



**HAL**  
open science

## Phases lamellaires dopées

Doru Constantin

► **To cite this version:**

Doru Constantin. Phases lamellaires dopées. Matière Molle [cond-mat.soft]. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. tel-00667450

**HAL Id: tel-00667450**

**<https://theses.hal.science/tel-00667450>**

Submitted on 7 Feb 2012

**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.

HABILITATION À LA DIRECTION DE RECHERCHE  
DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD

**Doru Cosmin CONSTANTIN**

# Phases lamellaires dopées

Soutenue le 20 juin 2011

Devant la commission d'examen formée de :

Jean-François Sadoc	Président
Franck Artzner	Rapporteur
Philippe Barois	Rapporteur
Michel Rawiso	Rapporteur
Jean-Baptiste Fournier	
Clément Sanchez	

**Laboratoire de Physique des Solides**





## Remerciements

*A l'occasion de la soutenance, je voudrais premièrement remercier les membres du jury, qui m'ont fait l'honneur de s'intéresser à ce travail en lisant de très près le manuscrit et en me faisant part de leurs remarques et questions. J'ai beaucoup apprécié cette discussion scientifique.*

*Les travaux présentés ci-dessous ont commencé après la thèse, mais ils n'auraient pas pu voir le jour sans cette première étape (très riche et formatrice) de ma carrière de recherche. Il est donc normal que je remercie Patrick Oswald, mon directeur de thèse, pour son encadrement patient et éclairé et surtout pour l'exemple de sa rigueur scientifique. Pendant la thèse j'ai également eu la chance de côtoyer des chercheurs dont j'ai énormément appris ; la liste serait trop longue, mais je dois citer Eric Freyssingeas, avec qui j'ai continué une collaboration sur les études dynamiques et qui m'a donné de précieux conseils, dans le domaine scientifique mais pas uniquement.*

*Les années de postdoc passées à Göttingen ont été l'occasion d'entamer certains des sujets de recherche présentés dans cet ouvrage, en collaboration avec Tim Salditt et Guillaume Brotons, qui m'ont également fait profiter de leur expérience dans le domaine des rayons X. Je les remercie sincèrement !*

*Lors de mon arrivée à Orsay en 2005 j'ai été accueilli chaleureusement par tout le groupe « rayons X ». J'apprécie toujours l'atmosphère décontractée et l'esprit de collaboration qui y règnent. Je voudrais remercier tout particulièrement la petite équipe « matière molle » : Marianne Impéror, Brigitte Pansu et Patrick Davidson, avec qui j'ai collaboré étroitement, mais aussi Andreas Poulos, Arnaud Dessombz et Keevin Béneut.*

*Plusieurs des systèmes étudiés ont été formulés à base de nanoparticules synthétisées par Corinne Chanéac et François Ribot, qui se sont toujours montrés disponibles et m'ont souvent aidé à avancer par leurs observations très nuancées sur la structure de nos phases. Lors des nombreuses expériences à l'ESRF j'ai eu le plaisir de travailler avec Anders Madsen et Cyrille Rochas, dont la compétence et la patience ont été déterminantes.*



# Table des matières

<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>9</b>
1.1	Systèmes hybrides . . . . .	9
1.2	Inclusions membranaires . . . . .	11
1.3	Dynamique des systèmes colloïdaux . . . . .	12
<b>2</b>	<b>Matériaux hybrides</b>	<b>15</b>
2.1	Motivation . . . . .	15
2.2	État de l'art . . . . .	16
2.3	Originalité du projet . . . . .	17
<b>3</b>	<b>Bâtonnets magnétiques</b>	<b>19</b>
3.1	Introduction . . . . .	19
3.2	Matériaux et méthodes . . . . .	20
3.3	Résultats et discussion . . . . .	21
3.3.1	Diagramme de phases du système dopé . . . . .	21
3.3.2	Effet d'un champ magnétique . . . . .	23
3.3.3	Interaction induite par la phase lamellaire . . . . .	25
3.4	Conclusion . . . . .	27
<b>4</b>	<b>Nématique en phase lamellaire</b>	<b>29</b>
4.1	Introduction . . . . .	29
4.2	Matériaux et méthodes . . . . .	30
4.3	Résultats et discussion . . . . .	31
4.4	Conclusion . . . . .	34
<b>5</b>	<b>Inclusions membranaires</b>	<b>37</b>
5.1	Motivation . . . . .	37
5.2	État de l'art . . . . .	38
5.2.1	Théorie . . . . .	38
5.2.2	Expériences . . . . .	39
5.2.3	Une distinction . . . . .	40
5.2.4	Nouveauté de l'approche . . . . .	40
5.3	Méthode expérimentale . . . . .	41

5.3.1	Préparation . . . . .	41
5.3.2	Composition . . . . .	41
5.3.3	Méthodes d'étude : diffusion des rayons X . . . . .	43
5.3.4	Traitement des données . . . . .	43
<b>6</b>	<b>Pores d'alaméthicine</b>	<b>45</b>
6.1	Introduction . . . . .	45
6.2	Matériaux et Méthodes . . . . .	46
6.2.1	Préparation et environnement des échantillons . . . . .	46
6.2.2	Mesures . . . . .	47
6.2.3	Analyse . . . . .	48
6.3	Résultats . . . . .	50
6.3.1	Structure du signal diffusé . . . . .	50
6.3.2	Echantillons parfaitement alignés . . . . .	50
6.3.3	Pas d'interaction d'une bicouche à l'autre . . . . .	52
6.3.4	Le signal des pores . . . . .	52
6.3.5	Modèle de disques durs . . . . .	53
6.3.6	Interaction supplémentaire . . . . .	54
6.4	Discussion et conclusion . . . . .	56
6.4.1	Décalage hydrophobe . . . . .	57
6.4.2	Perturbation de l'ordre des lipides . . . . .	57
6.4.3	Perspectives . . . . .	58
<b>7</b>	<b>Pores de gramicidine</b>	<b>61</b>
7.1	Introduction . . . . .	61
7.2	Matériaux et méthodes . . . . .	62
7.2.1	Préparation et environnement des échantillons . . . . .	62
7.2.2	Mesures . . . . .	63
7.2.3	Analyse . . . . .	63
7.3	Résultats et discussion . . . . .	65
7.3.1	Le modèle de disques durs . . . . .	65
7.3.2	Interaction supplémentaire . . . . .	67
7.3.3	Des origines possibles pour l'interaction . . . . .	68
7.3.4	Modèle complet . . . . .	69
7.4	Conclusion . . . . .	71
7.5	Appendice : traitement des données . . . . .	72
7.6	Comparaison de la portée de l'interaction . . . . .	73
<b>8</b>	<b>Particules hybrides</b>	<b>75</b>
8.1	Introduction . . . . .	75
8.2	Matériaux et méthodes . . . . .	76
8.3	Résultats . . . . .	77
8.4	Discussion . . . . .	80
8.5	Conclusion . . . . .	80

<b>9 Conclusion et perspectives</b>	<b>83</b>
9.1 Conclusions . . . . .	83
9.2 Perspectives . . . . .	84
9.2.1 Systèmes hybrides . . . . .	84
9.2.2 Inclusions membranaires . . . . .	84
9.2.3 Dynamique des systèmes colloïdaux . . . . .	85
<b>A Théories des liquides</b>	<b>87</b>
A.1 Définitions . . . . .	87
A.1.1 Fonction de distribution radiale . . . . .	87
A.2 Equations intégrales . . . . .	89
A.2.1 Relation de Percus-Yevick . . . . .	90
A.3 Approximation de phase aléatoire . . . . .	90
A.4 Implémentation . . . . .	91
A.4.1 Interaction entre les couches . . . . .	91
<b>Bibliographie</b>	<b>93</b>
 <b>Publications jointes</b>	 <b>108</b>





## CHAPITRE 1

# Introduction

Cet ouvrage représente un résumé partiel de mes travaux depuis l'arrivée au Laboratoire de Physique des Solides en octobre 2005, en tant que chargé de recherches au CNRS. Le projet que j'avais présenté à l'époque portait principalement sur la formulation et l'étude par des techniques de diffusion du rayonnement de phases lamellaires de tensioactifs dopées avec des inclusions inorganiques, sphériques ou anisotropes. Un deuxième sujet de recherche (dans la même mouvance que le premier) envisageait la mesure de l'interaction entre des peptides insérés dans des membranes de lipides. Finalement, un troisième sujet assez distinct des deux précédents était l'étude de la dynamique de particules colloïdales par la diffusion dynamique des rayons X (XPCS, selon l'acronyme anglais). Les trois sujets ci-dessus ont donné des résultats, mais pour garder la cohérence thématique je ne discuterai pas les études dynamiques (les publications sur la XPCS sont pourtant incluses dans la section « Publications jointes », page 111).

J'aborderai donc uniquement les deux premiers sujets, qu'on peut grouper sous le concept de « phases lamellaires dopées ». Compte tenu des différences dans les systèmes utilisés mais surtout dans la motivation des études, les deux thématiques seront présentées séparément (chapitres 2–4 et 5–8, respectivement).

Le dernier chapitre présente un état des lieux des travaux déjà accomplis, en insistant sur le caractère original des résultats, ainsi qu'une esquisse des perspectives.

Il est suivi par un appendice donnant quelques notions de théorie des liquides, nécessaires pour suivre les travaux sur l'interaction des inclusions membranaires et d'une bibliographie. J'ai utilisé deux types de références, distinguées par le style des citations : numérique pour les références générales, dont la liste est donnée page 93, et sous la forme [auteur,année] pour mes propres publications pertinentes, qu'on peut trouver page 107.

Dans la suite, je présente un bref bilan d'activité sur chacune de ces trois thématiques, en mettant l'accent sur l'évolution des sujets et les collaborations. La signification des résultats et les perspectives seront discutées dans le chapitre 9.

## 1.1 Systèmes hybrides

Depuis plusieurs années, l'étude d'inclusions dans des mésophases lyotropes connaît un développement remarquable, rendu possible par l'obtention de nanoparticules de natures variées, qui font appel à de nouvelles voies de synthèse comme par exemple la « chimie douce ». Ces études sont motivées par l'intérêt fondamental des mésophases dopées, afin de comprendre les mécanismes du couplage entre les inclusions et la mésophase hôte, mais aussi par les applications attendues de ces systèmes mixtes dans

de nombreux domaines tels que les vecteurs biologiques, les filtres, les catalyseurs ou les matériaux magnétiques. Un aperçu plus détaillé du domaine, en insistant sur l'état de l'art, est présenté dans le chapitre 2.

La plupart des études ont porté sur des échantillons « poudres », formés d'un grand nombre de petits monodomaines. Même si ce type d'étude peut fournir des renseignements très intéressants, il est essentiel de travailler avec des phases orientées pour pouvoir séparer (par exemple, dans une expérience de diffusion de rayonnement) la contribution des inclusions de celle de la matrice lyotrope. En même temps, pour pouvoir profiter pratiquement des propriétés optiques, magnétiques et de transport de ces phases mixtes, l'obtention de monodomaines est souvent indispensable.

Parmi les mésophases dopées, la phase lamellaire a été –de loin– la plus étudiée. Un exemple représentatif est celui des « phases glissantes » mises en évidence dans des systèmes mixtes ADN/lipide cationique. L'ordre smectique à deux dimensions qui s'y installe a été étudié en détail. Il est toutefois problématique de changer la structure de ces systèmes à l'échelle mésoscopique (espacement entre les bicouches, longueur de persistance du polymère) ou macroscopique (liposomes multilamellaires résultant du processus de complexation), ce qui rend difficile une étude plus systématique.

Dès la fin de ma thèse, pendant laquelle j'avais beaucoup utilisé des phases lamellaires de tensioactifs non-ioniques ( $C_iE_j$ ) et je m'étais confronté aux problèmes pratiques de leur alignement, j'avais envisagé de les utiliser comme matrices pour formuler des systèmes hybrides plus fluides que les phases de lipides chargés. Il me manquait à l'époque la connaissance des techniques de caractérisation structurale ainsi que l'accès à des particules adaptées au rôle d'inclusions. La sujet a été pourtant une préoccupation constante, grâce aussi aux discussions récurrentes que j'ai eues là-dessus avec Patrick Davidson.

Puisque le petit groupe des « rayons X mous » au LPS (M. Impéror, B. Pansu, P. Davidson) commençait à s'intéresser au même sujet et que le laboratoire constituait un environnement idéal pour mener ce genre d'études je m'y suis présenté en tant que chargé de recherches CNRS, et j'ai intégré la laboratoire en octobre 2005.

J'ai obtenu très rapidement un système prometteur, composé d'une phase lamellaire diluée de tensioactif non-ionique ( $C_{12}E_5$ ), avec un co-tensioactif (l'hexanol) dopée avec des bâtonnets de goethite (un oxy-hydroxyde de fer), synthétisés par Corinne Chanéac au LCMCP ; ces particules ont une longueur de l'ordre de 200–400 nm, avec un moment magnétique permanent le long de l'axe de la particule, mais avec un axe d'aimantation facile dans une direction perpendiculaire, particularité qui leur confère des propriétés intéressantes.

Pendant l'étude préliminaire de ce système j'ai eu le plaisir d'encadrer à l'été 2006 le stage de L2 de Keevin Béneut, qui –avec beaucoup d'application et de sérieux– a bien su faire avancer le sujet, ce qui lui a valu un article en tant que premier auteur [Béneut *et al.*, 2008] ; voir également le chapitre 3.

Une fois que le diagramme de phase et les techniques d'alignement ont été bien maîtrisés on est passé à la caractérisation structurale des matériaux hybrides. Vu la taille des particules il a fallu faire de la diffusion des rayons X aux très petits angles, dans une gamme de vecteur d'onde difficilement accessible au laboratoire. Nous avons eu l'occasion de faire une campagne de mesures sur la ligne ID02 de l'ESRF, où nous avons bénéficié de l'aide technique de P. Bösecke et de T. Narayanan. Une partie de ces résultats, mettant en évidence une phase combinant l'ordre lamellaire des bicouches

de tensioactif avec l'ordre nématique d'une suspension concentrée de goethite, ont été publiés dans [Constantin *et al.*, 2010a], référence reprise dans le chapitre 4.

Cette thématique est toujours d'actualité ; les développements possibles sont discutés dans le dernier chapitre.

Pendant le déroulement de cette étude j'ai été partiellement impliqué dans une étude que menait Andreas Poulos (boursier Marie Curie de 2005 à 2008 sous la direction de B. Pansu et P. Davidson) sur des phases lamellaires plus concentrées dopées avec des polyoxométallates (POMs). Ces travaux ont mené à la publication de deux articles [Poulos *et al.*, 2008, Poulos *et al.*, 2010a] et un troisième (sur l'interaction des POMs au sein de la phase lamellaire) est en cours.

## 1.2 Inclusions membranaires

Durant mon postdoc à Göttingen, où j'ai travaillé sur l'étude structurale (principalement par réflectivité X) de phases lamellaires de lipides, j'ai été amené à m'intéresser à l'influence des peptides membranaires insérés dans les bicouches sur la structure de la phase (sujet que le chef du groupe, Tim Salditt, avait développé depuis quelques années). En collaboration avec Chenghao Li, j'ai donc mesuré la réflectivité de bicouches contenant des poly-peptides antimicrobiens [Li *et al.*, 2004]. Le but était de mettre en évidence les changements de la densité électronique ainsi que du facteur de structure de la phase, induits par la présence des peptides. Ces peptides produisent des pores dans les membranes (c'est ainsi qu'ils exercent leur activité antimicrobienne).

Les résultats n'ont pas été très intéressants, d'une part à cause des difficultés techniques du traitement des données (nous n'avons pas pu déterminer précisément la densité électronique) mais d'autre part à cause de la limitation fondamentale de la réflectivité, qui donne uniquement accès à une densité moyennée dans le plan de l'interface. On perd ainsi toute information sur la forme des objets et sur leur interaction dans les couches.

J'ai étudié donc la diffusion X diffuse donnée par les pores, qui –lorsqu'il n'y a pas d'interaction d'une couche à l'autre– peuvent être vus comme un système 2D d'inclusions membranaires. En utilisant des techniques classiques de la théorie des liquides j'ai modélisé leur interaction par un terme de type « coeurs durs », décrit par une formule analytique, et un potentiel supplémentaire –correspondant à l'interaction induite par la bicouche– pris en compte par une approche perturbative. Nous avons ainsi mesuré (pour la première fois à ma connaissance) le potentiel d'interaction entre pores dans la bicouche [Constantin *et al.*, 2007] (voir aussi le chapitre 6). Le résultat de cette étude (menée en collaboration avec T. Salditt et avec G. Brotons, qui était en postdoc au même laboratoire) est en accord qualitatif avec des simulations numériques de systèmes modèles. Il faut souligner ici que cette interprétation a été rendue possible uniquement par le traitement simultané des données mesurées sur plusieurs échantillons à densité d'inclusions variable. Autrement, chaque courbe prise séparément peut très bien être décrite par un simple modèle de « coeurs durs », ce qui était l'état de l'art à l'époque (voir le chapitre 5 pour l'historique du problème).

Depuis mon arrivée au LPS j'ai continué cette activité en mesurant les interactions entre d'autres inclusions membranaires, à savoir la gramicidine, qui est un autre peptide antimicrobien (les résultats sont détaillés dans la référence [Constantin, 2009] et dans le

chapitre 7) et des particules hybrides à coeur inorganique [39], synthétisées par François Ribot au LCMCP, Paris ([Constantin *et al.*, 2008] et [Constantin, 2010] ; la première de ces références est aussi reprise dans le chapitre 8, alors que le tiré à part de la deuxième est inclus dans les publications jointes à la fin de cet ouvrage).

Ces études m'ont aussi donné l'occasion de développer et d'affiner l'analyse des données, en passant de l'approche perturbative du type « phase aléatoire » à une solution numérique de l'équation de Ornstein et Zernike (avec la fermeture de Percus et Yevick) et en incluant les interactions entre des particules se trouvant dans des couches voisines (un effet qui doit être pris en compte pour les particules hybrides). Ces développements sont présentés dans l'appendice A.

### 1.3 Dynamique des systèmes colloïdaux

La XPCS (X-ray Photon Correlation Spectroscopy) est une technique assez récente, très bien adaptée à l'étude de la dynamique dans des systèmes de la matière molle. Son principe est similaire à celui de la diffusion dynamique de la lumière (DLS), mais sans la limitation en vecteur d'onde intrinsèque à la DLS. En plus, elle est applicable à des échantillons optiquement opaques. Ayant travaillé en postdoc sur les fluctuations des phases lamellaires et leur effet sur la diffusion statique, je me suis également posé des questions sur la dynamique de ces fluctuations et sur la possibilité de les étudier par XPCS. Il faut noter que les phases smectiques sont particulièrement adaptées à une étude par XPCS, puisque leur ordre concentre le signal diffusé au voisinage des pics de Bragg.

La première série d'expériences a été menée en 2004 à l'ESRF (sur la ligne ID10A), en collaboration avec Tim Salditt et Guillaume Brotons et avec le soutien très actif d'Anders Madsen (responsable de la ligne). Nous avons mesuré la relation de dispersion des fluctuations dans plusieurs phases lamellaires, mais les limitations techniques ainsi que le choix des systèmes ne nous ont pas permis d'obtenir des résultats interprétables.

En 2005, dans une deuxième campagne d'expériences, nous avons choisi un système très prometteur, le mélange SDS/pentanol/(eau + glycérol) et nous avons bénéficié de la collaboration d'Eric Freyssingeas, qui avait l'expérience de ce système particulier mais aussi, de manière générale, de l'étude des phases lamellaires par DLS. Cette-fois-ci, les mesures ont été suffisamment précises pour déterminer la fréquence de relaxation du mode d'ondulation de la phase lamellaire jusqu'à un vecteur d'onde  $q_{max} = 1.4 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$  (au milieu du domaine accessible en DLS). L'ajustement avec un modèle d'élasticité continue est excellent et, en combinant ce résultat avec les mesures statiques, nous avons déterminé les modules élastiques de la phase (de courbure et de compression) ainsi que sa viscosité.

A ma connaissance, il s'agit de la première application de la XPCS à des phases lamellaires dans le volume. Pour valider la technique, nous avons également mesuré le temps de relaxation en DLS, obtenant un très bon accord avec la XPCS. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication [Constantin *et al.*, 2006] ainsi que d'une contribution invitée au recueil "ESRF Highlights 2006".

Ayant ainsi validé l'utilisation de la XPCS pour l'étude de la relaxation des fluctuations dans les mésophases, je me suis intéressé à son application à des phases colloïdales, en collaboration avec Patrick Davidson, qui avait étudié en détail la structure statique de

tels mélanges. Les systèmes colloïdaux organisés (composés de particules anisotropes) présentent certains avantages expérimentaux par rapport aux phases de tensioactifs, à savoir un bon contraste de diffusion entre les particules et le solvant et la possibilité de ralentir leur dynamique en choisissant un solvant adéquat.

Le premier système envisagé a été la phase nématique des nano-bâtonnets de goethite (synthétisés par Corinne Chanéac, au LCMCP) en suspension dans un mélange propane-diol/eau. L'étude a demandé un travail d'équipe : il a constitué une partie du travail de thèse d'Andreas Poulos (encadré par Brigitte Pansu et Patrick Davidson) et nous avons encore bénéficié de la collaboration d'Anders Madsen et d'Eric Freyssingeas.

Nous avons pu mesurer la dynamique de cette phase nématique colloïdale jusqu'à l'échelle de la distance entre particules et nous avons mis en évidence des effets hydrodynamiques inattendus et qui dépendent de l'échelle de longueur sur laquelle on sonde le système. Plus précisément, nous avons observé une décroissance du coefficient de diffusion collective à grande échelle. Le début du ralentissement coïncide assez bien avec le maximum du facteur de structure de la phase ; on peut donc dire qu'il y a une transition entre deux type de comportement, sur des échelles plus petites et plus grandes que la distance typique entre les particules, respectivement. Ceci soulève la question fondamentale (et très difficile) de la transition entre le niveau microscopique des particules individuelles et celui macroscopique décrit par les théories continues. Ce travail a été publié dans la référence [Poulos *et al.*, 2010b] et sélectionné pour le recueil "ESRF Highlights 2010".

Un deuxième système prometteur est une phase lamellaire à base de feuillets d'acide phospho-antimonique ( $\text{H}_3\text{Sb}_3\text{P}_2\text{O}_{14}$ ), avec une épaisseur d'environ 1 nm et une largeur de l'ordre de la fraction de micron [48]. Dans un tel système on s'attend à des relaxations lentes et, plus important encore, à un fort couplage hydrodynamique entre les particules. Nous avons effectivement observé un tel couplage, qui peut être décrit de manière semi-quantitative par un modèle simplifié et qui varie fortement lorsqu'on approche la limite de dilution de la phase. Les résultats, obtenus en collaboration avec Patrick Davidson, Eric Freyssingeas et Anders Madsen, ont été publiés dans la référence [Constantin *et al.*, 2010b].



## CHAPITRE 2

# Matériaux hybrides

## 2.1 Motivation

Les nano-objets jouent un rôle extrêmement important dans la science et la technologie contemporaines, surtout grâce à leurs propriétés physiques uniques, fortement influencées par la taille et la forme des particules. Leur synthèse, caractérisation et fonctionnalisation forment un domaine de recherche très actif, situé à la confluence de la physique avec la chimie et avec la science des matériaux. Les nano-objets sont particulièrement utiles en tant que briques élémentaires dans la formulation de type « bottom-up » de nouveaux matériaux, fondée sur les principes de l'auto-assemblage. De nombreuses stratégies ont été proposées pour piloter leur organisation (soit directement soit par des éléments intermédiaires) utilisant des interactions variées, généralement faibles et non-covalentes.

Tous ces procédés doivent satisfaire à des contraintes pratiques très générales : les particules doivent être contenues dans un milieu facile à mettre en forme ; elles doivent former une dispersion stable, tout en restant capables d'interagir (entre elles, et même avec un substrat dans le cas de certaines applications). Cette interaction est cruciale, par exemple, pour profiter pleinement des propriétés anisotropes des particules asymétriques, soit pendant l'étape d'assemblage (comme lors de l'assemblage bout à bout) soit pour propager cette anisotropie jusqu'au niveau macroscopique du matériau final (une polarisabilité anisotrope peut engendrer la biréfringence optique). On doit donc préserver un équilibre délicat entre des propriétés antagonistes, telles que la fluidité et l'ordre ou la perméabilité et le confinement. Ceci est difficile à accomplir dans des solvants simples, qui présentent une structure homogène ; on utilise donc beaucoup les fluides complexes. Les particules les plus intéressantes du point de vue des applications sont souvent inorganiques, à cause de leurs propriétés spécifiques (optiques, magnétiques, catalytiques etc.). Un autre vaste domaine de recherches (proche de ce sujet mais qui ne sera pas abordé dans le cadre de la présente étude) concerne la transfection de matériel génétique, avec des enjeux évidents.

On peut ainsi délimiter l'une des thématiques les plus actives en physique de la matière molle dans les dernières années : *l'étude des matériaux hybrides constitués de particules inorganiques dispersées dans une matrice organique structurée*, avec ses différents aspects : la formulation des systèmes, le contrôle de la distribution spatiale et orientationnelle des inclusions, le contrôle des propriétés (structurales, mécaniques, physico-chimiques, etc.) de la matrice, la modulation des propriétés macroscopiques des matériaux.



## 2.2 État de l'art

Parmi les matériaux hybrides organiques/inorganiques, les plus répandues sont sans doute les structures de polymères mésomorphes dopées avec des nanoparticules métalliques ou composées d'oxydes métalliques [43, 149, 88, 56]. Néanmoins, ces matériaux sont particulièrement difficiles à orienter en volume et leur mise en forme se fait en général par cisaillement des films fins ou, éventuellement, par l'application d'un champ électrique fort. A cause de leur nature macromoléculaire, ils sont souvent hors équilibre thermodynamique, en particulier dans le cas des échantillons en volume. Une autre limitation est donnée par la fraction volumique d'inclusions, qui est de l'ordre du pour cent.

Dans le domaine des tensioactifs, l'existence de phases composites où des molécules d'ADN sont insérées entre des membranes lipidiques a été mise en évidence dès 1997 par le groupe de C. Safinya [119, 73]. On a utilisé depuis différentes autres inclusions biologiques, comme des virus [163] ou des peptides [72]. Ces résultats expérimentaux ont motivé des efforts théoriques soutenus [131, 50, 106], qui se sont concentrés sur l'interaction des deux types d'ordre (celui smectique des membranes et l'éventuel ordre –à deux ou trois dimensions– des inclusions), et en particulier sur les caractéristiques d'une possible phase smectique à 2D. Les systèmes composites protéines/membranes ont aussi été étudiés en détail, les motivations principales étant –d'un côté– de comprendre l'interaction des protéines avec la membrane cellulaire (voir le chapitre 5) et, de l'autre côté, de cristalliser les protéines membranaires pour des études structurales [133].

Ces systèmes sont généralement obtenus par complexation électrostatique, suivie de précipitation ; leur texture est donc très difficile à contrôler et ils forment d'habitude des agrégats multilamellaires à orientation aléatoire. Ainsi, il est difficile de discriminer entre l'organisation moléculaire dans le plan des couches et celle le long du directeur de la phase. Les phases sont en outre assez concentrées (avec des pas smectiques de quelques nanomètres), ce qui limite fortement la taille des inclusions.

Des problèmes similaires affectent les mélanges TEOS/CTAB utilisés pour préparer des silices mésoporeuses [12, 76] ainsi que les systèmes hybrides formés de polyoxométalates et tensioactifs cationiques [115, 165]. Malgré son efficacité et son large domaine d'application, il semblerait que cet auto-assemblage ionique ne permet pas de produire des échantillons bien alignés de matériaux composites.

On peut citer d'autres exemples de systèmes hybrides organiques/inorganiques, dont l'étude a été moins poussée. Par exemple, les ferro-smectiques [40] créés il y a une vingtaine d'années ; ils sont constitués d'une phase lamellaire gonflée avec un ferrofluide contenant des particules magnétiques sphériques, beaucoup plus petites que la période lamellaire. De manière analogue, E. Kaler et ses collaborateurs ont dopé [127] une phase lamellaire lyotrope avec des billes de silice de taille nanométrique. Dans un tel système, le mouvement des particules dopantes sous l'action d'un champ électrique alternatif peut être utilisé pour contrôler le degré d'ordre smectique et, partant, les propriétés optiques de la phase, comme l'a démontré le groupe de H. Tanaka [161]. Des matériaux composites ont été préparés à base de feuillettes d'argile et de tensioactifs neutres ou chargés [52], mais la formulation est assez difficile et la teneur en particules assez faible. Très récemment, F. Artzner et ses collaborateurs [32, 14] ont dopé des phases lamellaires de lipides avec des puits quantiques, que leurs propriétés

de fluorescence rendent très intéressants pour des applications en biologie.

Quelle que soit la nature des particules dopantes, la grande majorité de ces études ont été menées sur des échantillons désorientés, ce qui représente une grande limitation dans le cas de tels systèmes intrinsèquement anisotropes, d'un point de vue à la fois fondamental et applicatif.

Finalement, un nombre croissant de publications décrivent le dopage de cristaux liquides thermotropes avec des particules inorganiques. Cependant, leur taille est en général de l'ordre du micron (beaucoup plus grande que le pas smectique) et donc les questions fondamentales et les concepts employés sont très différents de ceux abordés dans notre projet, comme on le verra dans la section suivante.

## 2.3 Originalité du projet

Le but de ce projet est de proposer une réponse originale aux problèmes discutés plus haut, en insérant des nanoparticules dans des phases lamellaires lyotropes alignées. Ces systèmes, intrinsèquement hétérogènes et anisotropes, avec des propriétés intermédiaires entre les solides et les liquides, peuvent être très riches en applications. Néanmoins, leur complexité impose une approche compréhensive de cette étude, combinant la synthèse des nanoparticules, la formulation et l'orientation des phases dopées, la mesure de leurs propriétés statiques et dynamiques ainsi qu'une analyse théorique poussée.

L'originalité de cette approche par rapport à la littérature déjà mentionnée consiste en une combinaison de plusieurs éléments :

- Utiliser des inclusions de taille « mésoscopique », c'est à dire comparable à la distance caractéristique dans la matrice (le pas smectique pour une phase lamellaire). Le but est d'avoir des interactions suffisamment importantes des inclusions avec la phase hôte et entre elles pour induire un certain degré d'ordre (difficile à obtenir avec des particules trop petites) mais aussi d'obtenir un mélange intime des propriétés des deux composants (il faut donc éviter les particules de grande taille).
- Eviter les interactions électrostatiques, pour que le système hybride reste relativement « fluide » et donc facile à orienter.
- Obtenir des échantillons orientés, pour mettre en valeur l'anisotropie de la phase. Ceci est indispensable pour caractériser le système, car cette anisotropie se transmet aux propriétés d'intérêt de la phase, qu'elles soient microscopiques (comme l'interaction entre inclusions) ou macroscopiques (par exemple, l'indice de réfraction).

Tous ces aspects seront mis en évidence dans les deux chapitres suivants.



## CHAPITRE 3

# Bâtonnets magnétiques

Ce chapitre est adapté de l'article [Béneut *et al.*, 2008] :

BÉNEUT, K., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., DESSOMBZ, A. ET CHANÉAC, C. (2008). Magnetic Nanorods Confined in a Lamellar Lyotropic Phase. *Langmuir*, 24 :8205-8209.

Nous avons dopé la phase lamellaire diluée formée par le tensioactif non-ionique C<sub>12</sub>EO<sub>5</sub> avec des nano-bâtonnets de goethite (oxyde de fer) jusqu'à une fraction de 5 % en volume. Nous avons étudié l'interaction entre les inclusions et la phase hôte par des techniques de microscopie optique polarisée (avec ou sans la présence d'un champ magnétique appliqué) et de diffusion des rayons X aux petits angles. Nous trouvons que, lorsque l'orientation des bâtonnets est modifiée à l'aide du champ magnétique, la texture de la phase lamellaire suit le changement ; on peut ainsi induire une transition de réorientation homéotrope-planaire. D'autre part, la phase lamellaire induit une interaction attractive entre les particules. Lorsque la phase lamellaire est concentrée (et le confinement est plus fort) les particules forment des agrégats. Ce comportement n'est pas retrouvé dans la même phase lamellaire dopée avec des particules sphériques, mettant ainsi en lumière l'effet de la forme des particules sur leur interaction avec la matrice.

### 3.1 Introduction

Depuis plusieurs années, le domaine de la matière molle a été témoin d'une activité accrue sur les matériaux hybrides organiques-inorganiques [132]. Cet intérêt soutenu est bien entendu motivé par les multiples applications de ces systèmes [91], mais aussi par des problèmes fondamentaux concernant l'interaction entre les deux sous-systèmes. Très souvent, les matériaux sont obtenus en dispersant des nano-particules solides dans une matrice continue « molle » formée de tensioactifs, polymères, émulsions etc. On essaie ainsi, par un choix judicieux des composants, de combiner les propriétés spécifiques des particules (catalytiques, optiques, magnétiques etc.) et la facilité de mise en forme de la phase hôte.

De telles dispersions représentent aussi une nouvelle classe parmi les systèmes de la matière molle ; leur nouveauté par rapport aux solutions colloïdales « classiques » réside en la complexité de la matrice. Au-delà de l'intérêt théorique de cette étude on en trouve un bien pratique : pour quelles valeurs des paramètres pertinents (taille et forme des particules, structure et élasticité de la matrice etc.) la dispersion est-elle stable ? Est-ce que le confinement imposé par la phase hôte peut induire de l'ordre dans le système des inclusions ? Quelles sont les applications qui en découlent ? Nous ne pouvons répondre à ces questions sans avoir acquis une bonne compréhension de l'interaction entre les inclusions et la matrice.

Dans le cas de nano-particules dispersées dans une phase cristalline liquide, on devrait naturellement prendre en compte l'effet du milieu élastique et anisotrope sur le potentiel d'interaction entre les particules. Pour des phases lamellaires il existe des modèles théoriques détaillés [153, 134, 37], mais les études expérimentales sont encore peu développées. Réciproquement, les inclusions peuvent modifier le potentiel d'interaction entre membranes, et ainsi le pas smectique [147] et les modules élastiques [116]. Clairement, dans un système composite on doit donc étudier :

- L'influence du confinement (imposé par la phase hôte) sur les inclusions.
- Les changements induits par les particules dans la structure de la matrice.

Ces deux aspects sont très bien illustrés par un système que nous avons formulé récemment : la phase lamellaire est le système  $C_{12}E_5$ /hexanol/eau, où  $C_{12}E_5$  est le tensioactif non-ionique penta(éthylène glycol) monododécyl éther, et les inclusions sont des nano-bâtonnets de goethite (oxyde de fer), présentant des propriétés magnétiques complexes [84]. Nous mettons en évidence l'interaction attractive entre particules induite par la matrice lamellaire et montrons que, lorsque le confinement devient trop important (le pas smectique devient trop petit) les particules s'agrègent, même lorsque leur concentration est très faible. D'autre part, nous montrons l'effet des inclusions sur la texture de la phase lamellaire : lorsque les bâtonnets sont orientés à l'aide d'un champ magnétique appliqué, les bicouches suivent ce changement et (à champ fort) s'alignent perpendiculairement au champ. On peut ainsi obtenir des monodomains planaires parfaitement orientés, et cette orientation persiste une fois le champ enlevé. Il faut souligner que le champ n'a aucune influence sur la phase lamellaire « nue » (sans inclusions).

Des phases lamellaires lyotropes dopées avec des particules magnétiques sphériques et de petite taille avaient déjà été présentées dans la littérature [40, 26] et leurs propriétés structurales [116, 120] et magnétiques [117, 144] avaient été étudiées en détail il y a plusieurs années. En revanche, l'étude que nous avons menée porte sur des particules anisotropes de grande taille et sur leur interaction due au confinement dans la phase lamellaire. Il faut aussi noter que l'on peut confiner des nano-bâtonnets d'or dans des phases lamellaires de copolymères à bloc [31].

Ce système hybride semble prometteur pour la préparation de couches fines de nano-particules magnétiques avec un espacement et une orientation bien définis (imposés par l'interaction induite par la matrice), avec des applications –par exemple– dans le domaine du stockage de l'information [49, 145]. Les propriétés viscoélastiques de la phase lamellaire sont également intéressantes dans la mesure où elles permettent un bon contrôle du dépôt.

## 3.2 Matériaux et méthodes

La goethite ( $\alpha$  – FeOOH) est un oxy-hydroxyde de fer, beaucoup utilisé comme pigment. Les nano-bâtonnets ont été synthétisés selon un protocole bien connu [6, 65]. Leurs dimensions sont de l'ordre de  $150 \times 25 \times 10 \text{ nm}^3$  (longueur  $\times$  largeur  $\times$  hauteur) [85]. La surface des particules est hydroxylée, avec une charge de surface de  $0.2 \text{ C m}^{-2}$  à  $pH = 3$  et avec un point isoélectrique qui correspond à un  $pH = 9$  ; voir [85] pour plus de détails. En volume, la goethite est antiferromagnétique [24], mais les bâtonnets portent un dipôle magnétique permanent d'environ  $\mu \sim 1200 \mu_B$  le long de leur grand axe,

probablement dû à des dipôles de surface non-compensés (avec  $\mu_B = 9.274 \cdot 10^{-24}$  J/T le magneton de Bohr). De surcroît, l'axe d'aimantation facile est perpendiculaire à cette direction ; pour cette raison, sous un champ appliqué élevé, le moment magnétique induit prend le dessus sur le moment permanent et l'orientation des bâtonnets passe de parallèle au champ à perpendiculaire au-dessus d'une valeur critique  $B \sim 250$  mT.

Le tensioactif,  $C_{12}EO_5$ , a été acheté chez Nikko et l'hexanol chez Fluka ; ils ont été utilisés dans l'état, sans purification supplémentaire. Le diagramme de phase du mélange  $C_{12}EO_5/H_2O$  a été déterminé il y a plus de 25 ans [99]. Depuis, il a été le sujet d'études soutenues, grâce à la présence de plusieurs mésophases, et en particulier d'une phase lamellaire qui peut être gonflée jusqu'à seulement quelques pour cent en fraction volumique de membrane. Cette phase lamellaire diluée apparaît à assez haute température, mais on a montré qu'elle peut être ramenée à la température ambiante en ajoutant un co-tensioactif, tel l'hexanol [45, 46]. Nous avons utilisé un rapport massique hexanol/ $C_{12}EO_5$  de 0.35, correspondant à un rapport molaire de 1.3 (molécules d'hexanol pour chaque molécule de tensioactif). Le domaine de température de la phase lamellaire change avec la dilution, mais il s'étend au minimum de 17 à 32 °C pour tous nos échantillons. L'épaisseur de la membrane est  $\delta \approx 2.9$  nm [45].

Les particules de silice, avec un diamètre nominal de 27 nm ont été obtenues chez Sigma-Aldrich sous la forme de suspensions colloïdales concentrées (Ludox TMA 34) en eau desionisée (34 wt.%). Nous avons mesuré un pH de 7 pour la suspension initiale.

Les solutions mères concentrées de  $C_{12}EO_5$ /hexanol/ $H_2O$  ont été mélangées avec les suspensions colloïdales (de goethite ou de silice) et avec de l'eau desionisée pour obtenir les fractions volumiques désirées de membranes et de particules dopantes. Les échantillons ont été contenus dans des capillaires plats en verre, d'une épaisseur de 50-100  $\mu\text{m}$  (Vitrocom) et alignés en ancrage homéotrope (par recuit thermique).

Le champ magnétique a été appliqué par un montage à base d'aimants permanents, avec un entrefer variable. On peut atteindre des champs de l'ordre de 0.9 T. Les observations en microscopie polarisée ont été faites sur un microscope Olympus BX51 avec platine tournante et des objectifs à grande distance de travail (avec un grossissement de 5 $\times$  ou 10 $\times$ .)

Les expériences de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont été faites sur la ligne ID02 de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) à Grenoble. La longueur d'onde du faisceau incident est de  $\lambda = 0.0995$  nm, et la distance échantillon-détecteur de 5 m. Le signal diffusé a été détecté à l'aide d'une caméra CCD spécialement conçue. On peut trouver une description détaillée du montage expérimental dans la référence [102]. La gamme de vecteur d'onde  $q$  sur laquelle on a pu obtenir des données fiables était de  $0.018 < q < 0.6$  nm $^{-1}$ . Le faisceau incident était perpendiculaire aux faces des capillaires.

## 3.3 Résultats et discussion

### 3.3.1 Diagramme de phases du système dopé

La première étape de l'étude a été d'établir le diagramme de phases du système, en particulier le domaine de confinement (contrôlé par la fraction volumique de membrane) dans lequel les particules peuvent être rajoutées à la phase sans démixer, ainsi

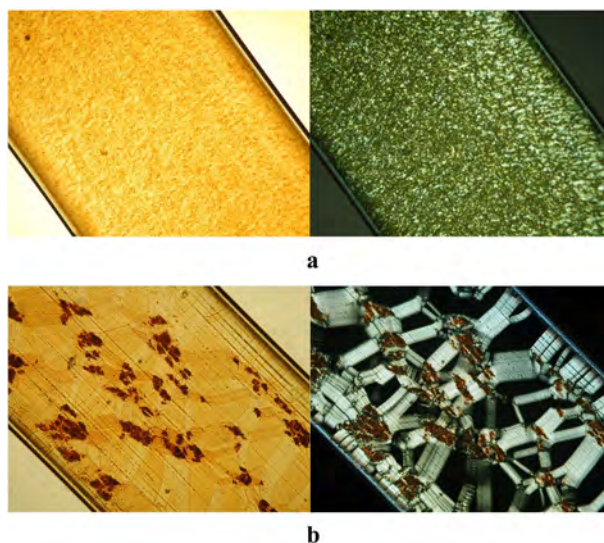


FIGURE 3.1 – Phase lamellaire dopée, à une fraction volumique de goethite  $\phi_g = 0.5\%$  et une fraction volumique de membrane  $\phi_m = 7.2\%$  (a) et  $10.2\%$  (b), deux semaines après préparation. A gauche : en lumière naturelle. A droite : entre polariseurs croisés. Dans le système plus confiné (b) on observe l’agrégation des particules.

que leur concentration maximum. Nous avons préparé tout d’abord des échantillons avec une fraction volumique de goethite  $\phi_g = 0.5, 1, 1.5$  et  $2\%$  et avec une fraction volumique de membrane  $\phi_m = 4.4, 7.2, 10.2$  et  $14.4\%$ .  $\phi_g$  est donné par le rapport entre le volume des particules de goethite et le volume total.  $\phi_m$  est la somme des volumes d’hexanol et de tensioactif, rapportée au volume total (on néglige ici les volumes de mélange). Les particules restent bien dispersées dans la phase lamellaire diluée ( $\phi_m = 4.4$  and  $7.2$  vol. %) pour toutes les valeurs de  $\phi_g$  étudiées. Dans les phases plus concentrées, en revanche, on constate une agrégation des particules, détectable après quelques heures et très visible après quelques jours, même pour la plus faible concentration en particules (voir la figure 3.1). Ensuite, nous avons préparé des échantillons avec  $\phi_m = 7.2$  vol. % et  $\phi_g$  jusqu’à  $5$  vol. %. Tous ces échantillons sont stables pendant des années<sup>1</sup>.

Nous concluons qu’on peut disperser une quantité importante de goethite dans la phase lamellaire, pourvu que la fraction volumique de membrane reste en-dessous d’un seuil se trouvant dans l’intervalle  $7.2 < \phi_m < 10.2$  vol %, ce qui correspond à un pas smectique  $28 < d < 40$  nm. La limite haute en température de la phase lamellaire (transition vers la phase éponge) ne varie pas de manière significative avec le dopage  $\phi_g$ . Le mélange des nano-bâtonnets et de la phase lamellaire est vraisemblablement favorisé par un gain d’énergie dû à la formation de liaisons hydrogène entre la surface hydratée des particules et les têtes des molécules de tensioactif [47].

A ce stade, nous n’avons pas d’explication convaincante pour la valeur seuil du pas smectique. L’interprétation la plus plausible serait que, lorsque la phase lamellaire est plus concentrée, ses modules élastiques augmentent, ainsi que l’interaction entre particules [153], jusqu’au point où ces dernières s’agrègent.

Il faut aussi remarquer que cette valeur limite est de l’ordre de la largeur de la particule. Une explication alternative serait donc que l’agrégation a lieu lorsque la rotation le long du grand axe des particules est entravée (la particule perdant ainsi un

1. Nous ne détectons aucun changement dans des capillaires scellés gardés à l’horizontale. Dans des capillaires gardés à la verticale ainsi que dans les flacons de solution il apparaît un gradient de concentration, orienté vers le bas. Après un court passage des flacons au vortexeur, les solutions redeviennent homogènes, avec aucun signe d’agrégation.

degré de liberté). Ceci dit, il n'est pas évident de rendre cette interprétation compatible avec une forte interaction entre les particules et les têtes des molécules tensioactives.

### 3.3.2 Effet d'un champ magnétique

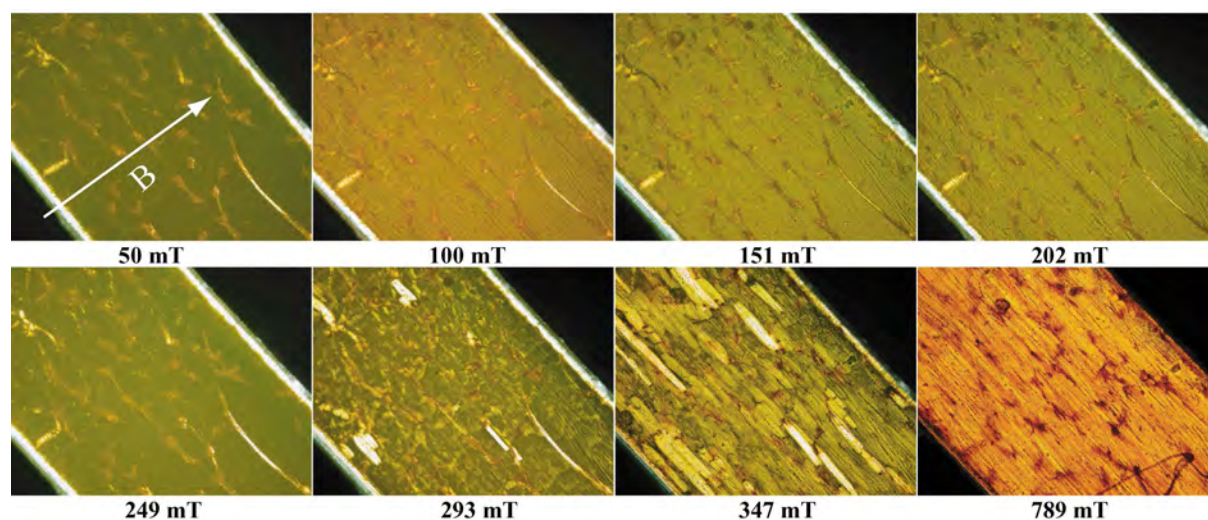


FIGURE 3.2 – Un champ magnétique a été appliqué sur un capillaire de phase lamellaire (à une fraction de membrane de 7.2 vol. %) dopée avec 1.5 vol. % de particules. La valeur du champ a été variée de 0 à environ 0.8 T (la direction du champ est représentée sur la première image et son amplitude est indiquée en bas de chaque image). Les images ont été prises entre polariseurs croisés parallèles aux côtés des images.

Des mesures sous champ magnétique ont été menées sur des capillaires plats en verre, avec une épaisseur de 50  $\mu\text{m}$  et une largeur de 1 mm. Le champ était contenu dans le plan du capillaire et perpendiculaire à sa longueur.

Nous avons tout d'abord appliqué un champ croissant (de 0 jusqu'à environ 0.8 T) à un échantillon avec une très bonne orientation homéotrope (obtenue par recuit thermique –pendant une nuit– à une température proche de la transition vers la phase éponge); quelques stries huileuses persistaient à la fin du traitement. La fraction volumique de membrane était  $\phi_m = 7.2\%$  et celle de goethite  $\phi_g = 1.5\%$ . La suite d'images correspondantes est montrée en figure 3.2. A faible champ, l'intensité transmise augmente avec le champ jusqu'à environ 0.15 T (les particules s'alignent le long du champ); elle décroît ensuite et s'annule à 0.25 T pour augmenter à nouveau à des champs plus forts, lorsque les bâtonnets s'orientent perpendiculairement au champ. Partant de la configuration homéotrope initiale, au-dessus de 0.3 T les stries huileuses déjà présentes dans l'échantillon deviennent plus prononcées et de nouvelles stries nucléent; la texture passe ainsi graduellement en ancrage planaire, avec le directeur smectique le long du champ. Cette transition correspond à la valeur de champ pour laquelle l'orientation des particules passe de parallèle à perpendiculaire au champ en solution aqueuse [84]. On en déduit donc que, lorsque les particules tournent, les lamelles les suivent, probablement à cause de la forte association entre les bâtonnets de goethite et les têtes des molécules de tensioactif.



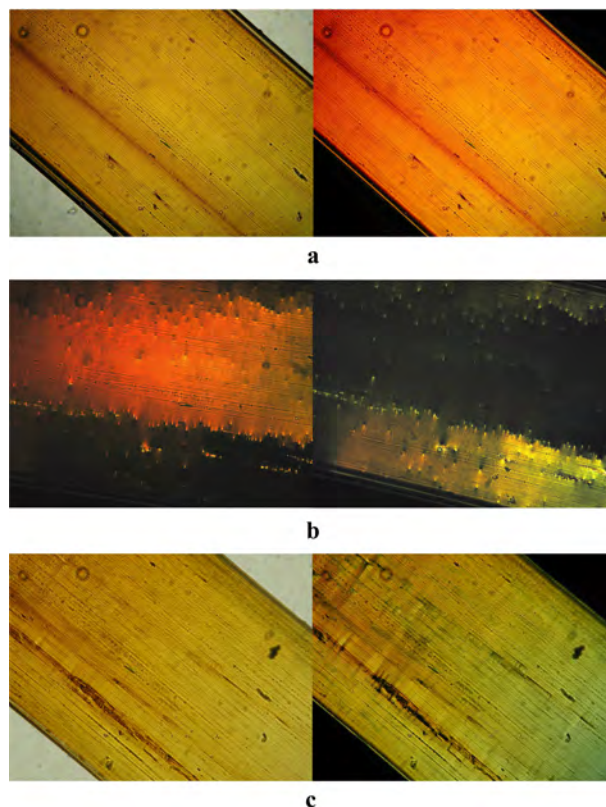


FIGURE 3.3 – Deux domaines adjacents dans un échantillon avec  $\phi_m = 4.4\%$  et  $\phi_g = 1\%$ . a) Sous champ fort (834 mT), en lumière naturelle (gauche) et entre polariseurs croisés, parallèles aux côtés de l'image (droite). b) En tournant l'échantillon, on obtient l'extinction totale de chacun des domaines. c) Après l'enlèvement du champ, l'orientation planaire persiste.

On peut obtenir ainsi un très bon ancrage planaire, comme on peut le voir sur la figure 3.3. Le champ a été appliqué pendant la nuit, alors que l'échantillon était maintenu à une température inférieure d'environ  $1^\circ\text{C}$  à la température de transition vers la phase éponge, dans un four. La température a été ensuite baissée lentement jusqu'à sa valeur ambiante. La figure 3.3a montre l'échantillon, en lumière naturelle et entre polariseurs croisés, sous champ fort. Il contient deux domaines séparés par une paroi. En tournant l'échantillon entre les polariseurs (qui restent parallèles aux côtés de la photo) chaque domaine peut être éteint (Fig. 3.3b). La désorientation entre les domaines est ainsi estimée à  $3.6^\circ$ .

Ensuite, le champ a été réduit progressivement (par pas de 0.1 T toutes les 10 minutes). Quelques coniques focales se sont développées pendant ce processus, mais elles ont recuit après quelques heures. La texture finale en champ nul est montrée dans la figure 3.3c ; elle est restée stable pendant des jours.

L'effet du champ magnétique est similaire à celui observé dans les phases ferromagnétiques, obtenues en dopant des phases lamellaires diluées avec de petites particules ferromagnétiques [40, 117]. Ces auteurs aussi avaient observé une transition de réorientation, révélée par l'apparition de coniques focales dans des échantillons homéotropes sous l'influence d'un champ magnétique appliqué le long du directeur (la normale aux couches). Néanmoins, dans leur système les couches tendent à s'aligner *le long* du champ, alors que dans notre cas elles adoptent une orientation *perpendiculaire* au champ au-dessus de sa valeur critique.

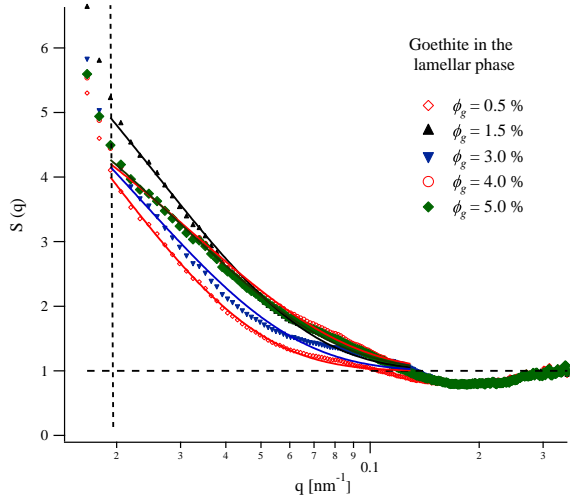


FIGURE 3.4 – Facteurs de structure pour les particules de goethite dispersées dans la phase lamellaire  $L_\alpha$ . La fraction volumique de membrane est  $\phi_m = 7.2\%$  et celle de goethite  $\phi_g$  est indiquée pour chaque courbe. La ligne verticale en tireté à  $q = 0.018 \text{ nm}^{-1}$  marque la limite en-dessous de laquelle l'incertitude des données (due principalement à la soustraction du fond) devient appréciable. Les lignes continues sont des ajustements avec une exponentielle (voir le texte pour plus de détails).

### 3.3.3 Interaction induite par la phase lamellaire

Nous avons utilisé la diffusion des rayons X pour étudier l'interaction entre les particules, en solution et dans la phase lamellaire. Il est bien connu [20] que l'intensité diffusée par un ensemble de particules identiques peut généralement être décomposée comme le produit  $I(q) = |F(q)|^2 \times S(q)$  d'un facteur de forme,  $|F(q)|^2$ , qui dépend seulement de la taille et la forme de la particule individuelle, et d'un facteur de structure  $S(q)$  qui quantifie les interactions entre particules ( $S(q) = 1$  en l'absence des interactions).

Nous avons pris comme facteur de forme l'intensité diffusée par une dispersion très diluée ( $\phi_g = 0.066\%$ ) de particules dans la phase lamellaire, à la même fraction de membrane que pour les courbes montrées dans la figure 3.4, à savoir  $\phi_m = 7.2\%$ . Après soustraction du fond, les courbes de diffusion pour les systèmes ( $L_\alpha +$  goethite) présentés par la suite ont été divisées par ce signal et normalisées à 1 aux grands vecteurs d'onde  $q$ .

La première observation est que tous les facteurs de structure représentés dans la figure 3.4 présentent une remontée très claire aux petits angles (en-dessous de  $0.1 \text{ nm}^{-1}$ ), signe distinctif d'un interaction attractive. Une estimation rapide de la portée de l'interaction  $\xi$  peut être obtenue en ajustant les données avec une exponentielle décroissante :

$$S(q) = 1 + A \exp(-q\xi), \quad (3.1)$$

ce qui donne  $30 \text{ nm} < \xi < 50 \text{ nm}$ . La portée de cette attraction est du même ordre de grandeur que la largeur des bâtonnets et que le pas smectique. Pour comprendre la nature de l'interaction il serait nécessaire de mener une étude plus détaillée, pour plusieurs dilutions de la phase lamellaire. La caractéristique la plus intéressante de cette interaction est qu'elle est présente uniquement sous confinement (dans la phase lamellaire), et seulement pour des particules anisotropes, comme on le verra plus loin.

Nous avons utilisé comme système de référence des dispersions aqueuses de particules de goethite à des concentrations similaires, voir la figure 3.5. Le facteur de forme a été obtenu sur une solution aqueuse très diluée,  $\phi_g = 0.066\%$ . A faible teneur en particules, le facteur de structure est négligeable ; pour  $\phi_g = 7.3\%$ , il a une forme typique pour des particules à coeur dur, avec un maximum bien défini et des oscillations à plus haut  $q$ , mais son amplitude est assez réduite et la forme est très différente de celle

FIGURE 3.5 – Facteurs de structure pour des dispersions aqueuses de particules de goethite. La fraction volumique de goethite  $\phi_g$  est indiquée pour chaque courbe. La ligne verticale en tireté à  $q = 0.018 \text{ nm}^{-1}$  marque la limite en-dessous de laquelle l'incertitude des données (due principalement à la soustraction du fond) devient appréciable.

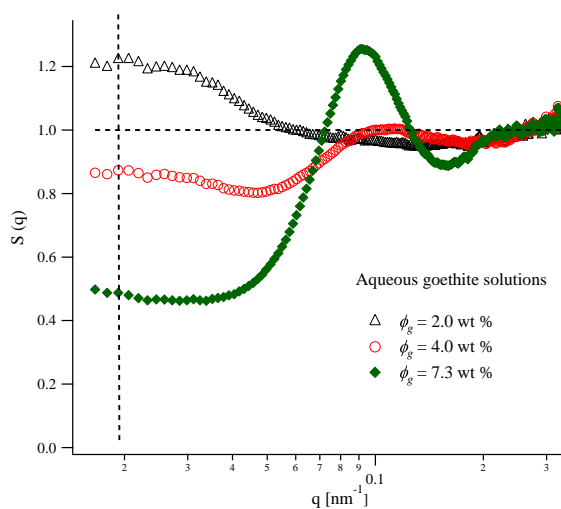
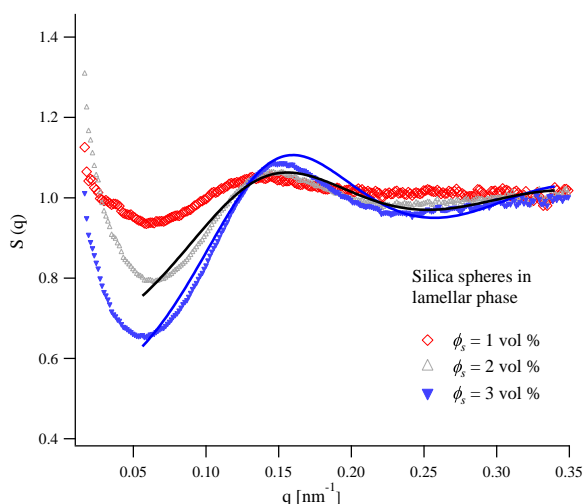


FIGURE 3.6 – Facteurs de structure pour des billes de silice dispersées dans la phase lamellaire. La fraction volumique de silice  $\phi_s$  est indiquée pour chaque courbe. Les données pour  $\phi_s = 2$  et 3 vol% sont ajustées par un modèle de sphères dures (dans l'approche de Percus-Yevick) avec un rayon d'interaction de 19 nm.



obtenue pour la phase lamellaire. Nous concluons que les effets décrits ci-dessus (Fig. 3.4) sont dûs au confinement imposé par la phase lamellaire.

Les données de diffusion des rayons X pour le système lamellaire dopé montrent que la phase lamellaire induit une interaction attractive entre les bâtonnets de goethite. Pour évaluer le rôle de la forme, nous avons étudié la même phase lamellaire, dopée avec des billes de silice à une concentration comparable, un système déjà décrit dans la littérature [127]. La fraction de membrane était  $\phi_m = 7 \text{ vol}\%$  et celle de silice  $\phi_s = 0.5, 1, 2$  et 3 vol%. Les échantillons sont restés stables et homogènes pendant des mois, même si dans la référence [127] la phase lamellaire dopée était stable seulement pour un contenu en silice  $\phi_s \leq 0.8 \text{ vol}\%$ . Cette discrédance pourrait être reliée à la différence de conditionnement des billes de silice : ces auteurs ont utilisé des solutions de Ludox TM, avec un pH= 9 et un contenu en sel relativement important.

Des échantillons dopés en silice orientés en ancrage homéotrope ont été étudiés selon la même procédure que pour les systèmes contenant de la goethite. Les facteurs de structure ainsi obtenus sont représentés dans la figure 3.6. L'intensité diffusée  $I(q)$  pour l'échantillon le plus dilué ( $\phi_s = 0.5 \text{ vol}\%$ ) a été utilisée comme facteur de forme ; elle est bien décrite par un modèle de sphères polydisperses, avec un rayon moyen  $R \sim 13 \text{ nm}$  et une polydispersité  $p = \sigma/R \sim 0.1$ . Des valeurs semblables sont obtenues pour des

dispersions aqueuses, en utilisant un montage de laboratoire sur anode tournante.

La première observation est que, pour les billes de silice dispersées dans la phase lamellaire, le facteur de structure ne présente qu'une très faible remontée aux petits angles. L'attraction induite par la phase lamellaire –si elle existe– est beaucoup moins importante pour des sphères que pour des bâtonnets. A des vecteurs d'onde  $q > 0.06 \text{ nm}^{-1}$ , les facteurs de structure des échantillons avec  $\phi_s = 2$  et 3 vol% sont bien décrits par une interaction de sphères dures en trois dimensions (dans l'approximation de Percus-Yevick [157, 148]) avec un rayon de coeur effectif de 19 nm, voir la figure 3.6. En conclusion, la présence de la phase lamellaire n'a aucun effet détectable sur l'interaction entre des billes de silice. Pour être plus précis, l'interaction de sphères confinées entre deux surfaces rigides devrait plutôt être décrite par un modèle à deux dimensions (disques durs). Nous avons effectué une telle analyse en utilisant pour le facteur de structure la forme analytique proposée par Y. Rosenfeld [124] et nous avons obtenu des résultats similaires, avec un rayon de disque dur de 17 nm. Des systèmes plus concentrés seraient nécessaires pour pouvoir discriminer entre les cas bi- et tridimensionnel.

### 3.4 Conclusion

En conclusion, nous avons formulé une phase lamellaire non-ionique dopée par des nano-bâtonnets magnétiques de grande taille (par rapport au pas smectique). Sous confinement les inclusions subissent une interaction attractive, qui n'est pas présente dans des solutions aqueuses, ni pour des particules sphériques de silice sous confinement. Pour un confinement encore plus fort (concentration de membrane plus élevée), les nano-particules s'agrègent. L'interaction entre les particules et la matrice est mise en évidence par l'effet d'orientation qu'exercent les inclusions sur la phase lamellaire.

### Remerciements

Nous remercions P. Panine, E. Belamie et A. Poulos pour leur aide lors des expériences synchrotron.



## CHAPITRE 4

# Nématique en phase lamellaire

Ce chapitre est adapté de l'article [Constantin *et al.*, 2010a] :

CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P. ET CHANÉAC, C. (2010). Lyotropic Lamellar Phase Doped with a Nematic Phase of Magnetic Nanorods. *Langmuir*, 26 :4586-4589.

Nous avons élaboré une mésophase hybride qui combine l'ordre lamellaire d'un système lyotrope de tensioactif non-ionique et l'ordre nématique d'une solution concentrée de nano-bâtonnets inorganiques confinés entre les couches de tensioactif. Cette mésophase s'aligne très bien par recuit thermique, et l'orientation des nano-particules est facilement contrôlée par l'application d'un champ magnétique. En utilisant la microscopie optique polarisée et la diffusion des rayons X haute résolution au synchrotron nous montrons que l'ordre nématique et l'ordre lamellaire sont tous les deux modifiés par rapport aux systèmes isolés, mettant en évidence leur étroite interaction.

## 4.1 Introduction

Parmi les systèmes extrêmement divers qu'on classifie dans le domaine de la « matière molle », la famille de composés hybrides qui combinent à une échelle nanométrique deux composants avec différents types d'ordre a récemment fait l'objet de nombreuses études. Effectivement, de tels systèmes soulèvent des questions fondamentales sur l'interaction des deux types d'ordre impliqués et ouvrent aussi la perspective de nouvelles applications, par exemple en vectorisation thérapeutique [38].

En particulier, des phases lamellaires dopées avec des inclusions anisotropes ont reçu beaucoup d'attention depuis leur mise en évidence expérimentale dans des complexes ADN/lipides [119, 73]. Depuis, plusieurs autres dopants organiques ont été employés, comme des virus [163] et des peptides [72]. Ces résultats expérimentaux ont aussi motivé des efforts théoriques soutenus [131, 50, 106], qui se sont concentrés sur l'interaction des deux types d'ordre (celui lamellaire de la matrice et celui des inclusions qu'elle contient), et sur les caractéristiques d'une possible phase smectique à deux dimensions formée par les inclusions.

Ces systèmes sont généralement obtenus par complexation électrostatique, suivie d'un processus de précipitation ; par conséquent, leur texture est très difficile à contrôler et ils ont en général la forme de globules multi-lamellaires, avec une orientation aléatoire. Il est donc très difficile de séparer leur organisation moléculaire dans le plan des couches et celle le long du directeur de la phase. Ils sont en plus très concentrés (avec un pas smectique de quelques nm), ce qui impose de fortes contraintes sur la taille des inclusions.

Nous présentons ici un nouveau système hybride, composé d'une phase lamellaire diluée (formée par un tensioactif nonionique) dopée avec une phase nématique

de bâtonnets de goethite ( $\alpha - \text{FeOOH}$ ) qui diffèrent des dopants organiques utilisés précédemment par leurs propriétés magnétiques. La phase composite (nématique/lamellaire) finalement obtenue est très fluide, et donc facilement alignée, ce qui nous permet d'étudier sa structure en détail. Un avantage appréciable est que l'orientation des particules peut être contrôlée à l'aide d'un champ magnétique externe de relativement faible amplitude.

Le degré d'ordre de chaque composant (quantifié par la largeur du pic de Bragg pour la phase lamellaire hôte et par le paramètre d'ordre nématique pour les nano-particules confinées) change en présence de l'autre composant, confirmant leur interaction étroite.

Ce système pourrait trouver des applications pratiques dans la synthèse de matériaux stimulables, de mémoires magnétiques à haute densité [146], de méta-matériaux [137] etc.

## 4.2 Matériaux et méthodes

La matrice est le système  $\text{C}_{12}\text{EO}_5/\text{hexanol}/\text{H}_2\text{O}$ , où  $\text{C}_{12}\text{EO}_5$  dénote le tensioactif non-ionique penta(éthylène glycol) monododécyl éther. Sa phase lamellaire peut être diluée jusqu'à des pas smectiques  $d$  de l'ordre du micron, alors que l'épaisseur de la bicouche est  $\delta \approx 2.9 \text{ nm}$  [45, 46]. Nous avons utilisé un rapport hexanol/ $\text{C}_{12}\text{EO}_5$  de 0.33 en masse, correspondant à un rapport molaire de 1.3 (molécules d'hexanol pour chaque molécule de tensioactif). Le rôle principal de l'hexanol est de ramener le domaine de la phase lamellaire à la température ambiante. Le tensioactif a été acheté chez Nikko et le 1-hexanol chez Fluka ; ils ont été utilisés dans l'état, sans purification supplémentaire. Pour tous les échantillons mentionnés dans ce chapitre, la fraction de membrane  $\phi_m = (V_{\text{C}_{12}\text{EO}_5} + V_{\text{hexanol}})/V_{\text{total}} = 6.26 \text{ vol } \%$ .

La goethite ( $\alpha - \text{FeOOH}$ ) est beaucoup utilisée comme pigment, en raison de sa couleur ocre [25]. En volume, sa densité est  $\rho_g = 4.37 \text{ g/cm}^3$ . Les nano-bâtonnets ont été synthétisés selon un protocole bien connu [6, 65]. Des suspensions aqueuses stables de nano-particules de goethite bien dispersées sont obtenues par des étapes successives de centrifugation et redispersion dans l'eau jusqu'à atteindre un  $\text{pH} = 3$ , où leur surface est hydroxylée, avec une charge de surface de  $0.2 \text{ C m}^{-2}$  (le point isoélectrique correspond à  $\text{pH} = 9$ ). Même si en volume la goethite est antiferromagnétique, les bâtonnets portent un dipôle magnétique permanent d'environ  $\mu \sim 1200 \mu_B$  le long de leur grand axe, probablement dû à des dipôles de surface non-compensés (avec  $\mu_B = 9.274 \cdot 10^{-24} \text{ J/T}$  le magneton de Bohr). C'est pourquoi, en suspension, ils s'alignent facilement le long d'un champ magnétique faible. De surcroît, l'axe d'aimantation facile est perpendiculaire à cette direction ; pour cette raison, sous un champ appliqué élevé, le moment magnétique induit prend le dessus sur le moment permanent et l'orientation des bâtonnets passe de parallèle au champ à perpendiculaire au-dessus d'une valeur critique  $B \sim 350 \text{ mT}$  [84]. Quand les bâtonnets sont confinés dans la phase lamellaire la réorientation a aussi lieu, à la même valeur du champ, et la texture de la phase lamellaire suit l'orientation des bâtonnets [Béneut *et al.*, 2008].

Des observations de microscopie électronique en transmission (MET) ont été effectuées sur des dépôts obtenus en pipetant une goutte de solution diluée de nano-particules sur une grille en cuivre couverte d'une membrane de carbone. La morphologie est typique pour un cristal de goethite, allongé selon la direction [001] et terminé

par des faces {210} [25], avec un facteur d'anisotropie de 8.4. La distribution en taille des particules a été déterminée sur une population de 200 particules. La longueur moyenne est  $\bar{L} = 315$  nm et l'écart-type  $\sigma_L = 88$  nm. Dans la dimension transversale,  $\bar{D} = 42$  nm et  $\sigma_D = 12$  nm. Les polydispersités sont relativement faibles,  $\sigma_L/\bar{L} = 0.28$  et  $\sigma_D/\bar{D} = 0.3$ . Plus précisément, les particules ont une forme de lattes, et l'élargissement des pics dans des mesures de diffraction des rayons X sur des poudres indique une largeur moyenne de 38 nm et une épaisseur moyenne de 18 nm, en bon accord avec les résultats obtenus par MET.

Les expériences de diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) ont été faites sur la ligne ID02 de l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) à Grenoble. La longueur d'onde du faisceau incident est de  $\lambda = 0.0995$  nm, et la distance échantillon-détecteur de 5 m. Le signal diffusé a été détecté à l'aide d'une caméra CCD spécialement conçue. On peut trouver une description détaillée du montage expérimental dans la référence [102]. La gamme de vecteur d'onde  $q$  sur laquelle on a pu obtenir des données fiables était de  $0.02 < q < 0.6$  nm<sup>-1</sup>. Les échantillons étaient contenus dans des capillaires plats en verre, avec une épaisseur de 50  $\mu$ m et une largeur de 1 mm (Vitrocom, NJ, USA). Le faisceau incident était perpendiculaire aux faces plates des capillaires. Le champ magnétique a été appliqué en utilisant un montage disponible sur la ligne, à base d'aimants permanents avec un entrefer variable et pilotable à distance.

Pour déterminer le paramètre d'ordre de la phase nématique, nous avons pris des coupes azimutales  $I(\theta)$  dans le signal diffusé, à la position radiale  $q_{max} = 2\pi/(80$  nm) du pic nématique et nous les avons ajustées par un profil obtenu de la théorie de Maier-Saupe et discuté en détail dans les références [29, 85, 86].

Les observations en microscopie optique ont été faites avec un microscope Olympus BX51 (avec des grossissements de 5 $\times$ –40 $\times$ ) en lumière linéairement polarisée avec, lorsque le texte le précise, un analyseur perpendiculaire à la polarisation incidente. Pour les mesures de biréfringence nous avons utilisé un compensateur Berek (U-CBE, de chez Olympus) et un filtre vert passe-bande (480–580 nm.) Le champ magnétique a été appliqué par un montage à base d'aimants permanents, avec un entrefer variable. On peut atteindre des champs de l'ordre de 0.9 T.

### 4.3 Résultats et discussion

La figure 4.1 présente une comparaison entre la suspension aqueuse en phase nématique  $N$  des bâtonnets de goethite (à gauche) et la mésophase hybride nématique/lamellaire ( $N/L_\alpha$ ) (à droite), avec et sans un champ magnétique appliqué. Pour le système  $N/L_\alpha$ , en l'absence du champ magnétique, la texture de la phase observée entre polariseurs croisés présente à la fois les stries huileuses dues à la symétrie smectique de la phase lamellaire et des textures typiques pour une phase nématique (entre les stries huileuses). Sous un champ magnétique relativement faible (50 mT), le nématique s'aligne et seuls les défauts lamellaires restent visibles.

Nous avons étudié par SAXS l'orientation des bâtonnets de goethite confinés dans la phase  $N/L_\alpha$ . Les clichés (figure 4.1, en bas) montrent que les particules sont facilement alignées le long du champ, sans perturber la texture de la phase lamellaire. Les particules restent alignées une fois le champ magnétique enlevé, montrant que la configuration nématique uniforme des particules confinées est stable. Nous avons



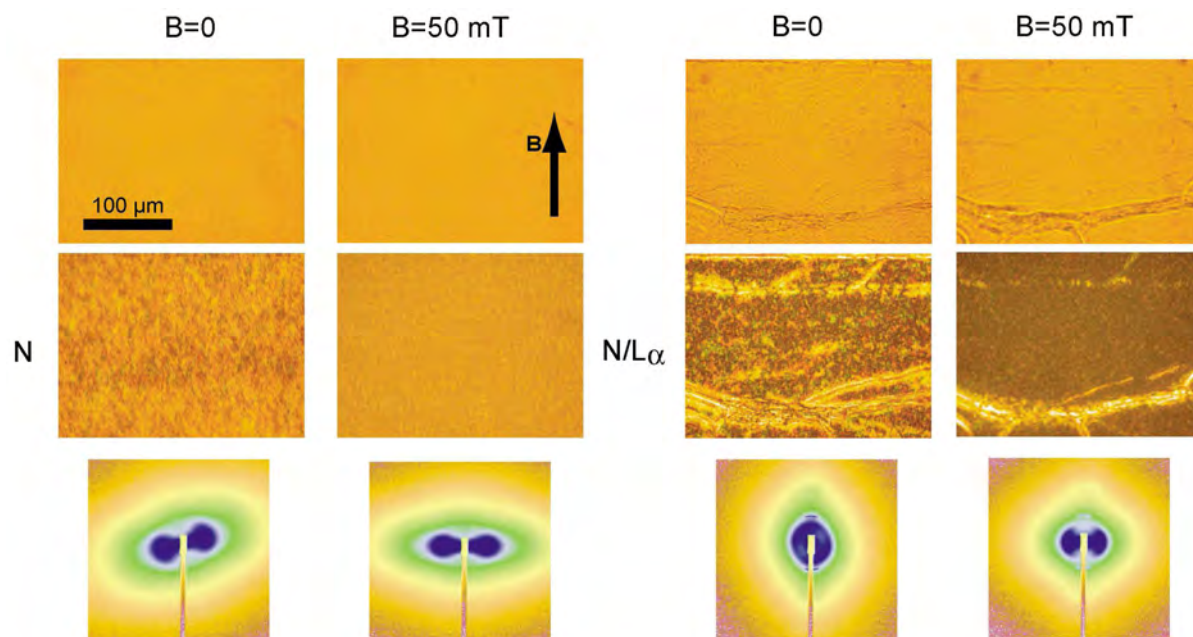


FIGURE 4.1 – Textures observées en microscopie optique (en haut) et signal SAXS (en bas) pour la phase nématique de goethite, à une concentration  $\phi_g = 8$  vol %, dans l'eau (à gauche) et confinée dans la phase lamellaire  $L_\alpha$  (à droite). Les images de microscopie sur la ligne du bas ont été prises entre polariseurs croisés, parallèles aux côtés des images. Dans les deux cas, la phase nématique est très bien alignée le long du champ magnétique, même pour la valeur relativement faible de 50 mT. La phase lamellaire est presque parfaitement alignée en ancrage homéotrope (les bicouches étant parallèles aux faces du capillaire), à l'exception de quelques stries huileuses, visibles sur les images de microscopie et qui produisent les pics très faibles et très localisés qu'on peut identifier sur l'axe vertical dans les clichés SAXS.

également mesuré par SAXS le paramètre d'ordre  $S$  dans les phases  $N$  et  $N/L_\alpha$  à la même concentration en particules  $\phi_g = 8$  vol %, dans des échantillons alignés par un champ magnétique modéré (50–200 mT). Alors que dans la phase nématique aqueuse  $N$  on a  $S \simeq 0.75$ , le système hybride présente un ordre nématique plus faible, avec  $S \simeq 0.45$  (figure 4.2A). Cette décroissance pourrait être due à une corrélation d'orientation réduite entre les particules se trouvant dans des couches différentes. Au-dessus du seuil de réorientation, le paramètre d'ordre des bâtonnets varie continûment et sature vers 700 mT (figure 4.2A). Aucun effet significatif n'est observé au-delà de cette valeur. Il faut mentionner que le champ magnétique n'a aucune influence sur la phase lamellaire non-dopée, même aux valeurs de champ les plus élevées.

Une autre caractéristique notable du système hybride est la susceptibilité très élevée de la phase isotrope de particules sous confinement ( $I/L_\alpha$ ), quantifiée par le paramètre d'ordre induit,  $S(B)$  (figure 4.2B) et la biréfringence induite  $\Delta n(B)$  (figure 4.2C) par un champ magnétique appliqué  $B$ . Ces expériences ont été menées pour deux concentrations de goethite,  $\phi_g = 3.5$  vol % et à la coexistence avec la phase  $N/L_\alpha$  phase, avec une concentration totale  $\phi_g = 6.61$  vol %. A cause de la présence de la phase lamellaire, nous n'avons pas pu déterminer précisément le contenu en goethite des deux phases à coexistence, mais il semble proche de celui dans des solutions aqueuses (approx.

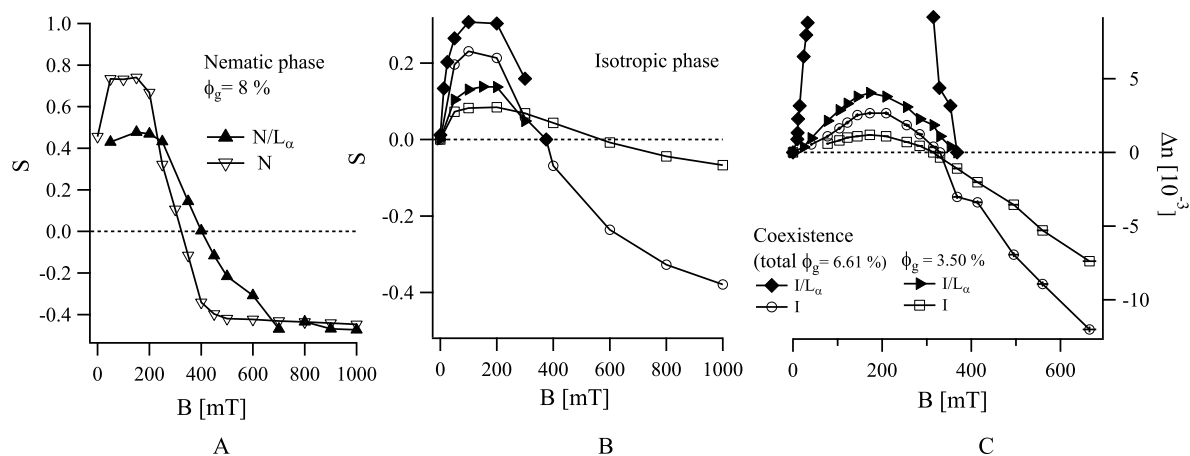


FIGURE 4.2 – A – Paramètre d’ordre  $S$  (calculé à partir des clichés SAXS) pour la phase nématique de bâtonnets de goethite, dans la phase lamellaire ( $\blacktriangle$ ) et dans l’eau ( $\nabla$ ) en fonction du champ magnétique appliqué. Pour un champ  $B \gtrsim 350$  mT les particules s’alignent perpendiculairement au champ, ce qui donne des valeurs négatives pour le paramètre d’ordre. B – Paramètre d’ordre induit et C – biréfringence induite pour la phase isotrope de la goethite en fonction du champ magnétique appliqué, pour deux concentrations  $\phi_g$ . Les symboles sont les mêmes dans les sous-figures B et C. On ne peut pas mesurer la biréfringence optique dans la phase lamellaire au-dessus du seuil de réorientation à cause du changement de texture (d’homéotrope à planaire).

4.5 : 7.5 vol %).

Les deux paramètres,  $S(B)$  et  $\Delta n(B)$  sont clairement plus élevés dans le système hybride. Cette tendance est très marquée pour la biréfringence induite par le champ (losanges sur la figure 4.2C) dans la phase isotrope confinée à une fraction volumique  $\phi_g = 6.61$  vol %, dans le domaine biphasique des suspensions aqueuses de goethite. Pour cette concentration, il y a coexistence entre deux phases lamellaires ( $I/L_\alpha$  and  $N/L_\alpha$ ) dopées avec une phase isotrope et une phase nématique, respectivement. Les deux phases ont été identifiées optiquement, dans le même capillaire, par leurs textures distinctes. Le manque de données entre 33 et 350 mT correspond à des valeurs de birefringence trop élevées pour être mesurées avec notre montage. Les images de microscopie et les clichés SAXS correspondant à plusieurs valeurs de champ sont montrés sur la figure 4.3, où la forte biréfringence est mise en évidence par le changement de couleur et la remontée progressive du paramètre d’ordre des bâtonnets par les lobes horizontaux dans les clichés de diffusion.

Pour le système hybride, le paramètre d’ordre plus faible de la phase nématique et la haute susceptibilité de la phase isotrope sont tous les deux compatibles avec une transition de phase du deuxième ordre (proposée dans la littérature pour une phase nématique 2D [154, 158]), contrairement à la transition du premier ordre observée dans le système aqueux [84].

Finalement, la présence des inclusions affecte la structure de la phase lamellaire hôte qui devient plus rigide, comme on peut le voir par la largeur décroissante du pic de Bragg lorsque la concentration de goethite augmente. Cet effet est illustré dans la figure 4.4. Il pourrait être dû à une forte interaction entre les nano-particules et les bicouches

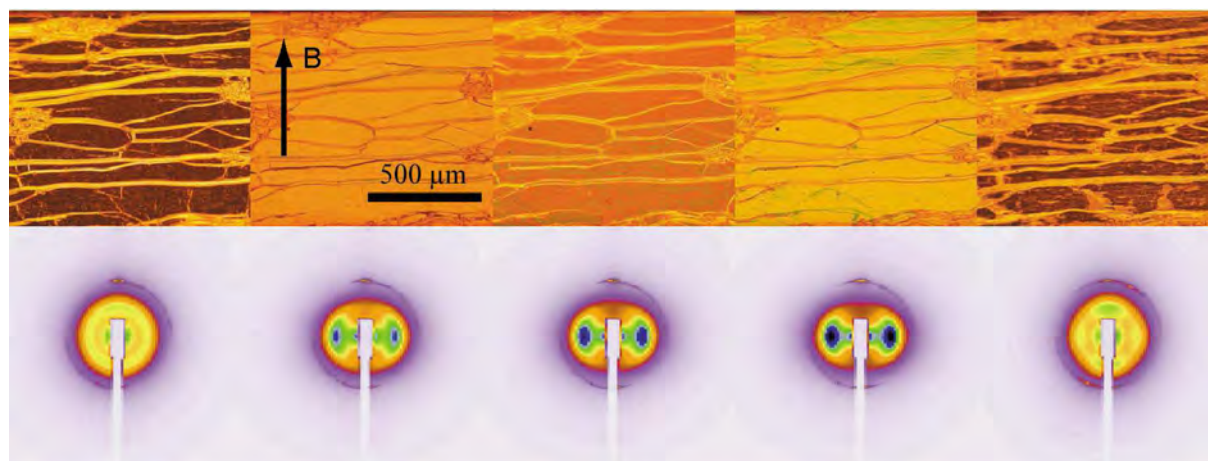


FIGURE 4.3 – Textures de microscopie optique (en haut) et signal SAXS (en bas) pour la phase lamellaire  $L_\alpha$  dopée avec de la goéthite en phase isotrope ( $I/L_\alpha$ ) à coexistence avec la phase dopée avec du nématique  $N/L_\alpha$  pour différentes valeurs du champ appliqué. Les images de microscopie sont prises entre polariseurs croisés, parallèles aux côtés de l'image. De gauche à droite, les valeurs du champ sont :  $B = 0, 27, 52.5, 104$  et  $370$  mT.

de tensioactif, par la formation de liaisons hydrogène [47]. Les particules sont ainsi adsorbées sur les bicouches et augmentent leur rigidité.

Nous insistons sur le fait que les deux composants (les bicouches de tensioactif et les nano-particules) sont intimement mélangés. L'ordre lamellaire est bien sûr imposé par les bicouches, mais il s'applique aussi aux bâtonnets confinés entre elles. Ainsi, il y a une seule périodicité, qui produit une seule suite de pics de Bragg, visibles sur la figure 4.4.

Il faut noter également que le signal X diffusé est principalement dû aux particules (à cette dilution, la contribution des bicouches est négligeable). En effet, les facteurs de structure sont obtenus en divisant l'intensité mesurée par le facteur de forme des bâtonnets<sup>1</sup>. Nous ne pouvons pas détecter de pic de Bragg à des concentrations de goéthite  $\phi_g < 2$  vol %.

## 4.4 Conclusion

Les deux composants de la mésophase hybride interagissent de manière non-triviale, comme le montrent l'importante susceptibilité au champ magnétique des nano-particules (figure 4.2, B et C) et la rigidité élevée de la phase lamellaire (figure 4.4). Pour le système le plus concentré, les bâtonnets combinent l'ordre nématique (présent aussi en solution aqueuse) avec l'ordre lamellaire dû au confinement par les bicouches de tensioactif. De ce point de vue, la phase est similaire à celles rencontrées dans les complexes formés par l'ADN avec des lipides cationiques, avec la différence importante que notre système utilise une phase diluée de tensioactif non-ionique, facilement alignée

1. Le facteur de forme a été mesuré dans une solution isotrope diluée, et donc il correspond à des particules avec une orientation complètement aléatoire. Néanmoins, pour des particules fortement anisotropes et pourvu que le vecteur de diffusion ne soit pas trop petit, la contribution dominante provient du facteur de forme transverse des particules.

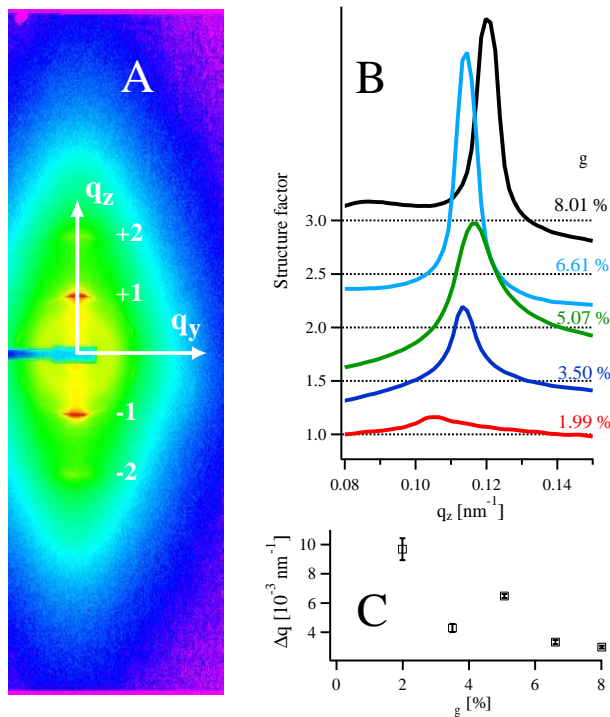


FIGURE 4.4 – A – Cliché SAXS (pris sans champ magnétique) d'une phase lamellaire contenant  $\phi_g = 6.61$  vol % de goethite, alignée en ancrage planaire (la normale aux couches est orientée selon  $z$ .) Plusieurs pics de Bragg sont visibles, et leur indice est précisé. B – Facteurs de structure de la phase lamellaire dopée avec différentes concentrations de goethite, indiquées pour chaque courbe. Les courbes sont décalées verticalement par pas de 0.5. C – Largeur des pics de Bragg en B en fonction de la concentration en goethite.

par traitement thermique et que l'orientation des nano-particules peut être contrôlée par un champ magnétique externe. Ainsi, cette phase hybride pourrait être un candidat idéal pour vérifier l'existence des « phases glissantes » [107], qui seraient des empilements de couches faiblement couplées entre elles et présentant un certain degré d'ordre à deux dimension (dans le plan) à l'intérieur de chaque couche.

D'un point de vue pratique, la combinaison de ces deux types d'ordre ouvre des perspectives dans la formulation de matériaux composites avec une périodicité et une anisotropie contrôlées, et ordonnés sur des distances macroscopiques. En plus, les propriétés magnétiques des particules de goethite sont particulièrement intéressantes dans cette perspective.

## Remerciements

On remercie l'ESRF de nous avoir accordé le temps de faisceau (expérience SC-2393, ligne ID02) ainsi que P. Boesecke, M. Impéror, A. Poulos et B. Pansu pour leur aide lors des expériences SAXS au synchrotron et S. Rouzière pour son aide technique.



## CHAPITRE 5

# Inclusions membranaires

### 5.1 Motivation

Mesurer l'interaction transmise par la membrane cellulaire entre inclusions (telles des protéines membranaires ou des peptides antibiotiques) représente un pas essentiel vers la compréhension de leur activité biologique. D'autre part, l'homogénéité des systèmes membranaires contenant du cholestérol et la pertinence biologique des radeaux de lipides (ou « lipid rafts ») ont récemment suscité un intérêt considérable.

Dans les deux cas, le problème physique sous-jacent est l'organisation de la membrane, vue comme un fluide complexe bi-dimensionnel. Pendant les dernières décennies il est devenu de plus en plus clair que les concepts développés en physique de la matière molle pour décrire des systèmes auto-assemblés sont pertinents dans ce contexte et que même des modèles « simples » peuvent donner des renseignements très utiles.

Il n'est donc pas surprenant de constater l'ampleur des études théoriques visant à fournir une description détaillée de ces systèmes complexes. Dans les cas –peu nombreux– où ces modèles ont pu être confrontés à des données expérimentales, ils ont souvent donné des résultats satisfaisants. Par exemple, on sait que le temps de vie du pore de gramicidine dépend de l'épaisseur et de la tension de la membrane ; il a été montré qu'une théorie élastique simple rend bien compte de tous les aspects du phénomène.

L'approche expérimentale que nous présenterons par la suite consiste à déterminer l'interaction entre inclusions membranaires en étudiant des empilements orientés de membranes dopées par diffusion de rayons X. Le signal diffusé aux petits angles et en particulier sa dépendance par rapport au vecteur de diffusion quand ce dernier est contenu dans le plan des couches nous donnera accès au facteur de structure du fluide bi-dimensionnel d'inclusions, qui sera ensuite analysé par des théories classiques de l'état liquide pour obtenir le potentiel d'interaction entre inclusions dans le plan de la membrane<sup>1</sup>. Le signal des chaînes, détectable aux grands angles, nous renseignera quant à lui sur l'état de la bicouche (gel, fluide ordonné, fluide désordonné) et sur l'effet des inclusions sur les molécules de lipides.

Il est impératif de mener des études systématiques, en variant surtout la concentration de particules dopantes, mais aussi d'autres paramètres pertinents : l'épaisseur de la membrane, le contenu de cholestérol, la température, le degré d'hydratation, etc. Nous envisageons également de doper des systèmes à séparation de phase avec des inclusions présentant une affinité pour l'une ou l'autre de ces phases, qui serviront d'« agents de contraste ». Leur facteur de structure nous fournira des informations

---

1. On verra que le cas plus compliqué où les inclusions interagissent aussi entre des couches voisines –et non seulement dans le plan de la même couche– peut également être traité, par une extension du modèle.

détaillées sur la taille, la morphologie et la nature thermodynamique des domaines séparés (avec des applications à l'étude des radeaux de lipides). Au bout de ce chemin, nous nous attendons à trouver deux types de résultats :

- Une image plus claire de la bicouche de lipides en tant que fluide complexe à deux dimensions. Ceci peut résoudre des questions fondamentales de longue date : est-ce qu'un modèle continu peut suffire pour décrire la membrane et –si la réponse est affirmative– jusqu'à quelle échelle de longueur ? Quels sont alors les paramètres pertinents et comment peut-on les déterminer ? Que se passe-t-il dans des bicouches à plusieurs composants (micro- ou macro-séparation de phase, présence de domaines orientés etc.)
- Une meilleure compréhension de l'interaction transmise par la membrane entre des peptides anti-microbiens, interaction essentielle pour leur activité. Effectivement, ces peptides agissent en formant dans la membrane des pores contenant un certain nombre de monomères et il est bien connu que leur activité dépend sur la concentration de manière sigmoïdale (« tout ou rien »), contrairement à un simple modèle d'agrégation. Ce phénomène coopératif a été attribué à l'interaction des monomères entre eux et avec les agrégats déjà formés. La corrélation entre l'activité des peptides et l'interaction transmise par la membrane pourrait valider et quantifier cette hypothèse.

## 5.2 État de l'art

Une activité soutenue a été menée pour comprendre la physique des membranes biologiques, et en particulier l'interaction entre les protéines membranaires et la bicouche de lipides « hôte ». Alors que le modèle de la mosaïque fluide [141] décrit les protéines comme libres de diffuser dans ce milieu, on s'est aperçu assez rapidement [126] que, loin d'être un support neutre, la bicouche peut influencer l'organisation des protéines dans le plan de la membrane et, partant, de nombreux aspects de leur activité (comme la signalisation cellulaire et le transfert membranaire). En particulier, le contenu en cholestérol a été révélé comme étant un paramètre très important. Par exemple, il semble réguler la distribution des protéines entre la membrane plasmique et le complexe de Golgi [17]. Plus généralement, l'homogénéité des membranes contenant du cholestérol et la pertinence biologique des radeaux de lipides, ou « lipid rafts » [139] ont fait l'objet d'une recherche soutenue [140].

### 5.2.1 Théorie

Il est intéressant de mentionner que les mécanismes impliqués dans l'interaction protéine-lipides et, par conséquent, dans l'interaction protéine-protéine transmise par la membrane de lipides sont non-spécifiques, en cela qu'il n'y a pas de liaison chimique entre une protéine et un petit nombre de lipides bien définies. Ainsi, une compréhension détaillée et une caractérisation quantitative des membranes seront possibles seulement en tenant compte du fait que leurs propriétés sont déterminées de manière collective, par l'auto-assemblage, plutôt que simplement par le détail chimique des lipides et protéines pris séparément [64]. Cette observation justifie l'espoir que –malgré la complexité du système– les concepts développés en physique de la matière molle pour

décrire des systèmes auto-assemblés peuvent s'appliquer avec succès. Depuis une trentaine d'années on a donc vu se développer tout un champ d'études consacré à la modélisation théorique et à la simulation numérique des systèmes protéines-lipides [92, 112, 111, 75]; voir également [143] pour une revue récente. Dans ces études, on utilise soit des théories d'élasticité continue [61, 59, 51, 5], soit des modèles plus détaillés qui prennent en compte la structure moléculaire de la bicouche de lipides [92, 95, 79, 80].

Deux types d'interactions ont été envisagées; nous les discuterons très brièvement.

### Adaptation hydrophobe

L'un des concepts les plus simples (et surprenamment puissants) utilisés pour interpréter l'interaction des protéines avec les membranes est celui d'*adaptation hydrophobe* [100, 68], qui postule que des protéines avec une certaine longueur hydrophobe  $h_P$  (définie comme la longueur du domaine trans-membranaire) sont destinées à des membranes ayant une épaisseur hydrophobe  $h_M$  comparable. Lorsqu'il y a une différence de longueur  $\Delta h = h_P - h_M$  entre le domaine hydrophobe de la protéine ou peptide et celui de la membrane (qu'on appellera écart hydrophobe, de l'anglais « hydrophobic mismatch »), la bicouche se déforme et s'adapte à la protéine (qui est en général beaucoup plus rigide). Cette déformation a une certaine extension latérale (dans le plan de la membrane), induisant une interaction entre les inclusions lorsque celles-ci sont plus proches que cette distance.

Au premier ordre (et négligeant la courbure spontanée de la mono-couche, qui peut avoir des effets très marqués [5, 13]), l'énergie élastique devrait varier comme  $\Delta h^2$  [61].

### Changements dans l'ordre des lipides

D'autre part, même en l'absence d'écart hydrophobe, la présence d'une inclusion restreint les configurations accessibles aux chaînes des lipides qui l'entourent [92, 142, 79, 96]. Par exemple, Lagüe et al. [79, 80] ont utilisé la fonction de réponse latérale densité-densité des chaînes alkyl, obtenue par des simulations de dynamique moléculaire de bicouches, pour déterminer l'interaction entre des cylindres rigides et « lisses » insérés dans la bicouche. Ils ont considéré trois valeurs pour le rayon des cylindres. Pour le rayon le plus grand (9 Å, comparable avec celui du pore de gramicidine, par exemple), l'interaction à longue portée est répulsive pour tous les lipides étudiés (DMPC, DPPC, POPC et DOPC), avec une attraction supplémentaire à courte portée pour le DMPC. Il n'y a pas d'information sur la manière dont l'interaction varie avec la concentration des inclusions.

Une description satisfaisante devra sans doute combiner l'effet de l'écart hydrophobe et les changements dans l'ordre des chaînes [93, 13] mais pour l'instant il n'y a pas de modèle complet, à cause des difficultés théoriques mais sans doute aussi à cause du manque de données expérimentales qui permettraient de le valider.

### 5.2.2 Expériences

Effectivement, très peu d'expériences ont été menées pour mesurer directement les forces d'interaction entre inclusions membranaires. Les premières telles études ont utilisé la microscopie électronique après cryo-fracture (FFEM) [87, 23, 63, 1] pour



déterminer la fonction de distribution radiale des inclusions. Les résultats ont été comparés à des théories de l'état liquide [114, 113, 15] et les auteurs ont conclu que l'interaction pouvait être décrite par un modèle de cœurs durs avec, dans certain cas, une interaction supplémentaire répulsive ou attractive. La FFEM n'a pas été employée de manière systématique, sûrement dû aux difficultés expérimentales inhérentes ; de surcroît, il n'est pas clair si la distribution mesurée dans un échantillon gelé est la même qu'à l'équilibre thermique.

L'interaction des inclusions membranaires peut aussi être étudiée par des techniques de diffusion des rayons X ou des neutrons aux petits angles, appliquées à des échantillons orientés, une approche développée par Huang et ses collaborateurs [57, 58, 162]. Au vu des échelles typiques de longueur, la diffusion des rayons X et des neutrons est une technique particulièrement adaptée. On peut ainsi mesurer le facteur de structure du système bi-dimensionnel formé par les inclusions dans la membrane et, partant, remonter au potentiel d'interaction entre les inclusions.

Nous avons suivi cette dernière stratégie dans les recherches présentées ci-dessous, qui portent sur des pores formés par l'alaméthicine dans des membranes de DMPC [Constantin *et al.*, 2007], sur des particules inorganiques contenues dans des bicouches de tensioactif synthétique [Constantin *et al.*, 2008] et sur des pores de gramicidine dans plusieurs types de membranes [Constantin, 2009].

### 5.2.3 Une distinction

Dans les sections précédentes, comme dans la totalité de cette étude, nous nous sommes concentrés sur des inclusions de petite taille (comparable à l'épaisseur de la membrane) et qui induisent une déformation de faible amplitude de la membrane (toujours par rapport à son épaisseur). En particulier, nous n'aborderons pas un domaine de recherche –très actif dans les dernières années– qui concerne les changements morphologiques de la cellule (agrégation [71], invagination [123], vésiculation [122], etc.) sous l'action de différentes protéines (voir [97] pour une revue récente). Cette limitation est essentiellement pratique, puisque la méthode expérimentale présentée ci-dessous se fonde sur l'intégrité de la phase lamellaire contenant les inclusions, intégrité difficile à préserver lorsque les membranes sont fortement déformées.

### 5.2.4 Nouveauté de l'approche

Les problèmes dont nous traitons ici ont déjà été abordés auparavant. Il est donc opportun de souligner les aspects novateurs de ce projet et la manière dont ils ont permis –où permettront à l'avenir– d'atteindre les objectifs décrits plus haut.

1. Des lignes de dilution. Les études précédentes qui ont tâché de déterminer le potentiel d'interaction entre inclusions membranaires (des peptides antimicrobiens, pour être plus précis) ont utilisé une ou tout au plus deux valeurs distinctes de la concentration d'inclusions. Cependant, l'expérience montre que, pour obtenir des résultats significatifs, il faut mesurer plusieurs échantillons à différentes concentrations et ajuster toutes les données à la fois, avec le même jeu de paramètres.
2. Des modèles théoriques plus faciles d'emploi. Nous utilisons des modèles analytiques ou théoriques relativement faciles à calculer et qui permettent l'ajustement

des données expérimentales dans un temps raisonnable. Cet aspect pratique est en fait essentiel, surtout lorsque beaucoup de données sont traitées simultanément.

3. Des particules inorganiques. Comme on le verra en détail plus loin, l'utilisation des particules inorganiques en tant que sondes de la membrane présente un certain nombre d'avantages. En particulier, le contraste électronique élevé est crucial dans les systèmes liquides qui font l'objet de cette étude.
4. Des échantillons alignés. Dans des milieux anisotropes, l'alignement permet de faire la distinction entre les directions principales, à savoir parallèle et perpendiculaire aux couches. Dans le cas des poudres on a seulement accès à une information moyennée, et donc très indirecte.

## 5.3 Méthode expérimentale

### 5.3.1 Préparation

Les phases lamellaires dopées (empilements de bicouches contenant des inclusions) sont préparées en dissolvant tout d'abord les lipides (ou d'autres molécules tensioactives), et éventuellement d'autres constituants membranaires tel le cholestérol, ainsi que les inclusions (peptides, protéines membranaires, particules inorganiques etc.) dans des solvants organiques, en utilisant des protocoles bien maîtrisés [135, 98] et [Li *et al.*, 2004]. On a ensuite le choix entre :

- déposer la solution sur un substrat plan et laisser le solvant s'évaporer ; par la suite, l'échantillon est hydraté en atmosphère humide ou par immersion en excès d'eau. On obtient ainsi un film assez fin (quelques milliers de couches), mais extrêmement bien orienté. Cette approche convient très bien aux techniques de surface (comme la réflectivité ou la diffusion du rayonnement en incidence rasante) [89] et [Constantin *et al.*, 2007], mais elle est très peu adaptée à la diffusion aux petits angles (en incidence normale aux couches) à cause de la faible quantité d'échantillon.
- sécher la solution pour obtenir un dépôt solide, dans lequel les différents composants restent bien mélangés. Après hydratation on obtient une pâte plus ou moins visqueuse qui est ensuite aspirée dans des capillaires plats, avec une épaisseur de 100 à 200  $\mu\text{m}$ .

### 5.3.2 Composition

On peut utiliser une large gamme de constituants membranaires (lipides neutres ou chargés, chaînes saturées ou insaturées de différentes longueurs, tensioactifs à une seule chaîne, cholestérol etc.) pour étudier l'effet des divers paramètres sur l'interaction transmise par la membrane. En particulier, pour vérifier l'hypothèse de l'« adaptation hydrophobe » et les différentes théories élastiques présentées dans la littérature il faudrait faire varier l'épaisseur et les module élastiques de la bicouche. Le défi est alors de trouver des inclusions qui s'insèrent dans toutes ces différentes membranes.

Nous utilisons principalement la gramicidine (figure 5.1), un peptide antimicrobien longuement étudié (voir la section 7.1) et disponible de manière commerciale. Dans la référence [Constantin *et al.*, 2007] (voir également le chapitre 6) nous avons aussi utilisé

FIGURE 5.1 – Configuration du pore de gramicidine (sphères) dans une bicouche de DMPC à pleine hydratation (chaînes de lipides en vert; molécules d'eau en rouge). Les coordonnées atomiques correspondent à la structure de départ utilisée pour des simulations de dynamique moléculaire dans [30].

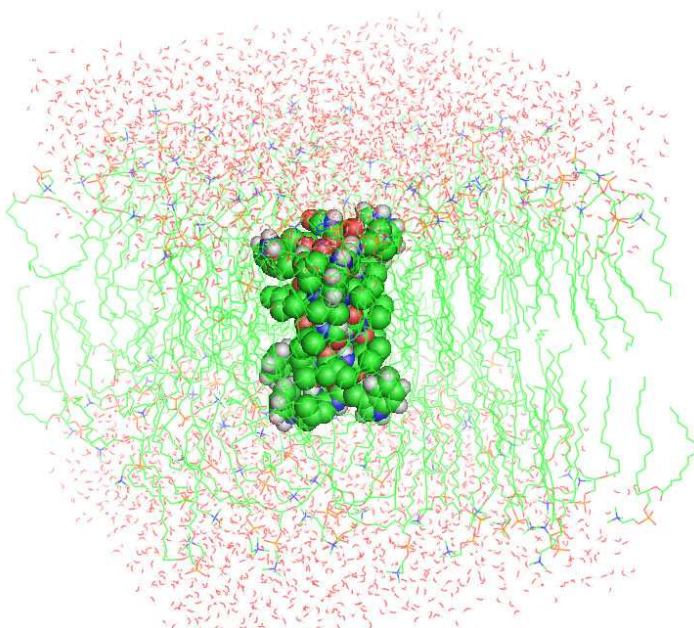
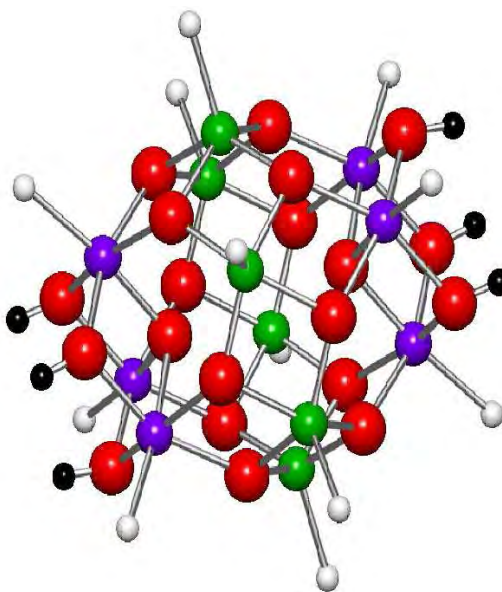


FIGURE 5.2 – Structure atomique du cœur oxo-métallique de la particule de BuSn12 (selon [39]). Les atomes d'étain sont représentés en violet (Sn hexa-coordiné) et vert (Sn penta-coordiné). Atomes d'oxygène en rouge et carbones en blanc (seul le premier atome de chaque chaîne butyl est dessiné). Atomes d'hydrogène (du  $\mu_2$ -OH) en noir.



l'alamethicine, mais la faible disponibilité de ce peptide ainsi que la polydispersité en taille du pore qu'il forme le rendent difficile à employer.

En tant qu'inclusions hybrides (formées par un cœur inorganique et une couronne de chaînes alkyl) on utilise des particules synthétisées au Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris [39] (collaboration avec François Ribot). Ces inclusions ont les avantages suivants :

- Elles sont « rigides » (configuration atomique bien définie) et parfaitement monodisperses (en faites, iso-moléculaires), alors que les pores formés par des peptide peuvent contenir un nombre variable de monomères, dans plusieurs conformations possibles.
- Leur contraste de diffusion est élevé (à cause de la présence d'atomes métalliques).
- Leurs propriétés de surface peuvent être modifiées en changeant la nature des groupements périphériques ; ce sont donc des systèmes-modèles polyvalents.

- La déformation imposée à la membrane peut être décrite plus facilement que pour les peptides.

Finalement, on peut envisager l'application de ces méthodes à des protéines membranaires, une perspective qu'on discutera brièvement dans le chapitre 9.

### 5.3.3 Méthodes d'étude : diffusion des rayons X

La méthode expérimentale que nous utilisons est principalement la diffusion des rayons X aux petits angles, une méthode très classique dont il n'est pas nécessaire de présenter les principes. Il existe cependant quelques particularités, dues au caractère anisotrope du système étudié, surtout lorsqu'il faut prendre en compte l'interaction entre des inclusions situées dans des couches voisines. La géométrie de l'expérience et le détail du traitement sont présentés dans l'article [Constantin, 2010], joint à la fin de cet ouvrage. Dans le cas des pores d'alaméthicine, nous avons utilisé la « diffusion aux petits angles en incidence rasante » (GISAXS) et la réflectivité ; ces configurations sont détaillées dans la section 6.2.2 et illustrées par la figure 6.3.

### 5.3.4 Traitement des données

A partir de l'intensité diffusée  $I(q_r, q_z)$  en fonction du vecteur d'onde dans le plan des couches  $q_r$  et selon le directeur  $q_z$  on détermine le facteur de structure  $S(q_r, q_z)$  en divisant par le facteur de forme des inclusions (mesuré en solution pour les inclusions hybrides ou déterminé à partir des configurations atomiques pour les peptides). On ajuste ensuite les données par un modèle obtenu à partir de la théorie classique des liquides, soit de manière analytique dans l'approximation de phase aléatoire (RPA) (section A.3), soit numériquement (section A.4). Le potentiel d'interaction contient dans chaque cas un « coeur dur » donné par la taille physique de l'inclusion et un potentiel « mou » à plus longue portée qui décrit l'interaction transmise par la membrane. C'est ce dernier potentiel qu'il faut déterminer ; il est décrit par des paramètres ajustables, typiquement la portée et l'amplitude.

Il faut insister sur l'importance des lignes de dilution, séries d'échantillons dans lesquelles la concentration d'inclusions varie, alors que les autres paramètres restent constants (ou bien varient d'une manière connue). Effectivement, les études présentées par la suite montrent qu'il n'est pas suffisant de déterminer le facteur de structure à une seule concentration pour remonter au potentiel d'interaction, conclusion déjà bien acceptée dans la littérature. En revanche, j'espère avoir prouvé –et c'est là un des résultats les plus significatifs de ce travail– que des séries de mesures interprétées simultanément avec le même modèle *peuvent* donner accès à ce potentiel.



## CHAPITRE 6

# Pores d'alaméthicine

Ce chapitre est adapté de l'article [Constantin *et al.*, 2007] :

CONSTANTIN, D., BROTONS, G., JARRE, A., LI, C. ET SALDITT, T. (2007). Interaction of alamethicin pores in DMPC bilayers. *Biophys. J.*, 92 :3978-3987.

Nous avons étudié par diffusion des rayons X des multicouches hautement alignées formées par le lipide zwitterionique 1,2-dimyristoyl-sn-glycéro-3-phosphatidylcholine (DMPC) contenant des pores formés par le peptide antimicrobien alaméthicine, en fonction du rapport peptide/lipide. Nous obtenons ainsi le facteur de structure du fluide de pores, qui donne ensuite accès au potentiel d'interaction entre pores dans le plan des bicouches. En plus d'un coeur dur, avec un rayon qui correspond au rayon géométrique du pore, nous trouvons une interaction répulsive transmise par la membrane de lipides, avec une portée d'environ 30 Å et une valeur au contact de  $2.4 k_B T$ . Ce résultat est en accord qualitatif avec des modèles théoriques récents.

## 6.1 Introduction

La compréhension des forces transmises par la membrane entre des protéines membranaires et de leur effet sur la distribution de ces mêmes protéines dans le plan de la membrane représenterait un pas important vers une description quantitative des mécanismes fonctionnels propres à ces composants membranaires. D'un point de vue expérimental, la structure et l'organisation de membranes hétérogènes sont tout aussi importantes que difficiles à mesurer. Alors que la microscopie de fluorescence permet d'étudier des membranes biologiques ou synthétiques à l'échelle du micron [74] et jusqu'à quelques centaines de nanomètres dans le meilleur des cas (mettant en évidence, par exemple, la présence de domaines et la distribution de protéines), la microscopie à force atomique peut résoudre des structures latérales à l'échelle du nanomètre [105], mais seulement dans des systèmes relativement rigides, et très rarement dans l'état fluide de la membrane. A cette fin, la diffusion des rayons X ou des neutrons sur des bicouches fluides alignées est un outil très adapté, qui permet de sonder les corrélations entre protéines ou peptides dans la bicouche. Dans ce travail, nous montrons comment les profils d'intensité latéral et vertical du pic de corrélation des pores peptidiques peuvent être analysés en fonction de la concentration de peptides pour déterminer les forces d'interaction correspondantes.

Un exemple bien connu de fonction biologique provenant de l'interaction lipides-peptides et d'auto-assemblage est l'activité d'une famille de polypeptides courts, à caractère amphiphile et doués d'activité membranaire nommés peptides antimicrobiens. Ces molécules s'attachent à la paroi des cellules microbiennes, causant une augmentation de la perméabilité membranaire et finalement la lyse de la cellule. Une

telle molécule est l'alaméthicine, un peptide composé de 20 aminoacides synthétisé par le champignon *Trichoderma viride*; il est bien connu que l'alaméthicine agit par la création de pores dans la membrane cellulaire [34]. Cette conclusion a été confirmée par de multiples techniques expérimentales : le dichroïsme circulaire orienté (OCD) [108, 22] et la résonance magnétique nucléaire (NMR) [11] ont montré que, au-dessus d'une certaine concentration, les peptides passaient d'un état adsorbé (parallèles à la membrane) à un état d'insertion (perpendiculaires à la membrane). Cette transition est accompagnée par une augmentation considérable de la conductivité membranaire ([10] et ses références) et de sa perméabilité [81]. La formation de pores est en général un processus hautement coopératif [136, 62]; ce phénomène a été confirmé dans le cas de l'alaméthicine et on a proposé une explication fondée sur l'interaction transmise par la membrane entre peptides [22].

Alors qu'on n'a jamais tenté de déterminer l'interaction entre les *monomères* (soient-ils adsorbés ou insérés), l'interaction entre les *pores* déjà formés dans la membrane peut être étudiée en utilisant des techniques de diffusion des neutrons ou des rayons X sur des multicouches alignées, une méthode proposée par Huang et ses collaborateurs [57, 58, 162].

Dans le cas de l'alaméthicine, ils ont observé un pic de corrélation latérale, qui a été attribué à l'ordre liquide des pores dans le plan de la membrane et modélisé par une interaction de coeurs durs, avec des résultats très satisfaisants. Néanmoins, on a étudié une ou tout au plus deux rapports molaires peptide/lipide  $P/L$  pour chaque système.

Dans le même esprit, nous avons obtenu des renseignements détaillés sur le fluide bi-dimensionnel que forment les pores dans le plan de la bicouche de lipides, en utilisant la diffusion des rayons X à haute résolution (réalisée sur une ligne synchrotron) sur des empilements très bien orientés de mélanges alaméthicine/DMPC. Nous avons déterminé le signal diffusé pour une ligne de dilution  $P/L$  et nous avons analysé tous les profils simultanément.

Nous concluons que le potentiel d'interaction est composé d'un coeur dur, avec un rayon très proche du rayon géométrique extérieur du pore, et d'une contribution répulsive supplémentaire qui peut être décrite par une gaussienne, avec une portée de 31.5 Å et une valeur au contact de  $2.41 k_B T$ . Les résultats sont en accord qualitatif avec des modèles théoriques récents [79, 80].

En principe, cette méthode peut être appliquée à tout système peptide/lipide, à condition de pouvoir préparer des multicouches bien orientées. Ainsi, le rôle des différents paramètres pertinents, tels que la composition de la bicouche, la température, la nature du milieu aqueux etc. pourra être étudié de manière systématique.

## 6.2 Matériaux et Méthodes

### 6.2.1 Préparation et environnement des échantillons

Le DMPC a été fourni par Avanti Polar Lipids Inc. (Birmingham, AL) avec une pureté de 99% minimum et l'alaméthicine par Sigma Aldrich avec une pureté de 98.9% minimum. Sans purification préliminaire, les produits ont été dissous dans un mélange de TFE/ $\text{CHCl}_3$ , 1 : 1 vol/vol, à une concentration de 60 mg/ml pour le lipide et de 15 mg/ml pour le peptide. Les solutions mères ont ensuite été mélangées (avec ajout

de solvant si nécessaire) pour donner les valeurs désirées pour le rapport molaire peptide/lipide  $P/L$ , à une concentration finale de lipide de 20 mg/ml. Les solutions ainsi obtenues ont été conservées à 4 °C pendant au moins 24 heures avant de préparer les échantillons. On peut trouver plus de détails sur la méthode de préparation et sur le choix des solvants dans les références [90, 164] et [Li *et al.*, 2004].

Les substrats rectangulaires ( $15 \times 25 \text{ mm}^2$ ) ont été coupés à partir de tranches de silicium d'une épaisseur de 0.4 mm (Silchem GmbH, Freiberg, Allemagne) et nettoyés par sonication (pendant 15 min), deux fois dans du méthanol et ensuite deux fois dans de l'eau ultrapure (avec une résistivité  $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ , Millipore, Bedford, MA). Finalement, ils ont été rincés abondamment à l'eau ultrapure et séchés sous flux d'azote.

Une quantité de 0.2 ml de solution a été déposée à l'aide d'une pipette sur les substrats gardés à l'horizontale dans une hôte à flux laminaire ; ils ont été laissés sécher à température ambiante pendant plusieurs heures et ensuite gardés sous vide à 40 °C pendant une nuit pour enlever les éventuelles traces de solvant. Ils ont été stockés à 4 °C jusqu'aux expériences. A partir de la quantité de lipide déposée sur les substrats, on peut estimer l'épaisseur des films formés à environ 3000 bicouches.

Avant l'expérience, les échantillons ont été placés dans la chambre de mesure et la solution hydratante a été injectée avec une seringue, très lentement pour éviter de décoller les films de lipides des substrats. Nous avons utilisé deux types de chambre de mesure, la première usinée dans du plexiglas et avec un chemin optique d'environ 1.7 cm, et la deuxième en PTFE, avec un chemin optique d'environ 1.1 cm. Les deux chambres ont des fenêtres en kapton de 0.3 mm et ont été montées sur une platine chauffante métallique contrôlée en température par un circuit d'eau avec un bain chauffant (Julabo GmbH, Seelbach, Allemagne).

Pour toutes les valeurs de  $P/L$ , la solution hydratante contenait 100 mM NaCl et 31 % w/w PEG 20000 (Fluka Chemie GmbH, Buch, Suisse), donnant une pression osmotique d'environ  $1.68 \cdot 10^6 \text{ Pa}$ <sup>1</sup>. Pour  $P/L = 1/12.5$  nous avons aussi effectué des mesures avec des concentrations de PEG de 12.1 et 5.8 %, correspondant à  $1.2 \cdot 10^5$  et  $3.5 \cdot 10^4 \text{ Pa}$ , respectivement. La température a été maintenue à 30 °C pendant toutes les mesures.

## 6.2.2 Mesures

Les expériences ont été réalisées à la ligne onduleur ID1 du European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France). L'énergie des photons a été fixée à 19 keV par un monochromateur Si(111) à double réflexion et les harmoniques supérieures ont été éliminées par réflexion sur deux miroirs recouverts de rhodium. A cette énergie, la transmission à travers 1 cm d'eau est de 0.45, donc la présence du montage expérimental ne pose aucun problème d'atténuation.

Nous avons effectué trois types de mesures : a) Les courbes de réflectivité (dans le plan vertical) jusqu'à un vecteur d'onde de diffusion  $q_z \simeq 0.8 \text{ \AA}^{-1}$  (voir la figure 6.4) donnent accès au profil de densité électronique des bicouches le long de la direction  $z$  [152, 2]. Cependant, ils représentent une moyenne dans le plan des bicouches, et toute l'information latérale est perdue. b) Les images CCD sont prises (à l'aide d'une

---

1. Cette valeur a été obtenue à partir des données de Prof. Peter Rand, au Membrane Biophysics Laboratory de l'Université de Brock, Canada : <http://aqueous.labs.brocku.ca/osfile.html>.



caméra refroidie par un élément Peltier, avec une taille de  $1242 \times 1152$  pixels, produite par Princeton Scientific Instruments Inc., New Jersey, USA) à un angle d'incidence fixé  $\alpha_i$  du faisceau X sur l'échantillon et correspondent à des sections de l'espace réciproque par la sphère d'Ewald (voir la figure 6.3) ; elles donnent une image globale de l'espace  $\mathbf{q}$  ; on peut ainsi déterminer rapidement la position du signal des pores. c) Des mesures quantitatives sont faites avec un détecteur ponctuel (Cyberstar, Oxford Danfysik, Oxford, Royaume-Uni). Les scans en direction transversale (le long de  $q_y$ ) du signal des pores sont pris avec des fentes ouvertes en direction verticale, couvrant une gamme de  $q_z$  entre 0.14 et 0.18  $\text{\AA}^{-1}$ . Pour certains échantillons, nous avons aussi fait des scans longitudinaux (le long de  $q_z$ ). Leurs trajectoires dans l'espace  $\mathbf{q}$  sont matérialisées sur la figure 6.3 (à droite) en trait pointillé.

### 6.2.3 Analyse

Les pores d'alaméthicine sont dispersés dans le milieu de la phase lamellaire. Puisque le signal de la phase lamellaire « nue » est confiné au voisinage des pics de Bragg, le principe de Babinet implique que le signal diffusé en dehors de l'axe  $z$  est le même que pour un système dont le profil de densité de la phase lamellaire a été soustrait, ce qui laisse des objets fictifs « pore – bicouche » dans un milieu complètement transparent. Comme les pores forment un ensemble d'objets identiques et avec une même orientation (jusqu'à une moyenne azimutale), nous pouvons appliquer la séparation classique de l'intensité diffusée en un facteur de structure multiplié par un facteur de forme [20], ce qui donne :  $I(\mathbf{q}) = S(\mathbf{q}) \cdot |F(\mathbf{q})|^2$ , avec :

$$S(q_z, q_r) = \frac{1}{N} \left\langle \left| \sum_{k=1}^{N-1} \exp(-i\mathbf{q}\mathbf{r}_k) \right|^2 \right\rangle \quad (6.1)$$

où  $N$  est le nombre d'objets, dont l'objet "0" est pris comme origine des coordonnées. Comme il n'y a pas d'ordre cristallin dans le plan des couches,  $S$  dépend uniquement de la valeur absolue du vecteur de diffusion dans le plan,  $q_r = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$ . Le facteur de forme est donné par :

$$F(q_z, q_r) = \frac{1}{V} \int_{-d/2}^{d/2} dz e^{-iq_z z} \int_0^R dr r J_0(q_r r) \int_{-\pi}^{\pi} d\theta \rho(r, \theta, z) \quad (6.2)$$

avec  $\rho$  la densité électronique et  $V$  le volume d'intégration (correspondant à la taille de l'objet).

La première étape dans le calcul du facteur de structure factor consiste à déterminer la densité numérique de pores dans le plan de la bicouche (ou, de manière équivalente, l'aire par pore). Pour l'alaméthicine, nous utilisons les valeurs données dans la littérature pour un pore octaèdre dans du DLPC [58] : les peptides sont représentés par des cylindres de diamètre 11  $\text{\AA}$  ; néanmoins, la section effective du peptide est de seulement 66  $\text{\AA}^2$  (le reste étant occupé par les chaînes de lipides). Pour le DMPC ([101], Tableau 6), nous estimons une aire par molécule à 30 °C et en l'absence de pression osmotique à  $A_0 = 59.6 \text{\AA}^2$  ; dans nos expériences, la pression appliquée réduit cette valeur à  $A = 59 \text{\AA}^2$ , puisque le module de compressibilité de surface est  $K_A = 0.234 \text{ N/m}$  ([121], Tableau 1). Nous détectons un signal hors-spéculaire significatif (attribuable aux pores)

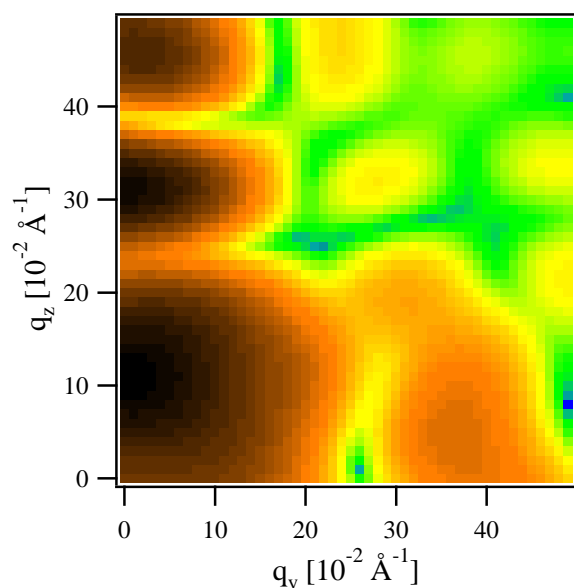


FIGURE 6.1 – Valeur absolue du facteur de forme  $|F(q_y, q_z)|$  pour un pore d’alaméthicine heptamère après soustraction du signal de la bicouche nue et après une moyenne azimutale.

seulement pour  $P/L \geq 1/25$ , concentration pour laquelle plus de 80% du peptide se trouve dans l’état inséré, ce pourcentage remontant à plus de 90% pour  $P/L = 1/20$  [160, 22]<sup>2</sup>; nous considérons donc que toutes les molécules d’alaméthicine participent à la formation de pores.

L’aire par pore est calculée sous l’hypothèse que les peptides sont des cylindres droits placés aux sommets d’un hexa-, hepta- ou octogone régulier. Le canal d’eau est le cylindre inscrit (tangent aux peptides), avec un rayon  $R_{im} = 5.5, 7.2$  et  $9\text{Å}$  pour  $m = 6, 7$  and  $8$ , respectivement :

$$A_{\text{pore}} = \pi R_{im}^2 + m \times 66\text{Å}^2 + \frac{m}{2} \frac{1}{P/L} \times 59\text{Å}^2 \quad (6.3)$$

ou le facteur  $1/2$  dans le troisième terme (correspondant à l’aire occupée par les molécules de lipides) est dû à la présence des deux monocouches. Pour simplifier les calculs, nous négligeons la courbure du peptide (voir la section 6.4.1) ainsi que la polydispersité du nombre d’agrégation [19].

Pour déterminer le facteur de forme, nous utilisons les résultats de dynamique moléculaire (MD)<sup>3</sup> de Tieleman [151], qui a étudié des pores d’alaméthicine avec différentes tailles dans une bicouche de POPC. Le facteur de forme a été calculé suivant l’équation (6.2), pour un morceau de bicouche de  $30 \times 30 \text{Å}^2$  contenant le pore et pour un morceau similaire contenant uniquement des lipides (obtenu en répétant quatre fois un morceau de  $15 \times 15 \text{Å}^2$  provenant de la même simulation)<sup>4</sup>. Le facteur de forme effectif utilisé correspond à la différence des deux. Nous négligeons les éventuelles différences entre POPC et DMPC. Puisque les simulations MD indiquent que la configuration la plus stable dans le POPC est l’hexamère [151] et que la diffusion des neutrons donne plutôt des pores à 8-9 monomères par pore dans le DLPC [58], nous considérons des

2. Ces résultats ont été obtenus dans du DPhPC ; dans le DLPC, le peptide est dans l’état inséré pour toutes les concentrations mesurées [58].

3. Disponibles sur le site web du Dr. Peter Tieleman, Dept. of Biological Sciences, University of Calgary : <http://moose.bio.ucalgary.ca/Downloads/> (utilisés avec permission).

4. Les tailles des morceaux sont respectivement de  $40 \times 40 \text{Å}^2$  et  $20 \times 20 \text{Å}^2$ , pour le pore octamère.

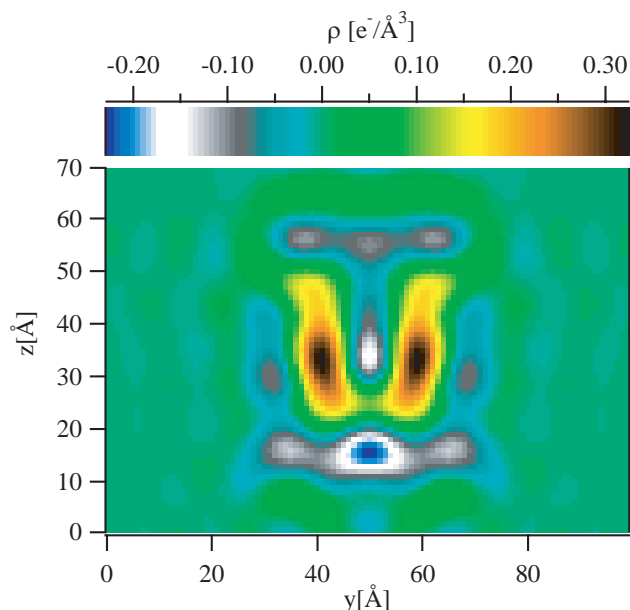


FIGURE 6.2 – Reconstruction du profil de densité électronique du pore heptamère d'alaméthicine (après soustraction de la bicouche nue) par transformée de Fourier inverse vers l'espace réel du facteur de forme montré sur la figure 6.1.

configurations à 6, 7 et 8 monomères. Comme on le verra par la suite, la configuration en heptamère donne les meilleurs ajustements, donc tous les résultats présentés dans la suite correspondent à ce nombre d'agrégation.

La figure 6.1 représente une section ( $y, z$ ) à travers le facteur de forme  $|F(\mathbf{q})|$  du pore, après soustraction de la bicouche nue et moyenne azimutale. Les directions  $x$  et  $y$  sont équivalentes.

Pour aider à la visualisation de l'objet diffusant (pore – bicouche) nous prenons la transformée de Fourier inverse de  $F(\mathbf{q})$ , ce qui donne le profil de densité représenté sur la figure 6.2. Les monomères de peptide sont clairement visibles comme des traits de plus haute densité.

## 6.3 Résultats

### 6.3.1 Structure du signal diffusé

Comme aide visuelle à la discussion des résultats, nous donnons en figure 6.3 un diagramme de la structure de l'espace réciproque pour un empilement multilamellaire sur substrat solide, ainsi qu'une image CCD (qui est une coupe dans l'espace réciproque par la sphère d'Ewald). Le signal hors-spéculaire (avec un maximum autour de  $q_y = 0.1 \text{ \AA}^{-1}$ ) est dû aux pores d'alaméthicine ; il n'est pas représenté dans le diagramme pour ne pas encombrer le schéma. Pour rendre visible ce signal très faible, les taches de Bragg sont très sur-exposées. L'image a été prise à un angle d'incidence  $\alpha_i = 0.55^\circ$ , sur un échantillon à  $P/L = 1/20$ .

### 6.3.2 Echantillons parfaitement alignés

Nous avons vérifié la qualité des échantillons et leur alignement par des mesures de réflectivité [2, 152]. La mosaïcité est estimée à environ  $0.01^\circ$  à partir des « rocking scans ». Les courbes de réflectivité sont montrées sur la figure 6.4 pour quatre valeurs

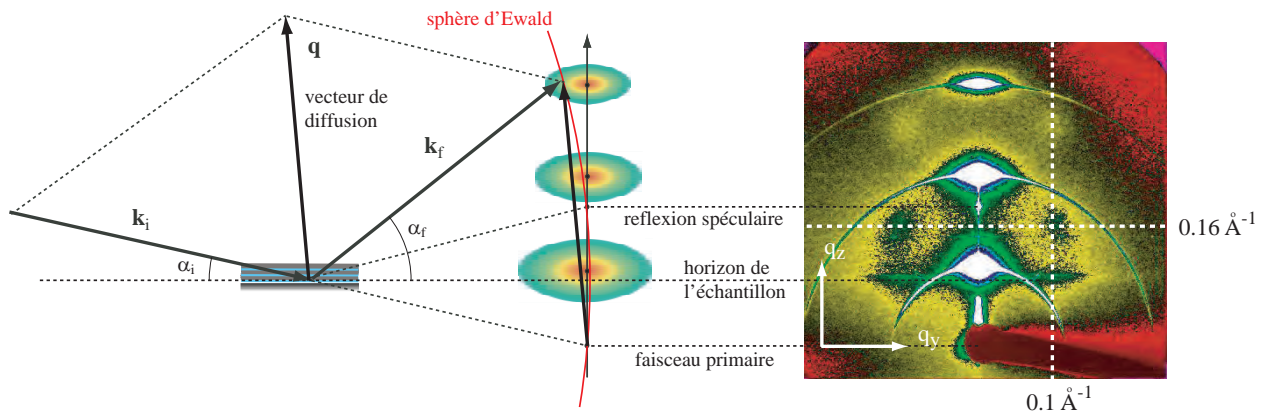


FIGURE 6.3 – Structure de l’espace réciproque pour un empilement lamellaire. Les mesures de réflectivité sont faites le long de l’axe vertical  $z$ , alors que les images CCD – dont un exemple est montré à droite – représentent des coupes dans l’espace réciproque par la sphère d’Ewald (dessinée en rouge). Les éléments caractéristiques sont aisément identifiés : les taches diffuses intenses autour des pics de Bragg très fins ; les arcs étendus et très étroits passant par les pics de Bragg sont les anneaux de Debye-Scherrer induits par les défauts. L’intensité élevée proche de l’horizon est due à des effets dynamiques. Finalement, le signal hors-spéculaire avec un maximum autour de  $q_y = 0.1 \text{ \AA}^{-1}$ ) est dû aux pores d’alaméthicine.

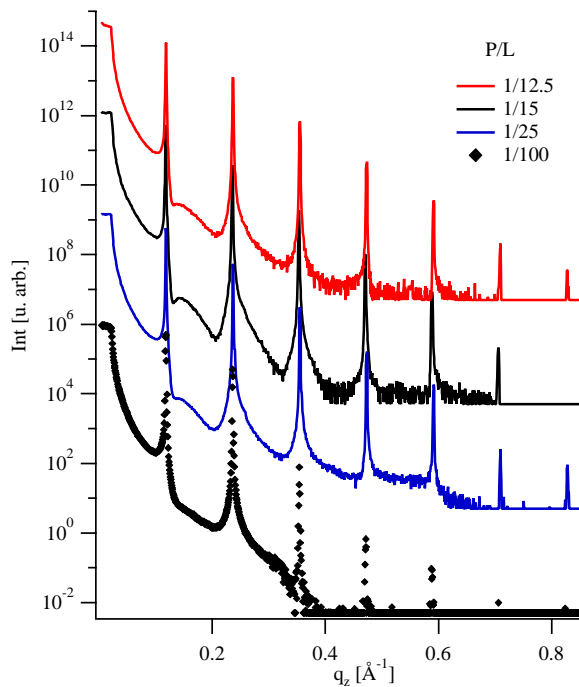
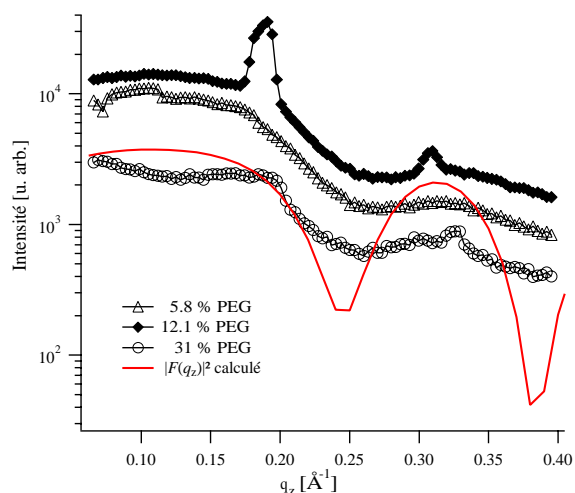


FIGURE 6.4 – Courbes de réflectivité mesurées sur des multicouches alignées de DMPC avec de l’alaméthicine. Nous montrons les données pour seulement quatre concentrations  $P/L$ . Les courbes sont décalées en vertical, et le rapport  $P/L$  augmente du bas vers le haut.

différentes de  $P/L$ . On observe généralement sept pics de Bragg, et le pas smectique  $d$  change très peu avec  $P/L$  [Li *et al.*, 2004]. La réflectivité donne le profil de densité électronique le long du directeur de la phase lamellaire,  $\rho(z)$  (moyenné dans le plan), mais l’analyse est très complexe [89, 130, 129, 128] et [Li *et al.*, 2004] et nous ne rentrerons pas ici dans les détails.

FIGURE 6.5 – Sections le long de  $q_z$  à travers le signal des pores pour des échantillons avec  $P/L = 1/12.5$  sous différentes pressions osmotiques (symboles) pour  $q_y = 0.1 \text{ \AA}^{-1}$  et une coupe similaire à travers le (module carré du) facteur de forme simulé  $|F(q_z)|^2$  (trait rouge). Les pics fins sur les courbes du haut et du bas sont dûs aux anneaux de Debye-Scherrer (voir la figure 6.3.)



### 6.3.3 Pas d'interaction d'une bicouche à l'autre

Une question de la plus haute importance est si les pores d'une bicouche interagissent avec ceux des autres (le long de la direction  $z$ ) ; la réponse est nécessaire (d'un point de vue pratique) pour choisir le modèle théorique à utiliser dans la description des données (interaction à 2D ou à 3D) mais aussi, d'un point de vue plus fondamental, pour établir la pertinence biologique de nos mesures.

Un moyen efficace de déterminer les interactions inter-bicouches [162] est de mesurer le signal de diffusion pour plusieurs valeurs de gonflement et de comparer leur variation le long de  $q_z$ , entre les différentes courbes et avec le facteur de forme attendu pour l'objet diffusant. Nous avons effectué cette comparaison en exposant des échantillons concentrés ( $P/L = 1/12.5$ ) à différentes pressions osmotiques, voir la section 6.2.1. La figure 6.5 montre des coupes (mesurées avec un détecteur ponctuel) à travers les pics le long de  $q_z$  (différents symboles), ainsi qu'à travers le facteur de forme simulé dans la figure 6.1 (trait rouge).

La première observation qui s'impose est que les courbes mesurées sont très semblables ; de plus, leur forme est similaire à celle du facteur de forme simulé, si on néglige la présence d'un fond qui varie lentement, dû probablement aux fluctuations thermiques de la phase lamellaire (voir la section suivante). Nous pouvons donc conclure qu'il n'y a pas d'interaction entre les pores d'une couche à l'autre.

Ainsi, pour ce qui est de l'interaction entre pores, les bicouches de l'empilement peuvent être considérées indépendantes, comme autant de membranes cellulaires séparées. Même si les monomères d'alaméthicine peuvent être chargés à pH neutre [36, 150], la concentration de 100 mM NaCl (similaire à celle des milieux biologiques) réduit la longueur de Debye de la solution à environ  $10 \text{ \AA}$ , ce qui écrante le potentiel électrostatique ; la seule interaction restante est transmise par la bicouche.

### 6.3.4 Le signal des pores

La figure 6.6 montre des mesures prises le long de  $q_y$  (hors le plan d'incidence) pour quatre valeurs de  $P/L$  (indiquées à côté des courbes). Une composante intense et très fine à  $q_y = 0$  (due au signal spéculaire) a été enlevée. La diffusion par les fluctuations thermiques donne une « bosse » large centrée à l'origine ; pour l'enlever, nous ajustons

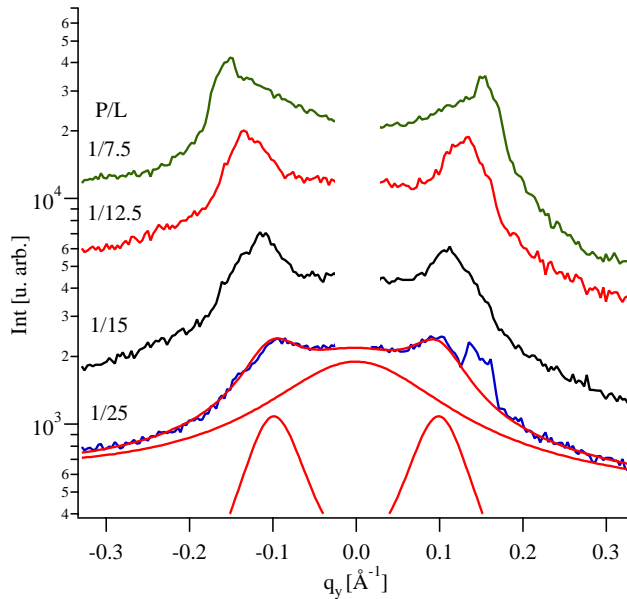


FIGURE 6.6 – Coupes le long de  $q_y$  (intégrées sur  $0.14 < q_z < 0.18 \text{ \AA}^{-1}$ ) à travers le signal des pores pour quatre concentrations  $P/L$ . Pour la courbe du bas, nous montrons aussi l’ajustement des données par la somme de trois lorentziennes ; la « bosse » centrale est soustraite avant de continuer le traitement.

les courbes par la somme de trois lorentziennes (montrée pour la courbe du bas) et soustrayons le pic central des données expérimentales.

Pour la suite, nous utiliserons comme mesure de la qualité de l’ajustement la fonction  $\chi^2$  divisée par le nombre de points  $N_{\text{pnts}}$ . L’écart-type  $\sigma_n$  pour chaque point expérimental est déterminé en prenant pour le signal mesuré (avant soustraction du fond) une distribution de Poisson, donc :  $\sigma_n^2 = I_n$ .

### 6.3.5 Modèle de disques durs

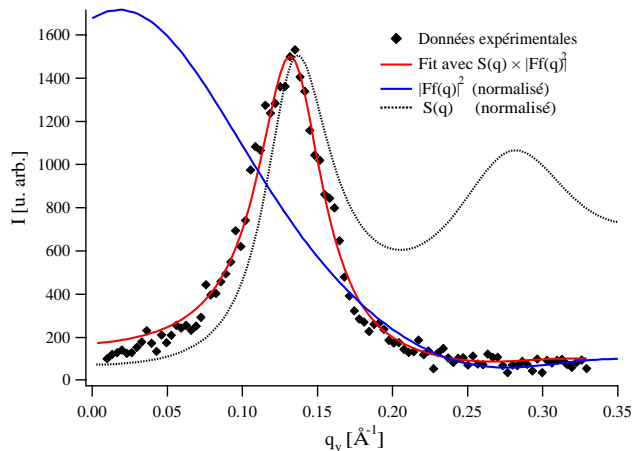
Le modèle le plus simple pour l’interaction est celui de disques durs confinés dans le plan. Rosenfeld ([124], eq. (6.8)), en adoptant l’approche de la « mesure fondamentale », a obtenu pour le facteur de structure correspondant  $S_{\text{hd}}(q_r)$  une expression analytique simple et suffisamment précise sur toute la gamme de concentration que nous explorons ; la formule complète est donnée en appendice.

Pour commencer, nous avons ajusté chaque courbe individuellement, les paramètres libres étant le rayon de disque dur  $R$  et la densité numérique des pores  $n = 1/A_{\text{pore}}$ . Pour chaque courbe, nous avons utilisé les facteurs de forme du hexa- hepta- et octamère. Un exemple d’ajustement est montré sur la figure 6.7 (pour  $P/L = 1/12.5$ ), et les valeurs des paramètres sont présentées sur la figure 6.8 pour toutes les courbes.

La première conclusion est qu’on obtient le meilleur accord entre la valeur de  $n$  obtenue par ajustement et celle calculée à partir de l’équation (6.1) pour un pore heptamère. L’accord est légèrement moins bon pour l’hexamère et clairement insatisfaisant pour l’octamère ; ceci est confirmé par les valeurs de la fonction  $\chi^2$  des différents ajustements individuels. Nous pouvons donc supposer qu’il s’agit de pores heptamères.

Un résultat très significatif des ajustements individuels est que la valeur de  $R$  décroît avec la concentration  $P/L$ , de 24.8 à 17.9 Å. Ceci n’est pas une variation réelle de la taille du pore, car le rayon devrait alors *augmenter* avec la concentration, par la formation de pores avec plusieurs monomères ; cette décroissance indique plutôt la présence d’une interaction répulsive « molle » : à plus haute concentration les pores sont obligés à se

FIGURE 6.7 – Ajustement des données pour  $P/L = 1/12.5$  avec le modèle des disques durs. Symboles : données expérimentales. L'ajustement, représenté en trait rouge, est le produit du facteur de forme  $|F(q_z)|^2$  pour le pore heptamère (trait bleu) avec le facteur de structure d'un système de disques durs (trait noir pointillé), de rayon  $R = 20.95\text{\AA}$  et densité numérique  $n = 1/A_{\text{pore}} = 3.59 \cdot 10^{-4}\text{\AA}^{-2}$ . Nous montrons seulement le domaine  $q_y > 0$ .



rapprocher et à dépasser cette barrière d'énergie. Nous avons donc refait les ajustements en incluant une telle contribution répulsive.

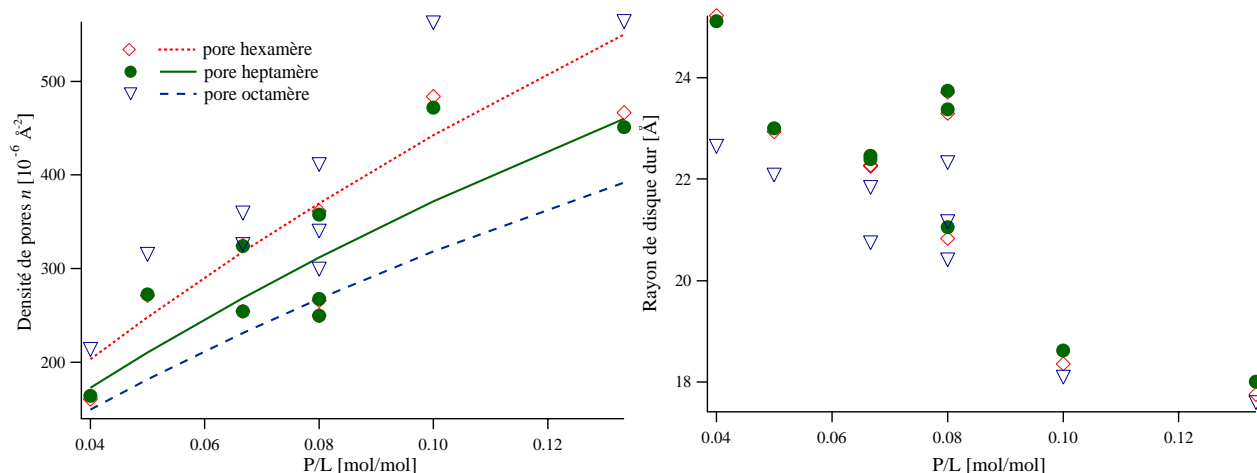


FIGURE 6.8 – Valeurs des paramètres d'ajustement (densité et rayon de disque dur) obtenues par des ajustements individuels des courbes, avec le facteur de forme d'un hexamère (losanges ouverts), heptamère (cercles pleins) et octamère (triangles ouverts). Pour comparaison, nous traçons aussi la densité  $n = 1/A_{\text{pore}}$  obtenue à partir de la formule (6.1) en trait pointillé, plein et tireté, respectivement pour le pore à 6-, 7- et 8 monomères.

Les échantillons avec  $P/L = 1/12.5$  à pression osmotique faible donnent des valeurs bien plus élevées de  $R$  que ceux avec  $c = 31\%$  (voir la figure 6.8, droite). Pour cohérence, nous avons décidé d'ignorer ces points dans la suite du traitement. Cette discrédance n'est pas due à un changement de l'interaction entre pores (voir la section 6.3.3); nous l'attribuons à la difficulté de discriminer entre le signal des pores et la diffusion thermique, qui augmente de manière significative à plus faible pression osmotique.

### 6.3.6 Interaction supplémentaire

Nous envisageons maintenant une interaction plus complexe, contenant à la fois une répulsion de coeurs durs au contact et un terme supplémentaire, à plus longue portée,

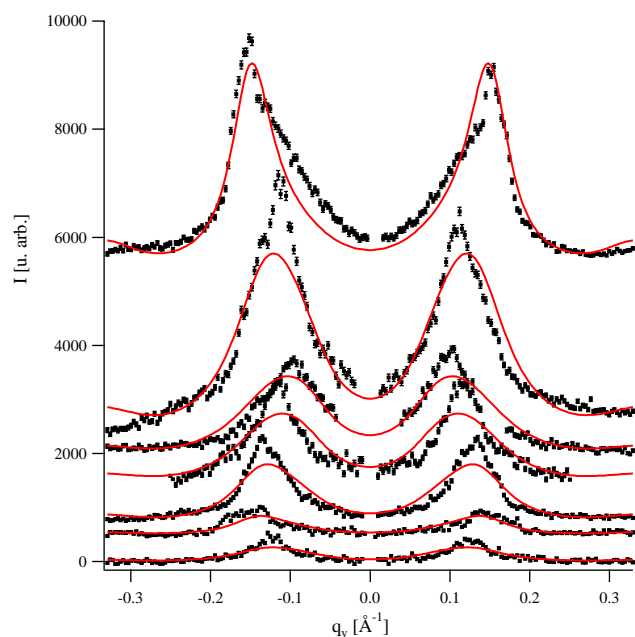


FIGURE 6.9 – Données expérimentales (points) et ajustements (en trait plein) avec un coeur dur et une contribution répulsive supplémentaire. Les courbes correspondent aux différentes concentrations en peptide; du haut vers le bas, Ala/DMPC= 1/7.5, 1/15, 1/25, 1/20, 1/12.5, 1/10, 1/15. Toutes les données sont ajustées à la fois, donnant  $R = 18.3 \text{ \AA}$ ,  $U_0 = 4.74 k_B T$  et  $\xi = 31.5 \text{ \AA}$ .

correspondant à l'interaction transmise par la bicouche. Pour simplifier, nous décrivons cette dernière composante par une gaussienne, et nous la prenons en compte de manière perturbative, dans l'approximation de phase aléatoire (RPA); voir l'appendice à la fin du chapitre pour plus de détails.

Les données expérimentales sont ajustées simultanément, avec le même jeu de paramètres;  $R$  est le rayon du coeur dur,  $U_0$  correspond à l'amplitude du terme supplémentaire et  $\xi$  à sa portée (voir l'éq. (6.5) pour la définition).

Puisque le modèle du pore heptamère donne les meilleurs résultats pour les ajustements individuels, nous imposons à la densité des pores la valeur calculée avec ce modèle (correspondant à  $m = 7$  dans l'équation (6.3)) et nous utilisons le facteur de forme correspondant (trait bleu sur la figure 6.7). Nous avons également vérifié que la qualité de l'ajustement (donnée par la fonction  $\chi^2$ ) est meilleure que pour les pores hexamères ou octamères.

Les résultats des ajustements sont montrés sur la figure 6.9, et le potentiel d'interaction est tracé sur la figure 6.10. Une comparaison entre les différentes configurations d'ajustement est présentée dans le tableau 6.1 et la figure 6.12. Brièvement, la présence d'une interaction supplémentaire augmente de manière significative la qualité de l'ajustement par rapport à la situation où  $R$  est le même pour toutes les courbes et on fixe  $U_0 = 0$  ( $\chi^2/N_{\text{pnts}} = 15.14$  et  $22.0$ , respectivement)<sup>5</sup>. La qualité de l'ajustement reste beaucoup moins bonne que si on laisse  $R$  varier avec le rapport  $P/L$ , mais dans ce cas on utilise également plus de paramètres, sans parler de la conclusion paradoxale d'une réduction en taille des pores. Même lorsqu'on laisse  $R$  varier, l'interaction supplémentaire réduit quelque peu le  $\chi^2$ . On obtient alors une portée  $\xi$  similaire, mais avec une amplitude  $U_0$  bien plus faible, la plupart de l'effet ayant été « simulé » par la variation apparente de  $R$  (voir le tableau 6.1 pour les valeurs des paramètres et la figure 6.12 pour les courbes).

En résumé, nous trouvons que l'interaction entre pores heptamères d'alaméthicine

5. Même si cette valeur peut paraître très large, la qualité des ajustements est (visuellement) bonne et les barres d'erreurs sur les paramètres très réduites : les décimales dans le tableau 6.1 sont significatives. Très probablement, la distribution de Poisson sous-estime sévèrement l'incertitude sur chaque point.



FIGURE 6.10 – Le potentiel d'interaction utilisé pour les ajustements sur la figure 6.9; il comprend un coeur dur et une répulsion gaussienne supplémentaire, donnée par la formule (6.5), avec les paramètres  $U_0 = 4.74 k_B T$  et  $\xi = 31.5 \text{ \AA}$ . La valeur au contact est  $U(2R) = 2.41 k_B T$ .

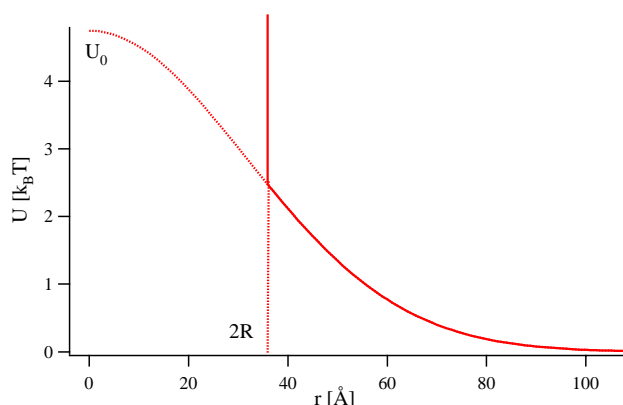
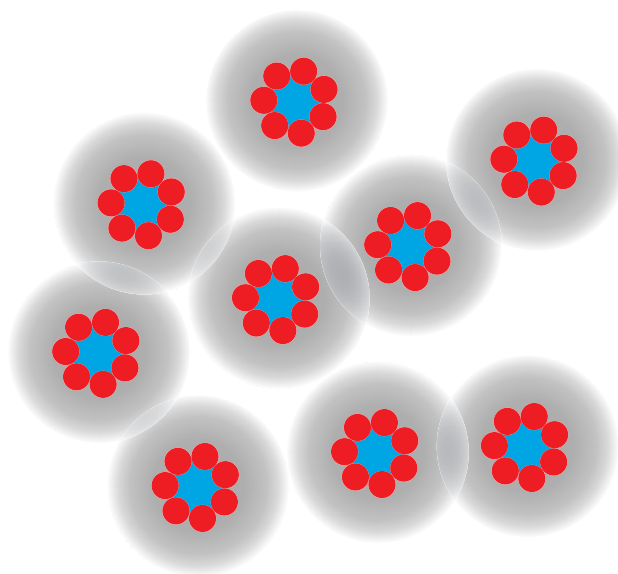


FIGURE 6.11 – Représentation schématique de pores en interaction dans une bicouche lipidique. Les sept monomères sont dessinés en rouge et le canal d'eau central en bleu. Le halo gris représente la portée de l'interaction transmise par la membrane.



dans des bicouches de DMPC est bien décrite par un coeur dur, avec un rayon de  $18.3 \text{ \AA}$ , en très bon accord avec le rayon extérieur du pore estimé de manière géométrique ( $18.2 \text{ \AA}$ ) et une interaction répulsive décrite par l'équation (6.5), avec une portée  $\xi = 31.5 \pm 0.27 \text{ \AA}$  et une amplitude  $U_0 = 4.74 \pm 0.09 k_B T$ , correspondant à une valeur au contact  $U(2R) = 2.4 k_B T$ . Ces très faibles incertitudes sur les paramètres doivent cependant être prises avec beaucoup de réserve, car la source d'erreur la plus importante est probablement le modèle très simplifié pour  $S(q)$ .

## 6.4 Discussion et conclusion

Jusqu'à présent, il existe très peu de résultats expérimentaux révélant la présence d'une interaction transmise par la membrane entre des inclusions; à notre connaissance, ils ont tous été obtenus par microscopie électronique après cryo-fracture (FFEM) [87, 23, 63, 1], technique par laquelle on obtient directement la fonction de distribution radiale des inclusions. Les données ont été comparées à des théories de l'état liquide [114, 113, 15] et ont pu être décrites par un modèle de coeurs durs accompagné, dans certains cas, par une interaction supplémentaire répulsive ou attractive.

En revanche, les études théoriques visant à comprendre cette interaction ont commencé il y a plus de trente ans [92, 112, 111, 75] et se développent de manière soutenue;

il s'agit soit de théories d'élasticité continue [61, 59, 51, 5] soit de modèles plus détaillés, prenant en compte la structure moléculaire de la bicouche de lipides. [92, 95, 79, 80]. Deux origines principales ont été proposées pour l'interaction entre inclusions, comme on le verra dans la suite.

### 6.4.1 Décalage hydrophobe

Un consensus a été atteint sur l'importance du *décalage hydrophobe*, ou « hydrophobic mismatch », qui est la différence en longueur entre la partie hydrophobe de la protéine ou du peptide et celle de la membrane qui la contient [100, 68]. Néanmoins, la manière précise dont ce décalage est pallié dans chaque système particulier n'est pas tout à fait claire, surtout lorsque le peptide est plus long (c'est le cas de l'alaméthicine dans du DMPC), puisqu'on peut avoir à la fois une déformation de compression/dilatation de la bicouche et une inclinaison du peptide [68, 83].

Le système alaméthicine/DMPC a été étudié par RMN, qui montre que le peptide est soit parallèle à la normale aux couches [104] soit incliné par  $10 - 20^\circ$  [7], conclusion étayée par des simulations numériques [67]. En plus, le peptide forme une hélice avec un angle au résidu Pro<sup>14</sup>, [44, 16, 7], ce qui rend l'analyse encore plus compliquée. Cependant, si on considère le pore tout entier comme un objet rigide l'angle d'inclinaison est probablement très faible, par un simple effet de taille [155]. Ainsi, le décalage sera sans doute compensé par la dilatation de la bicouche, qui se propage sur quelques dizaines d'angströms à partir du bord de l'inclusion [103, 155], valeur comparable avec nos résultats expérimentaux.

### 6.4.2 Perturbation de l'ordre des lipides

Un autre effet invoqué –plus subtil que le précédent– est le changement dans la structure interne de la bicouche que produit l'inclusion en perturbant la configuration des chaînes de lipides [92, 142, 79, 96]. En particulier, les résultats de Lagüe et al. [79, 80] sont en accord semi-quantitatif avec nos observations : ces auteurs ont extrait la fonction de réponse latérale densité-densité des chaînes hydro-carbonées à partir des simulations MD d'une bicouche de DPPC [42] et ils l'ont utilisée pour déterminer l'interaction entre des cylindres rigides et « lisses » (sans affinité hydrophile/hydrophobe) insérés dans une bicouche. Pour le rayon le plus grand qu'ils ont utilisé (9 Å, soit la moitié de celui du pore d'alaméthicine), ils obtiennent une interaction répulsive, avec un maximum de  $10 k_B T$  et qui s'étend jusqu'à 20 Å du contact [79]. Cette étude a été suivie par une comparaison entre différents lipides, y compris le DMPC (utilisé dans nos expériences) [80] ; dans ce dernier cas, ils trouvent une interaction non-monotone, attractive au voisinage du contact et répulsive à plus grande distance. Cette interaction s'étend plus loin que dans le cas du DPPC. Nous n'avons pas mené une comparaison plus détaillée entre leurs prédictions et nos résultats expérimentaux, car le potentiel d'interaction varie de manière considérable avec le rayon de l'inclusion, mais l'accord trouvé plus haut est certainement encourageant.

### 6.4.3 Perspectives

Pour une description complète de la perturbation et de l'interaction qu'elle induit, on doit sans doute prendre en compte à la fois le décalage hydrophobe et les changements dans l'ordre des chaînes [93, 13]. On a remarqué à plusieurs reprises [5, 13] que la courbure spontanée de la monocouche peut avoir une influence radicale sur l'interaction transmise par les lipides. Un cadre conceptuel qui puisse intégrer tous ces éléments reste encore à trouver, sans doute à cause des difficultés théoriques inhérentes mais aussi dû au manque de données expérimentales.

Le travail expérimental présenté ici a eu pour but de mesurer l'interaction transmise par la membrane entre des pores d'alaméthicine insérés dans des bicouches de DMPC ; on trouve qu'elle est répulsive et que le potentiel est en accord qualitatif avec des prédictions théoriques récentes [79, 80]. Néanmoins, la qualité de l'ajustement des données expérimentales n'est pas très bonne ; ceci peut avoir comme origine les difficultés techniques et les erreurs systématiques, mais aussi le modèle théorique très simplifié (l'approximation RPA). Ces deux aspects seront améliorés à l'avenir, mais les résultats sont déjà assez significatifs.

**Remerciements.** Nous remercions l'ESRF pour la mise à disposition du temps de faisceau (expériences SC 1136 et SC 1375) et surtout l'équipe de la ligne ID1 pour leur soutien technique. D. C. a bénéficié d'une bourse Marie Curie du programme *Improving the Human Research Potential* de l'Union Européenne (contrat HPMF-CT-2002-01903).

## Appendice

### Modèle de disques durs

Nous avons utilisé l'expression analytique du facteur de structure de disques durs donnée par Rosenfeld ([124], eq. (6.8)) :

$$S_{\text{hd}}^{-1}(q) = 1 + 4\eta \left[ A \left( \frac{J_1(qR)}{qR} \right)^2 + B \frac{J_0(qR)J_1(qR)}{qR} + G \frac{J_1(2qR)}{qR} \right] \quad (6.4)$$

où  $q$  est le vecteur de diffusion dans le plan des couches,  $R$  est le rayon de disque dur,  $\eta = n\pi R^2$  la fraction surfacique (avec  $n$  la densité numérique de disques) et  $J_k$  les fonctions de Bessel du premier type d'ordre  $k$ . Les préfacteurs sont donnés par :

$$\begin{aligned} G &= (1 - \eta)^{-3/2} \\ \chi &= \frac{1 + \eta}{(1 - \eta)^3} \\ A &= \eta^{-1} [1 + (2\eta - 1)\chi + 2\eta G] \\ B &= \eta^{-1} [(1 - \eta)\chi - 1 - 3\eta G] \end{aligned}$$

### Interaction répulsive additionnelle

Nous ajoutons au potentiel de coeur dur une composante répulsive décrite par une gaussienne, avec une amplitude  $U_0$  et une portée  $\xi$  :

$$U(r) = U_0 \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{r}{\xi} \right)^2 \right] \quad (6.5)$$

prise en compte comme une perturbation, dans l'approximation de la phase aléatoire (RPA) [3]. Dans cette approche, on obtient la fonction de corrélation directe du système perturbé  $c(r)$  en fonction de celle du système de référence  $c_{\text{ref}}(r)$  comme

$$c(r) = c_{\text{ref}}(r) - \beta U(r) \quad (6.6)$$

[53] ou, de manière équivalente :

$$S^{-1}(q) = S_{\text{ref}}^{-1}(q) + \rho \beta \tilde{U}(q) \quad (6.7)$$

avec  $\tilde{U}(q) = 2\pi U_0 \xi^2 \exp \left[ -\frac{(q\xi)^2}{2} \right]$  la transformée de Fourier de  $U(r)$ .

## Paramètres d'ajustement

A toutes fins utiles, nous donnons dans le tableau 6.1 les valeurs des paramètres d'ajustement pour les différentes configurations discutées dans le texte ; partout, le facteur de forme et la densité sont ceux du pore heptamère. Les ajustements correspondants sont montrés sur la figure 6.12. Le panneau en haut à gauche (même  $R$ , même  $U_0$ ) reprend la figure 6.9.

TABLE 6.1 – Résultats des ajustements avec différents modèles. Les conditions d'ajustement portent sur le rayon du coeur dur  $R$ , qui peut être soit le même pour toutes les courbes soit libre de varier en fonction de la concentration et sur la présence ou l'absence ( $U_0 = 0$ ) de l'interaction supplémentaire.  $U_0$  et  $\xi$  sont l'amplitude et la portée de cette interaction. La fonction  $\chi^2/N_{\text{pnts}}$  quantifie la qualité de l'ajustement.  $N_{\text{param}}$  est le nombre de paramètres utilisés pour l'ajustement, y compris les sept préfacteurs de l'intensité, un pour chaque courbe.

$P/L$	Param.	Même $R$ même $U_0$	Même $R$ $U_0 = 0$	$R$ libre même $U_0$	$R$ libre $U_0 = 0$
1/25	$R$ [Å]	18.3	19.2	24.3	24.8
1/20	$R$	"	"	23.5	24.1
1/15	$R$	"	"	21.7	22.1
1/15	$R$	"	"	22.8	23.1
1/12.5	$R$	"	"	21.4	21.7
1/10	$R$	"	"	19.4	19.8
1/7.5	$R$	"	"	17.7	17.9
	$U_0$ [ $k_B T$ ]	4.74	0	1.56	0
	$\xi$ [Å]	31.5	–	34.8	–
	$N_{\text{param}}$	10	8	16	14
	$\chi^2/N_{\text{pnts}}$	15.14	22.0	8.93	9.44

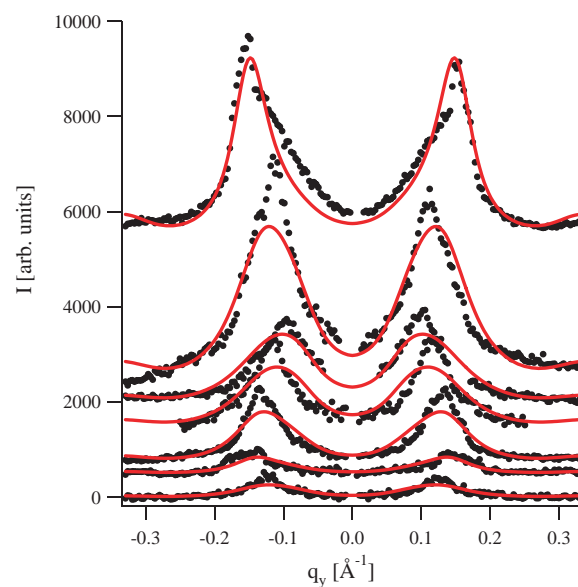
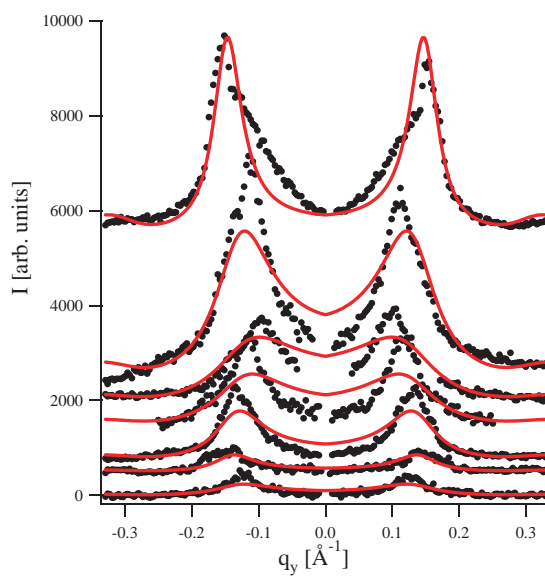
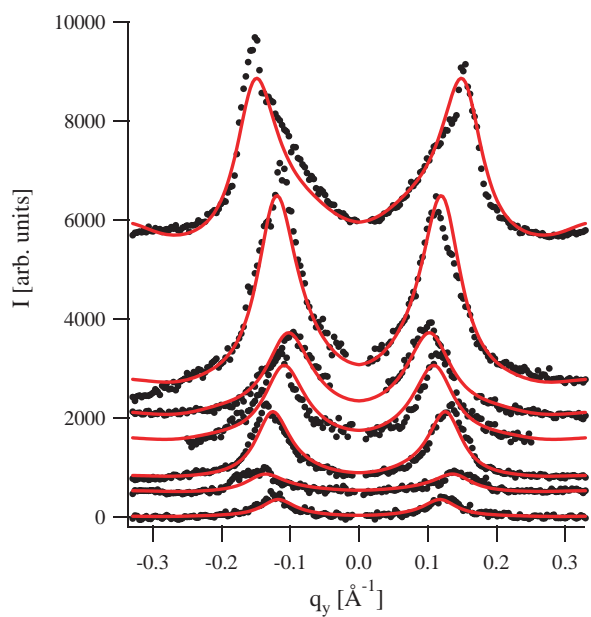
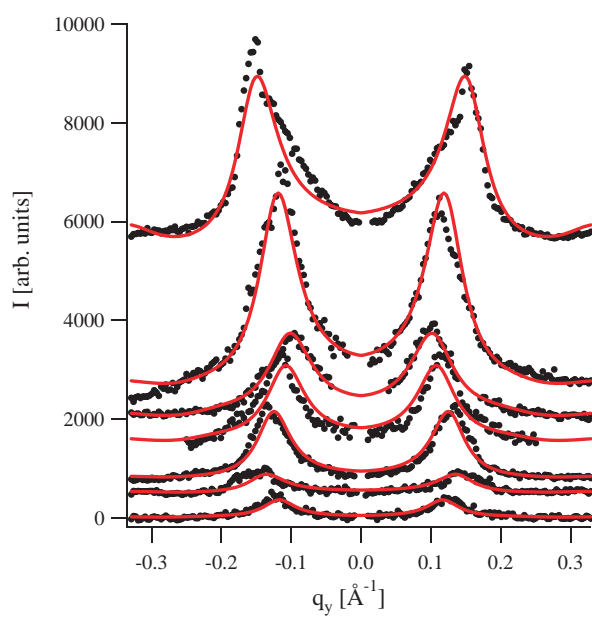
Fit 1: même R, même  $U_0$ Fit 2: même R,  $U_0 = 0$ Fit 3: R libre, même  $U_0$ Fit 4: R libre,  $U_0 = 0$ 

FIGURE 6.12 – Données expérimentales (points) et ajustements (traits pleins) pour les différentes configurations décrites dans le tableau 6.1. Le panneau en haut à gauche (même R, même  $U_0$ ) reprend la figure 6.9.

## CHAPITRE 7

# Pores de gramicidine

Ce chapitre est adapté de l'article [Constantin, 2009] :

CONSTANTIN, D. (2009). Membrane-mediated repulsion between gramicidin pores. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788 :1782-1789.

Nous avons étudié par diffusion des rayons X aux petits angles des multicouches très alignées du lipide zwitterionique 1,2-dilauroyl-sn-glycéro-3-phosphatidylcholine contenant des pores formés par le peptide antimicrobien gramicidine en fonction du rapport molaire peptide/lipide. Par l'ajustement global des facteurs de structure du fluide à deux dimensions formé par les pores dans le plan de la membrane nous obtenons le potentiel d'interaction entre pores. A part un coeur dur, avec un rayon très proche du rayon géométrique du pore, nous trouvons une interaction répulsive transmise par la membrane, avec une portée de 2.5 Å et une amplitude décroissante en fonction de la concentration de pores, en accord avec la théorie de l'adaptation hydrophobe. Dans des systèmes dilués, la valeur de contact de cette interaction est de l'ordre de  $30 k_B T$ . Nous obtenons des résultats similaires pour des pores de gramicidine insérés dans des bicouches formées par le tensioactif nonionique pentaéthylène glycol monododécyl éther.

## 7.1 Introduction

La gramicidine D est un polypeptide antimicrobien, découvert en 1939 par René Dubos [33]. C'est un mélange contenant principalement trois pentadecapeptides linéaires (gramicidine A, B et C) qui diffèrent par un seul acide aminé en position 11. La formule générale est :  $\text{HCO-L-X-Gly-L-Ala-D-Leu-L-Ala-D-Val-L-Val-D-Val-L-Trp-D-Leu-L-Y-D-Leu-L-Trp-D-Leu-L-Trp-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , où Y est le tryptophane pour l'isomère A, la phénylalanine pour B et la tyrosine pour C, alors que X peut être soit la valine soit l'isoleucine pour les trois variantes. Il faut distinguer la gramicidine D de la gramicidine S, qui est un décapeptide cyclique.

La gramicidine D est produite pendant la sporulation par la bactérie *Bacillus brevis*, qu'on peut trouver dans les sols. Le fonction de cette molécule dans la vie de la bactérie n'est pas encore complètement élucidée [66], mais on sait qu'elle est active contre les bactéries gram-positives [18], dont elle perce la membrane. Cette activité est à la base des propriétés antimicrobiennes de la gramicidine D. Il s'agit effectivement du premier antibiotique utilisé en conditions cliniques.

Dans la conformation active, deux monomères ayant une conformation en hélice  $\beta^{6.3}$  et se trouvant chacun dans une monocouche de la membrane dimérisent par le terminus N (avec la formation de six liaisons hydrogène) et constituent un canal qui

est sélectif pour les cations monovalents. Le pore central a un diamètre de seulement 4 Å, et contient une seule file de molécules d'eau (voir la figure 7.1).

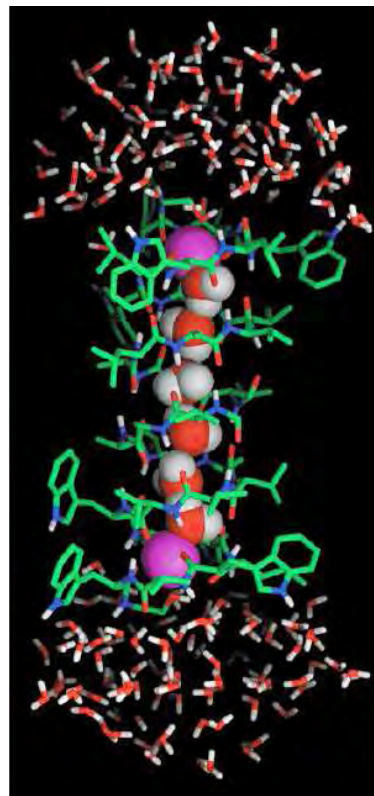


FIGURE 7.1 – Configuration du canal de gramicidine. Les molécules d'eau sont représentées en rouge et blanc (par des sphères à l'intérieur du pore et par des bâtonnets en dehors). Deux ions  $\text{Na}^+$  sont représentés en violet à chaque entrée du pore. Image reproduite de la référence [125].

Par sa structure très simple (comparée aux protéines membranaires) et compacte, par sa sélectivité et par la facilité de la produire et modifier, la gramicidine D représente un archétype des canaux ioniques et, de ce fait, a été l'une des molécules préférées des biophysiciens. Voir [4] pour une référence récente.

## 7.2 Matériaux et méthodes

### 7.2.1 Préparation et environnement des échantillons

Le lipide 1,2-dilauroyl-sn-glycéro-3-phosphatidylcholine (DLPC) a été fourni par Avanti Polar Lipids Inc. (Birmingham, AL, USA). Le peptide antimicrobien gramicidine D et le tensioactif zwitterionique N,N-diméthyl dodécylamine-N-oxyde (DDAO) ont été fournis par Sigma Aldrich. Le tensioactif nonionique pentaéthylène glycol monododécyl éther ( $\text{C}_{12}\text{EO}_5$ ) est produit par Nikko Chemical Ltd. (Japon). Sans purification supplémentaire, les produits ont été dissous dans de l'isopropanol. Les solutions mères ont ensuite été mélangées de façon à obtenir le rapport molaire désiré peptide/lipide ( $P/L$ ). Les solutions ainsi obtenues ont été séchées sous vide et hydratées en excès d'eau (pour les phases de DLPC) ou jusqu'à un contenu d'eau de 20 wt% (DDAO et  $\text{C}_{12}\text{EO}_5$ ).

Les échantillons ont été préparés dans des capillaires plats en verre (VitroCom Inc., Mt. Lks, N.J., USA), avec une épaisseur de 100  $\mu\text{m}$  et une largeur de 2 mm, par aspiration de la phase lamellaire avec une seringue. Les capillaires ont été scellés à la

flamme. Très lentement (pendant plusieurs mois, à température ambiante) il s'y forme dans les phases de DLPC des domaines avec une orientation homéotrope (lamelles parallèles aux faces du capillaire). Les échantillons de DDAO et de  $C_{12}EO_5$  ont été alignés par cyclage thermique entre les phases lamellaire et isotrope, avec des taux de refroidissement d'environ  $1\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ .

### 7.2.2 Mesures

Les expériences de SAXS ont été faites à la ligne synchrotron sur aimant de courbure BM02 (D2AM) de l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France). L'énergie des photons était de 11 keV. Voir la référence [138] pour plus de détails.

Les données ont été acquises en utilisant une caméra CCD refroidie par élément Peltier (SCX90-1300, produite par Princeton Instruments Inc., New Jersey, USA) avec une résolution de  $1340 \times 1300$  pixels. Le traitement préliminaire des données (soustraction du bruit électronique, correction géométrique, regroupement radial et normalisation) a été fait utilisant le logiciel *bm2img*, développé sur la ligne.

Le faisceau incident était perpendiculaire aux faces du capillaire (et donc parallèle au directeur smectique, qui définit l'axe  $z$ .) Ainsi, le vecteur de diffusion  $\mathbf{q}$  est presque complètement contenu dans le plan des couches  $(x, y)$ , et le signal diffusé accessible  $I(\mathbf{q})$  provient des inhomogénéités de la densité électronique dans ce plan. Puisque les bicouches forment un liquide à deux dimensions, le motif de diffusion présente la symétrie azimutale :  $I = I(q = |\mathbf{q}|)$ . Les capillaires ont été inspectés pour trouver des domaines bien alignés (avec une intensité des pics de Bragg résiduels la plus faible possible.)

### 7.2.3 Analyse

Les pores de gramicidine sont dispersés dans la matrice formée par la phase lamellaire. Puisque le signal de la phase lamellaire « nue » est confiné au voisinage des pics de Bragg, le principe de Babinet implique que le signal diffusé en dehors de l'axe  $z$  est le même que pour un système dont le profil de densité de la phase lamellaire a été soustrait, ce qui laisse des objets fictifs « pore – bicouche » dans un milieu complètement transparent. Comme les pores forment un ensemble d'objets identiques et avec une même orientation (jusqu'à une moyenne azimutale), nous pouvons appliquer la séparation classique de l'intensité diffusée en un facteur de structure multiplié par un facteur de forme [20], ce qui donne :  $I(\mathbf{q}) = S(\mathbf{q}) \cdot |F(\mathbf{q})|^2$ , avec :

$$S(q_z, q_r) = \frac{1}{N} \left\langle \left| \sum_{k=1}^{N-1} \exp(-i\mathbf{q}\mathbf{r}_k) \right|^2 \right\rangle \quad (7.1)$$

où  $N$  est le nombre d'objets, dont l'objet "0" pris comme origine des coordonnées. Comme il n'y a pas d'ordre cristallin dans le plan des couches,  $S$  dépend uniquement de la valeur absolue du vecteur de diffusion dans le plan,  $q_r = \sqrt{q_x^2 + q_y^2}$ .

Le facteur de forme  $F(q_r)$  est la transformée de Fourier de la densité électronique  $\rho(r)$  de l'objet diffusant. Nous l'avons calculé à partir des coordonnées atomiques de la structure de départ utilisée dans les simulations de dynamique moléculaire (MD)



FIGURE 7.2 – Coupe (normalisée) dans le plan  $q_z = 0$  à travers le facteur de forme du pore de gramicidine (dans la configuration du dimère hélicoïdal) obtenue à partir d’une configuration atomique utilisée par de Groot et al. [30] (trait et symboles) comparée au facteur de forme utilisé par Harroun et al. [54] (trait plein).

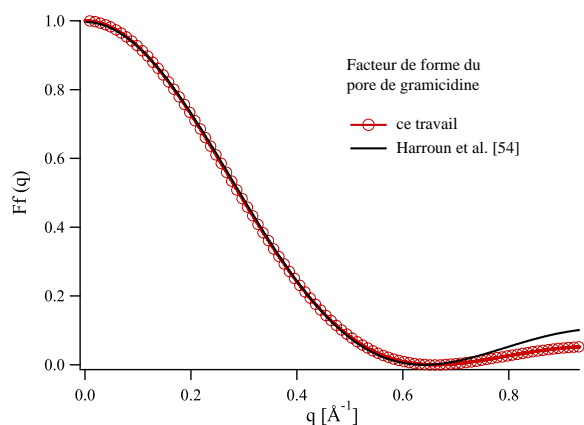
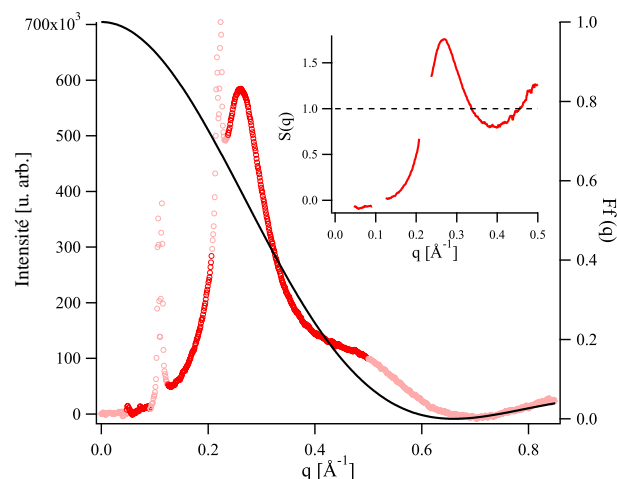


FIGURE 7.3 – Intensité diffusée  $I(q)$  (symboles) pour un échantillon avec  $P/L = 1/7.5$  et facteur de forme normalisé (trait plein); voir Figure 7.2. Encart : le facteur de structure obtenu en divisant l’intensité par le facteur de forme. Les symboles clairs dans la courbe d’intensité (et les lacunes correspondantes dans le facteur de structure) signalent des données inutilisables : aux petits angles (dans l’ombre du piège de faisceau), à la position des pics lamellaires ou bien à grands angles, où l’on observe une discrédance systématique entre l’intensité et le facteur de forme.



de [30], projetées sur le plan  $(x, y)$ , ce qui revient à effectuer une coupe de l’espace réciproque par le plan  $q_z = 0$  (accessible expérimentalement). Le trait saillant de ce profil est la densité électronique plus élevée à la position de la chaîne peptidique, augmentation bien décrite par un profil radial gaussien, avec un maximum à  $r_0 = 3.47 \text{ \AA}$  et une largeur  $w = 1.5 \text{ \AA}$ . Le facteur de forme résultant (Figure 7.2) est très proche de celui obtenu par Harroun et al. [54] à partir des simulations MD de Woolf et al. [159].

L’intensité est ensuite divisée par le facteur de forme pour donner le facteur de structure à deux dimensions  $S(q)$  du fluide que forment les pores dans le plan de la membrane (Figure 7.3.) L’incertitude dans l’intensité est estimée à partir de la dispersion des valeurs enregistrées par différents pixels avec la même valeur de  $q$ . Nous utilisons des formules standard pour estimer la propagation des erreurs lors de la soustraction du fond et de la division par le facteur de forme et pour déterminer finalement l’incertitude dans les valeurs du facteur de structure.

L’alignement des échantillons est souvent imparfait, ce qui se traduit par la présence de pics lamellaires résiduels, comme on peut le voir sur la figure 7.3. Les points expérimentaux autour de ces positions sont enlevés (symboles clairs dans la courbe  $I(q)$  et lacunes dans  $S(q)$ .) Nous retirons également les points à petit  $q$  (dans l’ombre du piège de faisceau) et ceux au-dessus de  $0.5 \text{ \AA}^{-1}$ , où l’on observe une discrédance systématique entre les données expérimentales et le modèle employé pour le facteur de forme, ce qui conduit à une oscillation artificielle du facteur de structure. En dépit

de ces limitations, le premier pic du facteur de structure est correctement mesuré pour tous les échantillons.

## 7.3 Résultats et discussion

Les courbes expérimentales pour les facteurs de structure sont tracés comme symboles ouverts sur la figure 7.4 a) pour toutes les valeurs de  $P/L$ , indiquées à côté des courbes. Les barres d'erreur sont marquées pour tous les points (elles sont en général plus petites que la taille des symboles.) Dans la suite, nous simplifierons le traitement en faisant l'hypothèse qu'il n'y a pas d'interaction entre les pores le long de l'axe  $z$  (d'une bicouche à l'autre), en accord avec les résultats de Yang et al. [162], obtenus pour des pores de gramicidine insérés dans des bicouches complètement hydratées. Ce fait est très important pour deux raisons : premièrement, il nous permet d'employer un modèle bi-dimensionnel traitant uniquement les interactions à l'intérieur d'une même bicouche ; deuxièmement, il conforte la pertinence biologique de cette étude.

### 7.3.1 Le modèle de disques durs

Le modèle le plus simple pour l'interaction des pores de gramicidine dans la membrane est celui de disques durs confinés dans le plan. Une telle analyse a déjà été faite par Harroun et al. [54] pour de la gramicidine dans des bicouches de DLPC à  $P/L = 1/10$ . Nous avons d'abord analysé toutes les courbes avec le modèle du facteur de structure bi-dimensionnel de disques durs  $S_{hd}(q_r)$ , obtenu par Rosenfeld ([124], eq. (6.8)) dans l'approche de la « mesure fondamentale ». Les détails sont présentés sur la figure 7.4 pour le système gramicidine/DLPC : le panneau a) montre les données et les ajustements, alors que les panneaux b) et c) montrent l'évolution en fonction de  $P/L$  des paramètres d'ajustement, à savoir la densité numérique des pores  $n_{\text{pore}}$  et le rayon effectif de disque dur  $R_{HD}$ , respectivement. Les deux paramètres sont libres de varier pendant l'ajustement.

Une première observation est que la densité de pores (symboles sur la figure 7.4 b) est en très bon accord avec la valeur théorique calculée en partant du rapport molaire  $P/L$  et des valeurs publiées pour l'aire par molécule de lipide ou de tensioactif et par pore de gramicidine. Un accord similaire est obtenu pour les deux autres systèmes : gramicidine/ $C_{12}EO_5$  et gramicidine/DDAO (données non montrées).

Le deuxième paramètre d'ajustement, le rayon effectif de disque dur  $R_{HD}$ , est tracé en fonction de  $P/L$  sur la figure 7.4 c) et en fonction de la densité de pores  $n_{\text{pore}}$  et de la fraction surfacique  $\eta = n_{\text{pore}} \times A_{\text{pore}}$  (avec  $A_{\text{pore}} = 250 \text{ \AA}^2$  l'aire d'un pore) sur la figure 7.5. Pour comparaison, nous reportons sur la même figure le point expérimental correspondant aux données de Harroun et al. [54] (carré ouvert). Ces auteurs ont analysé le facteur de structure du système gramicidine/DLPC à  $P/L = 1/10$ , en trouvant un rayon de disque dur de  $13.4 \text{ \AA}$ , qu'ils interprètent comme étant le rayon géométrique du pore plus une couche de lipides. Cette valeur est plus élevée, mais assez cohérente avec notre résultat <sup>1</sup>.

1. Cette différence pourrait être due à la manière de définir le rayon d'interaction. Harroun et al. [54] le déterminent à partir de la séparation *la plus probable* entre deux pores voisins : cette distance est toujours plus grande que le diamètre du disque dur, qui représente la séparation *minimum*.

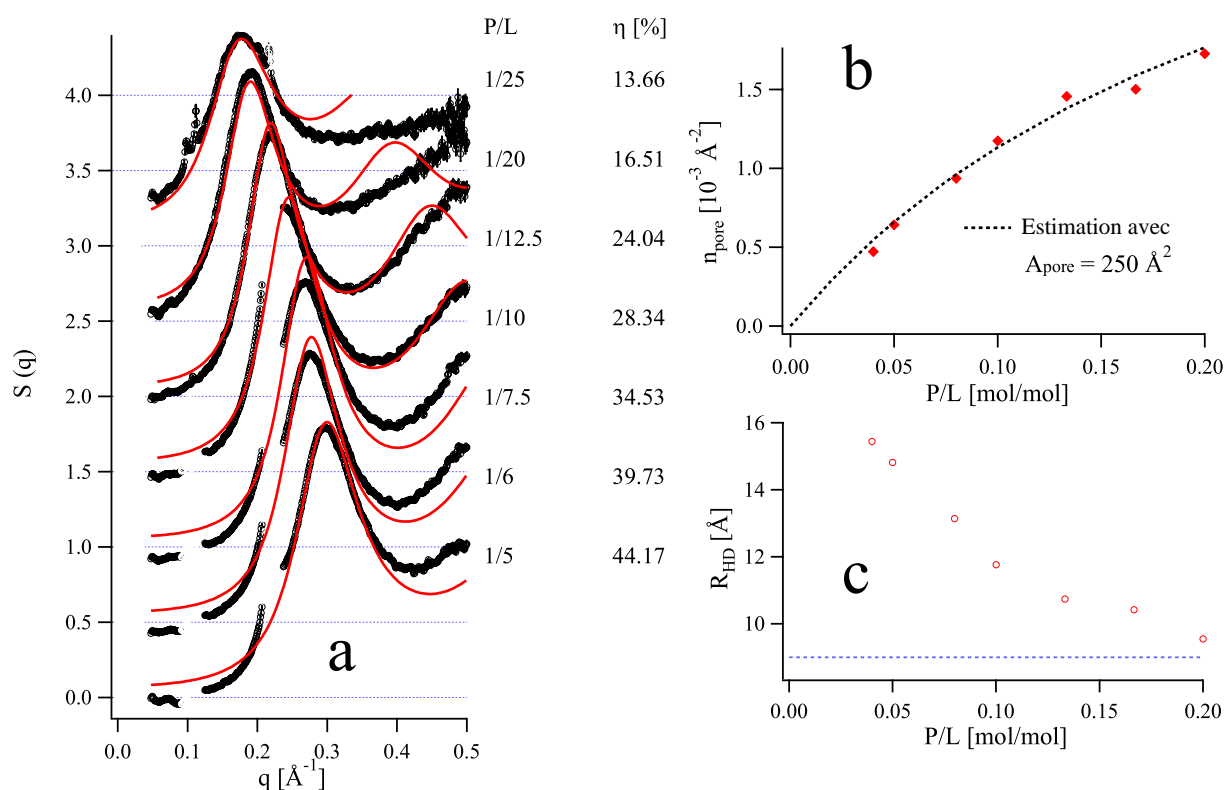
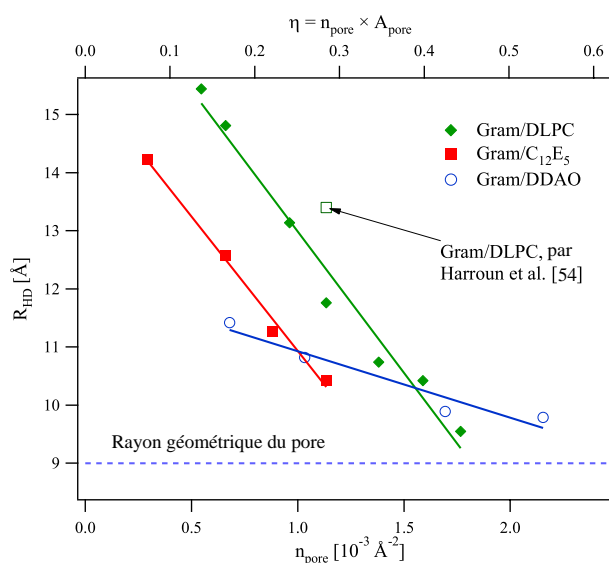


FIGURE 7.4 – (a) Données expérimentales pour le facteur de structure (symboles) et ajustement avec le modèle des disques durs (traits) pour le système gramicidine/DLPC, à différentes concentrations molaires peptide/lipide ( $P/L$ ), indiquées à côté des courbes. La valeur théorique de la fraction surfacique occupée par les pores de gramicidine,  $\eta$ , est aussi spécifiée. (b) Densité numérique des pores obtenue à partir des ajustements dans (a) (symboles) et valeur théorique prévue (trait pointillé). (c) Valeurs effectives pour le rayon de disque dur obtenues à partir des ajustements dans (a) (symboles) et rayon géométrique du pore (trait pointillé). La variation de  $R_{\text{HD}}$  avec la concentration de pores est le signe d'une interaction répulsive, voir la discussion dans le texte.

FIGURE 7.5 – Rayon effectif de disque dur pour le pore de gramicidine en fonction de la densité dans des bicouches avec trois compositions différentes. Les lignes sont seulement des guides pour l'oeil.



Nous montrons sur la figure 7.5 les résultats des ajustements pour les deux autres systèmes. Pour les trois compositions des membranes, le rayon effectif décroît en fonction de  $n_{\text{pore}}$  (cette décroissance est moins marquée pour le système gramicidine/DDAO.) Le modèle de disques durs n'est clairement pas satisfaisant : même s'il décrit très bien les courbes individuelles, le rayon d'interaction ainsi obtenu décroît lorsque  $P/L$  (et donc  $n_{\text{pore}}$ ) augmentent ; comme on l'a déjà discuté dans le contexte des pores d'alaméthicine [Constantin *et al.*, 2007] (voir également la section 6.3.3), cette variation est le signe d'une interaction répulsive supplémentaire plus « molle ». Brièvement, l'effet peut être expliqué de la manière suivante : à faible densité, cette interaction suffit pour maintenir les particules à l'écart. Lorsque la densité et la pression augmentent, les particules sont forcées à se rapprocher de plus en plus. A haute concentration, le rayon effectif devrait saturer à la « vraie » valeur du coeur impénétrable. Ceci semble se produire pour les données sur la figure 7.5, où le rayon effectif approche la valeur de 9 Å, correspondant au rayon géométrique de coeur.

### 7.3.2 Interaction supplémentaire

Pour quantifier cette interaction répulsive, nous avons rajouté au coeur dur un potentiel supplémentaire :

$$V(r) = u \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{r}{\xi} \right)^2 \right] \quad r > 2R_{HD} \quad (7.2)$$

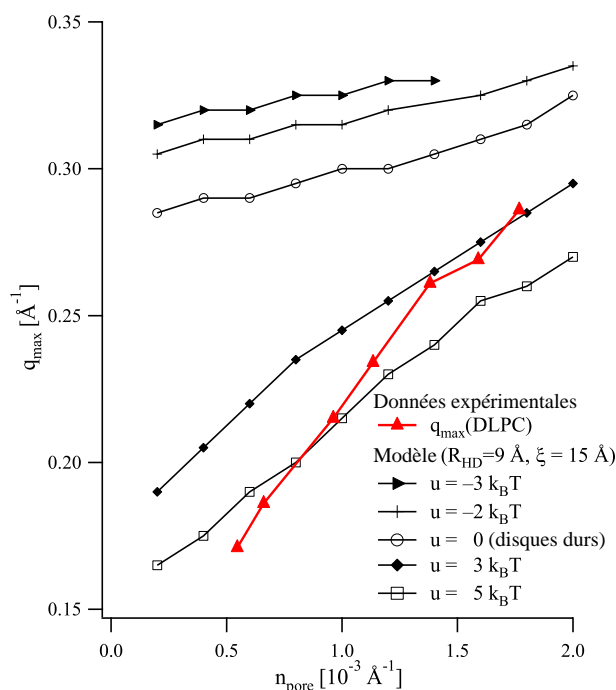
où  $r$  représente la distance entre les centres des pores.

Le facteur de structure  $S(q)$  dépend maintenant de quatre paramètres : le rayon de coeur dur  $R_{HD}$ , la densité numérique  $n_{\text{pore}}$ , ainsi que l'amplitude  $u$  et la portée  $\xi$  du potentiel (7.2). Nous calculons  $S(q)$  selon la méthode de Lado [77, 78], implémentée sous la forme d'une fonction IGOR PRO. Cette méthode détermine une solution itérative de l'équation Ornstein-Zernicke, avec la relation de fermeture de Percus-Yevick. La précision de l'algorithme a été testée en comparant les résultats pour des systèmes « coeur dur » à la formule analytique de Rosenfeld [124].

L'effet du potentiel supplémentaire sur  $S(q)$  est illustré sur la figure 7.6, qui trace la position  $q_{\text{max}}$  du premier maximum du facteur de structure en fonction de la densité de pores pour le système gramicidine/DLPC, ainsi que pour les facteurs de structure simulés avec un coeur dur de rayon  $R_{HD} = 9 \text{ \AA}$  (le rayon géométrique du pore) et le potentiel (7.2), avec une portée de  $\xi = 15 \text{ \AA}$  et différentes amplitudes  $u$  (positives et négatives).

La première observation est que, pour une interaction purement « coeur dur », la position du maximum de  $S(q)$  varie très peu avec la concentration. L'ajout d'un potentiel attractif  $u < 0$  ne fait que décaler le pic vers de plus grandes valeurs de  $q$  (les pores se rapprochent plus de leurs voisins) sans changer la pente. En revanche, lorsque le potentiel est répulsif  $u > 0$ , le maximum se décale vers de plus bas  $q$  et sa dépendance de la densité devient plus abrupte, quoique pas suffisamment pour décrire la variation des données expérimentales, quels que soient les paramètres  $u$  et  $\xi$  (dans des limites physiquement raisonnables). Ces résultats confirment notre intuition quant à la présence d'une composante répulsive supplémentaire, mais qui semble aussi varier avec la densité.

FIGURE 7.6 – Position du premier maximum  $q_{\max}$  du facteur de structure  $S(q)$ . Données expérimentales ( $\blacktriangle$  et trait épais) pour le système gramicidine/DLPC et simulations (divers symboles et traits) pour différentes amplitudes  $u$  de l'interaction. Pour toutes les simulations, le rayon de coeur dur  $R_{HD} = 9 \text{ \AA}$  et la portée  $\xi = 15 \text{ \AA}$ .



Pour s'en convaincre, nous avons tout d'abord ajusté les données avec un coeur dur plus l'interaction (7.2), avec  $R_{HD} = 9 \text{ \AA}$  fixé et avec  $n_{\text{pore}}$  donnée par les valeurs prévues théoriquement, représentées par le trait pointillé sur la figure 7.4, alors que  $u$  et  $\xi$  peuvent varier librement. Nous avons également testé des formes analytiques alternatives pour l'interaction supplémentaire (exponentielle et linéaire). Aucun de ces essais n'a donné des résultats satisfaisants ; en particulier, les combinaisons de paramètres qui décrivent bien la dépendance en densité de la position du pic  $q_{\max}$  donnent aussi une variation marquée de sa largeur et de son amplitude, en désaccord avec les données expérimentales sur la figure 7.4 a), où la forme du pic change très peu, alors que  $P/L$  varie d'un facteur cinq.

### 7.3.3 Des origines possibles pour l'interaction

Dans le but de comprendre pourquoi et de quelle manière l'interaction transmise par la membrane devrait varier avec la densité de pores, nous devons d'abord envisager l'influence des inclusions sur la membrane. Deux tels effets sont pertinents dans le contexte. Le premier est relié au changement d'épaisseur de la membrane, et se produit à une échelle « mésoscopique », ce qui permet de le décrire par un modèle d'élasticité continue. En revanche, le deuxième effet concerne la manière dont une inclusion membranaire perturbe la configuration des chaînes de lipides adjacentes et demande une description plus détaillée, au niveau microscopique.

#### Adaptation hydrophobe

L'un des plus simples (mais aussi des plus efficaces) concepts utilisés pour interpréter l'interaction protéine-membrane est celui d'*adaptation hydrophobe* [100, 68], qui postule que des protéines avec une longueur hydrophobe  $h$  donnée (celle de leur domaine transmembranaire) ciblent des membranes avec une épaisseur hydrophobe

comparable. Lorsqu'il y a une différence de longueur entre la partie hydrophobe de la protéine ou peptide et celle de la membrane qui les accueille (dénommée « décalage hydrophobe », de l'anglais *hydrophobic mismatch*), la membrane se déforme pour s'adapter à la protéine (qui est généralement beaucoup plus rigide). Cette déformation a une certaine étendue latérale (dans le plan de la membrane) et peut ainsi induire une interaction entre les inclusions quand ces dernières sont suffisamment proches.

La longueur hydrophobe de la gramicidine a été estimée à  $h_G = 22 \text{ \AA}$  [35]. D'autre part,  $h = 20.8 \text{ \AA}$  dans la membrane de DLPC pur et  $h = 22.1 \text{ \AA} \approx h_G$  pour un contenu en gramicidine  $P/L = 0.1$  [54], confirmant l'hypothèse que les membranes plus fines sont épaissies par la gramicidine. Le même effet est observé dans le système gramicidine/DDAO, où des mesures de RMN donnent pour la membrane « nue » une épaisseur hydrophobe de  $18.4 \text{ \AA}$ , valeur qui augmente à  $19.4 \text{ \AA}$  pour les échantillons les plus concentrés ( $P/L = 0.25$ ) [109]. Pour le  $C_{12}E_5$ , nous estimons l'épaisseur hydrophobe en absence de gramicidine à  $h_{C_{12}E_5} = 18.8 \text{ \AA}$ ; nous n'avons pas de données pour sa variation en fonction de la concentration de pores.

Au premier ordre (et négligeant l'effet de la courbure spontanée de la monocouche, qui peut avoir des effets non-triviaux [5, 13]), l'énergie élastique devrait varier comme  $(h - h_G)^2$  [61]. Elle décroîtra donc lorsque la concentration de gramicidine augmente, pour s'annuler quand l'épaisseur hydrophobe de la membrane atteint celle de la protéine.

## Changements dans l'ordre des lipides

D'autre part, même en l'absence de décalage hydrophobe la présence d'une inclusion impose des restrictions sur la configuration des chaînes de lipides qui l'entourent [92, 142, 79, 96]. Par exemple, Lagüe et al. [79, 80] ont utilisé la fonction de réponse latérale densité-densité des chaînes hydrocarbonées obtenue par des simulations de dynamique moléculaire de bicouches sans inclusions pour déterminer l'interaction entre des cylindres rigides et « lisses » insérés dans la bicouche. Ils ont étudié trois valeurs pour le rayon du cylindre, jusqu'à  $9 \text{ \AA}$ , qui est exactement le rayon géométrique du pore de gramicidine. Dans ce cas, l'interaction à longue portée est répulsive pour tous les lipides envisagés (DMPC, DPPC, POPC et DOPC), avec en plus une attraction à courte portée pour le DMPC. Ceci étant, il n'y a pas de résultats pour du DLPC. En plus, il n'est pas clair comment cette interaction varie en fonction de la concentration en inclusions.

### 7.3.4 Modèle complet

Dans la suite, nous implémentons le modèle de l'adaptation hydrophobe en supposant que le décalage  $(h - h_G)$  varie linéairement avec la concentration de pores  $n_{\text{pore}}$  sur la gamme étudiée ( $1/25 \leq P/L \leq 1/5$ , ou  $n_{\text{min}} = 0.55 \leq n_{\text{pore}} \leq n_{\text{max}} = 1.7 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-2}$ ) et s'annule à sa limite supérieure. Nous décrivons cette interaction élastique par une exponentielle<sup>2</sup>

$$V(r) = U_0 \left( \frac{n_{\text{max}} - n_{\text{pore}}}{n_{\text{max}} - n_{\text{min}}} \right)^2 \exp\left(-\frac{r - 2R}{\xi}\right) \quad (7.3)$$

2. Les essais avec d'autres formes analytiques pour le potentiel d'interaction donnent des résultats moins satisfaisants (voir l'appendice).

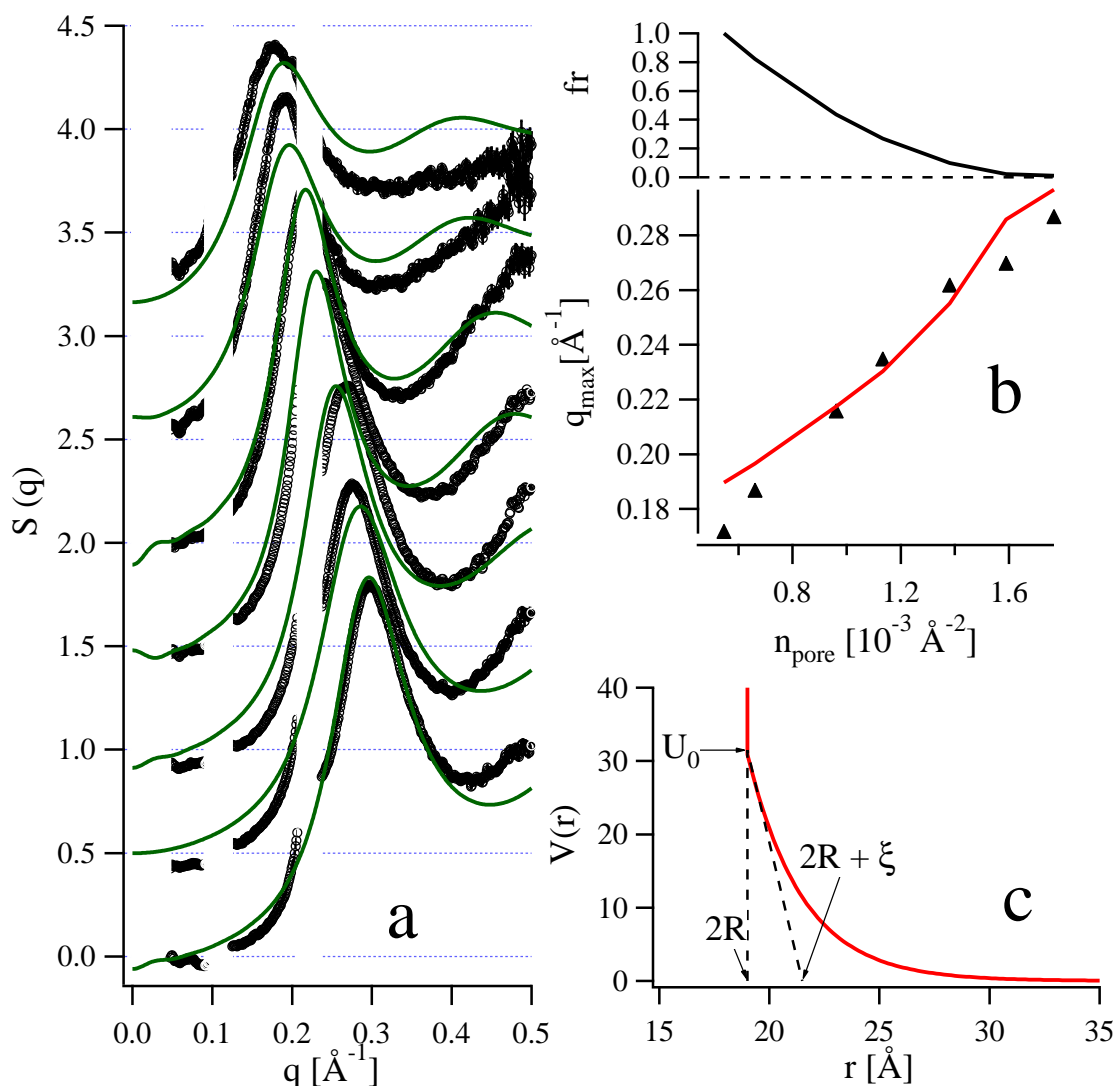


FIGURE 7.7 – (a) Facteurs de structure expérimentaux (symboles) et ajustement (trait plein) avec un modèle de disques durs plus l’interaction répulsive (7.3) pour le système gramicidine/DLPC (les données sont les mêmes que sur la figure 7.4). (b) En haut : « fraction effective » de l’amplitude d’interaction en fonction de  $n_{\text{pore}}$  :  $fr = \left(\frac{n_{\text{max}} - n_{\text{pore}}}{n_{\text{max}} - n_{\text{min}}}\right)^2$ , voir l’équation (7.3). En bas : Position du premier maximum du facteur de structure  $q_{\text{max}}$  en fonction de  $n_{\text{pore}}$ , pour les données expérimentales (symboles) et pour les ajustements (trait plein). (c) Potentiel d’interaction  $V(r)$  utilisé pour les ajustements dans le panneau (b). L’amplitude correspond à la valeur la plus basse de  $n_{\text{pore}}$ ,  $n_{\text{min}} = 0.55 \times 10^{-3} \text{\AA}^{-2}$ .

avec comme seuls paramètres libres le préfacteur  $U_0$ , qui est l’amplitude de l’interaction à la concentration minimum  $n_{\text{min}}$ , et la portée  $\xi$ , qui ne dépend pas de la concentration dans notre modèle simple. Puisque le potentiel supplémentaire s’annule à forte concentration, dans la suite nous prenons pour le rayon de coeur dur la valeur correspondant au meilleur ajustement pour l’échantillon le plus concentré, à savoir  $9.5 \text{\AA}$ , plutôt que la valeur géométrique de  $9.0 \text{\AA}$ . Ce changement n’est pas très significatif pour les résultats, mais il est requis pour la cohérence logique du modèle et pour éviter de surestimer

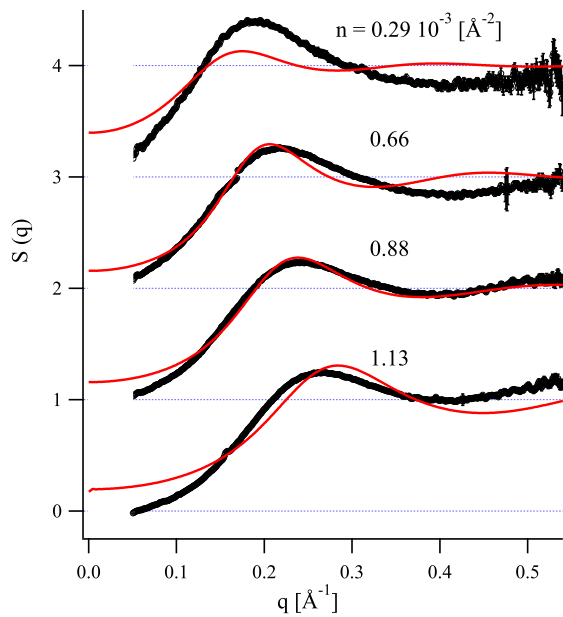


FIGURE 7.8 – Résultats expérimentaux pour le facteur de structure (symboles) et ajustements (trait plein) avec un modèle de disques durs plus l'interaction répulsive (7.3) pour le système gramicidine/ $C_{12}EO_5$ . La densité de pores est indiquée à côté de chaque courbe (les quatre courbes correspondent aux quatre carrés pleins sur la figure 7.5).

l'interaction.

Pour le système gramicidine/DLPC, le meilleur ajustement avec ce modèle est obtenu pour  $U_0 = 31.5 \pm 10k_B T$  et  $\xi = 2.5 \pm 0.5 \text{ \AA}$ . Les détails sont présentés sur la figure 7.7. Voir l'appendice pour l'estimation des erreurs.

Nous obtenons un résultat similaire pour le système gramicidine/ $C_{12}EO_5$  :  $U_0 = 27 \pm 10k_B T$  et  $\xi = 2.75 \pm 0.5 \text{ \AA}$  (voir la figure 7.8). Comme ci-dessus, on suppose que le décalage ( $h - h_G$ ) varie linéairement, à partir d'un maximum pour la plus faible concentration de pores jusqu'à zéro dans l'échantillon le plus concentré.

Pour le système gramicidine/DDAO, les essais d'ajustement indiquent une interaction transmise par la membrane beaucoup plus faible (à la fois en amplitude et en portée), ce qui est cohérent avec le peu de variation du rayon effectif de disque dur (cercles ouverts sur la figure 7.5). Clairement, l'interaction des pores est beaucoup plus proche d'un simple modèle de disques durs que pour les autres compositions de la bicouche. Cependant, une analyse quantitative serait très difficile vu la mauvaise qualité des ajustements. Plus de données expérimentales seraient nécessaires avant de pouvoir conclure.

## 7.4 Conclusion

Nous avons montré que l'interaction entre pores de gramicidine insérés dans des bicouches de DLPC est bien décrite par un coeur dur, avec un rayon très proche du diamètre géométrique de la molécule et par une interaction répulsive supplémentaire, dont l'amplitude décroît lorsque la concentration de pores augmente. Nous obtenons un résultat similaire pour des pores insérés dans des bicouches de  $C_{12}EO_5$ .

La décroissance de l'amplitude d'interaction avec la concentration des pores est cohérente avec le modèle de l'adaptation hydrophobe, qui implique une augmentation en épaisseur de la bicouche (déjà mise en évidence pour le système gramicidine/DLPC [54]) ; cet épaississement aide à « accommoder » le peptide et réduit l'amplitude de l'in-



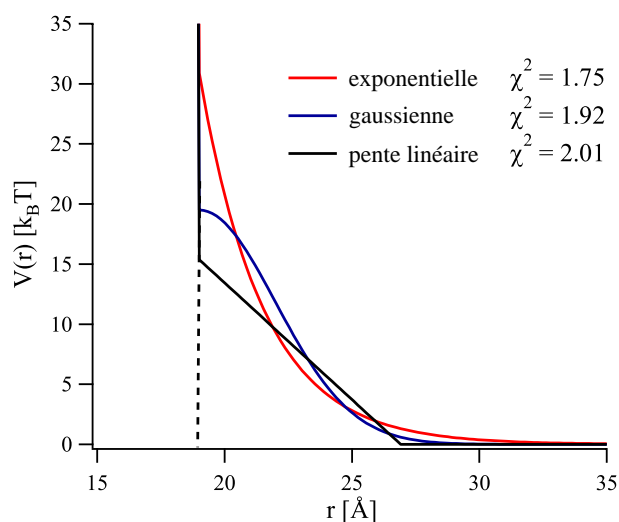


FIGURE 7.9 – Les meilleurs potentiels d’interaction  $V(r)$  pour chaque type de modèle. Les valeurs correspondantes de  $\chi^2$  sont affichées.

teraction. Nous trouvons une portée de l’interaction de l’ordre de  $2.5 \text{ \AA}$ , bien en-dessous de la valeur prédite par des modèles d’élasticité continue [5, 55] mais proche de la longueur caractéristique prédite par des modèles plus microscopiques [41]. Néanmoins, vu que l’amplitude de l’interaction est très élevée, la portée de l’interaction –définie intuitivement comme la distance à laquelle les pores « se voient » s’étend sur plusieurs longueurs de décroissance  $\xi$ ; voir l’appendice 7.6 pour une comparaison détaillée.

Une conséquence intéressante de cette chute de l’interaction avec la concentration des pores est que les facteurs de structure du fluide bi-dimensionnel formé par les pores dans le plan de la membrane changent assez peu en fonction de la concentration (par rapport à une interaction constante). Visuellement, le degré d’« ordre liquide » reste à peu près constant. On pourrait spéculer sur l’importance biologique de cette observation. Par exemple, est-ce que l’activité de la gramicidine requiert un certain degré de corrélation entre les pores ? Nous espérons que des études systématiques de l’interaction dans différentes conditions apporteront une réponse à cette question.

## 7.5 Appendice : traitement des données

Nous avons observé dès le début que l’incertitude (statistique) sur le facteur de structure  $S(q)$ , déterminé par regroupement radial, soustraction du fond et division par le facteur de forme calculé, est beaucoup trop faible par rapport à la discrédance entre les ajustements et les données ; ceci montre l’importance des effets systématiques, qui peuvent apparaître pendant les opérations ci-dessus ou bien être dûs à un mauvais choix des modèles théoriques. Nous utilisons donc pour l’incertitude une valeur plus réaliste,  $\sigma = 0.1$ , la même pour tous les points expérimentaux. La fonction  $\chi^2$ , qui quantifie la qualité de l’ajustement, est alors de l’ordre de 2 (par point expérimental.)

Nous avons essayé plusieurs formes analytiques pour le potentiel d’interaction  $V(r)$  : décroissance exponentielle, gaussienne, et linéaire. Le modèle exponentiel présenté sur la figure 7.7 donne le plus petit  $\chi^2$ . Les meilleurs potentiels obtenus pour chaque type de modèle sont tracés sur la figure 7.9, accompagnés par les valeurs correspondantes de  $\chi^2$ .

Pour le modèle exponentiel nous avons calculé  $\chi^2(U_0, \xi)$  (figure 7.10) pour une large

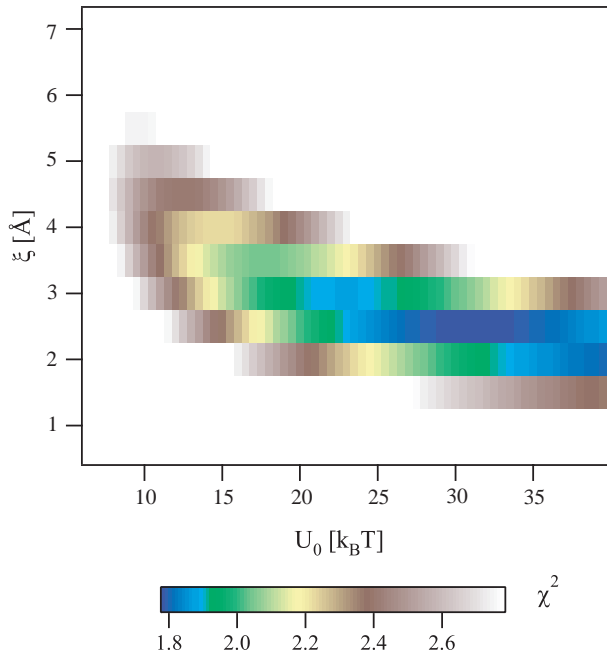


FIGURE 7.10 – Qualité de l'ajustement  $\chi^2$  en fonction des paramètres  $U_0$  et  $\xi$ .

gamme de paramètres, pour s'assurer que l'ajustement trouvé est effectivement un minimum global et pour déterminer les barres d'erreur sur les paramètres. Clairement,  $\xi$  est compris dans  $2.5 \pm 0.5 \text{ \AA}$ . D'autre part, l'amplitude d'interaction est beaucoup moins bien définie ; nous estimons  $U_0 = 31.5 \pm 10 k_B T$ .

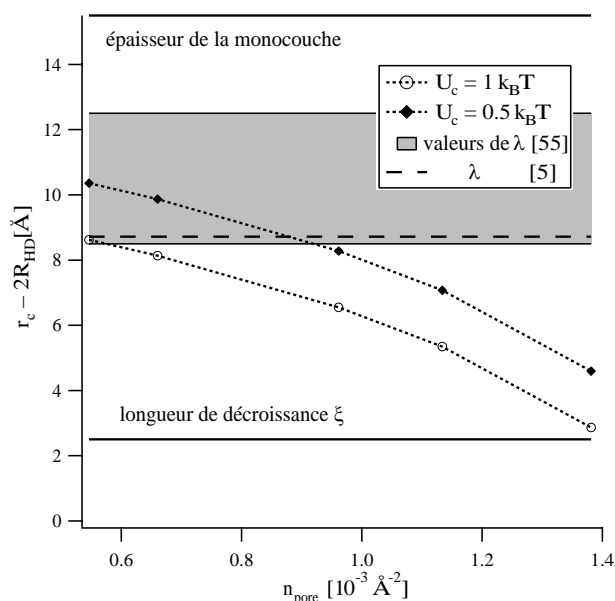
## 7.6 Comparaison de la portée de l'interaction

Comme nous l'avons déjà mentionné dans la Conclusion, le paramètre  $\xi$  n'a pas de signification physique indépendante, puisque l'amplitude d'interaction peut rester considérable à une distance de plusieurs longueurs de décroissance. Ceci représente un obstacle à la comparaison des différents modèles théoriques, entre eux et avec les données expérimentales, tant qu'ils ne peuvent pas être décrits par une forme fonctionnelle commune. Une autre possibilité –moins précise– est de postuler une amplitude limite et de définir la portée de l'interaction comme la séparation entre pores au-delà de laquelle l'interaction passe en-dessous de ce seuil. Nous avons fait cette analyse pour notre modèle avec deux valeurs limites,  $U_c = 0.5$  et  $1 k_B T$ . Les portées  $r_c$  qui en résultent sont montrées sur la figure (symboles et traits pointillés). Pour comparaison, nous traçons aussi la longueur de décroissance  $\xi$  en trait plein.

Dans des modèles d'élasticité continue, la longueur caractéristique de la déformation est  $\lambda = \left(\frac{hK}{4B}\right)^{1/4}$  [55], avec  $K$  et  $B$  respectivement le module de courbure et de compression de la bicouche. Ces auteurs concluent que le comportement de la gramicidine dans des bicouches de DMPC est bien décrit par une valeur  $8.5 \leq \lambda \leq 12.5 \text{ \AA}$  (marquée en gris sur la figure 7.6). Nous avons reporté sur le même graphe (en trait tireté) la longueur caractéristique utilisée par Aranda-Espinoza et al. [5] (correspondant à une valeur  $\beta = 10$  dans leurs paramètres). Clairement, ces valeurs sont bien plus élevées que notre valeur de la longueur de décroissance,  $\xi = 2.5 \text{ \AA}$ , avec  $\lambda/\xi$  entre 3 et 5.

Pour comparer la portée effective de l'interaction, on devrait pouvoir estimer les am-

FIGURE 7.11 – Echelles de longueur pertinentes pour l'interaction : la longueur de décroissance  $\xi$  mesurée dans ce travail et l'épaisseur de la monocouche (les deux montrées en trait plein), les portées  $r_c$  pour deux amplitudes limites,  $U_c = 0.5$  et  $1 k_B T$  (symboles et traits pointillés) et les valeurs de la longueur caractéristique  $\lambda$ , donnée par [55] (en gris) et estimée à partir des résultats de [5] (en trait tireté).



plitudes limites pour les résultats théoriques. Même si cette valeur n'est pas présentée explicitement dans les références citées, il semble néanmoins que l'interaction s'étend sur au moins l'épaisseur d'une monocouche (trait plein en haut de la figure 7.6), valeur qui est également invoquée comme étant l'échelle de longueur dominante dans la référence [28]. Cette longueur est plus élevée que nos estimations de la portée  $r_c$ , mais la discrétion est moins marquée qu'entre  $\lambda$  et  $\xi$ .

## Remerciements

Nous remercions l'ESRF pour la mise à disposition du temps de faisceau (expérience 02-01-732) et en particulier C. Rochas pour son soutien technique. Nous remercions B. deGroot pour la mise à disposition des coordonnées atomiques du pore de gramicidine et un rapporteur anonyme pour avoir suggéré l'analyse présentée dans l'appendice 7.6.

## CHAPITRE 8

# Particules hybrides

Ce chapitre est adapté de l'article [Constantin *et al.*, 2008] :

CONSTANTIN, D., PANSU, B., IMPÉROTOR, M. ET DAVIDSON, P. (2008). Repulsion Between Inorganic Particles Inserted Within Surfactant Bilayers. *Physical Review Letters*, 101 :098101.

Nous étudions par la diffusion aux petits angles des rayons X des échantillons très bien alignés de phases lamellaires d'un tensioactif zwitterionique, dopées avec des particules hydrophobes inorganiques, sphériques et monodisperses, en fonction de la concentration en particules. L'analyse du facteur de structure du fluide bi-dimensionnel formé par les particules dans le plan des couches donne accès à leur interaction transmise par la membrane ; cette interaction est répulsive, avec une valeur au contact d'environ  $4 k_B T$  et une portée de 14 Å. L'application systématique de cette technique devrait mener à une meilleure compréhension de l'interaction entre inclusions membranaires.

## 8.1 Introduction

Comme discuté dans le chapitre 5, la mesure des interactions transmises par la membrane entre protéines est rendue difficile, entre autres, par le faible pouvoir diffusant de ces dernières et, dans la plupart des cas, par la difficulté de les obtenir en quantité suffisante. Il y a donc une raison pratique (mais aussi un intérêt fondamental) pour savoir si d'autres particules –peut-être mieux adaptées à ce type d'études– peuvent être insérées dans les membranes.

Dans ce chapitre, nous montrons qu'on peut doper des bicouches auto-assemblées avec des quantités significatives de nano-objets hybrides (électriquement neutres et hydrophobes) et que ces particules peuvent être utilisées pour mesurer de manière fiable l'interaction transmise par la membrane. Elles présentent des avantages substantiels par rapport aux bio-molécules : elles sont « rigides » (ont une configuration atomique fixe) et parfaitement monodisperses, ce qui fait qu'elles imposent à la membrane une déformation bien définie, alors que les protéines membranaires peuvent avoir plusieurs conformations ; leur pouvoir diffusant est élevé (dû à la présence d'atomes métalliques) ; leurs propriétés de surface peuvent être modulées en changeant la nature des ligands. Conceptuellement, ces inclusions sont aussi plus faciles à modéliser, puisqu'elles ne franchissent pas la surface de la monocouche ; il n'y a donc pas de ligne de contact, sur laquelle le choix de la condition limite est très délicat [55].

Cette approche peut aider à élucider des questions fondamentales, par exemple : Est-ce qu'un modèle continu peut fournir une description satisfaisante de la membrane et, si oui, jusqu'à quelle échelle de longueur ? Quels sont les paramètres pertinents et comment peut-on les mesurer ? Quelles sont les particularités des bicouches mixtes,

en particulier en ce qui concerne les membranes de lipides contenant du cholestérol (micro-séparation de phase, formation de « lipid rafts » etc.)? A long terme, des études systématiques dans cette direction devraient fournir une image plus claire des membranes en tant que fluides complexes à deux dimensions.

## 8.2 Matériaux et méthodes

Les nano-particules utilisées dans cette étude sont des agrégats d'oxyde d'étain fonctionnalisés par des chaînes butyl  $\{(BuSn)_{12}O_{14}(OH)_6\}^{2+}(4-CH_3C_6H_4SO_3^-)_2$  et dénotées par BuSn12 dans la suite. Elles ont été synthétisées et caractérisées selon les procédures décrites dans la référence [39] (pour leur structure, voir la figure 1 dans cette référence). Elles ont été dissoutes dans de l'éthanol à une concentration de 23.47 wt.%.

Le tensioactif zwitterionique, du diméthylododécylamine-N-oxyde (DDAO) a été fourni par Sigma-Aldrich et séché sous vide pendant 20 heures. Nous n'avons pu détecter aucune perte de poids pendant cette étape et avons donc conclu que le produit était sec à réception (voir [70] pour une discussion détaillée). Le DDAO a ensuite été dissout dans de l'isopropanol à une concentration de 23.02 wt.%.

Nous avons mélangé les solutions de BuSn12 et DDAO de façon à obtenir différentes concentrations en particules, et ensuite séché les mélanges sous vide ; la masse finale de produit sec était d'environ 200 mg pour chaque mélange. Nous avons rajouté de l'eau à une concentration de 15–27 wt.% dans la masse finale des échantillons, qui se trouvent ainsi dans la phase lamellaire fluide  $L_\alpha$  (voir le diagramme de phase du système non-dopé dans [70]). La masse molaire du DDAO est de 229.40 (Sigma-Aldrich), sa densité est de  $0.84 \text{ g/cm}^3$  et l'épaisseur de la bicouche de  $25 \pm 1 \text{ \AA}$  [109, 156], donnant une aire par molécule de tensioactif  $A_{DDAO} = 37.8 \text{ \AA}^2$ . Pour les particules de BuSn12, nous considérons une masse molaire de 2866.7 et une densité de  $1.93 \text{ g/cm}^3$  [39]. Avec ces valeurs, et en négligeant l'éventuelle augmentation de l'aire de la bicouche due à l'insertion des particules, nous obtenons la densité numérique (à deux dimensions) de particules dans le plan de la membrane,  $n$ .

Les échantillons ont été préparés dans des capillaires plats en verre (VitroCom Inc., Mt. Lks, N.J., USA), avec une épaisseur de  $100 \mu\text{m}$  et une largeur de 2 mm, par aspiration avec une seringue. Les capillaires ont ensuite été scellés à la flamme. Nous avons obtenu un bon alignement homeotrope (avec les lamelles parallèles aux faces du capillaire) par traitement thermique, utilisant une platine chauffante Mettler FP52. Les échantillons ont été chauffés dans la phase isotrope (à  $130 \text{ }^\circ\text{C}$ ) et ensuite refroidis lentement jusqu'à l'ambiante (dans la phase lamellaire) à une vitesse de  $1 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

Les expériences SAXS ont été menées à l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France) sur la ligne BM02 (D2AM), les photons ayant une énergie de 11 keV. Voir la référence [138] pour plus de détails sur le montage. Les clichés ont été pris à l'aide d'une caméra CCD refroidie par un élément Peltier (SCX90-1300, de chez Princeton Instruments Inc., New Jersey, USA) avec une résolution de  $1340 \times 1300$  pixels. Le traitement préliminaire des données (soustraction du bruit électronique, correction géométrique, regroupement radial et normalisation) a été fait à l'aide du programme `bm2img`, développé sur la ligne.

Le faisceau incident était perpendiculaire aux faces du capillaire (et donc parallèle au directeur smectique, qui définit l'axe  $z$ .) Ainsi, le vecteur de diffusion  $\mathbf{q}$  est essentiel-

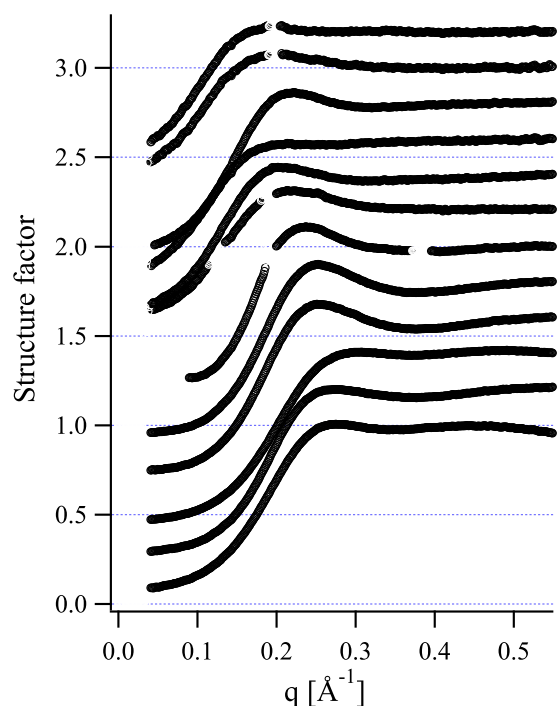


FIGURE 8.1 – Facteurs de structure  $S(q)$  du fluide 2D formé par les particules de BuSn12 dans le plan des membranes, pour différentes concentrations, de haut en bas :  $n = 0.217, 0.231, 0.429, 0.434, 0.451, 0.584, 0.801, 1.102, 1.275, 1.976, 2.147,$  et  $2.304 \cdot 10^{-3} \text{Å}^{-2}$ . Les courbes sont décalées verticalement par pas de 0.2. Les lacunes dans les courbes correspondent à la présence de (faibles) pics lamellaires, causés par des défauts d’alignement, prenant en général la forme de stries huileuses.

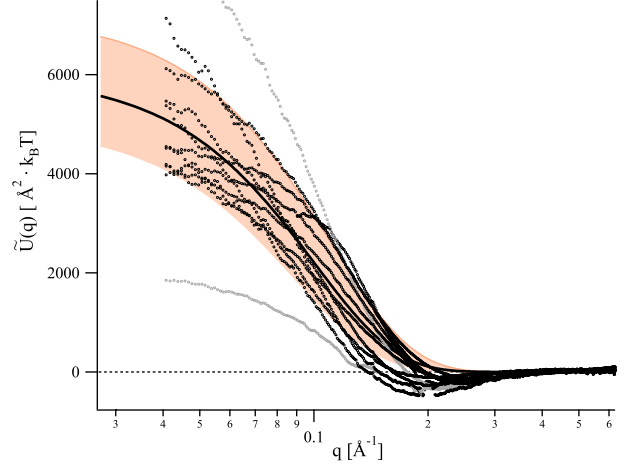
lement contenu dans le plan  $(x, y)$  des couches, et le signal diffusé qu’on mesure  $I(\mathbf{q})$  sonde les inhomogénéités de la densité électronique dans ce plan. Puisque la bicouche constitue un liquide à deux dimensions, les clichés SAXS présentent une symétrie azimutale :  $I = I(q = |\mathbf{q}|)$ . Nous avons aussi mesuré l’intensité diffusée par deux solutions de BuSn12 dans de l’éthanol, dans le même type de capillaire. La gamme accessible en vecteur de diffusion est :  $0.04 < q < 0.9 \text{Å}^{-1}$ .

Puisque la densité électronique des chaînes butyl est similaire à celle des chaînes dodécyl à l’intérieur de la bicouche et à celle de l’éthanol, nous nous attendons à ce que le contraste électronique des particules soit donné principalement par leur cœur inorganique, qui a une forme légèrement ovale, avec un rayon moyen de  $4.5 \text{Å}$ . Effectivement, l’intensité détectée à haut vecteur de diffusion ( $q > 0.5 \text{Å}^{-1}$ ) est bien décrite pour tous les échantillons par le facteur de forme d’une sphère  $|Ff(R, q)|^2$ , avec un rayon de  $R = 4.5 \pm 0.2 \text{Å}$  que nous avons utilisé comme paramètre d’ajustement. L’interaction entre particules est quantifiée par le facteur de structure, défini comme  $S(q) = I(q)/|Ff(R, q)|^2$  [20]. Les facteurs de structure ainsi obtenus sont montrés dans la figure 8.1 pour toutes les concentrations dans le plan de la membrane, les valeurs étant énumérées dans la légende de la figure.

### 8.3 Résultats

L’interaction supplémentaire est traitée comme une perturbation par rapport au cœur dur (modélisé par un disque dans la membrane et par une sphère en solution) ; cette perturbation est prise en compte dans le cadre de l’approximation de phase aléatoire (RPA) [3], selon laquelle la fonction de corrélation directe du système perturbé  $c(r)$  est reliée à celle du système de référence  $c_{\text{ref}}(r)$  par :  $c(r) = c_{\text{ref}}(r) - \beta U(r)$  [53] ou, de

FIGURE 8.2 – La transformée de Fourier du potentiel d'interaction,  $\tilde{U}(q)$ , (cercles) obtenue à partir des facteurs de structure présentés dans la figure 8.1 dans l'approximation RPA (8.1). La ligne continue représente le modèle gaussien. La zone en gris est choisie de manière à couvrir la plupart des points expérimentaux; elle est également délimitée par deux gaussiennes (voir le texte pour plus de détails). Les points expérimentaux se trouvant bien au-dessus et bien en-dessous du domaine en gris correspondent à  $n = 0.429$  et  $0.584 \cdot 10^{-3} \text{Å}^{-2}$ , respectivement (troisième et sixième courbe à partir du haut sur la figure 8.1).



manière équivalente :

$$n\beta\tilde{U}(q) = S^{-1}(q) - S_{\text{ref}}^{-1}(q) \quad (8.1)$$

avec  $\beta = (k_B T)^{-1}$ .

A trois dimensions, le facteur de structure de référence  $S_{\text{ref}}^{3D}$  pour les particules de BuSn12 dissoutes dans l'éthanol est celui d'une interaction du type « sphères dures » (traitée dans le cadre de l'approche de Percus-Yevick [157, 148]) avec un rayon de coeur dur de 4.5 Å ; la densité numérique de particules  $n_{3D}$  (à trois dimensions) est déterminée à partir de la concentration en masse des solutions.

A deux dimensions, une forme analytique pour le facteur de structure  $S_{\text{ref}}^{2D}$  de disques durs a été donnée par Rosenfeld [124] ; nous utilisons le même rayon de coeur 4.5 Å que précédemment. La transformée de Fourier du potentiel d'interaction,  $\tilde{U}(q)$ , obtenue en appliquant la relation (8.1) aux données dans la figure 8.1, est montrée dans la figure 8.2 pour toutes les concentrations. Pour rendre les calculs plus faciles, dans les deux cas envisagés (à deux et à trois dimensions) nous décrivons l'interaction  $U(r)$  par une gaussienne centrée à l'origine, avec une amplitude  $U_0$  et une portée  $\xi$  :

$$U(r) = U_0 \exp\left[-(r/\xi)^2/2\right] \quad (8.2)$$

avec  $\tilde{U}(q)$  la transformée de Fourier de  $U(r)$ , donnée par :

$$\tilde{U}(q) = \begin{cases} 2\pi U_0 \xi^2 \exp\left[-(q\xi)^2/2\right] & \text{à 2D} \\ (2\pi)^{3/2} U_0 \xi^3 \exp\left[-(q\xi)^2/2\right] & \text{à 3D} \end{cases} \quad (8.3)$$

A l'exception de deux courbes (pour  $n = 0.429$  et  $0.584 \cdot 10^{-3} \text{Å}^{-2}$ ) qui sont respectivement trop haute et trop basse, tous les points expérimentaux sont bien couverts par la zone grisée sur la figure 8.2, délimitée par deux gaussiennes (le cas 2D dans l'équation 8.3), avec  $U_0 = 3.22 k_B T$  et  $\xi = 15.71 \text{Å}$  pour la limite basse et  $U_0 = 6.93 k_B T$ ,  $\xi = 12.86 \text{Å}$  pour la limite haute. La ligne continue, qui représente à peu près la médiane de la zone grisée, correspond à  $U_0 = 4.75 k_B T$  and  $\xi = 14.14 \text{Å}$ . Les valeurs apparemment

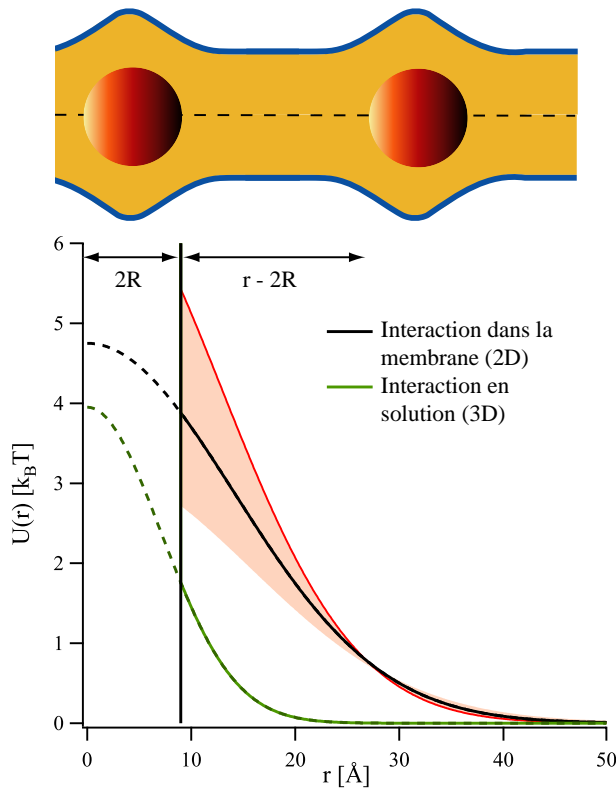


FIGURE 8.3 – Potentiel d’interaction  $U(r)$  des particules de BuSn12 à l’intérieur des bicouches, obtenu en prenant la transformée de Fourier inverse de la ligne en trait plein et de la zone grisée sur la figure 8.2 (voir le texte pour les valeurs numériques). La courbe du bas représente le potentiel d’interaction des particules dans de l’éthanol. Le trait épais vertical marque le coeur dur, avec un rayon de  $4.5 \text{ \AA}$

négatives de  $\tilde{U}(q)$  autour de  $q = 0.2 \text{ \AA}^{-1}$  dans la figure 8.2 sont probablement dues au pic plus accentué de  $S(q)$  par rapport au potentiel de référence à cause de l’interaction répulsive ; cet effet n’est pas bien décrit par le simple traitement en RPA.

Les potentiels d’interaction  $U(r)$  (dans l’espace réel) correspondant aux valeurs ci-dessus pour  $U_0$  et  $\xi$  sont tracés sur la figure 8.3, en utilisant la même convention de représentation. Ainsi, la ligne en trait plein est la meilleure estimation pour l’interaction et la zone grisée est l’incertitude donnée par la dispersion des points sur la figure 8.2. Bien sûr, pour  $r < 2R = 9 \text{ \AA}$  la répulsion est due au coeur dur (trait épais vertical).

Pour s’assurer que l’interaction est effectivement induite par la membrane, nous traçons également le potentiel de répulsion mesuré pour des particules de BuSn12 dans de l’éthanol (courbe du bas sur la figure 8.3) ; son amplitude et portée sont clairement en-dessous des valeurs correspondant à l’interaction dans la membrane (pour référence,  $U_0 = 4 k_B T$  et  $\xi = 7 \text{ \AA}$ ). Cette répulsion est probablement due aux chaînes butyl greffées sur le coeur inorganique.

Le résultat principal de ce travail est donc que l’interaction (à deux dimensions) entre des particules de BuSn12 insérées dans des bicouches de DDAO peut être décrite par un potentiel de la forme (8.2), avec  $U_0 = 5 \pm 1 k_B T$  et  $\xi = 14 \pm 1 \text{ \AA}$ . Plus loin, nous discuterons brièvement les différentes prédictions théoriques, mais nous ne pouvons pas réaliser une comparaison directe, car celles-ci considèrent en général des inclusions cylindriques qui traversent la membrane, plutôt que des inclusions sphériques couvertes par les monocouches.



## 8.4 Discussion

L'approche la plus simple est de modéliser la membrane par un milieu continu et d'écrire l'énergie libre du système bicouche+inclusions en termes de déformation élastique, décrite par l'hamiltonien d'Helfrich [60], les propriétés moléculaires de la bicouche étant « absorbées » dans des paramètres mésoscopiques, tels les modules de courbure et d'étirement et la courbure spontanée de la monocouche. Une étude systématique dans cette direction a été menée par le groupe de Pincus [28, 27, 5]. Leurs résultats soulignent l'importance de la courbure spontanée de la monocouche  $c_0$  : l'interaction est attractive quand  $c_0$  s'annule (l'énergie élastique est minimisée par l'agrégation des inclusions) mais peut devenir répulsive lorsque la déformation induite par l'inclusion est telle que la courbure des monocouches individuelles a le signe de  $c_0$ . Dans notre cas, ceci impliquerait que les monocouches de DDAO aient  $c_0 > 0$  (convexes du côté des têtes, voir l'illustration sur la figure 8.3)

Néanmoins, les inclusions perturbent aussi la structure intime de la membrane en limitant la conformation des chaînes de lipides dans leur voisinage [92, 41, 142, 96], ce qui peut induire une interaction significative, même en l'absence de déformation de la bicouche « à grande échelle ». En particulier, Lagüe et al. [79, 80] ont trouvé que des cylindres rigides et « lisses » (sans décalage hydrophobe) se repoussent quand ils sont insérés dans des bicouches formées par certains lipides ; l'amplitude et la portée de cette interaction sont en accord qualitatif avec nos résultats (pour des cylindres avec un rayon de 5 Å dans des bicouches de DOPC, l'interaction répulsive transmise par la membrane atteint un maximum de  $7 k_B T$  et s'étend 20 Å à partir du contact.) Néanmoins, l'interaction dépend beaucoup de la nature du lipide, donc il serait difficile de réaliser une comparaison pertinente avec les données disponibles.

Plus récemment, des auteurs [94, 13] ont tenté de prendre en compte les deux effets (l'énergie élastique de déformation et les restrictions sur la conformation des chaînes) dans le cadre d'un modèle étendu, incluant comme variables à la fois la variation d'épaisseur de la membrane et l'inclinaison locale des molécules. Leur couplage lève la symétrie entre les valeurs positives et négatives de la courbure spontanée et on obtient de la répulsion seulement pour le cas  $c_0 > 0$ , combiné avec un décalage hydrophobe négatif (« pincement » de la bicouche.) A première vue, cette prédiction semble contredire nos résultats expérimentaux, mais la différence entre les configurations géométriques peut jouer un rôle important : dans notre cas, on s'attend à ce que les particules soient recouvertes de deux calottes sphériques de monocouche, à courbure positive (et donc énergétiquement favorable), alors que les calculs de [13] considèrent les inclusions comme des cylindres verticaux. Une comparaison avec un calcul mené dans des conditions plus réalistes devrait être très intéressante.

## 8.5 Conclusion

Nous avons montré que des nano-objets peuvent être utilisés pour sonder les propriétés de bicouches auto-assemblées ; réciproquement, on peut envisager l'utilisation de phases ordonnées de tensioactifs (qui combinent un haut degré d'ordre avec une bonne fluidité et d'excellentes propriétés de mouillage) pour organiser et aligner de tels objets en vue d'applications.

**Remerciements**

Nous remercions l'ESRF pour la mise à disposition du temps de faisceau (expérience 02-01-732) ainsi que C. Rochas pour son soutien compétent et enthousiaste. Nous remercions A. Dessombz et A. Poulos pour leur aide lors des expériences au synchrotron.



# Conclusion et perspectives

## 9.1 Conclusions

Les résultats les plus notables que j'ai obtenus (dans le domaine des phases lamellaires dopées mais aussi dans celui de la dynamique des phases colloïdales) sont les suivants :

1. La formulation et l'étude structurale d'une phase hybride combinant deux types d'ordre, à savoir l'ordre lamellaire imposé par des bicouches de tensioactif et l'ordre nématique (dans le plan des couches) de bâtonnets d'oxyde de fer confinés entre les bicouches [Constantin *et al.*, 2010a].
2. La mesure du potentiel d'interaction entre inclusions membranaires, pour plusieurs systèmes : des polypeptides antimicrobiens, voir [Constantin *et al.*, 2007] et [Constantin, 2009] ainsi que des particules hybrides à coeur inorganique, voir [Constantin *et al.*, 2008] et [Constantin, 2010].
3. La mesure du coefficient de diffusion  $D(q)$  dépendant de l'échelle spatiale dans un nématique lyotrope. Nous avons pu mettre en évidence un fort ralentissement, qui s'installe pour des échelles plus larges que la distance entre particules [Poulos *et al.*, 2010b].

Pour ce qui est du premier point, il est possible que des phases à ordre mixte nématique/lamellaire aient déjà été obtenues dans les mélanges ADN/lipides discutés au chapitre 2, mais dans ce cas l'identification de l'ordre des chaînes d'ADN dans le plan des couches est faite à partir de la forme du pic de corrélation, moyenné sur toutes les orientations. La seule référence que j'ai pu trouver dans la littérature où l'on parle d'ordre nématique est l'étude faite par T. Pott et ses collaborateurs sur des phases de lipides nonioniques [118] (dans la première publication à ce sujet [131], les auteurs identifient un smectique à deux dimensions). J'estime que la référence [Constantin *et al.*, 2010a] est la première où l'on met en évidence de manière claire et non-ambiguë la coexistence des deux types d'ordre (nématique et lamellaire).

Le deuxième résultat représente la première détermination du potentiel d'interaction entre les inclusions par des techniques de diffusion du rayonnement. Les seules estimations antérieures ont été obtenues par cryofracture dans les années 70-80, voir la discussion dans la section 5.2.2.

Quant au troisième point, il s'agit de la première mesure du coefficient de diffusion collective d'un nématique sur l'échelle des particules constituantes et, par conséquent, de la première mise en évidence du ralentissement cité. L'étude ayant été faite sur une mésophase colloïdale, il n'est pas clair si ce phénomène pourrait aussi être détecté dans un nématique thermotrope plus « classique ».

## 9.2 Perspectives

### 9.2.1 Systèmes hybrides

#### L'obtention de matériaux solides

Au-delà des questions fondamentales qu'on peut se poser sur les phases dopées avec des inclusions hydrophiles, il y a évidemment la perspective de s'en servir comme échafaudage pour la synthèse « bottom-up » de matériaux nano-structurés. On peut envisager différentes stratégies pour passer de l'état généralement très fluide des phases initiales à une consistance solide, en fonction de la composition chimique et des propriétés finales désirées :

- La polymérisation des tensioactifs qui forment la matrice. Cette approche présente l'avantage de minimiser la perturbation de la phase initiale, mais requiert des tensioactifs fonctionnalisés avec des groupements polymérisables. Une collaboration est en cours avec Patrick Judeinstein de l'ICMMO, Orsay.
- La condensation dans la matrice d'un précurseur inorganique hydrophile (par exemple du TEOS pour obtenir de la silice) est une technique standard pour l'obtention de matériaux mésoporeux. Il est donc logique de l'appliquer aux phases dopées. De manière similaire, on peut envisager de polymériser (sous l'action de la température ou du rayonnement UV) un monomère hydrophile introduit dès la formulation de la phase initiale (collaboration avec Corinne Chanéac et Laurence Rozes, LCMCP, Paris).

#### La mesure de la dynamique des inclusions

Pour comprendre de manière détaillée les systèmes hybrides il faut déterminer la dynamique (individuelle et couplée) des inclusions. Ceci nous fournira des renseignements sur la structure intime de la phase (par exemple, sur le degré d'association entre les particules et les agrégats de tensioactif) mais aussi sur des propriétés qui peuvent être utiles en vue des applications (comme la conductivité) ainsi que sur les cinétiques de « solidification » (voir ci-dessus). Une technique très adaptée à ce type d'études est la RMN à gradient de champ, que nous avons déjà utilisée [Poulos *et al.*, 2010a]. Des collaborations sont en cours avec Patrick Judeinstein (ICMMO, Orsay) et François Ribot (LCMCP, Paris).

### 9.2.2 Inclusions membranaires

#### L'interprétation du potentiel d'interaction entre inclusions membranaires

Une fois la faisabilité de la technique démontrée, il faut bien évidemment effectuer une mesure systématique du potentiel d'interaction entre inclusions en fonction des paramètres pertinents : composition, épaisseur et constantes élastiques de la bicouche, température, taille et caractéristiques chimiques des inclusions, etc. Ce travail expérimental doit pourtant être suivi par (ou, mieux encore, mené en parallèle avec) une interprétation des résultats par un modèle suffisamment général pour rendre compte des variations observées.

## L'étude du signal des chaînes de lipides

Les inclusions peuvent servir de sondes de la membrane, vue comme un fluide complexe à deux dimensions. Leur signal, détecté par diffusion des rayons X aux petits angles, nous renseigne sur leur interaction « moyennée » transmise par la membrane. Mais on peut également détecter un signal provenant des chaînes de lipides, à plus grands angles (correspondant à une distance typique d'environ 4 Å), qui contient une information plus directe sur l'influence des inclusion sur les chaînes qui les entourent. Plus spécifiquement, ce signal est une mesure de l'ordre *positionnel* des chaînes ; il est donc très complémentaire aux mesures de RMN, qui donnent accès à l'ordre *orientationnel* des chaînes ou bien à la diffusivité des molécules de lipides.

Le signal des chaînes a déjà été mesuré pour des bicouches lipidiques (surtout dans le contexte de la transition liquide/gel et pour mettre en évidence des domaines de phase « liquide ordonné ») mais il existe très peu de résultats sur des membranes dopées, et d'autant moins à forte concentration d'inclusions. En tout état de cause, à l'exception de quelques tentatives phénoménologiques il n'existe pas (à notre connaissance) de théorie rigoureuse du pic des chaînes, même dans des bicouches homogènes à une seule composante.

J'envisage de mener cette étude sur des bicouches de DLPC et DMPC dopées à la gramicidine ; j'ai déjà mesuré le pic des chaînes en fonction de la concentration et de la température. Il faudra ensuite effectuer des mesures de paramètre d'ordre par RMN (collaboration avec Dror Warschawski, IBPC, Paris) et interpréter tous les résultats dans le cadre d'un modèle compréhensif qui prenne en compte les interactions entre chaînes mais aussi avec les peptides.

## Vers des systèmes plus complexes : les protéines membranaires

Les peptides antimicrobiens sont très utiles en tant qu'archétypes des inclusions (voir la section 7.1), grâce entre autres à leur structure relativement simple et compacte, mais l'enjeu final de cette étude sont bien sûr les protéines membranaires !

A cette fin, j'ai commencé une collaboration avec F. Monroy et M. Vicente (de l'Université de Complutense, Madrid) dans le but de comprendre la configuration et l'interaction de la protéine ZipA (qui se trouve dans la membrane interne de *E. Coli*).

### 9.2.3 Dynamique des systèmes colloïdaux

#### L'application de la XPCS à des systèmes vitreux

Ayant caractérisé par XPCS des phases ordonnées, ce qui m'a donné une certaine expérience de la technique, je voudrais élargir la gamme des systèmes étudiés. Puisque la XPCS trouve toute son utilité dans l'étude de matériaux opaques, structurés à la nano-échelle et avec une dynamique lente, j'envisage de caractériser des élastomères chargés (collaboration avec Paul Sotta de Rhodia et Pierre-Antoine Albouy du LPS, Orsay).



## ANNEXE A

# Théories des liquides

Ce chapitre ne fait que résumer les concepts et les résultats indispensables pour suivre l'analyse des données expérimentales présentées plus haut. Pour une introduction détaillée à la théorie des liquides on pourra se reporter aux nombreux livres et articles de revue [8, 21, 53].

## A.1 Définitions

Nous considérons un système de  $N$  particules identiques dans le volume  $V$  (en  $D$  dimensions), à la température  $T$ . Chaque particule  $i$  est repérée par son rayon vecteur  $\mathbf{r}_i$ ; sauf en A.4.1, les particules interagissent par le potentiel *isotrope*  $u_{ij} = u(|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|) = u(r)$ . On dénote par  $P$  la pression. Il est utile de définir :

- $\rho = \frac{N}{V}$  la densité numérique.
- $f(r) = e^{-\frac{u(r)}{k_B T}} - 1$  la fonction  $f$  de Mayer, qui a la même portée que le potentiel  $u(r)$  ( $u(r) = 0 \Rightarrow f(r) = 0$ ). Cette fonction représente une mesure du « volume exclu » par la particule ; par exemple, pour une interaction de type sphères dures avec un rayon  $R$ ,  $f(r) = -1$  pour  $r < 2R$ , c'est-à-dire pour les configurations interdites.
- $\frac{P}{\rho k_B T} = 1 + \rho B_2(T) + \rho^2 B_3(T) + \dots$  l'équation d'état, avec  $B_i$  les coefficients du viriel.

### A.1.1 Fonction de distribution radiale

Pour décrire la structure du système à l'échelle microscopique (sur des distances de l'ordre de la taille des particules ou de la portée du potentiel  $u(r)$ ) il est utile de définir la *fonction de distribution radiale*  $g(r)$ , qui représente la probabilité de trouver une particule à la distance  $r$  d'une particule de référence se trouvant en l'origine. Autrement dit,  $\rho g(r)$  est la densité locale autour de la particule de référence et quantifie l'effet de celle-ci sur les particules voisines. A grande distance, la densité retrouve sa valeur moyenne  $\rho$ , et donc la fonction de distribution radiale tend vers 1. Cette fonction contient toute l'information microscopique<sup>1</sup> : on peut dire que le problème fondamental de la théorie des liquides est de déterminer  $g(r)$ , connaissant  $u(r)$  et  $\rho$ .

---

1. Par conséquent, elle contient aussi la thermodynamique du système ; en particulier, l'équation d'état s'écrit  $\frac{P}{\rho k_B T} = 1 - \frac{\rho}{6k_B T} \int_V r \frac{du(r)}{dr} g(r) d^D r$



Trouvons une forme explicite pour  $g(\mathbf{r})$  (on revient au cas le plus général –où  $g$  dépend du vecteur  $\mathbf{r}$ , et non seulement de sa valeur absolue– simplement pour éviter les intégrales radiales). Prenant la particule 0 comme fixée en  $\mathbf{r}_0$ ,  $\rho g(\mathbf{r}) d^D \mathbf{r} = dn(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)$  est le nombre de particules (parmi les  $N - 1$  restantes) se trouvant dans le volume  $d^D \mathbf{r}$  placé en  $\mathbf{r}$  par rapport à la particule de référence. On peut compter ces particules formellement en écrivant :

$$dn(\mathbf{r}) = \left\langle \sum_{i \neq 0} \delta[\mathbf{r} - (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_0)] \right\rangle d^D \mathbf{r}$$

et on obtient :

$$g(\mathbf{r}) = \frac{1}{\rho} \left\langle \sum_{i \neq 0} \delta[\mathbf{r} - (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_0)] \right\rangle = V \frac{N-1}{N} \langle \delta[\mathbf{r} - (\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_0)] \rangle \quad (\text{A.1})$$

où la deuxième étape dérive de l'équivalence entre les particules  $1, \dots, N - 1$ .

La fonction de distribution radiale est indirectement accessible par des techniques de diffusion du rayonnement, qui donnent accès au *facteur de structure statique*  $S(\mathbf{q})$ , proportionnel à l'intensité diffusée au point  $\mathbf{q}$  de l'espace réciproque :

$$\begin{aligned} S(\mathbf{q}) &= \frac{1}{N} \left\langle \sum_{ij} e^{-i\mathbf{q}(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j)} \right\rangle = 1 + \frac{1}{N} \left\langle \sum_{i \neq j} e^{-i\mathbf{q}(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j)} \right\rangle \\ &= 1 + \frac{1}{N} \left\langle \int_V d^D \mathbf{r} e^{-i\mathbf{q}\mathbf{r}} \sum_{i \neq j} \delta[\mathbf{r} - (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j)] \right\rangle \\ &= 1 + \frac{N(N-1)}{N} \int_V d^D \mathbf{r} e^{-i\mathbf{q}\mathbf{r}} \langle \delta[\mathbf{r} - (\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_0)] \rangle = 1 + \rho \int d^D \mathbf{r} e^{-i\mathbf{r}\mathbf{q}} g(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

en exploitant à nouveau l'équivalence entre les particules.

Le facteur de structure est donc tout simplement la transformée de Fourier (au sens des distributions) de la fonction de distribution radiale. La difficulté provient du fait que  $\lim_{r \rightarrow \infty} g(r) = 1$ , donnant un pic de Dirac dans  $S(\mathbf{q} = 0)$ . Puisque cette contribution est inaccessible expérimentalement on facilite les calculs en la soustrayant des deux côtés de l'équation (A.2), ce qui nous permet de définir le facteur de structure comme une fonction régulière :

$$S'(\mathbf{q}) = S(\mathbf{q}) - \rho \delta(\mathbf{q}) = 1 + \rho \int d^D \mathbf{r} [g(\mathbf{r}) - 1] e^{-i\mathbf{r}\mathbf{q}} \quad (\text{A.3})$$

Finalement, on redéfinit  $S(\mathbf{q}) \equiv S'(\mathbf{q})$  et on introduit l'isotropie du système.

$$S(q) = 1 + \rho \int d^D \mathbf{r} [g(r) - 1] e^{i\mathbf{r}\mathbf{q}} = 1 + \rho h(q) \quad (\text{A.4})$$

avec  $h(q)$  la transformée de Fourier de  $h(r) = g(r) - 1$ . La fonction  $h(r)$  est souvent appelée *fonction de corrélation totale*. La relation (A.4) est maintenant une transformée de Fourier au sens des fonctions, pourvu que  $h(r)$  soit intégrable, condition remplie dans un liquide, où la portée des corrélations est finie.

Nous avons dérivé la relation (A.4) de manière très succincte, sans expliciter notamment la moyenne d'ensemble  $\langle \cdot \rangle$ . Pour plus de détails on pourra se référer à l'ouvrage [21], section 7.5. D'autre part, on peut obtenir la même relation par le formalisme plus général des fonctions de réponse ([20], section 2.3) en identifiant  $g(r)$  comme une corrélation et  $S(q)$  comme la densité spectrale associée, les deux étant reliées par une transformée de Fourier selon le théorème de Wiener-Khinchine.

A faible densité, on peut montrer que  $g(r) \simeq \exp\left[-\frac{u(r)}{k_B T}\right]$ . De manière heuristique, cette relation peut être vue comme une distribution de Boltzmann des autres particules autour de la particule de référence (qui engendre le potentiel). On peut développer  $g(r)$  en série de puissances ainsi :

$$g(r) = \exp\left[-\frac{u(r)}{k_B T}\right] y(r), \quad \text{avec} \quad y(r) = \sum \rho^n y_n(r). \quad (\text{A.5})$$

On peut aussi poser formellement :

$$g(r) = \exp\left[-\frac{w(r)}{k_B T}\right] \quad (\text{A.6})$$

ce qui définit le *potentiel de force moyenne*  $w(r)$  [69], autrement dit le travail moyen nécessaire pour amener deux particules depuis l'infini jusqu'à une distance  $r$  (voir [21], section 7.3).

## A.2 Equations intégrales

Pour des systèmes concentrés, une approche très fructueuse utilise comme point de départ l'équation d'Ornstein-Zernike, énoncée en 1914 par Leonard Ornstein et Frits Zernike [110]. Elle postule l'existence d'une *fonction de corrélation directe*  $c(r)$ , reliée à la fonction de corrélation totale  $h(r)$  par :

$$h(r) = c(r) + \rho \int c(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|) h(\mathbf{r}') d^D \mathbf{r}' \quad (\text{A.7})$$

De manière purement formelle, cette relation peut être vue comme une définition de la nouvelle fonction  $c(r)$  et ne contient pas d'information physique nouvelle. Ceci est d'autant plus évident si on prend sa transformée de Fourier :

$$h(q) = c(q) + \rho c(q) h(q) \Rightarrow c(q) = \frac{h(q)}{1 + \rho h(q)} \quad (\text{A.8})$$

La formule A.7 sépare l'influence  $h(r)$  exercée par la particule de référence sur celles qui se trouvent à une distance  $r$  en un effet direct  $c(r)$  et un effet indirect  $\gamma(r)$  :

$$\gamma(r) = h(r) - c(r) \quad (\text{A.9})$$

transmis par toutes les autres particules (repérées par  $\mathbf{r}'$ ).

### A.2.1 Relation de Percus-Yevick

Il nous faut une relation supplémentaire entre  $c(r)$  et  $h(r)$  (*relation de fermeture*) pour résoudre le problème. C'est ici que réside l'intérêt de cette approche : en ayant retranché les effets indirects, on peut effectivement considérer que la portée de la corrélation directe  $c(r)$  est plus faible que celle de la corrélation totale  $h(r)$ , et plutôt de l'ordre de la portée du potentiel d'interaction  $u(r)$ .

Pour obtenir cette relation de fermeture, on peut faire l'approximation suivante : tout comme  $g(r)$  est reliée au potentiel de force moyenne  $w(r)$  (A.6), on postule que la fonction de distribution indirecte  $g_{\text{ind}}(r) = g(r) - c(r) = \gamma(r) - 1$  est définie en termes du même potentiel auquel on soustrait l'interaction directe  $u(r)$  :

$$g_{\text{ind}}(r) = \exp \left[ -\frac{w(r) - u(r)}{k_B T} \right] \quad (\text{A.10})$$

ce qui donne finalement la relation de Percus-Yevick :

$$c(r) = g(r) - g_{\text{ind}}(r) = g(r) \left( 1 - \exp \left[ \frac{u(r)}{k_B T} \right] \right) = f(r)y(r) \quad (\text{A.11})$$

avec la fonction de Mayer  $f(r)$  définie dans la section A.1 et la fonction  $y(r)$  introduite dans l'équation (A.5). Dans cette dérivation simple et rapide l'approximation n'est pas contrôlée ; on peut néanmoins montrer à partir du développement (A.5) que la relation (A.11) est correcte au premier ordre dans la densité [8]. On remarque dans l'équation ci-dessus que, dû à la présence de  $f(r)$ ,  $c(r)$  est rigoureusement nulle lorsque le potentiel  $u(r)$  s'annule ; on formalise ainsi l'intuition discutée plus haut. Noter également que  $\gamma(r) = y(r) - 1$  (en substituant (A.11) dans (A.9), par exemple).

Cette relation de fermeture est particulièrement adaptée aux potentiels du type « coeur dur » ; on l'utilise donc dans nos analyses, où l'on considère à chaque fois que les particules en interaction contiennent un noyau impénétrable. Dans le cas général, l'équation d'Ornstein-Zernike avec la fermeture Percus-Yevick n'a pas de solution analytique ; nous l'avons donc résolue numériquement par une méthode détaillée dans la section A.4.1.

Il existe bien sûr d'autres relations de fermeture, comme la HNC (*hypernetted chain*), qui revient à linéariser l'exponentielle dans (A.10) avant de l'introduire dans (A.11). Empiriquement, cette approximation fonctionne mieux pour des particules « molles » et pour des potentiels attractifs. Nous ne l'avons pas utilisée dans ce travail.

## A.3 Approximation de phase aléatoire

Un traitement moins rigoureux –mais bien plus aisé– consiste à utiliser l'approximation de phase aléatoire (RPA – de l'anglais *Random Phase Approximation*) [3]. Cette méthode est particulièrement utile lorsque le système étudié est proche (en termes de potentiel d'interaction) d'un système de référence de structure connue, comme par exemple le potentiel « coeur dur », pour lequel on connaît des approximations analytiques très satisfaisantes, en deux [124] et en trois dimensions [157, 148].

Dans cette approche, on obtient la fonction de corrélation directe du système perturbé  $c(r)$  à partir de celle du système de référence  $c_{\text{ref}}(r)$  par :  $c(r) = c_{\text{ref}}(r) - \beta u(r)$  [53]

ou, de manière équivalente :

$$n\beta\tilde{u}(q) = S^{-1}(q) - S_{\text{ref}}^{-1}(q) \quad (\text{A.12})$$

avec  $\beta = (k_B T)^{-1}$ .

Nous avons utilisé cette formule dans les articles [Constantin *et al.*, 2007] et [Constantin *et al.*, 2008].

## A.4 Implémentation

Pratiquement, le facteur de structure  $S(q)$  est calculé en utilisant l'algorithme introduit par Lado [77, 78].

$$\gamma(q) = \frac{\rho c^2(q)}{1 - \rho c(q)} \quad (\text{A.13a})$$

$$c(r) = [1 + \gamma(r)][\exp(-u(r)/k_B T) - 1] \quad (\text{A.13b})$$

Cette méthode, adaptée lorsqu'il n'y a pas d'interaction entre les inclusions d'une couche à l'autre, a été utilisée dans l'article [Constantin, 2009].

### A.4.1 Interaction entre les couches

En revanche, lorsque les interactions entre des particules se trouvant dans des couches différentes doivent être prises en compte, il faut généraliser le modèle, comme on l'a fait dans la référence [Constantin, 2010]. Dans ce cas, on établit une correspondance formelle entre le système d'inclusions et un fluide à plusieurs composants, où chaque composant représente des particules insérées dans une bicouche donnée, alors que toutes les particules occupent le même espace bi-dimensionnel. Comme ci-dessus, pendant toute l'analyse nous prenons en compte uniquement les interactions à deux corps.

On peut ainsi profiter du fait que le fluide à plusieurs composants a été étudié en détail depuis longtemps [82, 9]. Dans la suite, nous employons les notations de la référence [9], à l'exception du potentiel d'interaction, noté ici par  $u$  (au lieu de  $\phi$ ) pour rester cohérent avec la présentation précédente. On considère un système formé de  $n$  bicouches (distinguées par des indices grecs en minuscules) avec des conditions aux limites périodiques (la bicouche  $n$  est identique à la bicouche 0). Les équations pertinentes sont :

- La définition de la *fonction de corrélation totale*  $h_{\alpha\beta}(r)$  en termes de la fonction de distribution radiale  $g_{\alpha\beta}(r)$ , qui représente maintenant la probabilité conditionnelle de trouver une particule à la distance  $r$  dans la couche  $\beta$ , alors que la particule de référence se trouve à l'origine dans la couche  $\alpha$  :

$$h_{\alpha\beta}(r) = g_{\alpha\beta}(r) - 1 \quad (\text{A.14})$$

- La relation d'Ornstein et Zernike, qui définit la *fonction de corrélation directe*  $c_{\alpha\beta}(r)$  :

$$h_{\alpha\beta}(r) = c_{\alpha\beta}(r) + \sum_{\gamma} \rho_{\gamma} \int d^2\mathbf{s} c_{\alpha\gamma}(|\mathbf{s}|) h_{\gamma\beta}(|\mathbf{r} - \mathbf{s}|) \quad (\text{A.15})$$

avec  $\rho_\gamma = \rho$  la densité numérique dans le plan des bicouches et où l'indice  $\gamma$  parcourt toutes les bicouches. L'équation ci-dessus peut aussi être écrite dans l'espace réciproque, ce qui donne :

$$h_{\alpha\beta}(q) = c_{\alpha\beta}(q) + \sum_{\gamma} \rho_{\gamma} c_{\alpha\gamma}(q) h_{\gamma\beta}(q) \quad (\text{A.16})$$

– La relation de fermeture de Percus et Yevick :

$$c_{\alpha\beta}(r) = [1 + h_{\alpha\beta}(r)] \left[ 1 - \exp\left(\frac{u_{\alpha\beta}(r)}{k_B T}\right) \right] \quad (\text{A.17})$$

où  $u_{\alpha\beta}(r)$  représente le potentiel d'interaction entre des particules se trouvant dans les bicouches  $\alpha$  et  $\beta$ . Pour simplifier, nous supposons que les particules interagissent uniquement dans la même couche et avec les plus proches voisines ( $u_{\alpha\beta}(r) \equiv 0$  pour  $|\alpha - \beta| > 1$ ). En plus, la symétrie de translation (toutes les bicouches ont un environnement identique, ce qui impose des conditions aux limites périodiques) et la symétrie miroir ( $u_{\alpha\beta} \equiv u_{\beta\alpha}$ , et des relations similaires pour les fonctions  $c$  et  $h$ ) nous permettent de définir toutes les fonctions par rapport à la couche 0, à savoir prendre  $\alpha = 0$  par la suite.

Ces équations doivent être résolues numériquement ; pour des raisons de convergence, il est très avantageux de travailler avec la *fonction de corrélation indirecte* (dénotée par  $H(r)$  dans la référence [77]),  $\gamma_{0\beta}(r) = h_{0\beta}(r) - c_{0\beta}(r)$  plutôt qu'avec la fonction de corrélation totale.

Par exemple, pour  $n = 3$  bicouches (avec des conditions aux limites périodiques,  $3 \equiv 0$ ), les équations (A.16) et (A.17) donnent explicitement :

$$\gamma_{00}(q) = \rho [c_{00}(\gamma_{00} + c_{00}) + 2c_{01}(\gamma_{01} + c_{01})] \quad (\text{A.18a})$$

$$\gamma_{01}(q) = \rho [c_{00}(\gamma_{01} + c_{01}) + c_{01}(\gamma_{00} + c_{00}) + c_{01}(\gamma_{01} + c_{01})] \quad (\text{A.18b})$$

$$c_{00}(r) = [1 + \gamma_{00}][\exp(-u_{00}/k_B T) - 1] \quad (\text{A.18c})$$

$$c_{01}(r) = [1 + \gamma_{01}][\exp(-u_{01}/k_B T) - 1] \quad (\text{A.18d})$$

où nous avons omis l'argument des fonctions dans le membre de droite. On commence dans l'espace réel par l'application des équations (A.18c-d) avec des valeurs initiales raisonnables, et l'on résout ensuite (A.18a-b) dans l'espace réciproque. La solution de (A.18a-b) est donnée par :

$$\gamma_{00}(q) = \frac{-c_{00}^2(c_{00} + c_{01} - 1/\rho) + 2c_{01}^2(c_{00} + 1/\rho)}{(c_{00} - 1/\rho)^2 + c_{01}(c_{00} - 1/\rho) - 2c_{01}^2} \quad (\text{A.19a})$$

$$\gamma_{01}(q) = c_{01} \frac{-(c_{00} + c_{01})(c_{00} - 1/\rho) + c_{00}/\rho + 2c_{01}^2}{(c_{00} - 1/\rho)^2 + c_{01}(c_{00} - 1/\rho) - 2c_{01}^2} \quad (\text{A.19b})$$

On itère cette procédure jusqu'à atteindre la convergence. Les facteurs de structure qu'on obtient expérimentalement sont alors simplement :  $S_0(q) = 1 + h_{00}(q)$  et  $S_1(q) = h_{01}(q)$ .

Nous avons vérifié que, pour des valeurs pertinentes des paramètres d'interaction, les facteurs de structure obtenus avec  $n = 5$  et  $n = 7$  sont quasiment identiques, et légèrement différents de ceux pour  $n = 3$  (avec des conditions aux limites périodiques dans tous les cas). Tous les résultats présentés dans [Constantin, 2009] sont obtenus avec  $n = 7$ . Nous avons également confirmé l'hypothèse initiale concernant l'amplitude négligeable des facteurs de structure d'ordre supérieur à savoir que  $S_3(q) \ll S_2(q) \ll S_1(q)$ , en bon accord avec les observations expérimentales.



# Bibliographie

- [1] James R. ABNEY, Jochen BRAUN et John C. OWICKI : Lateral interactions among membrane proteins : Implications for the organization of gap junctions. *Biophys. J.*, 52:441–454, 1987.
- [2] J. ALS-NIELSEN et D. McMORROW : *Elements of Modern X-Ray Physics*. John Wiley & Sons, 2001.
- [3] H. C. ANDERSEN et D. CHANDLER : Mode expansion in equilibrium statistical mechanics. I. General theory and application to the classical electron gas. *J. Chem. Phys.*, 53:547–554, 1970.
- [4] Olaf S. ANDERSEN et Roger E. KOEPE, II : Bilayer thickness and membrane protein function : An energetic perspective. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 36:107–130, 2007.
- [5] H. ARANDA-ESPINOZA, A. BERMAN, N. DAN, P. PINCUS et S. SAFRAN : Interaction between inclusions embedded in membranes. *Biophys. J.*, 71:648–656, 1996.
- [6] R. J. ATKINSON, A. M. POSNER et J. P. QUIRK : Adsorption of potential-determining ions at the ferric oxide-aqueous electrolyte interface. *J. Phys. Chem.*, 71:550–558, 1967.
- [7] Mads BAK, Robert P. BYWATER, Morten HOHWY, Jens K. THOMSEN, Kim ADELHORST, Hans J. JAKOBSEN, Ole W. SØRENSEN et Niels C. NIELSEN : Conformation of alamethicin in oriented phospholipid bilayers determined by  $^{15}\text{N}$  solid-state nuclear magnetic resonance. *Biophys. J.*, 81:1684–1698, 2001.
- [8] J. A. BARKER et D. HENDERSON : What is “liquid” ? Understanding the states of matter. *Rev. Mod. Phys.*, 48:587–671, 1976.
- [9] R. J. BAXTER : Ornstein-Zernike relation and Percus-Yevick approximation for fluid mixtures. *J. Chem. Phys.*, 52:4559–4562, 1970.
- [10] Burkhard BECHINGER : Structure and functions of channel-forming peptides : Magainins, cecropins, melittin and alamethicin. *J. Membrane Biol.*, 156:197–211, 1997.
- [11] Burkhard BECHINGER : The structure, dynamics and orientation of antimicrobial peptides in membranes by multidimensional solid-state NMR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, 1462:157–183, 1999.
- [12] J. S. BECK, J. C. VARTULI, W. J. ROTH, M. E. LEONOWICZ, C. T. KRESGE, K. D. SCHMITT, C. T. W. CHU, D. H. OLSON et E. W. SHEPPARD : A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. *J. Am. Chem. Soc.*, 114:10834–10843, 1992.
- [13] Klemen BOHINC, Veronika KRALJ-IGLIČ et Silvio MAY : Interaction between two cylindrical inclusions in a symmetric lipid bilayer. *J. Chem. Phys.*, 119:7435–7444, 2003.



- [14] F. BOULMEDAIS, P. BAUCHAT, M. J. BRIENNE, I. ARNAL, F. ARTZNER, T. GACOIN, M. DAHAN et V. MARCHI-ARTZNER : Water-soluble pegylated quantum dots : From a composite hexagonal phase to isolated micelles. *Langmuir*, 22:9797–9803, 2006.
- [15] Jochen BRAUN, James R. ABNEY et John C. OWICKI : Lateral interactions among membrane proteins : Valid estimates based on freeze-fracture electron microscopy. *Biophys. J.*, 52:427–439, 1987.
- [16] J. BREED, P. C. BIGGIN, I. D. KERR, O. S. SMART et M. S. P. SANSOM : Alamethicin channels - modelling via restrained molecular dynamics simulations. *Biochim. Biophys. Acta*, 1325: 235–249, 1997.
- [17] M. S. BRETSCHER et S. MUNRO : Cholesterol and the Golgi apparatus. *Science*, 261:1280–1281, 1993.
- [18] Brian M. BURKHART, Ryan M. GASSMAN, David A. LANGS, Walter A. PANGBORN, William L. DUAX et Vladimir PLETNEV : Gramicidin D conformation, dynamics and membrane ion transport. *Biopolymers (Peptide Science)*, 51:129–144, 1999.
- [19] R. S. CANTOR : Size distribution of barrel-stave aggregates of membrane peptides : Influence of the bilayer lateral pressure profile. *Biophys. J.*, 82:2520–2525, 2002.
- [20] P. M. CHAIKIN et T. C. LUBENSKY : *Principles of Condensed Matter Physics*. Cambridge University Press, Cambridge, 1995.
- [21] David CHANDLER : *Introduction to modern statistical mechanics*. Oxford University Press, 1987.
- [22] Fang-Yu CHEN, Ming-Tao LEE et Huey W. HUANG : Sigmoidal concentration dependence of antimicrobial peptide activities : A case study on alamethicin. *Biophys. J.*, 82:908–914, 2002.
- [23] Y. S. CHEN et W. L. HUBBELL : Temperature- and light-dependent structural changes in rhodopsin-lipid membranes. *Exp. Eye Res*, 17:517–532, 1973.
- [24] J. M. D. COEY, A. BARRY, J. BROTTTO, H. RAKOTO, S. BRENNAN, W. N. MUSSEL, A. COLLOMB et D. FRUCHART : Spin flop in goethite. *J. Phys. Cond. Matt.*, 7:759–768, 1995.
- [25] R. M. CORNELL et U. SCHWERTMANN : *The iron oxides, structure, properties, reactions, occurrence and uses*. VCH, Weinheim, 1996.
- [26] J. C. DABADIE, P. FABRE, M. VEYSSIÉ, V. CABUIL et R. MASSART : Magnetic lyotropic phases. *J. Phys. Cond. Matt.*, 2:SA291–SA294, 1990.
- [27] N. DAN, A. BERMAN, P. PINCUS et S. SAFRAN : Membrane-induced interactions between inclusions. *J. Phys. II France*, 4:1713–1725, 1994.
- [28] N. DAN, P. PINCUS et S. SAFRAN : Membrane-induced interactions between inclusions. *Langmuir*, 9:2768–2771, 1993.
- [29] P. DAVIDSON, D. PETERMANN et A. M. LEVELUT : The measurement of the nematic order parameter by x-ray scattering reconsidered. *J. Phys. II (France)*, 5:113–131, 1995.
- [30] Bert L. DE GROOT, D. Peter TIELEMAN, Peter POHL et Helmut GRUBMÜLLER : Water permeation through gramicidin A : Desformylation and the double helix : A molecular dynamics study. *Biophys. J.*, 82:2934–2942, 2002.
- [31] Ranjan D. DESHMUKH, Yu LIU et Russell J. COMPOSTO : Two-dimensional confinement of nanorods in block copolymer domains. *Nano Lett.*, 7:3662–3668, 2007.
- [32] A. DIF, E. HENRY, F. ARTZNER, M. BAUDY-FLOC'H, M. SCHMUTZ, M. DAHAN et V. MARCHI-ARTZNER : Interaction between water-soluble peptidic CdSe/ZnS nanocrystals and membranes : Formation of hybrid vesicles and condensed lamellar phases. *Journal of the American Chemical Society*, 130:8289–8296, 2008.

- [33] R. J. DUBOS : Studies on a bacterial agent extracted from a soil bacillus. *J. Exp. Med.*, 70:1–10, 1939.
- [34] H. DUCLOHIER et H. WRÓBLEWSKI : Voltage-dependent pore formation and antimicrobial activity by alamethicin and analogues. *J. Membr. Biol.*, 184:1–12, 2001.
- [35] J. R. ELLIOTT, D. NEEDHAM, J. P. DILGER et D. A. HAYDON : The effects of bilayer thickness and tension on gramicidin single-channel lifetime. *Biochim. Biophys. Acta*, 735:95–103, 1983.
- [36] R.M. EPAND et H.J. VOGEL : Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *Biochim. Biophys. Acta*, 1462:11–28, 1999.
- [37] A. R. EVANS, M. S. TURNER et P. SENS : Interactions between proteins bound to biomembranes. *Phys. Rev. E*, 67:041907, 2003.
- [38] Kai EWERT, Nelle L. SLACK, Ayesha AHMAD, Heather M. EVANS, Alison J. LIN, Charles E. SAMUEL et Cyrus R. SAFINYA : Cationic lipid-DNA complexes for gene therapy : Understanding the relationship between complex structure and gene delivery pathways at the molecular level. *Current Medicinal Chemistry*, 11:133–149, 2004.
- [39] Christophe EYCHENNE-BARON, François RIBOT, Nathalie STEUNOU, Clément SANCHEZ, Franck FAYON, Monique BIESEMANS, José C. MARTINS et Rudolph WILLEM : Reaction of butyltin hydroxide oxide with *p*-toluenesulfonic acid : Synthesis, x-ray crystal analysis, and multinuclear NMR characterization of  $(\text{BuSn})_{12}\text{O}_{14}(\text{OH})_6(4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3)_2$ . *Organometallics*, 19:1940–1949, 2000.
- [40] P. FABRE, C. CASAGRANDE, M. VEYSSIÉ, V. CABUIL et R. MASSART : Ferrosmections : A new magnetic and mesomorphic phase. *Phys. Rev. Lett.*, 64:539–542, 1990.
- [41] D. R. FATTAL et A. BEN-SHAUL : A molecular model for lipid-protein interaction in membranes : the role of hydrophobic mismatch. *Biophys. J.*, 65:1795–1809, 1993.
- [42] Scott E. FELLER, Richard M. VENABLE et Richard W. PASTOR : Computer simulation of a DPPC phospholipid bilayer : Structural changes as a function of molecular surface area. *Langmuir*, 13:6555–6561, 1997.
- [43] Stephan FÖRSTER et Markus ANTONIETTI : Amphiphilic block copolymers in structure-controlled nanomaterial hybrids. *Advanced Materials*, 10:195–217, 1998.
- [44] R. O. FOX, Jr. et F. M. RICHARDS : A voltage-gated ion channel model inferred from the crystal structure of alamethicin at 1.5-Å resolution. *Nature*, 300:325–330, 1982.
- [45] E FREYSSINGEAS, F. NALLET et D. ROUX : Measurement of the membrane flexibility in lamellar and “sponge” phases of the  $\text{C}_{12}\text{E}_5$ /Hexanol/Water system. *Langmuir*, 12:6028–6035, 1996.
- [46] E FREYSSINGEAS, D. ROUX et F. NALLET : Quasi-elastic light scattering study of highly swollen lamellar and “sponge” phases. *J. Phys. II (France)*, 7:913–929, 1997.
- [47] Ray FROST, Huai Yong ZHU, Peter WU et Thor BOSTROM : Synthesis of acicular goethite with surfactants. *Materials Letters*, 59:2238–2241, 2005.
- [48] J.-C. P. GABRIEL, F. CAMEREL, B. J. LEMAIRE, H. DESVAUX, P. DAVIDSON et P. BATAIL : Swollen liquid-crystalline lamellar phase based on extended solid-like sheets. *Nature*, 413:504–508, 2001.
- [49] S. GIDER, J. SHI, D. D. AWSCHALOM, P. F. HOPKINS, K. L. CAMPMAN, A. C. GOSSARD, A. D. KENT et S. von MOLNÁR : Imaging and magnetometry of switching in nanometer-scale iron particles. *Appl. Phys. Lett.*, 69:3269–3271, 1996.

- [50] Leonardo GOLUBOVIČ et Mirjana GOLUBOVIČ : Fluctuations of quasi-two-dimensional smectics intercalated between membranes in multilamellar phases of DNA-cationic lipid complexes. *Phys. Rev. Lett.*, 80:4341–4344, 1998.
- [51] M. GOULIAN, R. BRUINSMA et P. PINCUS : Long-range forces in heterogeneous fluid membranes. *Europhys. Lett.*, 22:145–150, 1993.
- [52] Isabelle GRILLO, Pierre LEVITZ et Thomas ZEMB : Insertion of small anisotropic clay particles in swollen lamellar or sponge phases of nonionic surfactant. *The European Physical Journal E*, 5:377–386, 2001.
- [53] Jean Pierre HANSEN et Ian Randal McDONALD : *Theory of simple liquids*. Academic Press, 2006.
- [54] T. A. HARROUN, W. T. HELLER, T. M. WEISS, L. YANG et H. W. HUANG : Experimental evidence for hydrophobic matching and membrane-mediated interactions in lipid bilayers containing gramicidin. *Biophys. J.*, 76:937–945, 1999.
- [55] T. A. HARROUN, W. T. HELLER, T. M. WEISS, L. YANG et H. W. HUANG : Theoretical analysis of hydrophobic matching and membrane-mediated interactions in lipid bilayers containing gramicidin. *Biophys. J.*, 76:3176–3185, 1999.
- [56] Agus HARYONO et Wolfgang H. BINDER : Controlled arrangement of nanoparticle arrays in block-copolymer domains. *Small*, 2:600–611, 2005.
- [57] K. HE, S. J. LUDTKE, H. W. HUANG et D. L. WORCESTER : Antimicrobial peptide pores in membranes detected by neutron in-plane scattering. *Biochem.*, 34:15614–15618, 1995.
- [58] K. HE, S. J. LUDTKE, D. L. WORCESTER et H. W. HUANG : Neutron scattering in the plane of the membranes : Structure of alamethicin pores. *Biophys. J.*, 70:2659–2666, 1996.
- [59] P. HELFRICH et E. JAKOBSSON : Calculation of deformation energies and conformations in lipid membranes containing gramicidin channels. *Biophys. J.*, 57:1075–1084, 1990.
- [60] W HELFRICH : Elastic properties of lipid bilayers : Theory and possible experiments. *Z. Naturforsch. C*, 28:693–703, 1973.
- [61] H. W. HUANG : Deformation free energy of bilayer membrane and its effect on gramicidin channel lifetime. *Biophys. J.*, 50:1061–1070, 1986.
- [62] H.W. HUANG : Action of antimicrobial peptides : Two-state model. *Biochemistry*, 39:8347–8352, 2000.
- [63] R. JAMES et D. BRANTON : Lipid- and temperature-dependent structural changes in *Acholeplasma laidlawii* cell membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 323:378–390, 1973.
- [64] M. Ø JENSEN et O. G. MOURITSEN : Lipids do influence protein function—the hydrophobic matching hypothesis revisited. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes*, 1666:205–226, 2004.
- [65] Jean-Pierre JOLIVET, Corinne CHANÉAC et Elisabeth TRONC : Iron oxide chemistry. From molecular clusters to extended solid networks. *Chem. Commun.*, pages 481–487, 2004.
- [66] Devaki A. KELKAR et Amitabha CHATTOPADHYAY : The gramicidin ion channel : A model membrane protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1768:2011–2025, 2007.
- [67] Amit KESSEL, David S. CAFISO et Nir BEN-TAL : Continuum solvent model calculations of alamethicin-membrane interactions : Thermodynamic aspects. *Biophys J.*, 78:571–583, 2000.
- [68] J.A. KILLIAN : Hydrophobic mismatch between proteins and lipids in membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1376:401–416, 1998.

- [69] John G. KIRKWOOD : Statistical mechanics of fluid mixtures. *J. Chem. Phys.*, 3:300–313, 1935.
- [70] Vitaly KOCHERBITOV et Olle SÖDERMAN : Hydration of dimethyldodecylamine-n-oxide : Enthalpy and entropy driven processes. *J. Phys. Chem. B*, 110:13649–13655, 2006.
- [71] Ilya KOLTOVER, Joachim O. RAEDLER et Cyrus R. SAFINYA : Membrane mediated attraction and ordered aggregation of colloidal particles bound to giant phospholipid vesicles. *Phys. Rev. Lett.*, 82:1991–1994, 1999.
- [72] Ilya KOLTOVER, Sanjukta SAHU et Nicolynn DAVIS : Genetic engineering of the nanoscale structure in polyelectrolyte-lipid self-assembled systems. *Angew. Chem.*, 116:4126–4129, 2004.
- [73] Ilya KOLTOVER, Tim SALDITT, Joachim O. RÄDLER et Cyrus R. SAFINYA : An inverted hexagonal phase of cationic liposome–DNA complexes related to DNA release and delivery. *Science*, 281:78–81, 1998.
- [74] J KORLACH, P SCHWILLE, WW WEBB et GW FEIGENSON : Characterization of lipid bilayer phases by confocal microscopy and fluorescence correlation spectroscopy. *PNAS*, 96:8461–8466, 1999.
- [75] Peter A. KRALCHEVSKY : Lateral forces acting between particles in liquid films or lipid membranes. *Adv. Biophys.*, 34:25–39, 1997.
- [76] C. T. KRESGE, M. E. LEONOWICZ, W. J. ROTH, J. C. VARTULI et J. S. BECK : Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature*, 359:710–712, 1992.
- [77] F. LADO : Pressure-consistent integral equation for classical fluids : Hard-sphere solutions. *J. Chem. Phys.*, 47:4828–4833, 1967.
- [78] F. LADO : Equation of state of the hard-disk fluid from approximate integral equations. *J. Chem. Phys.*, 49:3092–3096, 1968.
- [79] Patrick LAGÜE, Martin J. ZUCKERMANN et Benoît ROUX : Lipid-mediated interactions between intrinsic membrane proteins : A theoretical study based on integral equations. *Biophys. J.*, 79:2867–2879, 2000.
- [80] Patrick LAGÜE, Martin J. ZUCKERMANN et Benoît ROUX : Lipid-mediated interactions between intrinsic membrane proteins : Dependence on protein size and lipid composition. *Biophys. J.*, 81:276–284, 2001.
- [81] Arthur L. Y. LAU et Sunney I. CHAN : Voltage-induced formation of alamethicin pores in lecithin bilayer vesicles. *Biochemistry*, 15:2551–2555, 1976.
- [82] J. L. LEBOWITZ : Exact solution of generalized Percus-Yevick equation for a mixture of hard spheres. *Phys. Rev.*, 133:A895–A899, 1964.
- [83] A.G. LEE : Lipid-protein interactions in biological membranes : a structural perspective. *Biochim. Biophys. Acta*, 1612:1–40, 2003.
- [84] B. J. LEMAIRE, P. DAVIDSON, J. FERRÉ, J. P. JAMET, P. PANINE, I. DOZOV et J. P. JOLIVET : Outstanding magnetic properties of nematic suspensions of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) nanorods. *Phys. Rev. Lett.*, 88:125507, 2002.
- [85] B. J. LEMAIRE, P. DAVIDSON, J. FERRÉ, J. P. JAMET, D. PETERMANN, P. PANINE, I. DOZOV et J. P. JOLIVET : Physical properties of aqueous suspensions of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) nanorods ; Part I : In the isotropic phase. *Eur. Phys. J. E*, 13:291–308, 2004.
- [86] B. J. LEMAIRE, P. DAVIDSON, D. PETERMANN, P. PANINE, I. DOZOV, D. STOENESCU et J. P. JOLIVET : Physical properties of aqueous suspensions of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) nanorods ; Part II : In the nematic phase. *Eur. Phys. J. E*, 13:309–319, 2004.

- [87] B. A. LEWIS et D. M. ENGELMAN : Bacteriorhodopsin remains dispersed in fluid phospholipid bilayers over a wide range of bilayer thicknesses. *J. Mol. Biol.*, 166:203–210, 1983.
- [88] Yao LIN, Alexander BÖKER, Jinbo HE, Kevin SILL, Hongqi XIANG, Clarissa ABETZ, Xuefa LI, Jin WANG, Todd EMRICK, Su LONG, Qian WANG, Anna BALAZS et Thomas P. RUSSELL : Self-directed self-assembly of nanoparticle/copolymer mixtures. *Nature*, 434:55–59, 2005.
- [89] Mathias LÖSCHE : Surface-sensitive X-ray and neutron scattering characterization of planar lipid model membranes and lipid/peptide interactions. *Current Topics In Membrane*, 52:117–161, 2002.
- [90] S. J. LUDTKE, K. HE et H. W. HUANG : Membrane thinning caused by magainin 2. *Biochemistry*, 34:16764–16769, 1995.
- [91] Mark J. MACLACHLAN, Ian MANNERS et Geoffrey A. OZIN : New (inter)faces : Polymers and inorganic materials. *Adv. Mater.*, 12:675–681, 2000.
- [92] S. MARČELJA : Lipid-mediated protein interaction in membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 455:1–7, 1976.
- [93] S. MARČELJA : Toward a realistic theory of the interaction of membrane inclusions. *Biophys. J.*, 76:593–594, 1999.
- [94] S. MAY : Membrane perturbations induced by integral proteins : Role of conformational restrictions of the lipid chains. *Langmuir*, 18:6356–6364, 2002.
- [95] S. MAY et A. BEN-SHAUL : Molecular theory of lipid-protein interaction and the  $L_{\alpha} - H_{II}$  transition. *Biophys. J.*, 76:751–767, 1999.
- [96] S. MAY et A. BEN-SHAUL : A molecular model for lipid-mediated interaction between proteins in membranes. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2:4494–4502, 2000.
- [97] Harvey T. McMAHON et Jennifer L. GALLOP : Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodelling. *Nature*, 438:590–596, 2005.
- [98] U. MENNICKE et T. SALDITT : Preparation of solid-supported lipid bilayers by spin-coating. *Langmuir*, 18:8172, 2002.
- [99] D. John MITCHELL, Gordon J. TIDY, Lorraine WARING, Theresa BOSTOCK et Malcolm P. McDONALD : Phase behaviour of polyoxyethylene surfactants with water. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I*, 79:975–1000, 1983.
- [100] O. G. MOURITSEN et M. BLOOM : Mattress model of lipid-protein interactions in membranes. *Biophys. J.*, 46:141–153, 1984.
- [101] J.F. NAGLE et S. TRISTRAM-NAGLE : Structure of lipid bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1469:159–195, 2000.
- [102] T. NARAYANAN, O. DIAT et P. BOSECKE : SAXS and USAXS on the high brilliance beamline at the ESRF. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, 467:1005–1009, 2001.
- [103] Claus NIELSEN, Mark GOULIAN et Olaf S. ANDERSEN : Energetics of inclusion-induced bilayer deformations. *Biophys. J.*, 74:1966–1983, 1998.
- [104] Christopher L. NORTH, Melissa BARRANGER-MATHYS et David S. CAFISO : Membrane orientation of the N-terminal segment of alamethicin determined by solid-state  $^{15}\text{N}$  NMR. *Biophys. J.*, 69:2392–2397, 1995.
- [105] F OESTERHELT, D OESTERHELT, M PFEIFFER, A ENGEL, HE GAUB et DJ MULLER : Unfolding pathways of individual bacteriorhodopsins. *Science*, 288:143–146, 2000.
- [106] C. S. O'HERN et T. C. LUBENSKY : Sliding columnar phase of DNA-lipid complexes. *Phys. Rev. Lett.*, 80:4345–4348, 1998.

- [107] C. S. O'HERN, T. C. LUBENSKY et J. TONER : Sliding phases in XY models, crystals, and cationic lipid-DNA complexes. *Phys. Rev. Lett.*, 83:2745–2748, 1999.
- [108] Glenn A. OLAH et Huey W. HUANG : Circular dichroism of oriented  $\alpha$  helices. I. Proof of the exciton theory. *J. Chem. Phys.*, 89:2531–2538, 1988.
- [109] Greger ORÄDD, Göran LINDBLOM, Gösta ARVIDSON et Kerstin GUNNARSSON : Phase equilibria and molecular packing in the *N,N*-dimethyldodecylamine oxide/gramicidin D/water system studied by  $^2\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biophys. J.*, 68:547–557, 1995.
- [110] L. S. ORNSTEIN et F. ZERNIKE : Integral equation in liquid state theory. *Proc. Acad. Sci. Amsterdam*, 17:793, 1914.
- [111] J. C. OWICKI et H. M. McCONNELL : Theory of protein-lipid and protein-protein interactions in bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76:4750–4754, 1979.
- [112] J. C. OWICKI, M. W. SPRINGGATE et H. M. McCONNELL : Theoretical study of protein-lipid interactions in bilayer membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75:1616–1619, 1978.
- [113] L. T. PEARSON, J. EDELMAN et S. I. CHAN : Statistical mechanics of lipid membranes, protein correlation functions and lipid ordering. *Biophys. J.*, 45:863–871, 1984.
- [114] L. T. PEARSON, B. A. LEWIS, D. M. ENGELMAN et S. I. CHAN : Pair distribution functions of bacteriorhodopsin and rhodopsin in model bilayers. *Biophys. J.*, 43:167–174, 1983.
- [115] S. POLARZ, B. SMARSLY et M. ANTONIETTI : Colloidal organization and clusters : Self-assembly of polyoxometalate-surfactant complexes towards three-dimensional organized structures. *ChemPhysChem*, 7:457–461, 2001.
- [116] V. PONSINET et P. FABRE : Modification of the interactions in a lamellar phase by the presence of nanoparticles. *J. Phys. II (France)*, 6:955–960, 1996.
- [117] V. PONSINET, P. FABRE et M. VEYSSIÉ : Transition of a ferrosmectic in a very weak magnetic field. *Europhys. Lett.*, 30:277–282, 1995.
- [118] Tanja POTT, Annie COLIN, Laurence NAVAILLES et Didier ROUX : DNA intercalation in neutral multilamellar membranes : Experiments and theory. *Interface Science*, 11:249–257, 2003.
- [119] Joachim O. RÄDLER, Ilya KOLTOVER, Tim SALDITT et Cyrus R. SAFINYA : Structure of DNA-cationic liposome complexes : DNA intercalation in multilamellar membranes in distinct interhelical packing regimes. *Science*, 275:810–814, 1997.
- [120] L. RAMOS, P. FABRE et E. DUBOIS : Compatibility between solid particles and a lamellar phase : a crucial role of the membrane interactions. *J. Phys. Chem.*, 100:4533–4537, 1996.
- [121] W. RAWICZ, K. C. OLBRICH, T. McINTOSH, D. NEEDHAM et E. EVANS : Effect of chain length and unsaturation on elasticity of lipid bilayers. *Biophys. J.*, 79:328–339, 2000.
- [122] Benedict J. REYNWAR, Gregoria ILLYA, Vagelis A. HARMANDARIS, Martin M. MUELLER, Kurt KREMER et Markus DESERNO : Aggregation and vesiculation of membrane proteins by curvature-mediated interactions. *Nature*, 447:461–464, 2007.
- [123] Winfried RÖMER, Ludwig BERLAND, Valérie CHAMBON, Katharina GAUS, Barbara WINDSCHIEGL, Danièle TENZA, Mohamed R. E. ALY, Vincent FRAISIER, Jean-Claude FLORENT, David PERRAIS, Christophe LAMAZE, Graça RAPOSO, Claudia STEINEM, Pierre SENS, Patricia BASSEREAU et Ludger JOHANNES : Shiga toxin induces tubular membrane invaginations for its uptake into cells. *Nature*, 450:670–675, 2007.
- [124] Y. ROSENFELD : Free-energy model for the inhomogeneous hard-sphere fluid in  $d$  dimensions : Structure factors for the hard-disk ( $d = 2$ ) mixtures in simple explicit form. *Phys. Rev. A*, 42:5978–5988, 1990.

- [125] Benoît ROUX : Computational studies of the gramicidin channel. *Accounts of Chemical Research*, 35:366–375, 2002.
- [126] E. SACKMANN : Physical basis for trigger processes and membrane structures. In D. CHAPMAN, éditeur : *Biological Membranes*, volume 5, pages 105–143. Academic Press, London, 1984.
- [127] Golchi SALAMAT et Eric W. KALER : Colloidal dispersions in lyotropic lamellar phases. *Langmuir*, 15:5415–5421, 1999.
- [128] T. SALDITT : Thermal fluctuations and stability of solid-supported lipid membranes. *J. Phys. Cond. Matt.*, 17:R287–R314, 2005.
- [129] T. SALDITT et G. BROTONS : Biomolecular and amphiphilic films probed by surface sensitive x-ray and neutron scattering. *Anal. Bioanal. Chem.*, 379:960–973, 2004.
- [130] T. SALDITT, C. LI, A. SPAAR et U. MENNICKE : X-ray reflectivity of solid-supported multilamellar membranes. *Eur. Phys. J. E*, 7:105–116, 2002.
- [131] Tim SALDITT, Ilya KOLTOVER, Joachim O. RÄDLER et Cyrus R. SAFINYA : Two-dimensional smectic ordering of linear DNA chains in self-assembled DNA-cationic liposome mixtures. *Phys. Rev. Lett.*, 79:2582–2585, 1997.
- [132] C. SANCHEZ, G. J. de A. A. SOLER-ILLIA, F. RIBOT, T. LALOT, C. R. MAYER et V. CABUIL : Designed hybrid organic-inorganic nanocomposites from functional nanobuilding blocks. *Chem. Mater.*, 13:3061–3083, 2001.
- [133] C. SENNOGA, A. HERON, J. M. SEDDON, R. H. TEMPLER et B. HANKAMER : Membrane-protein crystallization in cubo : temperature-dependent phase behaviour of monoolein-detergent mixtures. *Acta Crystallographica D*, 59:239–246, 2003.
- [134] P. SENS et M. S. TURNER : Structure factor of a lamellar smectic phase with inclusions. *Eur. Phys. J. E*, 4:115–120, 2001.
- [135] M. SEUL et M. J. SAMMON : Preparation of surfactant multilayer films on solid substrates by deposition from organic solution. *Thin Solid Films*, 185:287, 1990.
- [136] Y. SHAI : Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by  $\alpha$ -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. *Biochim. Biophys. Acta*, 1462:55–70, 1999.
- [137] R. A. SHELBY, D. R. SMITH et S. SCHULTZ : Experimental verification of a negative index of refraction. *Science*, 292:77–79, 2001.
- [138] J. P. SIMON, S. ARNAUD, F. BLEY, J. F. BERAR, B. CAILLOT, V. COMPARAT, E. GEISSLER, A. DE GEYER, P. JEANTEY, F. LIVET et H. OKUDA : A new small-angle x-ray scattering instrument on the French CRG beamline at the ESRF multiwavelength anomalous scattering/diffraction beamline (D2AM). *J. Appl. Cryst.*, 30:900–904, 1997.
- [139] K. SIMONS et E. IKONEN : Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 387:569–572, 1997.
- [140] K. SIMONS et D. TOOMRE : Lipid rafts and signal transduction. *Nature Reviews Molec. Cell Biol.*, 1:31–39, 2000.
- [141] S. J. SINGER et G. L. NICOLSON : The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175:720–31, 1972.
- [142] T. SINTES et A. BAUMGÄRTNER : Protein attraction in membranes induced by lipid fluctuations. *Biophys. J.*, 73:2251–2259, 1997.
- [143] M. M. SPEROTTO, S. MAY et A. BAUMGAERTNER : Modelling of proteins in membranes. *Chem. Phys. Lipids*, 141:2–29, 2006.

- [144] D. SPOLIANSKY, V. PONSINET, J. FERRÉ et J.-P. JAMET : Magneto-optical study of the orientation confinement of particles in ferrolyotropic systems. *Eur. Phys. J. E*, 1:227–235, 2000.
- [145] Shouheng SUN, Simone ANDERS, Hendrik F. HAMANN, Jan-U. THIELE, J. E. E. BAGLIN, Thomas THOMSON, Eric E. FULLERTON, C. B. MURRAY et Bruce D. TERRIS : Polymer mediated self-assembly of magnetic nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, 124:2884–2885, 2002.
- [146] Shouheng SUN, C. B. MURRAY, Dieter WELLER, Liesl FOLKS et Andreas MOSER : Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *Science*, 287:1989–1992, 2000.
- [147] N. TAULIER, C. NICOT, M. WAKS, R. S. HODGES, R. OBER et W. URBACH : Unbinding-binding transition induced by molecular snaps in model membranes. *Biophys. J.*, 78:857–865, 2000.
- [148] E. THIELE : Equation of state for hard spheres. *J. Chem. Phys.*, 39:474–479, 1963.
- [149] T. THURN-ALBRECHT, J. SCHOTTER, G. A. KÄSTLE, N. EMLEY, T. SHIBAUCHI, L. KRUSIN-ELBAUM, K. GUARINI, C. T. BLACK, M. T. TUOMINEN et T. P. RUSSELL : Ultrahigh-density nanowire arrays grown in self-assembled diblock copolymer templates. *Science*, 290:2126–2129, 2000.
- [150] D. P. TIELEMAN, H. J. C. BERENDSEN et M. S. P. SANSOM : An alamethicin channel in a lipid bilayer : Molecular dynamics simulations. *Biophys. J.*, 76:1757–1769, 1999.
- [151] D. P. TIELEMAN, B. HESS et M. S. P. SANSOM : Analysis and evaluation of channel models : Simulations of alamethicin. *Biophys. J.*, 83:2393–2407, 2002.
- [152] Metin TOLAN : *X-ray scattering from soft-matter thin films*. Springer Verlag, Berlin, 1999.
- [153] M. S. TURNER et P. SENS : Interactions between particulate inclusions in a smectic-A liquid crystal. *Phys. Rev. E*, 55:1275–1278, 1997.
- [154] Paul van der SCHOOT : Nematics of linear assemblies in two dimensions. *J. Chem. Phys.*, 106:2355–2359, 1997.
- [155] Maddalena VENTUROLI, Berend SMIT et Maria Maddalena SPEROTTO : Simulation studies of protein-induced bilayer deformations, and lipid-induced protein tilting, on a mesoscopic model for lipid bilayers with embedded proteins. *Biophys. J.*, 88:1778–1798, 2005.
- [156] Pär WÄSTERBY et Per-Ola QUIST : Interactions between membranes crammed with gramicidin. *Langmuir*, 14:3704–3709, 1998.
- [157] M. S. WERTHEIM : Exact solution of the Percus-Yevick integral equation for hard spheres. *Phys. Rev. Lett.*, 10:321–323, 1963.
- [158] R. L. C. WINK : Liquid crystals in two dimensions : First-order phase transitions and nonuniversal critical behavior. *Phys. Rev. Lett.*, 98:217801, 2007.
- [159] Thomas B. WOOLF et Benoît ROUX : Structure, energetics, and dynamics of lipid-protein interactions : A molecular dynamics study of the gramicidin A channel in a DMPC bilayer. *Proteins*, 24:92–114, 1996.
- [160] Y. WU, K. HE, S. J. LUDTKE et H. W. HUANG : X-ray diffraction study of lipid bilayer membranes interacting with amphiphilic helical peptides : diphytanoyl phosphatidylcholine with alamethicin at low concentration. *Biophys. J.*, 68:2361–2369, 1995.
- [161] Jun YAMAMOTO et Hajime TANAKA : Dynamic control of the photonic smectic order of membranes. *Nature Materials*, 4:75–80, 2004.
- [162] L. YANG, T.M. WEISS, T.A. HARROUN, W.T. HELLER et H.W. HUANG : Supramolecular structures of peptide assemblies in membranes by neutron off-plane scattering : Method of analysis. *Biophys. J.*, 77:2648–2656, 1999.



- [163] Lihua YANG, Hongjun LIANG, Thomas E. ANGELINI, John BUTLER, Robert CORIDAN, Jay X. TANG et Gerard C. L. WONG : Self-assembled virus-membrane complexes. *Nature Materials*, 3:615–619, 2004.
- [164] Lin YANG, Thomas M. WEISS, Robert I. LEHRER et Huey W. HUANG : Crystallization of antimicrobial pores in membranes : Magainin and protegrin. *Biophys J.*, 79:2002–2009, 2000.
- [165] T. ZHANG, C. SPITZ, M. ANTONIETTI et C. F. FAUL : Highly photoluminescent polyoxo-metaloeuropate-surfactant complexes by ionic self-assembly. *Chem. Eur. J.*, 11:1001–1009, 2005.

# Curriculum Vitae

## Renseignements personnels

**Doru-Cosmin CONSTANTIN**

Né le 20/11/1975 à Bucarest (Roumanie).  
Nationalité roumaine, marié, un enfant.

Adresse personnelle :  
25bis, résidence Le Bois du Roi  
91940 Les Ulis

Adresse professionnelle :  
Laboratoire de Physique des Solides  
UMR 8502 Université Paris Sud Bât. 510  
91405 ORSAY CEDEX

Tel : +33 (0)1 69 15 53 10

Fax : +33 (0)1 69 15 60 86

E-MAIL : [constantin@lps.u-psud.fr](mailto:constantin@lps.u-psud.fr)

WWW : <http://www.lps.u-psud.fr/Utilisateurs/constant/>

## Formation

- 1994 – 1997 Université de Bucarest, Faculté de Physique
- 1997 – 2002 ENS de Lyon, Dépt. des Sciences de la Matière (Physique)
- 11 juillet 2002 Doctorat de l'École Normale Supérieure de Lyon (avec la mention Très Honorable), délivré après soutenance de la thèse *Défauts d'équilibre des phases ordonnées et structure du liquide isotrope d'un mélange lyotrope de surfactant non-ionique*.

## Situation actuelle

- depuis 1/10/2005 Chargé de recherches au CNRS (1ère classe depuis 1/10/2009).

## Expérience

- juin–juillet 1998 Stage de licence, à l'Université de Bucarest, sous la direction de Vlad Popa-Niță.
- avril–juillet 1999 Stage de DEA au Laboratoire de Physique de l'École Normale Supérieure de Lyon, sous la direction de Patrick Oswald.
- sept. 1999–sept. 2002 Allocataire de recherche au Laboratoire de Physique de l'École Normale Supérieure de Lyon, sous la direction de Patrick Oswald.
- nov. 2002–janvier 2005 Post-doctorat (bourse individuelle Marie Curie) dans l'Institut für Röntgenphysik de l'Université de Göttingen.
- février–juillet 2005 Chargé de recherches associé au CNRS, au Laboratoire de Physique de l'École Normale Supérieure de Lyon.

## Présentations invitées dans des conférences internationales

- févr. 2010 Réunion des utilisateurs ESRF (Grenoble)  
session parallèle "Soft Matter Structures"  
*Slow relaxation in colloidal mesophases*
- déc. 2009 X-ray coherent diffraction workshop (SOLEIL, St. Aubin)  
*X-ray Photon Correlation Spectroscopy : Principle and applications*
- mai 2007 Second GISAXS Workshop (Hambourg)  
*Interaction between peptide pores in lipid bilayers*
- nov. 2004 Jülich Soft Matter Days (Kerkrade)  
*Lipid-peptide interaction in biomimetic membranes*

## Activités diverses

- Rapporteur pour *J. Am. Chem. Soc.*, *Langmuir*, *J. Phys. Chem. B*, *Soft Matter*, *Phys. Rev. Lett.* et *Phys. Rev. E*.
- Depuis la rentrée 2006, organisateur du séminaire de matière molle au LPS.
- Membre du comité d'organisation du 14ème Colloque Francophone des Cristaux Liquides (8-11 septembre 2009, Orsay)
- Membre du comité scientifique international de la GISAS Satellite Conference (20-23 septembre 2009, Hambourg)

# Liste de publications

depuis 2003 (après le doctorat).

- [Béneut *et al.*, 2008] BÉNEUT, K., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., DESSOMBZ, A. et CHANÉAC, C. (2008). Magnetic nanorods confined in a lamellar lyotropic phase. *Langmuir*, 24:8205–8209.
- [Brotons *et al.*, 2005] BROTONS, G., CONSTANTIN, D., MADSEN, A. et SALDITT, T. (2005). Coherent x-ray scattering and speckle pattern of solid-supported surfactant bilayers. *Physica B*, 357:61–65.
- [Constantin, 2006] CONSTANTIN, D. (2006). Topological evolution in the ordered and isotropic phases of a lyotropic system. In POPA-NITA, V., éditeur : *Phase Transitions. Applications in Liquid Crystals, Organic Electronic and Optoelectronic Fields*, chapitre 9. Research Signpost, Kerala, India.
- [Constantin, 2009] CONSTANTIN, D. (2009). Membrane-mediated repulsion between gramicidin pores. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1788:1782–1789.
- [Constantin, 2010] CONSTANTIN, D. (2010). The interaction of hybrid nanoparticles inserted within surfactant bilayers. *The Journal of Chemical Physics*, 133:144901.
- [Constantin *et al.*, 2007] CONSTANTIN, D., BROTONS, G., JARRE, A., LI, C. et SALDITT, T. (2007). Interaction of alamethicin pores in DMPC bilayers. *Biophys. J.*, 92:3978–3987.
- [Constantin *et al.*, 2006] CONSTANTIN, D., BROTONS, G., SALDITT, T., FREYSSINGEAS, E. et MADSEN, A. (2006). Dynamics of bulk fluctuations in a lamellar phase studied by coherent x-ray scattering. *Phys. Rev. E*, 74:031706.
- [Constantin *et al.*, 2010a] CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P. et CHANÉAC, C. (2010a). Lyotropic lamellar phase doped with a nematic phase of magnetic nanorods. *Langmuir*, 26:4586–4589.
- [Constantin *et al.*, 2010b] CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., FREYSSINGEAS, E. et MADSEN, A. (2010b). Slow dynamics of a colloidal lamellar phase. *The Journal of Chemical Physics*, 133:224902.
- [Constantin *et al.*, 2003] CONSTANTIN, D., MENNICKE, U., LI, C. et SALDITT, T. (2003). Solid-supported lipid multilayers : Structure factor and fluctuations. *Eur. Phys. J. E*, 12:283–290.

- [Constantin *et al.*, 2005] CONSTANTIN, D., OLLINGER, C., VOGEL, M. et SALDITT, T. (2005). Electric field unbinding of solid-supported lipid multilayers. *Eur. Phys. J. E*, 18:273–278.
- [Constantin *et al.*, 2008] CONSTANTIN, D., PANSU, B., IMPÉROTOR, M., DAVIDSON, P. et RIBOT, F. (2008). Repulsion between inorganic particles inserted within surfactant bilayers. *Physical Review Letters*, 101:098101.
- [Levitz *et al.*, 2008] LEVITZ, P., ZINSMEISTER, M., DAVIDSON, P., CONSTANTIN, D. et PONCELET, O. (2008). Intermittent brownian dynamics over a rigid strand : Heavily tailed relocation statistics in a simple geometry. *Physical Review E*, 101:030102(R).
- [Li *et al.*, 2004] LI, C., CONSTANTIN, D. et SALDITT, T. (2004). Biomimetic membranes of lipid–peptide model systems prepared on solid support. *J. Phys. Cond. Matt.*, 16:S2439–S2453.
- [Mennicke *et al.*, 2006] MENNICKE, U., CONSTANTIN, D. et SALDITT, T. (2006). Structure and interaction potentials in solid-supported lipid membranes studied by x-ray reflectivity at varied osmotic pressure. *Eur. Phys. J. E*, 20:221–230.
- [Ollinger *et al.*, 2005] OLLINGER, C., CONSTANTIN, D., SEEGER, J. et SALDITT, T. (2005). Determination of the smectic penetration length in a lipid membrane stack. *Europhys. Lett.*, 71:311–317.
- [Poulos *et al.*, 2010a] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., IMPÉROTOR, M., JUDEINSTEIN, P. et PANSU, B. (2010a). A PGSE-NMR study of molecular self-diffusion in lamellar phases doped with polyoxometalates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114:220–227.
- [Poulos *et al.*, 2008] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., IMPÉROTOR, M., PANSU, B., PANINE, P., NICOLE, L. et SANCHEZ, C. (2008). Photochromic hybrid organic-inorganic liquid-crystalline materials built from nonionic surfactants and polyoxometalates : Elaboration and structural study. *Langmuir*, 24:6285–6291.
- [Poulos *et al.*, 2010b] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., PANSU, B., FREYSSINGEAS, E., MADSEN, A. et CHANÉAC, C. (2010b). Short-range dynamics of a nematic liquid-crystalline phase. *The Journal of Chemical Physics*, 132:091101.

# **Publications jointes**



## **Systèmes hybrides**

[Poulos *et al.*, 2008] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., IMPÉROTOR, M., PANSU, B., PANINE, P., NICOLE, L., ET SANCHEZ, C.. (2008). Photochromic hybrid organic-inorganic liquid-crystalline materials built from nonionic surfactants and polyoxometalates : Elaboration and structural study. *Langmuir*, 24 :6285-6291.

[Poulos *et al.*, 2010a] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., IMPÉROTOR, M., JUDEINSTEIN, P. ET PANSU, B.. (2010). A PGSE-NMR study of molecular self-diffusion in lamellar phases doped with polyoxometalates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114 :220-227.

## **Inclusions membranaires**

[Li *et al.*, 2004] LI, C., CONSTANTIN, D. ET SALDITT, T.. (2004). Biomimetic membranes of lipid-peptide model systems prepared on solid support. *J. Phys. Cond. Matt.*, 16 :S2439-S2453.

[Constantin, 2010] CONSTANTIN, D.. (2010). The interaction of hybrid nanoparticles inserted within surfactant bilayers. *The Journal of Chemical Physics*, 133 :144901.

## **XPCS**

[Constantin *et al.*, 2006] CONSTANTIN, D., BROTONS, G., SALDITT, T., FREYSSINGEAS, E. ET MADSEN, A.. (2006). Dynamics of bulk fluctuations in a lamellar phase studied by coherent x-ray scattering. *Phys. Rev. E*, 74 :031706.

[Poulos *et al.*, 2010b] POULOS, A. S., CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., PANSU, B., FREYSSINGEAS, E., MADSEN, A. ET CHANÉAC, C.. (2010). Short-range dynamics of a nematic liquid-crystalline phase. *The Journal of Chemical Physics*, 132 :091101.

[Constantin *et al.*, 2010b] CONSTANTIN, D., DAVIDSON, P., FREYSSINGEAS, E. ET MADSEN, A.. (2010). Slow dynamics of a colloidal lamellar phase. *The Journal of Chemical Physics*, 133 :224902.





# Photochromic Hybrid Organic–Inorganic Liquid-Crystalline Materials Built from Nonionic Surfactants and Polyoxometalates: Elaboration and Structural Study

Andreas S. Poulos,<sup>†</sup> Doru Constantin,<sup>†</sup> Patrick Davidson,<sup>\*,†</sup> Marianne Impéror,<sup>†</sup> Brigitte Pansu,<sup>†</sup> Pierre Panine,<sup>‡</sup> Lionel Nicole,<sup>§</sup> and Clément Sanchez<sup>§</sup>

Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris Sud, CNRS, UMR 8502, F-91405 Orsay Cedex, France, European Synchrotron Radiation Facility, BP 220, F-38043 Grenoble cedex, France, Chimie de la matière Condensée, UMR 7574 CNRS, Université Pierre et Marie Curie, 4 Place Jussieu, 75005 Paris, France

Received February 8, 2008. Revised Manuscript Received February 29, 2008

This work reports the elaboration and structural study of new hybrid organic–inorganic materials constructed via the coupling of liquid-crystalline nonionic surfactants and polyoxometalates (POMs). X-ray scattering and polarized light microscopy demonstrate that these hybrid materials, highly loaded with POMs (up to 18 wt %), are nanocomposites of liquid-crystalline lamellar structure ( $L_{\alpha}$ ), with viscoelastic properties close to those of gels. The interpretation of X-ray scattering data strongly suggests that the POMs are located close to the terminal –OH groups of the nonionic surfactants, within the aqueous sublayers. Moreover, these materials exhibit a reversible photochromism associated to the photoreduction of the polyanion. The photoinduced mixed-valence behavior has been characterized through ESR and UV–visible–near-IR spectroscopies that demonstrate the presence of  $W^V$  metal cations and of the characteristic intervalence charge transfer band in the near-IR region, respectively. These hybrid nanocomposites exhibit optical properties that may be useful for applications involving UV-light-sensitive coatings or liquid-crystal-based photochromic switches. From a more fundamental point of view, these hybrid materials should be very helpful models for the study of both the static and dynamic properties of nano-objects confined within soft lamellar structures.

## Introduction

The field of organic–inorganic hybrid materials has mushroomed during the past 10 years thanks to the detailed understanding of molecular interactions and to the availability of a large library of building blocks.<sup>1</sup> Presently, molecular approaches to nanomaterials are sophisticated enough for nanochemists to design numerous molecular species and to elaborate new functional hybrid materials with enhanced properties. Organic–inorganic association represents a creative way to design new materials and compounds for academic research; moreover, their improved or unusual features allow the development of innovative industrial applications. Indeed, in addition to their large diversity in chemical and physical properties and shape, hybrid nanocomposites present the advantage of facilitating both integration and miniaturization, therefore suggesting promising applications in many fields. (Protective and decorative coatings, micro-optics, microelectronics, ionics and mechanics, functional membranes or barriers, catalysis, sensors, photovoltaic and fuel cells, bioactive hybrids, dental applications, nanocomposites with anti-inflammability properties, etc.<sup>2</sup>) Association of inorganic and organic components is also an efficient and useful tool for designing complex nanostructured dense or porous

architectures.<sup>3</sup> Indeed, hybrid materials comprised of surfactants have raised worldwide interest for the production of mesoporous matrices.<sup>4</sup> In this context, materials scientists have investigated the association of molecular or polymeric surfactants with all kinds of inorganic moieties that can be sol–gel derived oligomers or well-defined NanoBuilding Blocks (NBBs) such as clusters or nanoparticles.<sup>5</sup>

Among NBBs, polyoxometalates (POMs) deserve special attention due to their very well-defined and elegant molecular structures and to their many original physical and chemical properties, which make them interesting compounds for applications in catalysis, electrochemistry, and even in biology.<sup>6</sup> However, the use of POMs is significantly restricted by processing difficulties due to their very large solubility in aqueous solution. This led various teams to produce hybrid materials where POMs are dispersed within, for example, silica or polymer matrices.<sup>7</sup> The association of the negatively charged POMs with various

(3) Sanchez, C.; Arribart, H.; Giraud-Guille, M. M. *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 277–288.

(4) (a) Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. T.; Chen, C. T.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; McCullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10834–10843. (b) Zhao, D.; Feng, J.; Huo, Q.; Melosh, N.; Fredrickson, G.; Chmelka, B.; Stucky, G. D. *Science* **1998**, *279*, 548–552. (c) Soler-Illia, G. J. D.; Sanchez, C.; Lebeau, B.; Patarin, J. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4093–4138. (d) Brinker, C. J.; Dunphy, D. R. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2006**, *11*, 126–132. (e) Soler-Illia, G. J. A. A.; Innocenzi, P. *Chem.–Eur. J.* **2006**, *12*, 4478–4494. (f) Hoffmann, F.; Cornelius, M.; Morell, J.; Fröba, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 3216–3251.

(5) Sanchez, C.; Boissière, C.; Grosso, D.; Laberty, C.; Nicole, L. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 682–737.

(6) (a) Pope, M. T.; Müller, A. *Angew. Chem.* **1991**, *30*, 34–48. (b) Katsoulis, D. E. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 359–387. (c) Gouzerh, P.; Proust, A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 77–111.

(7) (a) Polarz, S.; Smarsly, B.; Göltner, C.; Antonietti, M. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1503–1507. (b) Freund, M. S.; Karp, C.; Lewis, N. S. *Inorg. Chim. Acta* **1995**, *240*, 447–451. (c) Judenstein, P.; Schmidt, H. J. *Sol-Gel Sci. Tech.* **1994**, *3*, 189–197.

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: davidson@lps.u-psud.fr. Tel.: +33 (0)1 69 15 53 93. Fax: +33 (0)1 69 15 60 86.

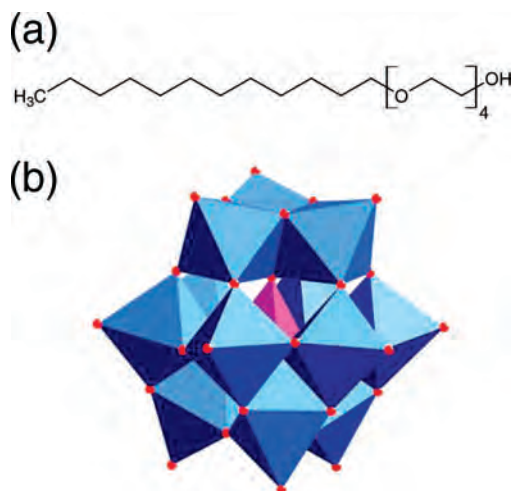
<sup>†</sup> CNRS-Université Paris Sud.

<sup>‡</sup> European Synchrotron Radiation Facility.

<sup>§</sup> CNRS-Université Pierre et Marie Curie.

(1) (a) Sanchez, C.; Soler-Illia, G. J. D. A.; Ribot, F.; Lalot, T.; Mayer, C. R.; Cabuil, V. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3061–3083. (b) Kickelbick, G. *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 83–114. (c) Kickelbick, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 3102–3104. (d) Functional Hybrid Materials; Gómez-Romero, P., Sanchez, C., Eds; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2003.

(2) Sanchez, C.; Julian, B.; Belleville, P.; Popall, M. *J. Mat. Chem.* **2005**, *15*, 3559–3592.



**Figure 1.** (a) Chemical formula of the Brij30 nonionic surfactant. (b) Representation of the  $\text{PW}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  POM. This heteropolyanion of Keggin structure has a phosphorus atom in tetrahedral coordination at its center, surrounded by 12  $\text{WO}_6$  octahedra arranged in four groups of three edge-shared octahedra. These triplets are linked together by sharing corners and are also linked to the central  $\text{PO}_4$  tetrahedron.

cationic surfactants was also recently reported by several research groups that employed an ionic self-assembly strategy to produce Langmuir–Blodgett films, different kinds of mesophases, and even single crystals.<sup>8</sup>

In this work, we use a different strategy where we dope the lamellar liquid-crystalline  $L_\alpha$  phase (i.e., a stack of fluid membranes separated by aqueous regions) of a nonionic commercial surfactant, named Brij30 (essentially  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$ , Figure 1a), with large amounts (up to about 18 wt %) of POMs. Phosphodecatungstic acid [ $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ] (Figure 1b) was used as the inorganic NBB because it is one of the simplest commercially available POMs, it is extremely soluble in water, and it was the subject of countless reports in the literature.<sup>6,9</sup> We thus obtained, in a very general way, hybrid materials that combine the interesting electronic properties of POMs with the alignment and processability of liquid-crystalline phases. Here, we describe the elaboration of this doped lamellar mesophase, its molecular organization, and its photoinduced optical properties that may open opportunities for applications involving UV-light-sensitive coatings, liquid-crystal-based photochromic switches, oxygen sensors, etc.

In contrast with previous work, we associated this inorganic nanobuilding block with a nonionic surfactant so that the organic–inorganic association is based not on covalent or ionic bonding but only on weak interactions such as hydrogen, Van der Waals, or solvation bonds. This should allow for better dynamics and therefore let the nanocomposite system reach complete thermodynamic equilibrium with faster kinetics. Moreover, because of the absence of specific interactions, we

expect that the features described here should be fairly general to this class of systems.

We report the phase diagram of these hybrid materials as a function of surfactant overall volume fraction in the mixtures,  $\phi_{\text{Surf}}$ , and of the POMs volume fraction in the aqueous medium,  $\phi_{\text{POM}}$ . The diagrams were obtained by performing optical observations in polarized light and small-angle X-ray scattering (SAXS) experiments. The localization of the POMs within the lamellar phase was also inferred from the SAXS data. Finally, we followed the UV-induced reduction of the POMs confined within the lamellar phase by electron spin resonance (ESR) and UV–visible–near-IR spectroscopic techniques.

## Materials and Methods

**Materials.** The surfactant Brij30 was purchased from Sigma-Aldrich and used without any further purification. It consists mostly of  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$  along with a smaller amount of related  $\text{C}_n\text{EO}_m$  molecules. Pure  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$  (Nikkol, 99%) was also used for comparison. The density of Brij30 is  $0.946 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  (according to Sigma-Aldrich); that of  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$  is  $0.95 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  (Nikkol). At room temperature, within a given concentration range (25–85 wt %), aqueous solutions of  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$  were reported to form a lamellar mesophase.<sup>10</sup>

The  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  POMs were purchased from Sigma-Aldrich either directly in aqueous solution ( $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 1.4\%$ ) or in white powder form. These chemicals were used without any further purification. (Purity 99.995%.) The weight proportion of water ( $\sim 10\%$ ) in the powder was measured by drying at  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ . The volume of each POM is  $0.685 \text{ nm}^3$ , and its molar mass  $2880.17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , giving a ‘density’ for a POM of  $6980 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ . Thus, for a solution of  $M_{\text{POM}}$  grams of POMs in  $M_{\text{W}}$  grams of water, the volume fraction is given by  $\phi_{\text{POM}} = V_{\text{POM}}/(V_{\text{POM}} + V_{\text{W}}) = (M_{\text{POM}}/\rho_{\text{POM}})/(M_{\text{POM}}/\rho_{\text{POM}} + M_{\text{W}}/\rho_{\text{W}})$ . The maximum solubility of  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  in water is  $200 \text{ g}/100 \text{ mL}$ , giving a maximum volume fraction ( $\phi_{\text{POM}}$ ) of about 22%. (We have prepared and used a solution with a maximum  $\phi_{\text{POM}}$  of 15%.)

**Sample Preparation.** All samples were prepared in 4 mL tubes. Each tube was rinsed multiple times with Millipore water and then left to dry in an oven. The surfactant was weighed and added first. The volume of the added surfactant,  $V_{\text{Surf}}$ , was calculated on the basis of the density of Brij30 ( $\rho = 0.946 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Then, for each ‘line’ of fixed surfactant volume fraction,  $\phi_{\text{Surf}}$ , the appropriate amount of POM solution,  $V_{\text{aq}}$ , was calculated using a simple dilution law  $V_{\text{aq}} = (1/\phi_{\text{Surf}} - 1)V_{\text{Surf}}$ . The correct volume of POMs solution was added using a precision micropipette and also weighed to check against its known density. In that way,  $\phi_{\text{POM}}$  and  $\phi_{\text{Surf}}$  were varied from 0% to 20% and from 5% to 70%, respectively.

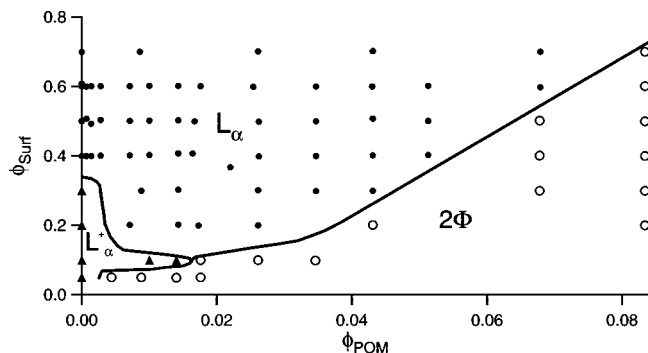
After all the components were added, the samples were sealed with parafilm and mixed with a vortexer. Finally, they were centrifuged (180 g, 5 min) to collect all material at the bottom of the tube. The samples were stored inside a cupboard to avoid exposure to light and were left to stand for 1 week before preparation of optical and X-ray capillaries for phase determination. All samples are colorless as long as they are not exposed to UV light. They are visco-elastic liquids. The samples were regularly inspected over up to about a year to notice any evolution with time.

**Optical Observations.** The mixtures were inspected with the naked eye (in natural light and between crossed polarizers) to assess their homogeneity, the number of phases, and to detect any birefringence. Samples suitable for polarized light microscopy were prepared by gently sucking material with a syringe into flat glass capillary tubes (VitroCom Inc., Mountain Lakes, NJ), 50, 100, or  $200 \mu\text{m}$  thick. The capillaries were flame-sealed and also stored in the dark. They were examined with an Olympus BX51 polarizing microscope, and their textures were photographed using an Olympus (Camedia C-3030) digital camera. The microscope was also equipped with a Mettler FP52 heating stage.

(8) (a) ClementeLeon, M.; Agricole, B.; Mingotaud, C.; GomezGarcia, C. J.; Coronado, E.; Delhaes, P. *Langmuir* **1997**, *13*, 2340–2347. (b) ClementeLeon, M.; Mingotaud, C.; Agricole, B.; GomezGarcia, C. J.; Coronado, E.; Delhaes, P. *Angew. Chem.* **1997**, *36*, 1114–1116. (c) Polarz, S.; Smarsly, B.; Antonietti, M. *ChemPhysChem* **2001**, *7*, 457–461. (d) Zhang, T.; Spitz, C.; Antonietti, M.; Faul, C. F. J. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1001–1009. (e) Nyman, M.; Ingersoll, D.; Singh, S.; Bonhomme, F.; Alam, T. M.; Brinker, C. J.; Rodriguez, M. A. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 2885–2895. (f) Li, W.; Bu, W.; Wu, L.; Li, M. *Chem. Com.* **2005**, 3785–3787. (g) Li, W.; Yi, S.; Wu, Y.; Wu, L. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 16961–16966. (h) Sun, H.; Li, H.; Bu, W.; Xu, M.; Wu, L. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24847–24854. (i) Moriguchi, I.; Orishikida, K.; Tokuyama, Y.; Watabe, H.; Kagawa, S.; Teraoka, Y. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 2430–2435. (j) Li, W.; Yin, S.; Wang, J.; Wu, L. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 514–522.

(9) Keggin, J. F. *Nature* **1933**, *131*, 908–909.

(10) (a) Mitchell, D. J.; Tiddy, G. J. T.; Waring, L.; Bostock, T.; McDonald, M. P. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **1983**, *79*, 975–1000. (b) Strey, R. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 182–189.



**Figure 2.** Phase diagram of the (Brij30–H<sub>2</sub>O–[PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>]<sup>3-</sup>) hybrid system represented as a function of the overall surfactant volume fraction,  $\phi_{\text{Surf}}$ , and the POMs volume fraction in the aqueous medium,  $\phi_{\text{POM}}$ . The solid circles, solid triangles, and open circles represent the  $L_\alpha$  phase, the  $L_\alpha^+$  phase, and the biphasic region, respectively.

**Small-Angle X-ray Scattering.** SAXS experiments were performed both with a laboratory setup and at the ID02 experimental station of the European Synchrotron Radiation Facility. The laboratory setup has already been described in detail.<sup>11</sup> It consists of a rotating Cu anode generator (Rigaku), graded layer Ni/C mirror optics (Osmic), vacuum tubes (inserted between the sample and the detection), and a CCD camera (Princeton, SCX90). The ID02 beamline, which was also described in detail,<sup>12</sup> allowed us to probe the 0.2–5 nm<sup>-1</sup>  $q$ -range, where  $q$  is the scattering vector modulus  $q = (4\pi/\lambda) \sin \theta$ ,  $\lambda = 0.0995$  nm is the wavelength, and  $2\theta$  is the scattering angle. Two-dimensional SAXS patterns were recorded using an X-ray image intensifier coupled to a fast read-out CCD (FreLoN) camera with a typical exposure time of 1 s. Appropriate corrections were carried out, and the data were analyzed with *Fit2d* (ESRF) and *Image* (LPS, Orsay) software. The scattered intensity (in absolute units) was radially averaged to produce one-dimensional graphs of the scattered intensity versus scattering vector modulus.

For all SAXS experiments, the samples were held in cylindrical Lindemann glass capillaries (Mark-Rohrchen, Germany) of diameters ranging from 0.5 to 1.0 mm. The capillaries were flame-sealed and submitted to a thermal shock by dipping them in cold water at 0 °C just before the measurements in order to obtain a completely random “powder” distribution of lamellar phase domains.

**Electron Spin Resonance (ESR) Experiments.** The ESR experiments were performed with a Bruker Elexsys E500 spectrometer equipped with a SHQ resonator. The ESR spectra were lock-in detected with a modulation of the applied magnetic field at a frequency of 100 kHz and with a 5 G amplitude. The field offset of the electromagnet was measured with a DPPH sample with  $g = 2.0037 \pm 0.0002$  and is  $4.3 \pm 0.4$  G for spectra near  $g = 2$ .

The samples were contained in quartz tubes (diameter of 4 mm) and degassed by freeze–pump–thaw cycling. They were exposed to light delivered by a UV lamp (Bioblock Scientific,  $\lambda = 254$  nm, power 30 W) for times ranging from 15 min to 2 h in order to produce reduced POM species. They were cooled down with a helium flow ESR900 cryostat from Oxford Instruments.

**UV–Vis–Near-IR Spectroscopy.** UV–vis spectra were recorded with a Varian Cary 5 spectrophotometer in the 200–2000 nm wavelength range. Samples were held in flat quartz cells of 1 mm thickness. Photoreduced samples, exposed to UV light in the same conditions as above, were measured against a reference pristine sample (i.e., not exposed to UV light).

## Results

The phase diagram of this system was mapped out as a function of  $\phi_{\text{POM}}$  and  $\phi_{\text{Surf}}$ , as shown in Figure 2. A wide

single-phase lamellar  $L_\alpha$  region was observed, extending up to  $\phi_{\text{POM}} \approx 9\%$  at  $\phi_{\text{Surf}} = 70\%$  and to  $\phi_{\text{POM}} \approx 4\%$  at  $\phi_{\text{Surf}} = 20\%$  (Figure 3). This phase could only be obtained for  $\phi_{\text{Surf}} > 20\%$ . The lamellar phase was identified by polarized light microscopy and SAXS experiments. Optical textures, typical of the  $L_\alpha$  phase, displayed the usual oily streaks separating regions of homeotropic alignment on the glass walls of the flat capillaries (Figure 4a). The SAXS patterns (Figure 5) revealed a series of sharp reflections at  $q$ -vector moduli in ratios 1:2:3... Since no sharp reflection could be detected at wide angles, X-ray scattering demonstrates that this mesophase is indeed an  $L_\alpha$  phase (chains are in a fluid state).

Another birefringent but very turbid phase was also identified in pure Brij30, at  $\phi_{\text{Surf}} \approx 10$ –30%, and also at very low  $\phi_{\text{POM}}$ , both by polarized light microscopy and SAXS. It is probably the so-called  $L_\alpha^+$  phase reported previously in the phase diagram of the pure C<sub>12</sub>E<sub>4</sub> surfactant.<sup>10b</sup> This phase shows a wispy texture that looks nematic at first sight but is made of tiny oily streaks and focal conics. Moreover, its X-ray scattering pattern displays rather sharp peaks even though they are broader than those of the usual  $L_\alpha$  phase. The  $L_\alpha^+$  phase was interpreted as a textural state of the usual  $L_\alpha$  phase<sup>10b</sup> but still remains somewhat mysterious. Interestingly, we observe that the  $L_\alpha^+$  phase is unstable with respect to the  $L_\alpha$  phase upon doping with POMs, even at  $\phi_{\text{POM}}$  as low as  $\sim 1\%$ . This  $L_\alpha^+$  phase is therefore only found in a very small region of the phase diagram and we will not consider it any further.

Very concentrated mixtures ( $\phi_{\text{Surf}} > 70\%$ ) were not investigated because they are too viscoelastic. Moreover, the interlamellar distance may be too small to accommodate the POMs in such concentrated samples. Indeed, at  $\phi_{\text{Surf}} = 80\%$ , the thickness (0.8 nm) of the interlamellar space is smaller than the average diameter of the POMs (1.09 nm). Very dilute samples, at very low  $\phi_{\text{Surf}}$ , are biphasic, with a turbid whitish phase at the bottom of the test tubes and a transparent isotropic one at the top. (POMs were found in both phases.) The  $L_\alpha$  phase, at intermediate dilutions ( $\phi_{\text{Surf}} \approx 50\%$ ), can accommodate in its interlamellar aqueous region, a fairly large volume fraction of POMs, extending easily to more than 4% and even up to about 8% for slightly more concentrated samples. (All the samples with  $\phi_{\text{POM}} > 9\%$  are biphasic.) Upon larger doping, the system demixes into a slightly turbid, birefringent lamellar phase at the top of the test tubes and an isotropic one at the bottom. (POMs were found in both phases.) The isotropic phase only gives a weak SAXS peak, which hampers its identification as a  $L_3$  (sponge) phase or a  $L_1$  micellar phase. Altogether, higher  $\phi_{\text{POM}}$  can be reached for more concentrated  $L_\alpha$  phases; in other words, the maximum  $\phi_{\text{POM}}$  is an increasing function of  $\phi_{\text{Surf}}$ .

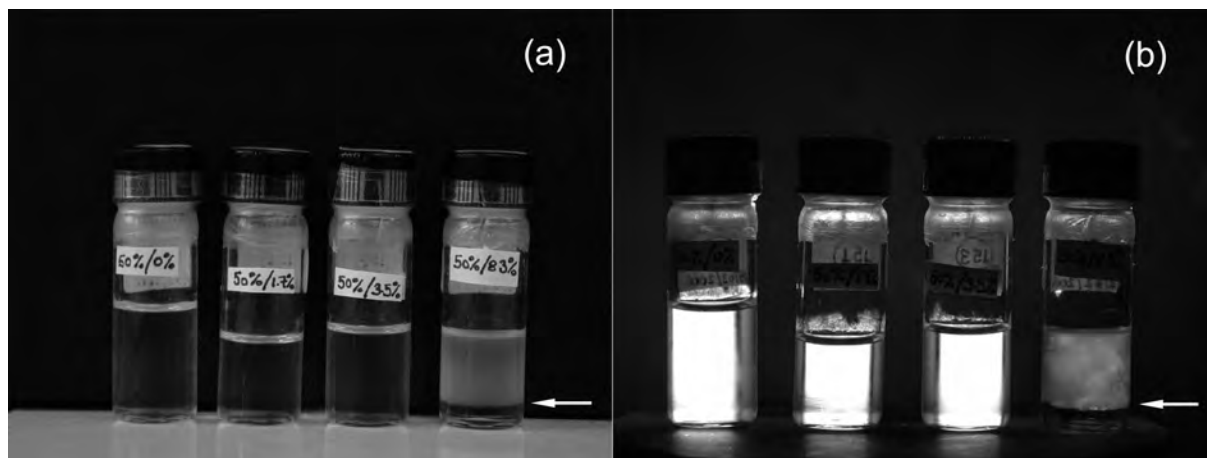
We also observed an area in the range  $\phi_{\text{Surf}} = 30$ –40% and  $\phi_{\text{POM}} = 1.5$ –3.5%, where the  $L_\alpha$  phase displays uniform colors in polarized light microscopy and is particularly fluid. This unexpected feature is presently under study.

Similar experiments carried out with pure C<sub>12</sub>EO<sub>4</sub> instead of Brij30 revealed very similar qualitative features except that the small  $L_\alpha^+$  region was actually not observed (which may be due to the effect of temperature<sup>10b</sup>) and that the doping limit of the lamellar phase was reached at smaller  $\phi_{\text{POM}}$  (around 2.5%). Because of this and because C<sub>12</sub>EO<sub>4</sub> is much more expensive than Brij30, we decided to use this latter surfactant only, bearing in mind possible applications.

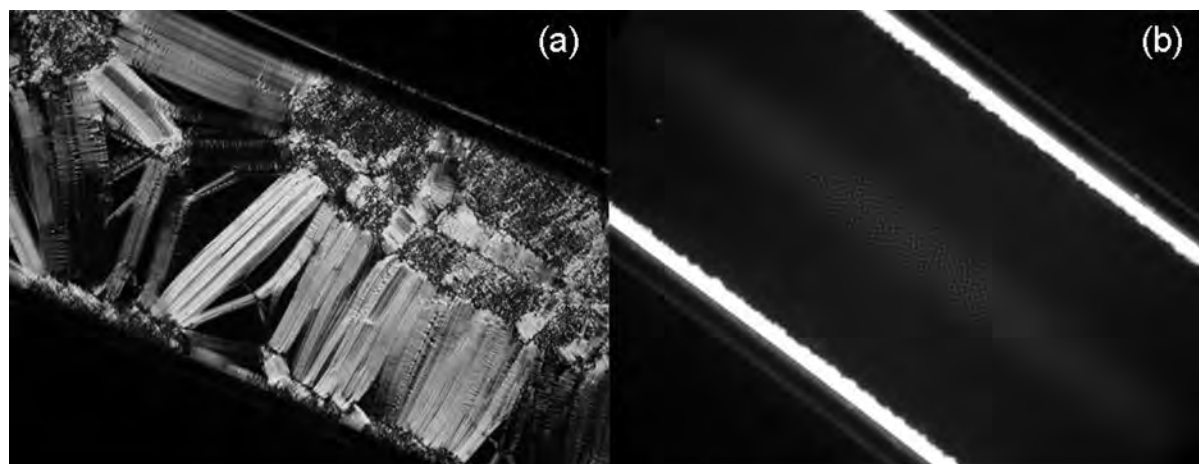
The lamellar period,  $d$ , was measured by SAXS as a function of Brij30 volume fraction at constant  $\phi_{\text{POM}}$ . For a homogeneous  $L_\alpha$  phase, at moderate swelling, a linear dependence of  $d$  with

(11) Impéror-Clerc, M.; Davidson, P. *Eur. Phys. J. B* **1999**, *9*, 93–104.

(12) Narayanan, T.; Diat, O.; Bösecke, P. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. A* **2001**, *467*, 1005–1009.



**Figure 3.** Photographs of test tubes (a) in natural light and (b) in polarized light of a series of samples at constant surfactant concentration ( $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ) and increasing POM doping (from left to right,  $\phi_{\text{POM}} = 0\%$ , 1.7%, 3.5%, and 8.3%). The arrow points to the meniscus between the two phases in the biphasic sample at  $\phi_{\text{POM}} = 8.3\%$ .



**Figure 4.** Observations by polarized light microscopy of the textures of the same capillary ( $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ ) before (a) and after (b) heat treatment. The overall dark appearance of the sample after heat treatment shows that most lamellae are aligned parallel to the flat faces of the capillary. A faint area of parabolic focal conics persists at the center of the sample. The homeotropic orientation is lost at the edges of the capillary, which shows that the phase is actually  $L_{\alpha}$ . The width of the capillary is 1 mm.

$1/\phi_{\text{Surf}}$  is expected (Figure 6) with a slope equal to the membrane thickness,  $\delta$ .<sup>13</sup> The value obtained here, 3.44 nm, compares rather well with the 3.11 nm reported for pure  $C_{12}EO_4$  in the literature.<sup>14</sup>

The number and relative intensities of the different orders of lamellar reflections are clearly altered by the doping at constant  $\phi_{\text{Surf}}$  (see Figure 5). Upon increasing  $\phi_{\text{POM}}$ , more reflections are detected and the intensity of the second order strongly increases compared to that of the first. This feature, which will be addressed in detail in the Discussion section, proves that the POMs are well dispersed in the lamellar phase at the microscopic level.

The clearing temperature  $T_c$  ( $L_{\alpha}$  to isotropic liquid transition) of the lamellar phase strongly decreases with increasing doping. For instance, at  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $T_c = 58$  °C at  $\phi_{\text{POM}} = 4\%$  whereas it is  $T_c = 69$  °C for the undoped phase. This depression of the clearing temperature upon doping with POMs is consistent with the thermodynamic effects of impurity addition.<sup>15</sup> By slowly cooling samples from the isotropic phase in flat glass capillaries,

we were able to grow highly aligned samples in homeotropic orientation that appear quite dark between crossed polarizers (Figure 4b).

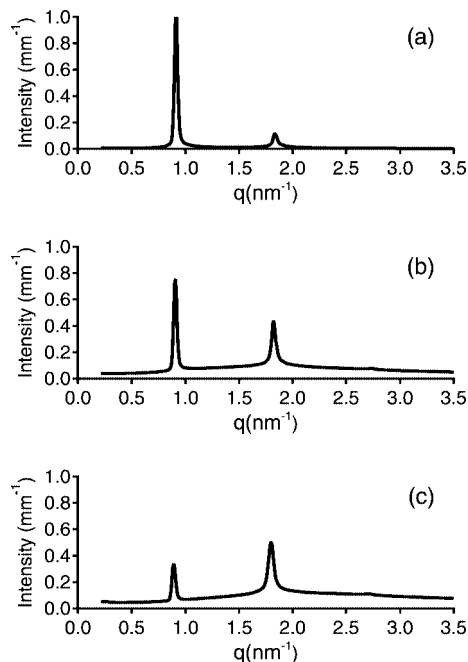
Preliminary rheological experiments (to be published elsewhere in more detail) demonstrate viscoelastic behavior with  $G'' < G'$ ,  $G'$  of the order of a few hundred Pascals, and a yield stress of a few Pascals, for all  $L_{\alpha}$  samples. However, unexpectedly, doping makes the lamellar phase more fluid. The instantaneous elastic modulus  $G_0$  changes from 233 to 182 Pa upon doping the lamellar phase ( $\phi_{\text{Surf}} = 40\%$ ) with  $\phi_{\text{POM}} = 2.5\%$ . At the same time, the viscosity changes from 25.1 to 8.4 Pa·s (measured at a constant stress of 20 Pa).

The POM-doped  $L_{\alpha}$  phase is very sensitive to UV light (and also, to a smaller extent, to natural light,). Indeed, samples exposed to UV light turn blue, which is the sign of the transformation of the  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  species into reduced species. The hybrid  $L_{\alpha}$  phase is actually much more sensitive to photoreduction than the corresponding POM solution of the same concentration (Figure 7). Hence, the Brij30 surfactant must play a role in this redox reaction. When exposure to UV light is stopped, the blue color disappears very slowly as dioxygen gradually diffuses from the test tube atmosphere into the sample and reoxidizes the reduced POM species. This reoxidation-induced bleaching can be

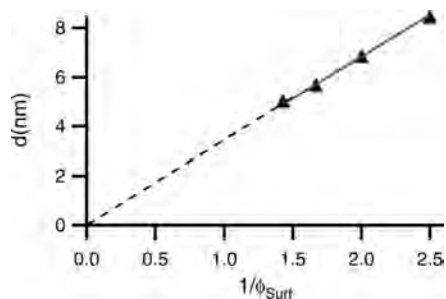
(13) Roux, D.; Safinya, C. R. *J. Phys. (Paris)* **1988**, *49*, 307–318.

(14) Kurtsovski, E.; Taulier, N.; Ober, R.; Waks, M.; Urbach, W. *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 258103–1–4.

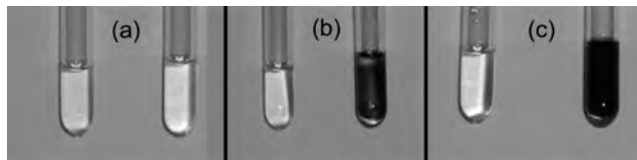
(15) Oswald, P.; Pieranski, P. *Nematic and cholesteric liquid crystals*; CRC Press, Taylor and Francis Group: Boca Raton, FL, 2005; Chapter B IX, p556.



**Figure 5.** Evolution of the SAXS patterns, at fixed surfactant concentration  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ , upon increasing POM doping (a)  $\phi_{\text{POM}} = 0\%$ , (b)  $\phi_{\text{POM}} = 1.7\%$ , and (c)  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ . The ratios of the second and third to first lamellar peak integrated intensities are (a) 0.14 and  $\sim 0$ , (b) 0.7 and  $\sim 0$ , (c) 2.2 and 0.02.



**Figure 6.** Dilution law,  $d$  vs  $1/\phi_{\text{Surf}}$ , of the Brij30  $L_\alpha$  lamellar phase. A linear fit,  $d = \delta/\phi_{\text{Surf}}$ , provides the width of the bilayer:  $d = 3.4$  nm.

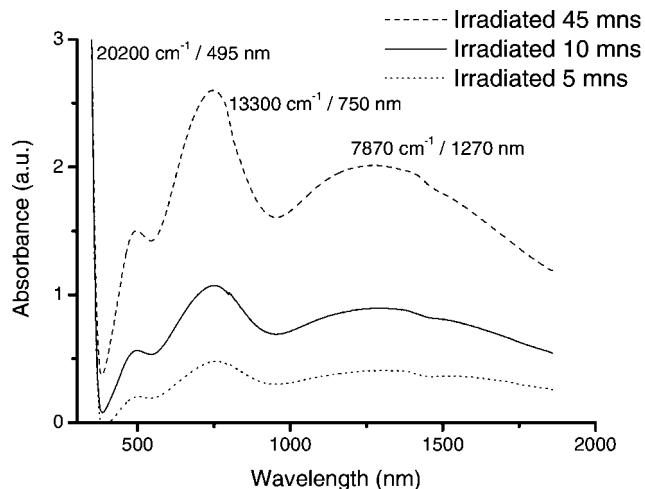


**Figure 7.** Photographs of two test tubes filled with (left) a solution of POMs and (right) the doped lamellar phase, at the same POM concentration (1.7%), recorded after UV light exposure for (a) 0, (b) 15, and (c) 60 min.

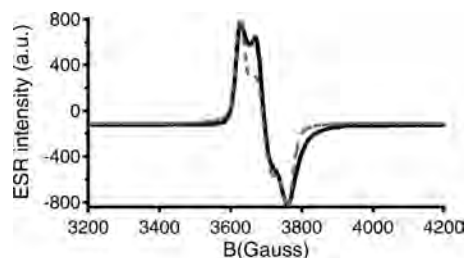
prevented by carefully purging the test tube atmosphere from dioxygen.

Spectroscopic experiments were performed in order to identify the reduced POM species. The light absorption spectrum of these photochromic compounds (Figure 8) exhibits three bands in the visible–near-IR range located at 495 nm, 750 and 1270 nm. These electronic transitions are close to those reported for one-electron reduced dodecatungstate polyanions.<sup>16</sup> They can be assigned to  $d-d$  transitions and to an intervalence transition, respectively.<sup>6,16</sup>

The frozen ESR spectrum of the LC-POM hybrid phase, recorded at 6 K, is shown in Figure 9. This ESR spectrum is



**Figure 8.** Visible and near-IR spectra of a doped lamellar phase ( $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ ) after UV irradiation. Curves (a), (b), and (c) are from samples irradiated for 5, 10, and 45 min, respectively.



**Figure 9.** ESR spectrum of a doped lamellar phase, of composition  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$  and  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ , recorded at 6 K. The dashed line shows the best fit to the spectrum.

typical of a  $W(V)$  ion in an orthorhombic ligand field and can be described by the following Zeeman Hamiltonian:

$$H = g_x \beta H_x S_x + g_y \beta H_y S_y + g_z \beta H_z S_z$$

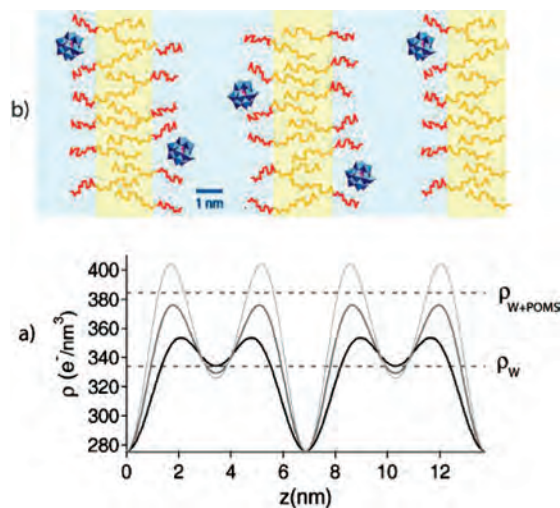
The main axis of Landé tensor,  $\mathbf{g}$ , is taken along the distortion axis  $z$ , i.e., along the  $W=O$  bond. The magnetic parameters deduced from a computer simulation, using a Gaussian line shape, are  $g_x = 1.825$ ,  $g_y = 1.818$ , and  $g_z = 1.784$  (with an accuracy of 0.003). A line broadening is observed above 20 K, and a very broad signal is observed above 60 K.

## Discussion

One of the first issues raised by our work is the localization of the POMs within the  $L_\alpha$  phase. We know that they are rather homogeneously dispersed because no contrast can be seen by optical microscopy in natural light and because X-ray diffraction patterns (both at small and wide angles) are typical of a common  $L_\alpha$  phase. Moreover, the lamellar period does not change with the addition of POMs which is a sign that the system is not biphasic, even at the microscopic level. However, the significant change in the lamellar peak relative intensities points to the fact that the POMs are somehow ‘organized’ inside the  $L_\alpha$  phase.

The question of the POMs localization can be addressed by exploiting the integrated intensities of the lamellar reflections which are deeply altered by POM doping. The only information that we can derive relates to the electron density profile  $\rho(z)$  along the normal to the layers  $Oz$  (Figure 10). Such an approach is actually very classical both for lyotropic lamellar phases of

(16) Sanchez, C.; Livage, J.; Launay, J. P.; Fournier, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 6817–6823.



**Figure 10.** (a) Electronic density reconstruction based on lamellar peak integrated intensities for three samples with  $\phi_{\text{surf}} = 50\%$ . The black, dark grey, and light grey curves correspond to  $\phi_{\text{POM}} = 0\%$ , 1.7%, and 3.5%, respectively. The horizontal lines represent the electronic densities of water ( $334 \text{ e}^- \cdot \text{nm}^{-3}$ ) and of a POM solution with  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$  ( $385 \text{ e}^- \cdot \text{nm}^{-3}$ ). (b) Tentative sketch (to scale) of the molecular organization of the POM-doped lamellar  $L_{\alpha}$  phase. The aqueous medium is represented in light blue, and the hydrophobic membranes are shown in light yellow. The  $C_{12}$  paraffinic chains are depicted in dark yellow, and the EO chains are in red.

surfactants<sup>17</sup> and for smectic phases of thermotropic liquid-crystalline polymers.<sup>18</sup> Since the  $L_{\alpha}$  phase is centrosymmetric,  $\rho(z)$  can be expanded in a Fourier series that only involves cosine terms:  $\rho(z) = \rho_{\text{av}} + \sum_{n=1}^{\infty} \{\pm |A_n| \cos(2\pi n z/d)\}$ . The Fourier series coefficient  $A_n$  is proportional to the square root of the integrated intensity of the  $n$ th lamellar reflection. Experimentally, only two or three diffraction orders (with intensities  $I_1$ ,  $I_2$ , and  $I_3$ ) have been measured from powderlike samples, and hence, the absolute values (i.e., not their signs) of the coefficients  $A_1$ ,  $A_2$ , and  $A_3$  were determined. (The powder Lorentz correction ( $Iq^2$ ) has been applied to the intensities of each peak.)

On the other hand, to determine the sign of each coefficient, we must resort to physical arguments. The expected shape of a typical electron density profile of an undoped lamellar phase is known. In each period, there should be a minimum that corresponds to the low electron density of the paraffinic chains ( $276 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ); there should also be two maxima that correspond to the hydrophilic heads ( $340 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ) separated by the water region of slightly lower electron density ( $333 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ). Some sign combinations are also redundant; we can eliminate half of them by setting the minimum at  $z = 0$  (paraffinic chains). For both the undoped and doped lamellar phases, only one sign combination led to reasonable density profiles.

The following two points have also been used. (1) The average electron density  $\rho_{\text{av}}$  of each sample is fixed by its composition, and (2) the electron density at the middle of the paraffinic region at  $z = 0$  is fixed at  $\rho_{\text{min}} = 276 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ , which is the accepted value for  $C_{12}$  chains.<sup>19</sup> Two coefficient ratios are then used for the reconstruction:  $A_{21} = A_2/A_1 = +\sqrt{I_2/I_1}$  and  $A_{31} = A_3/A_1 = +\sqrt{I_3/I_1}$ , and  $\rho(z)$  can be expressed as  $\rho(z) = \rho_{\text{av}} + (\rho_{\text{min}} - \rho_{\text{av}})(\cos(2\pi z/d) + A_{21} \cos(4\pi z/d) + A_{31} \cos(6\pi z/d))/(1 + A_{21} + A_{31})$ .

In Figure 10a, three reconstructions are compared, with and without POMs ( $\phi_{\text{POM}} = 0\%$ , 1.7%, and 3.5%) at the same Brij30 concentration ( $\phi_{\text{surf}} = 50\%$ ). By construction, at  $z = 0$  and  $z = d = 6.9 \text{ nm}$ , the two profiles show the same minimum corresponding to the paraffinic chains. Without POMs, the profile shows a small increase of the density around  $z = 2$  and  $4.8 \text{ nm}$ , corresponding to the hydrated ethylene oxide groups. In between, at about  $z = 3.4 \text{ nm}$ , the reconstruction gives a value of the density close to that of pure water ( $333 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ). Interestingly, in this intermediate region, and in the presence of POMs, the value of the electron density remains close to that of pure water, which is much less than the electron density of the 3.5% POMs solution ( $385 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ). In contrast, a strong increase of the density in the polar-head region is observed (up to  $405 \text{ e}^-/\text{nm}^3$ ). This effect is even more important when the POM concentration increases. This strongly suggests that the POMs are mostly located close to the polar heads and interact with the bilayer surface. Our present understanding of the molecular organization of the hybrid lamellar phase is sketched in Figure 10b. Further structural studies are presently underway in our laboratories in order to reach a more precise description of these materials.

A second issue about the behavior of the POMs in the hybrid lamellar phase is the question of their interaction with the surfactant hydrophilic heads. In previous work, the negatively charged POMs were generally associated with cationic surfactants by very strong attractive electrostatic interactions, which sometimes even led to the crystallization of the materials.<sup>8c</sup> This strategy makes use of an ionic self-assembly (ISA) mechanism of oppositely charged moieties that was also invoked for explaining the formation of mesostructured SBA-type silicas templated by Pluronic block copolymers.<sup>20</sup> The POMs are then strongly complexed by the surfactants to the extent that they can sometimes even be extracted and solubilized in organic solvents. In contrast, we associated POMs with nonionic surfactants in an attempt to avoid such strong interactions that may be too specific of a given POM–surfactant pair and that could also have a negative impact on the processability of the hybrid materials. However, our discussion of the electron density profiles proves that there is still an attractive interaction between the POM anions and the nonionic ethylene oxide groups. Since the ethylene oxide hydrophilic head of Brij30 is a nonpolar nucleophilic moiety, considering any attraction between them and the negatively charged POMs may be a priori surprising. However, this attraction can be mediated by  $\text{H}^+$  cations that are very probably attracted by the ethylene oxide groups.<sup>21</sup> These  $\text{H}^+$  cations can in turn attract the POMs at the bilayer surface, which can explain why a rather large amount of POMs can be inserted into the lamellar  $L_{\alpha}$  phase. Such considerations mean that the interaction between membranes would shift from a Helfrich-type entropic repulsion<sup>22</sup> to a more efficient electrostatic one if the bilayers bear some charge excess.

Another interesting feature of this hybrid composite system is that it readily turns blue when exposed to UV light. This photochromic behavior has been studied via ESR and UV–visible spectroscopies. The  $g$  values found for these light-irradiated LC-POM hybrid materials can be plotted in a  $g_z$  vs  $(g_x + g_y)/2$  diagram together with reported values for different families of one-electron reduced polyoxotungstate anions (Figure 11).<sup>6,16,23</sup> The ESR parameters of the photoreduced polyanion clearly range

(17) Zantl, R.; Artzner, F.; Rapp, G.; Rädler, J. O. *Europhys. Lett.* **1999**, *45*, 90–96.

(18) Noirez, L.; Davidson, P.; Schwartz, W.; Pepy, G. *Liquid Cryst.* **1994**, *16*, 1081–1092.

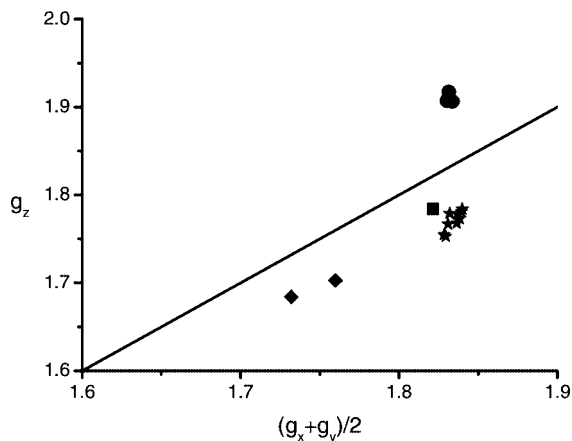
(19) Zeng, X.; Liu, Y.; Impéror-Clerc, M. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 5174–5179.

(20) Zhao, D.; Huo, Q.; Feng, J.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *130*, 6024–6036.

(21) Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F. *Langmuir* **1997**, *13*, 6074–6082.

(22) Helfrich, W. Z. *Naturforsch.* **1978**, *33a*, 305–315.

(23) Sanchez, C.; Livage, J.; Launay, J. P.; Fournier, M.; Jeannin, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3194–3202.



**Figure 11.** Diagram of  $g_z$  vs  $(1/2)(g_x + g_y)$  for one-electron reduced polytungstates: (◆)  $(W_6O_{19})^{3-}$  and  $(W_5NbO_{19})^{4-}$ ; (★)  $(XW_{12}O_{40})^{n-}$ ; (●)  $(XW_{18}O_{62})^{n-}$ ; (■) (this study). The straight line represents  $g_x = (g_y + g_z)/2$ .

in the domain found for dodecatungstates polyanions.<sup>16,24</sup> The ESR line broadening observed at low temperatures is due to a hopping of the unpaired electron between  $W^V$  and  $W^{VI}$  ions. Such a hopping occurs via tunneling at very low temperatures (20 K) and can be thermally activated through the vibrations of the polyanions at higher temperatures (60 K).<sup>16,24</sup> Moreover, a strong intervalence band transition is observed at lowest energy (1270 nm). All these electronic and magnetic features are characteristic of the mixed-valence properties of one-electron reduced tungsten polyanions. These data clearly demonstrate that the structure of the  $[PW_{12}O_{40}]^{4-}$  polyanion is conserved after irradiation and that the intense blue color corresponds to the optically activated transfer occurring in mixed-valence one-electron reduced phosphododecatungstates polyanions.

Assuming that one-electron reduced  $[PW_{12}O_{40}]^{4-}$  polyanions are the only species formed upon UV-light irradiation, the electronic data (optical density of the d-d transitions and molar coefficients of extinction reported in the literature) allow us to estimate the molar concentration of reduced polyoxometalates.<sup>16</sup> It reaches 5 mol % after 5 min, 13 mol % after 10 min, and 33 mol % after 45 min of irradiation. This nonlinear relation observed at high concentration of reduced species is possibly due to transmission losses resulting from the very strong absorption of the reduced polyoxometalates. The strong coloration is stable when the hybrid material is kept under nitrogen atmosphere. However, in the presence of air, the

reduced polyoxometalate anions are back-oxidized by dioxygen in agreement with previously reported studies.<sup>25</sup>

The photoassisted reduction of  $W^{VI}$  to  $W^V$  is most probably coupled with the oxidation of the alcoholic polar groups of the Brij30 surfactants which are therefore transformed into carbonylated (aldehydes or carboxylates) species. Indeed, the photochemical reduction of alcohols by  $H_3PW_{12}O_{40}$  is well documented and should occur as well in this context.<sup>26</sup> IR and Raman studies are in progress to determine the nature of the oxidized organic moieties.

## Conclusions

Up to about 10 vol %  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  ions could be successfully incorporated into the aqueous regions of the  $L_\alpha$  phase of the nonionic surfactant Brij30. The resulting composite material combines the viscoelasticity and anisotropic properties typical of liquid crystals and the chemical properties of polyoxometalates. The POMs are homogeneously dispersed within the mesophase and the exploitation of the lamellar reflection intensities suggest that the POMs are partially adsorbed onto the polyethyleneglycol brushes that coat the surfactant membranes. The doped  $L_\alpha$  phase readily turns blue when exposed to UV light; it is more sensitive than a POM solution at the same concentration. It is also much more viscoelastic, with rheological properties close to those of gels. Such properties may be interesting for applications involving UV light absorption coatings. Moreover, very well aligned samples of the POM-doped  $L_\alpha$  phase could be produced. The association of the POMs with the nonionic surfactant membranes does not result from the ionic self-assembly mechanism previously used by other groups to design POM-based hybrid materials but could be mediated by  $H^+$  cations. This process can naturally be extended to other nonionic surfactants to control the mesophase type and stability and to other kinds of POMs to exploit other electronic properties. From a more fundamental point of view, these samples will prove very useful in studying both the static and dynamic properties of the POMs, two-dimensionally confined within a soft lamellar structure.

**Acknowledgment.** We thank S. Rouzière and L. Binet for help with the X-ray scattering and ESR experiments, respectively, T. Narayanan for helpful discussions, and one of the reviewers for helpful remarks about the physical interactions and photochemical reactions between the Brij30 hydrophilic headgroups and  $H_3PW_{12}O_{40}$ . A.S.P. acknowledges support from a Marie Curie Action (No. MEST-CT-2004-514307).

LA8004322

(25) Weinstock, I. A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 113–170.

(26) (a) Hill, C. L.; Bouchard, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5148–5157.

(b) Papaconstantinou, E.; Dimotikali, D.; Politou, A. *Inorg. Chim. Acta* **1980**, *43*, 155–158. (c) Dimotikali, D.; Papaconstantinou, E. *Inorg. Chim. Acta* **1984**, *87*, 177–180.

(24) Varga, G. M.; Papaconstantinou, E.; Pope, M. T. *Inorg. Chem.* **1970**, *9*, 662–667.



# A PGSE-NMR Study of Molecular Self-Diffusion in Lamellar Phases Doped with Polyoxometalates

Andreas S. Poulos,<sup>†</sup> Doru Constantin,<sup>†</sup> Patrick Davidson,<sup>\*,†</sup> Marianne Impéror,<sup>†</sup> Patrick Judeinstein,<sup>†,‡</sup> and Brigitte Pansu<sup>†</sup>

Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502, Université Paris-Sud, CNRS, 91405 Orsay, France, and Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay, UMR 8182, Université Paris-Sud, CNRS, 91405 Orsay, France

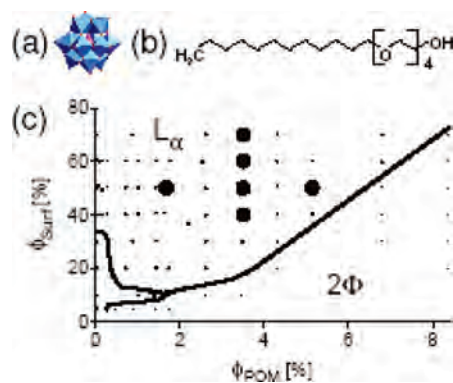
Received: September 19, 2009; Revised Manuscript Received: November 13, 2009

Using pulsed gradient spin-echo NMR, we studied molecular self-diffusion in aligned samples of a hybrid lyotropic lamellar  $L_\alpha$  phase. This composite organic-inorganic material was obtained by doping the lamellar phase of the *nonionic* surfactant Brij-30 with the  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  polyoxometalate (POM). Both water and POM self-diffusion display a large anisotropy, as diffusion is severely restricted along the normal to the bilayers. Water diffusion in planes parallel to the bilayers does not depend on the POM concentration but depends on the lamellar period, which is due to a variable fraction of “bound” water molecules. POM diffusion in the hybrid  $L_\alpha$  phase is almost 2 orders of magnitude slower than in aqueous solution. Moreover, it is not at all affected by the thickness of the aqueous medium separating the bilayers. This proves that the POM nanoparticles do not freely diffuse in the interbilayer aqueous space but adsorb onto the PEG brushes that cover both sides of the surfactant bilayers.

## 1. Introduction

Organic-inorganic hybrid systems presently raise much interest in materials science because they can potentially combine the structural and electronic properties of inorganic materials with the autoassembly properties of organic molecules.<sup>1–6</sup> In this context, polyoxometalates,<sup>7–9</sup> thanks to their outstanding electronic properties, are inorganic building blocks that are becoming increasingly popular in soft-condensed matter studies.<sup>10–23</sup> Being negatively charged, they are most often associated with cationic surfactants, via an ionic self-assembly process. In a previous study, we formulated a hybrid system where the inorganic component is the  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  polyoxometalate (POM) anion (Figure 1a) and the organic component is a lyotropic lamellar  $L_\alpha$  phase of the *nonionic* surfactant Brij 30 (Figure 1b).<sup>24</sup> With this approach, a weak and nonspecific POM-surfactant interaction was expected. Indeed, up to 18 wt % POMs could thus be incorporated into the mesophase. The resulting POM-doped lamellar phase was shown to have retained the well-known photochemical properties of the polyoxometalate anions. At the same time, though, the hybrid system still displays the anisotropy and the viscoelasticity of the  $L_\alpha$  phase.

The phase diagram (Figure 1c) of this system has been studied in detail and displays a wide domain in which the samples are in the  $L_\alpha$  phase.<sup>24</sup> The POM-doped  $L_\alpha$  phase can be thought of as stacks of fluid surfactant bilayers separated by aqueous regions where the hydrophilic POMs are located. However, the electron density profile of the  $L_\alpha$  phase, determined by small-angle X-ray scattering measurements,<sup>24</sup> suggests that the POMs are partially localized at the surface of the bilayers. This suggests an interaction stronger than expected, which in principle should affect the POM dynamics. To address this issue, we have



**Figure 1.** (a) Representation of the  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$  polyoxometalate anion. The central tetrahedron (shown in pink) has the phosphorus atom at its center. (b) Chemical formula of the nonionic surfactant  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$ , the main component of Brij 30. (c) Phase diagram (at room temperature) of the (Brij 30/ $\text{H}_2\text{O}/[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ ) hybrid system represented as a function of the overall surfactant volume fraction,  $\phi_{\text{Surf}}$ , and the POM volume fraction in the aqueous phase,  $\phi_{\text{POM}}$ . The solid circles represent the samples of the  $L_\alpha$  phase that were studied by PGSE-NMR.

used the pulsed gradient spin-echo NMR (PGSE NMR) technique<sup>25</sup> that has been used extensively to study lyotropic phases, usually by measuring the self-diffusion coefficient of water molecules.<sup>26</sup> This method can indeed provide information on the translational dynamics of the molecules and therefore about the structure of the lyotropic phase. In the present system, we measured not only the diffusion coefficient of water but also that of the confined POMs in order to demonstrate their interaction with the surfactant bilayers.

## 2. Experimental Section

**2.1. Sample Preparation. 2.1.1. Materials.** The surfactant Brij 30 was purchased from Sigma-Aldrich and used without any further purification. It consists mostly of  $\text{C}_{12}\text{EO}_4$ , along with

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: davidson@lps.u-psud.fr.

<sup>†</sup> Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502.

<sup>‡</sup> Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay, UMR 8182.

a smaller amount of homologous  $C_mEO_n$  molecules. Its phase diagram is very similar to that of pure  $C_{12}EO_4$ .<sup>27</sup> At room temperature, and for concentrations between 25 and 85 wt %, aqueous solutions of Brij 30 form a lamellar ( $L_\alpha$ ) lyotropic mesophase. By changing the surfactant concentration, the lamellar periodicity can be varied between 5 and 12 nm, so that the intermembrane distance (i.e., the thickness of the aqueous layers) can be tuned between 1.5 and 8.5 nm.

Phosphotungstic acid hydrate ( $H_3PW_{12}O_{40} \cdot xH_2O$ ) was purchased from Sigma-Aldrich and used without any further purification (purity 99.995%). The acid is completely dissociated in water, giving  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  polyoxometalate particles (POMs) and  $H^+$ . The mass fraction of hydration water, determined by drying at 200 °C, was found to be approximately 15%, which corresponds well with the value ( $\sim 20\%$ ) already reported in the literature.<sup>28</sup> The POM diameter is 1.1 nm.<sup>29</sup>

**2.1.2. Preparation of POM Solutions.** Aqueous POM solutions were prepared by dissolving a known quantity of phosphotungstic acid powder in distilled water. Taking into account the hydration water, the POM mass fraction in the final solution is  $m_{POM} = 0.85M_0/(M_0 + M_w)$ , where  $M_0$  and  $M_w$  are, respectively, the masses of phosphotungstic acid hydrate and water added.

The POM volume fraction of the final solution ( $\phi_{POM}$ ) is given by

$$\phi_{POM} = \frac{0.85M_0/\rho_{POM}}{0.85M_0/\rho_{POM} + (0.15M_0 + M_w)/\rho_w}$$

where  $\rho_{POM}$  and  $\rho_w$  are the densities of single POM anions and water, respectively. The density of a single  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  anion is  $\rho_{POM} = 6.98$  g/mL, using the POM volume reported by Pope.<sup>29</sup> Solutions with a maximum POM volume fraction of 10% were prepared.

**2.1.3. Preparation of POM-Doped  $L_\alpha$  Phases.** All POM-doped samples are identified by their surfactant volume fraction  $\phi_{Surf} = V_{Surf}/V$ , where  $V_{Surf}$  is the volume of added surfactant and  $V$  is the overall sample volume, and their POM volume fraction in the aqueous medium,  $\phi_{POM}$ . In principle, for  $L_\alpha$  samples,  $\phi_{Surf}$  defines the lamellar periodicity and  $\phi_{POM}$  controls the average distance between the POMs within a water layer.

All samples were prepared by simple mixing of the surfactant Brij 30 (liquid at room temperature) with a POM solution of known  $\phi_{POM}$ . The surfactant was weighed in first.  $V_{Surf}$  was calculated on the basis of the density of Brij 30 (0.95 g/mL). To prepare a sample with a given  $\phi_{Surf}$ , the appropriate volume of POM solution,  $V_{aq}$ , was calculated using a simple dilution law:  $V_{aq} = [(1/\phi_{Surf}) - 1]V_{Surf}$ . The correct volume of POM solution was added using a precision micropipet and also weighed to check against the known density of each solution. The POM volume fraction of the added solution is also the  $\phi_{POM}$  of the sample.

After adding all of the components, the samples were sealed with parafilm and mixed with a vortexer. Finally, they were centrifuged (100 g, 5 min) to collect all material at the bottom of the tube. The samples were stored inside a cupboard to avoid exposure to light and were left to stand for 1 week before any experiments.

In the samples used for NMR experiments, 25% of the water was replaced by deuterated water, which was found to have no effect on the phase diagram of the system.

**2.1.4. Sample Alignment.** Without any special treatment, the lamellar samples in the NMR tubes present a partially aligned texture that complicates the interpretation of the PGSE-NMR data. The easiest way to obtain reliable data for anisotropic

diffusion of mobile species inside  $L_\alpha$  phases is to use macroscopically aligned samples. The alignment procedure consists of heating the sample, held in a NMR tube inside the spectrometer, to the isotropic phase and then cooling it back slowly to the lamellar phase. Indeed, when the mesophase is submitted to a magnetic field, these nonionic surfactant molecules are known to align with their long axes perpendicular to the field.<sup>30</sup> Therefore, when the lamellar phase is reformed in situ in the NMR (vertical) field, the membranes align with the director perpendicular to the applied field (and hence perpendicular to the axis of the NMR tube). This results in a 2D orientational distribution of lamellar domains ("2D powder") with directors in the horizontal plane.

The preparation of "true" single domains of the POM-doped  $L_\alpha$  phase was achieved by using flat, 100  $\mu\text{m}$  thick, optical glass capillaries (VitroCom Inc., Mountain Lakes, NJ). Each sample was heated to above the lamellar-to-isotropic transition temperature. Then, the temperature was slowly ( $\approx 0.1$  K/min) lowered back to room temperature. The lamellar phase domains that nucleate are aligned with their bilayers parallel to the flat faces of the capillary (homeotropic anchoring). These domains then grow to span the whole width of the capillary. However, the amount of material is here much smaller ( $\sim 2$  mm<sup>3</sup>) so that stacks of 10 such capillaries had to be introduced in an NMR tube to perform the PGSE-NMR experiments. Even so, the small amount of material did not allow us to study POM diffusion; only water diffusion could be examined in this configuration.

**2.2. Experimental Techniques. 2.2.1. Pulsed Field Spin Echo NMR (PGSE-NMR).** The PGSE-NMR experiments were performed on a Bruker Avance NMR 400 spectrometer with a broadband probe equipped with three-axis gradient coils without field/frequency lock control. The maximum gradient values for the three perpendicular directions were  $G_z = 45$  G $\cdot\text{cm}^{-1}$  and  $G_x = G_y = 38$  G $\cdot\text{cm}^{-1}$ , with  $z$  being the direction of the constant field. Temperature was controlled within the 300–360 K range with a Bruker BVT3000 system ( $\pm 1$  K regulation). Temperature calibration was performed before each set of measurements by using a reference ethylene glycol sample.

Self-diffusion was measured with the pulsed field gradient stimulated echo and LED sequence using two spoil gradients.<sup>31</sup> Self-diffusion coefficients were determined from the classical Stejskal–Tanner equation:

$$\ln(I/I_0) = -DG^2\gamma^2\delta^2(\Delta - \delta/3) \quad (1)$$

where  $G$  is the magnitude of the two gradient pulses,  $\Delta$  is the time interval between these pulses and  $\delta$  is their duration,  $\gamma$  is the gyromagnetic ratio of the nucleus under study, and  $I$  and  $I_0$  are the integrated intensities of the signals obtained, respectively, with and without gradient pulses.<sup>25</sup> The magnitude of the pulsed field gradient was varied between 0 and the maximum available value in 8, 10, or 16 steps; the diffusion time  $\Delta$  between two pulses was fixed at 50 and 1000 ms for  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$ , respectively, and the pulse duration  $\delta$  was set between 3 and 12 ms, depending on the diffusion coefficient to be measured. For the  $^1\text{H}$  PGSE-NMR experiments, 16 scans were added at each step, with a relaxation delay of 8 s.

In order to prepare the  $^{31}\text{P}$  PGSE-NMR experiments, the  $T_1$  relaxation times were first measured by standard techniques and found to be around 20 s. Therefore, relaxation delays of 120 s were used. Besides, the low POM concentration inside these materials requires a minimum of 80 scans for each step of the PGSE measurements to reach an acceptable signal/noise ratio and dependable diffusion coefficient values. Then, the total measurement time to measure a diffusion coefficient in one

direction is at least 8 h.  $\pi/2$  pulse widths were calibrated to 6 and 21 ms for  $^1\text{H}$  and  $^{31}\text{P}$  nuclei, respectively.

The diffusion coefficient in anisotropic media can be represented as a tensor. In phases with cylindrical symmetry (e.g., nematic or  $L_\alpha$ ), only two of its diagonal elements are independent. For a lamellar phase, the normal to the layers, also called director  $\mathbf{n}$ , is the axis of symmetry;  $D_{\parallel}$  is the coefficient of diffusion parallel to  $\mathbf{n}$  (and perpendicular to the lamellae), and  $D_{\perp}$  is the coefficient of diffusion perpendicular to  $\mathbf{n}$  (and parallel to the lamellae).

For diffusion that is not parallel to one of the main axes of the phase, the relevant diffusion coefficient is a combination of  $D_{\parallel}$  and  $D_{\perp}$ . For a lamellar phase single domain whose director makes an angle  $\theta$  with the applied gradient, the diffusion coefficient can be written as

$$D_{\theta} = D_{\parallel} \cos^2 \theta + D_{\perp} \sin^2 \theta \quad (2)$$

In the case of a powder-like lamellar sample, the apparent diffusion coefficient is isotropic. Its value measured in any direction is

$$\langle D \rangle = (D_{\parallel} + 2D_{\perp})/3 \quad (3)$$

On the other hand, for a 2D powder, the mean value of the diffusion coefficient measured in any direction perpendicular to the axis of symmetry is

$$\langle D \rangle = (D_{\parallel} + D_{\perp})/2 \quad (4)$$

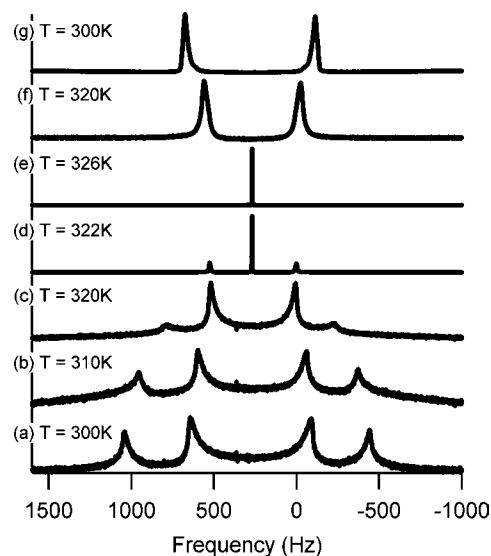
**2.2.2. Small-Angle X-ray Scattering.** SAXS experiments were performed with a laboratory setup that has already been described in detail.<sup>32</sup> It consists of a rotating Cu anode generator (Rigaku), graded layer Ni/C mirror optics (Osmic), vacuum tubes (inserted between the sample and the detection), and a CCD camera (Princeton).

### 3. Results

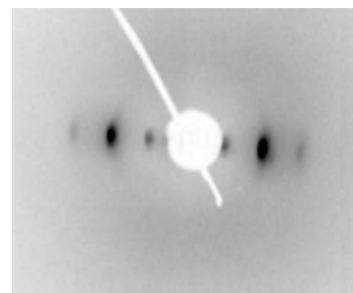
**3.1. Sample Alignment.** The alignment of a lamellar phase in the NMR magnetic field can be monitored in situ by following the deuterium NMR signal from  $\text{D}_2\text{O}$  solvent molecules. Indeed, the  $^2\text{H}$  NMR spectrum of an isotropic (“powder-like”) distribution of the  $L_\alpha$  phase domains has a characteristic shape that comes from the isotropic averaging of a Pake doublet.<sup>33</sup> In an aligned  $L_\alpha$  phase, all of the lamellae make the same angle with the magnetic field, and hence, the  $^2\text{H}$  NMR spectrum shows only a doublet. Finally, in the isotropic phase, all  $^2\text{H}$  quadrupolar interactions are averaged out and the signal is just a single very thin peak.

A complex spectrum is observed when a new sample is first introduced in the spectrometer (Figure 2a,b), which reflects some partial alignment of the lamellar phase. This alignment is probably due to the shear that occurred when the NMR tube was filled. As the temperature is increased, this spectrum evolves to the familiar spectrum typical of an isotropic distribution of domains and the quadrupolar splitting ( $\Delta\nu_q$ ) becomes smaller (Figure 2c). Near the transition temperature, an isotropic peak starts to grow and the powder  $L_\alpha$  phase disappears, leaving at its place a small amount of aligned  $L_\alpha$  phase (Figure 2d). At even higher temperature, the sample becomes completely isotropic (Figure 2e). When the temperature is lowered, the isotropic phase gives rise to an aligned  $L_\alpha$  phase (Figure 2f,g), which is characterized by a doublet of narrow lines.

The  $^2\text{H}$  NMR spectra show that the lamellar phase is indeed aligned but the alignment direction was determined more directly by X-ray scattering. A 1 mm cylindrical X-ray capillary was filled with a doped  $L_\alpha$  phase sample and inserted into an NMR



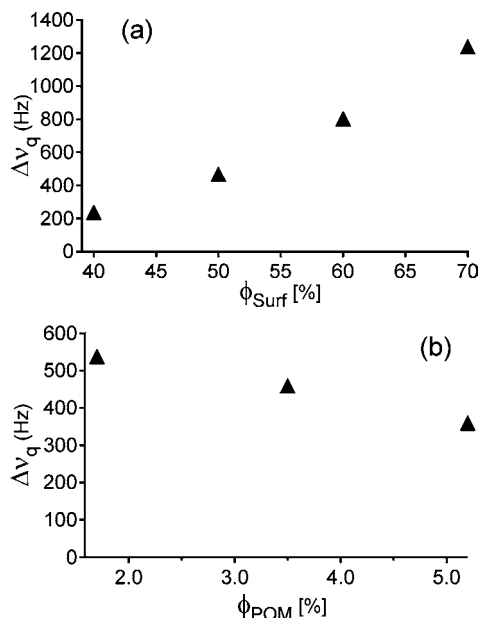
**Figure 2.**  $^2\text{H}$  NMR spectra from  $\text{D}_2\text{O}$  solvent molecules of a doped  $L_\alpha$  phase ( $\phi_{\text{surf}} = 60\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ ) at different temperatures. (a) Spectrum of a sample that has just been introduced into the spectrometer. (b, c) Evolution upon increasing temperature. (d) Isotropic phase along with some remaining aligned  $L_\alpha$  phase. (e) Pure isotropic phase. (f, g) The temperature was decreased, and an aligned  $L_\alpha$  phase was formed.



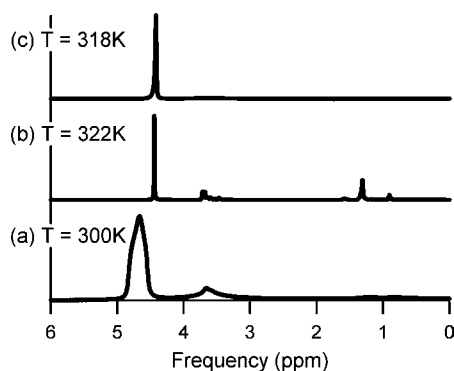
**Figure 3.** X-ray diffraction pattern showing the alignment of the lamellae parallel to the long axis of the capillary (the capillary is very slightly tilted).

tube. Then, it was aligned according to the above procedure; its SAXS pattern can be seen in Figure 3. The concentration of the X-ray scattering signal in the horizontal direction proves that all of the lamellae are arranged parallel to the long axis of the capillary and that the “aligned” sample is actually a two-dimensional distribution of lamellar domains with directors perpendicular to the magnetic field (“2D powder”).

The quadrupolar splitting ( $\Delta\nu_q$ ) of the  $^2\text{H}$  doublet depends mostly on the tumbling dynamics of the water molecules at the interface. It is proportional to the average order parameter of the water O–D bonds.<sup>34,35</sup> The quadrupolar splitting changes both with the surfactant volume fraction and with the temperature of the sample. The variation of quadrupolar splitting with surfactant concentration at constant POM volume fraction is shown in Figure 4a. As expected,  $\Delta\nu_q$  increases when the water is more confined, as it interacts more strongly with the bilayer.<sup>30</sup> A similar variation, although to a lower extent, can be observed when the temperature of a sample is decreased (data not shown). It is well-known that, at lower temperature, the hydrophilic heads of  $C_m\text{EO}_n$  surfactants hydrate, and hence a greater fraction of water is bound to the bilayer. More unexpectedly, the quadrupolar splitting decreases with increasing POM concentration at constant surfactant volume fraction (Figure 4b). This might mean though that the POMs replace some of the structured water close to the interface.



**Figure 4.** Quadrupolar splitting ( $\Delta\nu_q$ ) of aligned lamellar phases (a) as a function of  $\phi_{\text{Surf}}$  at  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$  and (b) as a function of  $\phi_{\text{POM}}$  at  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$  (all measurements were performed at 310 K).

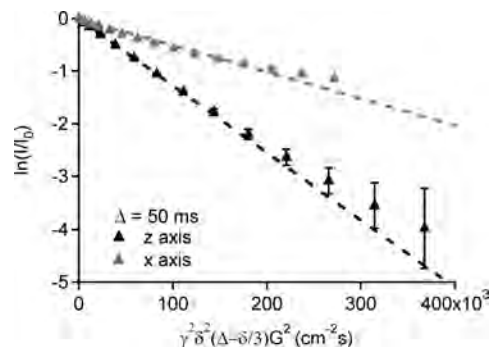


**Figure 5.**  $^1\text{H}$  NMR spectra of a doped  $L_\alpha$  phase at different temperatures. (a) Powder-like  $L_\alpha$  phase. (b) Isotropic phase at high temperature. The water, ether, and alkyl peaks (located around 4.5, 3.5, and 1.5 ppm, respectively) are well resolved because of the high mobility of the phase. (c) Aligned  $L_\alpha$  phase.

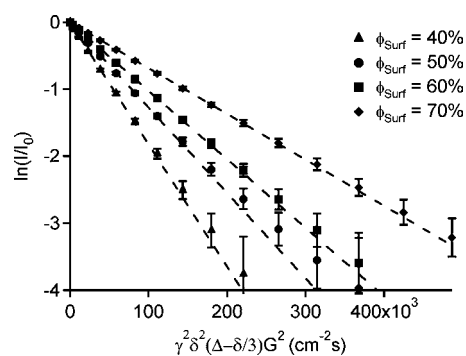
The alignment procedure can also be followed by  $^1\text{H}$  NMR, as can be seen in Figure 5. Initially, the spectrum is composed of a broad peak (50 Hz) corresponding to the water molecules, and some featureless wide signal corresponding to the ether and alkyl components of the Brij 30 molecule. As the sample is heated to the isotropic phase, well-resolved signals are observed for the water, ether, and alkyl components. Finally, as the temperature is decreased and an aligned  $L_\alpha$  phase is formed, the ether and alkyl signals disappear while the water signal remains narrow. Thus, the formation of an aligned  $L_\alpha$  phase is accompanied with a large decrease of alkyl segment mobility, and, to a smaller extent, polyether segment mobility.

The  $^{31}\text{P}$  NMR spectrum of a doped  $L_\alpha$  phase is shown in the Supporting Information (Figure S1). The central phosphorus atom gives a very narrow peak with a width of approximately 3 Hz, which confirms the good alignment of the mesophase.

**3.2. Water Diffusion in POM-Doped  $L_\alpha$  Phases.** The results of a PGSE-NMR water diffusion experiment on a  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$  oriented sample are shown in Figure 6. As mentioned above, the sample is in the form of a 2D powder; the bilayers are arranged parallel to the  $z$  axis but with a random orientation of the director in the  $(x,y)$  plane. The diffusion



**Figure 6.**  $^1\text{H}$  PGSE-NMR water-signal decays of an aligned sample with  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$  and  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ . The black triangles correspond to a gradient along the  $z$  axis direction, and the gray triangles, along the  $x$  or  $y$  axis directions (diffusion time  $\Delta = 50$  ms). The diffusion anisotropy is clearly demonstrated by the change of gradient. The dotted lines are linear fits to the data using the Stejskal–Tanner equation (eq 1).

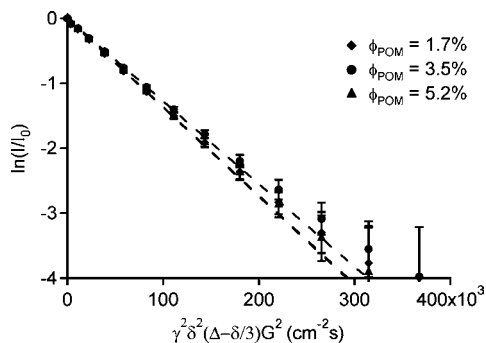


**Figure 7.**  $^1\text{H}$  PGSE-NMR signal decays along the  $z$  axis for samples with constant  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$  and varying  $\phi_{\text{Surf}}$ . The decay is monoexponential in all cases. A linear fit using eq 1 gives the water self-diffusion coefficient perpendicular to the director of the  $L_\alpha$  phase.

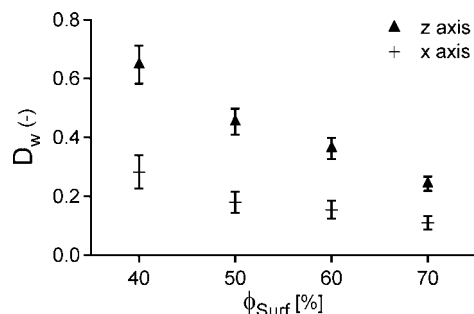
coefficient of water was measured along the three space directions. It is immediately obvious that the water diffusion in the sample is anisotropic. The decay of the  $^1\text{H}$  NMR signal is much faster when the gradient is applied along the  $z$  axis than when it is applied along the  $x$  or  $y$  axes (the decays are the same when the gradients are applied along the  $x$  and  $y$  axes). This is expected, as diffusion along the  $z$  axis is parallel to the bilayers. The water molecules can move without obstacles in that direction, and thus diffuse fast. Moreover, the decay along the  $z$  axis is monoexponential, whereas the decay along the  $x$  axis (or the  $y$  axis) is not perfectly monoexponential. Again, this is related to the macroscopic anisotropy of the sample that is homogeneous on a much larger length scale along the  $z$  axis than along the  $x$  axis.

The same experiment was repeated with  $\Delta$  increased to 500 ms (data not shown) in order to probe larger domains; the decays obtained for the shorter and longer diffusion times were exactly the same, evidencing the sample homogeneity. Therefore, the decay does not depend on the diffusion time  $\Delta$ . Moreover, for all samples, we checked that the decays along the  $x$  and  $y$  axes are exactly the same. Thus, the samples are behaving like true 2D powders.

The monoexponential decays along the  $z$  axis direction for four samples with different surfactant volume fractions are shown in Figure 7. They are faster for samples with smaller  $\phi_{\text{Surf}}$ . On the other hand, samples with the same  $\phi_{\text{Surf}}$  but different POM volume fractions present identical decays (Figure 8). Thus, the diffusion of water molecules in the POM-doped  $L_\alpha$  phase



**Figure 8.**  $^1\text{H}$  PGSE-NMR signal decays for samples with constant  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$  and varying  $\phi_{\text{POM}}$ . As expected, the self-diffusion coefficient of water does not change when the lamellar periodicity of the phase remains constant.



**Figure 9.** Variation of normalized water self-diffusion coefficients of aligned POM-doped lamellar phases with  $\phi_{\text{Surf}}$ , at constant  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ . The diffusion anisotropy can be clearly seen for all values of  $\phi_{\text{Surf}}$ ; moreover, it remains roughly constant.

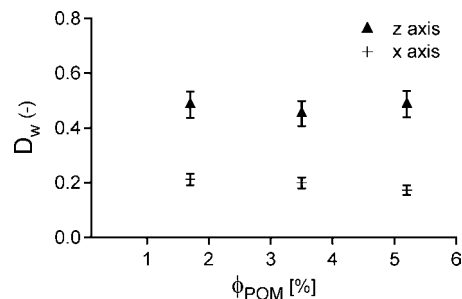
depends on the lamellar period (determined by  $\phi_{\text{Surf}}$ ) but not on the volume fraction of doping POMs.

To extract the water self-diffusion coefficients in the doped  $L_\alpha$  phase, the decays shown in the previous figures have been fitted by the Stejskal–Tanner equation (eq 1) along both the  $z$  and  $x$  axes. Because the equation only describes monoexponential decay, it is not strictly valid in the case of the  $x$  axis decay. However, the value extracted in this way remains close to the “true” value, which is given by the slope at the origin. The self-diffusion coefficient of water molecules in pure water at 305 K is  $D_0 = 2.8 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .<sup>36,37</sup> Hereafter, all of the measured water self-diffusion coefficients are normalized by this value.

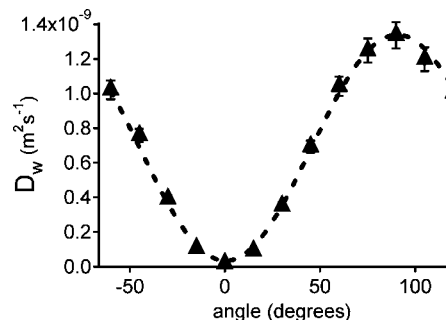
In Figure 9, the normalized self-diffusion coefficient of water ( $D_w/D_0$ ) is plotted as a function of  $\phi_{\text{Surf}}$ , at constant  $\phi_{\text{POM}}$  (3.5%). As qualitatively inferred from the decays,  $D_w$  decreases with increasing  $\phi_{\text{Surf}}$ , from about 60% of its free water value at  $\phi_{\text{Surf}} = 40\%$  to about 25% at  $\phi_{\text{Surf}} = 70\%$ . The water molecules diffuse more slowly when the interlamellar space decreases. Furthermore, as expected, the diffusion coefficient along the  $x$  axis is about twice smaller in the whole range of volume fractions explored.

Figure 10 shows the evolution of  $D_w/D_0$  as a function of  $\phi_{\text{POM}}$ , at constant  $\phi_{\text{Surf}}$  (50%). This time, the diffusion coefficients do not vary with  $\phi_{\text{POM}}$ , meaning that the POM volume fraction does not affect the diffusion of water. However, the diffusion along the  $x$  axis is still about twice slower for all samples.

Water diffusion was also studied in “true” single domains of the POM-doped  $L_\alpha$  phase in homeotropic orientation, with the director in the  $(x,y)$  plane. For each measurement,  $G_x$  and  $G_y$  were varied so as to keep the gradient strength constant but to change its angle with respect to the fixed laboratory frame in  $15^\circ$  steps. When the angle  $\theta$  between the (fixed) director and



**Figure 10.** Variation of normalized water self-diffusion coefficients of aligned POM-doped lamellar phases with  $\phi_{\text{POM}}$ , at constant  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ . The POM volume fraction does not affect water diffusion.



**Figure 11.** Angular dependence of the water diffusion coefficients in a single domain of POM-doped  $L_\alpha$  phase ( $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ ). The line is a fit to the data using eq 2. The minimum corresponds to  $D_{\parallel}$  and the maximum to  $D_{\perp}$ .

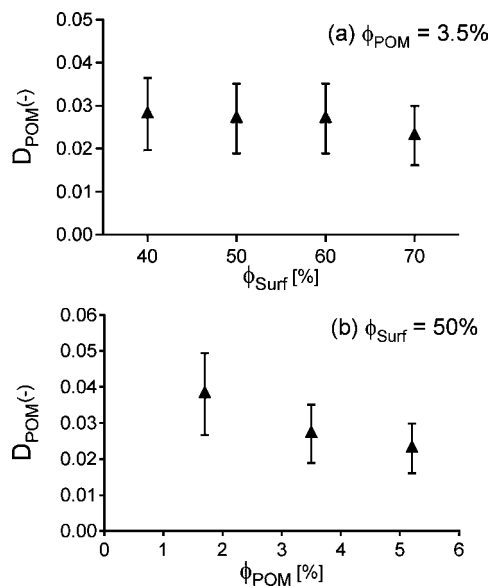
the applied gradient approaches zero (respectively,  $90^\circ$ ), water diffusion perpendicular (respectively, parallel) to the membranes is measured. This is illustrated in Figure 11 where the water diffusion coefficient in a POM-doped  $L_\alpha$  phase ( $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ ,  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ ) was measured as a function of  $\theta$  and fitted by eq 2, thus yielding  $D_{\parallel} = (16 \pm 7) \times 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  and  $D_{\perp} = (13.7 \pm 0.3) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . The value of  $D_{\perp}$  is in good agreement with the previous measurements, and a very low value of  $D_{\parallel}$  is thus measured, as intuitively expected.

**3.3. POM Diffusion in Doped  $L_\alpha$  Phases.** The  $^{31}\text{P}$  decay curves look very similar to the  $^1\text{H}$  decay curves (Figure S2, Supporting Information). Again, the decay along the  $z$  axis is monoexponential and fast, while the decay along the  $x$  axis is multiexponential and about twice slower (here also, the decays are the same for the  $x$  and  $y$  axes). This is expected because the measurements have been done successively on the same samples and the texture of the lamellar phase is exactly the same. The self-diffusion coefficients were extracted by fitting the decays with the Stejskal–Tanner equation as before.

The POM self-diffusion coefficient in a  $\phi_{\text{POM}} = 5\%$  aqueous solution was measured and used as a reference for normalization. Its value was found to be  $4.6 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . For a spherical particle, this value gives a hydrodynamic radius of 0.48 nm which compares rather well with the actual radius of 0.55 nm.

The normalized POM self-diffusion coefficients along the  $z$  axis are shown as a function of  $\phi_{\text{Surf}}$ , at constant  $\phi_{\text{POM}}$  (3.5%), in Figure 12a. We note that the POM diffusion coefficient in the  $L_\alpha$  phase does not change dramatically when the phase becomes more concentrated in surfactant and that the POM diffusion coefficient in the lamellar phase is about 1/40 of its value in solution.

The normalized POM self-diffusion coefficients are shown as a function of  $\phi_{\text{POM}}$ , at constant  $\phi_{\text{Surf}}$  (50%), in Figure 12b. Surprisingly, the diffusion seems to be slower when the POM



**Figure 12.** (a) Variation of normalized POM diffusion coefficients of aligned lamellar phases as a function of  $\phi_{\text{Surf}}$ , at constant  $\phi_{\text{POM}} = 3.5\%$ . (b) Variation of POM diffusion coefficients of aligned lamellar phases as a function of  $\phi_{\text{POM}}$ , at constant  $\phi_{\text{Surf}} = 50\%$ .

volume fraction increases, which might be due to mutual obstruction between the POMs.

#### 4. Discussion

**4.1. POM Self-Diffusion.** We now discuss the evolution of the POM self-diffusion coefficients as a function of  $\phi_{\text{Surf}}$ . As the surfactant volume fraction increases, the particles are confined in a thinner water layer. The width of this layer is directly given by

$$d_w = \delta / (\phi_{\text{Surf}} - 1) \quad (5)$$

where  $\delta = 3.4$  nm is the bilayer width obtained by X-ray scattering.<sup>24</sup> In our measurements,  $d_w$  varies between 1 and 5 times the diameter of a POM. This variation was expected to have a strong effect on POM diffusion, as it is actually observed for the water molecules.

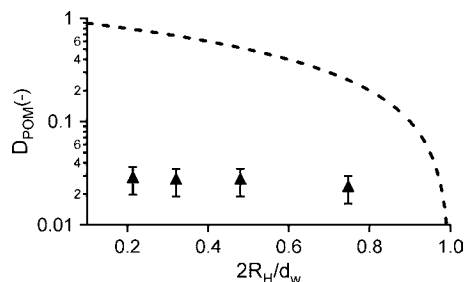
It has recently been shown that the diffusion of small spherical particles confined between surfactant bilayers can be adequately described by a simple model due to Faxen.<sup>38,39</sup> In this model, a spherical particle diffusing between two parallel hard plates experiences an extra hydrodynamic friction force. This force is due to shearing the solvent between the particle that moves at some velocity and the wall that imposes zero velocity. The force depends on the distance between the particle and the plate. The particle self-diffusion coefficient is then reduced by a factor of

$$D/D_0 = \left(1 - 2\frac{R_H}{d_w}\right) \quad (6)$$

where  $D_0$  is the bulk diffusivity,  $R_H$  is the hydrodynamic radius of the particle, and  $d_w$  is the distance between the plates.

This model does not take into account either bilayer fluctuations or the fact that the bilayers are fluid, so the solvent can have a nonzero velocity component parallel to the interface. However, it has been shown to give correct predictions for the self-diffusion coefficient of small spherical particles of  $R_H \approx 1$  nm confined between  $\text{C}_{12}\text{EO}_5$  bilayers, a situation very close to our own.<sup>39</sup>

In Figure 13, the measured POM self-diffusion coefficients are compared to the predictions of the Faxen model for a



**Figure 13.** Comparison of Faxen equation predictions (dotted line) with the normalized POM diffusion coefficients measured along the  $z$  axis.

spherical particle of radius  $R_H = 0.55$  nm. It is obvious that the model does not agree with the measured self-diffusion coefficients. The POMs diffuse much too slowly in the lamellar phase.

The very low self-diffusion coefficients of the POMs and their nondependence on the width of the water layer very probably indicate that they do not freely diffuse in the interbilayer space. This nicely confirms our previous interpretation of X-ray scattering measurements which suggested that the POMs are located close to the hydrophilic heads of the surfactant bilayer.<sup>24</sup> The self-diffusion coefficient measurements are further proof of the existence of a strong POM–bilayer interaction of unknown origin. This interaction is strong enough that it affects the dynamic properties of the POMs. In a way, their diffusion is linked to that of the surfactant molecules. The viscosity of a  $\text{C}_{12}\text{EO}_5$  bilayer has been measured before, and found to be approximately 80 mPa·s, or about 80 times that of water.<sup>39</sup> This increase in viscosity has the right order of magnitude to explain the reduction of the POM self-diffusion coefficient to 1/40 of its value in water. It is as if the POMs were mainly diffusing within the polyethylene oxide brush.

On the other hand, POM diffusion is clearly anisotropic. For a 2D powder sample, the self-diffusion coefficient measured along the  $x$  axis is the average value of  $D_{\parallel}$  and  $D_{\perp}$ , the diffusion coefficients perpendicular and parallel to the  $L_{\alpha}$  phase director, respectively. The self-diffusion coefficient measured along the  $z$  axis gives directly  $D_{\perp}$ . For all four samples, the self-diffusion coefficient is twice larger along the  $z$  axis than along the  $x$  axis, as expected for a 2D powder (eq 4). This means that  $D_{\parallel}$  is negligible compared to  $D_{\perp}$ . The lamellar phase does not seem to contain any defects that would allow POM diffusion across the bilayers.

Moreover, the POM diffusion coefficient seems to decrease with increasing POM doping (Figure 12b). Although the effect is quite weak, it is a surprising result because, at these rather low volume fractions ( $\phi_{\text{POM}} \approx 2\text{--}6\%$ ), a strong effect of the interaction between particles on their diffusion is unexpected. Indeed, PGSE-NMR experiments on aqueous POM solutions at different volume fractions (1–10%) have given identical results for  $D_{\text{POM}}$ . However, the POMs are strongly attracted to the surfactant hydrophilic heads and are thus almost certainly confined in a layer thinner than the interbilayer distance. This confinement makes the apparent volume fraction close to the bilayers much higher than the nominal one, and interparticle interactions can therefore affect diffusion.

**4.2. Water Self-Diffusion.** The decrease of the water self-diffusion coefficient with increasing surfactant volume fraction is intuitive. When the aqueous layer is thinner (i.e., when  $\phi_{\text{Surf}}$  increases), the influence of the confining bilayers becomes more important, and thus, the diffusion coefficient decreases. However, the reduction of diffusion constant is much too large to

be due to geometric confinement alone. Indeed, applying Faxen's formula (eq 6) with a water hydrodynamic radius of  $\sim 0.1$  nm leads to a correction of only about 10% compared to free diffusion of water in bulk. Besides, the evolution of  $D_w$  with  $\phi_{\text{surf}}$  is very different from that of  $D_{\text{POM}}$  (Figures 9 and 12a). This suggests that water diffusion is governed by a different mechanism than the adsorption process that controls POM diffusion and was discussed in the previous section.

The decrease in water diffusion coefficient may actually also be due to the existence of a fraction of surface-associated water molecules. Such molecules are not free to move between the bilayers but are bound to the hydrophilic heads of the surfactant. As  $\phi_{\text{surf}}$  increases, the ratio of bilayer area to total water volume also increases, and hence there is a greater fraction of bound molecules. The observed diffusion coefficient, assuming fast exchange between the two environments, is the average of the diffusion coefficients of the free and surface-associated molecules.

In a lamellar phase, a fraction,  $f_{\text{sa}}$ , of the water molecules are in strong interaction with the hydrophilic heads. This water is called "surface-associated", and its diffusion coefficient is much smaller than in the bulk. A very simple model<sup>40</sup> of diffusion in such a lamellar phase considers two regions with different diffusion coefficients:

$$D = f_{\text{sa}}D_{\text{sa}} + (1 - f_{\text{sa}})D_{\text{free}} \quad (7)$$

where  $D_{\text{sa}}$  is the diffusion coefficient of the surface-associated water. This equation is only valid for fast exchange, on the NMR time scale, between surface-associated molecules and free molecules. If that were not the case, though, the PGSE decay would be biexponential, with two well-separated decays, as the diffusion coefficients are very different.

By setting  $D_{\text{sa}} = 0$ ,  $f_{\text{sa}}$  can be estimated for each  $\phi_{\text{surf}}$  and therefore the number  $n_b$  of water molecules bound per ethylene oxide segment. We obtain  $f_{\text{sa}} \sim 35\%$  and  $n_b \sim 2.8$  at  $\phi_{\text{surf}} = 40\%$ ,  $f_{\text{sa}} \sim 55\%$  and  $n_b \sim 2.9$  at  $\phi_{\text{surf}} = 50\%$ ,  $f_{\text{sa}} \sim 60\%$  and  $n_b \sim 2.1$  at  $\phi_{\text{surf}} = 60\%$ , and  $f_{\text{sa}} \sim 70\%$  and  $n_b \sim 1.6$  at  $\phi_{\text{surf}} = 70\%$ . Such large fractions probably reflect the hydrogen bond network of confined water, and the values of  $n_b$  are in fair agreement with those published in the literature.<sup>41,42</sup>

The results for samples with constant  $\phi_{\text{surf}} = 50\%$  and varying POM volume fraction (Figure 10) show that POM doping has no influence on the water diffusion coefficient. This means that the structure of the  $L_\alpha$  phase is little affected by POM doping, which agrees well with the fact that the lamellar period remains unchanged.<sup>24</sup>

Finally, the PGSE-NMR measurements of the single-domain samples in homeotropic alignment showed a large water diffusion anisotropy,  $D_{\perp}/D_{\parallel} = 85 \pm 30$ , in good agreement with the anisotropy ( $>72$ ) measured by Wasterby in lipid bilayers.<sup>43</sup>

## 5. Conclusion

Anisotropic water self-diffusion in partially aligned ("2D powder") samples of the POM-doped  $L_\alpha$  phase was studied as a function of surfactant and POM volume fractions. The diffusion coefficient parallel to the bilayers varies in the range  $(6 - 17) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , depending on  $\phi_{\text{surf}}$ . This compares rather well with the diffusion coefficients found in other lamellar phase systems.<sup>35,44-46</sup> Moreover, water diffusion does not depend on the POM volume fraction. Additional experiments with "true" single domains allowed us to directly measure the water diffusion anisotropy that is quite large but comparable to results previously reported in the literature. This suggests that POM doping does not induce the formation of defects in the lamellar  $L_\alpha$  phase.

PGSE-NMR experiments with "2D powder" samples have shown that the translational diffusion of the POMs in the  $L_\alpha$  phase is also quite anisotropic but is much slower than what would be expected on the basis of confinement alone. Furthermore, POM diffusion is not at all affected by the thickness of the aqueous medium separating the bilayers. Hence, the POMs do not freely diffuse in the interbilayer space but strongly interact with the polyethylene oxide brushes that cover each side of the bilayers. This counterintuitive but strong interaction of negatively charged POMs with the nonionic surfactants could be mediated by  $\text{H}^+$  cations that are very probably attracted by the ethylene oxide groups and that could in turn attract the POMs.<sup>47</sup> This kind of information will prove important not only from a fundamental point of view, when trying to understand the interaction potential of the confined POMs, but also from a practical perspective, when formulating POM-doped hybrid systems comprised of nonionic surfactants.

**Acknowledgment.** We are deeply indebted to Paul Sotta and Mehdi Zeghal for very helpful discussions. A.S.P. gratefully acknowledges support from a Marie Curie action (N<sup>o</sup>-MEST-CT-2004-514307) and from a Triangle de la Physique contract (N<sup>o</sup> OTP 26784).

**Supporting Information Available:** Figures showing the <sup>31</sup>P NMR spectrum of a doped  $L_\alpha$  phase and the <sup>31</sup>P PGSE-NMR decays. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

## References and Notes

- (1) Sanchez, C.; Soler-Illia, G. J. D. A.; Ribot, F.; Lalot, T.; Mayer, C. R.; Cabuil, V. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3061.
- (2) Kickelbick, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 3102.
- (3) Sanchez, C.; Arribart, H.; Guille, M. M. G. *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 277.
- (4) Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. D.; Chu, C. T. W.; Olson, D. H.; Sheppard, E. W.; McCullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10834.
- (5) Zhao, D. Y.; Feng, J. L.; Huo, Q. S.; Melosh, N.; Fredrickson, G. H.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D. *Science* **1998**, *279*, 548.
- (6) Soler-Illia, G. J. D.; Sanchez, C.; Lebeau, B.; Patarin, J. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4093.
- (7) Gouzerh, P.; Proust, A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 77.
- (8) Katsoulis, D. E. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 359.
- (9) Pope, M. T.; Muller, A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 34.
- (10) Freund, M. S.; Karp, C.; Lewis, N. S. *Inorg. Chim. Acta* **1995**, *240*, 447.
- (11) Judeinstein, P.; Schmidt, H. *J. Sol.-Gel Sci. Technol.* **1994**, *3*, 189.
- (12) Polarz, S.; Smarsly, B.; Goltner, C.; Antonietti, M. *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 1503.
- (13) ClementeLeon, M.; Agricole, B.; Mingotaud, C.; GomezGarcia, C. J.; Coronado, E.; Delhaes, P. *Langmuir* **1997**, *13*, 2340.
- (14) ClementeLeon, M.; Mingotaud, C.; Agricole, B.; GomezGarcia, C. J.; Coronado, E.; Delhaes, P. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1114.
- (15) Polarz, S.; Smarsly, B.; Antonietti, M. *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 457.
- (16) Li, W.; Bu, W. F.; Li, H. L.; Wu, L. X.; Li, M. *Chem. Commun.* **2005**, 3785.
- (17) Li, W.; Yi, S. Y.; Wu, Y. Q.; Wu, L. X. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 16961.
- (18) Li, W.; Yin, S. Y.; Wang, J. F.; Wu, L. X. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 514.
- (19) Nyman, M.; Ingersoll, D.; Singh, S.; Bonhomme, F.; Alam, T. M.; Brinker, C. J.; Rodriguez, M. A. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 2885.
- (20) Zhang, T. R.; Spitz, C.; Antonietti, M.; Faul, C. F. J. *Chem.—Eur. J.* **2005**, *11*, 1001.
- (21) Moriguchi, I.; Orishikida, K.; Tokuyama, Y.; Watabe, H.; Kagawa, S.; Teraoka, Y. *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 2430.
- (22) Bu, W. F.; Uchida, S.; Mizuno, N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 8281.

- (23) Pradeep, C. P.; Misrahi, M. F.; Li, F. Y.; Zhang, J.; Xu, L.; Long, D. L.; Liu, T.; Cronin, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 8309.
- (24) Poulos, A. S.; Constantin, D.; Davidson, P.; Imperor, M.; Pansu, B.; Panine, P.; Nicole, L.; Sanchez, C. *Langmuir* **2008**, *24*, 6285.
- (25) Stejskal, E. O.; Tanner, J. E. *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288.
- (26) Callaghan, P. T.; Legros, M. A.; Pinder, D. N. *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 6372.
- (27) Strey, R. *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem. Chem. Phys.* **1996**, *100*, 182.
- (28) Marosi, L.; Platero, E. E.; Cifre, J.; Areal, C. O. *J. Mater. Chem.* **2000**, *10*, 1949.
- (29) Pope, M. T. *Heteropoly and isopolyoxometalates*; Springer: New York, 1983.
- (30) Briganti, G.; Segre, A. L.; Capitani, D.; Casieri, C.; La Mesa, C. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 825.
- (31) Altieri, A. S.; Hinton, D. P.; Byrd, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7566.
- (32) Imperor-Clerc, M.; Davidson, P. *Eur. Phys. J. B* **1999**, *9*, 93.
- (33) Pake, G. E. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 327.
- (34) Pelletier, O.; Sotta, P.; Davidson, P. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 5427.
- (35) Yethiraj, A.; Capitani, D.; Burlinson, N. E.; Burnell, E. E. *Langmuir* **2005**, *21*, 3311.
- (36) Holz, M.; Heil, S. R.; Sacco, A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4740.
- (37) Mills, R. *J. Phys. Chem.* **1973**, *77*, 685.
- (38) Faxen, H. *Ann. Phys.* **1922**, *4*, 89.
- (39) Moreau, P.; van Effenterre, D.; Navailles, L.; Nallet, F.; Roux, D. *Eur. Phys. J. E* **2008**, *26*, 225.
- (40) Holmes, M. C.; Sotta, P.; Hendrikx, Y.; Deloche, B. *J. Phys. II* **1993**, *3*, 1735.
- (41) Romsted, L. S.; Yao, J. H. *Langmuir* **1996**, *12*, 2425.
- (42) Sterpone, F.; Pierleoni, C.; Briganti, G.; Marchi, M. *Langmuir* **2004**, *20*, 4311.
- (43) Wasterby, P.; Oradd, G.; Lindblom, G. *J. Magn. Reson.* **2002**, *157*, 156.
- (44) Blinc, R.; Easwaran, K.; Pirs, J.; Volfan, M.; Zupancic, I. *Phys. Rev. Lett.* **1970**, *25*, 1327.
- (45) Gaemers, S.; Bax, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12343.
- (46) Tiddy, G. J. T. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1977**, *73*, 1731.
- (47) Alexandridis, P.; Holzwarth, J. F. *Langmuir* **1997**, *13*, 6074.

JP909058D



# Biomimetic membranes of lipid–peptide model systems prepared on solid support

Chenghao Li, Doru Constantin and Tim Salditt

Institut für Röntgenphysik, Universität Göttingen, Geiststraße 11, D-37073 Göttingen, Germany

E-mail: tsaldit@gwdg.de

Received 30 September 2003, in final form 6 November 2003

Published 18 June 2004

Online at [stacks.iop.org/JPhysCM/16/S2439](http://stacks.iop.org/JPhysCM/16/S2439)

doi:10.1088/0953-8984/16/26/017

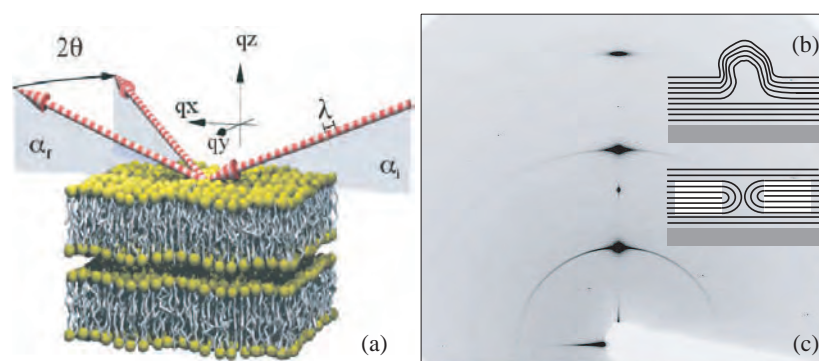
## Abstract

The structure of membrane-active peptides and their interaction with lipid bilayers can be studied in oriented lipid membranes deposited on solid substrates. Such systems are desirable for a number of surface-sensitive techniques. Here we focus on structural characterization by x-ray and neutron reflectivity and give an account of recent progress in sample preparation and measurements. We show that the degree of mesoscopic disorder in the films can significantly influence the scattering curves. Static defects should be minimized by optimization of the preparation techniques and their presence must be taken into account in the modelling. Examples are given for alamethicin and magainin in bilayers of different phosphocholines.

(Some figures in this article are in colour only in the electronic version)

## 1. Introduction

Compared to isotropic bulk solutions, biomimetic membranes deposited on solid surfaces offer a number of advantages for structural studies: surface characterization techniques can be applied to study such systems, different symmetry axes of the system can be separated and macromolecular conformation of proteins or peptides can possibly be probed in and at the bilayer. From a technological point of view, solid surfaces may be used in future to manipulate or detect interactions in the biomolecular films deposited on top of them. Biomimetic interfaces and bio-functional surfaces are therefore an active field of interdisciplinary research. To this end, the preparation of well-defined, homogeneous and structurally intact membrane systems on solid support is an important problem, involving fundamental physical questions, for example related to wetting behaviour [29], thermal stability [18, 44, 27, 33] or defects typical for smectic liquid crystalline (LC) films. A particularly simple and low-cost approach to preparing oriented lipid membranes is to spread or to spin-coat a solution of co-dissolved lipids and peptides onto solid surfaces like silicon, glass, quartz or other flat surfaces [39, 22].



**Figure 1.** (a) Sketch of an interface-sensitive scattering geometry, showing the incidence angle  $\alpha_i$ , the reflection angle  $\alpha_r$  and the out-of-plane angle  $2\theta$ . While the reflected beam carries the information on the vertical sample structure (i.e. the bilayer density profile), the diffuse scattering reveals thermal fluctuations and/or static defects. (b) Possible structure for lamellar phase defects: multilamellar vesicles (top) and giant dislocations. (c) Structure of the reciprocal space, illustrated by a CCD image taken on the ID1 beamline at ESRF. The sample is a 1/30 mixture of alamethicin/DMPC, immersed in a 31% PEG solution (molecular weight 20 000), with 100 mM NaCl; see also figure 6. Three Bragg sheets are visible as extended spots, as well as the sharp rings due to the presence of defects.

The structure of biomimetic multilamellar lipid membranes deposited on solid surfaces can be studied at high resolution by modern surface-sensitive scattering techniques, using synchrotron-based x-rays or neutrons as a probe. These techniques offer a novel approach to investigating the structure of lipid bilayer systems, both with and without additional membrane-active molecules such as amphiphilic peptides or membrane proteins. A high degree of orientation (low mosaicity) makes possible a precise distinction between the scattering vector component normal  $q_z$  and parallel  $q_{\parallel}$  to the bilayer, opening up a way to study questions associated with the lateral structure of the bilayers. Most diffraction studies of aligned lipid films have been carried out in the low temperature gel phase [16]. Here we concentrate on the physiologically more relevant liquid  $L_{\alpha}$  phase.

Figure 1(a) presents the diagram of an interface-sensitive scattering experiment: the incoming beam makes an angle  $\alpha_i$  with the plane of the bilayers. The outgoing beam makes an angle  $\alpha_r$  and it can also deviate by an angle  $2\theta$  from the plane of incidence (defined by the incident beam and the bilayer normal, taken in the following as the  $z$  axis). Multilayer systems, however well oriented on the average, often exhibit defects such as those depicted in figure 1(b), in which the normal to the bilayers makes a large angle with the average direction  $\vec{z}$ . Such defects (which can be minimized by careful preparation techniques or by long annealing times) are responsible for the sharp rings appearing at  $q_n = 2\pi n/d$ , as in the CCD image of figure 1(c), intersecting the three diffuse Bragg sheets. The bright spot between the first and second Bragg sheets is given by the specular beam (i.e.  $\alpha_i = \alpha_r$ ).

A few years ago we started using aligned multilamellar membranes to study structural details of the lipid-peptide interaction by x-ray and neutron reflectometry. The vertical density profile of the bilayers  $\rho(z)$  (averaged over the  $xy$  plane) can be determined from least-squares fitting of the specular reflectivity curve, while diffuse scattering reflects the lateral inhomogeneities on mesoscopic length scales, from a few nanometres up to a few micrometres. One aim of such studies is to deduce the peptide position and conformation with respect to the bilayer, i.e. to distinguish between the inserted and adsorbed states. In principle, the corresponding bilayer density profiles are different for the two conformations

and careful measurements should be able to show this. However, the observed changes in the reflectivity curves are often dominated by effects of the structure factor due to changes in the static or thermal fluctuations induced by the peptides. This difficulty has so far prevented us from extracting reliable structural parameters. In the present work, we give an account of this problem and discuss different preparation procedures of multilamellar solid-supported bilayers, as well as the structure of these films on mesoscopic length scales. Importantly, this mesostructure has strong implications on the structural characterization on the molecular scale. We then show how a proper choice of organic solvents can minimize these secondary effects, leading to more homogeneous films amenable to quantitative structural analysis.

The particular peptides which we are interested in here belong to a family of innate host defense molecules known as antimicrobial peptides, see reviews in [2, 21, 14]. Well known examples are ceropins expressed in insects, or magainin, the first antimicrobial peptide discovered in vertebrates. Magainin is expressed in the intestines and skin of the frog *Xenopus laevis*. Mammals also express antimicrobial peptides called defensins, which lyse microbes, probably by destroying the integrity of their cell walls, but leave the plasma membranes of their hosts intact. Other examples of similar antibiotic peptides are cytolytic to mammalian cells, like the well known alamethicin of the fungus *Trichoderma viride*, or the honey bee venom melittin. Host-defense and cytolytic peptides are amphiphilic polypeptides of typically 20–40 amino acid residues, with well-defined secondary structures forming upon interaction with the lipid bilayer. It has been shown that antimicrobial peptides interact directly with the microbial cell membranes, rather than with specific membrane proteins, subsequently causing an increase in membrane permeability and cell lysis. Apart from the obvious significance in the biological and pharmaceutical sciences, membrane-active peptides pose many interesting questions of biomolecular self-assembly in the bilayer and can be regarded as a testing ground for concepts and methods which may then be translated to more complex membrane protein systems. However, despite recent advances due to the use of a large number of different techniques, most models of the functional interaction and structure remain partially hypothetical and incomplete, and require in-depth structural characterization. To this end, a refinement of scattering techniques including sample preparation, measurement and data analysis is needed and could complement and significantly extend the possibilities of present small-angle scattering experiments [46, 26].

After this introduction, section 2 presents the sample preparation procedure and some experimental aspects of the reflectivity measurements. Section 3 is devoted to the analysis and modelling of reflectivity curves obtained from multilamellar lipid bilayers. A popular method for determining the bilayer density profiles  $\rho(z)$  is Fourier synthesis based on Bragg peak intensities. We investigate the validity of this method by comparing the results to those obtained from data fitting over the full  $q_z$  range. Section 4 discusses the effect of thermal fluctuations and static defects on the structure determination and presents different experimental routes for the structural analysis of supported multilamellar stacks by scattering. Examples using these methods are presented in section 5 on model systems composed of pure lipids and antibiotic peptides in lipids. Finally, section 6 presents a comparative discussion and some tentative conclusions.

## 2. Sample preparation, sample environment and reflectivity set-up

Highly oriented membranes are characterized by a very small mosaicity (i.e. distribution of the bilayer normal vector), typically of the order of  $0.01^\circ$  or below, which is small compared to the critical angle for total external reflection of x-rays or neutrons. Therefore, quantitative interface-sensitive x-ray or neutron scattering methods, like specular and

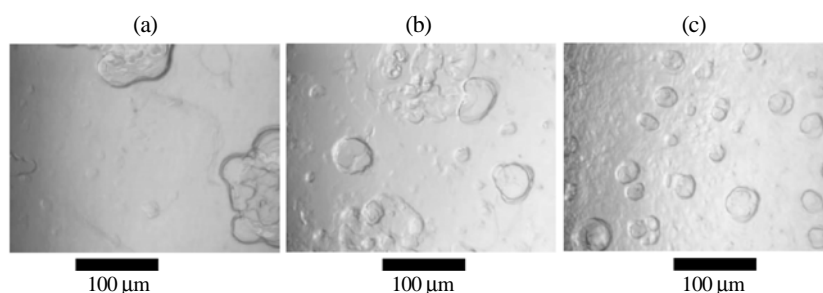
**Table 1.** Solubility of lipids and peptides in different solutions: (1) 2-propanol, (2) TFE (2,2-trifluoroethanol), (3) methanol, (4) ethanol, (5) chloroform, (6) chloroform/methanol (1:1), (7) acetone, (8) TFE/chloroform, (9) TFE/ethanol (1:1), (10) HFI/chloroform, (11) HFI (1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
DLPC	Y	Y			Y					Y	Y
DMPC	Y	Y			Y			Y	Y	Y	Y
DOPC	Y									Y	Y
DPPC	Y	Y			Y					Y	Y
OPPC	Y	N			Y			Y	Y	Y	Y
DMPE		N			Y (<1 mg ml <sup>-1</sup> )			Y (after 24 h)		Y	N
POPE		N						Y		Y	Y
DMPG		N			Y (<1 mg ml <sup>-1</sup> )			Y		Y	Y
POPS		N			Y			Y (TFE/CH <sub>3</sub> Cl ≥ 1/3)		Y	N
Alam.	Y		N	N	N	Y	N				
Mag.2		Y (about 1 mg ml <sup>-1</sup> )			N			Y		Y	Y
Gram. D	Y		Y	Y	Y			Y			

non-specular reflectivity, grazing incidence diffraction and reciprocal space mappings, see figure 1 and recent monographs [43, 1], can be applied. Films of lipid membranes can be prepared using the classical procedure of spreading lipids (and peptides) from solution [39], as free standing films [42] or by more recent schemes which allow a precise control of the total number of bilayers  $N$  by spin-coating the solutions [22, 30]. Novel methods to prepare single or double bilayers by Langmuir techniques have also been reported [10].

### 2.1. Sample preparation for the presented experiments

1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (DMPC), 1,2-oleoyl-palmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (OPPC) and 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DMPE) were bought from Avanti Lipids (Alabaster, AL, USA), AL, and used without further purification. The peptide magainin 2 amide (*GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS*) was obtained by solid-phase peptide synthesis by Bechinger and co-workers [2]. Alamethicin (*XXPXAXAQXVXGLXPVXXEQ*) was bought from Sigma (product number: 05125). Multilamellar bilayers were prepared on cleaned silicon or glass wafers by spreading from organic solution, similar to the procedure first described by Seul and Sammon [39]. The challenge is to simultaneously meet the solvation and wettability requirements. For sample deposition the substrates were cleaned by two 15 min cycles of ultrasonic cleaning in methanol, followed by two 15 min cycles in ultrapure water (specific resistivity ≥ 18 MΩ cm, Millipore, Bedford, MA), and drying under nitrogen flow. Finally, they were rendered hydrophilic by etching in a plasma cleaner (Harrick Scientific, NY) for 30 s. The lipid and peptide components were co-dissolved in the desired proportions (molar ratio P/L) in (i) 2-propanol, (ii) 2, 2, 2-trifluoroethanol (TFE) and (iii) 1:1 chloroform:TFE mixtures (see table 1 for solubility of lipids and peptides in some solvents), at total concentrations between 4 and 20 mg ml<sup>-1</sup>, depending on the total mass to be deposited. A drop of 0.1 ml was then carefully spread onto well-levelled and cleaned Si(100) or glass substrates of typically 15 × 25 mm<sup>2</sup>, yielding average film thicknesses of about  $D \simeq 5\text{--}10 \mu\text{m}$ . The spread solution was allowed to dry only very slowly to prevent film rupture and dewetting. The films were then exposed to high vacuum over 24 h in order to remove all traces of solvent and subsequently rehydrated in a hydration chamber. In all cases, the mosaicity was typically better than 0.02°. To monitor



**Figure 2.** Light microscopy of pure DMPC samples, spread from (a) 1:1 mixtures of TFE and chloroform, (b) TFE, (c) isopropanol, all at  $15 \text{ mg ml}^{-1}$  concentration.

sample quality, we used light microscopy in DIC contrast (Zeiss Axioskop, objective: Neofluar 20x /0.5 DIC) to image the samples after deposition, mainly in the dry state. Figure 2 shows DMPC samples of  $15 \text{ mg ml}^{-1}$  stock solutions ( $0.2 \text{ ml}$  spread on  $15 \times 25 \text{ mm}^2$  Si(100)) in three different organic solvents, namely isopropanol, TFE and 1:1 TFE:chloroform mixtures. The representative images clearly show that the defect structure depends on the solvent. In general, TFE:chloroform mixtures gave the best results, i.e. the smallest number of defects.

## 2.2. Sample environment

The sample environment for the control of temperature, humidity and possibly other parameters (osmotic pressure, electrical fields, etc) can generally be made compatible with x-ray experiments. Here, the sample chamber consisted of two stainless steel cylinders with kapton windows [24]. The chamber was cooled or heated by a flow of oil or 1:2 glycol:water mixtures from a temperature-controlled reservoir (Julabo, Germany). The samples were mounted in an inner chamber with a water reservoir to keep the relative humidity close to 100%. The temperature was measured in most cases in the inner chamber by a Pt100 sensor, showing a stability of better than  $0.03 \text{ K}$  over several hours. A sensor for relative humidity (HIH2610-003, Honeywell, Freeport IL) was additionally installed, but in most cases failed to give reproducible results near 100% relative humidity. In most of our measurements, uncharged membranes could not be swollen to their equilibrium periodicity  $d_0$  in water vapour, even if the vapour was (nominally) at 100% relative humidity. This phenomenon, long known as the vapour pressure paradox [31], results from small temperature gradients in the sample chamber [25]. In practice, we took the membrane periodicity  $d$  of pure DMPC as a control of the humidity at a given temperature and chamber mounting. It is also possible to study solid-supported lipid films immersed in excess water [44]. This is of interest for two reasons: firstly, excess water warrants the physiologically relevant condition of full hydration. Secondly, membrane-active molecules can be adsorbed directly from the solution. However, films in excess water are unstable in the absence of osmotic agents (stressors). A thermal unbinding transition was observed [44, 27] from a substrate-bound, multilamellar state at low temperatures to a state of freely dispersed bilayers in water at high temperatures. Unbinding can be suppressed (and the films thus stabilized) by adding an osmotic stressor to the excess water. The control of the periodicity  $d$  can be achieved by the use of excess polymer solutions as osmotic stressors and the equation of state can be determined [22, 4]. For charged systems, mixing of the bilayers and stressor polymers can be avoided by using polyelectrolytes of the same charge as the lipids. In this work, we used samples immersed in water for two series of DMPC/alamethicin at different osmotic pressures, using as osmotic stressor solutions of (i) 31% PEG solution (molecular weight 20 000), with  $100 \text{ mM NaCl}$ , and (ii) 14.2% PEG at zero salt (see figure 6).

### 2.3. X-ray reflectivity

For this method, the incident beam with wavevector  $\mathbf{k}_i$  has to be collimated to less than a few hundredths of a degree and directed onto the sample at a glancing incidence angle  $\alpha_i$ . The reflected intensity is then measured as a function of  $\alpha_i$  under specular conditions, i.e. at an exit angle  $\alpha_f = \alpha_i$  and out-of-plane angle  $2\theta = 0$ , with the wavevector of the exit beam denoted by  $\mathbf{k}_f$ . Thus, the momentum transfer of the elastic scattering  $\mathbf{q} = \mathbf{k}_f - \mathbf{k}_i$  is always along  $q_z$ , with the  $z$  axis parallel to the sample normal, see figures 1 and 2. In contrast, moving the detector or sample to  $\alpha_i \neq \alpha_f$  (diffuse or non-specular scattering) results in a component  $q_{||}$  parallel to the sample surface.

The reflectivity measurements presented here were carried out at three different experimental stations:

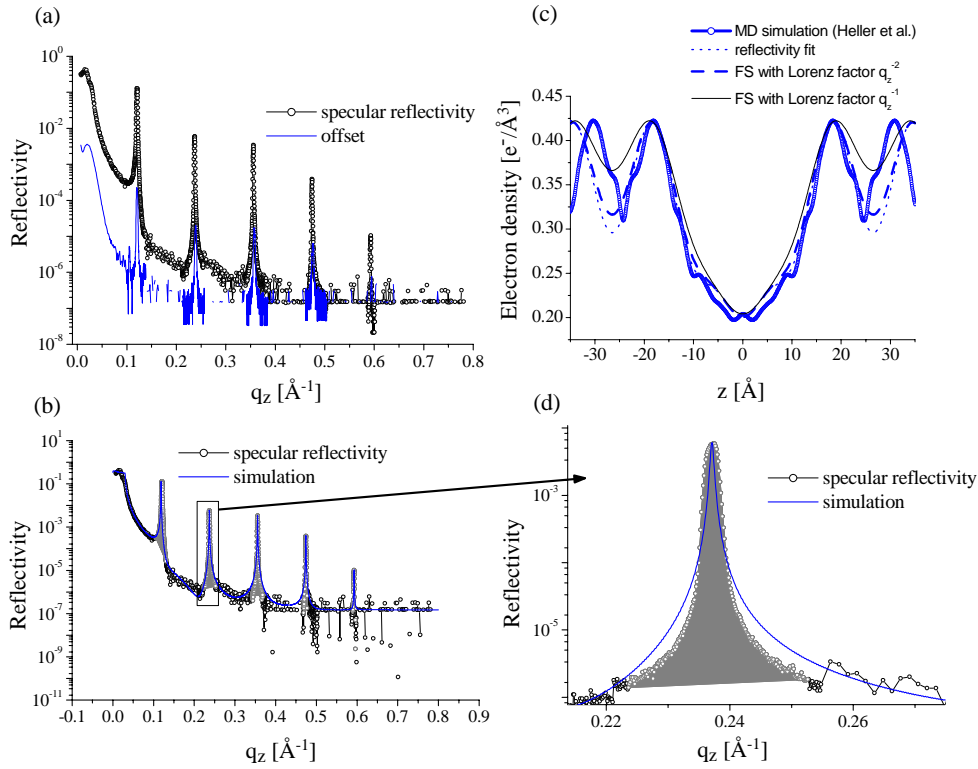
- (i) At a high resolution in-house rotating anode reflectometer, equipped with a channel-cut Ge(110) monochromator selecting the Cu  $K\alpha_1$  radiation, a  $z$ -axis diffractometer and a standard NaI scintillation counter.
- (ii) At the bending magnet beamline D4 of HASYLAB/DESY using photon energies of 20 keV.
- (iii) At the experimental station ID1 of ESRF Grenoble using photon energies of 19 keV.

Incidence and exit beams are defined by various slits. Typically, the reflectivity can be recorded over seven to eight orders of magnitude, after correction for diffuse scattering background, as measured in an offset scan. In order to get correct results when fitting the reflectivity, the correction for diffuse background at higher angles is essential. Beyond background subtraction, the diffuse (non-specular) scattering component contains valuable information on the lateral membrane structure on mesoscopic length scales, in particular the height fluctuations as quantified by the height–height self- and cross-correlation functions [41, 36, 20, 37, 38].

### 3. Analysis of reflectivity curves from multilamellar membranes

The analysis of x-ray and neutron reflectivity requires a very low mosaicity (narrow orientational distribution of domains) as well as a flat substrate, allowing a clear separation between the specular and non-specular scattering components. Two standard approaches are the fully dynamical Parratt algorithm (taking into account multiple reflections) or the semi-kinematical reflectivity pioneered by Als-Nielsen [1]. In contrast to small-angle scattering, the observation of a region of total external reflection and hence of the critical angle  $\alpha_c$  allows determination of the electronic density profile on an absolute scale ( $e^- \text{ \AA}^{-3}$ ). Furthermore, since the full  $q_z$  range can be used for data analysis by fitting the reflectivity curve to a parametrized model of the density profile [35], a reasonable resolution in  $\rho(z)$  can also be reached for fully hydrated systems. Compared to arbitrary interface profiles, the analysis is significantly simplified, since the bilayer form factor is real-valued due to centro-symmetry and changes in sign are often accompanied by an observable cusp in the (continuously measured) reflectivity curve. Alternatively, phasing of the Fourier components can be performed by the so-called swelling method. Note that the advantage of full  $q_z$  fitting has also been demonstrated in bulk (SAXS) studies, see for example [28]. In most published studies of oriented bilayers, however, only the integrated Bragg peaks of the multilamellar samples are used for data analysis and the one-dimensional density profile  $\rho(z)$  is computed by Fourier synthesis using a discrete set of coefficients  $f_n$  as described in [3, 15, 47] (see equation (4) below).

We have recently developed a reflectivity model in the framework of semi-kinematical scattering theory, in which both the structure factor of the stack and the bilayer form factor can



**Figure 3.** (a) Reflectivity and offset scan (non-specular background) of multilamellar OPPC membranes in the fluid  $L_{\alpha}$  phase at partial hydration ( $T = 45^{\circ}\text{C}$  and  $d \simeq 53 \text{ \AA}$ ). (b) True specular component obtained by subtraction of the offset scan, fitted to a model with five free Fourier components which define the electron density profile on an absolute scale (see text). The grey areas indicate the integrated peak intensities, which are used to calculate the electron density profile by Fourier synthesis, shown in (c) for the two alternative Lorentz factors,  $q_z^{-2}$  (broken curve) and  $q_z^{-1}$  (thin full curve), along with the result of the full  $q$  range fit (full curve in (b)) and the profile calculated from MD simulations. (d) Zoom of the second Bragg peak of (b), showing the deficiencies of the model in terms of resolution effects (see the text).

be suitably chosen [35], according to the given experimental resolution. This is possible since the lipid bilayer density profile  $\rho_{\text{bl}}(z)$  and the associated form factor  $F(q_z)$  are parametrized by a variable number  $N_o$  of Fourier coefficients, where  $N_o$  is adapted to the resolution of the measurement. In contrast to conventional box models, the total number of parameters can thus be kept small, while still fitting to reasonable density profiles. As a test example, the reflectivity of highly aligned multilamellar OPPC membranes on solid substrates has been measured and analysed [35]. The resulting density profile agrees remarkably well with the bilayer structure as obtained from published molecular dynamics (MD) simulations [11] (see figure 3(b)). The starting point for this treatment is the so-called master equation of reflectivity from a structured interface in the semi-kinematic approximation [1]. For an interface perpendicular to the  $z$  axis, characterized by the (laterally averaged) scattering length density profile  $\rho(z)$  (electron density for x-rays) between a medium 1 (air or water) with scattering length density  $\rho_1$  and a medium 2 (solid substrate) with density  $\rho_2$ , the reflectivity is

$$R(q_z) = R_F(q_z) |\Phi(q_z)|^2 = R_F(q_z) \left| \frac{1}{\Delta\rho_{12}} \int \frac{\partial\rho(z)}{\partial z} e^{-iq_z z} dz \right|^2, \quad (1)$$

where  $R_F$  is the Fresnel reflectivity of the ideal (sharp) interface between the two media, and  $\Delta\rho_{12}$  is the density contrast. Note that  $\rho$  is obtained by combination of the solid surface and a step train of lipid bilayers, convolved with a function describing the positional fluctuations and multiplied by a coverage function (see below). The critical momentum transfer or the critical angle in  $R_F$  is related to the density contrast by  $q_z = 4\pi/\lambda \sin(\alpha_c) \simeq 4\sqrt{\pi r_0 \Delta\rho_{12}}$ , with  $r_0$  denoting the classical electron radius. Absorption can be accounted for by an imaginary component of the wavevector. The substrate/film interface is the only relevant boundary for the  $R_F$  factor due to the following reasons:

- (i) in many cases, the beam impinges on the sample through the water phase and there is almost no contrast between the film and water (for x-rays) so no refraction takes place at the water/film interface;
- (ii) due to decreasing coverage of the upper layers, the water/film interface is broad and not well defined, again leading to vanishing reflection and refraction effects at this interface.

We describe this feature by a monotonically decreasing coverage function  $c(n)$  with  $c(1) = 1$  and  $c(N) = 0$ .

Using the linearity of the integrand in equation (1), the reflectivity amplitude can be split into two parts  $r_A(q_z) + r_B(q_z)e^{-iq_z d_0}$ .  $r_A$  is due to the reflection from the density increment at the substrate and  $r_B$  represents the multilamellar bilayers. Taking  $\sigma_s$  to denote the rms roughness of the substrate, we get  $r_A = \Delta\rho_{12}e^{-0.5q_z^2\sigma_s^2}$ . Note that the position of the first bilayer is shifted by  $d_0$  with respect to the substrate (due to the presence of a thin water layer).  $r_B$  can be accounted for by specifying a structure factor  $s(q_z)$ :

$$s(q_z) = \sum_{n=1}^N e^{inq_z d} e^{-\frac{q_z^2 \sigma_n^2}{2}} c(n), \quad (2)$$

with  $\sigma_n$  the rms fluctuation amplitude of the  $n$ th bilayer, and the form factor:

$$f(q_z) = \int_{-\frac{d}{2}}^{\frac{d}{2}} \frac{\partial \rho(z)}{\partial z} e^{iq_z z} dz. \quad (3)$$

The bilayer is parametrized in terms of its first  $No$  Fourier coefficients  $f_n$ :

$$\rho(z) = \rho_0 + \sum_{n=1}^{No} f_n v_n \cos\left[\frac{2\pi n z}{d}\right]. \quad (4)$$

Note that, due to the mirror plane symmetry of the bilayer, the phases  $v_n = \pm 1$  are reduced to positive/negative signs only, facilitating the phase problem enormously. In fact, the correct choice of signs (up to orders  $n = 4$  or  $5$ ) can, in most cases, be guessed from knowledge of the basic bilayer profile, if not deduced from the data, where sign changes are often accompanied by observable cusps in the reflectivity curves. The integral of the form factor can be solved analytically, yielding

$$f(q_z) = \sum_{n=1}^{No} f_n v_n \left[ \frac{i8\pi^2 n^2 \sin(0.5q_z d)}{q_z^2 d^2 - 4\pi^2 n^2} \cos(n\pi) \right]. \quad (5)$$

More details of this approach are discussed in [35]. In practice, the range of the reflectivity determines the number  $No$  of orders which should be included. Note also that the parametrization of  $n$  Fourier coefficients can easily be changed by way of a linear transformation into a parametrization of  $n$  independent structural parameters of the bilayer, such as bilayer thickness (headgroup peak-to-peak distance), density maximum in the headgroup region, density in the bilayer middle plane, density of the water layer, etc [35].



Figure 3 shows the reflectivity of multilamellar OPPC membranes, measured at the in-house high resolution rotating anode reflectometer at  $T = 45$  °C. The sample was prepared on a cleaned (111) Si wafer by spreading from TFE [23]. During the measurement, the sample was in the fluid  $L_\alpha$  phase and the smectic parameter was  $d \simeq 53$  Å. After subtraction of the offset scan (figure 3(a)), the reflectivity curve was fitted to a model with 5 free Fourier coefficients.

We treated the same data using the Fourier synthesis approach. While full  $q$  range fitting gives the  $\rho(z)$  on an absolute scale [35], Fourier synthesis determines a relative profile  $\rho(z) = a\rho_0(z) + b$ , with two open parameters  $a$  and  $b$ . All results were compared to the electron density profile as calculated from the MD simulation data of Heller *et al* [11]. The scaling parameters  $a$  and  $b$  used are 1120 and 0.31 for Lorentz factor  $q_z^{-2}$  and 440 and 0.322 for Lorentz factor  $q_z^{-1}$ , respectively. The comparison clearly indicates that the Lorentz factor  $q_z^{-1}$  fails, while  $q_z^{-2}$  gives good agreement. In this way, empirical correction terms can be ‘calibrated’.

#### 4. Thermal and static disorder, non-specular scattering

In order to determine the density profiles  $\rho(z)$  from  $f(q_z)$ , the effects of thermal and static fluctuations (e.g. due to defects) in  $s(q_z)$  have to be quantified. Thermal fluctuations are dominant at full hydration, when the compressional modulus  $B$  of the stack is small, and less important at partial hydration, when  $B$  is high. Furthermore, the solid surface effectively reduces thermal fluctuations (in particular, long range undulations), making it possible to get higher resolution profiles  $\rho(z)$  than in the bulk, even in fully hydrated states [36]. To quantify the fluctuation effects and to incorporate them in the reflectivity analysis, one can either treat the layers as discrete [13, 17, 34] or consider the stack as a continuous elastic medium, described by the classical smectic energy [9]  $H/V = \frac{1}{2}B(\frac{\partial u}{\partial z})^2 + \frac{1}{2}K(\nabla_{xy}^2 u)^2$ , where  $u(x, y, z)$  is a continuum displacement field of the membranes with respect to a perfect lattice.  $B$  (erg cm<sup>-3</sup>) and  $K$  (erg cm<sup>-1</sup>) are the bulk moduli for compression and curvature, respectively.  $K$  is related to the bending modulus of a single membrane  $K_s$  by  $K = K_s/d$ .

This latter approach is more tractable than the discrete one and yields similar results [32]. The boundary condition at the flat substrate can be taken into account either by taking the associated surface tension to infinity [40] or directly by choosing for the fluctuation modes an orthogonal set of eigenfunctions which vanish at the substrate [8]. Even in the continuous medium approach, the discrete nature of the stack must be taken into account by limiting the number of distinct fluctuation modes to the number of bilayers,  $N$  (this amounts to restricting the summation to the first Brillouin zone), lest spurious divergences appear. The model yields a complete description of the fluctuation spectrum, including the dependence of the correlation function on  $z$  and on the in-plane distance  $r$ . However, only the rms fluctuation amplitude  $\sigma_n$  for each bilayer is needed to describe the specular scattering. Its value is simply determined as [7]

$$\sigma_n = \eta \left( \frac{d}{\pi} \right)^2 \sum_{n=1}^N \frac{1}{2n-1} \sin^2 \left( \frac{2n-1}{2} \pi \frac{n}{N} \right). \quad (6)$$

where  $\eta = \frac{\pi}{2} \frac{k_B T}{d^2 \sqrt{KB}}$  is a dimensionless parameter first introduced by Caillé [5], which quantifies the importance of the fluctuations.

The most important kind of imperfection in lipid films is often the inhomogeneous coverage, i.e. the distribution of the total number of bilayers  $N$  on lateral length scales of several micrometres, deriving either from the non-equilibrium deposition process or from an equilibrium dewetting instability [29]. The effect can be modelled by a coverage function for

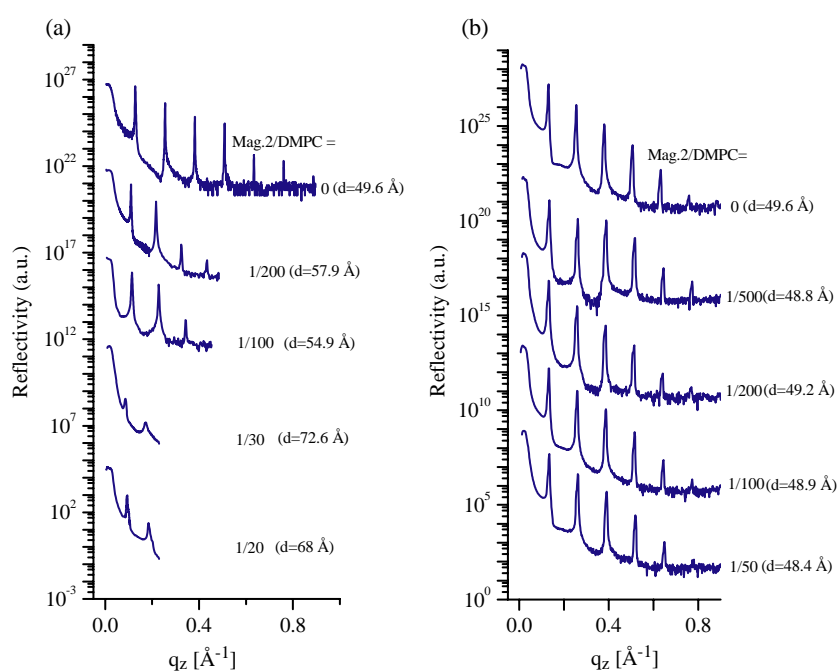
which a convenient analytical form can be chosen as

$$c(n) = \left[ 1 - \left( \frac{n}{N} \right)^\alpha \right]^2, \quad (7)$$

where  $\alpha$  is an empirical parameter controlling the degree of coverage. This is a convenient method, but not a very precise one, insofar as the fluctuation spectrum is still calculated for a fixed number of layers,  $N$ . A growing number of totally dewetted patches has been observed in thin oligo-membrane films hydrated from water vapour. Another type of decreasing coverage is found in thick films in excess water at high temperatures, where parts of the multilamellar stack unbind from the substrate or from the underlying bilayers. Accompanying this effect, multilamellar vesicles can be observed in light microscopy at the lipid/water interface [44]. Other defects appearing in the lipid films are the typical textural defects of the smectic phase, such as focal conics or oily streaks. They are expected to give rise to isotropic Debye–Scherrer rings, as in figure 1(c). Finally, hydrophobic/hydrophilic interactions may lead to defect structures terminating the bilayers at the edges. All of the above defects are presumably accompanied by long range distortion fields, so that additional contributions to  $\sigma_n$ , aside from thermal fluctuations, could be present. The density of defects can vary significantly depending on the preparation scheme. To this end, we have strong indications that the type of solvent used in thick spread lipid films is of paramount importance if a uniform film thickness is to be obtained, see figures 2 and 5.

While thermal fluctuations prevail at low osmotic pressure (high swelling), the dominant mechanism determining the decay of higher order Bragg peaks at high osmotic pressure (low swelling) may be due to static defects. This conclusion can be drawn from the fact that samples of nominally identical composition and swelling may exhibit very different reflectivity curves, as illustrated by the comparison of two sample series of magainin 2 in DMPC, one spread from TFE, see figure 4(a) and the other from a TFE:chloroform mixture, see figure 4(b). Both series are shown as measured before offset subtraction. Sample (a) was prepared on a cleaned (111) Si wafer and measured at the in-house rotating anode reflectometer using Cu  $K\alpha_1$  radiation. Sample (b) was spread from the mixed solvent on cleaned glass and measured at the D4 bending magnet station, using 20 keV. Note that the difference in photon energy leads to very different peak-to-tail ratios at the first Bragg peak, since the interference with the substrate reflectivity amplitude is low for Cu  $K\alpha_1$  radiation due to absorption. In figure 4(a), the disorder in the multilamellar stack clearly increases with peptide concentration, but in figure 4(b) this effect is not observed, possibly due to the different (P/L-dependent) sample quality (defect structure), see figure 2. While for pure DMPC (P/L = 0) six Bragg peaks are observed in both cases, the P/L = 0.01 curve in (a) exhibits only three and the same curve in (b) five peaks. Thus, the Debye–Waller factor must be significantly different. However, we must also note that the swelling was very different in the two cases, such that part of the effect might be attributed to thermal fluctuations, which change with the state of swelling.

The fact that TFE:chloroform mixtures give particularly high quality samples is further illustrated by figure 5, showing the reflectivity curves of samples composed of lipid mixtures of DMPC and DMPE in a 1:1 molar ratio. The samples were prepared from 1:1 TFE:chloroform solutions, spread on (100) Si wafers, and measured in the humidity chamber at a temperature  $T \simeq 51.6^\circ\text{C}$  at the D4 bending magnet station of HASYLAB/DESY using photon energies of 20 keV. At this temperature and humidity, the samples are probably in the gel phase, where thermal fluctuations are suppressed. Static defects seem to be minimized by the preparation procedure, since an astonishingly high number of peaks (27 in pure DMPC:PE) can be measured. Peptide addition slightly reduces the periodicity  $d$  but does not affect the high number of peaks.

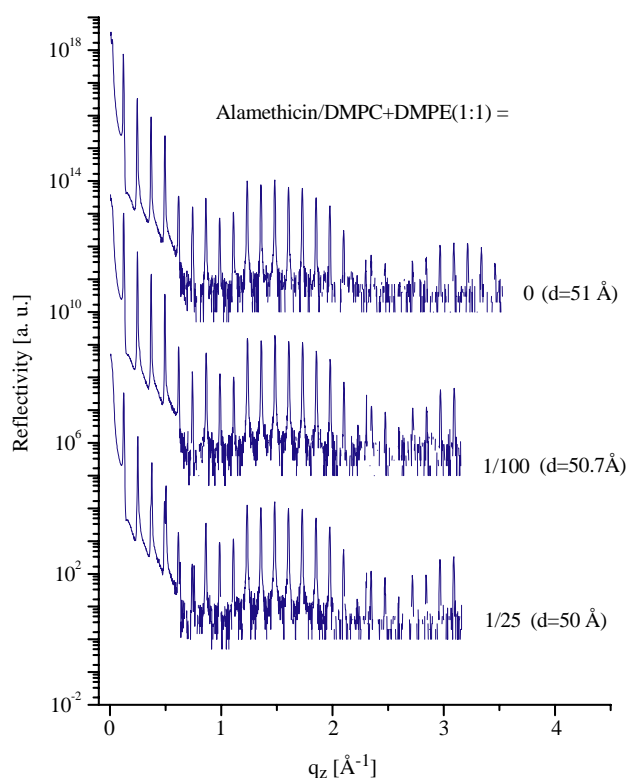


**Figure 4.** Specular reflectivity curves of DMPC/magainin 2 at  $T = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$  (a) spread from TFE on a (111) Si wafer or (b) spread from a 1:1 TFE:chloroform solution on glass. The curves are shifted vertically for clarity, and run from low molar peptide concentration P/L (top) to high P/L (bottom).

## 5. Antibiotic peptides in lipid membrane model systems: special approaches

As mentioned in the introduction, different choices of sample preparation and measurement are possible and should be compared. Most of the studies discussed here were performed in humidity set-ups. However, in biological systems the membranes are always in contact with a fluid phase; it is thus very important to study the biomimetic peptide–lipid systems in immersion, which has the additional advantage of allowing a wider range of experimental conditions: the use of osmotic stressors, already employed in the case of pure lipid systems (see section 2) can control the hydration (and also the stability of the stack). Salt can be used to screen the polar lipids and/or proteins. Finally, by stopflow experiments one could study the interaction between peptides and various solutes, as well as the adsorption kinetics of the peptides themselves onto the bilayers. Nevertheless, the presence of the solvent, which constitutes an additional source for scattering, raises experimental problems: the x-ray photons must be energetic enough to penetrate about 1 cm of water; as for neutrons, it is sometimes more convenient to approach the sample through the (crystalline) substrate.

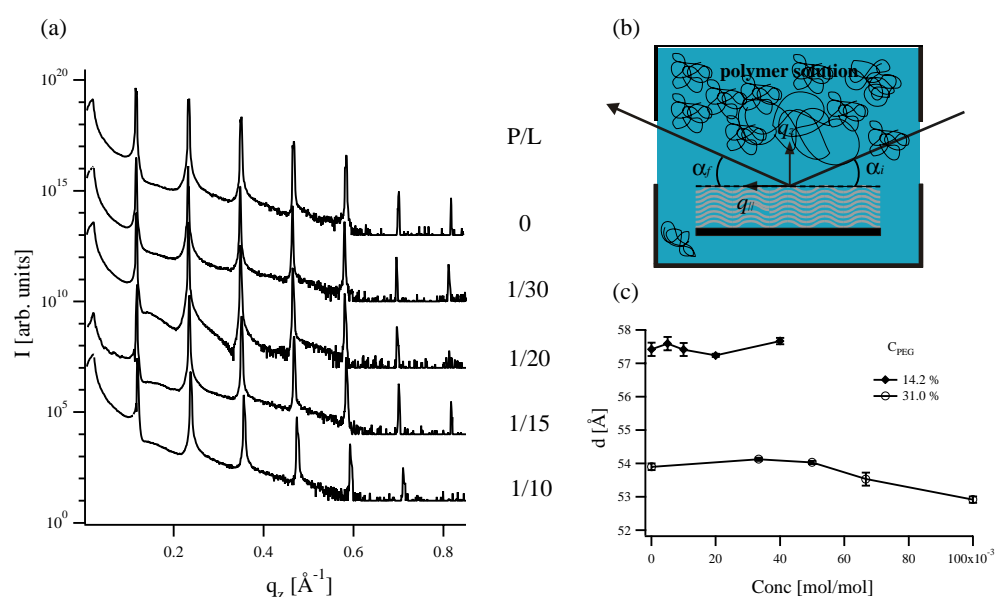
As seen in the previous section, an important problem is the change in swelling state within one sample series, see figure 4. In principle, very important information is contained in the slight changes of  $d$ , or—more accurately—in the changes of water layer thickness  $d_w$  and bilayer thickness  $d_{bl}$  as a function of P/L [12, 45]. However, there always remains a doubt as to whether the relative humidity is really kept constant in the humidity cell for two consecutive samples and whether changes in the swelling can really be attributed to changing interaction forces (e.g. electrostatic repulsion for different P/L). By immersing the samples in calibrated



**Figure 5.** Offset-corrected reflectivity spectra of the lipid mixture from DMPC and DMPE in a 1:1 ratio at  $T \approx 51.6^\circ\text{C}$  for different values of the alamethicin molar concentration  $P/L$ . The samples were spread from a 1:1 TFE:chloroform mixture.

solutions of osmotic stressors (polymer solutions), this problem can also be circumvented. As an illustration, we present in figure 6(a) reflectivity spectra of alamethicin-containing DMPC multilayers, in contact with a 31% wt/vol PEG solution (molecular weight 20 000), with 100 mM added NaCl, for different peptide concentrations, measured on the ID1 beamline at the ESRF-Grenoble, with a photon energy of 19 keV. The set-up is represented in figure 6(b): the stainless steel chamber has kapton windows for the incoming and the outgoing beam and is mounted on a heating stage for temperature control. In figure 6(c) we show the repeat distance  $d$  as a function of peptide concentration for two different PEG concentrations: 14.2% (diamonds) and 31% (open dots). The error bars are obtained from an average over three Bragg orders. A very slight decrease in  $d$  takes place for  $P/L > 1/20$  (only reached for the series with 31% PEG solution shown in figure 6(a)). The physical reason for the decrease is unclear at this point; as  $d = d_{\text{bl}} + d_{\text{w}}$ , a refined analysis of the form factor is needed in order to discriminate between changes in the thickness of the lipid bilayer or the water layer. Bilayer thinning at lower  $P/L$  (and in different experimental conditions) was already reported (see [6] and references therein).

For comparison, a standard measurement in the humidity set-up is shown in figure 7 for a series of magainin in OPPC as a function of  $P/L$ . The preparation and measurement set-up is equivalent to the pure OPPC sample shown in figure 3(a). The periodicity  $d$  decreases with  $P/L$ . After fitting the curves to the model described above (full curve) over the full  $q_z$  range, the profiles for  $\rho(z)$  have been superimposed in (b). From these curves a monotonic decrease



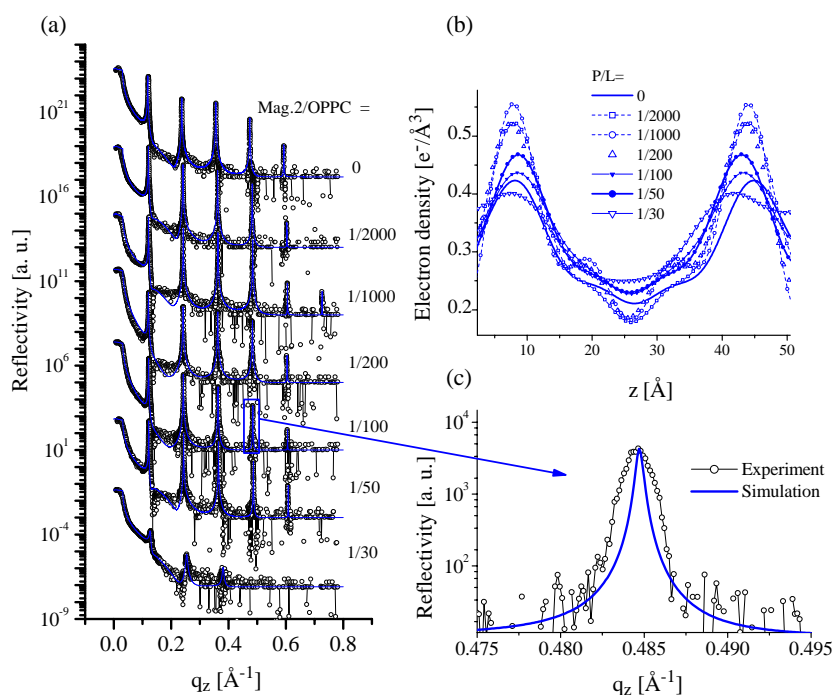
**Figure 6.** (a) Reflectivity curves of DMPC multilayers containing alamethicin immersed in a 31% PEG solution (molecular weight 20 000), with 100 mM NaCl, for different peptide/lipid ratios P/L. (b) Sketch of the experimental set-up. (c) Evolution of the periodicity  $d$  with P/L for two PEG concentrations: 14.2% (diamonds) and 31% (open dots).

of the bilayer thickness (defined as the head-head distance  $d_{\text{bl}}$  from the maximum in  $\rho(z)$ ) is inferred, ranging from  $d_{\text{bl}} = 36.2 \text{ \AA}$  at  $P/L = 0$  to  $d_{\text{bl}} = 34.2 \text{ \AA}$  at  $P/L = 0.033$ . Surprisingly, the least-squares fits give unrealistically high values for the electron density in the head groups. This result has to be regarded as an artefact. The reason is probably due to the fact that, in order to determine the absolute scale in  $\rho(z)$  correctly, the lineshape and integrated peak intensity of the Bragg peak has to be fitted correctly, which is not the case, see the enlargement shown in figure 7(c). The problem here is that the instrumental resolution has not yet been taken correctly into account. As a consequence, the profiles are flawed.

## 6. Conclusions

In conclusion, we have shown different experimental approaches for studies of peptide-lipid interaction by x-ray scattering from solid-supported films. Sample preparation, measurement and data analysis are largely analogous in the case of neutron reflectivity (data not shown here), which typically suffers from a smaller accessible  $q_z$  range due to less brilliant sources, but offers the advantage of contrast variation. More generally, some aspects of sample preparation discussed here (in particular related to mosaicity and defect density) may also be of interest for other techniques, both structural and spectroscopic.

While, in principle, able to distinguish different conformational states of macromolecules in and at the bilayer, x-ray reflectivity analysis presents some important challenges, in particular related to the correct model for thermal fluctuations and distortion fields by static defects. As a general strategy, it is convenient to prepare sample series in several configurations and to measure them in different set-ups. Simultaneous analysis of reflectivity curves obtained from thin oligo-membranes and thick multilamellar stacks, and of curves obtained in humidity and immersion chambers, as well as specular and offset curves provides a way to cross-check the



**Figure 7.** (a) Reflectivity of multilamellar samples of OPPC/magainin in the fluid  $L_{\alpha}$  phase at partial hydration ( $T \simeq 45^{\circ}\text{C}$ ) with simulation (full curve), shifted for clarity. (b) Electron density profile  $\rho(z)$ , obtained by fitting. (c) Enlargement of a Bragg peak showing the discrepancies due to instrumental resolution.

results and to distinguish significant effects from artefacts. To this end, the model should be improved by incorporating the resolution effects in the fitting program. In the future, we will work towards freely distributed software for reflectivity analysis for solid-supported multilayers. One aspect which we have not addressed here, but which is important for this goal, is the proper parametrization of the macromolecules, i.e. the interpretation of the density profiles [19, 46]. Finally, synergies between advanced scattering methods and other techniques (using oriented samples), such as solid-state NMR, infrared spectroscopy with site-directed labels and optical dichroism, should be exploited.

### Acknowledgments

We are indebted to B Bechinger for providing the magainin 2 and to Angel Mazuelas for help at the ID1 beamline. We thank HASYLAB/DESY and ESRF for providing the necessary synchrotron beam time. Financial support by the German Ministry of Research under grant BMBF 05KS1TSA/7 (Verbundforschung Synchrotronstrahlung) is gratefully acknowledged. DC has been supported by a Marie Curie Fellowship of the European Community programme *Improving the Human Research Potential* under contract number HPMF-CT-2002-01903.

### References

- [1] Als-Nielsen J and McMorrow D 2001 *Elements of Modern X-Ray Physics* (New York: Wiley)
- [2] Bechinger B 1999 *Biochim. Biophys. Acta* **1462** 157

- [3] Blaurock A E 1982 *Biochem. Biophys. Acta* **650** 167
- [4] Brotons G, Salditt T, Dubois M and Zemb Th 2003 *Langmuir* **19** 8235
- [5] Caillé A 1972 *C. R. Acad. Sci. B* **274** 891
- [6] Chen F-Y, Lee M-T and Huang H W 2003 *Biophys. J.* **84** 3751
- [7] Constantin D, Mennicke U, Li C and Salditt T 2003 *Eur. Phys. J. E* **12** 283
- [8] de Boer D K G 1999 *Phys. Rev. E* **59** 1880
- [9] de Gennes P G and Prost J 1993 *The Physics of Liquid Crystals* (Oxford: Oxford University Press)
- [10] Fragneto G, Charitat T, Graner F, Mecke K, Perino-Gallice L and Bellet-Amalrice E 2001 *Europhys. Lett.* **53** 100
- [11] Heller H, Schaeffer M and Schulten K 1993 *J. Phys. Chem.* **97** 8343
- [12] Heller W T, Waring A J, Lehrer R I, Harroun T A, Weiss T M, Yang L and Huang H W 2000 *Biochemistry* **39** 139
- [13] Holyst R 1991 *Phys. Rev. A* **44** 3692
- [14] Huang H W 2000 *Biochemistry* **39** 8347
- [15] Katsaras J 1995 *Biochem. Cell. Biol.* **73** 209
- [16] Katsaras J and Raghunathan V 2000 *Lipid Bilayers: Structure and Interactions* ed J Katsaras and T Gutberlet (Berlin: Springer) pp 25–45
- [17] Lei N, Safinya C and Bruinsma R 1995 *J. Physique II* **5** 1155
- [18] Lipowsky R 1995 *Z. Phys. B* **97** 193
- [19] Lösche M 2002 *Curr. Top. Membrane* **52** 117
- [20] Lyatskaya Y, Liu Y, Tristram-Nagle S, Katsaras J and Nagle J F 2000 *Phys. Rev. E* **63** 011907
- [21] Matsuzaki K 1999 *Biochim. Biophys. Acta* **1462** 1
- [22] Mennicke U and Salditt T 2002 *Langmuir* **18** 8172
- [23] Münster C, Salditt T, Vogel M and Peisl J 1999 *Europhys. Lett.* **46** 486
- [24] Münster C 2000 *PhD Thesis Ludwig-Maximilians-Universität München, Germany*
- [25] Nagle J and Katsaras J 1999 *Phys. Rev. E* **59** 7018
- [26] Nagle J and Tristram-Nagle S 2000 *Biochim. Biophys. Acta* **1469** 159
- [27] Pabst G, Katsaras J and Raghunathan V A 2002 *Phys. Rev. Lett.* **88** 128101
- [28] Pabst G, Rappolt M, Amenitsch H and Laggner P 2000 *Phys. Rev. E* **62** 4000
- [29] Perino-Gallice L, Fragneto G, Mennicke U, Salditt T and Rieutord F 2002 *Eur. Phys. J. E* **8** 275
- [30] Pfeiffer F, Mennicke U and Salditt T 2002 *J. Appl. Crystallogr.* **35** 1
- [31] Podgornik R and Parsegian V A 1997 *Biophys. J.* **72** 942
- [32] Poniewierski A and Holyst R 1993 *Phys. Rev. B* **47** 9840
- [33] Pozo-Navas B, Raghunathan V A, Katsaras J, Rappolt M, Lohner K and Pabst G 2003 *Phys. Rev. Lett.* **91** 028101
- [34] Romanov V P and Ul'yanov S V 2002 *Phys. Rev. E* **66** 061701
- [35] Salditt T, Li C, Spaar A and Mennicke U 2002 *Eur. Phys. J. E* **7** 105
- [36] Salditt T, Münster C, Lu J, Vogel M, Fenzl W and Souvorov A 1999 *Phys. Rev. E* **60** 7285
- [37] Salditt T, Vogel M and Fenzl W 2003 *Phys. Rev. Lett.* **90** 178101
- [38] Salditt T, Münster C, Mennicke U, Ollinger C and Fragneto G 2003 *Langmuir* **19** 7703
- [39] Seul M and Sammon M J 1990 *Thin Solid Films* **185** 287
- [40] Shalaginov A N and Romanov V P 1993 *Phys. Rev. E* **48** 1073
- [41] Sinha S K, Sirota E B, Garoff S and Stanley H B 1988 *Phys. Rev. B* **38** 2297
- [42] Smith G S, Sirota E B, Safinya C R and Clark N A 1988 *Phys. Rev. Lett.* **60** 813
- [43] Tolan M 1999 *X-Ray Scattering from Soft-Matter Thin Films* (Berlin: Springer)
- [44] Vogel M, Münster C, Fenzl W and Salditt T 2000 *Phys. Rev. Lett.* **84** 390
- [45] Weiss T M, van der Wel P C A, Killian J A, Koeppe R E II and Huang H W 2003 *Biophys. J.* **84** 379
- [46] White S H and Hristova K 2000 *Lipid Bilayers: Structure and Interactions* (Berlin: Springer)
- [47] Zhang R, Suter R M and Nagle J F 1994 *Phys. Rev. E* **50** 5047

## The interaction of hybrid nanoparticles inserted within surfactant bilayers

Doru Constantin<sup>a)</sup>

Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, 91405 Orsay, France

(Received 7 September 2010; accepted 20 September 2010; published online 8 October 2010)

We determine by small-angle x-ray scattering the structure factor of hydrophobic particles inserted within lamellar surfactant phases for various particle concentrations. The data are then analyzed by numerically solving the Ornstein–Zernicke equation, taking into account both the intra- and interlayer interactions. We find that particles within the same layer repel each other and that the interaction potential (taken as independent of the concentration) has a contact value of  $2.2k_B T$  and a range of about 10 Å. If the amplitude is allowed to decrease with increasing concentration, the contact value in the dilute limit is about  $5k_B T$  for a similar range. © 2010 American Institute of Physics. [doi:10.1063/1.3499741]

### I. INTRODUCTION

The elucidation of membrane-mediated interaction between inclusions in the cell membrane (such as integral proteins or membrane-active antibiotic peptides) is of paramount importance for understanding their biological activity. Since the underlying problem is the organization of the membrane—seen as a two-dimensional complex system—it has become clear over the last three decades that the concepts developed in soft matter physics for the understanding of self-assembled systems are operative in this context and that “simple” models can yield valuable information.

It is therefore not surprising that sustained theoretical efforts attempted to provide a detailed description of these complex systems; they are either continuum-elasticity theories<sup>1–4</sup> or more detailed models taking into account the molecular structure of the lipid bilayer.<sup>5–8</sup> In the few cases when the models were validated and refined using experimental data, these approaches were often successful. For instance, the lifetime of the gramicidin channel is known to depend on the thickness<sup>9</sup> and tension<sup>10</sup> of the membrane; it was shown that a continuum-elasticity model provides a satisfactory description of this phenomenon.<sup>11</sup>

However, this body of theoretical work has not yet been matched by the experimental results, the first of which were obtained by directly measuring the radial distribution function of membrane inclusions using freeze-fracture electron microscopy (FFEM).<sup>12–15</sup> These data were compared to liquid state models and could be described by a hard-core model with, in some cases, an additional repulsive or attractive interaction.<sup>16–18</sup> However, FFEM has not been extensively employed since, certainly due to the inherent experimental difficulties; furthermore, the particle distribution observed in the frozen sample is not necessarily identical to that at thermal equilibrium.

A step forward was taken by Huang and collaborators, who showed that the distribution of membrane inclusions within the plane of the layers can be studied using small-angle x-ray and neutron scattering.<sup>19,20</sup> First of all, these

techniques are perfectly adapted to the typical length scales to be probed. The measurement is averaged over a large number of particles and over long times, without perturbing the system; thus, one has access to the structure factor of the interacting particles. However, in these studies, at most two peptide-to-lipid concentrations  $P/L$  were investigated for each system and no values were given for the interaction potential, the data being explained in terms of purely hard-core interactions.

Building upon this work, we recently studied systems with a varying density of inclusions. This is indispensable since, even though each structure factor (taken separately) can be described by a hard-core model, the apparent radius obtained changes with the concentration, signaling the presence of an additional interaction. For instance, we were able to measure the interaction potential of alamethicin pores in dimyristoyl-phosphatidylcholine bilayers. We showed that, aside from the expected hard-disk repulsion (with a radius corresponding to the geometrical radius of the pore), the pore interaction exhibits a repulsive contribution, with a range of about 3 nm and a contact value of  $2.4k_B T$ .<sup>21</sup> On the other hand, for gramicidin pores in dilauroyl-phosphatidylcholine bilayers, while the interaction is still repulsive, the parameter values are quite different, with a higher contact value and much shorter range. In the latter case, the interaction was shown to decrease with the pore concentration, in agreement with the hydrophobic matching model.<sup>22</sup> These results are in qualitative agreement with recent theoretical predictions<sup>7,23</sup> and can be used as a test for other theoretical and numerical results.

The biological molecules cited above act specifically by insertion within cell membranes, so their affinity for lipid bilayers is assured, which is a significant advantage. However, their use as membrane probes has important shortcomings: their x-ray scattering contrast is low and the positions of the constitutive atoms are not always well-defined (membrane proteins can adopt various conformations as a function of the environment, while the pores formed by antimicrobial peptides often comprise variable numbers of monomers).

<sup>a)</sup>Electronic mail: constantin@lps.u-psud.fr.



These features contribute to the difficulty of obtaining high-quality scattering data on membranes with inclusions.

Fortunately, if one is interested in the general physical properties of membranes seen as two-dimensional complex fluids, rather than in the behavior of a specific active molecule, other inclusions can be used. For instance, we have shown recently that tin oxoclusters can be inserted within surfactant bilayers and that their interaction potential can be determined.<sup>24</sup>

These types of hybrid organic-inorganic particles have the following advantages.

- They are perfectly monodisperse (actually isomolecular) and “rigid” (their atomic configuration is well-defined).
- Their scattering contrast is high (due to the presence of metal atoms).
- Their surface properties can be tailored by changing the nature of the peripheral groups.

The purpose of this article is to develop a full analysis of the system, beyond the initial approach used in Ref. 24. Two main improvements can be noted.

- We were able to determine the complete structure factor,  $S(q_r, q_z)$ , while the initial study was only concerned with the equatorial slice,  $S(q_r, q_z=0)$ . This required new experimental data, for  $q_z \neq 0$ .
- We employed a more elaborate statistical model (based on the numerical solution of the Ornstein–Zernicke equation with the Percus–Yevick closure) to relate the structure factor to the interaction potential; our first approach was based on the random-phase approximation (RPA).

We have also checked the reproducibility of the results (see Appendix A), by comparing the old and new data, thus verifying both the reliability of the method and the stability of the samples.

## II. MATERIALS AND METHODS

We used as inclusions hybrid nanoparticles consisting of a tin oxide core decorated with butyl chains. The complete formula is  $\{(BuSn)_{12}O_{14}(OH)_6\}^{2+}(4-CH_3C_6H_4SO_3^-)_2$ , shortened to BuSn12 in this paper. The synthesis and structural details are given in Ref. 25. The BuSn12 particles were dissolved in ethanol prior to use.

The membranes were composed of dimethyldodecylamine-N-oxide (DDAO), a single-chain zwitterionic surfactant. The DDAO (purchased from Sigma-Aldrich) was first dried in vacuum for 20 h to remove any residual water<sup>26</sup> and then dissolved in isopropanol.

The two stock solutions were then mixed to yield the desired BuSn12/DDAO ratio and the mixtures dried in vacuum, yielding a final mass of about 200 mg for each sample. Varying amounts of water were then added so that the mixtures were in the fluid lamellar  $L_\alpha$  phase.<sup>26</sup> For DDAO, the molecular weight is 229.40, the density is

$0.84 \text{ g/cm}^3$ , and the bilayer thickness is  $25 \pm 1 \text{ \AA}$ ,<sup>27,28</sup> resulting in an area per surfactant molecule  $A_{DDAO}=37.8 \text{ \AA}^2$ . The molecular weight of the BuSn12 is 2866.7, with a density of  $1.93 \text{ g/cm}^3$ .<sup>25</sup> The (two-dimensional) number density of particles in the plane of the membrane,  $n$ , is calculated using the data above and neglecting the possible increase in bilayer surface due to the inclusions.

The lamellar phases were then drawn into flat glass capillaries (VitroCom Inc., Mt. Lks, NJ),  $100 \text{ }\mu\text{m}$  thick and  $2 \text{ mm}$  wide by aspiration with a syringe and the capillaries were flame-sealed. Good homeotropic alignment (lamellae parallel to the flat faces of the capillary) was obtained by thermal treatment, using a Mettler FP52 heating stage. The samples were heated up to the isotropic phase (at  $130 \text{ }^\circ\text{C}$ ) and then cooled down to the lamellar phase at a rate of  $1 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

We studied the samples by small-angle x-ray scattering, on the bending magnet beamline BM02 (D2AM) (Ref. 29) of the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France). The photon energy was  $11 \text{ keV}$  and the sample-to-detector distance about  $27 \text{ cm}$ , with a scattering vector in the range  $0.04 < q < 0.9 \text{ \AA}^{-1}$ . The detector is a charge-coupled device Peltier-cooled camera (SCX90–1300, from Princeton Instruments Inc., NJ) with a detector size of  $1340 \times 1300$  pixels. Data preprocessing (dark current subtraction, flat field correction, radial regrouping, and normalization) was performed using the BM2IMG software developed at the beamline. The scattering geometry is discussed in Sec. IV.

## III. MODEL AND ANALYSIS

Since the particles are identical in shape, the scattering intensity can be written as the product of a form factor (only depending on the internal constitution of the particles), and a structure factor, which describes the interaction between particles:<sup>30</sup>  $I(\mathbf{q})=S(\mathbf{q}) \cdot |F(\mathbf{q})|^2$ , with

$$S(q_z, q_r) = \frac{1}{N} \left\langle \left| \sum_{k=1}^{N-1} \exp(-i\mathbf{q}\mathbf{r}_k) \right|^2 \right\rangle, \quad (1)$$

where  $N$  is the number of objects and object “0” is taken as the origin of the coordinates.

We expect the form factor of the particles to be dominated by their inorganic core, as the electron density of the butyl chains is similar to that of the dodecyl chains within the bilayers and to that of ethanol. This assumption is confirmed by the intensity at higher scattering vectors ( $q > 0.5 \text{ \AA}^{-1}$ ), which is well described for all samples by the form factor of a sphere  $|Ff(R, q)|^2$ , with a radius (used as a free fitting parameter)  $R=4.5 \pm 0.2 \text{ \AA}$ , in good agreement with the average radius of the tin oxide “cage” estimated from the crystallographic data.

Dividing the measured intensity by the form factor above yields the structure factor  $S(\mathbf{q})$ . Standard error propagation then yields the uncertainty, but the resulting values (corresponding to the statistical error) are much smaller than the discrepancy between the fitting model and the experimental data (the goodness-of-fit function  $\chi^2$  per data point is much larger than one). Recognizing that this discrepancy is

mostly due to systematic errors in data acquisition, background subtraction, etc., and also possibly to the inadequacy of the theoretical models, we assign to each data point a fixed uncertainty  $\sigma$ ; in the following, we take for definiteness  $\sigma=0.05$ , which is a rough estimate of the difference between model and data, insofar it yields  $\chi^2$  values of unit order.

Determining the structure factor for systems composed of many particles interacting via a known potential is one of the fundamental endeavors of liquid state theory.

Two cases must be considered.

- The situation when the particles are dissolved in a simple solvent will act as a “reference state;” more precisely, it will allow us to check whether the “naked” particles can be described simply by a hard-core repulsion or whether an additional term must be considered and what its characteristics are.
- The most interesting situation is of course that of particles inserted within the surfactant bilayers, which will be the main result of our study. Due to the anisotropic nature of the matrix, the analysis must account for the difference between the interaction between particles contained within the same layer and that from one layer to the next.

### A. Structure factor of an isotropic solution

In solution, the interaction between particles is taken as isotropic, described by a two-body potential depending only on the distance between their centers:  $V_{3D}(\mathbf{r})=V_{3D}(r)$ . Consequently, the structure factor  $S(q)$  is equally isotropic, depending only on the magnitude of the wave vector  $q$ .

Using as input the interaction potential, the structure factor was determined numerically by solving iteratively the Ornstein–Zernicke equation with the Percus–Yevick closure condition. The algorithm is based on the method of Lado;<sup>31,32</sup> see Appendix B for the details. The interaction potential is described by a hard-core with diameter  $2R=9.4$  Å and an additional “soft” component, modeled either as a Gaussian centered at the origin:<sup>24</sup>  $V(r)=U_0 \exp[-(1/2) \times (r/\xi)^2]$   $r \geq 2R$  or as a decreasing exponential with contact value  $U_c$  and decay range  $\xi$ :  $V(r)=U_c \exp[-(r-2R)/\xi]$   $r \geq 2R$ .

### B. Structure factor in the lamellar phase

The phase (and hence the structure factor) is now anisotropic. We assume that there is no in-plane ordering (the particles form a 2D liquid in the plane of the bilayer), so that  $S$  only depends on the absolute value of the in-plane scattering vector  $q_r=\sqrt{q_x^2+q_y^2}$  and on the scattering vector along the membrane normal  $q_z$ .

For an ideal gas (no interaction)  $S=1$ , while if the particles interact only in the plane of the bilayer and not from one bilayer to the next,  $S=S(q_r)$  only. In the general case, the structure factor can be developed as<sup>20</sup>

$$S(q_r, q_z) = S_0(q_r) + 2 \sum_{m=1}^{\infty} \cos(q_z d m) S_m(q_r), \quad (2)$$

with each partial structure factor  $S_m$  describing the interaction between particles situated  $m$  layers away,

$$S_m(q_r) = \delta_{0m} + 2\pi\rho \int_0^{\infty} r dr J_0(r q_r) [g_m(r) - 1], \quad (3)$$

where  $m \geq 0$  and  $g_m(r)$  is the (normalized) probability of finding a particle at a distance  $r$  in bilayer  $m$ , knowing that a particle is present at the origin in bilayer 0.

This expansion merely reflects the discrete nature of the stack along the  $z$  direction. It is especially convenient since generally the interaction does not extend very far along  $z$ . Note also that Eq. (2) is only valid for the geometrically perfect case when the distance between neighboring layers is rigorously  $d$ . In practice, this distance varies due to thermal fluctuations and to frozen-in defects, leading to a smearing of the diffraction pattern at high  $q_z$  values. We describe this effect phenomenologically by a Lorentzian factor. Finally, we use

$$S(q_r, q_z) = S_0(q_r) + 2 \frac{\cos(q_z d)}{1 + (q_z \sigma)^2} S_1(q_r), \quad (4)$$

where the disorder parameter  $\sigma$  has units of length. For thermal fluctuations,  $\sigma^2 = \langle (z_1 - z_0)^2 \rangle \approx \eta(d/\pi)^2$ , where  $\eta$  is the Caillé parameter.

As we will see below, the structure factor  $S_1(q_r)$  due to nearest-bilayer interaction has a localized peak. For convenience, we describe it by a Gaussian function,

$$S_1 = A_1 \exp\left[-\frac{(q - q_{\max})^2}{2\Delta q^2}\right]. \quad (5)$$

The partial structure factors  $S_0(q)$  and  $S_1(q)$  are similar to those describing a two-dimensional binary mixture AB, with the formal identification  $S_0=S_{AA}=S_{BB}$  and  $S_1=S_{AB}$ . As we will see below, these two components are enough to describe the experimental data, so there is no need to go beyond  $m=1$  (interaction between adjacent bilayers).

The (experimentally determined) functions  $S_0(q)$  and  $S_1(q)$  can be described—using well-established results in liquid state theory—in terms of the interaction potentials  $V_0(r)$  (between particles within the same layer) and  $V_1(r)$  (between adjacent layers). The derivation of the model and the implementation details are given in Appendix B.

## IV. RESULTS

### A. Interaction in solution

The 3D structure factors of BuSn12 particles in ethanol are shown in Fig. 1 (top) for five different concentrations (lines and symbols). They are fitted with the Gaussian interaction model discussed in Sec. III A, yielding  $U_0=15k_B T$  and  $\xi=5.1$  Å, such that the potential at contact is  $U_c=3.5k_B T$ . The fits are shown as solid lines. The corresponding interaction potential is shown in Fig. 1 (bottom) as solid line. The shaded area represents the uncertainty (see Appendix B 3 for details). For comparison, we show in the same figure the

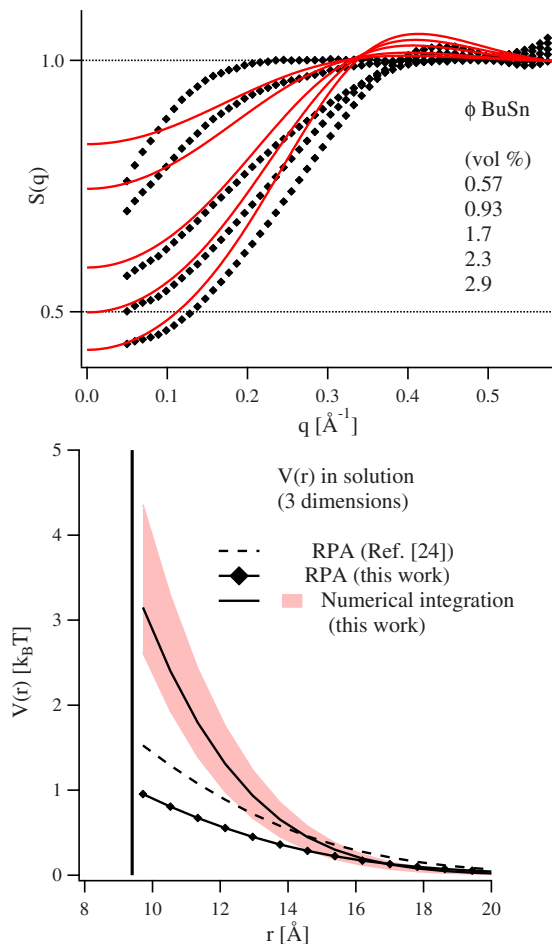


FIG. 1. Top: Experimental three-dimensional structure factors for BuSn12 particles in ethanol (symbols) and fits with the Gaussian model discussed in the text (solid lines) for five volume concentrations  $\phi$ .  $S(q)$  decreases with increasing  $\phi$ . Bottom: Interaction potential obtained from the data above via the numerical procedure discussed in Sec. III A (solid line and shaded area for the uncertainty range) and within the RPA approximation (solid line and symbols). For comparison, we also show the RPA results obtained in Ref. 24 (dashed line).

potential obtained in the RPA approximation for the current data (solid line and symbols) and for that in Ref. 24 (dashed line). The exponential model yields very similar results, in terms of goodness of fit and in potential shape for parameter values  $U_c = 4.5k_B T$  and  $\xi = 2.1 \text{ \AA}$ .

## B. Interaction between layers

In order to quantify the interaction between the layers (along the smectic director  $\hat{z}$ ), one needs access to the complete structure factor  $S(q_r, q_z)$ . This is achieved by using the experimental configuration described in Fig. 2, as first discussed in Ref. 20: the incoming x-ray beam (with wave vector  $\mathbf{k}_i$ ) is incident upon the flat capillary at an angle  $\alpha$  to its normal  $\mathbf{n}$ , which coincides with the smectic director  $\hat{z}$ . A point on the 2D detector uniquely defines an outgoing wave vector  $\mathbf{k}_o$  for the scattered signal, and thus a scattering vector given by  $\mathbf{q} = \mathbf{k}_o - \mathbf{k}_i$ . One can therefore assign to each pixel values for  $q_z = \mathbf{q} \cdot \hat{z}$  and  $q_r = |\mathbf{q} - q_z \hat{z}|$ .

The raw scattering image is then regridded to an appropriate region of the reciprocal space,  $(q_r, q_z)$ . For each pixel in the target space, the algorithm identifies the corresponding point in the starting image, and the closest 9 pixels are averaged to yield the final intensity value. It is easily shown that the accessible range in reciprocal space is triangle-shaped, with an angle  $2\alpha$  at the origin. Finally, the resulting image is divided by the form factor of the particle to yield the structure factor.

As an illustration, we show in Fig. 2 regridded data at four different incidence angles  $\alpha$  for the sample with  $n = 1.976 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-2}$ . A modulation along  $q_z$  is clearly visible, indicating the presence of the  $S_1$  component and hence of an interaction between layers. The images also display a linear slope in  $q_z$ , probably due to imperfect background subtraction. This artifact is removed prior to further treatment.

Although the physically relevant functions are  $S_0(q_r)$  and  $S_1(q_r)$ , the most easily accessible quantity is the “equatorial” cut through reciprocal space  $S_{\text{eq}} = S(q_r, q_z = 0) = S_0 + 2S_1$  obtained under normal incidence ( $\alpha = 0$  in Fig. 2). We therefore subtract  $S_{\text{eq}}$  from the regridded data (an example is shown in

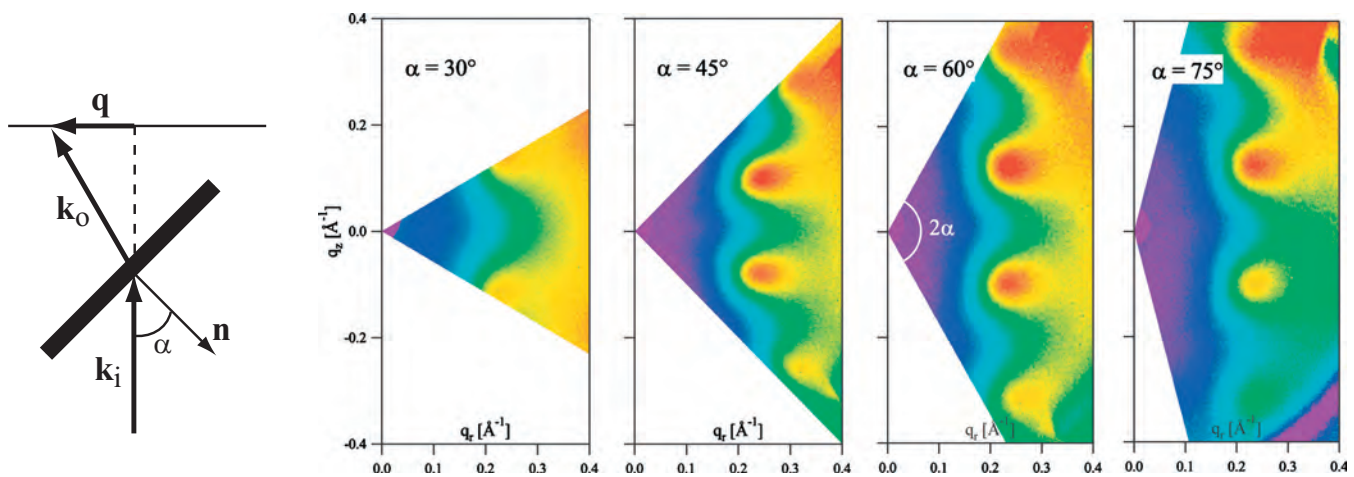


FIG. 2. Left: Sketch of the experimental configuration. Right: Regridded scattering data for various values of the incident angle  $\alpha$  (indicated within the images).

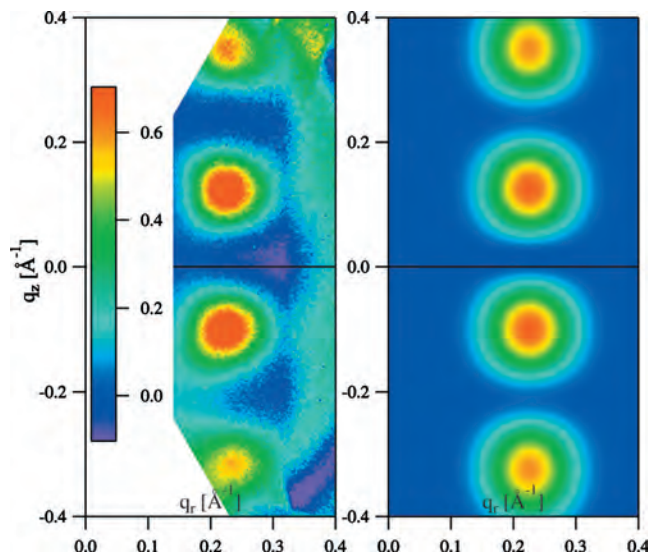


FIG. 3. Comparison between the experimental data for  $S(q_r, q_z) - S(q_r, q_z = 0)$  derived from the image taken at  $\alpha = 60^\circ$  in Fig. 2 and the model (4).

Fig. 3, left) and fit it with an appropriately modified version of Eq. (4). The best fit for the data in Fig. 3 is given in the right image.

The vertical streak on the right in the experimental data is due to an imperfectly subtracted diffuse scattering ring due to a kapton window in the beam (we found that proper background subtraction is quite difficult for tilted samples, i.e., for  $\alpha \neq 0$ ). Otherwise, the agreement between data and the fit is good, showing that the model is accurate (in particular, there is no need to include higher-order partial structure factors).

This treatment yields  $S_1(q_r)$ , which is then subtracted from the equatorial structure factor  $S_{\text{eq}}(q_r)$  to yield  $S_0(q_r)$ . Figure 4 shows these functions for the most concentrated sample (extracted from the data in Fig. 2). In the case of  $S_1$ ,

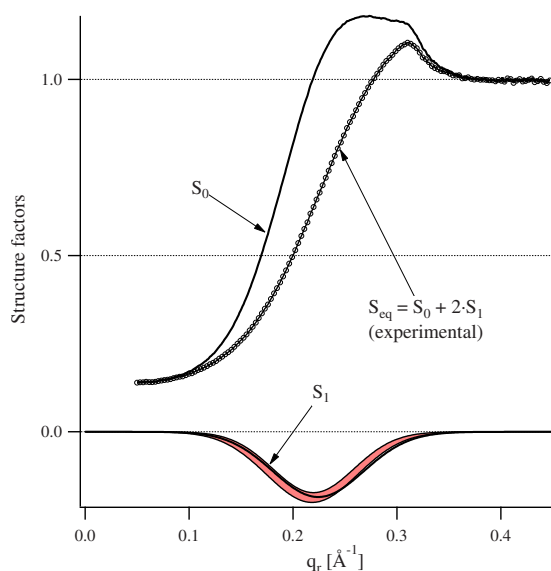


FIG. 4. Partial structure factors for the sample with  $n = 1.976 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-2}$ , extracted from the data in Fig. 2. Symbols: the equatorial structure factor  $S_{\text{eq}}$  (experimental data). Lines: the structure factors  $S_0$  and  $S_1$ . For  $S_1$ , the solid line represents the estimate extracted from the configuration with  $\alpha = 60^\circ$ , while the shaded area around the curve represents the uncertainty (see text).

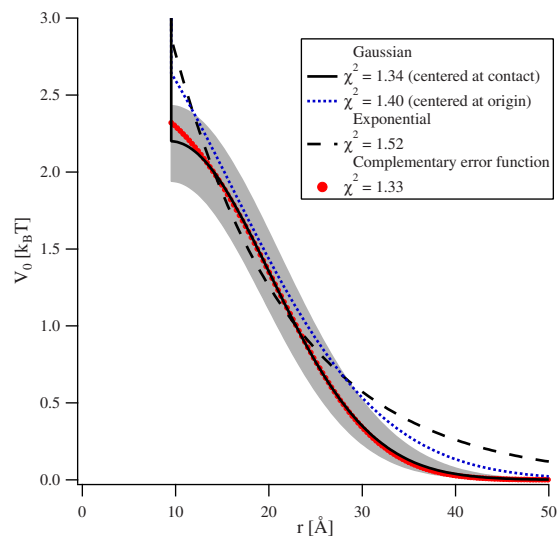


FIG. 5. Best results for some of the functional forms used for  $V_0(r)$  and corresponding  $\chi^2$  values. For the Gaussian centered at contact, we also plot the uncertainty range obtained as described in Appendix B 3.

the solid line represents the best fit to scattering data taken for  $\alpha = 60^\circ$  (Fig. 3), while the shaded area contains the curves obtained for  $\alpha = 45^\circ, 60^\circ$ , and  $75^\circ$ , providing a rough estimate of the experimental uncertainty.

### C. Interaction within the layer

Once the experimental data for the partial structure factors  $S_0(q_r)$  and  $S_1(q_z)$  (or, equivalently,  $S_{\text{eq}}$  and  $S_1$ ) are available, it can be described in terms of the interaction potentials  $V_0(r)$  and  $V_1(r)$  via well-known methods in the theory of liquids, presented in Appendix B. The main goal of this work is determining the membrane-mediated potential  $V_0(r)$ . The interbilayer interaction  $V_1(r)$ , although needed for a complete analysis, is inessential and, furthermore, is probably very sensitive to the swelling of the phase. We therefore use a single functional form for it, given by a linear decrease from a maximum  $U_1$  when the particles have the same in-plane position  $\mathbf{r}$  to 0 when they are a distance  $\xi_1$  away. After extensive tests we found that, for various shapes of the in-plane potential  $V_0(r)$ , the best fit for  $V_1(r)$  is described by an amplitude  $U_1$  around  $1k_B T$  and a range  $\xi_1$  of about  $25 \text{ \AA}$ .

In the following, we concentrate on the parameters describing  $V_0(r)$ . We considered several functional forms, such as an exponential or a linear decrease, a Gaussian centered at the origin or at the contact, and a complementary error function. The best result for each of them is shown in Fig. 5, except for the linear decrease which yields much worse fits.

We obtained very good results for the Gaussian centered at contact:  $V_0(r) = U_c \exp[-(1/2)((r-2R)/\xi)^2]$  (solid line in Fig. 5; the corresponding structure factors are plotted in Fig. 6, along with the experimental data) with fit parameters  $U_c = 2.2 \pm 0.2 k_B T$  and  $\xi = 10.8 \pm 0.8 \text{ \AA}$ , while the hard-disk radius  $R$  is fixed at  $4.7 \text{ \AA}$ . The shaded area corresponds to the fit uncertainty, estimated as in Appendix B 3.

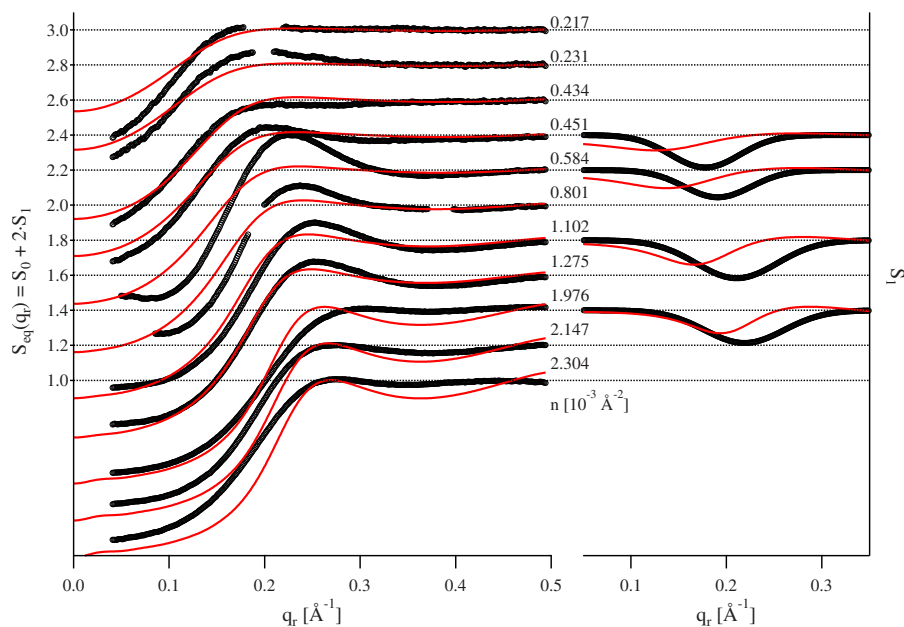


FIG. 6. Best fits (lines) to the experimental data (symbols) with the model described in Sec. IV C.  $V_0(r)$  is a Gaussian centered at contact (solid line in Fig. 5).

#### D. Hydrophobic matching

In the treatment above, we considered that the interaction potential is independent of the particle concentration. However, one can infer from a simple elastic theory (and confirm by experimental investigations<sup>22</sup>) that the amplitude of the interaction decreases with the concentration of inclusions; briefly, inserting a new particle is easier when the bilayer is already deformed by existing inclusions. Accounting for this effect requires introducing a new fit parameter, the concentration  $n_0$ , for which the interaction decreases significantly. We will consider the simplest model, whereby the membrane deformation is linear (and thus the elastic energy is quadratic) in the concentration:  $V_0(n, r) = V_0(0, r)(1 - n/n_0)^2$  for  $n < n_0$  and  $V_0(n, r) = 0$  for  $n \geq n_0$ . We take  $V_1(r)$  as independent of the concentration. As before, the in-plane potential is described by a Gaussian centered at contact. The fit is significantly improved, yielding  $\chi^2 = 1.00$ , for parameters  $U_c = 5.0 \pm 0.6 k_B T$ ,  $\xi = 9.3 \pm 0.7 \text{ \AA}$ , and  $n_0 \approx 5 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-2}$  (roughly twice the highest experimental value available).

We emphasize that the values presented above correspond to the highly diluted limit  $V_0(0, r)$ , i.e., to the interaction between two particles in the absence of any other; this is the relevant case for comparison with most theoretical and numerical models.

One can see this decrease of the interaction potential between two particles due to the concentration (i.e., to the presence of other particles) as a crude way of accounting for many-body effects. However, this approximation is not controlled and its accuracy can only be verified by more complete theoretical models or by numerical simulations.<sup>33</sup>

#### V. DISCUSSION AND CONCLUSION

The main results of this work are the in-plane interaction potential of the BuSn12 particles,  $V_0(r)$  in the lamellar phase and  $V(r)$  in solution; they are summarized in Fig. 7. One can

see straightaway that the uncertainty is small compared to the amplitude of the curves and to the difference between them, except very close to contact.

The qualitative conclusions to be drawn are similar to those already obtained in Ref. 24 using a simplified model, although the amplitudes are somewhat different. The interaction potential in solution is short-ranged (about 5 Å from contact), but at short distances it becomes stronger than the in-plane repulsion estimated with the constant-amplitude model ( $4k_B T$ , as opposed to  $2.2k_B T$  at contact). Notwithstanding the uncertainty and the nonadditivity of the poten-

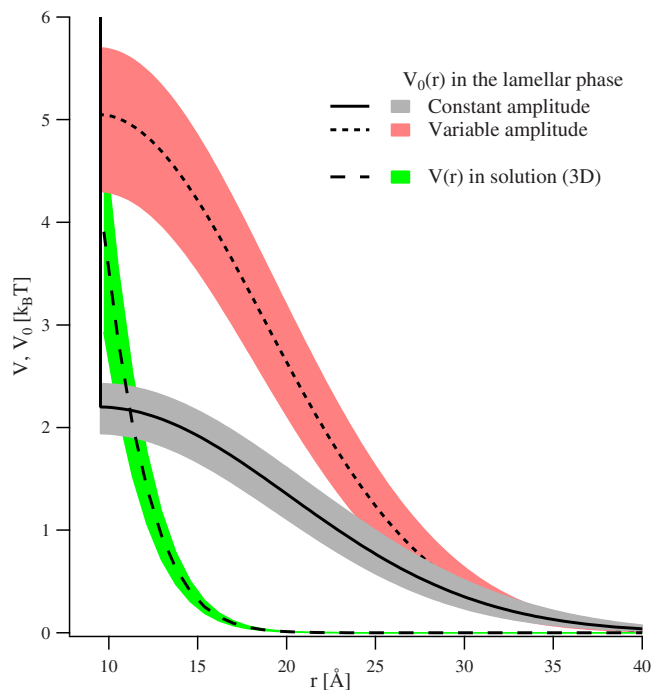


FIG. 7. Best results for the in-plane interaction potential  $V_0(r)$  in the lamellar phase, with constant amplitude (solid line—see Sec. IV C) and with variable amplitude (dotted line—see Sec. IV D) as well as for the interaction potential  $V(r)$  in solution (dashed line—see Sec. IV A). The shaded areas represent the uncertainty, determined as explained in Appendix B 3.

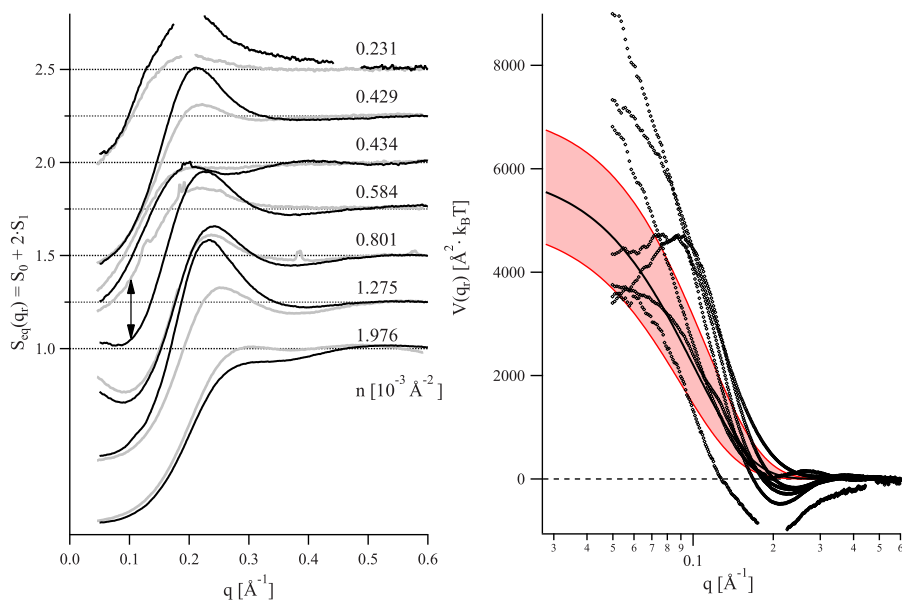


FIG. 8. Left: comparison between the equatorial structure factor  $S_{\text{eq}}(q_r)$  determined in two different experimental runs (black and gray curves). A noticeable difference appears for  $n=0.584$ , signaled by the double-headed arrow. Right: comparison between the corresponding potentials  $V(q_r)$ , estimated via the RPA approximation.

tials, it is tempting to speculate on a possible nonmonotonic dependence of the “effective” membrane-mediated interaction, defined by subtracting the interaction in solution from that in the lamellar phase.

## ACKNOWLEDGMENTS

The ESRF is gratefully acknowledged for the award of beam time (experiment 02-01-756) and we thank C. Rochas for competent and enthusiastic support. F. Ribot is acknowledged for providing the BuSn12 particles and for edifying discussions.

## APPENDIX A: REPRODUCIBILITY

Since the signals to be measured are fairly weak and unstructured, the question of their reproducibility is of the utmost importance. We therefore measured a few samples twice (about 1 year apart), in the same experimental conditions (see Sec. II), and in normal incidence, so that only the equatorial structure factor  $S_{\text{eq}}(q_r)$  is available. The results are shown in Fig. 8 (left). Gray lines: earlier data, used in the analysis of Ref. 24. Black lines: more recent data, measured on the same samples. For clarity, the curves are shifted vertically in steps of 0.25.

Notwithstanding the discrepancy close to the peak position, the agreement is quite good, especially at small-angles where  $S$  departs significantly from 1. Indeed, this is the range where the interaction potential plays a significant role. For coherence, the comparison is done using the same simplified treatment as in Ref. 24, i.e., neglecting the interaction between layers  $V_1(r)$  and obtaining the Fourier transform  $V(q_r)$  of the remaining interaction potential  $V_0(r) \equiv V(r)$  via the RPA approximation; see Ref. 24 for the details.

The two sets of data for  $V(q_r)$  are shown in Fig. 8 (right). The solid line and the shaded area correspond to the results of Ref. 24 (average value and uncertainty), while the symbols are obtained directly from the more recent values of  $S_{\text{eq}}(q_r)$  (black lines in the left panel). Although the new data seem to yield a stronger interaction than the old, the differ-

ence is within the estimated uncertainty range. We conclude that the measurement method is reliable and that the samples did not age significantly over a period of 1 year.

## APPENDIX B: INTERACTION MODEL

### 1. Analytical development

The interaction is treated in the framework of the Ornstein–Zernike relation, with the Percus–Yevick closure approximation. The structure factors  $S_m(q)$  are computed using the method introduced by Lado.<sup>31,32</sup> An implementation for the case of no interbilayer interaction has already been used.<sup>22</sup> In the present case, we extend the model to the case of several interacting bilayers. As discussed in the main text, the system can be mapped to a multicomponent fluid, where each component corresponds to particles inserted within one bilayer and all particles formally occupy the same two-dimensional space. Throughout this analysis, only the two-body interaction is taken into account.

This system has been studied for a long time.<sup>34,35</sup> In the following, we will use the notations of Ref. 35, except for the interaction potential, denoted here by  $V$  (instead of  $\phi$ ) for coherence with previous work. We consider  $n$  bilayers (indexed by lowercase Greek indices) with periodic boundary conditions (bilayer  $n$  is identical to bilayer 0). The relevant equations are the following.

The definition of the *total correlation function*  $h(r)$  in terms of the radial distribution function  $g(r)$ ,

$$h_{\alpha\beta}(r) = g_{\alpha\beta}(r) - 1. \quad (\text{B1})$$

The Ornstein–Zernike relation, defining the *direct correlation function*  $c(r)$ ,

$$h_{\alpha\beta}(r) = c_{\alpha\beta}(r) + \sum_{\gamma} \rho_{\gamma} \int d^2s c_{\alpha\gamma}(|s|) h_{\gamma\beta}(|\mathbf{r}-\mathbf{s}|), \quad (\text{B2})$$

where  $\rho_{\gamma} = \rho$  is the number density in the plane of the bilayers and  $\gamma$  runs over all bilayers. Alternatively, the equation above can be rewritten in reciprocal space, yielding

$$h_{\alpha\beta}(q) = c_{\alpha\beta}(q) + \sum_{\gamma} \rho_{\gamma} c_{\alpha\gamma}(q) h_{\gamma\beta}(q). \quad (\text{B3})$$

The Percus–Yevick closure,

$$c_{\alpha\beta}(r) = [1 + h_{\alpha\beta}(r)] \left[ 1 - \exp\left(\frac{V_{\alpha\beta}(r)}{k_B T}\right) \right], \quad (\text{B4})$$

with  $V_{\alpha\beta}(r)$  representing the interaction potential between particles situated in bilayers  $\alpha$  and  $\beta$ . For simplicity's sake, we consider that the particles only interact within the same bilayer and with particles in the nearest-neighbor bilayers [ $V_{\alpha\beta}(r) \equiv 0$  for  $|\alpha - \beta| > 1$ ]. Furthermore, translation symmetry (an identical environment for all bilayers, i.e., periodic boundary conditions) and mirror symmetry ( $V_{\alpha\beta} \equiv V_{\beta\alpha}$ , and similar relations for functions  $c$  and  $h$ ) allow us to define all functions with respect to layer 0, i.e.,  $\alpha=0$  throughout.

The equations above must be solved numerically; for convergence reasons, it is much better to work with the *indirect correlation function* [denoted in Ref. 31 by  $H(r)$ ],  $\gamma_{0\beta}(r) = h_{0\beta}(r) - c_{0\beta}(r)$  instead of the total correlation function.

As an example, for  $n=3$  bilayers (with periodic boundary conditions,  $3 \equiv 0$ ), Eqs. (B3) and (B4) can be written out explicitly as

$$\gamma_{00}(q) = \rho [c_{00}(\gamma_{00} + c_{00}) + 2c_{01}(\gamma_{01} + c_{01})], \quad (\text{B5a})$$

$$\gamma_{01}(q) = \rho [c_{00}(\gamma_{01} + c_{01}) + c_{01}(\gamma_{00} + c_{00}) + c_{01}(\gamma_{01} + c_{01})], \quad (\text{B5b})$$

$$c_{00}(r) = [1 + \gamma_{00}] [\exp(-V_{00}/k_B T) - 1], \quad (\text{B5c})$$

$$c_{01}(r) = [1 + \gamma_{01}] [\exp(-V_{01}/k_B T) - 1], \quad (\text{B5d})$$

where we omitted the argument of the functions on the right-hand side. One starts by applying in real space Eqs. (B5c) and (B5d) with reasonable initial guesses, and then solving (B5a) and (B5b) in reciprocal space. The procedure is iterated until stability is reached. The experimentally relevant structure factors are simply  $S_0(q) = 1 + h_{00}(q)$  and  $S_1(q) = h_{01}(q)$ . For completeness, the solution of (B5a) and (B5b) is

$$\gamma_{00}(q) = \frac{-c_{00}^2(c_{00} + c_{01} - 1/\rho) + 2c_{01}^2(c_{00} + 1/\rho)}{(c_{00} - 1/\rho)^2 + c_{01}(c_{00} - 1/\rho) - 2c_{01}^2}, \quad (\text{B6a})$$

$$\gamma_{01}(q) = c_{01} \frac{-(c_{00} + c_{01})(c_{00} - 1/\rho) + c_{00}/\rho + 2c_{01}^2}{(c_{00} - 1/\rho)^2 + c_{01}(c_{00} - 1/\rho) - 2c_{01}^2}. \quad (\text{B6b})$$

We checked that, for relevant values of the interaction parameters, the structure factors obtained with  $n=5$  and  $n=7$  are almost superposed, and slightly different from those obtained for  $n=3$  (with periodic boundary conditions in all cases). All results presented above are obtained with  $n=7$ . We also checked that the higher order structure factors are negligible, viz.  $S_3(q) \ll S_2(q) \ll S_1(q)$ , in agreement with the experimental observations.

## 2. Software implementation

The routine discussed above is implemented in IGOR PRO 6 as an “all-at-once” function, i.e., all points of the output vector are returned at the same time. This approach is particularly useful for such iterative procedures, where, in order to get its value at one point, the entire function needs to be calculated anyway. The Fourier transform was implemented as a matrix operation with precomputed coefficients over a fixed equidistant grid. Wherever possible, the wave operations were done using the MATRIXOP command.

For each combination of fit parameters, the structure factors  $S_0$  and  $S_1$  are calculated for all densities. Comparison with the experimental data yields the goodness-of-fit function  $\chi_2$ , which is minimized using the OPTIMIZE operation with the simulated annealing method.

## 3. Confidence range

Once a minimum is found, the goodness-of-fit function  $\chi^2$  is plotted as a function of the parameters  $U_0$  (or  $U_c$ ) and  $\xi$ .

For the 3D case (interaction in solution), one notices that the minimum is, in fact, an extended valley, covering a wide range of parameters, and roughly defined as the locus of the points where the integral of the potential is constant. This is understandable, since the fit is mainly sensitive to the low values of the scattering wave vector  $q$ , where it is affected by  $V(q \rightarrow 0)$ , i.e., by the integral of  $V(r)$ , rather than by its finer details. We therefore choose a number of points along this valley, with close to minimum  $\chi^2$  and trace the corresponding  $V(r)$  instances. The confidence range (shown as a shaded area in Fig. 1, bottom) is chosen by manually adjusting the parameters to yield lower and higher envelopes to this sheaf of curves.

In the 2D case (interaction within the layer), the minimum is well localized in the  $(U_c, \xi)$  plane. However, a standard statistical estimation of the confidence range is irrelevant, since it would yield extremely tight confidence ranges. Indeed, the discrepancy between model and data is mainly due to systematic errors and (presumably) to an inexact functional form for the interaction potential. In order to account for the latter effect we took as an acceptable increase  $\Delta\chi^2$  the difference between the Gaussian centered at contact ( $\chi^2 = 1.34$ ) and that centered at the origin ( $\chi^2 = 1.40$ ), both plotted in Fig. 5. The uncertainty on  $U_c$  and  $\xi$  given in Sec. IV C is determined based on this numerical value. For comparison, we also show the exponential decay with  $\chi^2 = 1.52$ . We follow a similar procedure for the variable amplitude model discussed in Sec. IV D, with  $\Delta\chi^2 = 0.1$ .

<sup>1</sup>N. Dan, P. Pincus, and S. Safran, *Langmuir* **9**, 2768 (1993).

<sup>2</sup>N. Dan, A. Berman, P. Pincus, and S. Safran, *J. Phys. II* **4**, 1713 (1994).

<sup>3</sup>H. Aranda-Espinoza, A. Berman, N. Dan, P. Pincus, and S. Safran, *Bio-phys. J.* **71**, 648 (1996).

<sup>4</sup>K. Bohinc, V. Kralj-Iglič, and S. May, *J. Chem. Phys.* **119**, 7435 (2003).

<sup>5</sup>S. Marčelja, *Biochim. Biophys. Acta* **455**, 1 (1976).

<sup>6</sup>T. Sintès and A. Baumgärtner, *Biophys. J.* **73**, 2251 (1997).

<sup>7</sup>P. Lagüe, M. J. Zuckermann, and B. Roux, *Biophys. J.* **79**, 2867 (2000).

<sup>8</sup>S. May and A. Ben-Shaul, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2**, 4494 (2000).

<sup>9</sup>J. R. Elliott, D. Needham, J. P. Dilger, and D. A. Haydon, *Biochim. Biophys. Acta* **735**, 95 (1983).

<sup>10</sup>M. Goulian, O. N. Mesquita, D. K. Fygenson, C. Nielsen, O. S. Andersen, and A. Libchaber, *Biophys. J.* **74**, 328 (1998).

- <sup>11</sup>H. W. Huang, *Biophys. J.* **50**, 1061 (1986).
- <sup>12</sup>B. A. Lewis and D. M. Engelman, *J. Mol. Biol.* **166**, 203 (1983).
- <sup>13</sup>Y. S. Chen and W. L. Hubbell, *Exp. Eye Res.* **17**, 517 (1973).
- <sup>14</sup>R. James and D. Branton, *Biochim. Biophys. Acta* **323**, 378 (1973).
- <sup>15</sup>J. R. Abney, J. Braun, and J. C. Owicki, *Biophys. J.* **52**, 441 (1987).
- <sup>16</sup>L. T. Pearson, B. A. Lewis, D. M. Engelman, and S. I. Chan, *Biophys. J.* **43**, 167 (1983).
- <sup>17</sup>L. T. Pearson, J. Edelman, and S. I. Chan, *Biophys. J.* **45**, 863 (1984).
- <sup>18</sup>J. Braun, J. R. Abney, and J. C. Owicki, *Biophys. J.* **52**, 427 (1987).
- <sup>19</sup>T. A. Harroun, W. T. Heller, T. M. Weiss, L. Yang, and H. W. Huang, *Biophys. J.* **76**, 937 (1999).
- <sup>20</sup>L. Yang, T. Weiss, T. Harroun, W. Heller, and H. Huang, *Biophys. J.* **77**, 2648 (1999).
- <sup>21</sup>D. Constantin, G. Brotons, A. Jarre, C. Li, and T. Salditt, *Biophys. J.* **92**, 3978 (2007).
- <sup>22</sup>D. Constantin, *Biochim. Biophys. Acta* **1788**, 1782 (2009).
- <sup>23</sup>P. Lagüe, M. J. Zuckermann, and B. Roux, *Biophys. J.* **81**, 276 (2001).
- <sup>24</sup>D. Constantin, B. Pansu, M. Impéror, P. Davidson, and F. Ribot, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 098101 (2008).
- <sup>25</sup>C. Eychenne-Baron, F. Ribot, N. Steunou, C. Sanchez, F. Fayon, M. Biesemans, J. C. Martins, and R. Willem, *Organometallics* **19**, 1940 (2000).
- <sup>26</sup>V. Kocherbitov and O. Söderman, *J. Phys. Chem. B* **110**, 13649 (2006).
- <sup>27</sup>G. Orädd, G. Lindblom, G. Arvidson, and K. Gunnarsson, *Biophys. J.* **68**, 547 (1995).
- <sup>28</sup>P. Wästerby and P.-O. Quist, *Langmuir* **14**, 3704 (1998).
- <sup>29</sup>J. P. Simon, S. Arnaud, F. Bley, J. F. Bézar, B. Caillot, V. Comparat, E. Geissler, A. de Geyer, P. Jeantey, F. Livet, and H. Okuda, *J. Appl. Crystallogr.* **30**, 900 (1997).
- <sup>30</sup>P. M. Chaikin and T. C. Lubensky, *Principles of Condensed Matter Physics* (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
- <sup>31</sup>F. Lado, *J. Chem. Phys.* **47**, 4828 (1967).
- <sup>32</sup>F. Lado, *J. Chem. Phys.* **49**, 3092 (1968).
- <sup>33</sup>T. A. Harroun, W. T. Heller, T. M. Weiss, L. Yang, and H. W. Huang, *Biophys. J.* **76**, 3176 (1999).
- <sup>34</sup>J. L. Lebowitz, *Phys. Rev.* **133**, A895 (1964).
- <sup>35</sup>R. J. Baxter, *J. Chem. Phys.* **52**, 4559 (1970).



**Dynamics of bulk fluctuations in a lamellar phase studied by coherent x-ray scattering**Doru Constantin,<sup>1,\*</sup> Guillaume Brotons,<sup>2</sup> Tim Salditt,<sup>3</sup> Éric Freyssingéas,<sup>1</sup> and Anders Madsen<sup>4</sup><sup>1</sup>*École Normale Supérieure de Lyon, Laboratoire de Physique, 46 Allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France*<sup>2</sup>*Laboratoire de Physique de l'État Condensé, Université du Maine, Faculté des Sciences et Techniques, Avenue O. Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France*<sup>3</sup>*Institut für Röntgenphysik, Georg-August-Universität Göttingen, Friedrich-Hund-Platz 1, D-37077 Göttingen, Germany*<sup>4</sup>*European Synchrotron Radiation Facility, Boîte Postale 220, 38043 Grenoble, France*

(Received 27 May 2006; published 15 September 2006)

Using x-ray photon correlation spectroscopy, we studied the layer fluctuations in the lamellar phase of an ionic lyotropic system. We measured the relaxation rate of in-plane (undulation) fluctuations as a function of the wave vector. Static and dynamic results obtained during the same experiment were combined to yield the values of both elastic constants of the lamellar phase (compression and bending moduli) as well as that of the sliding viscosity. The results are in very good agreement with dynamic light-scattering data, validating the use of the technique in ordered phases.

DOI: [10.1103/PhysRevE.74.031706](https://doi.org/10.1103/PhysRevE.74.031706)

PACS number(s): 61.30.St, 61.10.-i

**I. INTRODUCTION**

X-ray photon correlation spectroscopy (XPCS) is a relatively new technique [1], successfully used to study the dynamics of soft-matter systems, such as colloidal dispersions [2,3], fluid interfaces [4,5], and freestanding smectic films [6–8]. Although conceptually very similar to the traditional dynamic light-scattering (DLS) technique, its main advantages with respect to DLS are the potential of reaching much higher scattering wave vectors and the fact that it is much less affected by multiple scattering.

Among the cited systems, smectic phases are especially adapted to the use of XPCS techniques, since their high degree of order confines the scattered signal in the vicinity of the (quasi)Bragg peaks. To date, these studies were limited to thermotropic smectics at interfaces: either in thin films [9], or at the interface with air [10]; in both cases, the dynamics is driven by the ratio between surface tension and viscosity.

In the present work we use XPCS to measure the dispersion relation of fluctuations in bulk samples of a lamellar lyotropic phase (exhibiting smectic symmetry) and compare the results with DLS measurements. This investigation was mainly prompted by three questions, which we were able to answer in the affirmative:

(a) *Is the technique applicable to these systems?* To our knowledge, XPCS was never applied to lamellar lyotropic phases; although the symmetry is the same as for thermotropic smectics, there are notable differences due to the two-component character of the lyotropic phase (leading to additional hydrodynamic modes), to its lower elastic moduli, which influence both the relaxation rates and the “spread” of the diffuse scattering around the Bragg position (thus limiting the accessible wave-vector range). Finally, the difference in viscosity and electronic contrast can also have an effect.

(b) *Can we determine the intrinsic elastic moduli of the*

*phase by using bulk samples?* In the smectic systems studied so far, the relaxation was driven by the surface tension. The sample thickness at which boundary effects become dominant in the relaxation dynamics depends on the elastic properties of the phase (more specifically, on the penetration length). It should be noted that the compression modulus of lyotropic phases is typically more than three orders of magnitude below that of thermotropic phases. Moreover, the bending modulus can be tuned within certain limits and—in some specific mixtures—the lamellar spacing can be easily varied by more than a factor of 10. Thus, lyotropic smectics provide a much more flexible model system than their thermotropic counterparts.

(c) *Are the results comparable with those obtained by dynamic light scattering in terms of accessible range, accuracy, etc.?* This is a crucial question, since the main interest of XPCS is the possibility of complementing and extending the range of DLS experiments. Such a comparison was already performed for colloid suspensions [11,12], but not in ordered phases. Such a comparison is nontrivial for smectic systems, first of all because XPCS is performed around a Bragg position, while in DLS one probes the vicinity of the origin of reciprocal space.

**II. MATERIALS AND METHODS**

The SDS/pentanol/H<sub>2</sub>O system was extensively used as a model lamellar phase [13–15]. In this work, instead of pure water we use as solvent a 40/60 (wt %) solution of glycerol/H<sub>2</sub>O, in order to increase its viscosity and correspondingly reduce the relaxation rates of the fluctuations:  $\eta_{\text{sol}} = 3.65 \eta_{\text{H}_2\text{O}}$  [16]. The sample composition by volume is 19.3% sodium dodecyl sulfate (SDS), 29.9% pentanol, and 50.8% glycerol/H<sub>2</sub>O. The samples were prepared in 100- and 200- $\mu\text{m}$ -thick borosilicate glass capillaries (VitroCom, Inc.) and oriented by thermal cycling between the lamellar and the isotropic phases, resulting in very good homeotropic anchoring. All measurements were performed at 21.5 °C.

The experiments were performed at the ID10A undulator beam line at ESRF (Grenoble, France) using an x-ray energy

\*Permanent address: Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, Bât. 510, 91405 Orsay Cedex, France; Electronic address: [constantin@lps.u-psud.fr](mailto:constantin@lps.u-psud.fr)

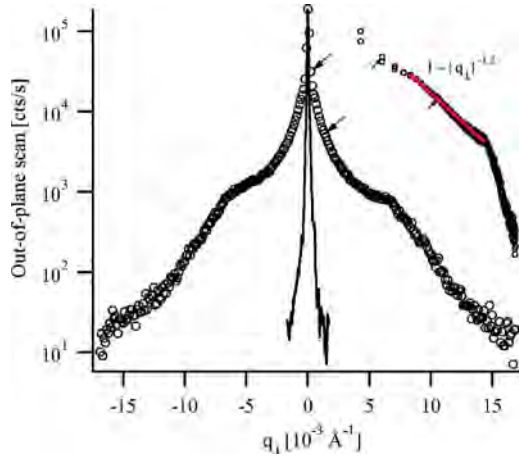


FIG. 1. (Color online) Out-of-plane scan of the first Bragg peak (open symbols) shown in log-lin and log-log (inset) representation. The scan of the primary beam is presented for comparison (solid line) normalized by a factor  $10^{-4}$ . In both graphs, the arrows indicate the range of the XPCS measurements. In the log-log graph, the straight line is the power-law fit to the intensity (see the text).

of 13 keV selected by a Si(111) single-bounce monochromator, in the uniform filling mode of the storage ring. The beam was defined by a  $10 \mu\text{m}$  pinhole followed by a guard slit for removal of parasitic scattering. The scattered signal was detected by a fast avalanche photodiode (APD) and the output signal was processed online by a FLEX autocorrelator.

### III. RESULTS AND ANALYSIS

#### A. Static scattering

The smectic periodicity is  $d=38.7 \text{ \AA}$ , somewhat smaller than predicted by the dilution law with pure water, namely,  $41 \text{ \AA}$  [15]. It is not clear if this is due to the presence of glycerol and how this component influences the phase diagram of the mixture and the lamellar spacing.

We measured the line shape of the first Bragg peak along the transverse direction, i.e., in the plane of the layers:  $I(q_{\perp})$  (Fig. 1). More precisely, if we take direction  $z$  along the normal to the layers and denote by  $x$  the projection of the incident beam onto the layers [so that the incidence plane is  $(xz)$ ], the experimental points correspond to taking the detector out of the plane of incidence, along the  $y$  direction:  $q_{\perp}=q_y$ .

It is well known that bulk lamellar phases exhibit the Landau-Peierls instability, leading to a characteristic power-law variation of the scattered signal close to the Bragg peak [17] given by  $I \sim q_{\perp}^{-(4-2\eta_c)}$ , with the conventional Caillé exponent

$$\eta_c = \frac{\pi}{2d^2} \frac{k_B T}{\sqrt{B\kappa/d}}, \quad (1)$$

where  $B$  is the compression modulus of the lamellar phase [28] and  $\kappa$  is the bending stiffness of the bilayer.

We observe a clear power-law behavior out to about  $q_{\perp}=5 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ , with an exponent of  $-1.2$ , yielding

$\eta_c=1.4$ . This ‘‘coupled elasticity’’ regime is followed by a much steeper decay at higher values, corresponding to length scales over which the bilayers fluctuate independently; we measure an exponent of  $-3.9$ , very close to the theoretical value of  $-4$ .

#### B. Dynamic scattering (XPCS)

We recorded the time correlation of the diffuse scattered signal in the vicinity of the first Bragg peak, in the same configuration as for the static measurements, over a  $q_{\perp}$  range indicated by the arrows in Fig. 1. When close enough to the peak, one can separate the scattering vector into two components

$$\mathbf{q} = \mathbf{q}_{\text{Bragg}} + \mathbf{q}_{\text{def}}, \quad (2)$$

with  $|\mathbf{q}_{\text{def}}| \ll |\mathbf{q}_{\text{Bragg}}|$ , where the Bragg component shows that the lamellar stack is ‘‘sampled’’ with a periodicity corresponding to the lamellar spacing, and the  $\mathbf{q}_{\text{def}}=\mathbf{q}_{\perp}+q_z\hat{\mathbf{z}}$  component indicates large-scale superimposed deformations. In general, for a given deformation vector, two hydrodynamic modes are coupled with the lamellar order: the second sound [18] (which relaxes much too fast to be detected by our setup) and the baroclinic mode, whereby the system fluctuates at a fixed chemical potential [14,19]. This is the only mode we will discuss in the following. As  $\mathbf{q}_{\text{def}}$  becomes perpendicular to the  $z$  axis ( $\mathbf{q}_{\text{def}}=\mathbf{q}_{\perp}$ ), the undulation limit of the baroclinic mode is reached.

The correlation function  $g(t)$  was obtained at each  $q_{\perp}$  value by acquiring the signal for 1800 or 3600 s. After normalization by the autocorrelation of the monitor signal and removal of an oscillatory component due to the mechanical noise of the setup,  $g(t)$  was fitted with the sum of a stretched exponential (stretching exponent  $\beta \sim 0.5$ ) representing the relaxation of the undulation mode and a very slow exponential (decay time  $\tau \sim 10$  s) of unknown origin

$$g(t) = 1 + [a_1 \exp[-(\Omega t)^{\beta}] + a_2 \exp(-t/\tau) + a_3]^2. \quad (3)$$

Figure 2 shows the correlation function  $g(t)$  determined for an intermediate value of  $q_{\perp}$ . Both the raw signal and the smoothed curve were fitted to the same model; they yield the same relaxation rate, but the error bars are smaller. In the following, we only use the smoothed curves.

The dispersion relation  $\Omega(\mathbf{q})$  for fluctuations in the lamellar phase is well known [14,20,21]. In the limit of the undulation mode  $q_z=0$ , it reduces to  $\Omega(q_{\perp})=\frac{\kappa/d}{\eta_3}q_{\perp}^2$ , with  $\kappa$  the bending stiffness,  $d$  the lattice spacing, and  $\eta_3$  the layer sliding viscosity [22]. However, this limit cannot be reached since the finite size of the capillary (thickness  $D=100 \mu\text{m}$ ) imposes a finite  $q_z=\pi/D$  component [23] that must be taken into account when describing the dispersion relation, which becomes

$$\Omega(q_{\perp}) = \frac{\kappa/d}{\eta_3} q_{\perp}^2 \left[ 1 + \left( \frac{\pi}{\lambda D} \right)^2 q_{\perp}^{-4} \right], \quad (4)$$

where  $\lambda=\sqrt{\kappa/(dB)}$  is the penetration length of the smectic phase (Fig. 3).

The fit quality is very good, yielding parameters  $\kappa/(d\eta_3)=(1.66 \pm 0.06)10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  and  $\lambda=(19.6 \pm 0.4) \text{ \AA}$ . Us-

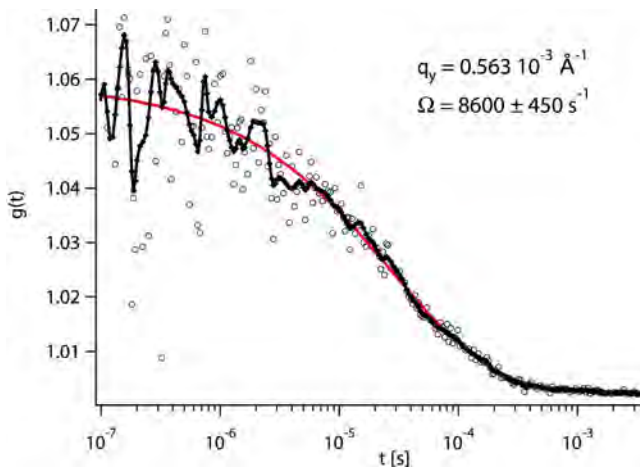


FIG. 2. (Color online) Correlation function  $g(t)$  measured for  $q_{\perp} = 0.563 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ . Open symbols: raw signal; dots and solid line: smoothed signal; and solid line: fit with the model described in the text [Eq. (3)].

ing the value of  $\eta_c = 1.4$  from the power-law dependence of the static scattering, we can determine the elastic moduli and the sliding viscosity as

$$\kappa = 2.35 \times 10^{-21} \text{ J} \approx 0.58 k_B T,$$

$$B = 1.56 \times 10^5 \text{ Pa},$$

$$\eta_3 = 3.65 \times 10^{-3} \text{ Pa s}. \quad (5)$$

First of all, we note that the value found for the sliding viscosity is exactly that of the solvent:  $\eta_3 \approx \eta_{\text{sol}}$ , as expected. The bending modulus  $\kappa$  is similar to that measured from the dilution law  $d(\phi)$  [15], which decreases abruptly with the increasing water thickness  $d_w$  and saturates at about  $0.3k_B T$  for  $d_w > 20 \text{ \AA}$ . In our system,  $d_w \approx 18.5 \text{ \AA}$ , and a more precise comparison is difficult to make. In the following section we further check our results against those of light-scattering experiments.

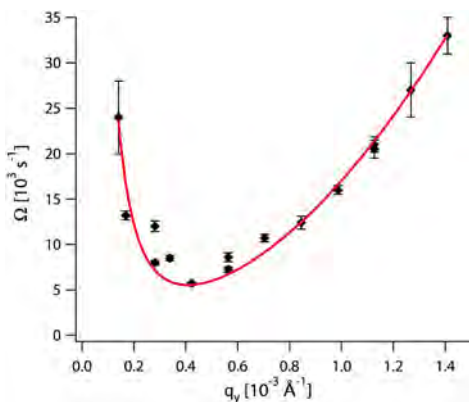


FIG. 3. (Color online) Measured relaxation rates (diamonds) and fit with the dispersion relation [Eq. (4)] shown as a solid line.

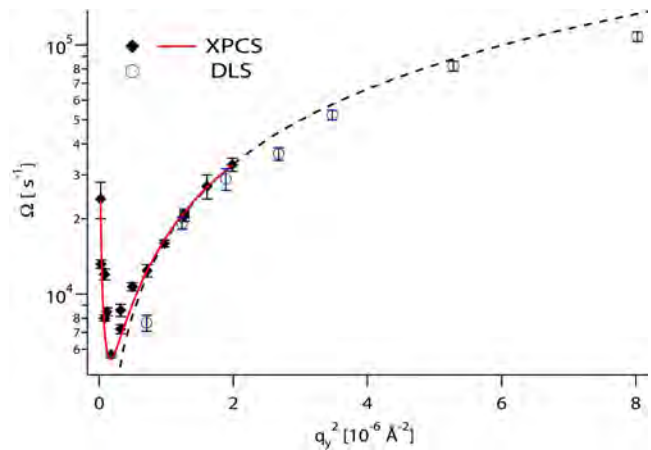


FIG. 4. (Color online) Comparison between the XPCS and DLS results. Diamonds and solid line: XPCS data and fit (as in Fig. 3). Dotted line: high- $q_{\perp}$  extrapolation of the fit. Open dots: DLS results.

### C. Light scattering (DLS)

The experimental DLS setup is described in Ref. [24]. Briefly, it uses the green (514 nm) emission line of an Ar laser (Coherent Innova 305) and the scattered signal is collected with a photon-counting PMT. We only investigated the undulation mode, corresponding to a scattering vector  $q_{\perp}$  contained within the plane of the layers.

The relaxation rate of the undulation mode was measured in DLS for  $q_{\perp}$  between  $0.84$  and  $2.3 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ ; the experimental points are shown as open dots in Fig. 4. They agree very well with the measured XPCS points (solid diamonds) and the extrapolated dispersion relation for the undulation mode (dotted line), although they are systematically lower. It is noteworthy that the correlation functions measured in DLS exhibit the same stretching exponent  $\beta \sim 0.5$  as the XPCS ones; thus, the stretching is not resolution induced.

## IV. CONCLUSION

We demonstrated the use of the XPCS technique for measuring the dispersion relation of the undulation mode in a lyotropic lamellar phase up to a wave vector  $q_{\text{max}} = 1.4 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ ; the results are in very good agreement with DLS measurements. Combining XPCS and static diffuse scattering measured on the same sample using the same setup we obtain precise results for the material parameters of the lamellar phase [Eq. (5)].

In this work, the accessible  $q$  range is about half that of DLS. However, in the case of more contrasted systems with slower dynamics, the DLS range can probably be exceeded. On the other hand, DLS measurements are also difficult at low  $q$  values, due to impurities and other defects, which cannot be easily eliminated in ordered systems. The advantage of XPCS is its selectivity, due to the Bragg sampling expressed by Eq. (2), which renders it insensitive to such defects. Thus it can also be applied to slightly misaligned or “dirty” samples.

A systematic comparison between XPCS (measurements around the Bragg peak) and DLS (probing the origin of re-

reciprocal space) will probably require a more detailed theoretical description than our intuitive explanation, especially as the deformation wave vector  $\mathbf{q}_{\text{def}}$  approaches the Bragg value.

The XPCS technique should be particularly interesting for the study of recently discovered systems, such as DNA-lipid complexes [25], where the dynamics of the confined DNA strands could provide further insight into the structure of the 2D “sliding” phase [26] they form within the host lamellar

matrix, or of inorganic lamellar phases [27], where the presence of heavier elements increases the x-ray contrast at the same time it hinders light-scattering measurements.

#### ACKNOWLEDGMENTS

D.C. received financial support from the CNRS. We acknowledge fruitful discussions with Jérôme Crassous and Frédéric Nallet.

- 
- [1] G. Grübel and F. Zontone, *J. Alloys Compd.* **362**, 3 (2004).  
 [2] J. Lal, D. Abernathy, L. Auvray, O. Diat, and G. Grübel, *Eur. Phys. J. E* **4**, 263 (2001).  
 [3] A. Robert, J. Wagner, T. Autenrieth, W. Härtl, and G. Grübel, *J. Chem. Phys.* **122**, 084701 (2005).  
 [4] H. Kim, A. Rühm, L. B. Lurio, J. K. Basu, J. Lal, D. Lumma, S. G. J. Mochrie, and S. K. Sinha, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 068302 (2003).  
 [5] A. Madsen, T. Seydel, M. Sprung, C. Gutt, M. Tolan, and G. Grübel, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 096104 (2004).  
 [6] A. C. Price, L. B. Sorensen, S. D. Kevan, J. Toner, A. Poniewierski, and R. Holyst, *Phys. Rev. Lett.* **82**, 755 (1999).  
 [7] I. Sikharulidze, I. P. Dolbnya, A. Fera, A. Madsen, B. I. Ostrovskii, and W. H. de Jeu, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 115503 (2002).  
 [8] I. Sikharulidze, B. Farago, I. P. Dolbnya, A. Madsen, and W. H. de Jeu, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 165504 (2003).  
 [9] I. Sikharulidze and W. H. de Jeu, *Phys. Rev. E* **72**, 011704 (2005).  
 [10] A. Madsen, J. Als-Nielsen, and G. Grübel, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 085701 (2003).  
 [11] D. O. Riese, W. L. Vos, G. H. Wegdam, F. J. Poelwijk, D. L. Abernathy, and G. Grübel, *Phys. Rev. E* **61**, 1676 (2000).  
 [12] G. Grübel, D. L. Abernathy, D. O. Riese, W. L. Vos, and G. H. Wegdam, *J. Appl. Crystallogr.* **33**, 424 (2000).  
 [13] C. R. Safinya, D. Roux, G. S. Smith, S. K. Sinha, P. Dimon, N. A. Clark, and A. M. Bellocq, *Phys. Rev. Lett.* **57**, 2718 (1986).  
 [14] F. Nallet, D. Roux, and J. Prost, *J. Phys. (France)* **50**, 3147 (1989).  
 [15] E. Freyssingeas, D. Roux, and F. Nallet, *J. Phys.: Condens. Matter* **8**, 2801 (1996).  
 [16] *Handbook of Chemistry and Physics*, edited by D. R. Lide, (CRC Press, Boca Raton, 1999).  
 [17] A. Caillé, *C. R. Seances Acad. Sci., Ser. B* **274**, 891 (1972).  
 [18] P.-G. de Gennes and J. Prost, *The Physics of Liquid Crystals* (Oxford University Press, Oxford, 1993).  
 [19] F. Brochard and P.-G. de Gennes, *Pramana, Suppl.* **1**, 1 (1975).  
 [20] G. Sigaud, C. W. Garland, H. T. Nguyen, D. Roux, and S. T. Milner, *J. Phys. II* **3**, 1343 (1993).  
 [21] P. Štěpánek, F. Nallet, and K. Almdal, *Macromolecules* **34**, 1090 (2001).  
 [22] P. C. Martin, O. Parodi, and P. S. Pershan, *Phys. Rev. A* **6**, 2401 (1972).  
 [23] R. Ribotta, D. Salin, and G. Durand, *Phys. Rev. Lett.* **32**, 6 (1974).  
 [24] E. Freyssingeas, A. Martin, and D. Roux, *Eur. Phys. J. E* **18**, 219 (2005).  
 [25] J. O. Rädler, I. Koltover, T. Salditt, and C. R. Safinya, *Science* **275**, 810 (1997).  
 [26] T. Salditt, I. Koltover, J. O. Rädler, and C. R. Safinya, *Phys. Rev. Lett.* **79**, 2582 (1997).  
 [27] J. C. P. Gabriel, F. Camerel, B. J. Lemaire, H. Desvaux, P. Davidson, and P. Batail, *Nature (London)* **413**, 504 (2001).  
 [28]  $B$  stands for the compression modulus at fixed chemical potential, often denoted by  $\bar{B}$  in the literature.

## Communications: Short-range dynamics of a nematic liquid-crystalline phase

Andreas S. Poulos,<sup>1</sup> Doru Constantin,<sup>1,a)</sup> Patrick Davidson,<sup>1</sup> Brigitte Pansu,<sup>1</sup>  
Éric Freyssingeas,<sup>2</sup> Anders Madsen,<sup>3</sup> and Corinne Chanéac<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, 91405 Orsay, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physique, École Normale Supérieure de Lyon, CNRS, UMR 5672, 69364 Lyon, France

<sup>3</sup>European Synchrotron Radiation Facility, Boîte Postale 220, 38043 Grenoble, France

<sup>4</sup>Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée, Université Paris 6, CNRS, UMR 7574, 75252 Paris, France

(Received 18 December 2009; accepted 3 February 2010; published online 2 March 2010)

Using x-ray photon correlation spectroscopy, we studied the dynamics in the nematic phase of a nanorod suspension. The collective diffusion coefficient in the plane perpendicular to the director varies sharply with the wave vector. Combining the structure factor and the diffusion coefficient, we find that the hydrodynamic function of the phase decreases by more than a factor of 10 when going from length scales comparable to the interparticle distance toward larger values. Thus, the collective dynamics of the nematic phase experiences strong and scale-dependent slowing down, in contrast with isotropic suspensions of slender rods or of spherical particles. © 2010 American Institute of Physics. [doi:10.1063/1.3330920]

Nematics are the simplest example of a phase with no positional order, but still exhibiting orientational order (and hence anisotropy). This combination endows them with remarkable qualities: although fluid, they have elastic properties and, consequently, long-lived fluctuations. A great deal is known about the large-scale behavior of nematic systems, which is well described by a generalized hydrodynamic model.<sup>1</sup> This theoretical description was confirmed (and refined) using a wealth of experimental techniques. The method of choice for studying nematodynamics is dynamic light scattering (DLS), which is sensitive to the relaxation of nematic fluctuations on micron scales.<sup>2,3</sup>

On the other hand, there are much less data on the short-range dynamics of the nematic phase, covering length scales comparable to the interparticle distance. In this limit, the continuous medium model is bound to break down, and more microscopic considerations must be taken into account. Since this is the scale at which interaction between particles defines the structure of the system, understanding the dynamics is essential for building a complete picture of the phase. A considerable body of theoretical and numerical work exists,<sup>4,5</sup> but there is very little experimental data, mainly due to the lack of adapted techniques (due to the typical particle size, this range of scattering vectors is out of reach for DLS). Alternative methods can be used, such as inelastic neutron scattering, which is however limited to submicrosecond dynamics (too fast for cooperative processes). Spin relaxation has also been employed, but it lacks the required space resolution and the conclusions are indirect.

X-ray scattering techniques are suitable for exploring these distances, but until recently they were only able to draw a *static* picture of the system. This situation is changing due to the progress of x-ray photon correlation spectroscopy

(XPCS), opening up the time dimension. However, due to inherent technical difficulties, the experimental systems must fulfill very stringent conditions, such as slow relaxation rates and high scattering contrast. Some experiments have already been performed on nematics using XPCS, but they were only concerned with very slow relaxation in a gel phase<sup>6</sup> or with capillary surface waves.<sup>7</sup>

Essential information on the physics of multiparticle systems is contained in the structure factor  $S(q)$  and the collective diffusion coefficient  $D(q)$ .<sup>8</sup> Based on very general thermodynamic arguments, these parameters are related by  $D(q) \sim 1/S(q)$  (“de Gennes narrowing”<sup>9</sup>). In colloidal suspensions, a more refined treatment must take into account the hydrodynamic interactions, which further modulate this dependence.

In this letter, we study a fluid nematic phase of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) nanorods (with moderate aspect ratio) and determine the hydrodynamic function over a  $q$ -range corresponding to length scales comparable to the interparticle distances. Unexpectedly, we find that for wave vectors  $q < q_{\max}$  (below the maximum of the structure factor), the dynamics of the system slows down considerably. This result is in stark contrast with isotropic suspensions of slender rods, where no hydrodynamic effect is observed.<sup>10</sup> Furthermore, the effect is much stronger than the variation of the hydrodynamic function in suspensions of colloidal spheres,<sup>11</sup> emphasizing the role of particle anisotropy and of the nematic order.

Goethite nanoparticles were synthesized according to a well-established procedure and dispersed in water.<sup>12,13</sup> The particles are lath shaped; transmission electron microscopy images show that they are  $4000 \pm 1000$  Å long and  $330 \pm 110$  Å wide (mean and standard deviation obtained from a log-normal fit). Moreover, the particle cross section is usually anisotropic by a factor of 2.5.<sup>13</sup> In the following, we therefore consider that the particles rotate freely around their

<sup>a)</sup>Electronic mail: constantin@lps.u-psud.fr.

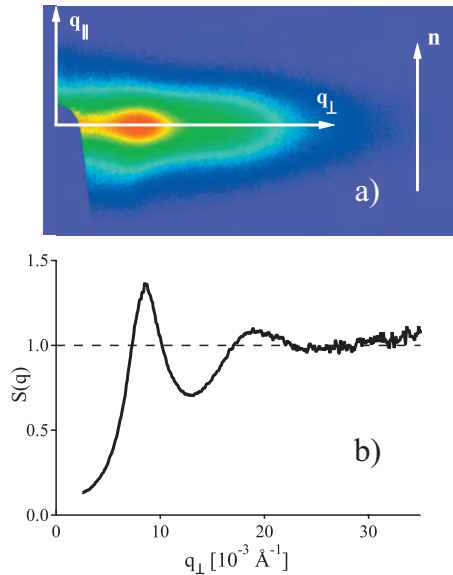


FIG. 1. (a) SAXS pattern of an aligned nematic sample with  $\phi_g=6.7\%$  at 228 K. The arrow indicates the direction of the nematic director  $\vec{n}$ . (b) Structure factor along the  $q_{\perp}$  direction calculated from the SAXS data in (a).

main axis, as expected in a uniaxial nematic phase. In order to slow down their dynamics so that it may be conveniently studied by XPCS, the particles were resuspended in an 80 wt % propane-1,3-diol in water mixture. Although this mixture has lower dielectric permittivity than water, the particles still bear some positive electrical surface charge density, which ensures the colloidal stability of the suspension. In the first approximation, the effect of electrostatic interactions can be described by introducing an effective radius larger than the bare one, which tends to reduce the apparent particle aspect ratio.<sup>14</sup> For example, previous studies of another goethite suspension in pure water have shown that the ratio of effective diameter to bare diameter is about 1.6.<sup>15</sup> With the solvent mixture used here, this electrostatic correction factor is expected to be smaller. Therefore, in the following, the particles will be considered as cylindrical rods, 4000 Å long and with an aspect ratio of about 10. (The interpretation presented below does not critically depend on the precise value of the effective aspect ratio.) At volume fractions  $\phi_g \leq 4.2\%$  the suspensions are isotropic, whereas at  $\phi_g \geq 6.7\%$  they form a nematic liquid-crystalline phase that aligns in

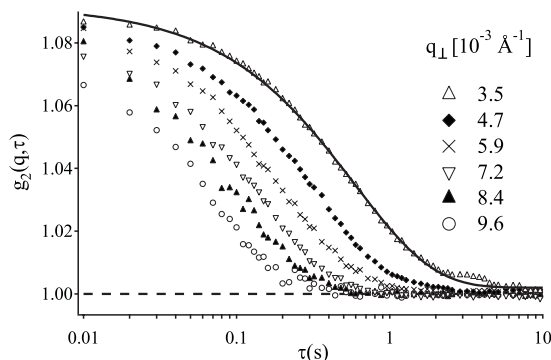


FIG. 2. Autocorrelation functions for a nematic sample with  $\phi_g=6.7\%$  at different scattering vectors  $q_{\perp}$ . The solid line is the fit with a stretched exponential (the stretching exponent is about 0.6 for all the curves).

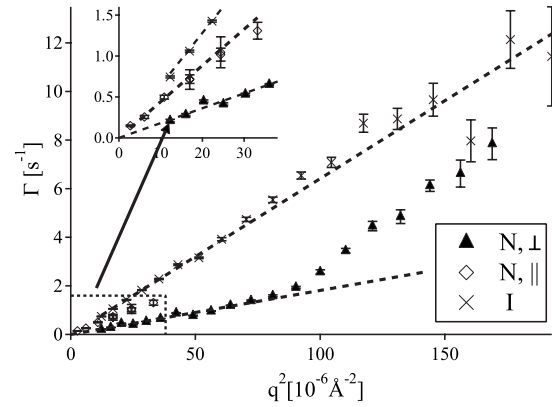


FIG. 3. Dispersion relations for a nematic ( $\phi_g=6.7\%$ ) sample, with  $\vec{q}$  parallel to the nematic director ( $\diamond$ ), and with  $\vec{q}$  perpendicular to the nematic director ( $\blacktriangle$ ). The dispersion relation of an isotropic ( $\phi_g=2\%$ ) sample is shown for comparison ( $\times$ ).

low magnetic field, with its nematic director parallel to the field.<sup>16</sup> Samples of different volume fractions were held in optical flat glass capillaries, 50  $\mu\text{m}$  thick (VitroCom, NJ, USA), and placed in a vacuum chamber. The temperature was lowered to 228 K, where the viscosity of the solvent is on the order of 1000 mPa s. The nematic phase was aligned with a 150 mT field that was then removed for the actual measurements.

The small-angle x-ray scattering (SAXS) and XPCS measurements were performed at the TROIKA beam line ID10A of the ESRF with an x-ray energy of 8 keV ( $\lambda=1.55$  Å) selected by a single-bounce Si(111) monochromator, in the uniform filling mode of the storage ring. A (partially) coherent beam is obtained by inserting a 10  $\mu\text{m}$  pinhole aperture a few centimeters upstream of the sample.

For the XPCS measurements, we used a two-dimensional (2D) Maxipix detector consisting of  $256 \times 256$  square pixels (55  $\mu\text{m}$  in size), and the intensity autocorrelation functions were calculated by ensemble averaging over equivalent pixels.<sup>17</sup> In the nematic phase, the pixels averaged were restricted to a narrow slice perpendicular to the nematic director for  $q_{\perp}$  (see Fig. 1 for an illustration and Fig. 2 for the results), or parallel to the nematic director for  $q_{\parallel}$ . In the isotropic phase, all pixels at the same scattering vector modulus were averaged. Some measurements were also performed using a point detector (an avalanche photodiode) connected to an external digital correlator (Flex01D-08).

A typical SAXS pattern of an aligned nematic sample is shown in Fig. 1(a). The static structure factor  $S(q_{\perp})$  in the  $q_{\perp}$  direction [Fig. 1(b)] was obtained by dividing the scattered intensity by the form factor measured independently on a dilute solution.  $S(q_{\perp})$  displays a well-defined interaction peak, at a value  $q_{\text{max}}=8.6 \times 10^{-3}$  Å<sup>-1</sup> due to the liquidlike positional short-range order of the nanorods in the plane perpendicular to the director.

The various dispersion relations are shown in Fig. 3. The relaxation rate in the nematic phase, perpendicular to the director ( $N_{\perp}$ , solid triangles) is linear in  $q_{\perp}^2$ , roughly up to the position of the structure peak. At higher  $q_{\perp}$ , the slope increases abruptly, before approaching a final linear regime. In contrast, the behavior along the director ( $N_{\parallel}$ , open dia-

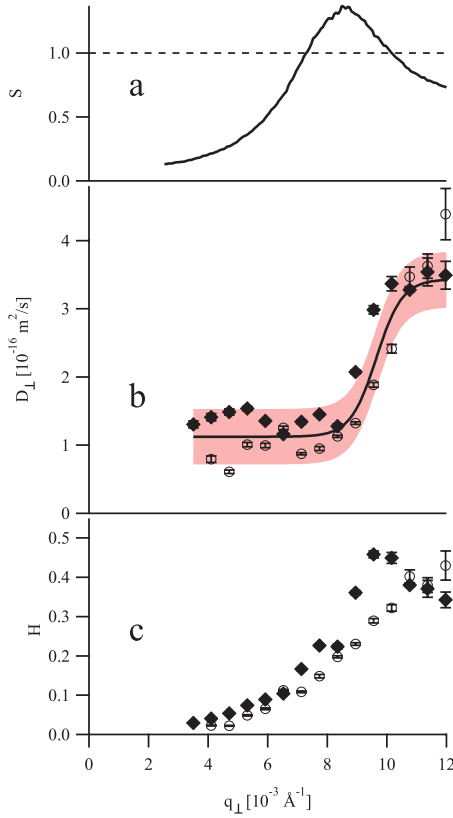


FIG. 4. (a) Static structure factor  $S(q_{\perp})$ . (b) Diffusion coefficient  $D_{N,\perp}(q_{\perp})$ . The symbols correspond to two different measurements performed on the same sample. The solid line and the grayed area are the fit by a sigmoidal function and the  $\pm\sigma$  prediction bands (see text). (c) Hydrodynamic function obtained using Eq. (2). The data are plotted against a common  $q_{\perp}$  axis.

monds) is linear over the accessible range, which is limited by the rapid falloff of the intensity in this direction [see Fig. 1(a)]. In the isotropic phase (with  $\phi_g=2\%$ ), the dispersion relation is also linear over the entire range.

Let us define the collective diffusion coefficient  $D_{N,\perp}(q_{\perp}) = \Gamma(q_{\perp})/q_{\perp}^2$  [Fig. 4(b)]. For reference, panel (a) shows the structure factor [Fig. 1(b)].

Two regimes (above and below the interaction peak of the structure factor) can be clearly distinguished. Between them, the diffusion coefficient jumps by more than a factor of 3. To quantify this variation, we fit  $D_{N,\perp}(q_{\perp})$  with a sigmoidal function [solid line in Fig. 4(b)]

$$D(q) = D_{\min} + \frac{D_{\max} - D_{\min}}{1 + \exp\left(-\frac{q - q_{1/2}}{\Delta q}\right)}, \quad (1)$$

with parameters  $D_{\min} = 1.1 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$  and  $D_{\max} = 3.4 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ , while  $q_{1/2} = 9.6 \times 10^{-3}$  and  $\Delta q = 0.45 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ . The grayed areas around the fit are the  $\pm\sigma$  prediction bands, quantifying the data scatter (about 68% of the experimental points should fall within this area). The fit function (1) is only chosen for convenience; there is no physical reason for adopting it.

The decrease of  $D_{N,\perp}(q_{\perp})$  at low wave vectors is even more striking if we recall that, for  $q_{\perp}$  vectors below the peak, where the structure factor decreases, the diffusion coefficient should *increase*! We can restate this result more precisely in

terms of the *hydrodynamic function*,  $H(q_{\perp})$ , defined by<sup>18</sup>

$$H(q_{\perp}) = \frac{D_{N,\perp}(q_{\perp})}{D_{0,\perp}} S(q_{\perp}), \quad (2)$$

and shown in Fig. 4(c).

Care must be exercised when determining the constant factor  $D_{0,\perp}$ , which is the diffusion coefficient of the particles at infinite dilution. The  $\perp$  subscript specifies that one should consider the diffusion in the direction perpendicular to the main axis of the particle (in the nematic phase this axis is parallel to the director, and we are now concerned with diffusion perpendicular to the director). We start by measuring the (orientationally averaged) diffusion coefficient in the isotropic phase,  $D_I$ . For  $\phi_g=2\%$ , the data are shown in Fig. 3 (crosses), along with a linear fit yielding  $D_I(2\%) = 6.4 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Similar measurements at  $\phi_g=0.5\%$  (data not shown) give  $D_I(0.5\%) = 8.0 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Correcting these results for the intrinsic viscosity of nanorod suspensions<sup>19</sup> leads to an infinite dilution value  $D_0 = D_I(0) = 8.5 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . In isotropic solution,  $D_0$  is a geometric combination of the diffusion coefficients along and perpendicular to the major axis:  $3D_0 = D_{0,\parallel} + 2D_{0,\perp}$  and, for nanorods with an aspect ratio of 10,  $D_{0,\perp}/D_0 = 0.88$ ,<sup>20</sup> resulting in  $D_{0,\perp} = 7.5 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

At high  $q_{\perp}$ ,  $H(q)$  reaches a value lower than 1 [ $H(\infty) \approx 0.4$ ]. For spherical particles, this limit is described by<sup>21</sup>  $H(\infty) = \eta_0/\eta$ , where  $\eta$  is the viscosity of the suspension and  $\eta_0$  that of the solvent. Transposing this formula to our (non-spherical) system yields fairly good agreement.<sup>22</sup> The main feature of  $H(q)$  is however the decrease at lower wave vector, starting around  $q_{\max}$  and clearly visible in Fig. 4(c). At the lowest accessible wave vector  $H(q) \approx 0.04$ , ten times smaller than the maximum value  $H(\infty)$ .

Hydrodynamic slowing down of the collective relaxation is also encountered in suspensions of spherical particles, but its amplitude is much lower; for a volume fraction  $\phi=9\%$  (higher than in our nematic phase),  $H(0)/H(\infty) \approx 1/3$ .<sup>11</sup> Experimental and theoretical results for even higher volume fractions of spheres (both in the low- and high-salt concentration regimes) yield more modest decreases for the collective diffusion.<sup>23</sup> We conclude that the behavior of  $H(q)$  at low wave vectors in the nematic phase is very different from that in sphere suspensions.

A possible explanation for this difference is that, if the major axis of the particles is much longer than the typical distance between them (in the limit of very large order parameter and aspect ratio), the nematic phase should behave like a 2D system,<sup>24</sup> where hydrodynamic interactions are stronger than for a three-dimensional system.<sup>25</sup> This explanation is in qualitative agreement with recent simulations of 2D colloidal suspensions, where the hydrodynamic interactions slow down the collective diffusion coefficient.<sup>26</sup> In particular, for the volume fraction used in our study these authors find that the hydrodynamic interactions slow down the collective diffusion by at least a factor of 4 [Ref. 26, Fig. 2(b)]. However, more theoretical or numerical results would be needed, in particular concerning the length-scale dependence of the diffusion coefficient  $D(q)$ , to understand this pronounced slowing down.

A.S.P. gratefully acknowledges the support from a Marie Curie action (Grant No. MEST-CT-2004-514307) and from a Triangle de la Physique contract (Grant No. OTP 26784).

- <sup>1</sup>P. C. Martin, O. Parodi, and P. S. Pershan, *Phys. Rev. A* **6**, 2401 (1972).
- <sup>2</sup>G. Durand, L. Leger, F. Rondelez, and M. Veysie, *Phys. Rev. Lett.* **22**, 1361 (1969).
- <sup>3</sup>M. J. Stephen and J. P. Straley, *Rev. Mod. Phys.* **46**, 617 (1974).
- <sup>4</sup>T. Kirchhoff, H. Löwen, and R. Klein, *Phys. Rev. E* **53**, 5011 (1996).
- <sup>5</sup>P. P. Jose and B. Bagchi, *J. Chem. Phys.* **125**, 184901 (2006).
- <sup>6</sup>R. Bandyopadhyay, D. Liang, H. Yardimci, D. A. Sessoms, M. A. Borthwick, S. G. J. Mochrie, J. L. Harden, and R. L. Leheny, *Phys. Rev. Lett.* **93**, 228302 (2004).
- <sup>7</sup>A. Madsen, J. Als-Nielsen, and G. Grübel, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 085701 (2003).
- <sup>8</sup>P. N. Pusey, *Liquids, Freezing, and the Glass Transition* (North-Holland, Amsterdam, 1991) pp. 763–942.
- <sup>9</sup>P. G. De Gennes, *Physica* **25**, 825 (1959).
- <sup>10</sup>C. Graf, M. Deggelmann, M. Hagenbüchle, H. Kramer, R. Krause, C. Martin, and R. Weber, *J. Chem. Phys.* **95**, 6284 (1991).
- <sup>11</sup>A. Robert, J. Wagner, W. Härtl, T. Autenrieth, and G. Grübel, *Eur. Phys. J. E* **25**, 77 (2008).
- <sup>12</sup>D. M. E. Thies-Weesie, J. P. de Hoog, M. H. H. Mendiola, A. V. Petukhov, and G. J. Vroege, *Chem. Mater.* **19**, 5538 (2007).
- <sup>13</sup>B. J. Lemaire, P. Davidson, J. Ferré, J. P. Jamet, D. Petermann, P. Panine, I. Dozov, and J. P. Jolivet, *Eur. Phys. J. E* **13**, 291 (2004).
- <sup>14</sup>G. J. Vroege and H. N. W. Lekkerkerker, *Rep. Prog. Phys.* **55**, 1241 (1992).
- <sup>15</sup>B. J. Lemaire, P. Davidson, D. Petermann, P. Panine, I. Dozov, D. Stoenescu, and J. P. Jolivet, *Eur. Phys. J. E* **13**, 309 (2004).
- <sup>16</sup>B. J. Lemaire, P. Davidson, J. Ferré, J. P. Jamet, P. Panine, I. Dozov, and J. P. Jolivet, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 125507 (2002).
- <sup>17</sup>A. Fluerasu, A. Moussaïd, A. Madsen, and A. Schofield, *Phys. Rev. E* **76**, 010401(R) (2007).
- <sup>18</sup>G. Nägele and P. Baur, *Physica A* **245**, 297 (1997).
- <sup>19</sup>M. J. Solomon and D. V. Boger, *J. Rheol.* **42**, 929 (1998).
- <sup>20</sup>M. M. Tirado, C. L. Martinez, and J. G. de la Torre, *J. Chem. Phys.* **81**, 2047 (1984).
- <sup>21</sup>C. W. J. Beenakker and P. Mazur, *Physica A* **120**, 388 (1983).
- <sup>22</sup>Considering an ionic strength of 10 mM, the data of Solomon and Boger (Ref. 19) give a value of  $\eta_0/\eta=0.41$  using the low concentration expansion and 0.25 using the overall formula (for an aspect ratio of 8.4). Rheology measurements performed at room temperature in aqueous suspension at the same concentration (6.7%) also yield  $\eta_0/\eta=0.25$ , but the comparison is not straightforward due to the lack of information on the electrostatic effects in the presence of propane-1,3-diol.
- <sup>23</sup>A. J. Banchio, J. Gapinski, A. Patkowski, W. Häußler, A. Fluerasu, S. Sacanna, P. Holmqvist, G. Meier, M. P. Lettinga, and G. Nägele, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 138303 (2006).
- <sup>24</sup>We define a 2D system as invariant under translation along the normal direction, in contrast with the extensively studied quasi-2D systems that consist of particles confined at an interface or between rigid boundaries.
- <sup>25</sup>J. Happel and H. Brenner, *Low Reynolds Number Hydrodynamics* (Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1983).
- <sup>26</sup>E. Falck, J. M. Lahtinen, I. Vattulainen, and T. Ala-Nissila, *Eur. Phys. J. E* **13**, 267 (2004).



## Slow dynamics of a colloidal lamellar phase

Doru Constantin,<sup>1,a)</sup> Patrick Davidson,<sup>1</sup> Éric Freyssingéas,<sup>2</sup> and Anders Madsen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, 91405 Orsay, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physique, École Normale Supérieure de Lyon, CNRS, UMR 5672, 69364 Lyon, France

<sup>3</sup>European Synchrotron Radiation Facility, Boîte Postale 220, 38043 Grenoble, France

(Received 2 September 2010; accepted 13 October 2010; published online 14 December 2010)

We used x-ray photon correlation spectroscopy to study the dynamics in the lamellar phase of a platelet suspension as a function of the particle concentration. We measured the collective diffusion coefficient along the director of the phase, over length scales down to the interparticle distance, and quantified the hydrodynamic interaction between the particles. This interaction sets in with increasing concentration and can be described qualitatively by a simplified model. No change in the microscopic structure or dynamics is observed at the transition between the fluid and the gel-like lamellar phases.

© 2010 American Institute of Physics. [doi:10.1063/1.3509399]

### I. INTRODUCTION

In order to reach a thorough understanding of colloidal suspensions, it is crucial to probe their dynamics at length scales comparable to the interparticle distance. Thus, a considerable amount of experimental and theoretical work has been concerned with the dynamics of dense colloidal suspensions.<sup>1</sup> Space- and time-resolved experiments were mainly performed using dynamic light scattering (DLS) on micrometer-size spherical particles, both in the isotropic<sup>2</sup> and the crystalline<sup>3</sup> phases.

The DLS was also used to study dilute isotropic suspensions of elongated particles<sup>4</sup> or solutions of disk-shaped particles close to the sol–gel transition,<sup>5</sup> but using this technique for the study of concentrated and/or ordered solutions becomes challenging due to the required particle sizes. This is nevertheless a regime where the system should exhibit rich dynamics, influenced by the (short- or long-range) order and by the hydrodynamic coupling, the latter being quantified by the *hydrodynamic function*.

Theoretical efforts aiming to calculate this function have focused mainly on suspensions of spherical particles,<sup>6</sup> they have been largely validated by the experimental results (see below). For anisotropic particles, on the other hand, the calculations are much more involved and they were mostly restricted to solutions of slender rods.<sup>7,8</sup> We are not aware of any analytical results for the hydrodynamic function of plate-like particles. Experimental measurements at high scattering vector (corresponding to the interparticle distance) are also lacking due to the intrinsic wavelength limitation of DLS.

In recent years, the accessible distance range increased significantly via the use of x-ray photon correlation spectroscopy (XPCS), which is fundamentally similar to DLS but uses x-ray radiation as a probe. Although this technique is only effective on systems with high scattering contrast and slow relaxation rates, it has already been used to study concentrated hard sphere solutions,<sup>9–11</sup> aging suspensions,<sup>12,13</sup>

particles dispersed in complex fluids,<sup>14,15</sup> and interface dynamics.<sup>16,17</sup>

Some XPCS studies were performed on mesophases. For instance, the collective diffusion coefficient of a colloidal nematic phase was determined over a wide range of the wave vector  $q$ . The analysis showed that the dynamics of the system displays strong slowing down over length scales larger than the interparticle distance.<sup>18</sup> The relaxation of capillary surface waves has also been measured.<sup>19</sup> Smectic phases—which have a certain degree of positional order—represent ideal candidates for XPCS investigations, as the scattering intensity is concentrated in the vicinity of the Bragg peaks, leading to high count rates. That is why some of the first XPCS results were obtained on such systems, in particular under the form of free-standing<sup>20–22</sup> films. The bulk dynamics of a lamellar lyotropic phase of surfactant were also studied.<sup>23</sup> The results, confirmed by DLS measurements, could be interpreted in terms of the continuum elastic theory of smectics.<sup>24,25</sup>

In this paper we present results obtained on lamellar lyotropic phases composed of large inorganic colloids; in this system, the slow relaxation rates and the high scattering contrast greatly extend the accessible  $q$ -range. We measure the collective diffusion coefficient  $D(q_{\hat{z}})$ , where  $\hat{z}$  is the direction of the lamellar director, for a fairly wide range of scattering vectors along the lamellar director,  $q_z$  (covering at least the first Bragg peak of the phase). We then obtain the hydrodynamic function  $H(q_z)$ . The large aspect ratio of the particles and their lamellar order enable us to describe the dynamics using a simplified analytical model, which is in semiquantitative agreement with the data. As a function of the concentration, the hydrodynamic coupling goes from very weak to extremely strong.

### II. EXPERIMENTAL

We used concentrated suspensions of phosphoantimonate ( $\text{H}_3\text{Sb}_3\text{P}_2\text{O}_{14}$ ) particles, with a typical thickness of 1 nm and at least 300 nm wide,<sup>26</sup> synthesized as in Ref. 27. The lateral size distribution of the particles was assessed using a scanning electron microscope equipped with a field

<sup>a)</sup> Author to whom correspondence should be addressed. Electronic mail: constantin@lps.u-psud.fr.

emission gun (SEM-FEG). In a typical experiment, a colloidal suspension was diluted down to a volume fraction of  $2.5 \times 10^{-4}$  by adding distilled water. Then, a drop of suspension was spin-coated at  $\sim 1000$  rpm onto a silicon wafer. Close inspection of the samples, by SEM-FEG at 10 kV and by optical microscopy, revealed the presence of platelike particles that sometimes had a clear hexagonal shape. Their size distribution is extremely broad and ranges from a few hundred nanometers to more than five micrometers.

The batch solutions were diluted, either with pure water or with a 50:50 (wt.%) glycerol/water mixture to reach the desired volume concentration  $\phi$ . The room-temperature phase diagram was determined by visual inspection of the vials, in natural light, and between crossed polarizers. The birefringent lamellar phase has a gel-like texture above  $\phi = 1.8\%$  (does not flow under its own weight, i.e., it has a zero-frequency elastic modulus) and is fluid below this value, down to  $\phi = 0.65\%$  where it coexists with a very dilute isotropic phase, with a concentration  $\phi_I < 0.1\%$ . These phase boundaries are compatible with the phase diagram presented in Figure 3 of Ref. 26, for the case of no added salt (ionic strength below  $10^{-4}$  mol/l).

The lamellar samples were prepared by aspiration in round glass capillaries, 1 mm wide and with a wall thickness of  $10 \mu\text{m}$ . By scanning the capillaries in the beam, it is easy to find aligned domains (usually, with the director normal to the capillary walls).

The small-angle x-ray scattering (SAXS) and XPCS measurements were performed at the TROIKA beam line ID10A of the ESRF with an x-ray energy of 8 keV ( $\lambda = 1.55 \text{ \AA}$ ) selected by a single-bounce Si(111) monochromator, in the uniform filling mode of the storage ring. A (partially) coherent beam is obtained by inserting a  $10 \mu\text{m}$  pinhole aperture a few centimeters upstream of the sample.

We used a 2D Maxipix detector consisting of  $256 \times 256$  square pixels ( $55 \mu\text{m}$  in size) and with acquisition rates of up to 1 kHz. For XPCS, a few thousand images were recorded and the intensity autocorrelation functions were calculated by ensemble averaging<sup>28</sup> over pixels with the same absolute value of the scattering vector (see Fig. 1). The SAXS pattern is obtained as the average intensity over all the images in each run. Since we are only concerned with the  $q_z$  dependence of the measured quantities, in the following we will denote throughout  $q_z$  by  $q$ .

The relaxation of concentration fluctuations with a given wave vector  $q$  is reflected in the field correlation function at that value of the scattering vector,  $g_1(q, t) = \langle E^*(0)E(t) \rangle / \langle E^*(0)E(0) \rangle$ . As we will see below, our data are well described by a single exponential relaxation,  $g_1(q, t) = \exp[-\Omega(q)t]$ .

Experimentally, we measure the normalized intensity correlation function  $g_2(q, t)$ , related to the field correlation function by the Siegert relation,

$$g_2(q, t) = 1 + b(q)|g_1(q, t)|^2 = 1 + b(q)\exp[-2\Omega(q)t], \quad (1)$$

where the contrast factor  $b$  is a few percent. Fitting the experimental data to Eq. (1), as illustrated in Fig. 2, yields the relax-

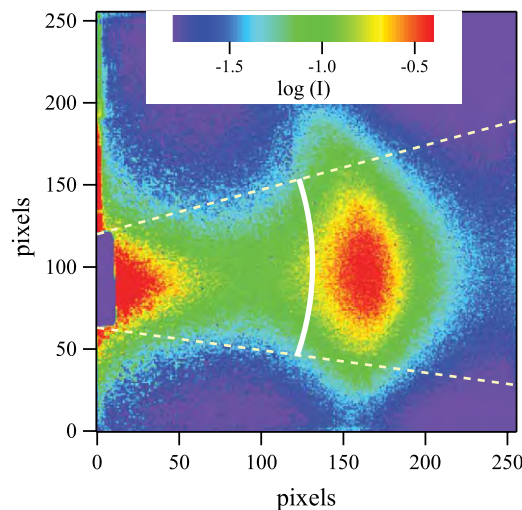


FIG. 1. SAXS pattern for the sample with  $\phi = 2.1$  vol.%; the lamellar director is roughly horizontal. The feature at the center of the image is the first Bragg sheet. The shadow of the beamstop is visible at the left edge. The averaging was done within the range delimited by the two dashed lines, on circular arcs corresponding to a given scattering vector  $q$ . One arc is shown as solid line, for  $q = 14.5 \times 10^{-3} \text{ \AA}^{-1}$ .

ation rates  $\Omega(q)$ . We will further define a scale-dependent diffusion constant,  $D(q) = \Omega(q)/q^2$ . In the following, we will work with the (static) structure factor  $S(q)$  and with the diffusion constant  $D(q)$ . For the sample with  $\phi = 2.1$  vol.% (used as an example in Figs. 1, 2 and 3) these parameters are displayed in Fig. 3. The diffusion constant is shown for all  $q$  values in Fig. 4.

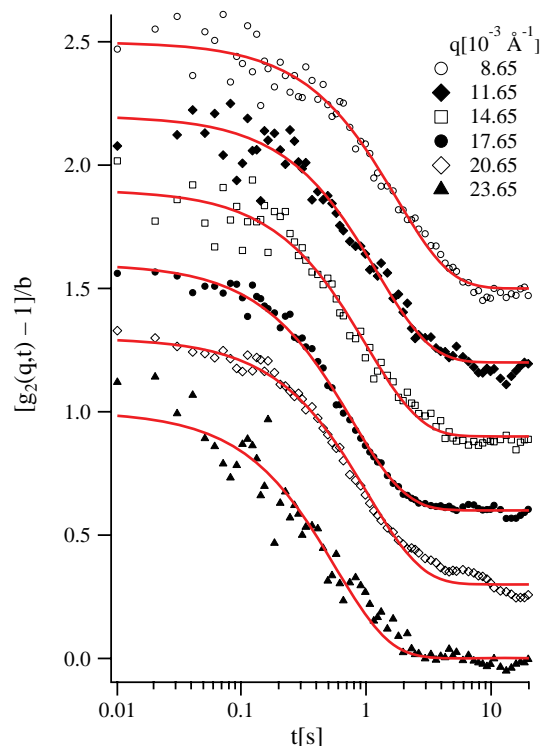


FIG. 2. Normalized intensity correlation function  $g_2(q, t)$  for the sample with  $\phi = 2.1$  vol.% (see Fig. 1), shifted vertically in steps of 0.3. The different symbols correspond to different values of the scattering vector  $q$ . The solid lines are fits to Eq. (1).

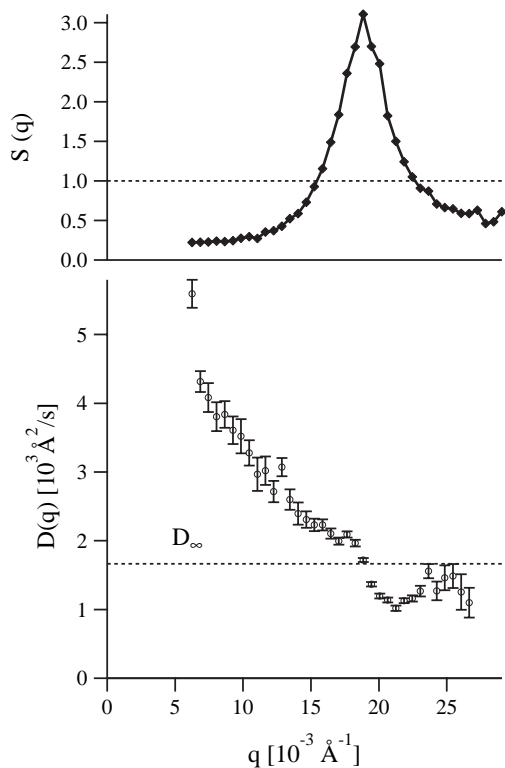


FIG. 3. Structure factor  $S(q)$  and diffusion constant  $D(q)$  for the sample with  $\phi = 2.1$  vol.%.  $D_\infty$  (materialized by a dotted line) is the high- $q$  value of the diffusion constant, corresponding to the range where the structure factor saturates to 1.

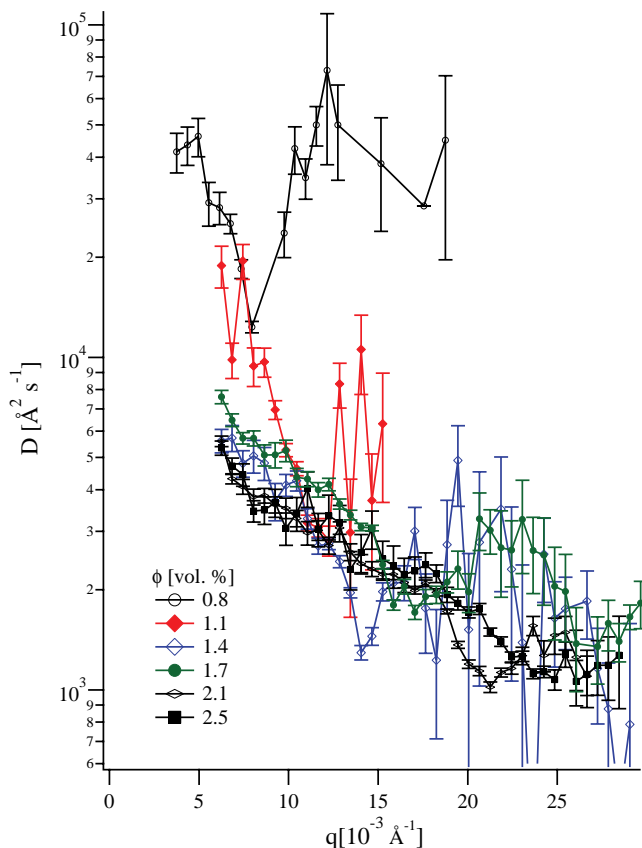


FIG. 4. Scale-dependent diffusion constant  $D(q)$  for different  $\phi$  values. The “dips” visible in the curves with  $\phi = 0.8$  and  $1.1$  vol.% (and, to a lesser degree, for  $\phi = 1.4$  vol.%) occur at the position of the peak in the static structure factor  $S(q)$ .

### III. RESULTS AND DISCUSSION

The structure factor and fluctuations of the smectic phase have been studied in detail over the last decades by many authors (see Ref. 29 for an in-depth review). The deformation free energy of the phase consists essentially of two terms, proportional to the compression modulus (along the smectic director) and to the bending stiffness of the layers. Both the amplitude and the relaxation of the deformation eigenmodes (corresponding to a unique phonon) can be described in a relatively straightforward (although algebraically cumbersome) fashion.

However, if one is interested in the dynamic structure factor, i.e., in the collective behavior of the system at a given wave vector, the calculations become extremely involved, since all the phonons contribute in nontrivial ways. In order to make the analytical treatment as easy as possible, so that the underlying physics is not obscured by the mathematical formalism, some simplifying assumptions must be made.

In this work, we are dealing with rather dilute phases composed of very stiff and very large platelets. We will therefore assume that the compression modulus is low and the bending stiffness is large, so that the most important fluctuations are those affecting the spacing between platelets along the director  $\hat{z}$  and we treat the system as effectively one-dimensional, within the framework of a damped harmonic chain model.

#### A. Statics

For this model, the static structure factor has an analytical solution, given by Refs. 30 and 31,

$$I(q, 0) = S(q) = \frac{\sinh\left(\frac{q^2\sigma^2}{2}\right)}{\cosh\left(\frac{q^2\sigma^2}{2}\right) - \cos(qd)} \quad (2)$$

with  $\sigma$  the typical fluctuation amplitude, defined by  $\sigma^2 = k_B T / \alpha$  as a function of the strength of the harmonic potential,  $\alpha$ .

Clearly, the harmonic model is not very accurate at high  $q$ , as one can see in Fig. 5 for the fits to the low-concentration data. The interaction potential is probably stiffer, leading to pronounced second- and even third-order peaks, which are better described by a hard-particle model<sup>32</sup> (plotted as dashed lines). In the following we will nevertheless use the harmonic approximation, which describes the first peak rather well and which is more tractable as far as the dynamics are concerned (see Sec. III B).

From the analysis of the structure factor data in Fig. 5 using the model (2) we extract the repeat distance  $d$  and the fluctuation amplitude  $\sigma$ . In Fig. 6 we present both the dilution law  $d(\phi)$  and the ratio  $\sigma/d$  as a function of the volume fraction  $\phi$ . Three important conclusions can be drawn from this data:

- The platelet thickness  $\delta$ , given by the slope of the dilution law, is  $7.4 \pm 1.2$  Å, much smaller than the  $10$  Å value given in the literature.<sup>26</sup> This discrepancy could be due to imperfect exfoliation of the layers, leading to a lower effective concentration in the lamellar phase.

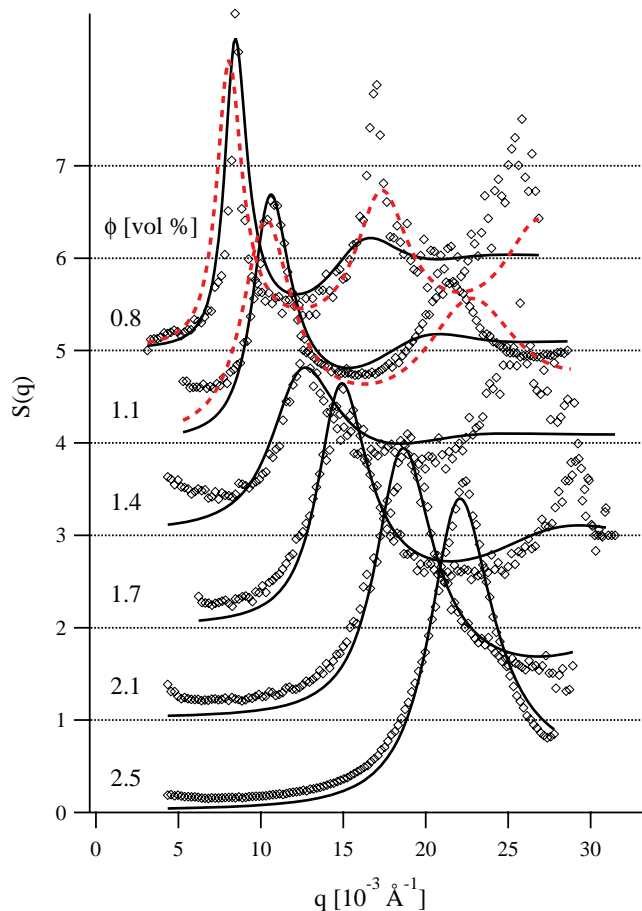


FIG. 5. Structure factor  $S(q)$  for different concentrations  $\phi$  of the lamellar phase (diamonds). Curves shifted vertically in steps of 1. The solid lines are fits to the harmonic chain model (2). For the two lowest concentrations, we also present as dashed lines the fit with the hard-rod model (see the text for more details).

- There is no systematic difference in  $d$  and  $\sigma$  between the systems formulated in pure water (at room-temperature) and those with 50% glycerol (at 253 K). Since the phase boundaries are also the same, we conclude that the static structure of the phase is not affected by the presence of glycerol. At the same time, there is no discernible difference between the two synthesis batches.
- The ratio  $\sigma/d = 0.2 \pm 0.05$  remains almost constant as  $\phi$  (and hence  $d$ ) vary by almost an order of magnitude.

## B. Dynamics

To investigate the dynamics of the system we consider a damped harmonic chain, following the notations of Geisel.<sup>33</sup> The chain consists of  $N$  particles at positions  $x_j$ , and we define the displacements  $u_j = x_j - x_j^0$  with respect to the reference positions, which obey  $x_{j+1}^0 - x_j^0 = d$ , where  $d$  is the average interparticle distance. For definiteness, we assume periodic boundary conditions,  $u_{N+1} = u_1$  and only take odd values for  $N$ .

We start by the case of hydrodynamically uncoupled particles, i.e., the energy dissipation for each particle only

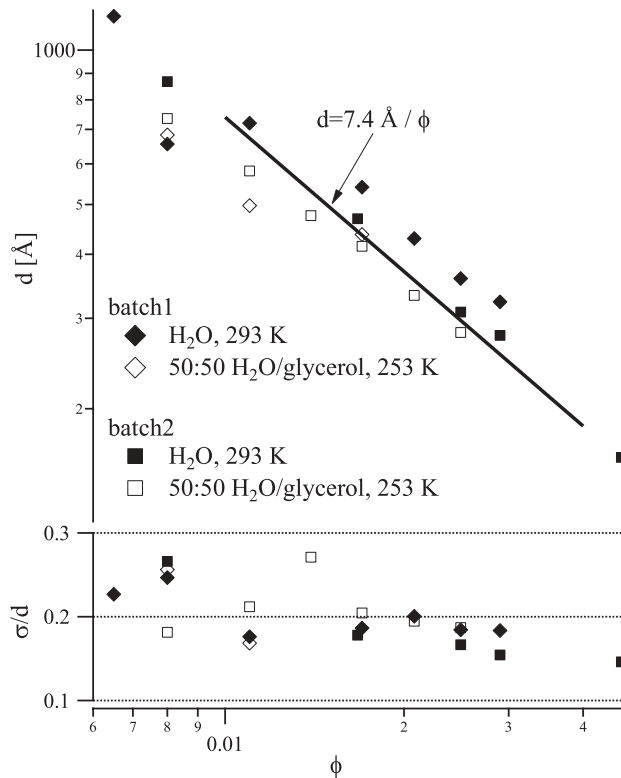


FIG. 6. Top: dilution law. The smectic repeat distance  $d$  is plotted against the volume fraction  $\phi$  in log-log representation. The solid line represents the  $d \sim \phi^{-1}$  variation expected for a one-dimensional system. The resulting platelet thickness,  $7.4 \pm 1.2 \text{ \AA}$ , is clearly below the  $10 \text{ \AA}$  value given in the literature (Ref. 26). Bottom: the ratio between the fluctuation amplitude  $\sigma$  [see Eq. (2)] and  $d$ . The data are shown for all the available samples, both in pure water at 293 K and in a 50:50 glycerol/water mixture at 253 K.

depends on its velocity with respect to the surrounding fluid and not on the position or velocity of the other particles.

The equations of motion are

$$m\ddot{x}_j + m\gamma\dot{x}_j + \frac{\partial V}{\partial x_j} = F_j(t), \quad (3a)$$

$$V = \frac{\alpha}{2} \sum_k (x_{k+1} - x_k - d)^2, \quad (3b)$$

$$\langle F_j(t)F_i(0) \rangle = 2m\gamma k_B T \delta_{ij} \delta(t), \quad (3c)$$

where  $m$  is the particle mass,  $m\gamma$  is a damping coefficient (to be discussed in detail further on), and  $F_j(t)$  is the random force acting on particle  $j$  at time  $t$ .

The quantity of interest is the time-dependent correlation function (depending also on the wave vector  $q$ ),

$$I(q, t) = \frac{1}{N} \sum_{l,k=1}^N \langle e^{iq(x_l(t) - x_k(0))} \rangle, \quad (4)$$

which reduces for  $t = 0$  to the static structure factor (2).

The treatment is quite standard: the displacements  $u_j$  are developed over the basis of normal modes (phonons). The amplitudes and time relaxation rates of the phonons obtained from Eqs. (3) are used to express  $I(q, t)$  by developing the right-hand side in Eq. (4). In the following, we restrict ourselves to the overdamped case,  $\gamma \gg \sqrt{\alpha/m} = \omega_0$ .

In this limit, the inertial term in Eq. (3a) can be neglected and a unique relaxation rate is associated with each phonon.<sup>34</sup> The resulting expression for  $I(q, t)$  is unwieldy, so we use the cumulant expansion.<sup>35</sup> The first cumulant, defined as  $K_1(q) \equiv -\frac{1}{I(q,0)} \frac{\partial}{\partial t} I(q, t) \Big|_{t=0}$ , represents an average relaxation rate for a given wave vector. Our experimental data are well described by a single exponential decay,  $I(q, t) = I(q, 0)e^{-\Omega(q)t}$ , in which case the first cumulant is just the relaxation rate:  $K_1(q) = \Omega(q)$ , an assumption we will make throughout the analysis below.

In the uncoupled case, one has simply

$$K_1(q) = \frac{D_0}{S(q)} q^2 \quad (5)$$

$$\text{with } D_0 = \sigma^2 \frac{\omega_0^2}{\gamma} = \frac{k_B T}{m\gamma}.$$

The relaxation rate obeys a diffusive law, with a diffusion constant  $D(q) = D_0/S(q)$  which contains explicitly the well-known  $1/S(q)$  dependence (“de Gennes narrowing”<sup>36</sup>).  $D_0$  is the value of  $D(q)$  at high wave vectors, where  $S(q)$  reaches 1, so that one should have  $D(q)S(q)/D_0 = 1$  at all  $q$ . In other words, only the thermodynamic forces (related to  $S(q)$ ) are taken into account, and the prefactor  $D_0$  is simply proportional to the mobility of an isolated particle,  $(m\gamma)^{-1}$ . For a thin circular plate of radius  $R$  moving normal to its plane at low Reynolds number in a fluid with viscosity  $\eta$ , one has<sup>37</sup>  $m\gamma = 16\eta R$ .

However, one must also account for the hydrodynamic interactions, which lead to a more complex, and generally scale-dependent, form for the dissipation. Their effect is quantified in terms of the *hydrodynamic function*,  $H(q)$ , defined as<sup>6</sup>

$$H(q) = \frac{D(q)}{D_0} S(q). \quad (6)$$

In dilute solutions,  $H(q) \rightarrow 1$  at high  $q$  values (where  $S(q)$  saturates at 1) but is in general different from unity below this range. We emphasize that in the simplified model discussed above,  $H(q) = 1$  identically (from Eqs. (5) and (6)).

Hydrodynamic interactions are essential in the dynamics of colloidal suspensions, even at moderate concentrations. In three-dimensional systems they have been studied quite extensively, both for spherical<sup>6</sup> and for elongated<sup>7,8</sup> particles. In recent years, the two- and one-dimensional cases have also been considered, in particular in the context of confined spherical particles.<sup>38-40</sup> In contrast, the phase under investigation consists of very anisotropic platelets and the one-dimensional character is given by the orientational order of the phase, rather than by confinement; hence, the models cited above are probably not adapted. Since the distance between platelets along the smectic director (face to face) is much lower than their lateral extension, we only consider hydrodynamic coupling along this direction, neglecting the effect of the in-plane neighbors (edge to edge).

The simplest model that accounts for these features is the well-known Stefan equation<sup>41</sup> describing the squeezing flow between two parallel plates at low Reynolds number (in the

lubrication approximation). The viscous force acting on the plates is

$$F = -\frac{3\pi\eta R^4 \dot{h}}{4h^3} \quad (7)$$

with  $\eta$  the viscosity of the fluid,  $R$  the radius of the (circular) plates, and  $h$  the gap width.

In this case, the dissipation is no longer proportional to the velocity of an individual particle with respect to the surrounding fluid but rather to the velocity difference between neighboring particles,

$$F_j^{\text{visc}} = -\zeta [2\dot{x}_j - (\dot{x}_{j-1} + \dot{x}_{j+1})], \quad (8)$$

$$\text{where } \zeta = \frac{3\pi\eta R^4}{4d^3}.$$

For this reason, the dissipation associated with the homogeneous ( $q = 0$ ) mode vanishes; the particles can move together, at any velocity and maintaining the spacing  $d$ . The consequence is an infinite relaxation rate. To remove this artificial divergence, we also preserve an individual friction term [formally identical to the second term on the lhs in Eq. (3a)]. In this case, however, the quantitative value for  $m\gamma$  is different from the free case, since the interaction of each particle with the fluid is “screened” by its neighbors. A simple yet fairly realistic model is that of a cylindrical stack of platelets:  $\zeta$  corresponds then to the relative motion of particles within the stack, while  $m\gamma$  is associated with a solidlike translation of the cylinder along its axis, the dissipation taking place in the surrounding medium (with an effective viscosity  $\eta_{\text{eff}}$  which is in general different from that of the solvent). Using well-known formulas for the longitudinal mobility of a cylinder<sup>42</sup> and considering an aspect ratio (length  $L$  to diameter  $2R$ ) of the order of 10, one has  $D_{\parallel} = \frac{k_B T}{\pi\eta_{\text{eff}} L}$ , amounting to a friction coefficient per particle  $m\gamma = \frac{k_B T}{D_{\parallel}} \frac{d}{L} = \pi\eta_{\text{eff}} \delta / \phi$ .

With the ingredients above and after some algebra (detailed in the Appendix) one obtains for  $H(q)$  an explicit formula,

$$H(q) = \frac{2}{\sqrt{1+2\beta}} \sum_{p=0}^{N-1'} \left(1 - \frac{p}{N}\right) \cos(qdp) \exp\left(-\frac{q^2\sigma^2}{2} p\right) \times z^p \quad \text{with } z = 1 + 1/\beta - \sqrt{1+2\beta}/\beta, \quad (9)$$

where  $N$  is the number of particles and  $\beta = 2\zeta/(m\gamma)$  is the ratio of the collective dissipation described by Eq. (8) to the individual particle dissipation; it provides a quantitative measure of the hydrodynamic coupling. The primed sum symbol indicates that the  $p = 0$  term should be halved. In the high- $q$  limit,  $H(q) \rightarrow H(\infty) = (2\beta + 1)^{-1/2}$  so that the corresponding diffusion constant is

$$D_{\infty} = \frac{D_0}{\sqrt{2\beta+1}} = \frac{k_B T}{m\gamma \sqrt{4\zeta/(m\gamma)+1}}. \quad (10)$$

As shown in the Appendix, for high values of the coupling constant  $\beta$  the rescaled hydrodynamic function  $H(q)/H(\infty)$  approaches the static structure factor  $S(q)$ ; in other words,  $D(q)$  becomes constant since the hydrodynamic effects are much stronger than the thermodynamic ones. This tendency is indeed visible in Fig. 4, where the “dips” present

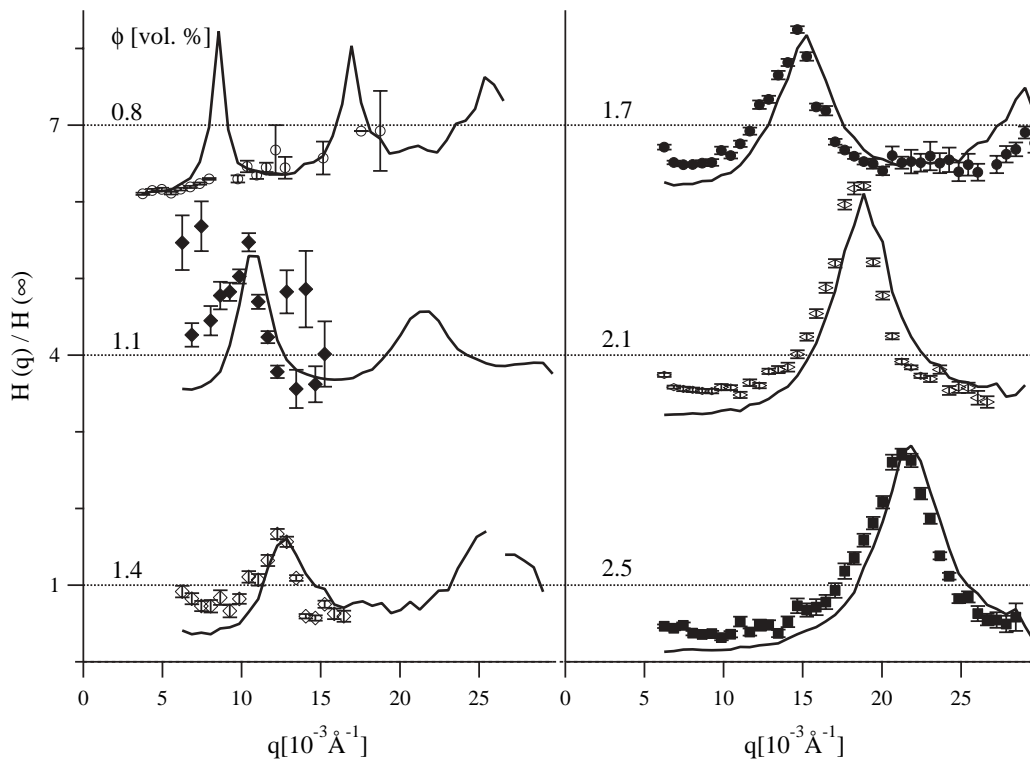


FIG. 7. Experimental data for the rescaled hydrodynamic function  $H(q)/H(\infty)$  (symbols) and the static structure factor  $S(q)$  (solid lines) at various concentrations  $\phi$  indicated alongside the curves. The left and right panel are plotted against a common y-axis. For clarity, the curves are shifted vertically in steps of 3 units.

at the peak positions for low concentrations flatten out.<sup>43</sup> We would then expect that, as the concentration increases, the hydrodynamic function evolves from a constant value to the limiting shape  $S(q)$ . This is indeed observed in Fig. 7, where there is a clear difference between the data at  $\phi = 0.8\%$  and those at higher concentration. Indeed, at  $\phi = 1.1\%$   $H(q)$  is already similar to  $S(q)$  and the similarity becomes clearer above this  $\phi$  value. More points within  $0.8\% \leq \phi \leq 1.1\%$  would be needed to resolve the onset of coupling.

The similarity between  $S(q)$  and  $H(q)$  is very useful, since the static structure factor can be measured much more precisely and to higher  $q$  values than the hydrodynamic function. We therefore rescale  $H(q)$ , bringing it as close as possible to  $S(q)$  (the data in Fig. 7 have already been rescaled). This operation also sets the value of  $D_\infty$  without the need of measuring  $D(q)$  to very high  $q$ .

To summarize, the high- $q$  value of the diffusion coefficient in the two regimes is given by

$$D_\infty = D_0 = \frac{k_B T}{16\eta_{\text{eff}} R} \quad \text{uncoupled,} \quad (11a)$$

$$D_\infty = \frac{k_B T}{\pi \eta_{\text{eff}} d} \frac{1}{\sqrt{3 \left(\frac{R}{d}\right)^4 \frac{\eta}{\eta_{\text{eff}}} + 1}} \quad \text{coupled,} \quad (11b)$$

where we considered that the dissipation by squeezing flow between the particles involved the solvent viscosity  $\eta = 50$  mPa s (for a 50:50 wt.% mixture of glycerol in water at 253 K (Ref. 44) while for the dissipation of the individual particles one needs to use the effective viscosity of the medium,  $\eta_{\text{eff}}$ , taken as independent of the concentration in the investigated range. The smectic repeat distance  $d$  is given in Fig. 6, so the only adjustable parameters are  $\eta_{\text{eff}}$  and the platelet radius  $R$ . Good agreement with the experimental data

is obtained with the values,  $\eta_{\text{eff}} = 3.2\eta$  and  $R = 3.5 \mu\text{m}$  (see Fig. 8). Indeed, at the lowest concentration  $\phi = 0.8\%$  one has  $D_\infty = D_0$  given by Eq. (11a) (dashed line in Fig. 8), while at higher concentration the data are well described by the

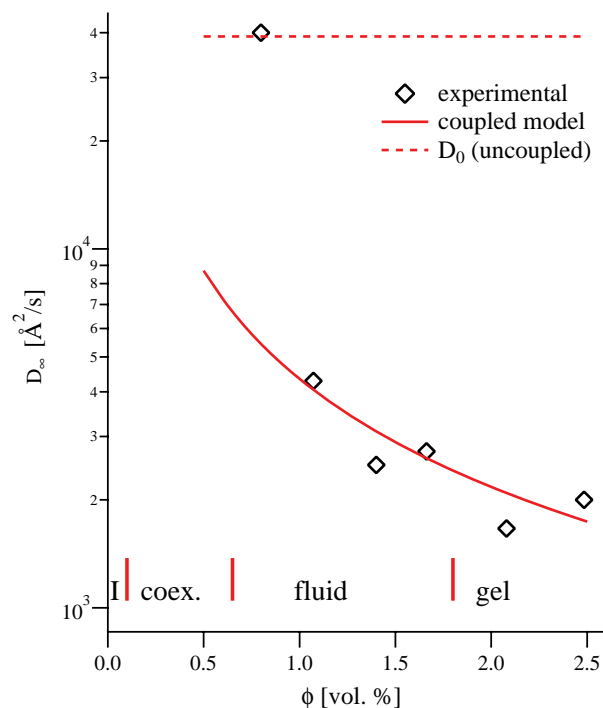


FIG. 8. High- $q$  value of the diffusion constant,  $D_\infty$ , as a function of the volume fraction  $\phi$  of platelets in a 50:50 glycerol/water mixture at 253 K. The phase diagram is also indicated: the (fluid or gel-like) lamellar phase at high concentration and an isotropic (I) phase at very low concentration, with a rather wide coexistence range.

dependence Eq. (11b), plotted as solid line. The coupling occurs for  $\phi$  between 0.8% and 1.1%, in agreement with the interpretation proposed above for the hydrodynamic function. It is noteworthy that no significant change in the microscopic dynamics can be detected at the transition between the fluid and the gel-like lamellar phases.

The rather large value of the platelet radius obtained above is not surprising, since the largest particles dominate both the scattering signal (with a contribution proportional to the square of the particle volume) and the correlation function, contributing the slowest relaxation. Furthermore, the coupling in Eq. (11b) goes as the fourth power of the radius. The size distribution being very wide (see Sec. II), all experimental results should be severely skewed toward the large particles.

#### IV. CONCLUSION

We measured the static and dynamic properties of a lamellar phase composed of rigid platelets and quantified the hydrodynamic coupling between nearest neighbors (along the director of the phase). The coupling is almost absent at low concentrations, where the dissipation occurs at the level of the isolated particle but it quickly becomes dominant at higher concentrations. The hydrodynamic function of the phase  $H(q_z)$  is relatively well described by an analytical one-dimensional model.

This result is noteworthy insofar the hydrodynamic function—although indispensable for understanding the relaxation at the particle size—is generally difficult to calculate, even for spherical colloids. To our knowledge, no explicit models have been proposed for anisotropic particles. Somewhat surprisingly, the order of the particles (which should further complicate the study) allows us in the present case to use a very simplified approach.

The high- $q$  value of the diffusion coefficient  $D_\infty$  decreases rapidly with the concentration in the fluid lamellar phase but it remains practically constant across the sol/gel transition and well into the gel-like regime. No sharp variation is observed at the transition, in either the dynamic or the static parameters (in particular, we do not detect any spatial inhomogeneities), showing that this transition involves longer length- and/or time-scales than probed in our experiment.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We are deeply indebted to Patrick Batail, Franck Camerel, and Jean-Christophe Gabriel for providing us with the samples of  $H_3Sb_3P_2O_{14}$  colloidal suspensions and for helpful discussions. The ESRF is acknowledged for the provision of beam time (experiment SC-2690).

#### APPENDIX: COUPLED HYDRODYNAMICS

In this appendix we detail the calculations of the hydrodynamic function for the harmonic model (3) with or without the coupling term (8).

The boundary conditions specified in Sec. III B impose the eigenvector basis,

$$q_n = \frac{2\pi n}{d N}, \quad n = 0, \pm 1, \dots, \pm \frac{N-1}{2}, \quad (N \text{ odd}) \quad (\text{A1})$$

such that  $-\pi/d < q_n < \pi/d$  (restriction to the first Brillouin zone). The normal modes (phonons) are given by  $f_n(x_l) = \exp(iq_n dl) = \exp(2i\pi ln/N)$  and the individual displacements are expressed as  $u_l(t) = \sum_n A_n(t) f_n(x_l)$ .

The amplitude coefficients obey

$$\langle A_m^* A_n \rangle = \langle |A_n|^2 \rangle \delta_{m,n} = \frac{k_B T}{4N\alpha \sin^2(q_n d/2)} \delta_{m,n}. \quad (\text{A2})$$

Normal mode expansion of Eq. (3a) with the additional dissipative term (8) yields the relaxation rate of the phonons,

$$\begin{aligned} \langle A_m^*(0) A_n(t) \rangle &= \delta_{m,n} \langle |A_n|^2 \rangle \exp(-\Gamma_n t) \\ \text{with } \Gamma_n &= \frac{2\alpha}{m\gamma} \frac{1 - \cos(q_n d)}{1 + \beta[1 - \cos(q_n d)]}, \end{aligned} \quad (\text{A3})$$

where we remind that  $\beta = 2\zeta/(m\gamma)$  is the ratio of the collective dissipation to the individual particle dissipation.

The time-dependent correlation function is then obtained by simple substitution in Eq. (4),

$$\begin{aligned} I(q, t) &= \sum_{p=0}^{N-1} 2 \frac{N-p}{N} \cos(qdp) \\ &\times \exp \left[ -\frac{q^2 \sigma^2}{2} \frac{1}{N} \sum_n \frac{1 - \cos(q_n dp) \exp(-\Gamma_n t)}{1 - \cos(q_n d)} \right] \end{aligned} \quad (\text{A4})$$

and the first cumulant is obtained according to Eq. (5), yielding for  $H(q)$ ,

$$H(q) = \sum_{p=0}^{N-1} 2 \frac{N-p}{N} \cos(qdp) \exp \left( -\frac{q^2 \sigma^2}{2} p \right) C(p, \beta), \quad (\text{A5})$$

where the coefficients  $C(p, \beta) = \frac{1}{N} \sum_n \cos(q_n dp) / [1 + \beta[1 - \cos(q_n d)]]$  can be reduced (e.g., by going to the continuum limit and performing a complex integral over the unit circle) to  $C(p, \beta) = z^p / \sqrt{2\beta + 1}$ , finally yielding Eq. (9) above. For the uncoupled case  $\beta = 0$  this result is greatly simplified, since the sum over the modes in Eq. (9) becomes  $\frac{1}{N} \sum_n \cos(q_n dp) = \delta_{p,0}$  and thus  $H(q, \beta = 0) = 1$ , leading to the second equality in Eq. (5).

The strongly coupled form  $\lim_{\beta \rightarrow \infty} H(q) = S(q) / \sqrt{2\beta + 1}$  is obtained by noting that in this limit  $z$  approaches 1 from below, so that the damping factor  $\exp[-(q^2 \sigma^2 / 2 - \ln z)p]$  is dominated by the first term in the exponent. One can therefore drop the  $z^p$  factor in Eq. (A5) and retrieve an obvious expansion of the static structure factor  $S(q)$ . Of course, for this to hold the scattering vector must also be above a certain value, otherwise the first term in the exponent might be too small. We checked that for

reasonable numerical values the condition is fulfilled for all accessible values of  $q$ .

- <sup>1</sup>P. N. Pusey, in *Liquids, Freezing and Glass Transition*, edited by J. P. Hansen, D. Levesque, and J. Zinn-Justin, Les Houches Summer School, Vol. LI (North Holland, Amsterdam, 1991), pp. 763–942, see in particular Chap. 5.
- <sup>2</sup>P. N. Segrè, S. P. Meeker, P. N. Pusey, and W. C. K. Poon, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 958 (1995).
- <sup>3</sup>L. K. Cotter and N. A. Clark, *J. Chem. Phys.* **86**, 6616 (1987).
- <sup>4</sup>C. Graf, M. Deggelmann, M. Hagenbüchle, H. Kramer, R. Krause, C. Martin, and R. Weber, *J. Chem. Phys.* **95**, 6284 (1991).
- <sup>5</sup>M. Kroon, G. H. Wegdam, and R. Sprik, *Phys. Rev. E* **54**, 6541 (1996).
- <sup>6</sup>G. Nägele and P. Baur, *Physica A* **245**, 297 (1997).
- <sup>7</sup>G. K. Batchelor, *J. Fluid Mech.* **46**, 813 (1971).
- <sup>8</sup>E. S. G. Shaqfeh and G. H. Fredrickson, *Phys. Fluids A* **2**, 7 (1989).
- <sup>9</sup>A. Robert, J. Wagner, T. Autenrieth, W. Härtl, and G. Grübel, *J. Chem. Phys.* **122**, 084701 (2005).
- <sup>10</sup>A. J. Banchio, J. Gapinski, A. Patkowski, W. Häußler, A. Flueraşu, S. Sacanna, P. Holmqvist, G. Meier, M. P. Lettinga, and G. Nägele, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 138303 (2006).
- <sup>11</sup>A. Robert, J. Wagner, W. Härtl, T. Autenrieth, and G. Grübel, *Eur. Phys. J. E* **25**, 77 (2008).
- <sup>12</sup>R. Bandyopadhyay, D. Liang, H. Yardimci, D. A. Sessoms, M. A. Borthwick, S. G. J. Mochrie, J. L. Harden, and R. L. Leheny, *Phys. Rev. Lett.* **93**, 228302 (2004).
- <sup>13</sup>E. Wandersman, E. Dubois, V. Dupuis, A. Duri, A. Robert, and R. Perzynski, *J. Phys. Condens. Matter* **20**, 204124 (2008).
- <sup>14</sup>C. Caronna, Y. Chushkin, A. Madsen, and A. Cupane, *Phys. Rev. Lett.* **100**, 055702 (2008).
- <sup>15</sup>H. Guo, G. Bourret, M. K. Corbierre, S. Rucareanu, R. B. Lennox, K. Laaziri, L. Piche, M. Sutton, J. L. Harden, and R. L. Leheny, *Phys. Rev. Lett.* **102**, 075702 (2009).
- <sup>16</sup>C. Gutt, T. Ghaderi, V. Chamard, A. Madsen, T. Seydel, M. Tolan, M. Sprung, G. Gruebel, and S. K. Sinha, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 076104 (2003).
- <sup>17</sup>C. Gutt, M. Sprung, R. Fendt, A. Madsen, S. K. Sinha, and M. Tolan, *Phys. Rev. Lett.* **99**, 096104 (2007).
- <sup>18</sup>A. S. Poulos, D. Constantin, P. Davidson, B. Pansu, Éric Freyssingéas, A. Madsen, and C. Chanéac, *J. Chem. Phys.* **132**, 091101 (2010).
- <sup>19</sup>A. Madsen, J. Als-Nielsen, and G. Grübel, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 085701 (2003).
- <sup>20</sup>A. C. Price, L. B. Sorensen, S. D. Kevan, J. Toner, A. Pomiewierski, and R. Holyst, *Phys. Rev. Lett.* **82**, 755 (1999).
- <sup>21</sup>I. Sikharulidze, I. P. Dolbnya, A. Fera, A. Madsen, B. I. Ostrovskii, and W. H. de Jeu, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 115503 (2002).
- <sup>22</sup>I. Sikharulidze, B. Farago, I. P. Dolbnya, A. Madsen, and W. H. de Jeu, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 165504 (2003).
- <sup>23</sup>D. Constantin, G. Brotons, T. Salditt, E. Freyssingéas, and A. Madsen, *Phys. Rev. E* **74**, 031706 (2006).
- <sup>24</sup>P. C. Martin, O. Parodi, and P. S. Pershan, *Phys. Rev. A* **6**, 2401 (1972).
- <sup>25</sup>R. Ribotta, D. Salin, and G. Durand, *Phys. Rev. Lett.* **32**, 6 (1974).
- <sup>26</sup>J.-C. P. Gabriel, F. Camerel, B. J. Lemaire, H. Desvaux, P. Davidson, and P. Batail, *Nature (London)* **413**, 504 (2001).
- <sup>27</sup>Y. Piffard, A. Verbaere, A. Lachgar, S. Deniard-Courant, and M. Tournoux, *Rev. Chim. Miner.* **23**, 766 (1986).
- <sup>28</sup>A. Flueraşu, A. Moussaïd, A. Madsen, and A. Schofield, *Phys. Rev. E* **76**, 010401(R) (2007).
- <sup>29</sup>W. H. de Jeu, B. I. Ostrovskii, and A. N. Shalaginov, *Rev. Mod. Phys.* **75**, 181 (2003).
- <sup>30</sup>V. J. Emery and J. D. Axe, *Phys. Rev. Lett.* **40**, 1507 (1978).
- <sup>31</sup>G. Radons, J. Keller, and T. Geisel, *Z. Phys. B: Condens. Matter* **50**, 289 (1983).
- <sup>32</sup>M. S. Wertheim, *J. Math. Phys.* **5**, 643 (1964).
- <sup>33</sup>T. Geisel, *Phys. Rev. B* **20**, 4294 (1979).
- <sup>34</sup>Alternatively, one can solve the complete equation (yielding two relaxation rates for each phonon) and verify that the amplitude of the fast relaxation is negligible.
- <sup>35</sup>D. E. Koppel, *J. Chem. Phys.* **57**, 4814 (1972).
- <sup>36</sup>P. G. de Gennes, *Physica* **25**, 825 (1959).
- <sup>37</sup>J. Happel and H. Brenner, *Low Reynolds Number Hydrodynamics* (Martinus Nijhoff, The Hague, 1983).
- <sup>38</sup>B. Cui, H. Diamant, and B. Lin, *Phys. Rev. Lett.* **89**, 188302 (2002).
- <sup>39</sup>B. Cui, H. Diamant, B. Lin, and S. A. Rice, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 258301 (2004).
- <sup>40</sup>T. Beatus, T. Tlusty, and R. Bar-Ziv, *Nat. Phys.* **2**, 743 (2006).
- <sup>41</sup>R. B. Bird, R. C. Armstrong, and O. Hassager, *Dynamics of Polymeric Liquids*, 2nd ed. (Wiley, New York, 1987).
- <sup>42</sup>M. P. B. van Bruggen, H. N. W. Lekkerkerker, and J. K. G. Dhont, *Phys. Rev. E* **56**, 4394 (1997).
- <sup>43</sup>At high  $\phi$ ,  $D(q)$  still exhibits a low-angle increase, which is not captured by our model and leads to an  $H(q)$  that is systematically higher than  $S(q)$  below the peak position in Fig. 7.
- <sup>44</sup>Retrieved from <http://www.dow.com/glycerine/resources/dwnlit.htm>.