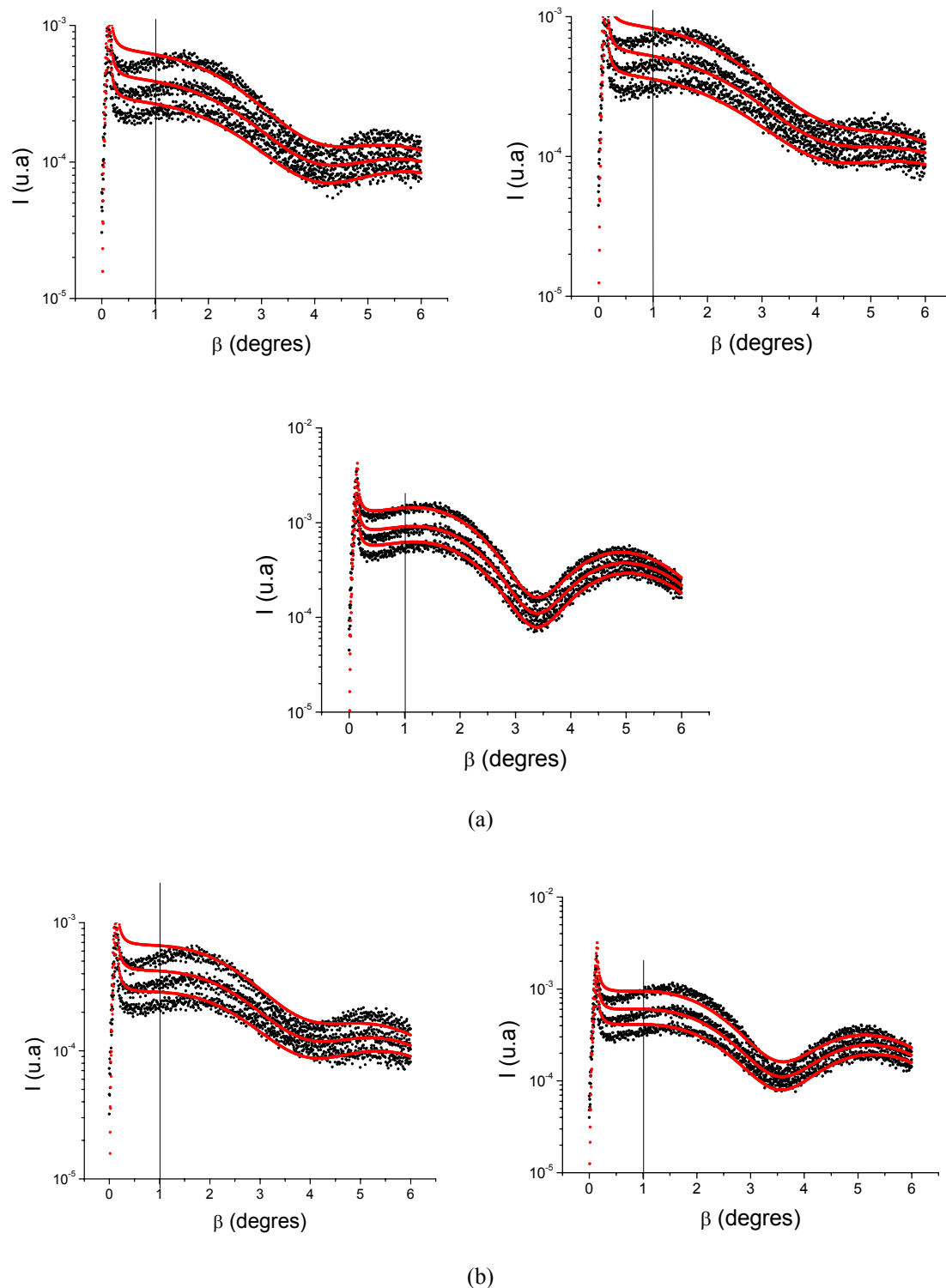


Fig. 4.23 : Ajustement de *Rodscans* des monocouches de DPPC à pression de surface $\pi=15, 30, 40$ mN/m (de gauche à droite) en (a) et de DPPC+PGLa à pression de surface $\pi=15$ et 30 mN/m en (b)

Les *Rodscans* montrés ici correspondent à des angles de mesures $\psi_{sc} = 0,24 ; 0,3$ et $0,36^\circ$ (de haut en bas) On peut constater que pour $\beta < 1^\circ$, le désaccord expliqué précédemment, en conséquence, les ajustements sont réalisés à partir de $\beta > 1^\circ$.

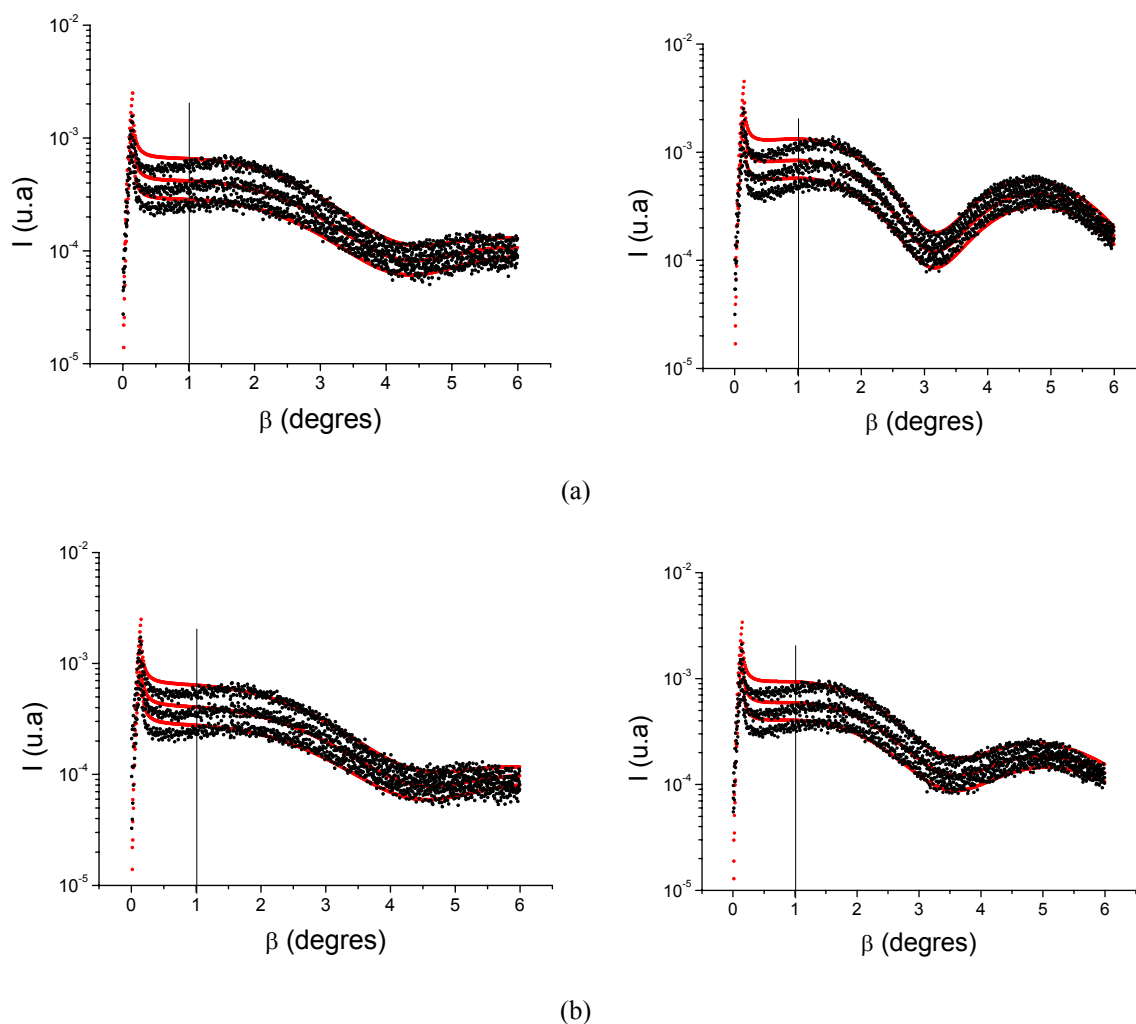


Fig. 4.24 : Ajustement de *Rodscans* des monocouches de DPPG à pression de surface $\pi=15, 40$ mN/m (de gauche à droite) en (a) et de DPPG+PGLa à pression de surface $\pi=15$ et 30 mN/m en (b)
 Les *Rodscans* montrés ici correspondent à des angles de mesures $\psi_{sc} = 0,24 ; 0,3$ et $0,36^\circ$ (de haut en bas)
 Le même désaccord, que pour les films de DPPC, est observé pour $\beta < 1^\circ$ et les ajustements sont réalisés à partir de $\beta > 1^\circ$.

Tableau 4.2: Densités électroniques et épaisseur de chaque partie de la monocouche

| Molécule | Pression de Surface (mN/m) | Densité électronique des têtes (ρ_t) ($10^{29} e^-/m^3$) | Epaisseur des têtes (h_t) (10^{-10} m) | Densité électronique des queues (ρ_c) ($10^{29} e^-/m^3$) | Longueur des queues (h_c) (10^{-10} m) |
|-----------|----------------------------|---|---|--|---|
| DPPG | 15 | 3,75 | 6,18 | 3,02 | 12,3 |
| DPPG | 40 | 4,23 | 6,84 | 3,13 | 17,2 |
| DPPG+PGLa | 15 | 3,94 | 3,69 | 2,99 | 12,8 |
| DPPG+PGLa | 30 | 3,71 | 10,45 | 3,04 | 13,4 |
| DPPC | 15 | 3,60 | 6,00 | 2,93 | 12,7 |
| DPPC | 30 | 3,66 | 4,45 | 2,98 | 13,1 |
| DPPC | 40 | 4,31 | 6,96 | 3,25 | 16,0 |
| DPPC+PGLa | 15 | 3,60 | 8,66 | 3,11 | 12,5 |
| DPPC+PGLa | 30 | 4,06 | 5,98 | 3,10 | 15,4 |

On peut, dans un premier temps, constater (Tableau 4.2) que dans le cas des monocouches sans peptides, comme attendu et en accord avec les expériences de GID, les densités électroniques de chaque partie et l'épaisseur totale de la monocouche ($h=h_t+h_c$) augmentent lorsque la pression de surface passe de $\pi=15$ mN/m à 40 mN/m. Cette augmentation correspond au redressement progressif de la queue des phospholipides (d'où l'augmentation de l'épaisseur totale du film qui est principalement due à une augmentation de h_t), ce qui a pour conséquence le rapprochement des molécules les unes des autres, et donc une augmentation de la densité électronique.

Ensuite, une comparaison des films de DPPC sans PGLa à leur homologue avec PGLa, permet de constater, pour une même pression de surface, une augmentation de l'épaisseur des têtes h_t . La PGLa n'interagit pas moléculairement avec le DPPC [10] et sous l'effet de la pression de surface, elle est expulsée de l'interface (cf. chapitre 1), cependant, elle reste une molécule tensioactive (elle aura donc une tendance naturelle à vouloir se placer à l'interface). Par conséquent, on peut supposer que, même si, avec l'augmentation de la pression de surface, la PGLa est repoussée vers la sous phase, celle-ci va venir se placer au contact de l'interface, en dessous de la monocouche de phospholipides. Ainsi, l'épaisseur observée pour les têtes correspond à une épaisseur effective qui est la somme de l'épaisseur des têtes phospholipidiques et de la PGLa. Pour $\pi=30$ mN/m, une augmentation de la longueur des queues h_c est également observée entre la monocouche sans PGLa et la monocouche avec PGLa. Cette augmentation ne peut être due qu'à une diminution de l'angle de tilt. Or, d'après les isothermes obtenues au chapitre 1, cette pression de surface correspond à la limite de la pression de collapse de la PGLa, où le film de phospholipide subit un remaniement et commence à se rapprocher de l'organisation d'un film sans PGLa. Si on regarde de plus près les paramètres obtenus pour cette monocouche de DPPC+PGLa, on constate qu'ils sont proches de ceux de la monocouche de DPPC à $\pi=40$ mN/m. Il semblerait donc que, bien que la mesure soit faite à 30mN/m, la monocouche a une structure correspondante à celle d'une pression effective supérieure.

4.4.2/ Détermination de la rigidité de courbure

Les densités électroniques et les hauteurs, obtenues précédemment, sont ensuite utilisées afin de réaliser un ajustement du modèle (calculé avec l'équation 4.73) sur les courbes expérimentales. Pour cet ajustement, seul la rigidité de courbure n'est pas fixée pour le calcul du modèle.

Les ajustements ont été réalisés sur toute l'échelle des angles de mesures ψ_{sc} et β indiquées précédemment et les barres d'erreurs expérimentales ($\sigma_{I_{Exp}}$) sont fixées à 1% pour chaque point.

De plus, afin d'ajuster nos modèles au plus précis, un calcul du χ^2 est effectué pour minimiser l'écart entre la courbe expérimentale et la courbe calculée:

$$\chi^2 = \frac{1}{N} \sum_N \left(\frac{I_{Exp}^i - I_{Calc}^i}{\sigma_{I_{Exp}}} \right)^2$$

La précision des paramètres est estimée par un calcul de la variation du χ^2 autour de sa valeur minimum, et on fixe comme précision de la rigidité, les valeurs de κ pour lesquelles χ^2 double (Fig. 4.26).

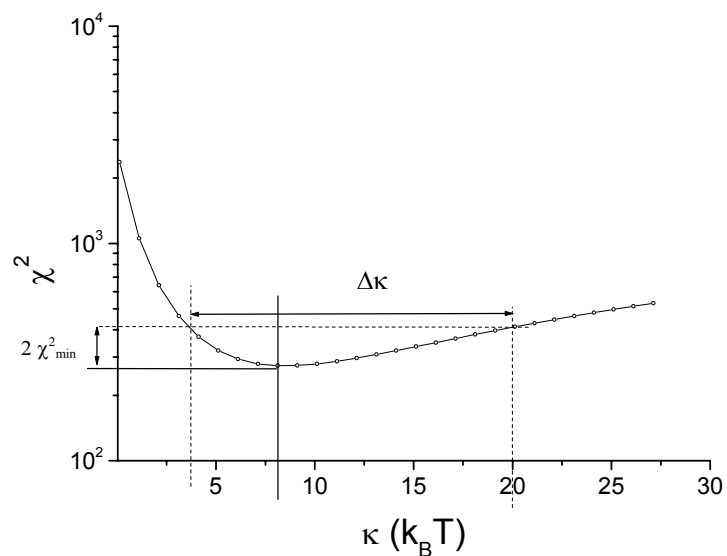
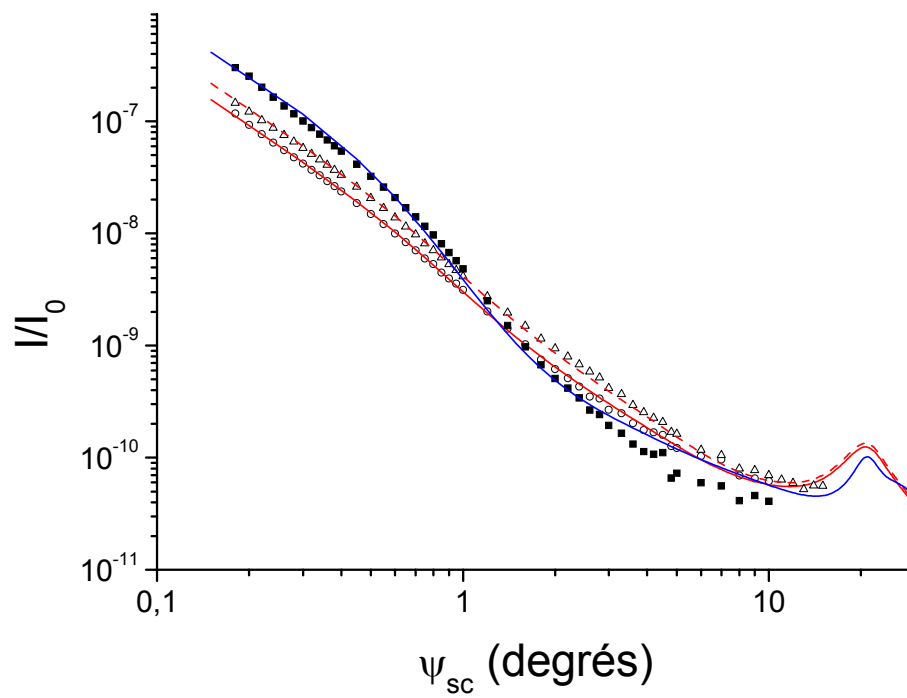


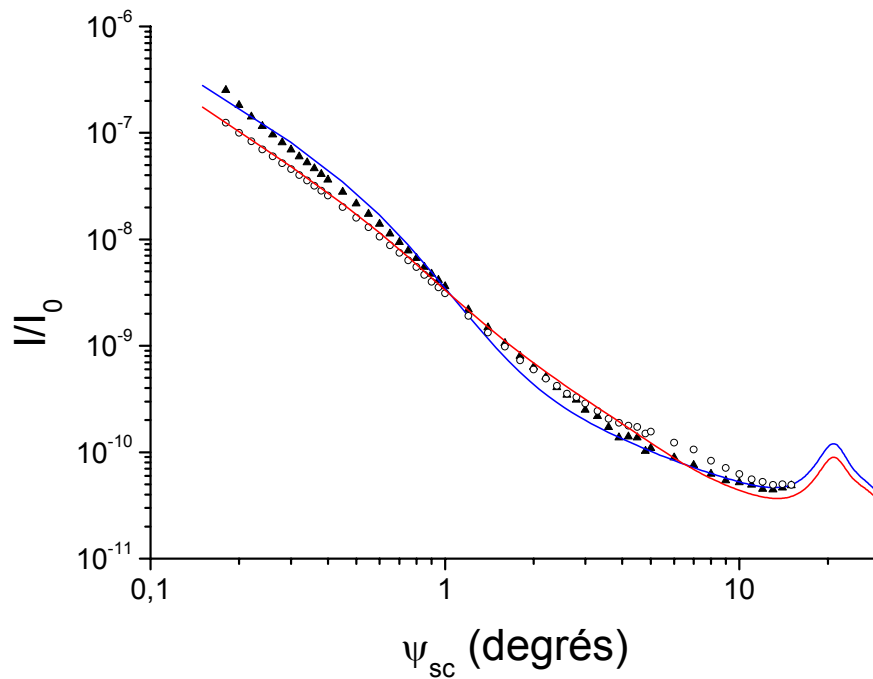
Fig. 4.26 : Détermination de la précision de κ . Celle-ci est déterminée telle que

$$\chi_{\kappa_{\min}}^2 = \chi_{\kappa_{\max}}^2 = 2 \chi_{\min}^2$$

Les meilleurs ajustements obtenus sont présentés Figs. 4.27 (DPPC) et 4.28 (DPPG) et les rigidités de courbures correspondantes sont synthétisées tableau 4.3 :



(a)

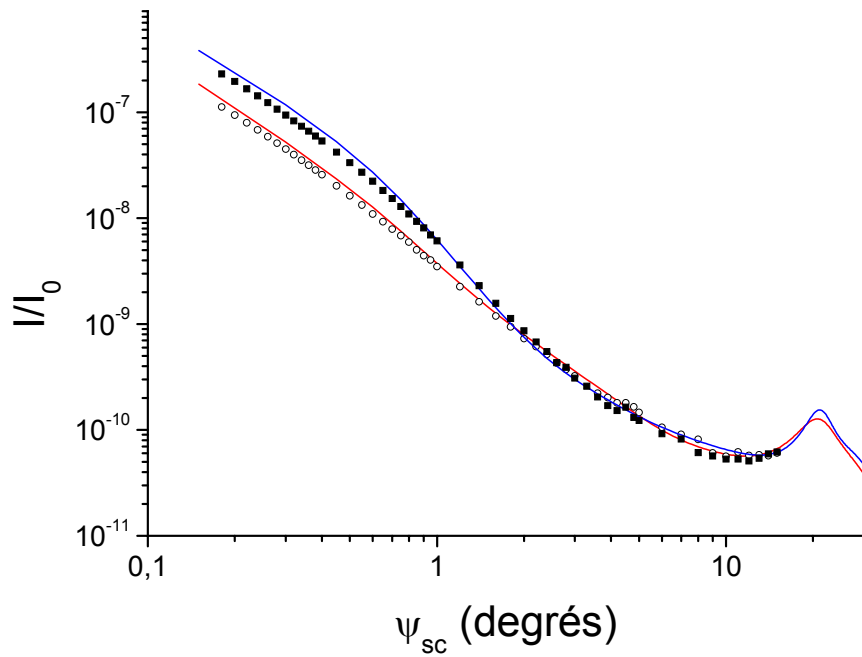


(b)

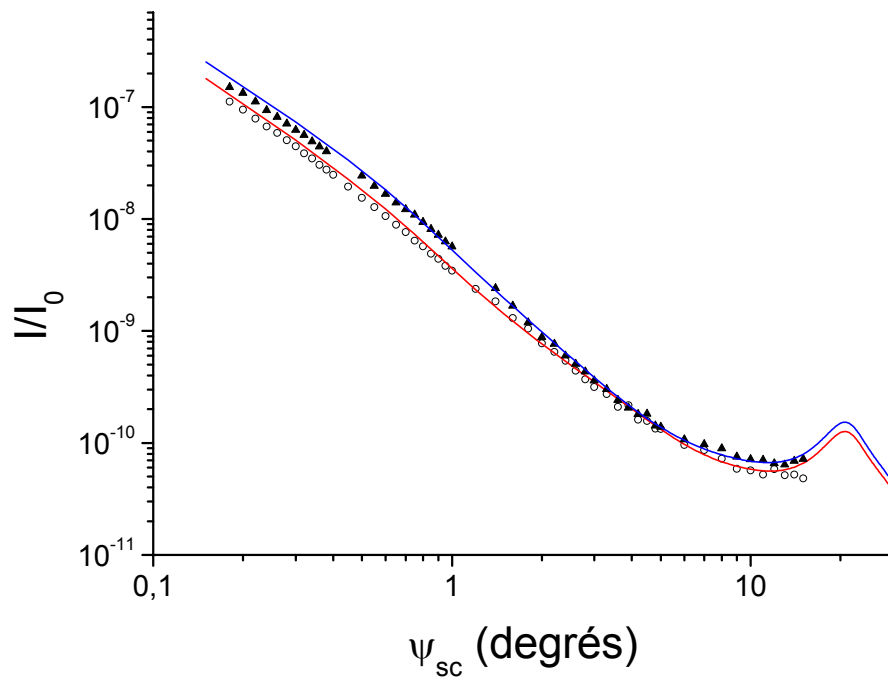
Fig. 4.27 : Courbes de diffusion diffuse mesurées dans le plan de l'échantillon et leur meilleur ajustement (ligne).

(a) Monocouches de DPPC aux pressions de surfaces $\pi=15\text{mN/m}$ (cercles), 30mN/m (triangles) et 40mN/m (carré)

(b) Monocouches de DPPC+PGLa aux pressions de surfaces $\pi=15\text{mN/m}$ (cercles) et 30mN/m (triangles)



(a)



(b)

Fig. 4.28 : Courbes de diffusion diffuse mesurées dans le plan de l'échantillon et leur meilleur ajustement (ligne).

- (a) Monocouches de DPPG aux pressions de surfaces $\pi=15\text{mN/m}$ (cercles) et 40mN/m (carrés)
- (b) Monocouches de DPPG+PGLa aux pressions de surfaces $\pi=15\text{mN/m}$ (cercles) et 30mN/m (triangles)

Tableau 4.3 : Rigidités de courbures des différentes monocouches et Barre d'erreur autour de κ après calcul du χ^2

| Molécule | DPPG | DPPG | DPPG + PGLa | DPPG + PGLa | DPPC | DPPC | DPPC | DPPC + PGLa | DPPC + PGLa | |
|----------------------------------|------|------|-------------|-------------|------|------|------|-------------|-------------|-----|
| Pression de Surface (mN/m) | 15 | 40 | 15 | 30 | 15 | 30 | 40 | 15 | 30 | |
| Rigidité de courbure ($k_B T$) | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 0 | 18 | |
| Marge d'après le χ^2 | - | 0 | -4 | 0 | -1 | 0 | 0 | -6 | 0 | -10 |
| | + | +1 | +12 | +1 | +1 | +2 | +1 | +12 | +16 | +16 |

On peut, dans un premier temps, noter que dans le cas d'une monocouche de DPPC+PGLa à 30mN/m, une rigidité de courbure apparaît alors qu'elle n'est pas observée pour un film de DPPC seul. De plus, cette rigidité est proche de celle de la monocouche de DPPC à 40mN/m. Ce qui irait dans le sens de l'hypothèse précédente disant que lors de sa compression, un film de DPPC en présence de PGLa présente une structure correspondant à une pression de surface effective supérieure à la pression de surface de mesure.

Les valeurs obtenues pour la rigidité de courbure (κ) sont inférieures à celles que l'on pourrait attendre sur la base de précédents travaux [19, 27, 37, 43-48] où κ est de l'ordre de quelques dizaines de $k_B T$, voir de centaines de $k_B T$ [19]. Cette différence peut s'expliquer par un choix différent au niveau des échantillons. Dans notre cas, nous étudions la rigidité de monocouches, alors qu'une grande partie des précédents travaux [45-47] s'intéressent à la rigidité d'une bicouche. Or, l'énergie nécessaire pour courber une simple couche est inférieure à celle nécessaire pour courber simultanément 2 couches. Pour les travaux ayant optés pour l'étude d'une monocouche [19, 27, 43, 37], la différence se situe dans le choix de la molécule étudiée. En effet, ces travaux utilisent des monocouches constituées d'un acide gras (l'acide Béhénique) constitué de 22 atomes de carbone. Dans notre cas, la queue de nos molécules (qui est la partie la plus importante pour la rigidité de la monocouche) est constituée de 16 atomes de carbones. Or, un des facteurs important, étant à la base de la rigidité, est la longueur de la molécule. Plus la molécule sera longue, plus il y aura d'interaction entre deux molécules voisines et plus l'énergie nécessaire pour courber la monocouche (c'est-à-dire la rigidité de courbure) sera grande. Nos molécules étant plus courtes, il est normal que nous observions une valeur de κ plus petite.

Les faibles valeurs observées (voir l'absence) de κ peuvent être imputées à différents facteurs :

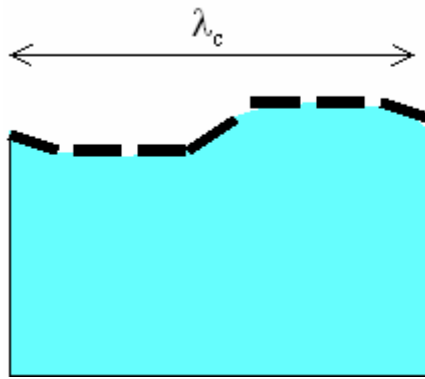
- Une monocouche de phospholipides n'est pas constituée d'un cristal large et unique, mais d'un ensemble de petits domaines cristallins. En conséquence, le coût énergétique nécessaire à la courbure de ce polycristal est inférieur à celui nécessaire pour courber un monocristal. En effet, dans le cas du polycristal, il y a une forte probabilité que la courbure provoque un déplacement latéral ou vertical des domaines. Donc, lors de l'apparition d'une fluctuation de hauteur, l'interface rencontrera peu de résistance de la part de la monocouche, seul quelques domaines cristallins (leur nombre dépendant de l'état de compression de la monocouche. Plus elle est compacte, plus il sera difficile de

faire bouger les cristaux) s'opposeront à cette courbure de l'interface. Si on considère que la rigidité de la monocouche est une moyenne entre la rigidité (dominante) des zones entre deux domaines (où se produisent les déplacements) et celle des domaines cristallins, il est logique que cette rigidité moyenne soit faible, voir nulle.

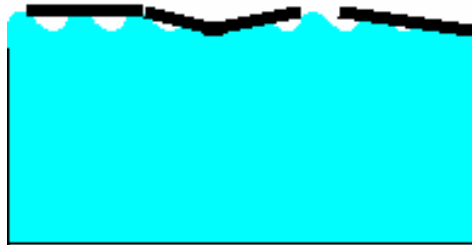
- Les ondes capillaires à l'origine de la courbure de la surface correspondent à des longueurs d'ondes (λ_c) différentes selon l'échelle d'observation (lors de nos expériences, nous sondons $0,6\text{nm} < \lambda_c < 63\text{nm}$). Ainsi, pour qu'un domaine cristallin, composant la monocouche, « impose » sa rigidité et empêche la courbure de l'interface, provoquée par une onde capillaire, il faut qu'une des longueurs de cohérence de ce domaine (au minimum de dimension $5,6\text{nm} \times 11,3\text{nm}$ pour le DPPC et $11,3\text{nm} \times 11,3\text{nm}$ pour le DPPG) soit supérieure à la longueur de l'onde capillaire sondée (Fig. 4.29). Autrement dit, si la dimension des domaines est inférieure à la longueur de l'onde capillaire, la monocouche suit la courbure de la surface et ne l'empêche pas. On enregistrera, en conséquence, peu ou pas de rigidité pour le film. Au contraire, si les domaines ont une dimension supérieure à la longueur de l'onde capillaire, ils vont imposer leur rigidité à la surface et l'empêcher de se courber. Dans ce cas, il sera possible d'observer la valeur de la rigidité du film.

Pour pouvoir atteindre les longueurs d'ondes suffisamment courtes pour observer la rigidité du film, il est nécessaire de se placer à des $Q_{//} > Q_{\text{courbure}}$. Malheureusement, pour l'échelle de rigidités qui semblent être celle de nos monocouches, cette valeur limite de Q_{courbure} (de l'ordre de 1^{10} m^{-1} , soit 14°) est située dans la zone de la courbe où la contribution du volume de la sous phase domine la diffusion, et notre modèle n'est pas suffisamment sensible à de faible variation de κ .

Afin de résoudre ce problème de sensibilité, il faut déplacer la valeur limite Q_{courbure} vers les petits $Q_{//}$. Pour cela, le seul paramètre sur lequel nous pouvons agir est la tension de surface, qui doit être diminuée. Dans ce but, nous avons décidé de nous placer à une interface liquide/liquide.



(a)



(b)

Fig. 4.29 : Comparaison de la longueur des ondes capillaires (λ_c) avec la taille d'un domaine cristallin.

- (a) cas où $\lambda_c >$ taille du domaine. La monocouche suit la courbure de la surface
- (b) cas où $\lambda_c <$ taille du domaine. La monocouche « impose » sa rigidité et empêche la courbure de la surface.

Chapitre 5:

Diffusion Diffuse, dans le plan d'incidence, à l'interface liquide/liquide

En nous plaçant à une interface Liquide/Liquide, plus précisément à une interface située entre deux liquides non miscibles, que sont, dans notre cas, de l'huile (hexadécane) et de l'eau ultra pure, notre but est de diminuer la tension de surface (γ) de l'interface ^[49] afin de décaler, vers les petits $Q_{//}$ (ou petits angles de mesures), le vecteur de diffusion limite Q_{courbure} (Fig. 5.1). Ce qui permettra d'avoir un meilleur accès et de meilleures données sur la rigidité de courbure. Celle-ci dominant, de ce fait, le spectre de fluctuation de hauteur plus tôt, et plus particulièrement avant que la contribution du volume de la sous phase ne deviennent trop importante.

Cette diminution de γ va provoquer une augmentation de la rugosité de surface (Eq. 4.16), ce qui correspondra à deux types de modifications physiques de la surface (Fig. 5.2) :

- Tout d'abord, l'augmentation de la rugosité va se traduire par une diminution de la longueur des ondes capillaires que l'on sonde (λ_c).
- Et dans le même temps, cette augmentation de la rugosité va correspondre à une augmentation de l'amplitude des ondes capillaires (L_{cap}).

Une autre conséquence de la diminution de γ va être une augmentation de l'intensité diffusée. Ce qui permettra une meilleure statistique lors des comptages du nombre de photons diffusés (Fig. 5.1).

Enfin, en se plaçant à ce type d'interface, on se rapproche un peu plus des conditions naturelles de l'environnement d'une membrane cellulaire (ces dernières étant naturellement dans un environnement liquide)

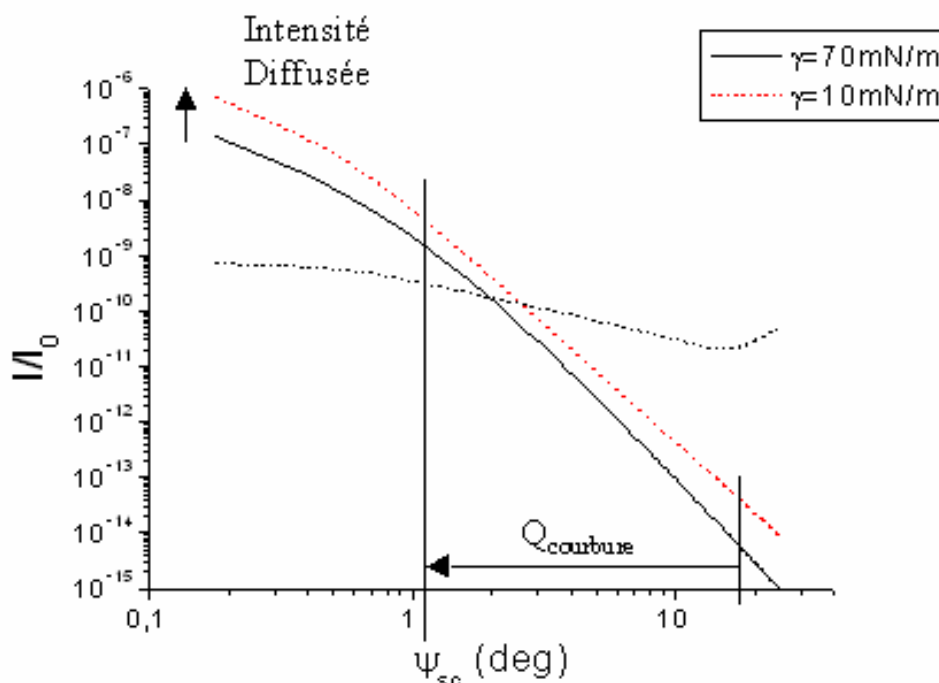


Fig. 5.1 : Effet de la diminution de la tension de surface. Seul la tension de surface varie entre ces deux courbes, la rigidité de courbure est quant à elle fixée.

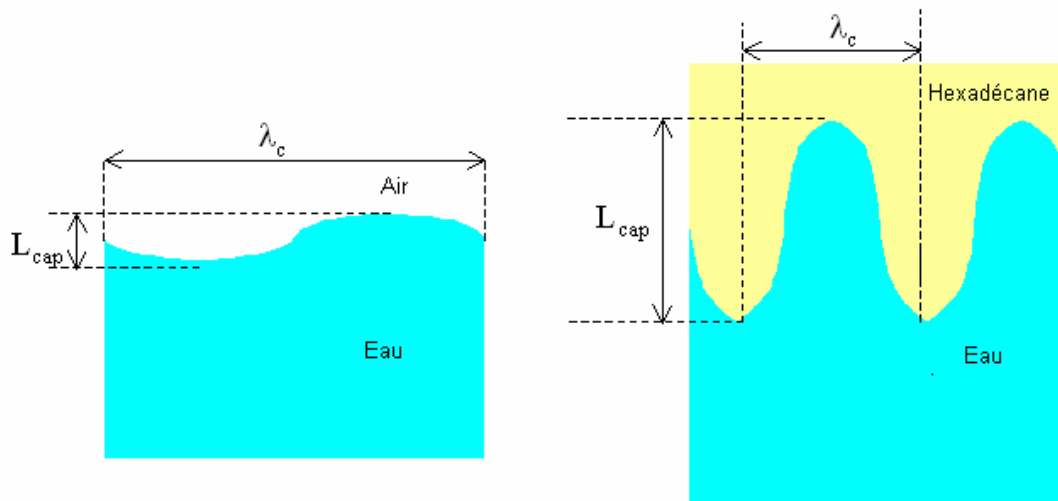


Fig. 5.2 : Effet de l'augmentation de rugosité de la surface. La longueur des ondes capillaires (λ_c) va être diminuée et leur amplitude (L_{cap}) augmentée

Préalablement à chaque expérience de diffusion et afin de déterminer le profil de densité de l'interface étudiée, des mesures de réflectivité ont été réalisées.

De plus, réaliser des expériences de rayons X sur ce genre d'interface nécessite quelques conditions particulières, principalement dues à la présence de la couche d'huile.

5.1/Conditions particulières pour une interface liquide/liquide

5.1.1/ Tension de surface

Pour ces expériences, la force mesurée par la lame de Wilhelmy n'est pas la même que celle mesurée dans le cas d'une interface Air/Liquide (Eq. 1.3). En effet, contrairement à l'interface air/eau, pour accéder à l'interface huile/eau, la lame de Wilhelmy doit auparavant traverser le liquide supérieur, ce qui revient à dire qu'elle doit dans un premier temps subir les forces s'exerçant à l'interface air/huile, puis dans un second temps, subir les forces s'appliquant à l'interface huile/eau. En conséquence, la force net F' exercée par le système de mesure, afin de compenser les forces s'appliquant sur la lame de Wilhelmy, va être différente de celle décrite au chapitre 1.2 (Fig. 5.3).

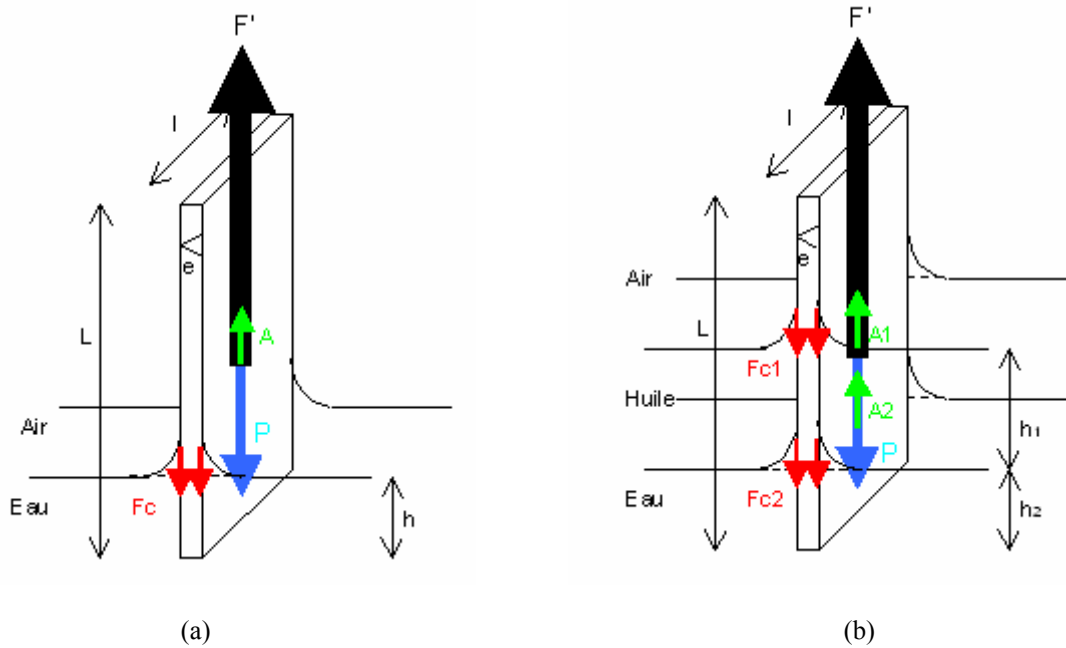


Fig. 5.3 : Forces s'appliquant sur la lame de Wilhelmy. P est le Poids de la lame, A la force d'Archimède et Fc, la force capillaire liée à la tension de surface. F' est la force à exercer pour compenser la somme des autres forces. (a) à l'interface air/eau et (b) aux interfaces air/huile/eau

On peut donc, dans le cas de l'interface liquide/liquide, écrire :

$$F' = P + A_1 + Fc_1 + A_2 + Fc_2 \quad (5.1)$$

$$F' = -\rho_p L l e g + \rho_H h_1 l e g - 2(l + e)\gamma_1 \cos(\theta_1) + \rho_E h_2 l e g - 2(l + e)\gamma_2 \cos(\theta_2) \quad (5.2)$$

avec L : longueur de la lame, l : largeur de la lame, e : épaisseur de la lame, ρ_p : densité de la lame, ρ_H : densité de l'huile, ρ_E : densité de l'eau, h_1 : hauteur de la lame immergée dans l'huile, h_2 : hauteur de la lame immergée dans l'eau, γ_1 : tension de surface air/huile, γ_2 : tension de surface huile/eau, θ_1 : angle de contact à l'interface air/huile, θ_2 : angle de contact à l'interface huile/eau.

Tout comme dans le cas des interfaces air/liquide, la taille du papier ainsi que la hauteur immergée dans chaque liquide reste constante. De plus, l'utilisation d'un papier à chromatographie, comme lame, présente l'avantage d'avoir des angles de contact θ_1 et $\theta_2=0$, celui-ci ayant une bonne mouillabilité pour les deux liquides utilisés.

L'équation 5.2 peut donc se simplifier par :

$$F' = C - 2(l + e)(\gamma_1 + \gamma_2) \quad (5.3)$$

avec $C = \text{constante} = -\rho_p L l e g + \rho_H h_1 l e g + \rho_E h_2 l e g$.

Après dépôt d'une monocouche à l'interface, le système mesurera la différence de force à appliquer entre l'interface recouverte de la monocouche (F') et l'interface non recouverte (F'_0). La seule différence entre les deux systèmes étant due à une variation de la

tension de surface à l'interface huile/eau (γ_2 sur la figure 5.2.b devenant γ après dépôt de la monocouche).

On a donc :

$$\begin{aligned}
 \Delta F' &= F' - F'_0 \\
 &= 2(l + e)((\gamma_1 + \gamma_2) - (\gamma_1 + \gamma)) \\
 &= 2(l + e)(\gamma_2 - \gamma) \\
 &= 2(l + e)\pi
 \end{aligned}
 \tag{5.4}$$

Tout comme dans le cas d'une interface air/liquide, la pression de surface π , renvoyée par le système de mesure, correspond au changement de tension de surface de l'interface où la monocouche est déposée.

Une isotherme a été réalisée à l'interface huile/eau pour une monocouche de DPPG et comparée à une isotherme réalisée, dans les mêmes conditions (même cuve, même température, etc.), à l'interface air/eau (Fig. 5.4).

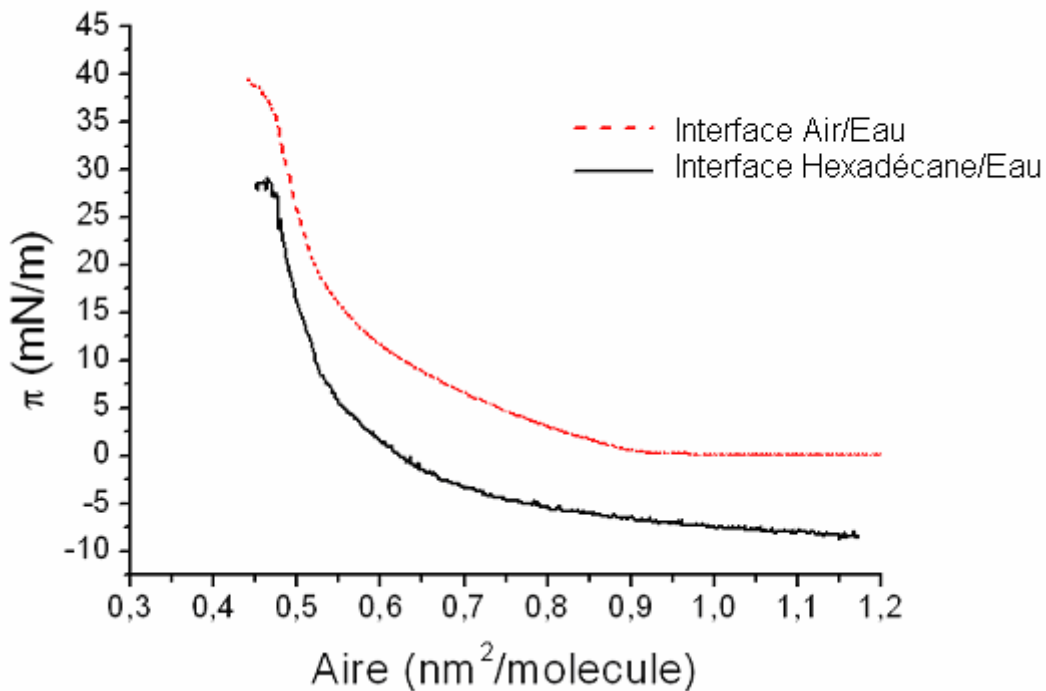


Fig. 5.4 : Comparaison entre l'isotherme obtenue pour une monocouche de DPPG réalisée à l'interface air/eau, et la même monocouche réalisée à l'interface hexadécane/eau

On constate que les deux courbes ont le même comportement, ce qui peut nous laisser supposer que les deux films sont identiques et auront un comportement similaire, au moins vis-à-vis de leur rigidité de courbure. Seul un décalage, de la pression de surface, de -10 mN/m, est observé dans le cas de la monocouche à l'interface huile/eau. Ce décalage peut être attribué à notre méthode de calibration du système de mesure. Celui-ci ayant été fait sur une interface air/eau et non air/huile/eau, et de la façon suivante :

- Après mouillage du papier par de l'eau ultra pure, celui-ci est mis hors de l'eau (c'est-à-dire à tension de surface nulle ($\gamma=0$)) et la valeur affichée pour π (correspondante à $\gamma_0-\gamma=\gamma_0$ dans ce cas) a été réglée à 72mN/m. On a donc $\gamma_{0\text{calibration}}=72\text{mN/m}$.
- Ensuite, la lame est mise en contact avec l'interface air/eau et un réglage de la pression de surface à 0 a été effectué. Dans ce cas, si $\pi=0$, cela signifie que $\gamma_0-\gamma=0$, c'est-à-dire γ (tension de surface de l'interface) = 72mN/m.

Or, lors de la mise en place de la couche d'hexadécane, le système de mesure (pour lequel les réglages sont fixés) ne va plus mesurer la tension de surface air/eau, mais la somme de la tension de surface de l'interface air/hexadécane ($\gamma_1=27,2$ mN/m) et de l'interface hexadécane/eau ($\gamma_2=55,2$ mN/m).

On a donc une pression de surface mesurée et affichée de :

$$\begin{aligned}\pi_{\text{aff}} &= \gamma_{0\text{calibration}} - \gamma \\ &= \gamma_{0\text{calibration}} - (\gamma_1 + \gamma_2) \\ &= 72 - 82,4 = -10,4 \text{ mN/m}\end{aligned}$$

On retrouve bien le décalage de 10mN/m observé, sur la Fig. 5.4.

De même, pour la suite de la mesure et les expériences à l'interface liquide/liquide, il faut considérer que la pression de surface affichée π_{aff} correspond à :

$$\begin{aligned}\pi_{\text{aff}} &= \gamma_{0\text{calibration}} - \gamma^2 \\ &= ((\gamma_1 + \gamma_2) - 10,4) - (\gamma_1 + \gamma) \\ &= \gamma_2 - \gamma - 10,4 \\ &= \pi_{\text{réel}} - 10,4\end{aligned}$$

Une comparaison des deux isothermes, après application de la correction sur la pression de surface, confirme bien un comportement similaire entre les deux films. (Fig. 5.5)

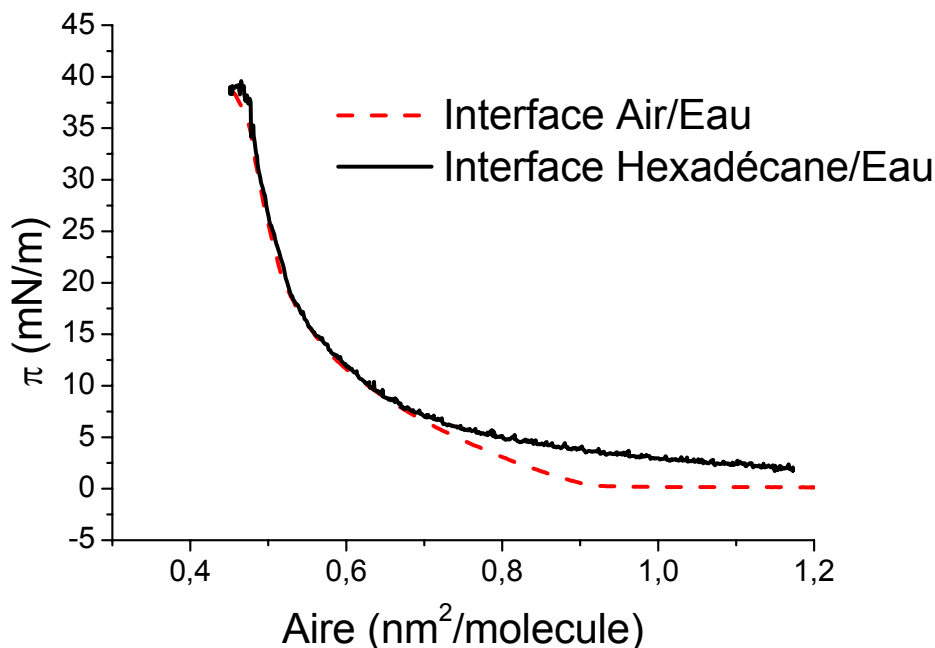


Fig. 5.5 : Comparaison des isothermes de la Fig. 5.4 après correction de la pression de surface de 10,4 mN/m

5.1.2/ Configuration expérimentale

Pour cette série d'expérience, les mesures de diffusion ont été effectuées dans le plan d'incidence (Grazing Incidence diffuse Scattering in incident Beam Plan (GISBP)). C'est-à-dire que par rapport à la configuration précédente (Fig. 2.11), l'angle ψ_{sc} est fixé à 0° et l'intensité diffusée est mesurée selon l'angle β . Avec cette géométrie, seules les composantes Q_z et Q_x , du vecteur de diffusion Q , vont varier (Fig. 5.6).

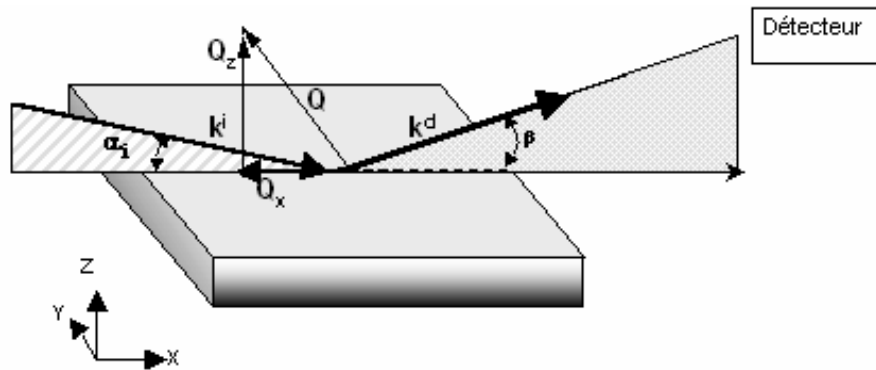


Fig. 5.6 : Géométrie de l'expérience : Le faisceau atteint l'échantillon selon un angle α_i et le faisceau diffusé est mesuré en fonction de l'angle β .

L'énergie sélectionnée est de 22KeV ($\lambda=0,055\text{nm}$) afin que les faisceaux incident et diffusé puissent traverser la couche d'hexadécane, sur toute sa largeur, sans être totalement absorbés par l'hexadécane, et qu'ils gardent ainsi une intensité suffisante pour pouvoir enregistrer un signal lors des mesures. Si l'expérience était réalisée à une énergie de 8keV, comme précédemment, le faisceau verrait, en traversant l'hexadécane, son énergie diminuer d'un facteur $1/e$ tous les 3,5mm (Fig. 5.7). Ce qui, pour garder une intensité correcte en sortie, obligerait à utiliser une cuve de largeur trop petite pour obtenir une région sur la surface de longueur supérieure à l'empreinte du faisceau incident ($\sim 44\text{mm}$ selon nos réglages) et aussi plane que possible (paramètre important pour les expériences de rayons X). Au contraire, en se plaçant à une énergie de 22keV, l'énergie du faisceau, traversant l'hexadécane, diminuera d'un facteur $1/e$ tous les 40 mm. Ce qui laisse la possibilité d'utiliser une cuve de largeur beaucoup plus raisonnable.

Le détecteur utilisé est un détecteur à scintillation, qui ne présente pas de séparation en canaux comme dans le cas du PSD, et il peut être considéré comme un canal unique dont les dimensions sont réglées par la fente S2.

Les fentes, placées avant (S0) et après l'échantillon (S1 et S2), sont réglées aux dimensions suivantes : $h_i=0,017\text{ mm}$, $w_i=1\text{ mm}$ (taille physique du faisceau), $h_c=0,300\text{mm}$, $w_c=8\text{mm}$, $h_d=0,300\text{mm}$, $w_d=8\text{mm}$ et placées à des distances $L_c=300\text{mm}$ et $L_d=761\text{mm}$

Le faisceau incident doit pénétrer l'hexadécane par le côté (comme indiqué sur la Fig. 5.8a). En effet, s'il devait traverser successivement une interface air/hexadécane, puis une interface hexadécane/eau, la diffusion parasite (du fait de la différence de densités électroniques entre l'hexadécane et l'air) provenant de la première interface serait trop forte pour que l'on puisse observer la diffusion provenant de la seconde interface.

Pour ce niveau d'énergie, les absorbeurs en aluminium utilisés précédemment (quand cela est nécessaire pour protéger le détecteur) sont remplacés par des absorbeurs constitués de la superposition croissante de feuille de cuivre de 40 μ m d'épaisseur chacune.

Les expériences sont réalisées à une température de 23°C, afin de se placer au-dessus du point de fusion de l'hexadécane et ainsi éviter que celui-ci ne se fige, notamment autour de la lame de Wilhelmy, car cela aurait pour conséquence de fausser la mesure de la pression de surface, et donc de la tension de surface (le poids du « glaçon » d'hexadécane exerçant une force supplémentaire sur la lame de Wilhelmy).

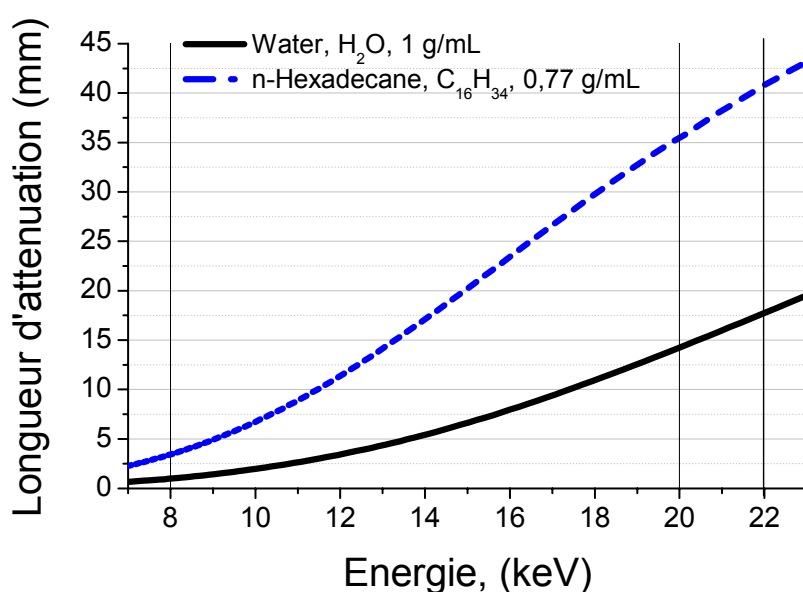


Fig. 5.7 : Comparaison de la longueur d'atténuation d'un faisceau traversant un volume d'eau (ligne continue) et un volume d'hexadécane (ligne pointillée) en fonction de son énergie

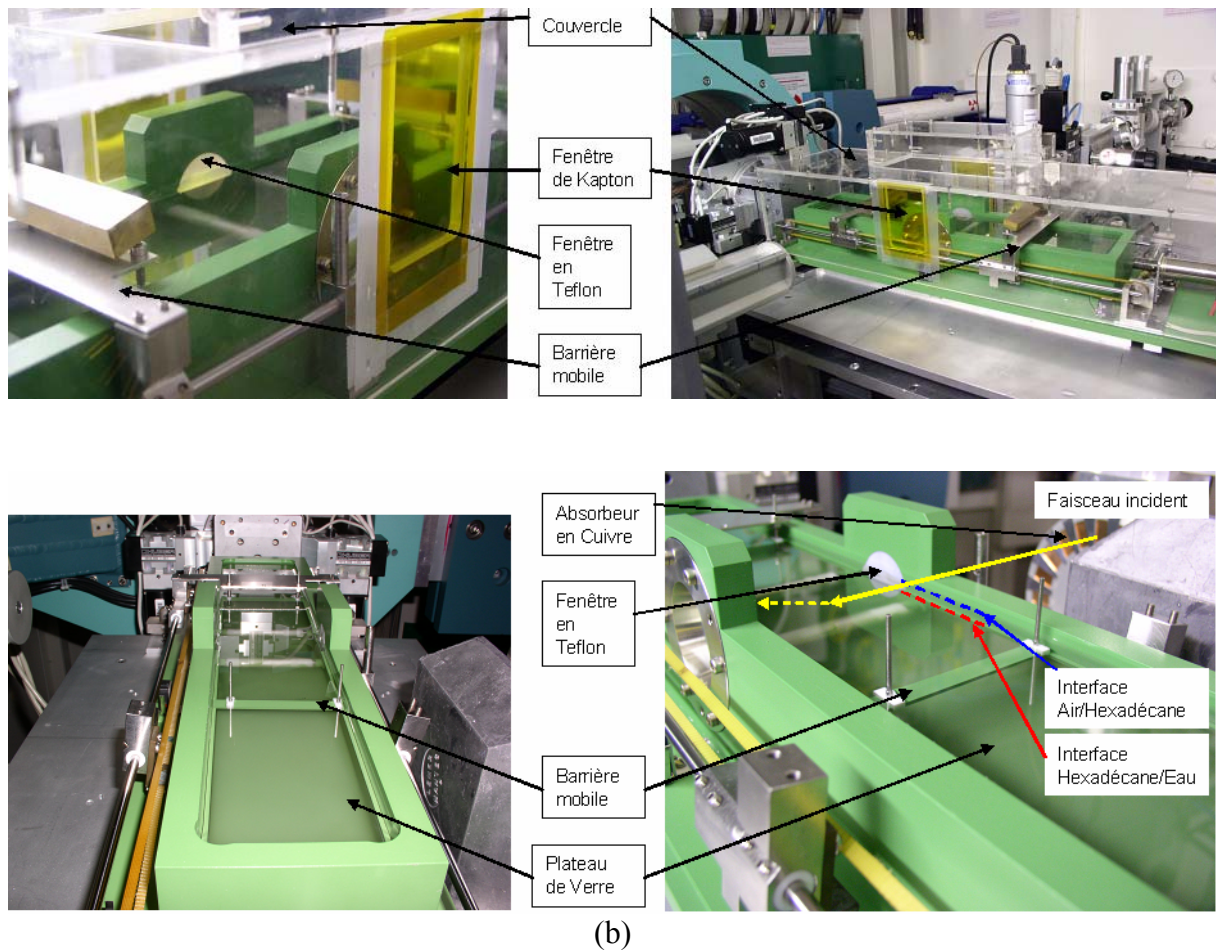
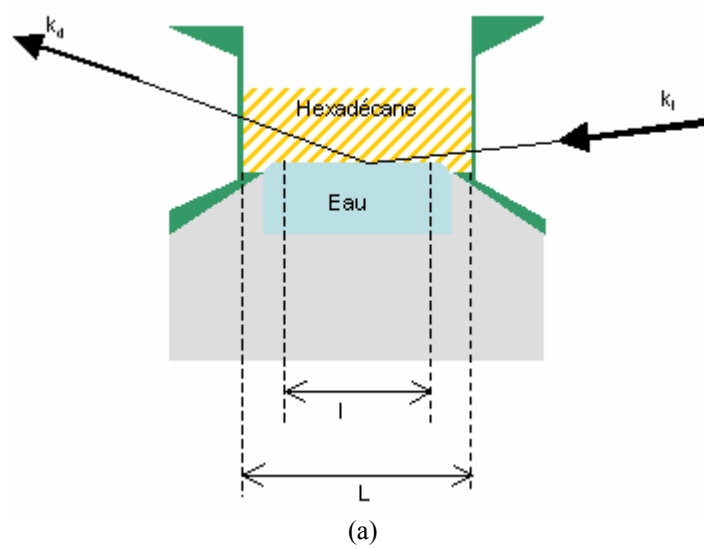


Fig. 5.8 : (a) Vue en coupe de la cuve utilisée pour les expériences à l'interface liquide/liquide. L représente la largeur intérieure de la cuve et l est la surface utile de l'interface.
 (b) Photos de la cuve dans son ensemble, avec et sans le couvercle de protection.

5.1.3/ La Cuve

Une cuve spécialement conçue pour les expériences à l'interface liquide/liquide a été prêtée par l'équipe de Jean Daillant, du laboratoire LIONS, CEA Saclay (Fig. 5.8).

Afin de permettre à nos deux liquides non miscibles de garder une organisation en couches superposées et d'éviter que lors du dépôt de l'hexadécane, celui-ci ne passe sous la couche d'eau pour l'englober totalement, aboutissant ainsi à une sphère d'eau dans une phase d'hexadécane, la cuve n'est pas totalement réalisée en Téflon, mais en deux matériaux ayant une affinité opposée pour l'eau. Ainsi, la base de la cuve a été fabriquée en verre (hydrophile), et la partie haute, ainsi que les fenêtres permettant de laisser passer le faisceau, sont en Téflon (hydrophobe). Les bords de l'interface sont ainsi maintenus à la frontière entre ces deux matériaux, et le réglage du niveau de l'eau (par aspiration ou injection d'eau par l'intermédiaire d'une pipette, directement sous l'interface hexadécane/eau) permet d'obtenir une surface aussi plane que possible, c'est à dire sans distorsions dues aux ménisques. De même, afin de permettre la compression des monocouches déposées à l'interface hexadécane/eau, la cuve est équipée de barrières en verre partiellement recouvertes de Téflon. La face en contact avec l'eau n'est pas recouverte pour éviter que la surface de l'eau ne se déforme à son contact, ce qui pourrait permettre à la monocouche de passer sous la barrière et donc empêcherait toute compression.

Comme expliqué au chapitre précédent, la largeur intérieure L de la cuve est également un paramètre essentiel. Il faut, en effet, réaliser un compromis entre une largeur suffisamment faible pour réduire au maximum l'absorption de l'énergie du faisceau par l'hexadécane (Fig. 5.7), et une largeur suffisamment grande pour qu'il soit possible d'obtenir une zone aussi plate que possible entre les deux ménisques (surface utile de l'interface pour l'expérience, largeur l) (Fig. 5.8a). La longueur du trajet à parcourir par le faisceau pour la cuve que nous avons utilisée est de 70mm ($L=70$ mm).

Le système utilisé pour mesurer la pression de surface est le même système NIMA que celui utilisé pour les expériences de diffusion à l'interface air/liquide.

Dans le but de limiter l'évaporation de l'hexadécane et de protéger l'échantillon d'éventuelles poussières, un couvercle est ajouté par-dessus la cuve. Ce couvercle possédant deux fenêtre en Kapton, au même niveau que les fenêtres en Téflon de la cuve, pour les faisceaux incident et diffusé.

5.1.4/ Bruit de fond

Tout comme dans le cas des expériences à l'interface air/liquide, il est important de tenir compte de la contribution de toutes les sources de diffusion pouvant parasiter le faisceau que l'on cherche à mesurer.

Selon l'expérience envisagée (Réflectivité ou Diffusion Diffuse) la technique de mesure du bruit de fond est différente. Nous décrirons chacune d'elle dans les chapitres dédiés à chaque type d'expérience.

5.1.5/Purification de l'hexadécane

L'hexadécane a été acheté chez Sigma à une pureté de 99%. Il a ensuite été purifié avant son utilisation. Pour cela, de l'eau ultra pure a été ajoutée, dans une bouteille, à de l'hexadécane. Le mélange a ensuite été fortement mélangé afin de créer une émulsion pour augmenter la surface d'échange entre les deux liquides. Les impuretés amphiphiles de l'hexadécane étant supposées se placer à l'interface entre les deux liquides. Après un délai d'attente, une fois la séparation de phase des deux liquides non miscible atteinte, l'hexadécane est pompé au-dessus de l'interface hexadécane/eau. L'opération est répétée cinq fois, et l'hexadécane pompé après le cinquième mélange est déposé dans la cuve par-dessus la sous phase d'eau.

Une fois l'hexadécane déposé dans la cuve, l'interface entre les deux liquides est compressée, par action des barrières de la cuve, et la surface comprise entre les barrières est légèrement aspirée afin d'enlever les dernières impuretés.

Une seconde technique de purification, plus simple et plus efficace, a été mise au point après ces expériences. Celle-ci a été utilisée pour purifier l'hexadécane utilisé lors de la mesure des isothermes présentées Fig.5.5.

Une colonne à chromatographie a été remplie avec de l'oxyde d'aluminium (Basique, Activé) (Al_2O_3). L'hexadécane a, ensuite, été filtré cinq fois à travers cette colonne. Les impuretés contenues dans l'hexadécane interagissent avec l'oxyde d'aluminium et sont retenues, par ce dernier, dans la colonne.

5.1.6/ Préparation des monocouches

Une fois les deux liquides en place dans la cuve, 150 μL , de la solution de DPPG solubilisés dans du chloroforme (cf. chapitre 1.3.1), sont déposés goutte à goutte à l'interface entre les deux liquides, à l'aide d'une microseringue.

Après une durée de 20 min nécessaire au chloroforme pour s'évaporer, la monocouche est compressée à une vitesse de 15 cm^2/min .

Pour les films de DPPG+Peptides, la monocouche de phospholipides est réalisée en premier et compressée à la pression de surface de 15mN/m. Ensuite, 50 μL de PGLa, solubilisée dans du tampon phosphate (cf. chapitre 1.3.1), sont injectés dans la sous phase d'eau. Un délai de 10 min est laissé à la PGLa pour s'insérer dans la monocouche. Pendant ce délai, la variation de l'aire par molécule est laissée libre et la pression de surface est fixée

5.3/ Résultats

5.3.1/ Mesure de Réflectivité

Ces expériences ont été réalisées dans le but de déterminer le profil de densité de chaque monocouche. Elles consistent à mesurer, pour différents angles d'incidence α_i , l'intensité du faisceau réfléchi (c'est-à-dire le faisceau diffusé pour lequel $\beta=\alpha_i$) par l'interface.

Dans le cas d'une surface rugueuse, l'intensité du faisceau réfléchi va être liée au profil de densité électronique et la rugosité de l'interface^[50] (Fig. 5.9).

$$\frac{I}{I_0} = R_f(Q_z) \times |F(Q_z)|^2 \times e^{-(Q_z \sigma)^2} \quad (5.5)$$

où R_f est le coefficient de Fresnel pour l'interface étudiée, $|F(Q_z)|^2$ est le transformé de Fourier de la densité électronique selon z ($\frac{\partial \rho(z)}{\partial z}$). Mesurer l'intensité du faisceau réfléchi permettra donc de remonter au profil de densité de l'interface recouverte d'une monocouche.

Dans le cas de nos expériences, α_i et β varient de $0,02^\circ$ à $1,6^\circ$.

5.3.1.1/ Bruit de fond^[50]

Comme expliqué plus haut, lors de nos expériences, le bruit de fond est important et doit être pris en compte. Dans le cas des expériences à l'interface liquide/liquide, celui-ci est dû à la diffusion par le volume d'hexadécane et à la diffusion par un volume de liquide situé sous l'interface (Fig. 5.9).

La méthode la plus simple, pour mesurer ce bruit de fond, consiste, pour chaque valeur fixe de Q_z que l'on veut mesurer, à explorer le voisinage en Q_x (Fig. 5.9). Pour cela on fait pivoter l'échantillon verticalement, ou, ce qui est équivalent, on fait varier simultanément l'angle α_i de $+\Delta\alpha_i$ et β de $-\Delta\alpha_i$, et on mesure le faisceau réfléchi correspondant. On obtient ainsi, pour un Q_z donné, ce qui est appelé une « Rocking Curve » (Fig. 5.10a). Il est ensuite possible, à partir des « Rocking curves » (Fig. 5.10b), d'estimer le bruit de fond qu'il sera nécessaire de soustraire pour avoir une courbe ne représentant que le signal réfléchi (Fig. 5.10c).

Dans notre cas, $\Delta\alpha_i = 0,03^\circ$

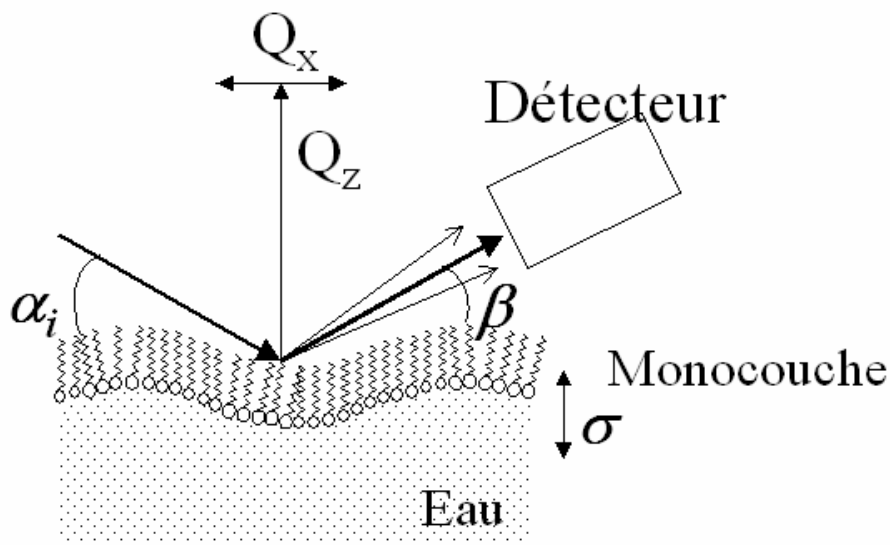
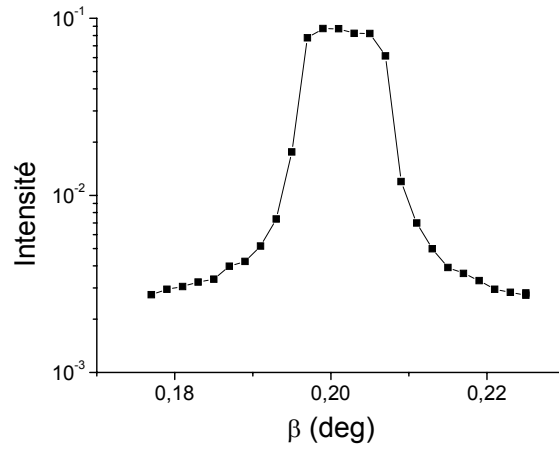
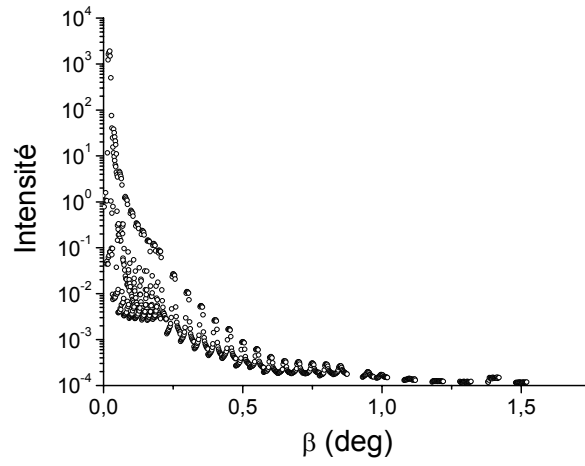


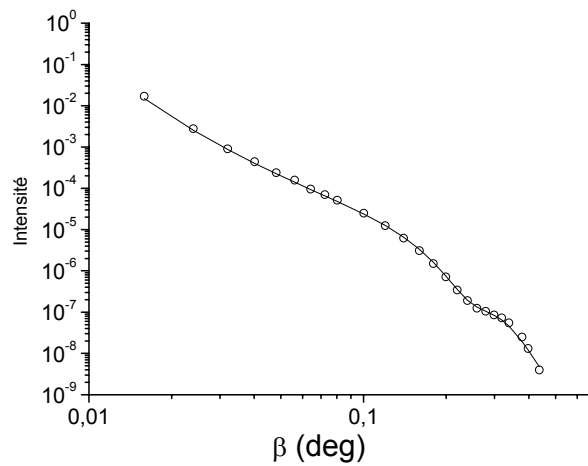
Fig. 5.9 : Bruit de fond autour d'un Q_z fixé. α_i est l'angle d'incidence, β l'angle de mesure et σ la rugosité de l'interface



(a)



(b)



(c)

Fig. 5.10 : Pour une monocouche de DPPG à $\pi=30\text{mN/m}$:

(a) Exemple de « Rocking Curve »

(b) Courbe complète de toutes les « Rocking curves »

(c) Le signal obtenu après soustraction du bruit de fond (les points représentent la courbe expérimentale et la ligne continue est le meilleur ajustement)

5.3.1.2/ Profil de densité électronique

Afin de déterminer le profil de densité électronique, les courbes expérimentales (Fig. 5.11) ont été ajustées (Exemple fig. 5.10c) en utilisant un profil de densité électronique calculé selon l'algorithme de Parratt^[38]. Ce dernier consiste à découper le profil de densité en plusieurs tranches d'épaisseurs, Δz , infinitésimale, puis à calculer la densité électronique correspondante à chaque z .

Le profil de densité électronique ainsi reconstruit (Fig. 5.12) est caractérisé par trois niveaux de densités constantes (partie horizontale de la courbe) reliés par deux gaussiennes.

Les niveaux de densités constantes correspondent à :

1. La densité électronique de l'hexadécane (les faisceaux incidents et réfléchis traversant ce milieu)
2. La densité électronique des queues des phospholipides (qui peut être assimilée à la densité moyenne de la monocouche)
3. La densité électronique de l'eau.

Les gaussiennes représentent l'excès de densité observé au niveau des têtes et la diminution de la densité au niveau des groupements méthyles situés à l'extrémité des queues. Ces deux gaussiennes sont caractérisées par leur largeur et leur amplitude par rapport à la densité électronique des queues.

Le profil de densité électronique obtenu (Fig. 5.12) peut finalement être décrit par la fonction :

$$\rho(z) = \begin{cases} \rho_{ch2} - \Delta\rho_m \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{z}{\sigma_m}\right)^2\right) + \Delta\rho_h \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{z-Lz}{\sigma_h}\right)^2\right), & 0 \leq z \leq Lz \\ \rho_{h2o} + (\Delta\rho_h + \rho_{ch2} - \rho_{h2o}) \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{z-Lz}{\sigma_h}\right)^2\right), & z > Lz \\ \rho_{oil} - (\Delta\rho_m - \rho_{ch2} + \rho_{oil}) \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{z}{\sigma_m}\right)^2\right), & 0 < z \end{cases} \quad (5.6)$$

où ρ_{oil} , ρ_{ch2} et ρ_{h2o} représentent, respectivement les densités électroniques moyennes de l'hexadécane, du film (plus précisément des queues des phospholipides) et de l'eau. Lz est la distance moléculaire entre les têtes et les groupements méthyles. $\Delta\rho_h$ et $\Delta\rho_m$ représentent l'amplitude des gaussiennes des têtes et des méthyles, respectivement. Et σ_h et σ_m sont les largeurs des gaussiennes. Pour les ajustements des courbes de réflectivités obtenues en présence des monocouches, ρ_{oil} et ρ_{h2o} sont fixées aux valeurs théoriques de la littérature et avec lesquelles l'ajustement de la courbe obtenue pour une interface hexadécane/eau nue est correct.

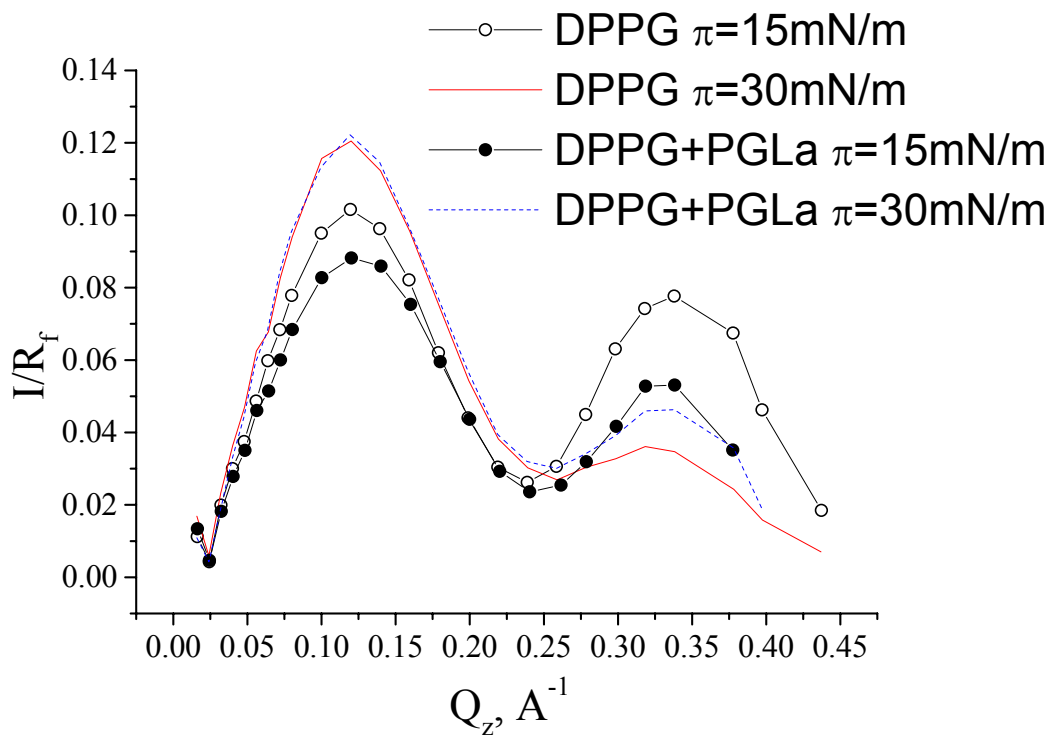


Fig. 5.11 : Courbes de réflectivité obtenues pour les différentes monocouches observées. Pour la présentation, les intensités sont divisées par le facteur de Fresnel pour une interface Hexadécane/Eau.

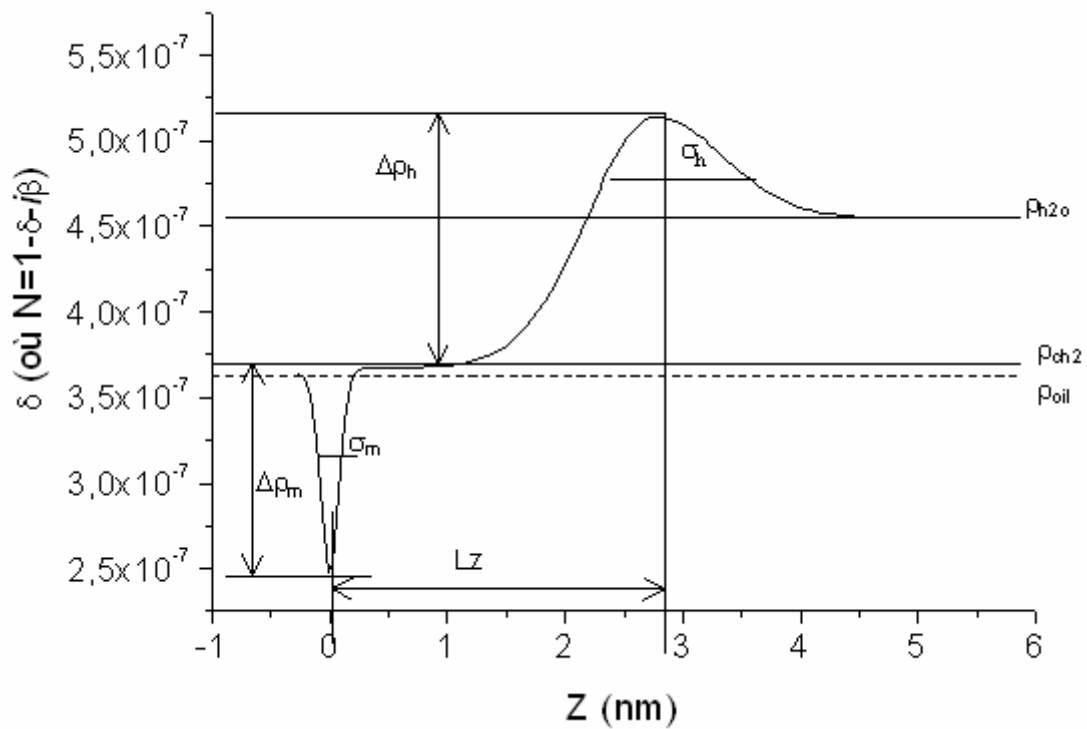


Fig. 5.12 : Modèle des profils de densité obtenue à partir de l'algorithme de Parratt.

Les résultats obtenus sont résumés Fig. 5.13 et tableau 5.1 :

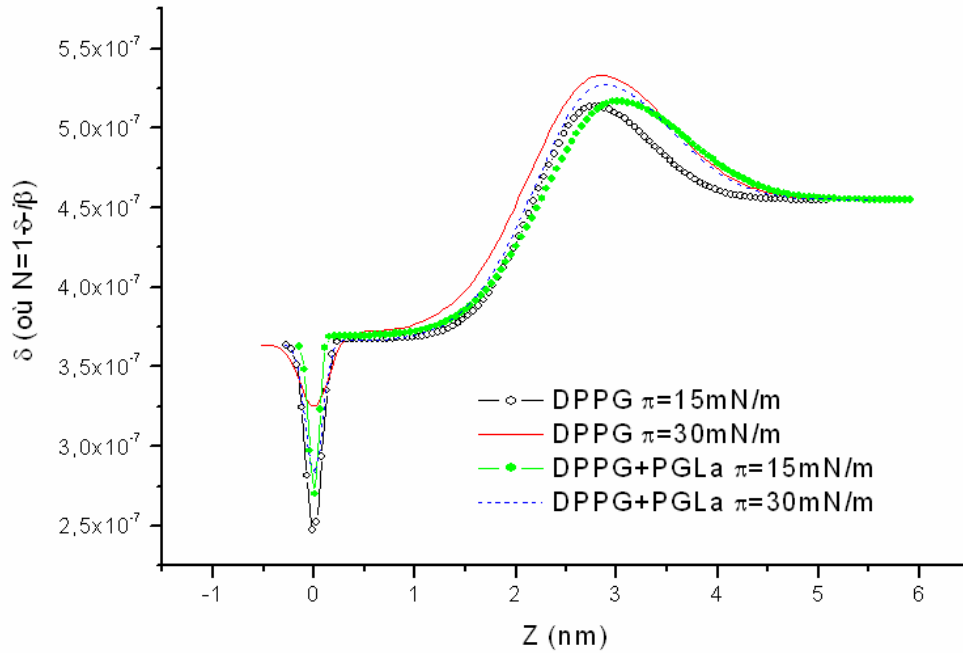


Fig. 5.13 : Profils de densité électronique obtenus après ajustement des courbes de Réflectivité

Tableau 5.1 : Paramètres des profils de densité électronique. δ_{ch2} , δ_m et δ_h correspondent aux valeurs lu sur la courbe. Sachant que $\delta_m = \delta_{ch2} - \Delta\rho_m$ et $\delta_h = \delta_{ch2} + \Delta\rho_h$

| Monocouche | Pression de surface (mN/m) | $\delta_{ch2} (10^{-7})$ | Lz (nm) | $\delta_m (10^{-7})$ | σ_m (nm) | $\delta_h (10^{-7})$ | σ_h (nm) |
|------------------|----------------------------|--------------------------|---------|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|
| DPPG | 15 | 3,67 | 2,77 | 2,44 | 0,7 | 5,13 | 0,58 |
| DPPG | 30 | 3,73 | 2,88 | 3,27 | 0,3 | 5,33 | 0,92 |
| DPPG+PGLa | 15 | 3,70 | 3,05 | 2,71 | 0,6 | 5,18 | 0,9 |
| DPPG+PGLa | 30 | 6,67 | 2,94 | 2,84 | 0,7 | 5,26 | 0,77 |

En accord avec les résultats trouvés à l'interface air/tampon phosphate, lorsque la pression de surface augmente, une augmentation de l'épaisseur du film (Lz) est observée, ainsi qu'une augmentation de la densité électronique des queues et des têtes. Ce phénomène étant dû à la diminution de l'angle de tilt.

En présence de la PGLa et à une pression de surface de 15 mN/m, l'épaisseur de la monocouche est supérieure à celle de la monocouche de DPPG seule. De plus, la largeur de la gaussienne, caractérisant l'excès de densité électronique au niveau des têtes, augmente

également. Toutes ces augmentations montrent l'adsorption de la PGLa au niveau des têtes polaires et son insertion dans la monocouche. Si on continue de comprimer ce film, constitué d'un mélange de DPPG et de PGLa, l'épaisseur du film diminue légèrement, ainsi que la largeur de la zone hydrophile (gaussienne caractérisant les têtes). Ceci peut s'expliquer par le relargage dans la sous phase de quelques molécules de PGLa, présente à l'interface, qui seraient en excès par rapport aux molécules de DPPG, et n'auraient donc pas interagies avec ces dernières (Rien ne les « retenant » à l'interface, comme dans le cas du DPPC à l'interface air/liquide, sous la force de la pression de surface, ces molécules de PGLa sont repoussées vers la sous phase).

5.3.2/ Diffusion Diffuse

Pour ces expériences, l'angle d'incidence est de $\alpha_i = 0,022^\circ = 0,90 \alpha_c$ à l'interface hexadécane/eau ($\alpha_c = 0,0245^\circ$ à 22 KeV) et l'angle β varie de 0° à $4,5^\circ$

5.3.2.1/ Bruit de fond

Dans le cas des expériences de diffusion diffuse à l'interface liquide/liquide, ce bruit de fond est principalement dû à la diffusion par l'hexadécane.

Il est constitué de deux composantes (Fig. 5.14) :

- Une première composante correspondant aux faisceaux diffusés à partir du faisceau incident, lors de son trajet à travers l'hexadécane, et arrivant directement dans le détecteur, placé à l'angle $\beta : I_{Bi}(\beta)/2$
- Une seconde composante correspondant aux faisceaux diffusés à partir du faisceau réfléchi (avec un coefficient de réflexion R entre hexadécane et l'eau) par l'interface provenant de l'interface hexadécane/eau : $I_{Br}(\beta - 2\alpha_i)/2$

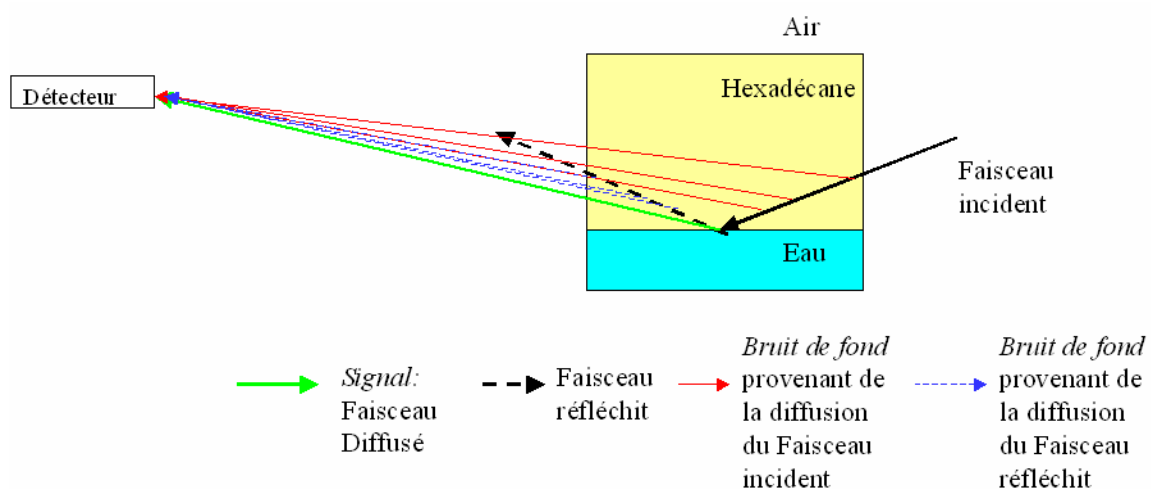


Fig. 5.14 : Faisceaux collectés par le détecteur. Le détecteur reçoit, dans le même temps : le faisceau correspondant au signal et dû à la diffusion par l'interface hexadécane/eau, les faisceaux correspondant à la diffusion, par le volume d'hexadécane, du faisceau incident (première partie du bruit de fond) et les faisceaux correspondant à la diffusion, par le volume d'hexadécane, du faisceau réfléchi provenant de l'interface hexadécane/eau

Enfin, le détecteur va recevoir un bruit de fond $I_B(\beta)$ composé de la diffusion du faisceau incident $I_{Bi}(\beta)$ et de la diffusion du faisceau réfléchi par l'interface hexadécane/air $I_{Br}(\beta-2\alpha_i)$ [51] :

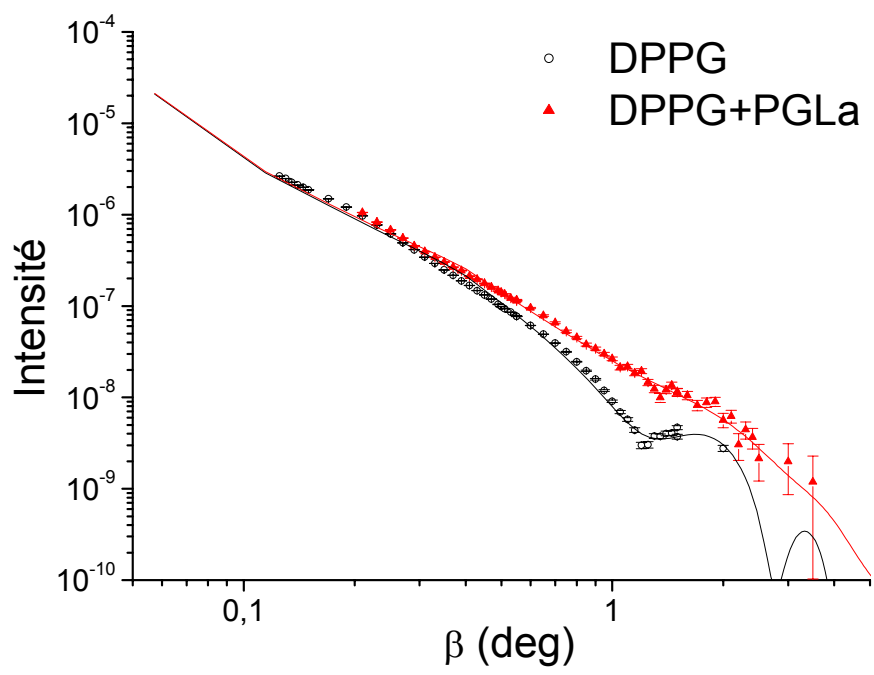
$$I_B(\beta) = \frac{I_{Bi}(\beta) + R I_{Br}(\beta - 2\alpha_i)}{2} \quad (5.7)$$

Le bruit de fond a été mesuré, de la même façon que pour les expériences de diffusion à l'interface air/liquide, en abaissant la cuve de quelques millimètres et en mesurant le signal, correspondant à la diffusion par l'hexadécane, pour les angles $(\beta-2\alpha_i)$. Le signal enregistré a été décalé de $+2\alpha_i$. Puis, en supposant $R=1$, les deux signaux ont été sommés et divisés par 2. Après ajustement nécessaire, à grand angle β , entre le bruit de fond ainsi reconstitué et la courbe expérimentale, ce bruit de fond a été soustrait des résultats expérimentaux.

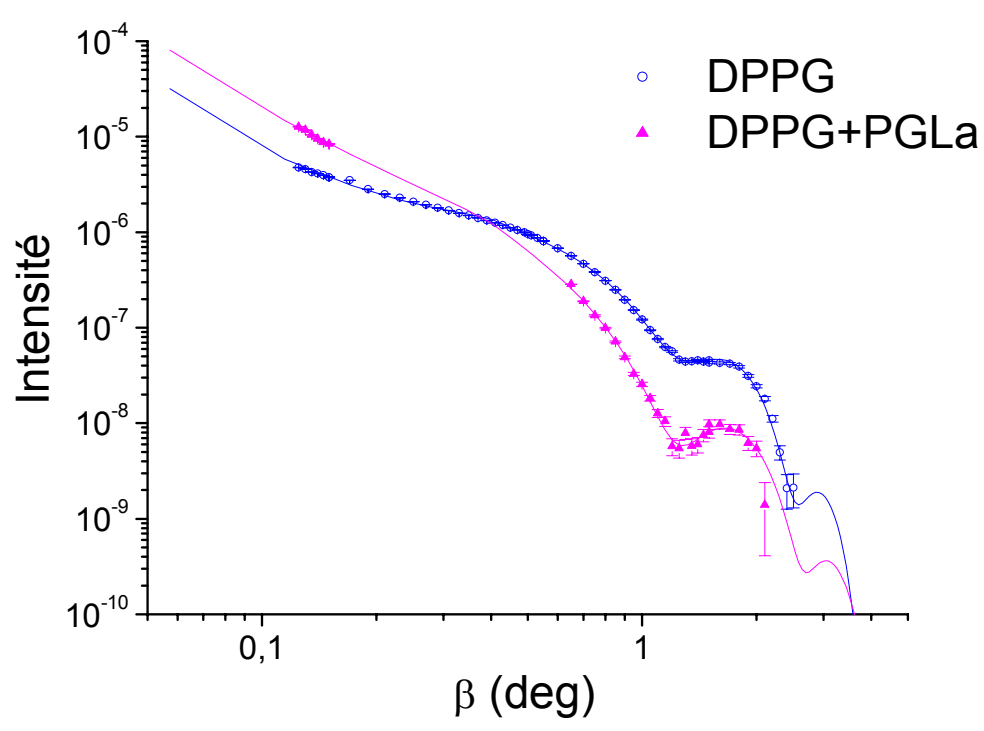
5.3.2.2/ Rigidité de courbure

A partir d'une approche similaire à celle utilisée pour les expériences de diffusion diffuse à l'interface air/liquide (Chapitre 4), basée sur la théorie des ondes capillaires, un modèle a été établi, par Jean Daillant et ses collaborateurs, pour les expériences de diffusion diffuse dans le plan d'incidence et à l'interface liquide/liquide. C'est ce modèle qui a été utilisé pour réaliser l'ajustement sur les courbes expérimentales. Lors de ces ajustements, les profils de densités électroniques trouvés lors des expériences de réflectivité ont été utilisés. Les densités électroniques correspondantes à l'hexadécane et à l'eau ont été fixées et les paramètres décrivant les différentes parties de la monocouche (ρ_{oil} , ρ_h , ρ_m , σ_h et σ_m) ont été laissés libres (dans des proportions raisonnables) afin de permettre le meilleur ajustement du modèle sur la courbe expérimentale.

Les courbes expérimentales et leur meilleur ajustement sont représentés Fig. 5.15 et les rigidités de courbure, ainsi que les pressions de surface (calculées, sur la base de l'équation 5.4 : $\pi = \gamma_2 - \gamma$, à partir des tensions de surfaces γ trouvées lors des ajustements), correspondantes sont synthétisées dans le tableau 5.2.



(a)



(b)

Fig. 5.15 : Courbes de diffusion diffuse à l'interface hexadécane/eau (symboles) et leur meilleur ajustement (ligne).

- (a) pour une pression de surface $\pi=15\text{mN/m}$
- (b) pour une pression de surface $\pi=30\text{mN/m}$

Tableau 5.2 : Rigidité de courbure et Tension de surface correspondant au meilleur ajustement des courbes de diffusion diffuse à l'interface hexadécane/eau

| Monocouche | Pression de surface attendue π (mN/m) | Rigidité de courbure ($k_B T$) | Pression de surface obtenue après ajustement π_{mes} (mN/m) |
|------------|---|----------------------------------|---|
| DPPG | 15 | 55 +/-5 | 30 |
| DPPG | 30 | 145 +/-5 | 40 |
| DPPG+PGLa | 15 | 27 +/-5 | 30 |
| DPPG+PGLa | 30 | 20 +/-5 | 50 |

En l'absence de PGLa, une augmentation de la rigidité de courbure est observée avec l'augmentation de la pression de surface. Le film devenant plus compact, il devient plus rigide.

L'ajout de PGLa provoque une diminution significative de la rigidité du film.

Une différence est observée entre la pression de surface attendue et la pression de surface obtenue à partir des ajustements. Nous nous sommes aperçu, une fois les expériences terminées, que, malgré toutes les précautions prises, un « glaçon » d'hexadécane s'est formé autour de la lame de Wilhelmy. La présence de ce glaçon augmente artificiellement la force exercée sur la lame et fausse par conséquent la mesure de la pression de surface.

Les valeurs des rigidités de courbures obtenues, à l'interface liquide/liquide, sont nettement supérieures aux faibles valeurs (proches de zéro) trouvées pour l'interface air/liquide. Ceci peut s'expliquer de la façon suivante :

Comme expliqué en préambule de ce chapitre, le fait de se placer à une interface liquide/liquide va avoir pour effet premier de diminuer fortement la tension de surface γ . Or, une diminution de la tension de surface va se traduire, au niveau de l'interface, par une augmentation de la rugosité correspondant à une diminution de longueur des ondes capillaires (λ_c) mais également à une augmentation de leur amplitude (Fig. 5.2). Du fait de ces deux modifications, le rayon de courbure d'une vague va également augmenter (Fig. 5.2). En conséquence, pour qu'un domaine cristallin suive cette courbure de l'interface, la force à exercer sur ce domaine (c'est-à-dire la rigidité de courbure) sera supérieure à celle exercée à l'interface air/liquide.

Dans le cas d'une interface liquide/liquide, la rigidité observée semble bien être celle des domaines cristallins. En effet, la valeur trouvée ici pour une monocouche de DPPG à pression de surface $\pi_{mes}=30\text{mN}$ ($\kappa=55k_B T$) est comparable à la valeur estimée à partir des expériences de GID pour les mêmes conditions ($\kappa=45k_B T$) et pour lesquelles κ est supposée correspondre à la rigidité d'un domaine cristallin. Le passage à l'interface Liquide/Liquide a bien provoqué une diminution des longueurs des ondes capillaires, ayant pour conséquence que la majorité d'entre elles est inférieure à la taille des domaines cristallins.

Conclusion

Nous avons étudié la rigidité de courbure (κ) de différentes monocouches de phospholipides (DPPC et DPPG), réalisées par la technique de Langmuir, en présence ou non d'un peptide antimicrobien (PGLa). Le but de cette étude étant de voir l'effet que ce peptide peut avoir sur la rigidité de ces monocouches.

Les rigidités ont été mesurées par différentes techniques :

- Technique de Langmuir (LT)
- Diffraction en incidence rasante de rayons X (GID)
- Diffusion diffuse dans le plan de l'échantillon à l'interface air/liquide (GISSP)
- Diffusion diffuse dans le plan d'incidence à l'interface liquide/liquide (GISBP)

Les deux premières techniques ne permettent qu'une estimation indirecte de κ , alors que les techniques de diffusion autorisent, via la mesure du spectre de fluctuations de hauteur, un accès direct à celle-ci.

Les résultats obtenus permettent de dire que la présence du peptide dans la monocouche fait diminuer la rigidité moyenne de cette dernière :

Tableau 6.1 : Rigidités de courbure (κ) en $k_B T$, obtenue, pour monocouches étudiées, selon la technique utilisée

| Molécule | Pression de Surface π (mN/m) | LT | GID | GISSP | GISBP |
|-----------|----------------------------------|-----|-----|-------|-------|
| DPPC | 15 | 9 | 15 | 0 | |
| | 30 | 9 | 17 | 0 | |
| | 40 | | | 16 | |
| DPPC+PGLa | 15 | 4 | | 0 | |
| | 30 | 9 | | 18 | |
| DPPG | 15 | 12 | 30 | 0 | |
| | 30 | 12 | 45 | | 55 |
| | 40 | | | 8 | 145 |
| DPPG+PGLa | 15 | 2,5 | | 0 | |
| | 30 | 4,5 | | 0 | 27 |
| | 50 | | | | 20 |

Les faibles valeurs observées dans le cas des mesures en GISSP s'expliquent par un manque de sensibilité du modèle développé, pour cette technique, pour les monocouches présentant une petite rigidité de courbure ($\kappa < 8k_B T$) et/ou étant constituées de domaines cristallins de dimension inférieure à la longueur des ondes capillaires sondées par cette technique ($0,6\text{nm} < \lambda_c < 63\text{nm}$). Ce modèle reste cependant tout à fait valable pour le cas de monocouche présentant une forte rigidité, ou étant constitué d'un polycristal dont les domaines ont une dimension supérieure à la longueur des ondes capillaires, ou encore, éventuellement, les monocouches composées d'un monocristal.

Le passage à l'interface liquide/liquide permet de passer outre ce problème et ainsi d'obtenir des valeurs de κ correspondant aux valeurs auxquelles on peut s'attendre sur la base de valeurs obtenues par de précédents travaux sur des bicouches de phospholipides ou des monocouches d'acides gras.

Bien que les mesures GID et de GISBP semblent donner des résultats comparables, l'utilisation de la diffusion diffuse dans le plan d'incidence à l'interface liquide/liquide (GISBP) reste nécessaire, bien que plus difficile à mettre en place. En effet, en plus de donner une valeur de la rigidité plus réelle et plus précise que les mesures de GID (qui ne fournissent qu'une estimation de la rigidité, basée sur des conditions idéales et simplifiées de la monocouche), la technique de diffusion diffuse permet d'étudier l'effet que peut avoir le peptide antimicrobien sur la rigidité de la monocouche. Ce qui n'est pas permis par la diffraction (GID), puisque en présence du peptide, l'organisation moléculaire du film (dont dépend la diffraction) n'existe plus.

Pour la suite, il serait intéressant d'étudier l'effet, sur la rigidité, de la longueur des molécules, en réalisant des monocouches de phospholipides appartenant à la même famille que ceux utilisés ici, mais le longueur supérieure ou inférieure (par exemple : DMPC, DMPG, DSPC et DSPG).

Une étude plus approfondie de l'effet du peptide sur la rigidité des membranes, consisterait à étudier la variation de κ pour des monocouches constituées d'un mélange de phospholipides et dont la composition se rapprocherait le plus possible de la composition des membranes cellulaires.

Bibliographie

1. K. Lohner and E. Staudegger. « Are we on the Treshold of Post-Antibiotic Era » from Development of Novel Antimicrobial Agents: Emerging strategies. Horizon Scientific press, Whymondham, UK, (2001)
2. K. Matsuzki. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self defence? Magainins and tachyplesins as archetypes. BBA, (1999), 1462: 1-10
3. M. Zasloff. Nature, (2002), 415: 389
4. R. M. Epanand and H. J. Vogel. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action, BBA, (1999), 1462: 11-28
5. N. Sitaram and R. Nagaraj. Interaction of antimicrobial peptide with biological and model membranes: structural and charge requirements for activity. BBA, (1999), 1462: 29-54
6. Y. Shai. Mechanism of the binding insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. BBA, (1999), 1462: 55-70
7. T. Wieprecht, O. Apostolov, M. Beyermann and J. Seelig. Membrane Binding and pore Formation of the Antibacterial Peptide PGLa: Thermodynamic and Mechanistic Aspect. Biochemistry, (2000), 39: 442-452
8. M. Dathe, T. Wieprecht. Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells. BBA, (1999), 1462: 71-87
9. S. E. Blondelle, K. Lohner, M. Aguiar. Lipid-induced conformation and lipid-binding properties of cytolytic and antimicrobial peptides : determination and biological specificity. BBA, (1999), 1462: 89-108
10. O. Konovalov, I. Myagkov, B. Struth and K. Lohner. Lipid discrimination in phospholipid monolayers by the antimicrobial forg skin peptide PGLa. A synchrotron X-ray grazing incidence and reflectivity study. Eur. Biophys. J., (2002), 31: 428-437
11. P. J. Quinn. The molecular biology of cell membranes. (1976)
12. R. F. Epanand, M. A. Schmitt, S. H. Gellman and R. M. Epanand. Role of membrane lipids in the mechanism of bacterial species selective toxicity by two α/β antimicrobial peptides. BBA, (2006), 1758: 1343-1350
13. R. Maget-Danna. The monolayer technique : a potent tool for studying the interfacial properties of antimicrobial and membrane-lytic peptides and their interactions with lipid membranes. BBA, (1999), 1462: 109-140
14. . M. Kaganer, H. Möhwald and P. Dutta. Structure and phase transitions in Langmuir monolayers. Review of Modern Physics, (1999), 71: 779-817
15. J. Langmuir. J. Am. Chem.Soc., (1917), 39: 1848

16. A. Ulman. An introduction to ultrathin organic films from Langmuir-Blodgett films to self-assembly. Academic Press, (1991)
17. NIMA Technology. Langmuir-Blodgett Troughs, Operating Manual 6th edition. <http://www.nima.co.uk/help/helpindex.htm>
18. L. Wilhelmy. *Angew; Physik* 119, (1863)
19. C. Fradin, J. Daillant, A. Braslau, D. Luzet, M. Alba and M. Goldmann. Microscopic measurement of the linear compressibilities of two-dimensional fatty acid mesophases. *Eur. Phys. J.*, (1998), 1: 57-69
20. Landau and Lifshitz. *Theory of Elasticity* 3rd Edition, Course of Theoretical Physics Vol. 7. Pergamon Press, (1967)
21. Neutron and Synchrotron Radiation for condensed matter studies. HERCULES: [HIGHER EUROPEAN RESEARCH COURSE FOR USERS OF LARGE EXPERIMENTAL SYSTEMS](#), Vol. 1: Theory, Instruments and Methods
22. Neutron and Synchrotron Radiation for condensed matter studies. HERCULES: [HIGHER EUROPEAN RESEARCH COURSE FOR USERS OF LARGE EXPERIMENTAL SYSTEMS](#), Vol. 3: Applications to soft condensed matter and biology
23. J. Als-Nielsen et D. McMorrow. *Elements of Modern X-ray Physics*. (2001)
24. F. P. Buff, R. A. Lovett and R. H. Stillinger. Interfacial density profile for fluids in the critical region. *Phys. Rev. Lett.*, (1965), 15: 621-623
25. K. R. Mecke and S. Dietrich. Effective Hamiltonian for liquid-vapor interfaces. *Phys; Rev. E*, (1999), 59: 6766-6784
26. R.F. Kayser. Effect of capllarity waves on surface tension. *Phys. Rev. A*, (1986), 33: 1948-1956
27. S. Mora, J. Daillant, D. Luzet and B. Struth. X-ray surface scattering investigation of Langmuir films:Phase transitions and elastic properties. *Euro. Phys. Letter*, (2004), 66: 694-700
28. W. Helfrich. *Z. Naturfosch.*, (1973), 28c
29. J.Daillant and A.Sentenac. Diffuse scattering, in X-ray and neutron reflectivity, principles and applications. *Lecture notes in physics*,Springer-Verlag, Heidelberg, (1999), Vol. 58, Chapitre 1
30. D.K.G. de Boer. Influence of the roughness profile on the specular reflectivity of X-ray and neutrons. *Phys. Rev. B*, (1994), 49: 5817-5820
31. M. Born and E. Wolf. *Principles of optics*. Pergammon Press, Oxford, (1993)

32. P. Croce. Sur la propagation des ondes électromagnétiques dans les milieux stratifiés et diffusé traitée par la méthode de Green. *J. Optics*, (1983), 14: 213-220
33. L.D. Landau and E.M.Lifshitz. *Electrodynamics of continuous media. Course of theoretical physics, Vol.8*, Pergammon Press, (1960)
34. J. D. Jackson. *Classical electrodynamics*. J. Wiley and sons, (1975)
35. S.K.Sinha, E. B. Ribota and S. Garoff. X-ray and neutron scattering from rough surfaces. *Phys. Rev. B*, (1988), 38: 2297-2311
36. A. Sentenac and J. Daillant. Statistical Aspects of wave scattering at rough surfaces, in *X-ray and neutron reflectivity, principles and applications. Lecture notes in physics*, Springer-Verlag, Heidelberg, (1999), Vol58, Chapitre 2
37. S. Mora. *Structure d'Interfaces de fluides complexes. Thèse CEA-Saclay*, (2003)
38. L. G. Parratt. Surface studies of solids by Total Reflection of X rays. *Physical Review*, (1954), 95: 359-369
39. M. Tolan. *X ray Scattering from Thin Film. Material Science and Basic Research*, (1999)
40. A.H Narten and H.A. Levy. Lipid Water: Molecular Correlation Function from X-ray Diffraction. *The Journal of Chemical Physics*, (1971), 55: 2263-2269
41. C. Fradin, A. Braslau, D. Luzet, D. Smilgies, M. Alba, N. Boudet, K. Mecke and J. Daillant. Reduction in the surface energy of liquid interfaces at short length scales. *Nature*, (2000), 403: 871-874
42. K.R. Mecke. Thermal fluctuations of thin liquid films. *J. Phys. Condens. Matter*, (2001), 13: 4615-4636
43. C. Fradin. *Structure et élasticité des interfaces liquides : une étude par diffusion de rayons X sous incidence rasante. Thèse CEA-Saclay*, (1999)
44. M. Niaporkowski and S. Dietrich. Structure of the effective hamiltonian for liquid-vapor interfaces. *Phys. Rev. A*, (1993), 47: 1836-1849
45. M. Vogel, C. Münster, W. Fenzl and T. Salditt. Thermal Unbinding of Highly Oriented Phospholipid Membranes. *Phys. Rev. Lett.*, (1999).
46. T. Salditt. Thermal fluctuation and stability of solid-supported lipid membranes. *J. Phys.: Condens. Matter*, (2005), 17: 287-314
47. P. Méléard, C. Gerbeaud, T. Pott, L.Fernandez-Puente, I. Bivas, M. D. Mitov, J. Dufourcq and P. Bothorel. Bending Elasticities of Model Membranes: Influence of Temperature and Sterol Content. *Biophysical Journal*, (1997), 72: 2616-2629

48. G. Niggemann, M. Kummrow and W. Helfrich. The Bending Rigidity of Phosphatidylcholine Bilayers: Dependences on Experimental Method, Sample Cell Sealing and Temperature. *J. Phys. II France*, (1995), 5: 413-425
49. C. Fradin, D. Luzet, A. Braslau, M. Alba, F. Muller, J. Daillant, J. M. Petit, F. Rieutord. *Langmuir*, (1998), 14: 7327
50. A. Gibaud et J. Daillant. *Ecole Française de Réflectivité 1997 : Réflectivité spéculaire et hors-spéculaire Rayons X et Neutrons*.
51. J. Daillant, E. Bellet-Amalric, A. Braslau, T. Chariat, G. Fragneto, F. Graner, S. Mora, F. Rieutord and B. Stidder. Structure and Fluctuations of a single floating lipid bilayer. *PNAS*, (2005), 102: 11639-11644