



**HAL**  
open science

# Complexes de polyélectrolytes : Morphologies, cinétique et thermodynamique d'assemblage

Marie Haddou

► **To cite this version:**

Marie Haddou. Complexes de polyélectrolytes : Morphologies, cinétique et thermodynamique d'assemblage. Thermique [physics.class-ph]. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT : 2019BORD0031 . tel-02724713

**HAL Id: tel-02724713**

**<https://theses.hal.science/tel-02724713>**

Submitted on 2 Jun 2020

**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.

THÈSE PRÉSENTÉE le vendredi 15 mars à 14h à l'ENSCBP  
POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE  
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE DE SCIENCES CHIMIQUES  
*Spécialité : Physico-chimie de la Matière Condensée*

Par Marie HADDOU

**Complexes de polyélectrolytes**

Morphologies, cinétique et thermodynamique d'assemblage

Sous la direction de  
Jean-Paul CHAPEL et Christophe SCHATZ

Manuscrit de thèse déposé à l'école doctorale des sciences chimiques de l'université de Bordeaux  
en vue de l'obtention du diplôme de doctorat devant un jury composé de :

M. CHAPEL Jean-Paul	Directeur de Recherche CNRS, CRPP, Bordeaux	Directeur de thèse
M. COUSIN Fabrice	Ingénieur-chercheur CEA, Saclay	Examinateur
Mme GRILLO Isabelle	Ingénieure-chercheuse ILL, Grenoble	Examinatrice
Mme MALIKOVA Natalie	Chargée de Recherche CNRS, Sorbonne Université	Rapporteure
Mme RAVAINÉ Valérie	Professeure, Bordeaux INP	Présidente
M. RENARD Denis	Directeur de Recherche, INRA Nantes	Rapporteur
M. SCHATZ Christophe	Maître de Conférences, Bordeaux INP	Co-directeur





*En hommage à Isabelle Grillo à qui je souhaite dédier ce manuscrit de thèse  
Ta bienveillance et ta patience ainsi que ta facilité saisissante à transmettre ton savoir pendant les  
sessions DNPA à Grenoble resteront gravées à ma réussite tant personnelle que professionnelle lors de  
cette thèse.*

*Continue de veiller sur moi de là-haut....  
Tu vas me manquer*

# RÉSUMÉ

Les complexes de polyélectrolytes (PECs) sont typiquement formés par interaction électrostatique entre deux polyélectrolytes de charge opposée. Alors que de nombreuses études ont été consacrées aux propriétés de ces complexes, l'objectif de la thèse est de mieux comprendre le rôle de l'intensité de l'interaction entre deux polyélectrolytes sur la morphologie des complexes ainsi que la cinétique et la thermodynamique de la complexation. Différents systèmes complexants, faibles et forts, donnant lieu à la formation de coacervats ou de précipités ont été choisis et étudiés sur une large gamme de rapport de charges ( $Z[+]/[-]$ ) afin d'obtenir différents états physiques (soluble, colloïdal, phase dense). La morphologie des complexes a été déterminée par microscopie (optique, fluorescence, force atomique) et diffusion de rayonnement (lumière, neutrons). La cinétique et la thermodynamique de complexation ont été étudiées par utilisation respective d'un mélangeur à flux stoppé et de la calorimétrie de titration isotherme. Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence un certain nombre de caractéristiques permettant de distinguer les systèmes complexants forts et faibles. En particulier, les complexes forts sont hors équilibre d'un point de vue thermodynamique et en conséquence ils présentent une forte dépendance aux conditions initiales de complexation. Un autre aspect important et qui pourrait être à l'origine de la distinction entre les complexes forts et faibles est l'énergie d'hydratation des polyélectrolytes qui a été déterminée pour de nombreux polyélectrolytes et corrélée aux propriétés des complexes.

*Mots clés* : polyélectrolytes, PECs, thermodynamique, cinétique, morphologie, interaction, co-assemblage, assemblages hors équilibre

---

# ABSTRACT

## Polyelectrolyte complexes

Morphologies, kinetics and thermodynamics of the assemblies

Complexes of polyelectrolytes (PECs) are oppositely charged polymers assemblies held together by electrostatic interaction. As the non-covalent assembly of macromolecules/colloids in solution has been thoroughly investigated over the last decade with a particular emphasis put on the morphology of the final aggregates as a function of the building blocks-chemistry, the objective of this thesis is to come to a better understanding of the influence of interaction strength between polyelectrolytes on complexes morphologies, as well as kinetics and thermodynamics of the complexation. For this study, weakly and strongly interacting systems given rise to coacervate and precipitate phases has been elected. Those systems have been studied on a wide charge ratio scale ( $Z[+]/[-]$ ) to span several physical states of the PECs (soluble and colloidal PECs, dense phases). Morphologies of assemblies are assessed by microscopy (optical, fluorescence, atomic force) and scattering techniques (neutron, light). Kinetics and thermodynamics of the complexation process are studied by use of a stopped-flow mixing device and an isothermal titration calorimeter. Results gave us keys to discriminate strongly interacting systems from weakly interacting ones. In particular, the 'strong systems' are showed to be non-equilibrium assemblies, *ie.* the formulation pathway or the way these different macromolecules are coming into contact is then a key step. Another important aspect that could explain the complexation process behavior is the hydration energy of the polyelectrolytes. Calorimetry measurements have been performed for numerous polyelectrolytes and then correlated to complexes properties.

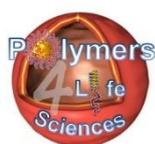
*Key words*: polyelectrolytes, PECs, thermodynamics, kinetics, morphology, interaction strength, co-assembly, out-of-equilibrium assemblies



# UNITÉS DE RECHERCHE

**Centre de Recherche Paul Pascal**, *Equipe Matériaux par Ingénierie Colloïdale*, UMR 5031, Unité mixte de recherche CNRS/Université de Bordeaux  
115 Avenue du Docteur Schweitzer-33600 Pessac, France

**Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques**, *Equipe Polymer Self Assembly and Life Sciences*, UMR 5629, Unité mixte de recherche CNRS/Université de Bordeaux/Bordeaux INP  
16 avenue Pey Berland-33600 Pessac, France



# REMERCIEMENTS

Je tiens à commencer cette page de remerciement par le jury composé de Natalie Malikova, Denis Renard, Valérie Ravaine, Isabelle Grillo et Fabrice Cousin qui a accepté la tâche de relecture du manuscrit ; vos remarques et suggestions m'ont permis l'élaboration de cette version finale de mes travaux.



Cette thèse a été financée pendant par une bourse du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. Ce sujet fait partie du projet PANORAMA (13-BS0-0015, 2014-2017) soutenu par l'Agence nationale pour la recherche. Quatre laboratoires académiques ont apportés leur expertise à ce projet : le CRPP (J-P Chapel), le LCPO (C Schatz), le MSC (J-C Berret), et le LLB (F Cousin).

Ce travail de thèse comporte un grand nombre de techniques de caractérisation et n'aurait pu voir le jour sans les contributions techniques, les formations, les nombreuses discussions scientifiques et la passion des chercheurs cités ci-dessous. Leur enthousiasme tout au long de cette thèse m'a permis de vous présenter ce manuscrit :

Les experts de la DNPA, Fabrice Cousin (LLB) et Isabelle Grillo (ILL), pour leur patience, disponibilité et leur passion pour les neutrons qui est communicative, au Fan du LLB comme en sessions 'Neutron'.

Les superbes clichés d'AFM et la microscopie confocale des chapitres 2 et 3 ont été réalisés par Emmanuel Ibarboure au LCPO lors d'une étude persévérante de 1.5 années sur le fastidieux sujet des PECs. Le coacervat D<sub>x</sub>S/PEI a été imagé en cryo-microscopie par Etienne Gontier au Bordeaux Imaging Center et étudié en rhéologie par Jean-François Le Meins au LCPO.

Le chapitre 4 est représentatif de l'esprit d'équipe de notre 'joint team LCPO-CRPP' : Mes expériences de thermodynamique, morphologies et cinétique de la complexation de 4 systèmes de PEs sont le fruit du travail efficace de Carlotta Pucci, Joanna Giermanska, Tim Delas.

Xiaoqing Liu m'a formée au mélangeur stopped-flow et Christophe Schatz a été mon formateur pour les expériences de SEC, MALS et UV-Visible ; Emmanuel Ibarboure m'a initiée à la microscopie confocale. Je tiens à remercier chaleureusement Gilles Sigaud pour la formation à l'ITC, et le suivi à quelques mois de la retraite ; les rendez-vous à 7h30 pour lancer les expériences vont me manquer. Annie Février ma binôme d'expériences d'ITC, sans qui tous ces thermogrammes n'auraient pu voir le jour et Jacques Loubens (TA Instruments) pour l'efficacité des solutions dans nos situations d'urgence d'utilisation intensive de notre calorimètre. Un immense merci à Carlotta Pucci qui a accepté de prendre le relais sur la partie thermodynamique ; notre travail de binôme sera je l'espère, amené à se continuer, les belles expériences d'hydratations de PEs du Chapitre 4 en sont un bel exemple.

Evidemment, mes stagiaires ont apporté leur pierre à l'édifice ; Julien Roman sur le chapitre 3, et Xavier Chudeau et Mathier Gerbeaud-Lassau qui ont su percer les secrets du Dolomite pour le chapitre 2. Clémence Besnard de l'ENSCBP pour son excellent travail de bibliographie sur la thermodynamique de la complexation électrostatique.

Je finirai par les deux équipes au CRPP (MAFIC) et au LCPO (TH3) qui m'ont accueillie pendant ces longues années de thèse dans les meilleures conditions qui soient pour mener à bien ce projet. Et bien entendu mes encadrants Jean-Paul Chapel et Christophe Schatz qui m'ont guidé, soutenus et m'ont transmis sans compter leur savoir et leur passion pour les co-assemblages en solution et m'ont fait confiance avec ce sujet de thèse stimulant.

# TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	V
ABSTRACT	V
UNITÉS DE RECHERCHE	VII
REMERCIEMENTS	VIII
TABLE DES MATIÈRES	IX
SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS	XI
Matériaux	XI
Paramètres	XI
Techniques de Caractérisation	XII
INTRODUCTION	14
CHAPITRE 1	19
1.1 Polyélectrolytes	19
1.1.1 Définitions	19
1.1.2 Conclusion	33
1.2 Complexes de polyélectrolytes	34
1.2.1 Formation des complexes	35
1.2.2 Techniques usuelles de caractérisation	40
1.2.3 Facteurs responsables de la formation et de la stabilité des PECs	50
1.2.4 Thermodynamique de la complexation	60
1.2.5 Conclusion	62
1.3 Conclusion	64
CHAPITRE 2	67
2.1 Introduction	67
2.2 Conditions expérimentales	69
2.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes	69
2.2.2 Préparation des solutions	69
2.2.3 Microscopie à force atomique	71
2.3 Caractéristiques générales de la complexation du système PSSNa/ $\ell$ PEI	72
2.3.1 Caractérisation par diffusion de la lumière	72
2.3.2 Imagerie AFM des complexes	77
2.3.3 Caractérisation par diffusion des neutrons aux petits angles (DNPA)	84
2.3.4 Étude de la complexation en stopped-flow	89
2.4 Application à un micro mélangeur	93
2.4.1 Partie expérimentale	93
2.4.2 Résultats	95
2.4.3 Conclusion	99
CHAPITRE 3	103
3.1 Introduction	103
3.2 Etude de la complexation du système DxS/ $\ell$ PEI en milieu dilué	104
3.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes	104
3.2.2 Conditions expérimentales de la complexation	109
3.2.3 Suivi calorimétrique de la complexation	110
3.2.4 Suivi morphologique du système au cours de la complexation	111
3.2.5 Analyse morphologique des complexes par AFM	122

3.2.6 Choix d'un modèle pour l'analyse ITC	124
3.2.7 Discussion	125
<b>3.3 Etude du coacervat obtenu à partir du système DxS/ <math>\beta</math> PEI</b>	<b>132</b>
3.3.1 Analyses microscopiques du coacervat	132
3.3.1 Rhéologie de la phase coacervat	136
3.3.2 Analyse par DNPA des solutions initiales de DxS et $\beta$ PEI	137
3.3.3 Analyse par DNPA du coacervat	138
3.3.4 Cinétique de la coacervation	139
<b>3.4 Conclusion</b>	<b>141</b>
<b>CHAPITRE 4</b>	<b>145</b>
4.1 Introduction	145
4.2 Polyélectrolytes	146
4.3 Conditions expérimentales	150
4.3.1 Caractérisation des complexes	150
4.4 Morphologies des complexes	152
4.5 Cinétique de la complexation aux temps courts	156
4.6 Thermodynamique de la complexation	157
4.7 Evaluation de l'intensité électrostatique par expérience de dessalage	161
4.8 Hydratation des polyélectrolytes	163
4.9 Conclusion	166
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE</b>	<b>169</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>173</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>189</b>

# SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

## Matériaux

<i>Abréviation</i>	<i>Nom complet</i>
DI water	De-Ionized Water-Eau Déminéralisée
NaCl	Sodium Chloride-Chlorure de Sodium
NaOH	Ammonium Hydroxide-Soude
D <sub>2</sub> O	Deuterium Oxide-Eau Deutérée
HCl	Hydrochloric Acid-Acid Chlorhydrique
PSSNa	Poly(Styrene Sulfonate)-Poly(Styrène acide sulfonique)
PEs	Polyelectrolytes-Polyélectrolytes
ℓ PEI	Linear Poly(EthyleneImine)-Poly(EthylèneImine) linéaire
ℓ PEI	Branched Poly(EthyleneImine)-Poly(EthylèneImine) branchée
DxS	Dextran Sulfate, Sodium Salt-Sulfate de Dextrane
PDADMAC	Poly(DiAllylDiMethyl Ammonium Chloride)-Poly(Chlorure de DiallylDiMethyl Ammonium)
PAA/PANa	Poly(AcrylicAcid)- Poly(Acide Acrylique)/Poly (Acrylate) de Sodium
PEC(s)	PolyElectrolyte(s) Complexe(s)-Complexe(s) de PolyElectrolytes

## Paramètres

<i>Abréviation</i>	<i>Nom complet</i>
D	Coefficient de diffusion
Đ	Dispersité d'un polymère
hr (s)	Hour(s)-Heure(s)
IEP	Isoelectric point-Point isoélectrique
I <sub>s</sub>	Ionic strength-Force ionique
K	Binding Constant-Constante d'interaction
Min(s)	Minute(s)
MNIS	Multiple Non-Interacting Site Model-Modèle à Sites Multiples Indépendants
M <sub>w</sub>	Molecular weight-Masse molaire
N	Stoichiometry-Stœchiométrie d'interaction
∅	Diamètre de particules
PDI	Polydispersity index-Indice de polydispersité (diffusion de lumière)
pH	Hydrogen potential-Potentiel hydrogène
R <sub>g</sub>	Gyration radius-Rayon de gyration
R <sub>H</sub>	Hydrodynamic radius-Rayon hydrodynamique
R <sub>∅</sub>	Rayleigh ratio-Rapport de Rayleigh
RPM	Rotation per minute-Tour par minute
Sec(s)	Second(s)-Seconde(s)
Z	Charge ratio-Rapport en charge
ΔH	Binding enthalpy-Enthalpie d'interaction
ΔS	Binding entropy-Entropie d'interaction
ΔG	Gibbs energy-Energie libre/énergie de Gibbs
ρ	Densité de longueur de diffusion

## Techniques de Caractérisation

<i>Abréviation</i>	<i>Nom complet</i>
AFM	Atomic Force Microscopy-Microscopie à Force Atomique
Cryo-SEM/Cryo MEB	Cryo-MEB-Scanning Electron Microscopy-Microscopie à Balayage Electronique
DLS/SLS	Dynamic/Static Light Scattering-Diffusion Dynamique/Statique de la Lumière
ITC	Isothermal Titration Calorimetry-Titrage Isotherme suivie par Calorimétrie
NMR/RMN	Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy-spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire
EPR-RPE	Electron Paramagnetic Resonance-Résonance Paramagnétique Électronique
SANS/DNPA	Small Angle Neutron Scattering-Diffusion de Neutron aux Petits Angles
SEC	Steric Exclusion Chromatography-Chromatographie d'Exclusion Stérique
SEM/MEB	Scanning Electron Microscopy-Microscopie Électronique à Balayage
SLS	Static Light Scattering-Diffusion Statique de la Lumière
TGA/ATG	ThermoGravimétric Analysis-Analyse Thermogravimétrique
USAXS	Ultra Small Angle Time resolved X-Ray Scattering
SAXS	Small Angle X-Ray Scattering-Diffusion des Rayons X aux Petits Angles
UV-Visible Spectroscopy	Ultra Violet-Visible Spectroscopy-Spectroscopie Ultra Violet-Visible



# INTRODUCTION

Les complexes de polyélectrolytes (PECs) sont obtenus par interaction électrostatique de polyélectrolytes (PEs) de charge opposée. Ils appartiennent à la classe des assemblages non covalents de macromolécules en solution. Très utilisés dans des domaines aussi variés que la science des matériaux, les revêtements, la purification de l'eau ou bien encore la génétique et les biotechnologies, ils présentent un fort intérêt non seulement académique mais également technologique et industriel. Classiquement, l'assemblage non-covalent de macromolécules en solution est étudié en supposant des conditions d'équilibre. Or dans la plupart des applications du monde réel, ce type d'assemblages se fait dans des conditions hors-équilibre. Les chemins de formulation, ou la façon dont ces différentes "briques élémentaires" vont venir en contact intime, vont alors avoir un impact sur les morphologies générées et par extension sur les propriétés visées. Cette étape-clé, présente dans tout processus d'assemblage macromoléculaires et/ou colloïdal, reste à l'heure actuelle paradoxalement peu documentée dans la littérature.

Dans le cas de PEs de charge opposée en solution aqueuse, les forces en présence (électrostatiques, hydrogènes et/ou hydrophobes...) vont, lors de l'étape de mélange, mener à une compétition entre le temps de mélange et le temps de réaction qui va influencer grandement sur la thermodynamique et la cinétique de complexation et donc sur les morphologies finales des complexes. Le contrôle de paramètres tels que l'ordre et la vitesse d'ajout, la concentration et la force ionique de la solution, et/ou l'intensité des interactions permet dans certains cas d'atteindre des conditions de pseudo équilibre lors de la complexation et générer ainsi des complexes mieux définis et stables dans le temps (peu ou pas de vieillissement physique). Cette approche est la base de ce travail de thèse où la complexation de PEs connus et disponibles commercialement est étudiée en fonction de paramètres tels que le temps de mélange, la concentration, le rapport de charge molaire, la force ionique et le pH en se fixant pour objectif d'évaluer leur impact sur les morphologies générées au travers d'une meilleure connaissance de la thermodynamique et la cinétique de complexation.

Cinq polymères chargés présentant des propriétés typiques du monde des PEs sont étudiés dans ce travail : le poly(éthylèneimine) linéaire et branché (PEI) et le poly (acide acrylique)(PAA), respectivement polycations et polyanion dits 'faibles' ; le chlorure de poly (diallyldiméthylammonium ) (PDADMAC), le polystyrène sulfonate de sodium (PSSNa), et le sulfate de dextrane (DxS) tous trois des polyions dits 'forts'. Pour l'ensemble des systèmes étudiés, les divers types de PECs générés ont été analysés à différentes échelles, allant de l'observation macroscopique par inspection visuelle à la diffusion de la lumière et des neutrons en passant par les microscopies optiques, électroniques et AFM afin d'avoir des informations sur leur taille caractéristique, leur structure interne ou bien encore sur leur stabilité dans le temps. Au-delà de l'étude approfondie de la structure de ces PECs en solution, l'évaluation de l'état thermodynamique (et cinétique) de ces assemblages constitue un des challenges de cette thèse. La complexation entre PEs de charge opposée possède une composante enthalpique due aux interactions en présence (électrostatiques et aux forces secondaires) mais également une forte composante entropique liée à la libération des contre-ions et des molécules d'eau associés aux charges présentes sur le squelette des PEs.

L'approche utilisée pour accéder aux paramètres thermodynamiques lors de l'assemblage en solution est la titration calorimétrique isotherme (ITC). La technique d'ITC permet la mesure directe de la chaleur de réaction des deux composants après mélange. Cette technique de caractérisation permet d'associer des données thermodynamiques et morphologiques pour une meilleure compréhension de l'influence des chemins de formulations sur l'assemblage de ces systèmes hors d'équilibre. L'accent est par ailleurs mis sur l'étude de l'environnement chargé des complexes, l'hydratation des chaînes de polymère et leur conformation native en solution. Enfin, la cinétique du processus de complexation est étudiée conjointement sur ces systèmes à l'aide d'un mélangeur ultra-rapide (temps mort de 4 ms) de type stopped-flow couplé à la diffusion de lumière.

Ce manuscrit de thèse s'organise de la façon suivante :

Le chapitre 1 détaille les prérequis à la lecture de ce travail sur les polyélectrolytes et les complexes de polyélectrolytes, ainsi que les méthodes de caractérisation permettant l'étude de la complexation.

Le chapitre 2 s'intéresse à un système modèle à interaction forte, le poly (styrène sulfonate de sodium) (PSSNa) comme polyanion et le poly (éthylèneimine) (PEI) comme polycation. La longueur des chaînes de PSSNa ainsi que la vitesse de mélange sont variées. Les morphologies résultantes sont des complexes de polyélectrolytes (PECs) insolubles/dispersés qui forment une phase colloïdale stable à tous les rapports de charge ( $Z$ ) étudiés en dehors de la stœchiométrie ( $Z \sim 1$ ) où ils s'agrègent fortement et forment un précipité solide (transition liquide-solide). Plus particulièrement, l'étude de la structuration cœur-écorce de ces PECs dispersés constitue un des objectifs de ce chapitre de thèse. L'accent est également mis sur l'étude cinétique et morphologique des premiers instants de la complexation en conservant le PSSNa en excès ( $Z[+]/[-] < 1$ ). L'utilisation dans un second temps d'un mélangeur microfluidique permet de comparer les caractéristiques des PECs avec celles obtenues par ajouts manuels, goutte à goutte et stopped-flow en s'affranchissant du paramètre 'opérateur' (répétabilité et reproductibilité). Dans l'ensemble de ce chapitre, les mesures de diffusion de rayonnement (lumière et neutrons) sont croisées avec l'imagerie AFM.

Le chapitre 3 présente l'étude d'un système d'intérêt biologique composé du poly(éthylèneimine) branché (PEI) utilisé couramment comme agent de transfection de l'ADN, associé à un polysaccharide fortement chargé, le sulfate de dextrane (DxS). Le point de départ de ce chapitre est le comportement thermodynamique singulier de la complexation qui dépend fortement de l'ordre d'ajout des polymères. Bien que ce système ait la faculté de coacerver à la stœchiométrie (transition liquide-liquide), nous verrons qu'il présente par ailleurs certaines signatures similaires à un système de type précipité d'où son intérêt pour mieux comprendre la nature des interactions mises en jeu.

Pour finir, le chapitre 4 propose, à l'aide d'expériences préliminaires sur la complexation de PEs modèles très étudiés dans la littérature, une feuille de route pour étudier tout système de PEs de charge opposée de manière plus systématique. La complexation est étudiée d'un point de vue morphologique, thermodynamique et cinétique en variant le temps de mélange et l'ordre d'ajout des composés. Afin de mieux comprendre l'origine de la formation des complexes 'forts' (précipités) et 'faibles' (coacervats), des mesures d'hydratation des PEs ont été effectuées.

Une synthèse obtenue sur ces différents systèmes modèles ainsi que les hypothèses faites sur les paramètres clés de contrôle de la complexation est finalement présentée. Ces informations devraient permettre une complexation plus prédictive de ces systèmes souvent hors-équilibre, tant au niveau morphologique que cinétique en discutant en particulier l'influence de certains paramètres de formulation.



# CHAPITRE 1

*'Pour connaître le chemin, interroge celui qui en vient'*  
*Proverbe chinois*

# Table des Matières

<b>1.1 Polyélectrolytes</b> .....	<b>19</b>
1.1.1 Définitions.....	19
1.1.1.1 Les classes de polyélectrolytes (PEs).....	20
<i>Polyélectrolytes naturels et synthétiques</i> .....	20
<i>Polyélectrolytes dits 'forts' et polymères dits 'faibles'</i> .....	21
1.1.1.2 Propriétés.....	21
<i>Interactions en solution</i> .....	22
<i>Rôle du solvant et interactions électrostatiques</i> .....	23
<i>Polyélectrolytes hydrophobes et hydrophiles</i> .....	25
<i>Longueur de Bjerrum</i> .....	25
<i>Longueur de Debye-Hückel</i> .....	25
1.1.1.3 Conformation des chaînes en solution.....	26
<i>Conformation des PEs faiblement chargés</i> .....	26
<i>Conformation des PEs fortement chargés</i> .....	27
<i>Conformation des PEs hydrophobes</i> .....	28
<i>Régimes dilués et semi dilués : lois d'échelle</i> .....	29
<i>Effet de l'ajout de sel</i> .....	30
1.1.1.4 Dynamique des solutions de PEs.....	32
<i>Le mode rapide</i> .....	32
<i>Le mode lent</i> .....	33
1.1.2 Conclusion.....	33
<b>1.2 Complexes de polyélectrolytes</b> .....	<b>34</b>
1.2.1 Formation des complexes.....	35
1.2.1.1 Mécanisme de formation.....	35
1.2.1.2 Structure des complexes.....	36
1.2.1.3 Morphologies des complexes.....	37
<i>Interaction forte et précipitation</i> .....	38
<i>Interaction faible et coacervation</i> .....	39
1.2.2 Techniques usuelles de caractérisation.....	40
1.2.2.1 Suivi de la complexation.....	40
1.2.2.2 Techniques de diffusion.....	41
1.2.2.3 Calorimétrie.....	43
<i>Grandeurs thermodynamiques accessibles par ITC</i> .....	43
<i>Caractéristiques expérimentales en ITC</i> .....	46
<i>Modélisation des données par le modèle MNIS</i> .....	47
1.2.2.4 Mesures cinétiques.....	49
<i>Cinétique aux temps courts</i> .....	49
<i>Cinétique aux temps longs</i> .....	50
1.2.3 Facteurs responsables de la formation et de la stabilité des PECs.....	50
1.2.3.1 Paramètres chimiques et physiques.....	51
<i>Effet du pH</i> .....	51
<i>Effet de la force ionique</i> .....	51
<i>Nature des ions (sel) et des contre-ions utilisés</i> .....	52
1.2.3.2 Chemins de formulation.....	54
<i>Protocole de mélange : temps de réaction vs. temps de mélange</i> .....	54
<i>Ordre d'ajout des PE</i> .....	56
1.2.3.3 Application de mélangeurs à la détermination de diagrammes de phase.....	57
1.2.3.4 Cinétique de la complexation.....	58
1.2.4 Thermodynamique de la complexation.....	60
1.2.5 Conclusion.....	62
<b>1.3 Conclusion</b> .....	<b>64</b>

# CHAPITRE 1

## Etat de l'art

### 1.1 Polyélectrolytes

Cette partie bibliographique a pour objectif de décrire la complexation électrostatique des polyélectrolytes en solution. La première partie donne une définition des polyélectrolytes et des grandeurs physico-chimiques associées. Une seconde partie s'intéresse aux mécanismes de complexation qui donnent lieu à différents types de morphologies. Enfin la thermodynamique et la cinétique de complexation dans ces systèmes chargés sont abordées. En conclusion de ce chapitre, nous présenterons un certain nombre d'aspects de la complexation des polyélectrolytes peu étudiés à ce jour et qui ont motivé ce travail de recherche.

#### 1.1.1 Définitions

Les polyélectrolytes sont des polymères contenant une fraction  $f$  de monomères chargés ( $0 < f \leq 1$ ). Les charges peuvent être permanentes ou obtenues par ionisation d'un groupement acide ou basique en solution. Les charges portées par le polymère sont accompagnées d'un contre-ion afin de respecter l'électroneutralité (Figure 1-1). On définit des polyélectrolytes cationiques appelés polycations qui en solution deviennent chargés positivement et sont accompagnés de contre-ions anioniques; et des polyélectrolytes anioniques ou polyanions entourés de contre-ions cationiques [1,2]. Enfin, il existe des espèces polyampholytes qui portent des groupements chargés cationiques ou anioniques en fonction du pH du milieu.

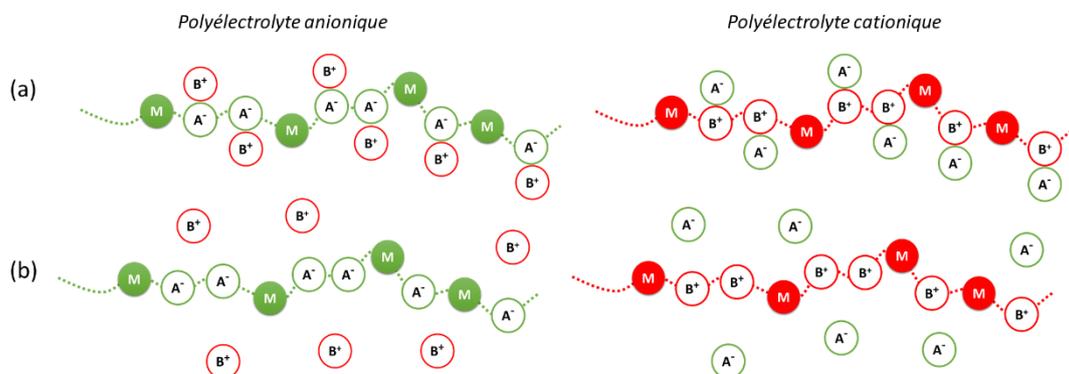


Figure 1-1 : Représentation schématique de polyélectrolytes anioniques et cationiques sous forme (a) non dissociée et (b) dissociée. Cette dernière est rencontrée en solvant polaire et ionisant tel que l'eau (Adaptée de la référence [2]).

De l'ADN au chitosane, les polyélectrolytes présentent une grande diversité de structures et de compositions chimiques. Dans le paragraphe suivant, les polyélectrolytes sont classés en fonction de leur origine, leur densité de charge et de leur comportement (chargé) en solution. Sachant que les polyélectrolytes en solution sont le siège d'interactions électrostatiques inter- et intramolécules et également avec les contre-ions et les ions du milieu les lois de l'électrostatique en solvant aqueux seront présentées, ainsi que le comportement de ces macromolécules chargées.

### 1.1.1.1 Les classes de polyélectrolytes (PEs)

#### *Polyélectrolytes naturels et synthétiques*

Les polyélectrolytes naturels sont souvent difficiles à extraire, et nécessitent la plupart du temps de nombreuses étapes de purification. Leur structure est généralement complexe avec par exemple la présence de ramifications. Ils sont très intéressants pour des applications cosmétiques ou encore médicales car biodégradables et biocompatibles.[3] Les plus connus sont l'ADN et les polysaccharides, comme le chitosane ou l'alginate, extrait d'algues brunes naturelles et utilisés entre autres en formulation alimentaire ou en cosmétique comme gélifiant (Figure 1-2). Les protéines peuvent être également considérées comme des polyélectrolytes car nombre d'acides aminés sont porteurs d'une charge à pH physiologique.

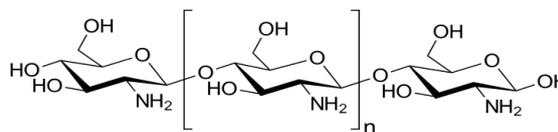


Figure 1-2 : Structure du chitosane.

Tableau 1-1 : Acides aminés ionisables et leur structure.

Acide aminé	Abréviation	$pK_a^*$ apparent	Structure chimique
lysine	Lys	10.8	
arginine	Arg	12.5	
histidine	His	6.0	
acide glutamique	Glu	4.1	
acide aspartique	Asp		

Les polyélectrolytes synthétiques sont obtenus à partir de monomères ionisables ou modifiables pour introduire une charge après polymérisation. Ils offrent une grande variété de propriétés car il est possible de synthétiser des structures linéaires, greffées, à blocs ou en étoile. Le plus étudié des polyélectrolytes est le poly(styrène sulfonate) de sodium qui est un polyélectrolyte relativement hydrophobe en raison de la présence de noyaux aromatiques (Figure 1-3). De façon générale, on distingue les PEs synthétiques anioniques portant des fonctions : -carboxy,- sulfate, -sulfonate, ou phosphate des PEs cationiques possédant des groupements -amino,-imino,-ammonium,-sulfonium, ou -phosphonium.

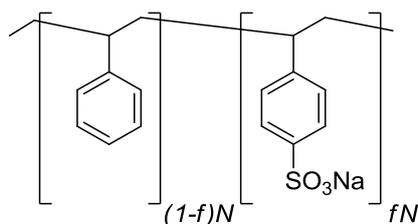


Figure 1-3 : Poly(styrène sulfonate) de sodium (PSSNa) partiellement sulfoné.

\* Les valeurs de  $pK_a$  sont dépendantes de l'environnement en solution du groupement ionisable.

*Polyélectrolytes dits 'forts' et polymères dits 'faibles'*

D'autres propriétés des polyélectrolytes permettent de les regrouper sur des critères liés plus spécifiquement à leur comportement en solution. Le taux de charge  $f$  défini précédemment permet de classer les PEs.

Une fois dissociés en solution, ceux possédant un taux de charge élevé et où les forces électrostatiques seront donc prédominantes sont appelés polyélectrolytes forts. Ce taux de charge ne dépend pas des conditions du milieu et en particulier est indépendant du pH ; on dit que alors que les charges sont permanentes.

Au contraire, pour des chaînes PEs possédant un faible taux de charge, les forces électrostatiques seront en compétition avec les forces de van der Waals. Ces espèces sont appelées polyélectrolytes à faible densité de charge et leur taux de charge dépend du pH du milieu extérieur dans lequel se trouve le polymère ; le polyélectrolyte sera aussi appelé faible. On caractérise alors la capacité d'ionisation du polyélectrolyte à partir de la constante d'acidité ( $K_a$ )[2] :



où  $a$  est l'activité de l'espèce considérée avec  $a = [C_i]/[C]^0$  ;  $[C_i]$  la concentration de l'espèce considérée et  $[C]^0$  la concentration de référence prise égale à 1 M.

Si le polymère porte une fonction acide, il se dissociera à  $pH > pK_a$  en formant des groupements anioniques et inversement une polyamine se protonera à  $pH < pK_a$ . Le taux de charge  $f$  peut être calculé à l'aide de la relation de Henderson-Hasselbalch (Equation 1-2 et Tableau 1-2). Pour des concentrations faibles, les concentrations seront assimilées aux activités.

$$pH = pK_a + \log \frac{\alpha}{1 - \alpha} \quad \text{Equation 1-2}$$

avec  $\alpha = \frac{[A^-]}{[AH]_0}$  le degré de dissociation

Tableau 1-2 : Variation du taux de charge  $f$  d'un polyélectrolyte en fonction du pH d'étude exprimé en fonction du  $pK_a$  du polycation ou du polyanion.[2]

$pH$	$pK_a - 2$	$pK_a - 1$	$pK_a$	$pK_a + 1$	$pK_a + 2$
$f_{polyacide}$	0.01	0.1	0.5	0.9	0.99
$f_{polyamine}$	0.99	0.9	0.5	0.1	0.01

Le poly(acide acrylique) (PAA) et le poly(éthylèneimine) (PEI) représentés ci-dessous sont tous deux des polyélectrolytes faibles formant respectivement un polyanion et un polycation en solution aqueuse. A l'inverse, le chlorure de polydiallyldiméthylammonium (PDADMAC) et le poly(styrène sulfonate) de sodium sont des polyélectrolytes forts ; Pour le PDADMAC cela est dû à la présence d'une fonction amine quaternaire, pour le PSSNa, c'est grâce à son  $pK_a$  faible). Cette dénomination est la plus couramment utilisée dans la littérature et en particulier dans le domaine de la complexation des PEs.

### 1.1.1.2 Propriétés

Les répulsions électrostatiques entre les charges portées par les chaînes leur fait adopter une conformation étirée en solution. Cette conformation implique un grand volume hydrodynamique et par conséquent une viscosité importante en solution et ainsi un large champ d'applications en formulations liquides. On peut les trouver comme stabilisants dans les suspensions colloïdales en formant des micelles, dans les mousses, mais aussi comme épaississants, rhéofluidifiants ou gélifiants.[2] Ils se rencontrent par exemple dans le traitement des polluants par floculation [4] ou encore dans la papeterie

pour aider au maintien de la pâte de papier par agrégation et comme agent de renforcement des fibres de cellulose.[5]

*Interactions en solution*

Bien que les polyélectrolytes et leur comportement en solution soient des sujets d'étude très documentés, une compréhension claire du comportement des polyélectrolytes n'a pu être avancée que lors de cette dernière décennie.[6–8] En effet, les interactions entre les polymères chargés peuvent être multiples et donc complexes à appréhender : forces électrostatiques avec écrantage possible par introduction d'ions libres, effet hydrophobe, liaisons hydrogène, peuvent être présents simultanément et agir conjointement au sein de la solution (Figure 1-4).[9] Ainsi le comportement d'un polyélectrolyte diffère de celui d'un polymère neutre car il est influencé par les charges qu'il porte. De même, le comportement des charges d'un PE diffère du comportement des électrolytes de faible masse car les charges sont portées par une chaîne polymère.

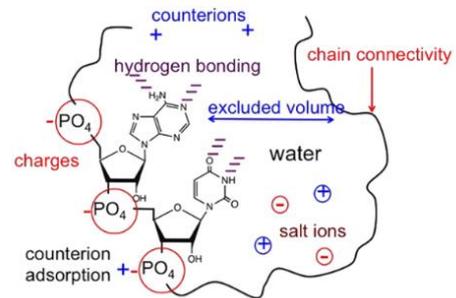


Figure 1-4 : Complexité des paramètres en jeu dans le PE naturel ADN.[260]

La présence de multiples charges le long de la chaîne macromoléculaire est à l'origine d'un certain nombre d'effets répertoriés par Frueh *et al.*[10]:

- (i) L'effet de charge du polyélectrolyte augmente la viscosité par rapport à celle d'un polymère neutre. Mais on note l'abaissement de la viscosité par rapport aux polymères neutres avec l'augmentation de la concentration en PE pour des PE forts sans ajout de sel [11,12]. En effet, les contre ions condensés sont le centre d'attractions dipolaires lorsque la concentration augmente en solution. On a alors une phase dont la conformation est déterminée par l'attraction dipolaire entre les paires d'ion, comme pour les ionomères et la viscosité de cette phase de 'chaînes de dipôles' est diminuée.[13–15]

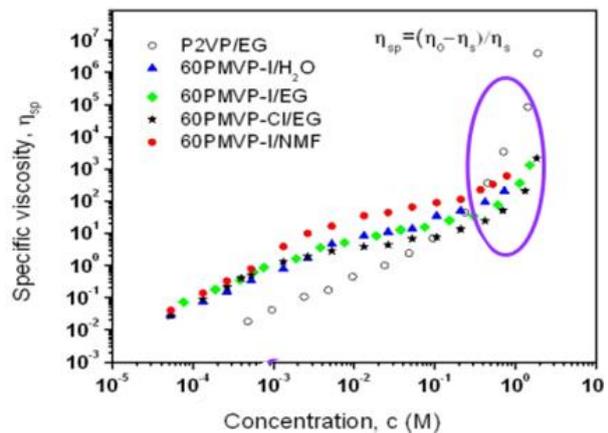


Figure 1-5 : Evolution de la viscosité en fonction de la concentration pour des chaînes de 60PMVP-I et 60PMVP-Cl dissoutes dans l'eau, le N-Methyl-2-Pyrrolidone (EG) et le N-methyl-formamide. Le P2VP dans EG est le polymère neutre à la base du copolymère PMVP.

La Figure 1-5 compare la viscosité du poly(2-vinylpyridine)(P2VP) avec le copolymère basé sur le P2VP et les chlorure et iodure de N-méthyl-2-vinylpyridinium(PMVP) dans différents solvants. Pour tous les PE, la viscosité à forte concentration est nettement inférieure à celle du P2VP, polymère neutre (violet).

- (ii) La zone de transition entre les régimes dilués et semi dilués abaissée par rapport aux polymères neutres.[13,16–18] L'augmentation de la charge de la chaîne augmente les répulsions électrostatiques entre les unités monomères. Par conséquent, le volume de la pelote polymère augmente et la concentration en polymère à l'intérieur de cette pelote diminue.
- (iii) La pression osmotique est augmentée due à la présence des contre-ions.[19]

- (iv) Organisation des solutions de PEs sous forme de structures régulières en milieu homogène, et apparition d'un 'pic polyélectrolyte' en diffusion de rayonnement (lumière, X, neutrons); Ce phénomène est illustré Figure 1-6 c par diffusion de rayons X en fonction du vecteur d'onde  $q$  sur des iodures de poly(1-vinyl pyridine) à plusieurs concentrations, dissous dans du N-méthyl formamide. L'intensité de diffusion est alors proportionnelle à la concentration en PE en  $c^{1/2}$  en régime semi-dilué. De Gennes explique que la pression osmotique due aux contre ions empêche le recouvrement des domaines de corrélation des PE et les forces électrostatiques qui obligent les chaînes à conserver ce volume de non-recouvrement (Figure 1-6 a). De plus, la répulsion électrostatique entre proches voisins sur la chaîne de PE favorise la présence d'un espacement régulier inter-chaînes.[20,17] À titre de comparaison, pour des polymères neutres, les domaines de corrélation se recouvrent et la diffusion reste élevée à faible vecteur d'onde(Figure 1-6 b).[13]

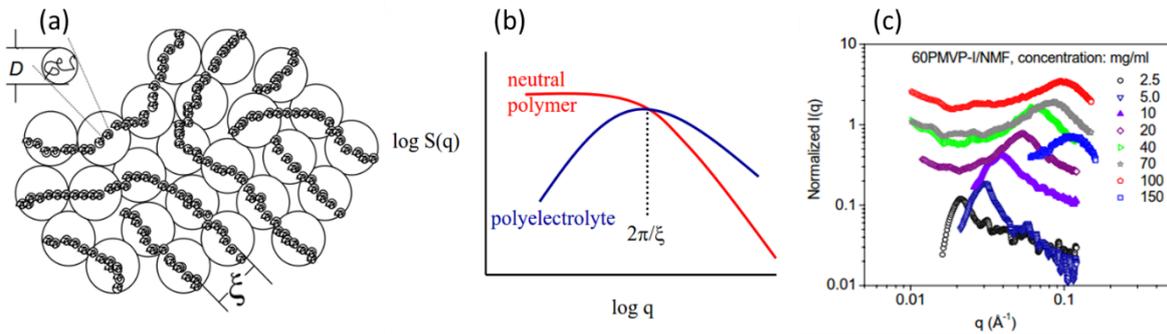


Figure 1-6 : (a) Modèle proposé par de Gennes pour les solutions isotropique en régime semi dilué de de Gennes, (b) Allure du facteur de structure en fonction du vecteur d'onde pour des polymères neutres et PE, en échelle logarithmique, (c) Profils en SAXS de solutions de PMVP-I dans le NMF à différentes concentrations. Les chaînes de PMVP-I sont en régime semi dilué sans sel ajouté.

- (v) Formation de structures en blocs électrostatiques, en colliers de perles ou en cylindres, en fonction de la qualité du solvant et de la charge du PE étudié.[21]
- (vi) Formation spontanée de complexes de PEs de charges opposées.[22]

### Rôle du solvant et interactions électrostatiques

Lorsque l'on introduit un PE dans un solvant, décrit par sa constante diélectrique relative  $\epsilon_r$ , on peut définir une énergie coulombienne d'interaction  $U(r)$  entre les charges négatives  $A^-$  et positives  $B^+$ .

$$U(r) = \frac{Z_A Z_B e^2}{4 \pi \epsilon_r \epsilon_0 r_{AB}} \quad \text{Equation 1-3}$$

$$\text{avec } \epsilon_r = \frac{\epsilon}{\epsilon_0} \quad \text{Equation 1-4}$$

$Z_A$  et  $Z_B$  les valences des charges A et B

$r$  la distance entre les deux charges

$e$  la charge électrique élémentaire,  $e = 1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$

$\epsilon_0$  la constante diélectrique ou permittivité du vide,  $\epsilon_0 = 8.84 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ N}^{-1} \text{ m}^2$

$\epsilon_r$  la permittivité du milieu, normalisée par un milieu de référence

$\epsilon$  la permittivité du milieu

Dans cette thèse, l'eau est le solvant choisi et ses caractéristiques sont les suivantes :

- Son moment dipolaire  $\mu_{H_2O}$  est élevé\*

\*  $\mu_{H_2O} = 2\mu_{OH} \cos(\widehat{HOH} / 2)$  en Debye (D).

- Les molécules d'eau ont la capacité de faire des interactions dipôle-charge

Comme vu précédemment, la valeur de la constante diélectrique du vide  $\epsilon_0$  est faible, ce qui signifie que la force de cohésion des charges est importante et qu'il faut donc un solvant avec une constante diélectrique suffisamment élevée pour écranter l'interaction. Les ions résultants de cette dissociation se verront alors solvatés et dispersés si le solvant est assez polaire pour former des interactions de type dipôle-charge. Dans le cas de l'eau, la solubilité des polyélectrolytes est apportée par les interactions dipolaires entre les molécules d'eau et les monomères chargés. La forte répulsion entre les doublets non liants de l'atome d'oxygène impose à la molécule d'eau un angle de  $104^\circ$  entre les H-O-H. Par ailleurs les liaisons O-H étant polarisées (Figure 1-7 a), il en résulte un moment dipolaire permanent très élevé de 1.85 D, qui lui permet une solvataion facilitée des espèces de nature chargée. Enfin, les molécules d'eau peuvent interagir à distance et entre elles par interaction électrostatique en formant des liaisons hydrogène (Figure 1-7 b). La force attractive entre charges est abaissée car ce solvant possède un moment diélectrique fort ( $\epsilon_r=78.5$  à  $25^\circ\text{C}$ ), ce qui confère à ce solvant une habileté à dissocier (constante diélectrique élevée) et solvater (moment dipolaire permanent) les espèces chargées.

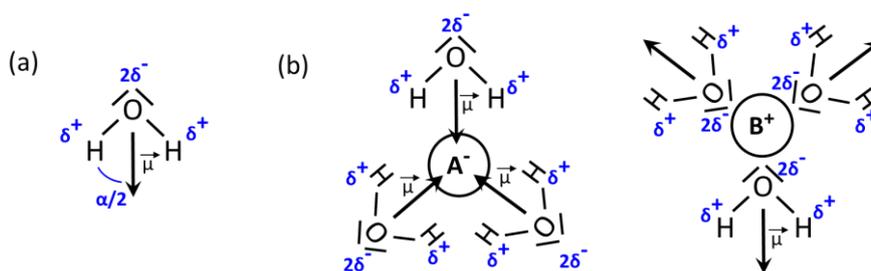


Figure 1-7 : (a) Géométrie de la molécule d'eau et polarisation de ses liaisons ;  $\alpha=104.45^\circ$  et la longueur d'une liaison O-H=95.84 pm. (b) Solvataion des ions  $A^-$  et  $B^+$  par interaction ion-dipôle avec les molécules d'eau (adapté de [2]).

Ainsi, de façon plus générale, en tenant compte de la constante diélectrique ou de permittivité  $\epsilon$  et du moment dipolaire  $\mu$ , il est possible de classer les solvants en termes de capacité de dissociation des paires de charges et de solvataion des charges en solution (Tableau 1-3). En solvant organique, on assiste dans la plupart des cas à une faible solvataion des espèces chargées (solvant apolaire) et la constante diélectrique est faible ce qui traduit une faible dissociation des monomères ionisables. Les interactions entre les dipôles formés par les paires d'ion mènent à la formation d'agrégats dipolaires. C'est le cas des ionomères zwitterioniques\* dans des solvants comme le THF ou le toluène. La classification de polymères chargés en ionomères dépend du degré de substitution des groupements ioniques ainsi que de leur structure. Ainsi, ces polymères ioniques comportent un petit nombre (généralement moins de 15% contre 80% pour les PEs) de sites ioniques ou ionisables (Figure 1-8). De plus, les groupements font toujours partie intégrante du squelette du polymère, et se placent de façon discontinue sur celui-ci. L'utilisation d'ionomères permet d'accéder à des propriétés en solution différentes des PEs car le squelette polymère non polaire et les groupements ioniques polaires sont peu compatibles en termes énergétiques. Ainsi, des séparations de phase se créent pour former des domaines enrichis en ions.

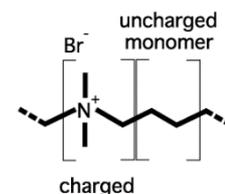


Figure 1-8 : Modèle d'une chaîne d'ionène cationique.[30]

Tableau 1-3 : Quelques solvants usuels et leurs caractéristiques [23].

Solvant	$\mu$	$\epsilon_r$	Type de solvant
Eau	1.85	80.1	polaire, protique
Toluène	0.43	2.38	apolaire, aprotique
DMSO	3.96	46.7	polaire, aprotique

\* Espèce chimique moléculaire possédant des charges électriques de signe opposé, en général sur des atomes non adjacents.

### Polyélectrolytes hydrophobes et hydrophiles

Les complexes de PEs utilisant l'eau comme solvant dans ces travaux de recherche, il est donc d'intérêt de connaître en général la solubilité des PEs dans ce solvant. On distingue deux classes de polyélectrolytes comme pour les polymères neutres : Les polyélectrolytes hydrophiles qui sont en bon solvant ou en solvant  $\Theta$  dans l'eau, et les polyélectrolytes hydrophobes qui ont moins d'affinité pour l'eau. À titre d'exemple, le PAA et le PEI sont des PE hydrophiles (Figure 1-10 a et b) ; le PE hydrophobe de référence est le PSSNa (Figure 1-10 d), le monomère styrène étant à l'origine de ce comportement.

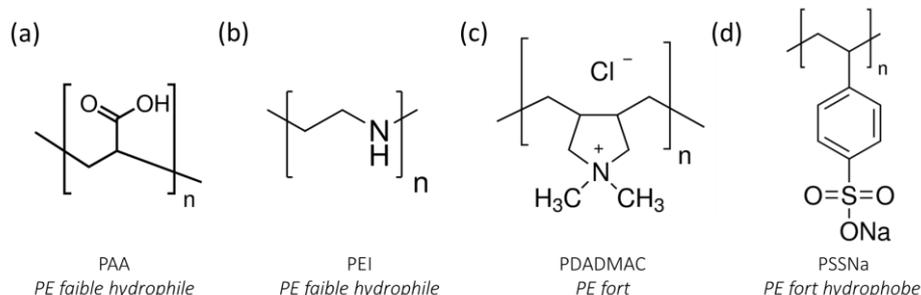


Figure 1-9 : Formules chimiques des polyélectrolytes : (a) Polyacide acrylique ( $pK_a \sim 5$ ), (b) Polyéthylène imine ( $pK_a \sim 5.5$ ), (c) Chlorure de polydiallyldiméthyl ammonium et (d) Polystyrène sulfonate de sodium ( $pK_a = 1.8$ ).

#### Longueur de Bjerrum

Comme défini précédemment, les interactions électrostatiques entre deux charges sont régies par l'interaction coulombienne  $U$ , fonction de la distance entre les charges  $r$  et de la constante diélectrique. On définit la longueur de Bjerrum  $l_B$  comme la distance à laquelle l'énergie d'interaction de Coulomb entre deux charges élémentaires  $e$  est égale à l'énergie d'agitation thermique  $k_B T^*$  :

$$l_B = \frac{e^2}{4 \pi \epsilon_r \epsilon_0 k_B T} \quad \text{Equation 1-5}$$

Dans l'eau pure à 25°C, la valeur de  $l_B$  s'élève à 0.714 nm.

On peut ainsi de façon pratique exprimer  $U(r)$  en fonction de l'énergie thermique et de  $l_B$  sous la forme :

$$U(r) = Z_A Z_B \frac{l_B}{r} k_B T \quad \text{Equation 1-6}$$

En fonction de la distance entre les charges élémentaires, on aura donc prédominance de l'une ou l'autre des formes d'énergie. Si  $r < l_B$ , l'électrostatique primera sur l'agitation thermique, et inversement.

#### Longueur de Debye-Hückel

Dans l'eau, solvant ionisant, les charges se dissocient. Comme vu précédemment, l'eau possède une constante diélectrique élevée, qui associée à des charges libres en solution (sel ajouté et ions hydroxyde et hydronium issus de l'autoprotolyse de l'eau) influent sur le potentiel d'interaction électrostatique du système. On introduit la longueur de Debye Hückel,  $\lambda_D$ , qui traduit la portée des interactions électrostatiques dans l'eau. Le potentiel d'interaction s'exprime alors sous la forme :

\*  $k_B T = \frac{RT}{N_A} = 4.114 \cdot 10^{-21}$  Joules à 25°C

$$U(r) = Z_A Z_B \frac{l_B}{r} e^{-\frac{r}{\lambda_D}} k_B T \quad \text{Equation 1-7}$$

La longueur de Debye Hückel dépend de la force ionique de la solution ( $I_s$ ), car celle-ci correspond à une longueur d'écrantage de l'interaction électrostatique et donc à l'épaisseur de la double couche électrique.

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{4\pi l_B}{I_s}}^{(-1/2)} \quad \text{Equation 1-8}$$

avec  $I_s = \frac{1}{2} \sum_i Z_i^2 C_i$  et  $C_i$  la concentration de l'espèce  $i$  en solution

Dans cette thèse, la concentration en NaCl est contrôlée ; à titre de comparaison des valeurs de  $\lambda_D$  sont répertoriées dans le Tableau 1-4 ci-dessous.

Tableau 1-4 : Valeurs de longueur de *Debye-Hückel* dans l'eau pour diverses salinités.[24]

Type de solution	$\lambda_D$
Eau ultra-pure	~1000 nm
Eau ultra-pure de laboratoire	~100 nm
Solution de NaCl 0.001M	10 nm
Solution de NaCl 0.1M	1 nm
Solution de NaCl 1M	0.3 nm

Au cours de cette thèse, la concentration en NaCl sera en général inférieure à 0.1 M, ce qui signifie que la longueur de Debye sera de l'ordre du nanomètre ce qui est en général suffisant pour générer des interactions électrostatiques entre des espèces de charge opposée.

### 1.1.1.3 Conformation des chaînes en solution

#### *Conformation des PEs faiblement chargés*

Comme précisé précédemment, la présence de charges libres a de grandes répercussions sur les interactions électrostatiques en solution. Dans l'eau pure, la longueur de Debye Hückel est supérieure à 1000 nm, c'est-à-dire que la portée des interactions électrostatiques est bien plus grande que la distance moyenne entre charges. À l'état neutre, une chaîne polymère flexible en solvant  $\Theta$  possède une configuration de pelote gaussienne [17], mais sous l'effet des fortes interactions électrostatiques, la chaîne adopte une conformation étirée. Cependant, le coût entropique associé à cette conformation est trop élevé et on observe ainsi une fluctuation à une échelle plus locale permise par l'énergie thermique. Pour caractériser la conformation prise par des chaînes de polyélectrolytes faiblement chargées, on introduit alors le concept de blob électrostatique qui prend en compte à la fois l'interaction à longue portée électrostatique et l'effet de l'agitation thermique à courte portée. Ces blobs électrostatiques correspondent à des sphères théoriques de rayon  $\xi_{blob} / 2$ , de charge  $q_{blob} e = f \times N_{monomère} \times e$ , et dont la taille correspond à une compensation entre l'agitation thermique et les interactions électrostatiques ( $U_{blob} = k_B T$ ). Ainsi, à l'intérieur du blob, la chaîne se comporte comme un polymère neutre ; à grande échelle les répulsions entre blobs alignent la chaîne (Figure 1-10 et Tableau 1-5).

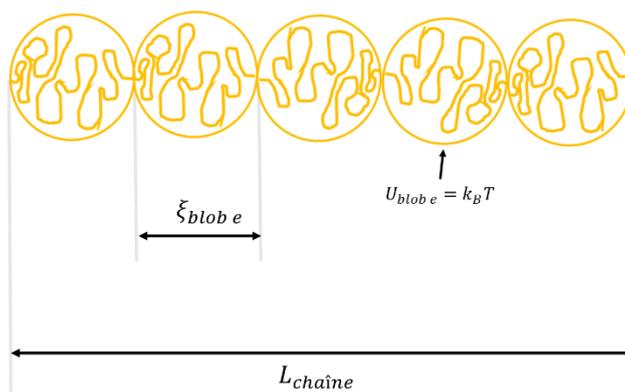


Figure 1-10 : Schéma des blobs électrostatiques. Un blob correspond à une sphère de rayon  $\xi_{blob e}/2$ . Une chaîne de longueur  $L$  est composée d'un enchaînement de  $N$  monomères de taille  $m$  (d'après [2]). Localement la chaîne a une conformation gaussienne. A plus grande échelle, elle est étirée.

Tableau 1-5 : Caractéristiques des blobs électrostatiques.

	$d < \xi_{blob e}$	$d > \xi_{blob e}$
Régime d'interaction	Energie électrostatique = $k_B T$	Energie électrostatique $> k_B T$
Conformation de la chaîne	Pelote	Étirée

En fonction de la qualité du solvant, et en utilisant les hypothèses de blob électrostatique, on peut déterminer la taille du blob ; dans les deux cas présentés dans le Tableau 1-6 des polymères en solvant  $\theta$  ou en bon solvant, la chaîne polymère adopte une configuration étirée dont la longueur est reliée au taux de charge  $f$  de la chaîne.[17,13]

Tableau 1-6 : Caractéristiques de la chaîne en solvant  $\theta$  et en bon solvant.

	Solvant $\theta$	Bon solvant ( $T \gg \theta$ )
Diamètre du blob	$\sim l_m \left(\frac{l_B}{l_m}\right)^{\frac{1}{3}} \times f^{-\frac{2}{3}}$	$\sim l_m \left(\frac{l_B}{l_m}\right)^{\frac{-3}{7}} \times f^{-\frac{6}{7}}$
Longueur de la chaîne	$l_m \times N_m \left(\frac{l_B}{l_m}\right)^{\frac{-1}{3}} \times f^{\frac{2}{3}}$	$l_m \times N_m \left(\frac{l_B}{l_m}\right)^{\frac{2}{7}} \times f^{\frac{4}{7}}$

avec  $l_m$  la longueur du monomère,  $N_m$  le nombre de monomères et  $l_B$  la longueur de Bjerrum.

### Conformation des PEs fortement chargés

Lorsque la densité de charge est très élevée, les interactions électrostatiques sont très importantes et la taille d'un blob électrostatique peut se réduire à celle d'un monomère. Le potentiel électrostatique est alors très élevé et implique de fortes interactions avec les contre-ions, ce qui se traduit par une diminution de la densité de charge apparente. Selon Manning et Ôsawa, il y a condensation des contre-ions sur la chaîne chargée si le gain d'énergie est plus important que la perte d'entropie associée à la perte de mobilité des contre-ions condensés.[25,18]

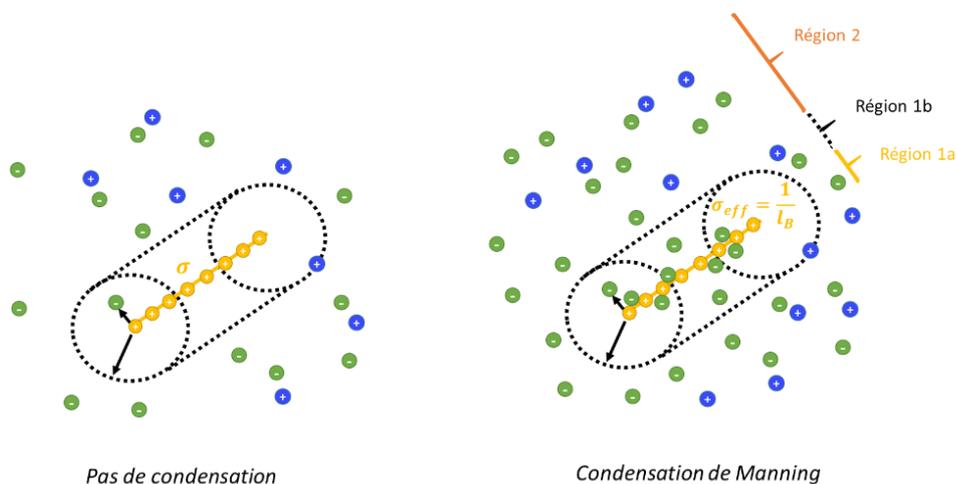


Figure 1-11 : Illustration de la théorie de la condensation des contre-ions de Manning. Dans la région 1a, les contre-ions sont liés à une charge de signe opposé et ne peuvent se déplacer ; dans la région 1b, les contre-ions sont libres de mouvement dans un volume appelé volume de condensation ; La zone 2 où les contre-ions et les co-ions coexistent, est appelée atmosphère de Debye-Hückel.

Il est alors possible d’assimiler cette configuration à celle d’un polyélectrolyte faiblement chargé puisqu’une partie des charges est neutralisée par les contre-ions. Le paramètre de Manning  $\Gamma_M$  définit la densité de charge du polyion comme le rapport de la longueur de Bjerrum sur la distance entre deux charges voisines  $r$  (Equation 1-9).

$$\Gamma_M = \frac{l_B}{r} \tag{Equation 1-9}$$

Tableau 1-7 : Comportement de PE à forte densité de charge en fonction de la valeur du paramètre de Manning-Ôsawa.

	$\Gamma_M < 1$	$\Gamma_M > 1$
Densité de charge	Faible	Forte (instabilité)
Contre-ions	Libres en solution	Condensation : diminution de $\Gamma_M$ jusqu’à $\Gamma_M = 1$ et arrêt de la condensation
Distance entre les charges $r$	$r > l_B$	$r < l_B$

### Conformation des PEs hydrophobes

Dans le cas d’un PE hydrophobe les monomères montrent plus d’affinité avec les autres monomères qu’avec le solvant. Pour minimiser le contact avec le solvant, la chaîne va alors se replier et former un globule à l’instar des gouttelettes d’huile insolubles dans l’eau. Ce globule de diamètre  $D_{globule}$  est formé de blocs thermiques de taille  $\xi_{blob t}$  qui correspondent à la taille pour laquelle l’énergie interfaciale eau-polymère est égale à l’énergie thermique à l’intérieur du bloc.

Ils sont globalement insolubles et doivent posséder un taux de charge  $f$  assez élevé pour leur permettre un minimum de solubilité dans l’eau. Les charges vont avoir pour effet d’étirer la chaîne en créant des zones de répulsion entre blocs. Deux théories s’appliquent à décrire le comportement de ces PE hydrophobes dans l’eau : le modèle en cigare de Khokhlov qui décrit la morphologie résultante comme un cylindre dont les dimensions sont régies par l’énergie électrostatique interfaciale [26] ; et le modèle du collier de perles introduit par Dobrynin et Rubinstein qui se base sur l’instabilité de goutte de Rayleigh (Figure 1-12).[27] A partir d’une certaine charge et sous l’effet de forces à courte portée, la goutte (ici le globule) va se diviser en plus petites gouttes pour minimiser les instabilités. Dans le cas de PE hydrophobes, la chaîne va devenir une succession de ‘perles’ constituée de blocs, reliés entre eux par une chaîne de l’épaisseur d’un bloc. Cette structuration du PE aura de fortes conséquences lors de la complexation avec d’autres PEs ; les systèmes seront généralement instables et auront tendance à

précipiter.[28] Les récentes études et simulations statuent en faveur du collier de perles[29], en tenant compte des contre-ions autour de la corde reliant les perles. Par ailleurs, il est à noter que l'on retrouve le phénomène de condensation des contre-ions dans ces PE lorsque le critère de Manning est vérifié.[12]

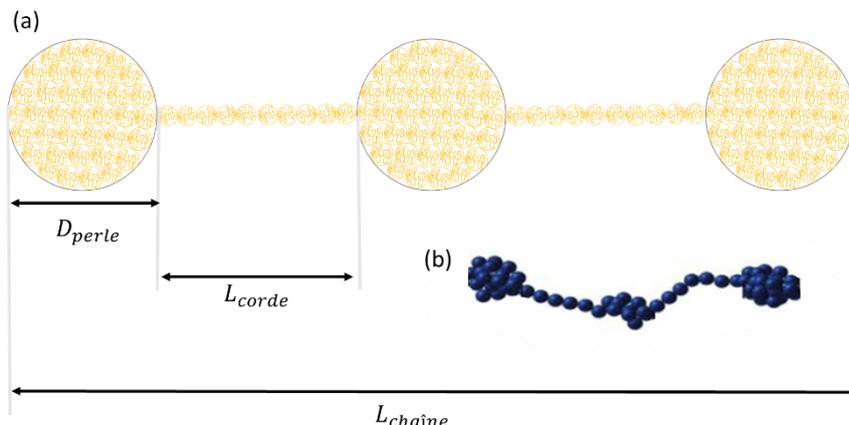


Figure 1-12 : (a) Comportement d'une chaîne de PE hydrophobes à dilution infinie dans l'eau, adapté de [2] ; (b) Simulation de cette même chaîne.[31]

*Régimes dilués et semi dilués : lois d'échelle*

Pour les polymères neutres, on définit différents régimes en fonction de la concentration et de la masse du polymère. Lorsque l'on augmente la concentration, la distance entre les chaînes de polymères diminue jusqu'à une concentration appelée concentration critique de recouvrement  $C^*$ . Cette concentration marque la limite entre les régimes dilués et semi-dilués en solution. Au-delà de  $C^*$ , De Gennes définit l'agencement des chaînes de polymères comme un réseau isotrope caractérisé par le paramètre de maille  $\xi_c$  du réseau formé par les chaînes.[16]

Pour une concentration encore plus élevée en polymère, les chaînes se trouvent ensuite en régime concentré (Figure 1-13).

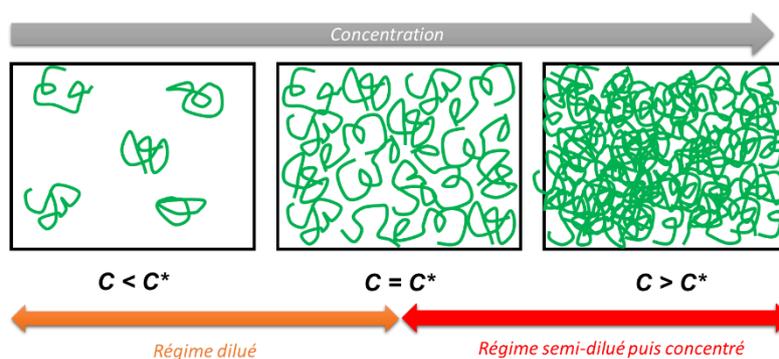


Figure 1-13 : Comportement de chaînes de polymères neutres en bon (gauche) et mauvais solvant (droite), en fonction de la concentration (adapté de [261]). La concentration critique de recouvrement en solvant  $\Theta$  est supérieure à celle obtenue en bon solvant.

La concentration critique de recouvrement  $C^*$  peut être calculée avec l'équation suivante :

$$C^* = \frac{M_W}{\frac{4}{3} \pi R_g^3 \mathcal{N}a} \tag{Equation 1-10}$$

avec  $M_W$  la masse molaire du polymère,  $R_g$  son rayon de giration,  $\mathcal{N}a$  le nombre d'Avogadro.

Par ailleurs, en fonction de la qualité du solvant, le comportement et la conformation des chaînes de polymère varient. En solution très diluée, les chaînes de polymère sont séparées les unes des autres : en solvant  $\Theta$ , la conformation est idéale ; en bon solvant, les chaînes sont en conformation gonflée. Le rayon de giration des pelotes sera donc différent pour ces deux qualités de solvant en milieu dilué :

- $R_g \sim a \cdot N^{3/5}$  pour un polymère en bon solvant
- $R_g \sim a \cdot N^{1/2}$  pour un polymère en solvant  $\Theta$

avec  $N$  le nombre de segments de la chaîne qui forment des pelotes,  $a$  la taille de ces segments

$C^*$  en bon solvant est donc inférieure à  $C^*$  en solvant  $\Theta$  car les interactions répulsives entre les segments des pelotes dominant dans ce cas. On a alors des pelotes gonflées et ainsi le  $R_g$  qui augmente, abaissant ainsi la concentration nécessaire au recouvrement des pelotes.

Dans le cas des polyélectrolytes, on distingue comme pour les polymères des régimes de concentration et un  $C^*$  marquant le passage du domaine dilué au semi-dilué.

Pour les PEs hydrophobes, on peut faire une analogie avec les polymères neutres en solvant  $\Theta$  ; la conformation est plus compacte que pour des PE plus hydrophiles. En effet, les interactions inter et intra chaînes sont dans ce cas plus importantes et donc la limite en concentration  $C^*$  sera plus élevée. On définit deux sous-régimes semi-dilués correspondant à deux paramètres de maille  $\xi_c$  distincts : le régime de la corde (la maille du réseau englobe plusieurs perles reliées par une corde) et le régime de la perle (le réseau est centré sur une perle entourée de corde). Cette valeur  $\xi_c$  est dépendante de la concentration en polymère et de la taille du monomère. Le Tableau 1-8 présente les lois d'échelle de  $C^*$  et  $\xi_c$  en fonction de la nature du PE.

Tableau 1-8: Relations d'échelle de la concentration critique d'enchevêtrement  $c^*$  et de la maille du réseau  $\xi_c$  en régime semi-dilué pour des PEs hydrophiles et hydrophobes.[2]

Nature PE	PE hydrophile	PE hydrophobe	
		Régime de la corde	Régime de la perle
$c$	$\sim l_{\text{monomère}}^{-3} \times l_{\text{chaîne}}^{-2}$	$\sim l_{\text{monomère}}^{-3} \times l_{\text{corde}}^{-2}$	$\sim l_{\text{monomère}}^{-3} \times l_{\text{perle}}^{-2}$
$\xi_c$	$= l_{\text{monomère}}^{-1/2} \times c^{1/2}$	$= l_{\text{monomère}}^{-1/2} \times c^{-1/2}$	$= c^{-1/3}$

Les valeurs expérimentales du paramètre de maille sont obtenues par AFM à travers l'apparition de forces oscillantes dont la période permet de remonter à  $\xi_c$ . [6] Par diffusion de rayons X ou de neutrons on peut aussi déterminer le paramètre de maille à partir de la position du pic de corrélation. [30]

### Effet de l'ajout de sel

Le sel, même à très faible concentration écrante considérablement la portée des interactions électrostatiques. L'ajout de sel augmente la force ionique de la solution et écrante les charges responsables de la conformation étirée de la chaîne. La conformation étirée n'est alors plus possible et le polyélectrolyte peut même adopter la conformation en pelote typique d'un polymère neutre lorsque la force ionique est suffisamment élevée. L'équipe de Kiriy a entrepris de visualiser l'effet de sel sur la morphologie du poly(chlorure de méthacryloxyéthyl de diméthylbenzylammonium) [31]. On observe par AFM le repliement de la chaîne lors de l'augmentation de la salinité du milieu (Figure 1-14).

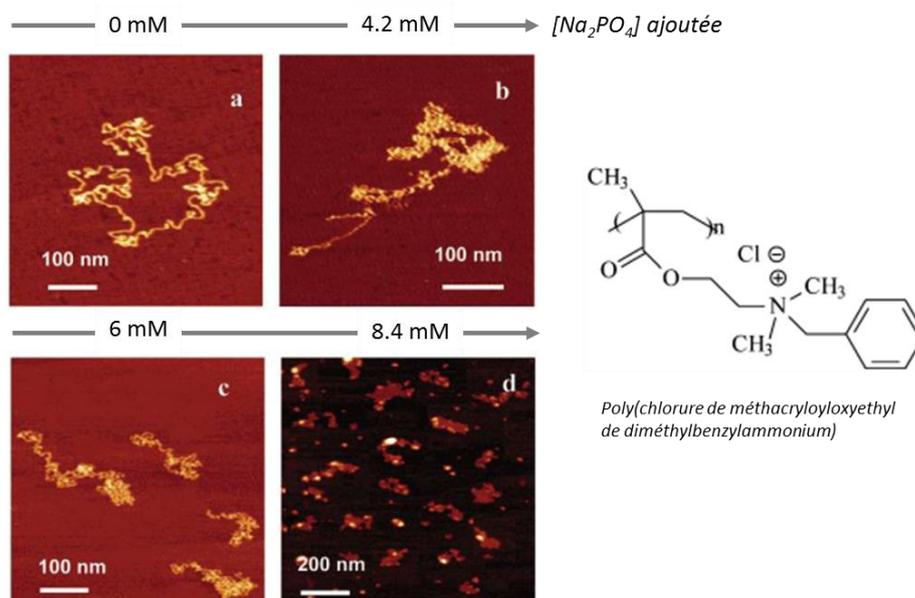


Figure 1-14 : Effet de l'ajout de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$  sur la conformation de chaînes de poly(chlorure de méthacryloyloxyethyl de diméthylbenzylammonium).[31]

L'effet d'écran se traduit aussi par une diminution de l'épaisseur de la couche ionique entourant la chaîne et la longueur de persistance électrostatique  $L_{pe}^*$  du polymère.

Pour le polyacrylate de sodium(PANa), PE flexible étudié dans le chapitre 4, la longueur de persistance chute remarquablement lorsque la force ionique du milieu est augmentée (Tableau 1-9).

$I_s (M)$	$L_p$
0.005	18.8
0.01	11.5
0.05	6.5
0.1	4.4
0.5	2.1
1.5	1.2

Tableau 1-9 : Longueurs de persistance électrostatique pour la PANa en fonction de la force ionique du milieu.[32]

Stoll et Chodanowski ont montré l'influence de la concentration en sel par simulation Monte-Carlo sur la conformation de chaînes de PE flexibles, semi-flexibles et rigides[33,34]. Lorsque la force ionique augmente, les chaînes de PE perdent leur rigidité, et ce jusqu'à des rigidités intrinsèques de chaîne  $k_{ang}$  de  $0.001 \text{ K}_B\text{T}/\text{deg}^2$ .

Dans le cas des PE rigides on observe à  $C_i=1 \text{ M}$ , où l'écrantage des interactions électrostatiques est quasi total, Stoll *et al.* observent la formation de domaines rigides connectés entre eux par des domaines plus flexibles (cadres jaunes). Il est possible de l'expliquer par la perte d'entropie qui accompagne l'augmentation de  $k_{ang}$ . Par contre, on n'observe plus cette structuration dans le dernier cas c'est à dire pour des PE très rigides. Il existe donc une rigidité pour laquelle la chaîne est peu sensible à la force ionique en solution (cadre bleu).

Lorsque l'on se place dans le cas de chaînes flexibles à  $k_{ang}=0$ , la diminution de la quantité de sel s'accompagne de la formation de structures en cylindre pour minimiser l'énergie électrostatique entre monomères.

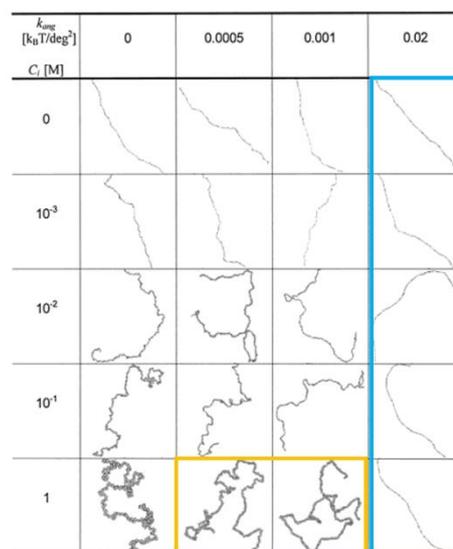


Figure 1-15 : Conformations de chaînes de 200 monomères de PE isolés par simulation Monte-Carlo en fonction de la rigidité  $k_{ang}$  du PE et de la concentration en sel  $C_i$ .[34]

\*  $L_{pe} = \frac{l_B \lambda_D^2}{4r^2 \Gamma_M^2}$  et  $L_p = L_{pi} + L_{pe}$  avec  $r$  la distance entre deux unités chargées

## 1.1.1.4 Dynamique des solutions de PEs

Après avoir passé en revue la statique des polyélectrolytes en solution, cette partie s'intéresse à leur comportement dynamique. En effet, les solutions de polyélectrolytes sans sel ajouté, ou à faible force ionique, montrent un comportement atypique.[35] Ainsi, deux types de relaxation peuvent être observés en diffusion dynamique de la lumière : une relative à la diffusion des chaînes (mode rapide) et une autre liée à la présence de domaines pour le mode lent.[36]

*Le mode rapide*

En solution, les temps de relaxation mesurés pour les chaînes de PE sont 'anormalement' faibles au vu de leur taille. Sedlak montre que le coefficient de diffusion  $D_f$  d'une chaîne de PE n'est pas si faible par rapport au coefficient de diffusion d'un ion isolé ( $D_{NaCl}=1.7 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) lorsque l'on ajoute du sel dans une solution de PE.[36] C'est donc suite à la dynamique couplée entre les macromolécules et les contre-ions que l'on voit l'apparition d'un mode rapide, considéré comme le comportement de diffusion 'normal' au sein de la solution. Deux théories tentent d'expliquer ce phénomène. La théorie de mode couplé explique que ce phénomène de relaxation est lié au couplage entre les charges portées par le PE et les contre ions. Une seconde théorie fait état d'une interaction de particules browniennes accélérées par la nature chargée des PE et les interactions électrostatiques entre les chaînes.

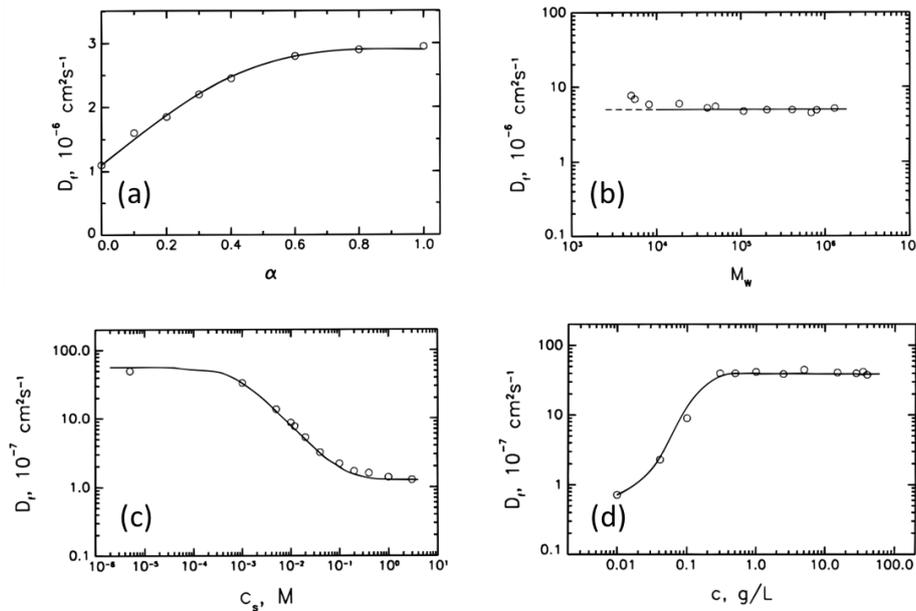


Figure 1-16 : Evolution du coefficient de diffusion  $D_f$  associé au mode rapide [35] en fonction : (a) du degré de neutralisation  $\alpha$  (acide poly méthacrylique,  $M_w=30\,000$ , g/mol  $c=36.6$  g/L) ; (b) de la masse molaire du PSSNa,  $c=45.6$  g/L à  $90^\circ$  (c) de la concentration en NaCl ajouté (mol/L) (PSSNa,  $M_w=1\,200\,000$ ,  $c=5$ g/L) ; (d) de la concentration en polyélectrolyte (g/L) (PSSNa,  $M_w=100\,000$ ,  $c=5$ g/L ).[37–40]

Le rapport de concentration (contre ion/motifs chargés) étant globalement constant, le coefficient de diffusion dépendra essentiellement du taux de charge  $f$  du PE (Figure 1-17 a). Le mode rapide dépend de l'intensité des interactions électrostatiques. Lorsque la force ionique augmente, le couplage des charges du PE avec les contre ions est écranté d'où une diminution de  $D_f$  avec la concentration en sel (Figure 1-17 c). Ce mode ne dépend pas de la masse molaire des PEs. On observe la même valeur de  $D_f$  pour des chaînes de faible masse où les chaînes ne peuvent s'enchevêtrer et pour des PEs de très forte masse qui sont enchevêtrés ; dans ce cas,  $D_f$  traduit la diffusion couplée des contre ions avec les segments de polymères entre enchevêtrements (blobs). Enfin, concernant la dépendance du mode rapide à la concentration de PE, deux régimes de concentration peuvent être mis en évidence (Figure 1-17 d). À forte concentration,  $D_f$  est élevé et constant ce qui traduit un couplage fort entre les contre ions et les charges du PE. En diminuant la concentration molaire en PE, les contre ions sont de

moins en moins nombreux à proximité de la chaîne et ainsi leur influence sur la dynamique des chaînes est fortement atténuée. Par ailleurs, comme les contre ions sont relativement libres de diffuser dans l'ensemble de la solution dans ce régime de concentration, ils peuvent participer à l'écrantage des charges entre les PEs ce qui contribue aussi à diminuer  $D_f$ . Il est important de préciser que la transition entre les deux régimes ne correspond pas à la transition dilué  $\rightarrow$  semi dilué. Typiquement sur la Figure 1-17 d,  $C^*$  est situé sur le plateau supérieur. Cela confirme que la dynamique des PEs est dominée par le mode couplé : la diffusion des segments de PEs dans le régime semi dilué est similaire à celle des chaînes globales de PE dans le régime dilué.[37–40]

### *Le mode lent*

Ce mode de diffusion doit son origine à la présence de domaines de chaînes plus compactes ou encore d'agrégats en solution. Il est observé en plus du mode rapide au-delà d'une concentration critique en polymère. L'étude du coefficient de diffusion associé à ce mode,  $D_s$ , montre une très forte dépendance angulaire qui peut être interprétée comme la présence d'objets de taille importante.[37,41] Il a été montré en utilisant le loi de Stokes Einstein\* que la diffusion provient de l'enchevêtrement de plusieurs chaînes, formant des structures compactes d'indice de réfraction différent de celui de la solution.[35]

Le comportement de ce mode lent a lui aussi été étudié en fonction de différents paramètres en particulier la concentration en PE.[40] Le coefficient de diffusion  $D_s$  varie avec la concentration en PE et diminue lorsque celle-ci augmente mais n'atteint pas un plateau comme pour  $D_f$ . [42]

Enfin, très récemment, Muthukumar indique que le mode lent est dû à la formation de paires de dipôles de type 'charge-contre ion' qui permettent aux chaînes de PE en solution d'être en interaction les unes avec les autres. Il en résulte la formation d'un réseau semblable à un microgel, caractérisé par un vecteur de magnitude  $U_0$  qui représente la force d'attraction de deux dipôles adjacents moyennée sur l'ensemble des orientations possibles (Figure 1-17 b).  $N$  quantifie le nombre de motifs polymères entre deux nœuds formés par ces dipôles.[35] Quand on rajoute du sel, les interactions dipôles-dipôles sont alors détruites et ce mode disparaît. C'est ce que l'on a observé expérimentalement sur nos solutions de PDADMAC et de PSSNa (voir chapitre 4).

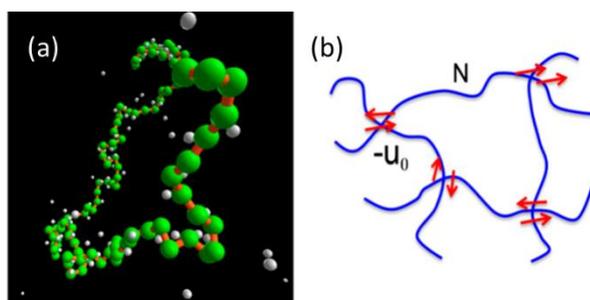


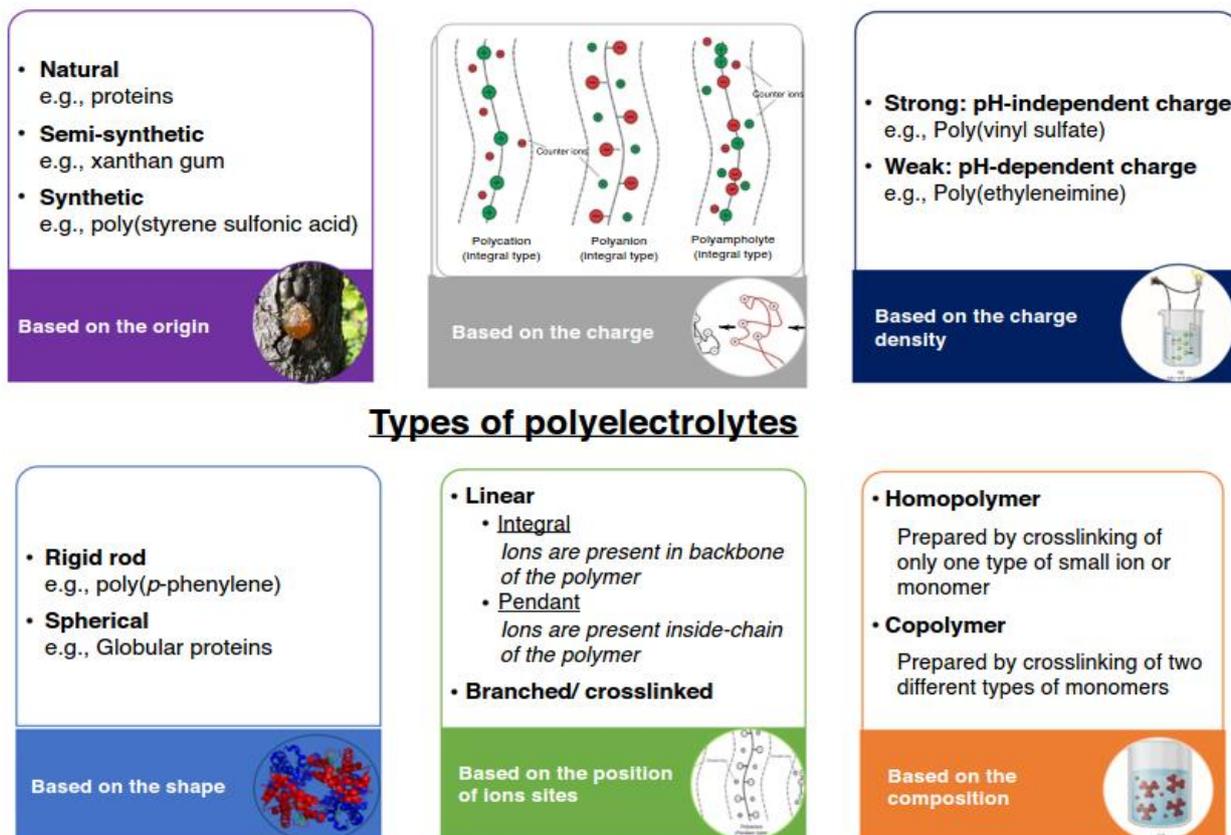
Figure 1-17 : (a) Nuage créé par les contre-ions (en gris), entourant une chaîne de polyélectrolyte (en vert). La mesure de la dynamique de la chaîne et de ses contre-ions est caractérisée par le mode rapide. (b) Schéma présentant des paires dipôle-dipôle à l'origine de la formation d'agrégats de type microgel ; ce comportement est attribué au mode lent.

## 1.1.2 Conclusion

Les polyélectrolytes sont des polymères qui allient les propriétés des polymères et ceux des entités chargées et dont le comportement est propre et unique. Large est la palette des PEs, si bien que le choix du type de polyélectrolytes va alors dépendre essentiellement de l'utilisation et des propriétés

\*  $D = \frac{kT}{6\pi\eta R}$  avec  $k$  la constante de Boltzman,  $\eta$  la viscosité du solvant,  $T$  la température du milieu en Kelvin,  $R_H$  le rayon hydrodynamique de la particule

souhaitées (hydrophobes, hydrophiles, amphiphiles...). La Figure 1-18 classe ceux-ci en fonction de plusieurs propriétés. L'intérêt principal de ces macromolécules chargées étant leur aptitude à former des complexes en solution et aux interfaces par interaction électrostatique avec diverses entités chargées (polyélectrolytes, ions, nanoparticules...), la partie suivante s'intéressera plus particulièrement au mécanisme de complexation et aux propriétés des complexes.



Drug Discovery Today

Figure 1-18 : Classification des polyélectrolytes en fonction de la nature des charges et de leur position le long de la chaîne.[54]

## 1.2 Complexes de polyélectrolytes

Les complexes de polyélectrolytes, résultant de l'association non covalente de polyions de charge opposée, ont suscité ces dernières décennies un intérêt croissant comme en témoigne l'augmentation des études aussi bien théoriques qu'appliquées en passant par les brevets déposés en Figure 1-19.

On les trouve dans la littérature sous le nom de PECs pour polyélectrolytes complexes, PICs pour polyions complexes, ou encore IPECs (interpolyelectrolyte complexes). Présents dans la nature sous forme d'acide nucléiques, de protéines ou de polysaccharides, les PECs sont des structures auto-assemblées à l'origine de nombreux processus dans les systèmes vivants (adhésion des microbes sur la surface de leur cible ou compaction de l'ADN autour des histones par exemple). Ces systèmes ont été utilisés et imités en version synthétique dans des domaines aussi variés que l'encapsulation en industrie agroalimentaire et pharmaceutique [43,44], les matériaux [45,46], la génétique [47], le traitement des polluants [4], l'industrie du papier [5,48], les adhésifs, l'électronique et la photonique. En particulier l'approche 'layer-by-layer' développée par Decher à l'aube des années

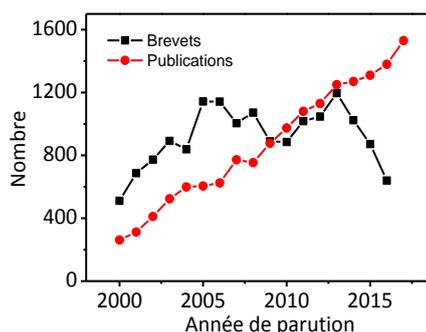


Figure 1-19 : Nombre de brevets (noir) et publications (rouge) par année de parution en réponse à la recherche 'polyelectrolyte complexes' sur Google Scholar.

2000 a été très clairement à l'origine d'un regain d'intérêt pour les complexes de polyélectrolytes dont les principaux fondements ont été établis dans les années 70-80 par les équipes de Kabanov (Russie) et Tsuchida et Abe (Japon).[49–53]

Ces complexes vont dépendre principalement des caractéristiques moléculaires des polyélectrolytes, de leurs propriétés en solution et aussi de la distribution des charges sur la chaîne et de leur degré d'ionisation. Leur morphologie dépend de la nature des polymères et de la formulation choisie; il est possible de les retrouver sous des formes aussi diverses que des espèces solubles, des hydrogels, des agrégats, des nanoparticules, des phases macroscopiques structurées ou homogènes ou encore des films multicouches.[54] Leur taille varie entre l'échelle nanométrique et le micron, c'est à dire l'échelle colloïdale. Le Tableau 1-10 rassemble un certain nombre d'applications des PECs classées en fonction de propriétés spécifiques mises en jeu dans le co-assemblage.

Tableau 1-10 : Applications des PECs en fonction des interactions engagées (adapté de [55]).

<i>Interactions spécifiques en jeu</i>	<i>Application</i>
<i>surfaces chargées</i>	Additifs en cosmétique et détergence[56,57] Modification de surfaces et interfaces (antistatique, senseurs, multicouches)[58] Séparation et concentration de molécules biologiques[59]
<i>contre-ions</i>	Support pour la filtration-élimination ou résine échangeuse d'ions [60,61] formation de gels avec des ions multivalents [62]
<i>tensioactifs</i>	Formation de complexes insolubles PE-TA pour modifications de surface de basse énergie [63] Formation de structures ordonnées [66,67]
<i>petites molécules chargées</i>	Formation de complexes solubles et insolubles PE-molécules actives [64–66]
<i>particules chargées</i>	Processus de floculation pour le traitement des eaux usées [69] Démouillant pour l'industrie du papier[5] Floculant flottant, hydrogels pour la dépollution de sites[4]

## 1.2.1 Formation des complexes

### 1.2.1.1 Mécanisme de formation

Lors de la mise en contact de deux entités de charge opposée illustrée dans la Figure 1-20, plusieurs phénomènes entrent en jeu et sont à l'origine de du processus de complexation [67]: (i) la formation de liaisons électrostatiques ou 'liaisons salines' entre les motifs de charge opposée ce qui permet de diminuer considérablement l'énergie de surface des PEs, (ii) la libération de contre-ions initialement associés aux charges, (iii) et la déshydratation des groupements chargés ce qui augmente l'entropie du système et favorise donc la complexation. Par ailleurs, d'autres interactions peuvent être engagées lors de la complexation: les liaisons hydrogène, les interactions de van der Waals et l'effet hydrophobe qui se manifeste par un gain entropique liée à la libération de molécules d'eau lorsque des domaines hydrophobes interagissent entre eux.

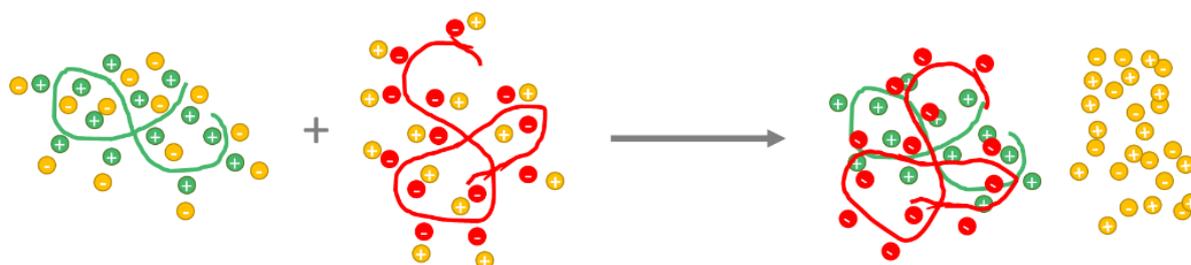


Figure 1-20 : Complexation de deux polymères chargés de charge opposée en solvant aqueux.

En solution diluée en l'absence de sel, les modélisations de Ou et Muthukumar en bon solvant et en supposant l'équilibre thermodynamique montrent que l'appariement des chaînes de polyélectrolytes découle de plusieurs étapes : la Figure 1-21 a illustre le rapprochement des deux chaînes, la complexation d'une partie accessible de la chaîne fortement chargée ; suivie de la complexation totale et de la réorganisation en une structure relativement compacte qui en pratique peut se manifester par l'apparition d'un précipité lorsque l'on a des polyélectrolytes forts.[22,68]

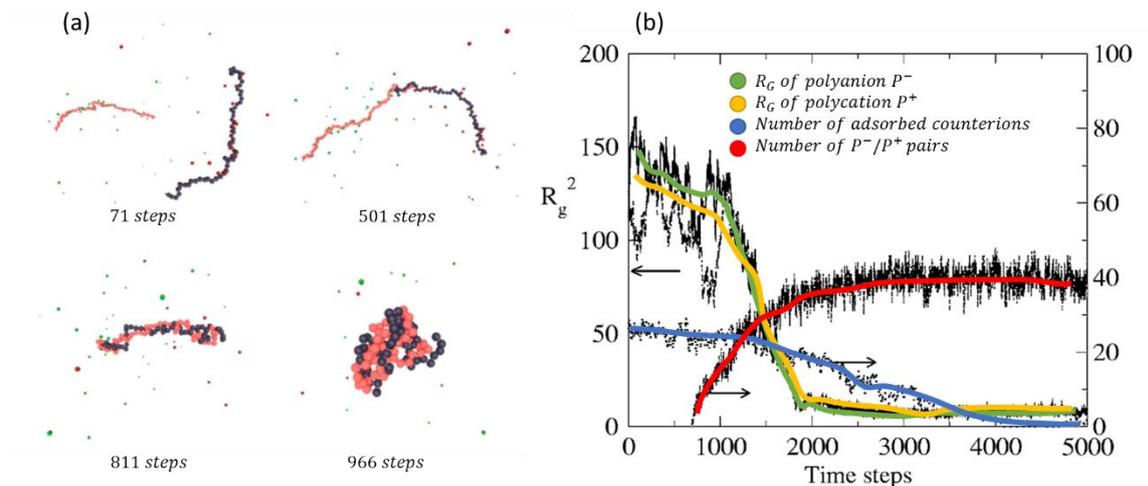


Figure 1-21 : (a) Captures des configurations des chaînes lors de la complexation d'une chaîne anionique (noire) avec une chaîne cationique (rouge) en solution sans sel ajouté. La longueur des chaînes est fixée à  $N=60$ , la valence des contre-ions est de  $Z_c = 1$ , le paramètre de Manning  $\xi_M = \frac{l_b}{b} = 2$ . (b) Evolution temporelle du rayon de giration des chaînes de polyanion et de polycation durant la formation des complexes, et variation du nombre de contre-ions adsorbés ainsi que du nombre de paires polyanion-polycation formées pendant la complexation.

La Figure 1-21 b présente l'évolution du rayon de giration des polymères en fonction du temps. Cette évolution est directement liée à la libération des contre-ions initialement adsorbés sur les chaînes et le nombre de liaisons salines formées. On note une très forte diminution du rayon des polymères en accord avec une augmentation du nombre de paires de PE et le repliement des chaînes dans les complexes. Les courbes décrivant l'évolution de  $R_g$  et le nombre de liaisons salines formées atteignent rapidement un palier correspondant à la complexation totale des chaînes présentes en solution. Le nombre de contre-ions adsorbés sur les chaînes libres quant à lui diminue régulièrement au cours de la complexation jusqu'à leur libération totale dans le milieu lorsque l'appariement des chaînes de PE est total.

### 1.2.1.2 Structure des complexes

La structuration des complexes est tout d'abord décrite à l'échelle des chaînes de polymères puis les structures à l'échelle macroscopique qui en découlent sont présentées. Le processus de complexation est décrit dans la littérature en trois étapes principales illustrées ci-dessous (Figure 1-22) : (i) Dans un premier temps des complexes primaires résultant des forces électrostatiques sont formés ; (ii) Des complexes secondaires peuvent être formés après réorganisation interne des complexes ; (iii) À l'échelle des complexes, on peut dans certaines conditions assister à une agrégation des complexes entre eux sous l'action de forces hydrophobes principalement.

Deux principaux types de structures ont été identifiés à l'échelle moléculaire (Figure 1-22) : les complexes ordonnés en échelle\* et les complexes aléatoires désordonnés appelés aussi 'œufs brouillés†'. Certains facteurs favorisent la réorganisation intra-complexe : la rigidité du squelette du PE, une force ionique et une concentration faible en solution ou une distance inter charge similaire pour les deux PEs. De façon générale, les complexes secondaires 'ordonnés' en échelle sont assez rares car le taux de collision entre les chaînes de PEs est élevé et les structures complexées se retrouvent ainsi souvent figées dans des conformations aléatoires et les complexes en œufs brouillés interagissent donc directement avec d'autres complexes.

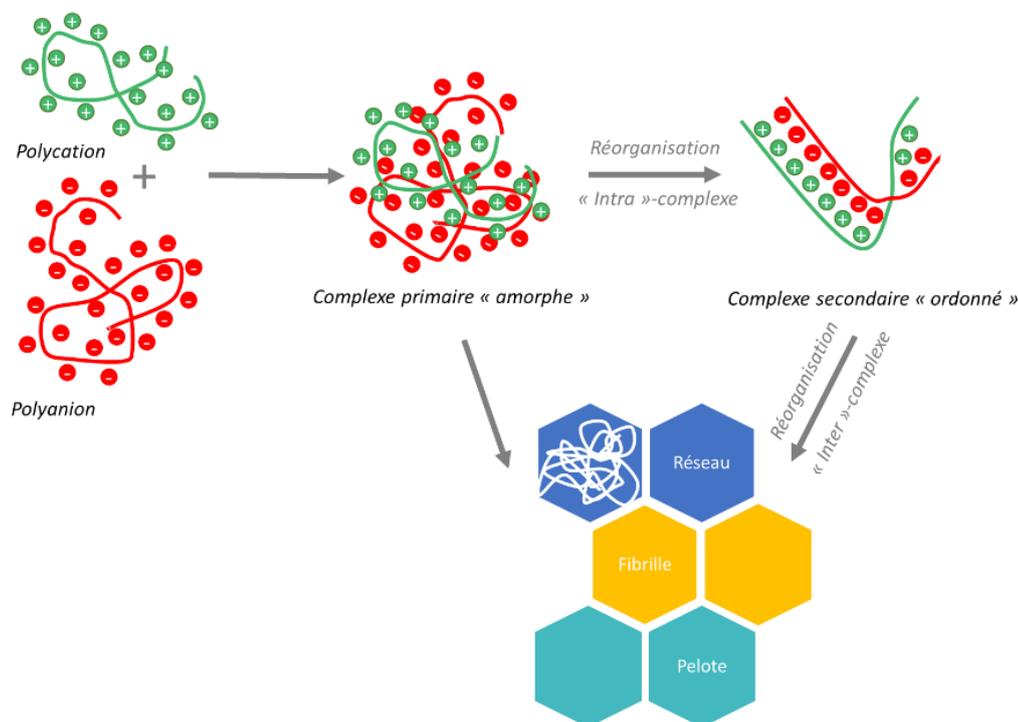


Figure 1-22 : Schématisation de la réorganisation des PECs lors de la complexation de deux polymères chargés de charge opposée.

### 1.2.1.3 Morphologies des complexes

À l'échelle macroscopique les systèmes complexés de PEs peuvent se présenter sous différentes formes : (i) des PECs solubles ou hydrodispersés, qui forment une phase macroscopiquement homogène et ne sont pas visibles en microscopie optique; (ii) des systèmes colloïdaux turbides formés de particules (solides) de complexes chargés; (iii) des complexes précipités, issus d'une séparation de phase liquide-solide ; et des coacervats, issus d'une transition liquide-liquide (Figure 1-23).[69] De façon générale, c'est l'intensité de l'interaction mise en jeu entre les polyions de charge opposée qui va définir si la complexation donnera lieu à une transition liquide-solide ou liquide-liquide. Par ailleurs, le rapport de charge mis en jeu déterminera si les complexes formés sont à la stœchiométrie de charge ou non. Très souvent l'ajout d'un excès de polyion permet de former des complexes solubles ou dispersés (colloïdaux) stabilisés par l'excès de charges non complexées.

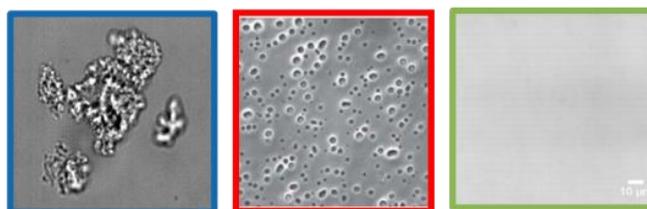


Figure 1-23 : Illustration des types de PECs rencontrés : agrégats, coacervats et complexes en solution par microscopie optique (PECs solubles et insolubles). La barre d'échelle est de 10 µm.

\* ladder-like structure

† Scrambled eggs model

*Interaction forte et précipitation*

L'interaction des systèmes contenant des PE forts est le siège de fortes interactions électrostatiques et la morphologie associée à la stœchiométrie est un agrégat solide qui sédimente avec le temps (précipité). On peut citer dans les PE présentant de tels comportements les couples PSSNa/PDADMAC, PSSNa/PEI ou encore PAA/PAH. Lors de la mise en contact des polymères, l'interaction très forte entre les charges opposées entraîne l'expulsion de l'eau et des contre-ions menant le système à une transition irréversible liquide-solide.

Michaels met en évidence la libération progressive et totale des contre-ions par mesure de la conductance lors de complexation du chlorure de poly(vinylbenzyltrimethyl-1-ammonium) VBTA(Cl) par le polystyrène sulfonate PSSNa (Figure 1-25).[70] À l'équivalence, on note l'augmentation de la conductance en adéquation avec la libération des contre-ions chlorure et sodium jusqu'à l'équivalence. Les auteurs montrent également que le sens du dosage n'affecte pas l'efficacité de la complexation.

Ces systèmes libèrent donc des contre-ions au fur et à mesure et précipitent lorsqu'on atteint l'équivalence. Hors stœchiométrie, c'est-à-dire en présence d'un des deux PE en excès, on assiste à la formation de particules colloïdales (dispersion) stabilisées à leur surface par le polyion en excès (Figure 1-24).

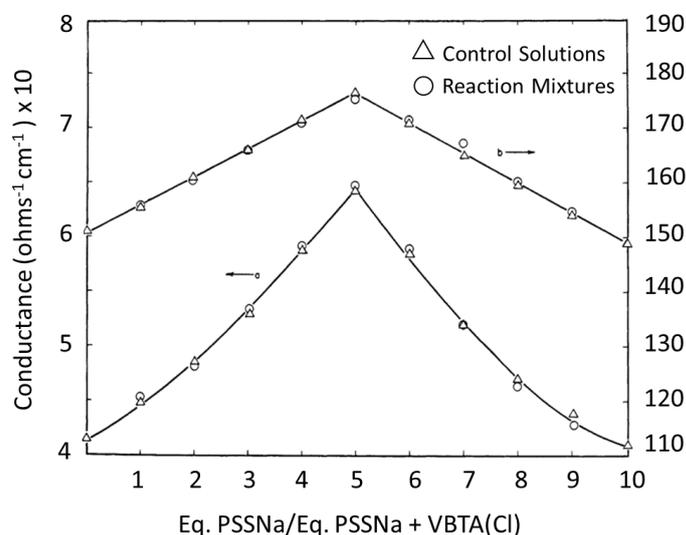


Figure 1-25 : Suivi de la conductance en solution sans sel lors de la réaction entre le PSSNa et le VBTA(Cl) pour des concentrations en charge de (a) 10<sup>-3</sup>M et (b) 10<sup>-2</sup> M pour chacun des PE en fonction de l'avancement de la réaction

$$X = \frac{[PSS(Na)]_{eq}}{[PSS(Na)]_{eq} + [VBTA(Cl)]_{eq}}$$

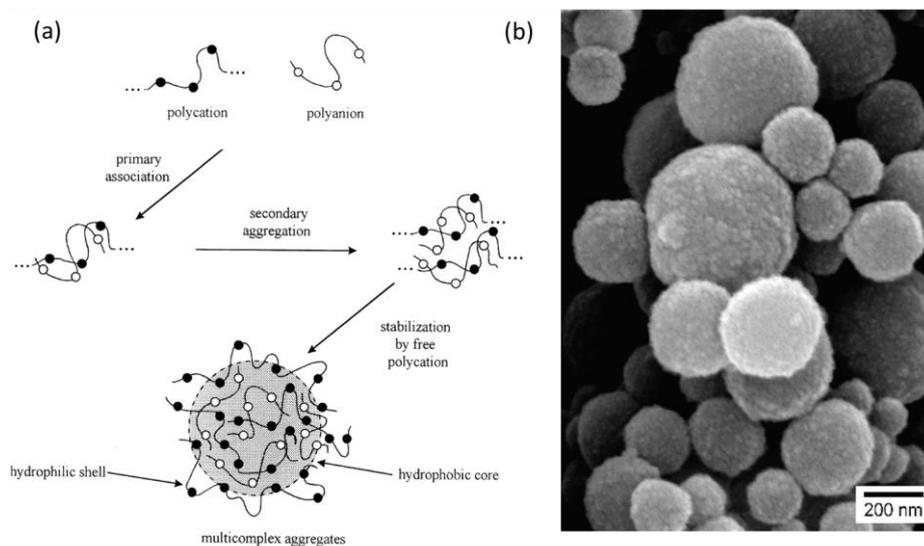


Figure 1-24 : (a) Formation de PECs colloïdaux en solution stabilisés par interactions électrostatiques en présence d'un excès de polycation ; (b) particules colloïdales de chitosane/ sulfate de dextrane observées en MEB.[72]

Les auteurs [71,72] postulent que ces structures comportent une structure cœur-écorce ; le cœur est globalement neutre (la complexation des charges crée des domaines hydrophobes dans l'eau) tandis que la couche externe hydrophile est constitué du PE en excès. Les particules de PECs sont stables dans ces conditions car l'excès de PE à la surface génère des répulsions électrostatiques entre les particules. Ces nanoparticules de PEs complexés ont des applications thérapeutiques, par exemple pour la vectorisation d'acides nucléiques. Il est également possible de moduler la charge de surface en fonction de la nature du polyion en excès (Figure 1-26 gauche). En solution, leur présence est attestée par la turbidité des échantillons et leur aspect bleuté (effet Tyndall) signe d'un assemblage colloïdal diffusant la lumière. L'utilisation de technique de diffusion de la lumière (DLS, SLS) et des neutrons (SANS) permet de caractériser ces assemblages. Une expérience classique de suivi DLS de la taille des complexes polyéthylèneimine/polyacide acrylique(PEI/PAC) en fonction du rapport de charge des deux PE est présentée (Figure 1-26).[73]

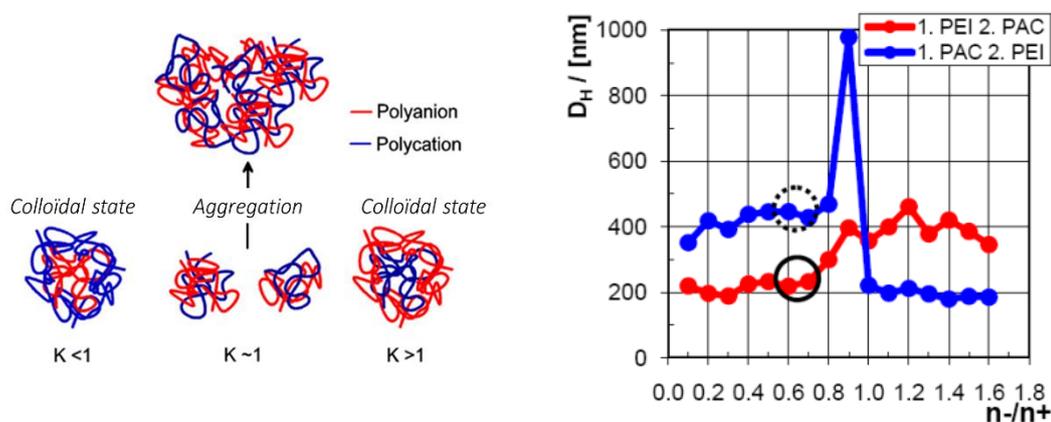
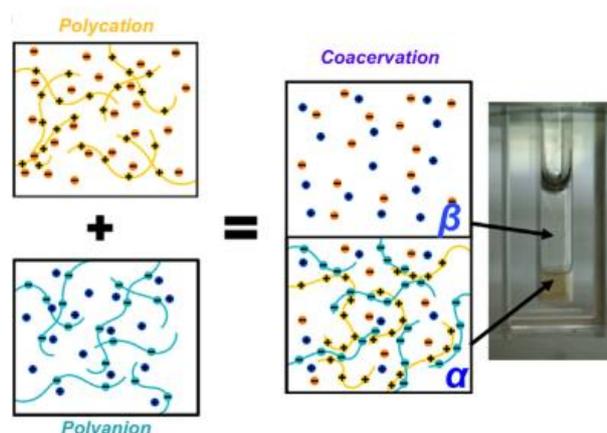


Figure 1-26 : (gauche) Domaines d'existence des particules colloïdales pour un système à forte interaction, alginate/chitosane, en fonction du rapport en charge  $K = \frac{P^-}{P^+}$  des deux polymères.[71] (droite): Taille de particules de PEI/PAC en fonction du rapport  $Z=n^-/n^+$ , avec une concentration  $C_{PE}=0.001$  M et le pH des PEs :  $pH_{PEI}=10$  et  $pH_{PAC}=4$ . [73]

### Interaction faible et coacervation

Lorsque l'on complexe des PEs dits faibles, les interactions sont moins intenses que dans le cas précédent et ces systèmes ont tendance à coacerver c'est-à-dire à former une phase homogène, dense et liquide. Ces coacervats, sont des structures très hydratées (50% à 90% d'eau) en équilibre thermodynamique avec une phase appauvrie en polymère (Figure 1-27). L'existence d'une tension de surface très faible entre ces deux phases ( $<1mN/m$ ) favorise la coalescence des gouttes de coacervat en une phase homogène avec le temps.[74]



Bungenberg de Jong fut le premier à mettre un nom sur cette morphologie particulière en 1929 lors de ses travaux sur les complexes à base de gomme arabique et de gélatine.[75] Oparin et Haldane, ont même émis l'hypothèse que les premières traces de vie aient pu apparaître dans un coacervat de biomolécules.[76]

Figure 1-27 : Composition d'un système de PE de charge opposée formant un coacervat. La phase  $\alpha$  représente le surnageant et la phase  $\beta$  le coacervat. [262]

Les domaines d'application sont variés pour ces structures à l'équilibre thermodynamique. Les premières études ont été menées sur des polymères chargés d'origine naturelle tels les protéines (gélatine,  $\beta$ -lactoglobuline..) et les polysaccharides (gomme d'acacia, alginates...) pour des applications dans l'industrie agroalimentaire, les biotechnologies, le médical ou les cosmétiques. En effet, une des

caractéristiques des coacervats est de permettre aux polymères et protéines de conserver leur activité biologique au sein du système comme cela a été démontré avec des enzymes immobilisées dans un coacervat.[77] On trouve par ailleurs des coacervats complexes formés à partir de PEs naturels (protéines) et synthétiques utilisés pour purifier les protéines ou faire de l'encapsulation [78,79]. Des coacervats à base de micelles de tensioactifs (colloïdes chargés) et de polyélectrolytes ont également été décrits[80–82]. Ils sont actuellement utilisés en biologie synthétique comme protocellules.[83]

Sanchez *et al.* ont rationalisé le mécanisme de complexation et de coacervation sur un système à base de gomme d'acacia et de  $\beta$ -lactoglobuline en utilisant la diffusion de lumière. Ils décrivent le processus de coacervation par un mécanisme de nucléation-croissance.[84–86]

Hors stœchiométrie et comme dans le cas des systèmes interagissant fortement, on peut former des complexes colloïdaux. Cependant, en raison d'interactions plus faibles les complexes ont une structure plus hydratée. Dans certains cas, on note même la présence de PECs solubles c'est-à-dire constitués de longues chaînes de PE (accepteur, guest PE, GPE) sur laquelle viennent se complexer quelques chaînes d'un petit PE de charge opposée (donneur, host PE, HPE). Souvent considérés dans le domaine des biotechnologies comme des particules, ces PECs solubles trouvent leur singularité dans le fait de mettre en jeu des PEs de masses molaires très différentes. Ces complexes sont à l'équilibre avec les PE libres (Figure 1-28). Kabanov et Zezin[53] ont mis en évidence les prérequis nécessaires à la formation de ce type particulier de complexes [87]:

- (i) Une forte dissymétrie des masses molaires des PEs de charge opposée
- (ii) Un excès de HPE de telle façon que le rapport de charge soit:

$$Z = \frac{[GPE]_{charge}}{[HPE]_{charge}} < 0.2 - 0.5 \quad [88]$$

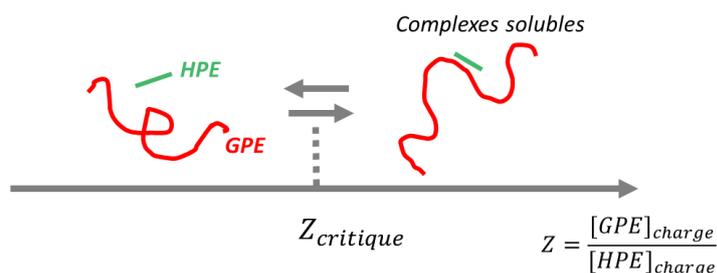


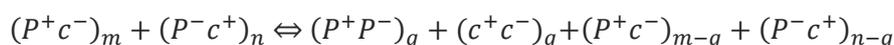
Figure 1-28 : Illustration des domaines d'existence des PECs solubles en fonction du rapport en charge des deux PEs en jeu.

## 1.2.2 Techniques usuelles de caractérisation

La caractérisation des PECs comprend une très large gamme de méthodes analytiques. Il est possible de suivre les variations de la turbidité, du pH, de la force ionique, ou encore de la viscosité du milieu. La structure des complexes est élucidée par l'étude de la diffusion statique et dynamique de la lumière [89–91] et des neutrons [92–96] ou la diffraction de rayons X.[97,98] Des techniques comme l'électrophorèse, la RMN [99,30], la microscopie (AFM, MEB, confocale, optique), les titrages potentiométriques, de turbidité, ou l'analyse thermique des mélanges (ITC, DSC) [100] permettent également de déterminer les caractéristiques morphologiques et thermodynamiques des systèmes.

### 1.2.2.1 Suivi de la complexation

On peut écrire la réaction de complexation entre deux PEs en adoptant le formalisme propre à toutes réactions chimiques :



avec  $P^+$ ,  $P^-$  les fonctions ionisables portées par les polyélectrolytes respectivement cationiques et anioniques, accompagnés de leurs contre-ions respectifs  $c^-$ ,  $c^+$ .

Afin de faciliter le suivi de la complexation, on peut définir deux paramètres d'intérêt :

- (i) le rapport molaire de charges initial  $Z$
- (ii) le facteur stœchiométrique  $S$

Dans cette thèse toutes les concentrations sont données en mole par litre de motifs chargés.

(i) Le rapport molaire de charges décrit la composition initiale du mélange:

$$Z = \frac{[P^+]_{initial}}{[P^-]_{initial}} \text{ ou } \frac{[P^-]_{initial}}{[P^+]_{initial}} \text{ avec } P^- : \text{ polyanion et } P^+ : \text{ polycation}$$

(ii) Le facteur stœchiométrique donne la composition du complexe à tout moment de la réaction :

$$S = \frac{[P^+]_{complexe}}{[P^-]_{complexe}} \text{ ou } \frac{[P^-]_{complexe}}{[P^+]_{complexe}}$$

La détermination de ces paramètres est cruciale pour le suivi des réactions et la compréhension de l'impact de la formulation sur la complexation. Diverses méthodes sont utilisées pour détecter et quantifier les PEs complexés et non complexés. En particulier, pour déterminer  $S$ , Drogoz *et al.* séparent les chaînes de polyélectrolytes (chitosane et sulfate de dextrane) non complexées des particules de complexe, puis quantifient les chaînes libres par dosage spectroscopique avec un pigment dont la longueur d'onde d'absorption varie en fonction de l'état de complexation.[101]

### 1.2.2.2 Techniques de diffusion

En préalable des chapitres expérimentaux, cette partie introduit les phénomènes de diffusion mis en œuvre tout au long de cette thèse, afin de montrer les informations accessibles lors de l'utilisation de ces techniques, et plus particulièrement la diffusion de la lumière.

Les techniques de diffusion constituent les principales méthodes de caractérisation de la matière colloïdale. Elles sont basées sur la diffusion élastique du rayonnement qui est un phénomène affectant les ondes au passage de la matière et permettent d'accéder à certaines propriétés structurales de la matière (forme, taille, masse, dispersité...).[20,102] On peut classer les trois techniques de diffusion en fonction du type de rayonnement utilisé : la diffusion de la lumière, la diffusion des neutrons et celle des rayons X aux petits angles.

Le principe général illustré sur la Figure 1-29 est le suivant ; une onde plane monochromatique, d'intensité  $I_0$  et de longueur d'onde  $\lambda_0$  traversant un milieu voit sa propagation modifiée, et une partie du rayonnement est diffusée dans toutes les directions de l'espace. On étudie alors le rayonnement diffusé selon un angle d'observation choisi  $\theta$ .

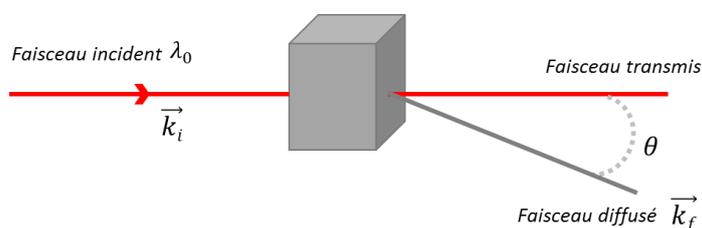


Figure 1-29 : Diffusion d'un rayonnement incident de longueur d'onde  $\lambda_0$  au travers d'un échantillon. Les vecteurs d'onde des faisceaux incidents et diffusés sont caractérisés par  $\vec{k}_i$   $\vec{k}_f$  et l'angle d'observation est noté  $\theta$ .

L'intensité diffusée dépend de  $\theta$ , et est communément exprimée en fonction du vecteur de diffusion  $\vec{q}$  dont la norme s'exprime comme suit :

$$\|\vec{q}\| = q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \text{ avec } \vec{q} = \vec{k}_i - \vec{k}_f \quad \text{Equation 1-11}$$

Les différentes techniques précitées se différencient par la longueur d'onde du faisceau incident utilisé et donc de la gamme de  $q$  accessible (Tableau 1-11).

Tableau 1-11 : Tableau récapitulatif des spécificités des différentes techniques de diffusion.

<i>Technique de diffusion</i>	<i>Longueur d'onde (<math>\text{\AA}</math>)</i>	<i>Domaines de vecteur d'onde (<math>\text{\AA}^{-1}</math>)</i>
<i>Diffusion de la lumière</i>	$4000 < \lambda_0 < 7000$	$5.10^{-5} < q < 3.10^{-3}$
<i>Diffusion des rayons X</i>	$0.2 < \lambda_0 < 2$	$2.10^{-4} < q < 5.10^{-1}$
<i>Diffusion des neutrons</i>	$1 < \lambda_0 < 20$	$2.10^{-4} < q < 5.10^{-1}$

L'inverse du vecteur de diffusion  $q^{-1}$ , peut être perçu comme l'échelle d'observation accessible en diffusion. Il est alors possible de décrire les différents domaines d'observation en fonction de  $q$  comme cela est représenté sur la Figure 1-30 dans le cas de chaînes polymères en solution (Tableau 1-11)

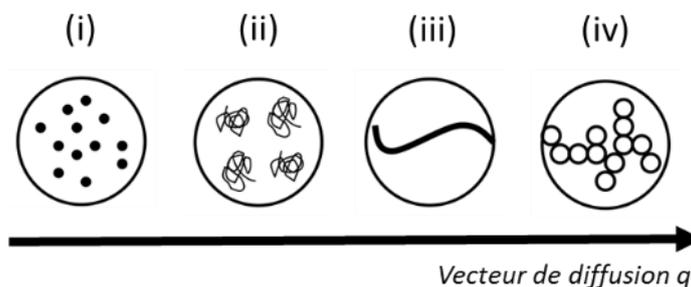


Figure 1-30 : Domaines d'observation en diffusion de rayonnement en fonction du vecteur de diffusion pour un polymère en solution dilué.

- (i) Aux faibles valeurs de  $q$ , les chaînes polymères sont détectées comme des objets ponctuels dont on peut déterminer le nombre et la masse molaire.
- (ii) Lorsque l'on augmente le vecteur de diffusion, on passe d'objets ponctuels à des macromolécules dont on peut déterminer la taille (rayon de giration).
- (iii) Pour des valeurs encore plus élevées de  $q$ , on se place à l'échelle de la chaîne polymère et on peut déterminer sa rigidité (longueur de persistance).
- (iv) Enfin aux très grandes valeurs de  $q$ , il est possible d'observer la structure à l'échelle de quelques monomères.

L'utilisation de différentes techniques de diffusion permet donc d'accéder à une large plage de vecteurs de diffusion (Tableau 1-11) et il est donc d'intérêt de combiner plusieurs sources de rayonnement.

Enfin, une notion importante en diffusion est le contraste, qui va être d'origine différente en fonction de la technique choisie (Tableau 1-12).

Tableau 1-12 : Tableau récapitulatif de la notion de contraste pour différentes techniques de diffusion

<i>Technique de diffusion</i>	<i>Origine du contraste</i>
Diffusion de la lumière	indice de réfraction
Diffusion des rayons X	densité électronique
Diffusion des neutrons	longueur de diffusion cohérente

Parmi ces techniques, la diffusion de la lumière statique (SLS) et dynamique (DLS) constitue la technique de caractérisation la plus répandue pour la mesure de la taille de particules et de leur distribution en solution pour des tailles de particules comprises entre le nanomètre et le micron. La DLS ou spectroscopie de corrélation de photons permet d'accéder aux tailles de particules en mesurant la corrélation temporelle des fluctuations de l'intensité de la lumière diffusée causée par le mouvement Brownien des particules en solution. Un traitement approprié permet d'extraire le(s) temps de

relaxation ( $\tau$ ) caractéristiques du corrélogramme. Par application des Equation 1-12 et Equation 1-13 (loi de Stokes-Einstein), on peut alors déterminer le rayon hydrodynamique des objets en solution.

$$\frac{1}{\tau} = Dq^2 \quad \text{Equation 1-12}$$

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta_s D} \quad \text{Equation 1-13}$$

avec  $D$  le coefficient de diffusion,  $\tau$  le temps de relaxation,  $k_B$  la constante de Boltzmann,  $\eta_s$  la viscosité du fluide.

La SLS est basée sur la mesure d'intensités diffusées moyennes en fonction de l'angle ; elle permet la détermination de la masse molaire moyenne en masse des polymères. La mesure de l'intensité de diffusion à de nombreux angles permet le calcul du rayon de giration  $R_g$ . En mesurant l'intensité de diffusion pour de nombreux échantillons de diverses concentrations, le second coefficient de Viriel  $A_2$  peut également être calculé. La diffusion statique de la lumière est aussi couramment utilisée pour déterminer la taille des particules par utilisation de la théorie de Mie.

On trace l'intensité diffusée ( $\ln(R)$ ) en fonction de l'angle  $\theta$  ; l'Equation 1-14 nous permet de remonter au rayon de giration ( $R_g$ ) par mesure de la pente de la droite. Celui-ci est calculé en utilisant l'approximation de Guinier :

$$\ln(R(\theta)) = 1 - \left(\frac{R_g^2}{3}\right) \times q^2 \quad \text{Equation 1-14}$$

$$\text{avec } R(\theta) = \frac{i_\theta r^2}{i_{ifV}} \quad \text{Equation 1-15}$$

avec  $q$  le vecteur de diffusion de la lumière polarisée,  $I_i$  l'intensité du faisceau incident,  $i_\theta$  l'intensité totale observée à un angle  $\theta$  et à une distance  $r$  du point de diffusion,  $V$ , est le volume de diffusion.

Le facteur  $f$  est fonction du type de radiation employé et prend en compte le phénomène de polarisation. Il est égal à 1 pour la diffusion de la lumière polarisée verticalement, ainsi que pour la diffusion des neutrons. Par conséquent, la détermination du quotient de Rayleigh,  $\Delta R(\theta)$  versus  $q^2$  donnera une pente  $R_g^2/3$ . Cependant, cette approximation est vraie seulement pour  $qR_g < 1$  (domaine de Guinier).

### 1.2.2.3 Calorimétrie

L'analyse thermique et la calorimétrie englobent les techniques de caractérisation de la matière fondées sur l'étude de la variation d'une propriété physique en fonction de la température. On peut citer à titre d'exemple, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), l'analyse thermogravimétrique (ATG), la microcalorimétrie isotherme (IMC) ou encore le titrage calorimétrique isotherme (isothermal titration calorimetry, ITC). Les mesures calorimétriques peuvent être décomposées selon trois principes de mesure : (i) un changement de température (adiabatique), (ii) une conduction de chaleur, ou (iii) une compensation en puissance électrique (isotherme). C'est cette dernière technique mise en œuvre dans les mesures d'ITC qui sera utilisée de façon intensive au cours de cette thèse.

#### *Grandeurs thermodynamiques accessibles par ITC*

La technique de titrage calorimétrique isotherme permet d'accéder aux variations de l'enthalpie ( $\Delta H$ ), l'énergie libre ( $\Delta G$ ), l'entropie ( $\Delta S$ ) ainsi qu'à la stœchiométrie du dosage et à la constante d'affinité chimique ( $K_a$ ) pour des associations ou dissociations de type 'ligands-récepteurs'. Historiquement utilisée par les biochimistes [103,104] elle est utilisée pour quantifier les interactions entre particules, entre un ligand et une macromolécule ou encore entre un tensioactif et une chaîne polymère. L'ITC permet de façon générale d'aider à comprendre les mécanismes d'association ou d'assemblages entre molécules, macromolécules ou particules.[105–109] Elle permet en outre d'apporter des informations

sur les mécanismes de complexation, et les changements conformationnels dus aux interactions électrostatiques, liaisons hydrogène, hydrophobes ou dipôle-dipôle.

Pratiquement, on mesure en une seule expérience, injection par injection, les quantités de chaleur dégagées ou absorbées au cours de la réaction de titrage des macromolécules.[110] Dans le cas qui nous intéresse ici, cette méthode permet de déterminer directement  $\Delta H$ , l'enthalpie, et  $K_a$  en fonction du modèle utilisé, l'affinité chimique du système. Grâce à l'Equation 1-16, il est possible de remonter à l'entropie et l'énergie de Gibbs de la réaction ( $\Delta G$ ). Cette technique très précise permet la mesure de chaleur de l'ordre de  $0.4 \mu K^*$ , et ainsi de constantes d'association correspondantes de l'ordre de  $10^8$ - $10^9 M^{-1}$ . [111,112]

$$\Delta G = -RT \ln(K) = \Delta H - T\Delta S$$

Equation 1-16: Equation reliant les paramètres thermodynamiques du système (Avec T, température du système et R, la constante des gaz parfaits).[6]

Dans une expérience caractéristique d'ITC, le titrant (parfois appelé ligand), est injecté progressivement dans la cellule de mesure contenant la macromolécule titrée, tout en conservant une température constante entre la cellule de référence et celle de mesure ( $\Delta T = 0$ ). (Figure 1-31 b), La cellule de mesure est faite dans un matériau conducteur thermique (alliage Hallestoy [113]). Une seringue d'injection équipée d'une pale de mélange permet l'injection de la solution titrante (Figure 1-31 c). Le nombre d'injection et la quantité de solution titrante injectée dépendent du système étudié et de la concentration initiale en réactifs. L'ensemble du dispositif utilisé durant cette thèse est présenté en Figure 1-31 a.

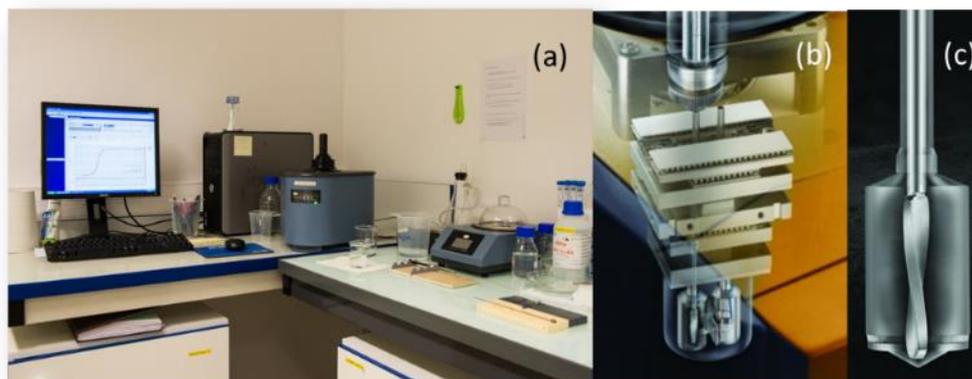


Figure 1-31 : (a) Photographie de l'appareillage ITC Nano de TA Instruments utilisé lors de ces travaux (b) Schéma du dispositif ITC vu de l'intérieur (c) Schéma d'une pale permettant l'injection et l'agitation.

Lorsque que le système subit un changement (association, dissociation...), une quantité de chaleur est absorbée ou libérée ( $\Delta H$ ). La cellule calorimétrique est maintenue à température constante par un système de contrôle. À chaque changement en température du système, un thermocouple mesure la température et une quantité connue d'électricité est appliquée pour rétablir la température initiale dans la cellule de mesure (égale à celle de la cellule de référence). L'énergie électrique nécessaire pour remettre le système à la même température dans les deux cellules est enregistrée en fonction du temps, Figure 1-32). L'aire sous chaque pic donne l'énergie et donc l'enthalpie correspondant à chaque injection. Cette aire correspond au temps nécessaire pour le système électrique de contrôle de température pour un retour à sa valeur de base. Au fur et à mesure de la réaction, le nombre de molécules libres dans la cellule diminue, ce qui se traduit par une diminution de l'aire sous les pics jusqu'à la fin de la réaction où l'aire des pics est alors celle correspondant à la dilution du titrant dans le solvant. Il est donc nécessaire de soustraire aux chaleurs d'échange enregistrées les expériences dites de dilution du titrant et du titré dans le solvant, ainsi que du solvant lui-même, selon l'Equation 1-17. Il

\* voir annexe méthodes

est bon de noter que la correction la plus significative provient de la dilution du titrant dans le titré car la différence en concentration est alors la plus importante. La chaleur de l'expérience solvant dans solvant est de l'ordre de quelques microjoules et peut être considérée comme une constante égale à la chaleur résiduelle à la fin des expériences, lorsque la contribution des dilutions des PE a été retirée.

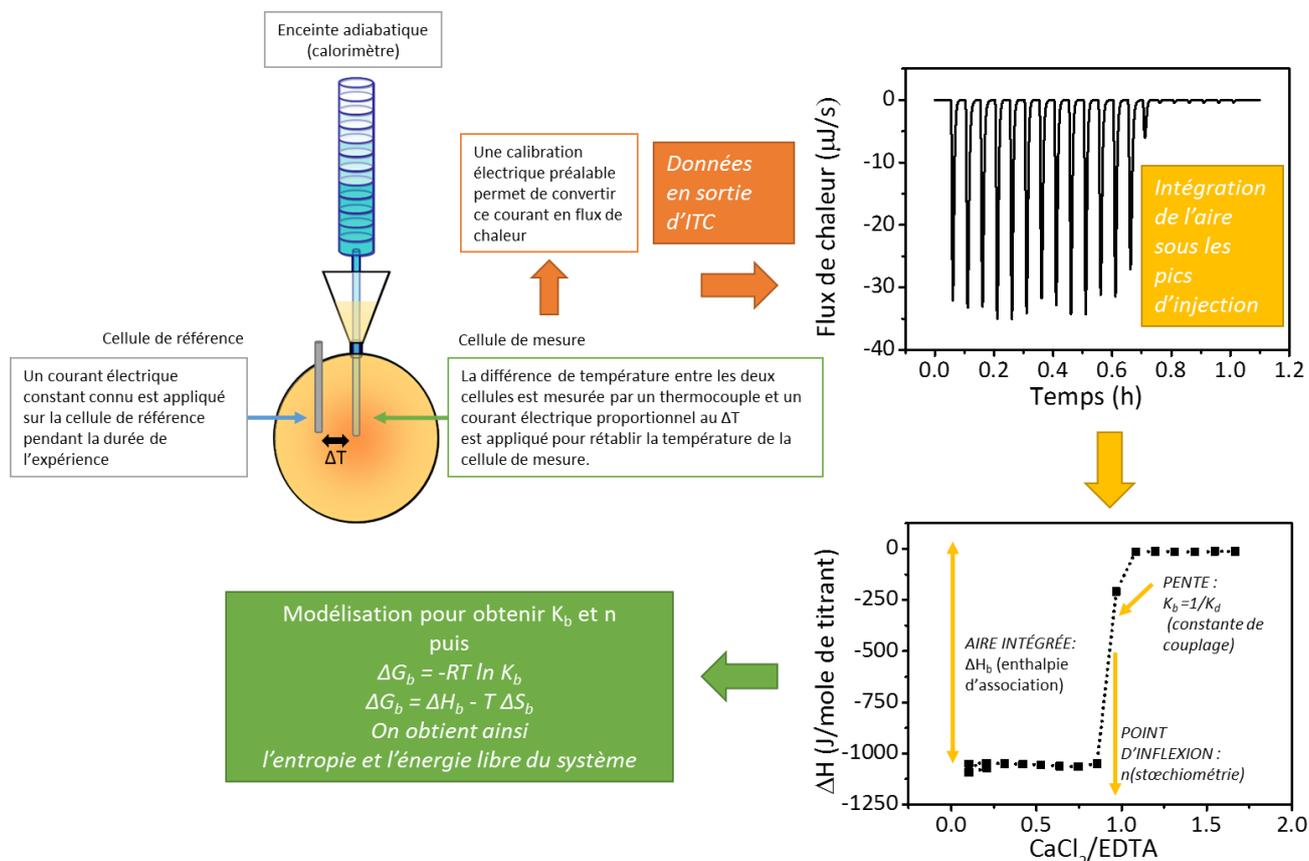


Figure 1-32 : Le schéma présente la version simplifiée du fonctionnement de l'ITC, de la mesure au résultat. On peut visualiser les composants principaux de ce système à compensation de courant électrique ; les cellules de référence et de mesure, la seringue pour injection du titrant, l'enceinte adiabatique (schéma de la cellule par Gilles Sigaud, CRPP).

$$Q_{\text{corrigé}} = Q_{\text{mesuré}} - Q_{\text{dil,titrant}} - Q_{\text{dil,titré}} - Q_{\text{solvant}} \quad \text{Equation 1-17}$$

En sortie, nous obtenons alors l'évolution de la puissance ou du flux de chaleur, généralement en  $\mu\text{J/s}$  ou  $\mu\text{cal/s}$ , en fonction du temps. La courbe obtenue est constituée de pics caractéristiques de l'évolution endothermique ou exothermique de la réaction selon le cas. Par convention, l'exothermie est orientée vers les valeurs négatives du graphique. La représentation dite de l'isotherme de Wiseman [114] représente l'évolution du flux de chaleur normalisé par la quantité de matière ou de charge du titrant en fonction du rapport titrant/titré en tout point de l'expérience, selon la formule donnée par l'Equation 1-18:

$$\frac{dQ}{d[\text{titrant}]_t} = \Delta H \times V_o \times \left[ \frac{1}{2} + \frac{1 - X_R - r}{2\sqrt{(1 + X_R + r^2) - 4X_R}} \right] \quad \text{Equation 1-18}$$

$$\frac{1}{r} = c = K_a[M]_t = \frac{[M]_t}{K_d} \quad \text{Equation 1-19}$$

Avec  $\frac{dQ}{d[\text{titrant}]_t}$  la variation incrémentielle en chaleur du système normalisée par le nombre de mole en titrant par injection,  $V_0$  le volume effectif de la cellule d'ITC,  $X_R = \frac{[X]_t}{[M]_t}$  le rapport en concentration molaire ou en charge titrant/titré en tout point du titrage. Avec  $K_a$  et  $K_d$  les constantes d'association et dissociation du système.

A partir de cette courbe, il est alors possible de déduire la valeur de la variation d'enthalpie  $\Delta H$  qui correspond à l'aire intégrée. La valeur au point d'inflexion représente la stœchiométrie du système et la pente de la courbe la constante d'association  $K$  (Figure 1-32).

### Caractéristiques expérimentales en ITC

L'avantage de la technique d'ITC est d'accéder en une seule expérience menée sous conditions optimales à des valeurs précises et fiables de  $K$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $-T\Delta S$  et  $n$ . Néanmoins, cela implique que chaque échange de chaleur soit mesurable et que les variations de chaleur sur l'ensemble de la réaction donnent un thermogramme analysable. La première condition est généralement remplie dans un calorimètre, la seconde peut poser plus de problèmes car elle est liée à la concentration en macromolécules présentes dans le système  $[M]$  et à sa constante d'équilibre  $K$ . Le paramètre  $c_{\text{Wiseman}}$ , défini par Brandt [114] comme le produit de la concentration de la macromolécule titrée (en molaire,  $M$ ) par la constante d'association ( $M^{-1}$ ) du système (Figure 1-33) permet de prédire la courbure des isothermes pour des systèmes associatifs à un site indépendant. Il est très régulièrement préconisé dans la littérature [114,115] de se placer dans des conditions de concentration et de constante correspondant à  $c=10-100$  (Figure 1-33 b).

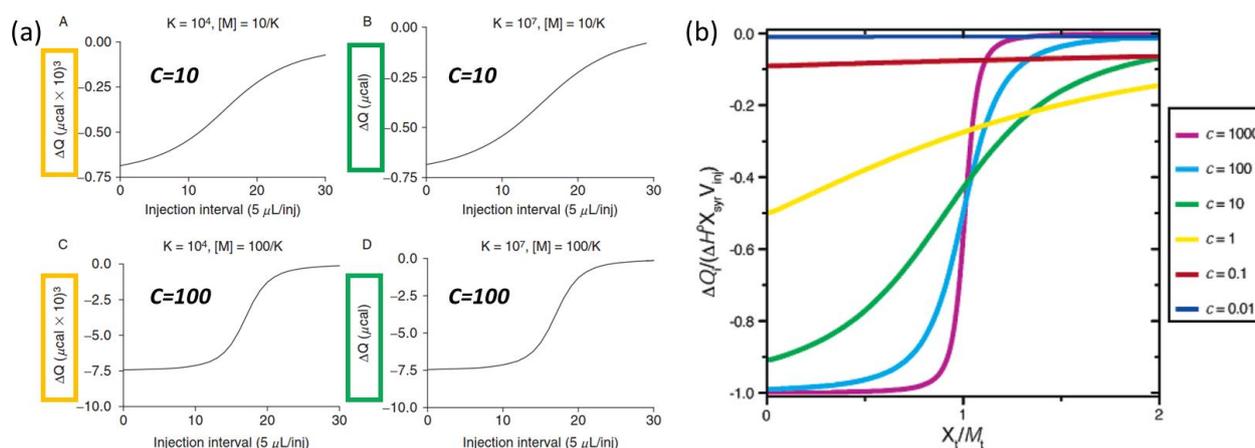


Figure 1-33 : (a) Graphiques montrant la relation entre la courbure et les concentrations des espèces exprimée en fonction de la constante de couplage  $K$ . (b) Courbes de titrage en ITC où l'on représente la variation de chaleur normalisée par la quantité de matière du titrant en fonction du rapport (titrant/titré) obtenues pour différentes valeurs du paramètre  $c$ . [231]

Sur la Figure 1-33 a, deux séries d'expériences montrent les effets de la concentration et de la constante d'association sur la courbure de l'isotherme ; A et B ont un paramètre  $c=10$  et C et D un paramètre  $c=100$ . Ces quatre cas permettent en théorie l'analyse des données. Cependant, en B, l'expérience présente des valeurs de chaleurs trop faibles ( $<0.5 \mu\text{cal}$  soit  $2 \mu\text{J}$ ), au contraire de l'expérience C qui présente des valeurs trop élevées ( $>8000 \mu\text{cal}$  soit  $33500 \mu\text{J}$ ). Aucune des deux n'est optimale pour l'obtention des paramètres thermodynamiques ( $n$ ,  $K$ ,  $\Delta H$ ) car elles atteignent les limites de détection et de précision de l'appareillage. Ainsi pour des systèmes dont les constantes d'association sont élevées ( $K > 10^8 M^{-1}$ ), les concentrations à utiliser doivent être faibles pour permettre une courbure de l'isotherme mais relativement élevées tout de même pour que les variations de chaleur soient mesurables. En fait sur le graphe de droite on voit bien que pour  $c=0.01, 0.1$  et  $1$  on obtient un signal plat (Figure 1-33 b) qui ne permet pas l'analyse, A l'inverse, pour des systèmes dits faiblement couplés ( $K < 10^4 M^{-1}$ ), il faudra faire un compromis entre des concentrations relativement élevées pour obtenir une courbure mais pas trop afin d'éviter un signal saturé et imprécis. En pratique, il faut donc dans la mesure du possible estimer la constante de couplage du système, pour se placer dans une

gamme de concentration adéquate et opérer une série d'expériences préalables rapides afin de définir la gamme de travail adéquate.

De façon générale, un certain nombre d'aspects expérimentaux doivent être considérés lors de la réalisation d'une expérience ITC [116]:

- (i) il est nécessaire d'estimer les concentrations à utiliser en simulant des valeurs de  $K$  et  $\Delta H$  et en déterminant un paramètre  $c$  adéquat pour l'expérience.
- (ii) les concentrations en espèces titrantes et titrées doivent être connues avec précision car elles sont sources d'erreur sur les paramètres  $n_{\text{titrant}}$  et  $\Delta H_{\text{titré}}$ .
- (iii) lors du suivi réactionnel, le pH du système et la température de l'enceinte doivent rester constants.
- (iv) les conditions expérimentales doivent être les mêmes dans la solution titrante et la cellule titrée, par exemple même pH, même concentration en sel et même solution tampon pour éviter toute réaction qui pourrait venir fausser les valeurs de chaleur échangée.
- (v) l'utilisation d'un tampon peut aussi s'avérer source d'erreur dans l'interprétation des résultats. En effet, les échanges de protons qui peuvent se produire entre le tampon et les réactifs sont également à l'origine d'une chaleur de réaction correspondant à l'ionisation du tampon. Il faut donc corriger la chaleur mesurée :

$$Q_{\text{corrigée}} = Q_{\text{mesurée}} - (\Delta H_{\text{ionisation}} \times n_{\text{H}^+}) \quad \text{Equation 1-20}$$

- (vi) Afin de déterminer  $n_{\text{H}^+}$ , le titrage doit être effectué dans deux tampons au moins. Il est possible de choisir par ailleurs un tampon avec un  $\Delta H_{\text{ionisation}}$  proche de zéro pour minimiser l'effet sur le signal, en particulier le tampon acétate a une chaleur d'ionisation faible de l'ordre de 0.49 kJ/mol.[117]
- (vii) il est nécessaire de procéder au dégazage préalable de chaque solution utilisée dans l'ITC afin de s'affranchir de bulles d'air pouvant produire des artéfacts sur les thermogrammes.
- (viii) l'intervalle de temps entre deux injections doit être conséquent pour permettre au système un retour à l'équilibre mais pas trop élevé pour s'affranchir de la diffusion du titrant dans la cellule. Pour la même raison, le premier pic d'injection doit être écarté des valeurs de la série car le temps d'équilibrage de l'appareil est source de dilution d'une infime quantité de titrant non connue dans la cellule.
- (ix) Il est important de garder à l'esprit que les valeurs des paramètres thermodynamiques sont valables dans les conditions de l'expérience (force ionique, température, pH, tampon).

L'ITC permet de connaître les valeurs thermodynamiques du système mais ne donnent pas par exemple d'informations sur la morphologie des structures générées. L'interprétation des données passe donc aussi par une connaissance approfondie de la physico-chimie du système (variation du taux d'ionisation des PE, structures formées, états de solubilité des complexes...).

#### *Modélisation des données par le modèle MNIS*

Dans l'ensemble de cette thèse, un modèle à un site (sigmoïde) ou à deux sites indépendants MNIS\* développé par les biochimistes pour les réactions enzymatiques entre macromolécule et ligands [105,112], puis modifié et adapté pour les réactions de complexation par Courtois et Berret [106,114] est utilisé. On considère comme point de départ la réaction  $M + L \rightarrow ML$  où  $M$  qui représente l'association de macromolécules (titré dans la cellule) et ligands (titrant dans la seringue) accompagnée d'une libération ou d'une absorption de chaleur proportionnelle à la quantité de matière liée. Une constante d'association  $K$  est associée à cette réaction, ainsi  $n$  correspondant au nombre de sites

---

\* *Multi Non Interacting Sites*

indépendants disponibles sur chaque macromolécule M. Si  $n=1$ , on se trouve alors sur un modèle d'association à un site. Lors d'une expérience ITC, on ajoute de façon incrémentielle de petites quantités de ligands. La quantité de chaleur mesurée représente alors la dérivée du flux de chaleur en fonction la quantité de matière de ligand injectée :

$$\frac{dQ}{dn_L} = \frac{1}{2} \Delta H_a \left( 1 + \left( 1 - \frac{[L]}{n[M]} - \frac{1}{nK[M]} \right) \left( \sqrt{\left( 1 + \frac{[L]}{n[M]} - \frac{1}{nK[M]} \right)^2 - \frac{4[L]}{n[M]}} \right) \right) \quad \text{Equation 1-21}$$

où  $\Delta H_a$  est l'enthalpie d'association,  $[L]$  la concentration en ligand (seringue) et celle en macromolécule (cellule).

L'Equation 1-21 est obtenue en faisant l'hypothèse que la chaleur libérée ou absorbée pendant la réaction est proportionnelle à la fraction de ligands L liés à la macromolécule M. Dans le cas de la complexation électrostatique de PEs, les auteurs introduisent le rapport de charge Z qu'ils définissent comme  $Z=[L]/[M]$ , avec dans ce cas  $[L]$  et  $[M]$  les concentrations en charge par motif des PEs. En posant  $i = \frac{1}{Ki[M]_{initiale}}$ , l'Equation 1-21 peut être simplifiée en :

$$\frac{dQ}{dn_L}(Z) = \frac{1}{2} \Delta H_a \left( 1 + \left( \frac{n - Z - r}{\sqrt{(n + Z + r)^2 - 4Zn}} \right) \right) \quad \text{Equation 1-22}$$

Cette fonction modélise les échanges de chaleur dans le système en fonction de Z comme une sigmoïde décroissante. Plus le paramètre r est élevé, plus  $\frac{dQ}{dn_L}$  montrera une décroissance marquée. Pour la valeur  $Z = n$ , la fonction sera à son point d'inflexion. A partir de ce modèle, il est possible de déterminer les paramètres thermodynamiques suivants :  $\Delta H_a$ , K et n.

Alors que le modèle classique de MNIS utilise autant de sigmoïdes décroissantes que de sites sur la macromolécule pour modéliser les interactions macromolécules-ligand, la version modifiée à deux sites que nous utiliserons considère deux contributions indépendantes : i) la première est celle décrite par la sigmoïde décroissante et qui modélise la formation des PECs, avec les paramètres associés  $\Delta H_1, n_1, r_1$  ii) la seconde est caractéristique d'un deuxième phénomène et présente un pic endothermique ou exothermique ; elle est décrite elle aussi par une sigmoïde décroissante et les paramètres  $\Delta H_2, n_2, r_2$ . Un processus séquentiel également mis en avant par Priftis *et al.* dès 2012 mais avec une fonction de type Gaussienne pour l'étape 2 (de coacervation dans leur cas).[118]

En estimant que les deux phénomènes sont séquentiels (même si la réalité peut être autre...), l'enthalpie totale du système varie au cours du titrage telle que :

$$\Delta H_{total} = \Delta H_1(Z, n_1, r_1) + \alpha(Z) \Delta H_2(Z, n_2, r_2) \quad \text{Equation 1-23}$$

où  $\alpha(Z)$  est de la forme  $\alpha(Z) = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{-(Z-Z_0)}{\sigma}\right)}$  c'est-à-dire une fonction en escalier centrée sur  $Z_0$  et de facteur d'extension latérale  $\sigma$ .

Les données obtenues à l'ITC sont modélisées en utilisant  $Z[+]/[-]$  pour les sens PC(+) dans PA(-) et  $Z[-]/[+]$  pour le sens PA[-] dans PC(+) et les paramètres  $\Delta H_1, n_1, r_1$  et  $\Delta H_2, n_2, r_2$  comme variables. Des contraintes sont imposées sur les paramètres tels que  $Z_0 = n_1$  et  $\sigma=0.1$ , afin que l'extension de la fonction  $\alpha(Z)$  se trouve dans la gamme de Z où l'enthalpie différentielle montre des temps de relaxation longs, c'est-à-dire autour du pic correspondant au second phénomène.

La contribution de l'entropie ( $\Delta S$ ) à la réaction et l'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) du système peuvent ensuite être calculées à partir de l'application de la seconde loi de la thermodynamique (voir Equation 1-16).

$$\Delta G = -RT \ln K \quad \text{Equation 1-24}$$

$$\Delta S = \frac{(\Delta H_a - \Delta G)}{T}$$

Equation 1-25

avec  $T$  la température en Kelvin et  $R$  la constante des gaz parfaits  $= 8.314\ 462\ 1\ \text{J mol}^{-1}\ \text{K}^{-1}$

### 1.2.2.4 Mesures cinétiques

La complexation de polyélectrolytes est de façon générale un processus extrêmement rapide. La formation de complexes dits primaires est de l'ordre de la milliseconde, alors que les réarrangements successifs au sein et entre les complexes peuvent s'échelonner sur plusieurs heures voire plusieurs jours. Il est donc d'intérêt d'étudier la cinétique de complexation à des temps courts et longs pour comprendre les mécanismes de formation et de réorganisation des complexes. Actuellement, les mélangeurs ultra rapides à flux stoppé (stopped-flow) couplés à différents mode de détection (absorbance, fluorescence, conductimétrie, diffusion de la lumière, neutrons ou X) permettent de suivre les processus d'assemblage de polymères en solution même si cette technique est peu utilisée dans le domaine des polyélectrolytes.

#### *Cinétique aux temps courts*

L'instrument de stopped-flow (SF) utilisé lors de cette thèse est le modèle SFM 400 mis au point par Bio-Logic Science Instruments (Seysinet-Pariset, France). Il est équipé d'un spectrophotomètre MOS 450, d'une unité de contrôle des seringues MPS70/4 et d'un photo-détecteur PMS 450. Quatre seringues de 10mL équipées de moteurs distincts permettent l'ajout en rapports de volume choisis à des flux modulables ( $\sim$ mL/s). Le temps mort de l'appareillage varie entre 2 et 5 ms, pour des mesures cinétiques à partir de 10  $\mu$ s. Le mélange a lieu en amont d'une cellule FC-15 en quartz de 1 cm<sup>2</sup> au moyen d'un mélangeur turbulent de type Ball Berger. Un photomultiplicateur est placé en sortie de cellule et détecte la lumière transmise ou diffusée à la longueur d'onde choisie (ici  $\lambda=438$  nm) à un angle choisi (45°, 90° ou 135°). Un courant est appliqué au détecteur et ajusté en fonction de l'intensité du signal pour éviter la saturation (soit 420 V pour des systèmes peu turbides et 350 V pour des phases coacervat). L'appareillage est présenté en Figure 1-34.[87]

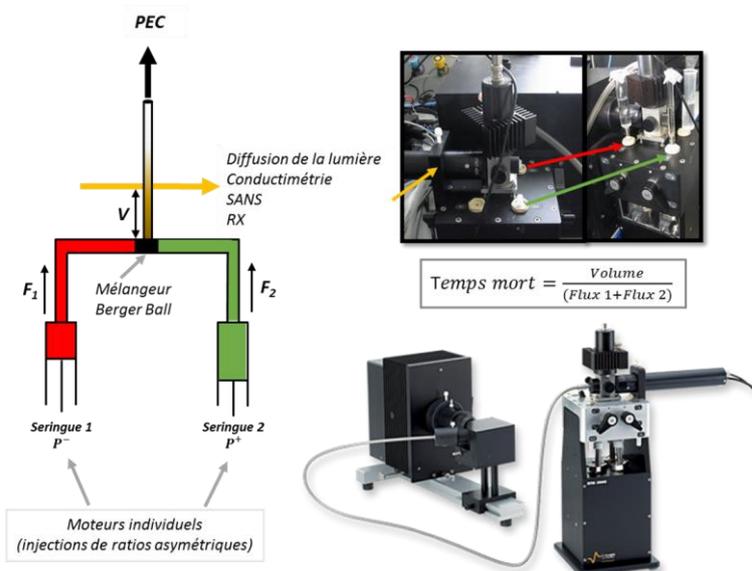


Figure 1-34 : Représentation schématique d'un mélangeur ultra-rapide stopped-flow et de ses composantes.

En fonction des débits d'injection et les volumes d'ajout des seringues, il est possible de moduler le temps mort de l'appareillage. Dans le cadre de cette thèse, le débit est imposé à 9 mL/s et les volumes de solutions ajustés en fonction du rapport de charge souhaité pour obtenir un temps mort constant de 4 ms. Les concentrations en polymère dans les solutions finales pouvant être variables, il convient alors à des fins de comparaison de normaliser les intensités par les concentrations respectives.

*Cinétique aux temps longs*

Si la technique de SF permet des mesures aux temps longs (plusieurs min), cette partie se focalise sur les mesures calorimétriques qui permet l'étude d'un système à des temps au-delà de la centaine de seconde une fois les composés mis en contact. Il est possible de caractériser la cinétique de réactions enzymatiques par ITC car le signal issu d'un calorimètre (taux de chaleur) est une mesure directe de l'avancement et de l'enthalpie de la réaction. En effectuant des mesures en une seule injection ou en continu par multiples injections, il est alors possible d'enregistrer la cinétique de la réaction à partir de l'évolution temporelle de la chaleur dégagée ou absorbée par le système (Figure 1-35). L'ITC permet ainsi d'accéder à des taux de réaction de l'ordre de  $10^{-12}$  mol/s. Il est possible de mesurer des constantes  $K_m$  variant de  $10^{-2}$  à  $10^3$   $\mu$ M, et des constantes cinétiques caractéristiques  $k_{cat}$  de 0.05 à 500  $s^{-1}$ . [119]

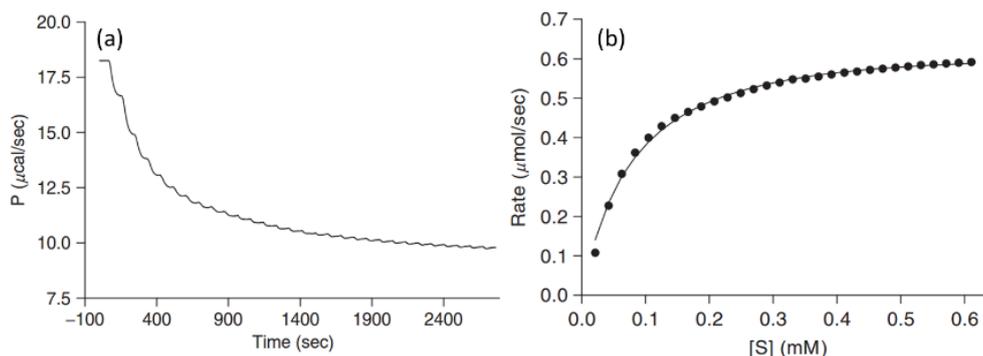


Figure 1-35 : (a) Thermogramme cinétique multi injections caractéristique d'une réaction enzymatique obtenu ici par ITC (b) Vitesse de la réaction en fonction de la concentration en substrat introduite. Données cinétiques modélisées par une régression non linéaire obtenues par 30 injections successives en considérant  $k_{cat} = 71.3 s^{-1}$  et  $K_m = 0.085 M^{-1}$ . [119]

Pour les expériences en une injection, la solution de substrat est injectée dans la cellule contenant l'enzyme. Au contact, la réponse en chaleur est enregistrée en fonction du temps avec un retour à la ligne de base si le substrat a entièrement réagi (Figure 1-35 a). Dans le cas de la méthode continue multi-injections, le substrat est ajouté puis on attend entre chaque ajout que le système atteigne une valeur stable. L'écart entre la valeur à l'injection et le plateau est utilisé pour déterminer la vitesse de réaction à chaque étape d'ajout. On en déduit la variation de la vitesse de réaction en fonction de la concentration totale en substrat, (Figure 1-35 b).

### 1.2.3 Facteurs responsables de la formation et de la stabilité des PECs

La formation et la stabilité des structures issues de la complexation de polyions en solution sont régies par des paramètres multiples intrinsèques et extrinsèques. Il est possible de les classer en trois grandes familles suivant leur origine (Figure 1-36). Ainsi, on distingue les paramètres moléculaires (concentration, nature des contre-ions, densité de charge, longueur de chaîne, longueur de persistance...) des paramètres de la solution (pH, force ionique et nature du sel, température...) et des paramètres de mélange ou du chemin de formulation suivi (temps de mélange, ordre d'ajout des composants, rapport de charge des PEs ...)

La littérature compte un très grand nombre d'études sur l'impact des paramètres macromoléculaires sur la morphologie, la thermodynamique des PECs formés et montre l'intérêt pour une compréhension plus globale de l'origine de la stabilité des PECs en regard de ces paramètres. Comme l'influence de ces paramètres s'avère très documentée, cette partie se concentrera sur certains paramètres choisis comme préalables aux chapitres expérimentaux de cette thèse. [54,120,6,100,121,96,122–125,73]

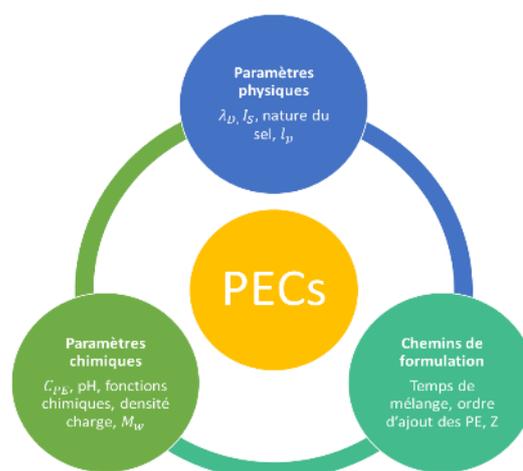


Figure 1-36 : Paramètres en jeu dans la formation et la stabilité des PECs.

### 1.2.3.1 Paramètres chimiques et physiques

#### Effet du pH

Pour les polyélectrolytes dits faibles, le pH de la solution va modifier la densité des groupements chargés. Müller *et al.* ont étudié le rôle du pH sur la complexation du système PAA/PEI pour des rapports en charge constant  $Z[+]/[-]=1.5$  et  $Z[-]/[+]=1.5$ . Le pH de chacune des solutions de PEs est ajusté individuellement avant mélange des deux PEs; le PAA atteint son ionisation maximale à pH 10 alors que le PEI atteint la sienne à pH 4. Le diamètre des particules est déterminé par DLS. Lorsque le pH de la solution de PEI est diminué, le PEI devient de plus en plus chargé et la complexation est alors optimale, les complexes sont de plus en plus compacts car les charges sont mieux appariées. De façon générale, lorsque les PEs sont complètement chargés, la complexation est maximale et les structures formées sont compactes ( $pH_{PEI}/pH_{PAA}=10/4$ ).

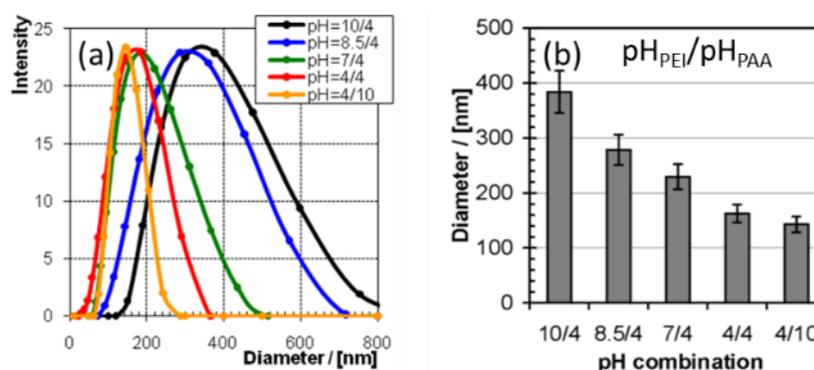


Figure 1-37 : (a) Distribution en intensité des tailles des particules de PECs en fonction du pH par DLS et (b) influence du pH sur le diamètre des complexes PEI/PAA;  $C_{PEI}=0.005$  M et  $n^-/n^+=1.5$ .

#### Effet de la force ionique

La force ionique de la solution, dépend de la quantité d'espèces chargées présente en solution, et en particulier de la quantité de sel ajoutée au système (Figure 1-38). Elle joue un rôle primordial sur la taille des PECs. Son augmentation induit une augmentation de la flexibilité des chaînes en solution par écrantage électrostatique (diminution de la longueur de Debye). Ainsi, on peut assister d'une part à une diminution du diamètre moyen des particules par réorganisation facilitée des chaînes [126], et d'autre part à une augmentation de la taille car l'écrantage de l'interaction rend les particules moins compactes.



Figure 1-38 : Effet de la force ionique sur les chaînes de PE complexées en solution(adapté de [62]).

Sur le système PDADMAC/PSSNa, Dautzenberg a étudié l'évolution de la taille des particules selon le rapport  $Z[+]/[-]$ , en fonction de la quantité de NaCl ajoutée en solution. Dans cette étude, augmenter la concentration en sel du système favorise l'évolution des PECs primaires en PECs secondaires par coagulation des particules tout en réduisant la taille des agrégats formés qui seront ainsi plus compacts. Pour des mélanges de PSSNa à 0.25 mM et PDADMAC à 0.5 mM sans sel, les tailles de PECs s'échelonnent entre 300 nm pour  $Z[+]/[-]=0.1$  à 130 nm pour  $Z[+]/[-]=0.95$ . À une concentration en sel  $C_{NaCl}=0.01$  M, les particules sont de taille constante, environ 40 nm, pour les mêmes rapports de charge. Lorsque la concentration en sel atteint  $C_{NaCl}=0.1$  M, la taille des PECs varie alors de 50 nm à  $Z[+]/[-]=0.1$  à 120 nm pour  $Z[+]/[-]=0.95$ . On distingue alors une compétition entre (i) les phénomènes d'agrégation secondaire, responsables de l'augmentation en taille des PECs et (ii) la compaction plus importante des pelotes qui est quant à elle due à l'écrantage des forces électrostatiques.[127,128]

Fu *et al.* ont quant à eux mis en lumière l'existence d'un continuum sur le système PSSNa/PDADMAC. En dopant les PECs PSSNa/PDADMAC en solution par du sel KBr puis en diluant l'ensemble, le système passe d'une solution limpide à une morphologie coacervat puis solide (Figure 1-39 a).

La valeur critique en sel ou transition de dessalage correspond à la concentration en sel nécessaire à l'écrantage total des forces de Coulomb en solution ; elle correspond à la dissolution complète des PECs en solution sous forme de chaînes de PE (Figure 1-39 b).[129] Cette concentration critique dépend de la nature du sel ajouté.

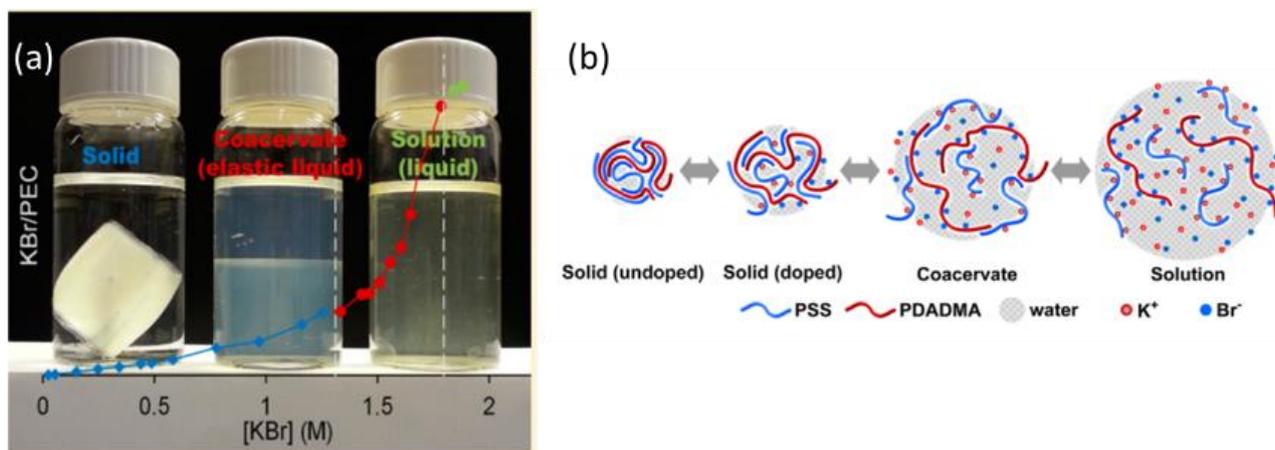


Figure 1-39 : Effet de l'ajout de KBr (ajout de gauche à droite) sur (a) la macrostructure et (b) la microstructure de PECs pour des précipités non dopés, dopés, des coacervats et des PE libres en solution pour le système PSSNa/PDADMAC à la stœchiométrie.[137] Toutes les étapes sont à l'équilibre et donc réversibles.

### Nature des ions (sel) et des contre-ions utilisés

L'effet spécifique lié à la nature du contre-ion utilisé a été montré par de nombreuses études et en particulier sur des ionènes par Malikova *et al.*[30,130] Dans ces études, des ionènes de différentes densités de charge sont associés à des contre-ions iodure, bromure, fluorure et chlorure. Des mesures

en SANS et SAXS mettent en évidence un décalage vers les grands  $q$  du 'pic' polyélectrolyte dans le cas des ions de grande taille (iodures)(Figure 1-40 a). Une étude spécifique sur l'effet  $\text{Br}^-/\text{F}^-$  montre que les ions bromures ont une affinité plus élevée que les ions fluorures pour le squelette des ionènes. En effet, l'énergie libre d'hydratation des ions bromures est beaucoup plus faible que celle des fluorures, ce qui modifie l'équilibre entre gain enthalpique et perte entropique en faveur de la composante enthalpique. Il existe donc une corrélation entre l'augmentation de la densité des contre-ions et la position du pic PE car l'atmosphère de contre ions se contracte quand la concentration de PE augmente. Il en résulte une atmosphère plus compacte autour du squelette de l'ionène dans le cas des bromures par rapport aux fluorures. Par ailleurs, la proximité des ions bromures augmente la rigidité des chaînes d'ionènes sous l'effet de la température.[30]

Par ailleurs, Luksic *et al.* sur ces mêmes systèmes ont effectué des mesures par ITC pour évaluer l'enthalpie de mélange des fluorures et bromures de 3,3- et 6,6-ionène avec différents types de sels : NaF, NaBr, NaI et NaCl.[130] L'évolution de l'enthalpie de mélange entre ionènes et différents sels en fonction de la concentration en solutions salines est présentée sur la Figure 1-40 b. Les enthalpies de mélange peuvent être positives ou négatives en fonction du contre-ion utilisé.[131–133] Pour l'addition de fluorure de sodium dans les solutions contenant les fluorures de 3,3-, les réactions sont endothermiques alors que l'addition du bromure de sodium donne un signal exothermique. Pour Luksic *et al.*, l'hydratation/ déshydratation des ions en solution sont à l'origine de cet effet, et il existe ainsi une corrélation entre l'enthalpie de mélange des espèces chargées et l'enthalpie d'hydratation des contre-ions. L'enthalpie de dilution des ions correspond à une méthode de mesure de cette capacité de l'ion à s'hydrater/déshydrater. Les ions  $\text{F}^-$  possèdent une enthalpie de dilution négative et une enthalpie de mélange positive ce qui signifie qu'ils sont très hydratés mais n'ont pas la capacité de se déshydrater lorsqu'ils sont en présence d'ionène ; il y a un fort écrantage électrostatique comme le prédit la théorie de continuum de solvant, ce qui entraîne un processus endothermique. L'énergie libre des ions fluorure est par ailleurs très négative ce qui signifie que le système ne peut modifier son état facilement.

A l'inverse, les ions bromures montrent des enthalpies de mélange exothermiques et des enthalpies de dilution endothermiques. Ces ions auront tendance à relarguer les molécules d'eau autour d'eux pour préférentiellement s'associer au plus proche du squelette de l'ionène. La réaction est donc exothermique. L'exothermicité est donc elle aussi due à un réarrangement des molécules d'eau.

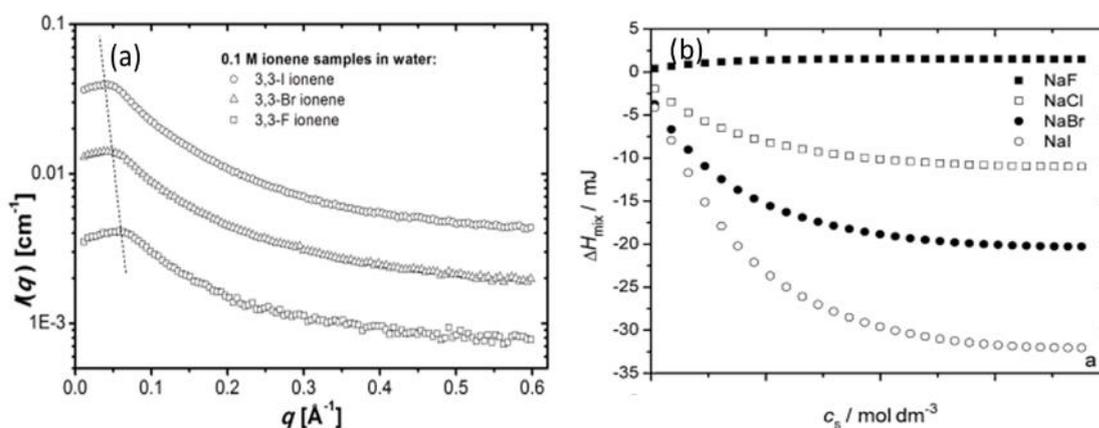


Figure 1-40 : (a) Intensité de diffusion des rayons X en fonction du vecteur de diffusion  $q$  pour des solutions dans l'eau légère à 0.1 M de 3,3 ionène avec différents contre-ions : iodure, bromure, fluorure [30]. (b) Enthalpies de mélange du 3,3 fluorure de ionène avec les sels NaF, NaCl, NaBr et NaI en fonction de la concentration  $c_s$  en sel ajouté, à 25°C.[ionène, titré]=0.005 M et [sel initiale, titrant]=0.10 M.[130]

D'autre part, la spécificité ionique de la réaction est aussi discutée dans cette étude. L'enthalpie de mélange pour un système contenant le fluorure de 3,3-ionène est positive pour un ajout de  $\text{F}^-$  mais négative avec  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  et  $\text{I}^-$ (Figure 1-40 b). Le même ordre d'interaction est observé pour le poly(4-vinyl pyridine) quaternisé ( $\text{P}_4\text{VPQ}^+$ ) étudié par Luo *et al.* :  $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$  avec la particularité qu'aucun de ces anions n'est présent au départ en solution.[131] La spécificité semble donc être plutôt due principalement à l'hydratation/ déshydratation des ions en solution et à leur affinité avec la chaîne qu'à la présence au préalable de l'ion en solution. Une étude de Sinn *et al.* sur l'interaction d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  avec le PANa montre

que la réaction spontanée de complexation entre le cation et le PANa est endothermique ce qui signifie que c'est l'entropie et donc la libération des molécules d'eau qui est à l'origine de la complexation.[132]

### 1.2.3.2 Chemins de formulation

En présence de systèmes pour lesquels la force motrice de la complexation est très élevée (ce qui correspond la plupart du temps à des systèmes fortement chargés en solution peu saline), l'équilibre thermodynamique est difficilement atteignable car le système et les paires de charge sont si fortement liées qu'il est quasi impossible de les dissocier et de réorganiser le système pour atteindre l'équilibre. L'ensemble est alors dit piégé dans son état primaire et on parle de systèmes hors-équilibre. Ces complexes seront donc fortement dépendants des conditions de préparation. On peut citer par exemple l'ordre d'ajout des composants, le temps de mélange ou encore le protocole d'ajout.

#### *Protocole de mélange : temps de réaction vs. temps de mélange*

Ankerfors *et al.* ont étudié deux temps de mélange différents en comparant le titrage et l'ajout rapide de polyallylamine (PAH) et de polyacide acrylique (PAA) en variant l'ordre d'ajout des PEs. Ils montrent que la taille des PECs diminue avec la vitesse d'ajout des PEs indépendamment de l'ordre d'ajout. En effet la vitesse d'ajout influe sur la capacité des PECs primaires à se réorganiser; lors de l'ajout rapide, on assiste à la formation d'une multitude de PECs de petites tailles, alors que le ralentissement du temps de réaction permet au système de stabiliser des PECs de taille plus importante [134].

Comme pour les expériences précédemment citées, les travaux de Ling *et al.* mettent en avant l'aspect d'homogénéisation du système et donc du temps de réaction en compétition avec le temps de mélange des entités complexantes.[93,135,122] L'impact de l'étape de mélange sur des systèmes de nanoparticules cationiques d'oxyde de cérium, complexées par des polymères à blocs double-hydrophiles anioniques poly(styrène sulfonate de sodium-b-polyacrylamide)(PSSNa-b-PAM) a été étudié. L'utilisation de trois méthodes de mélange très différentes leur a permis de caractériser de manière approfondie l'impact du temps de mélange sur la morphologie des structures obtenues. La Figure 1-41 a montre l'effet de la méthode de mélange (goutte à goutte ; ajout rapide, ajout à haute vitesse par seringue) sur une surface de PS de ces particules hybrides chargées.

On note la grande différence de morphologie visible par imagerie AFM, ainsi que les différences de propriétés de mouillage et d'adsorption de lysozyme. Par ailleurs, des expériences réalisées en solution et analysées par diffusion des neutrons et de la lumière pour les trois mêmes méthodes de mélange montrent des différences de taille des objets (déviation aux petits vecteurs de diffusion) en fonction de la vitesse de mélange. L'imagerie Cryo-TEM associée permet de rendre compte également très nettement des morphologies des structures fractales en solution. Les résultats montrent une grande variabilité dans les morphologies des objets en solution comme des propriétés de surface des PS modifiés. Il apparaît primordial de maîtriser ce paramètre pour augmenter le champ applicatif de ces PECs.

Il existe une multitude de mélangeurs et de protocoles pour effectuer des mélanges de polymères chargés en solution (ou tous autres colloïdes...). L'intérêt de l'étude et de la comparaison de différents protocoles de mélange réside donc dans l'évaluation de la vitesse de mélange nécessaire à la réaction des PEs et leur stabilité. En effet, il existe une compétition entre le temps de réaction des composants (fonction de l'intensité de l'interaction et de la concentration des espèces) et le temps d'homogénéisation de la solution lié au protocole de mélange).[122] En ce sens, un choix d'appareillage permettant un balayage de la gamme de temps de mélange a été choisi au cours de la thèse et sont présentés en Figure 1-42.

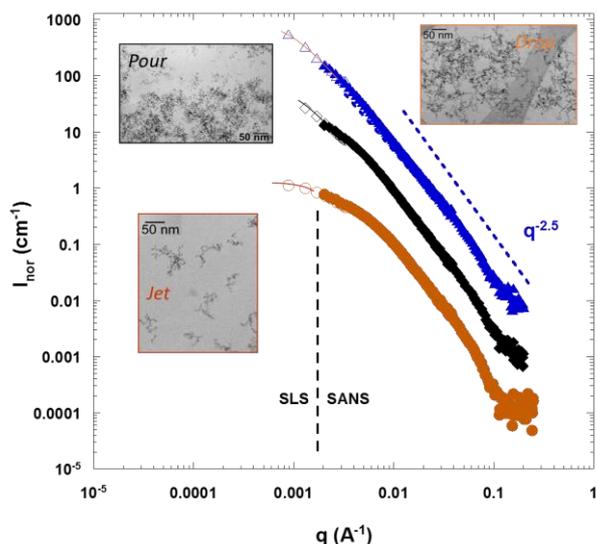
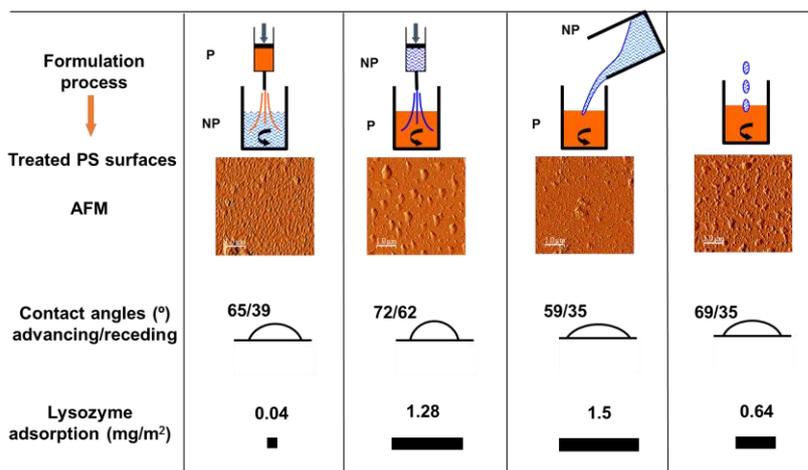


Figure 1-41 : (a) Propriétés de surface de PS recouvert de complexes hybrides CeO<sub>2</sub>/PSSNa-*b*-PAM en utilisant différentes méthodes de mélange (b) Intensité de diffusion du rayonnement en fonction du vecteur d'onde pour des solutions reconcentrées à 10%wt à partir de solutions mère à 0.1%wt en fonction du type de mélange. Les courbes sont décalées pour faciliter la lecture et les données de SANS et SLS sont ajustées en intensité pour se superposer.[122]

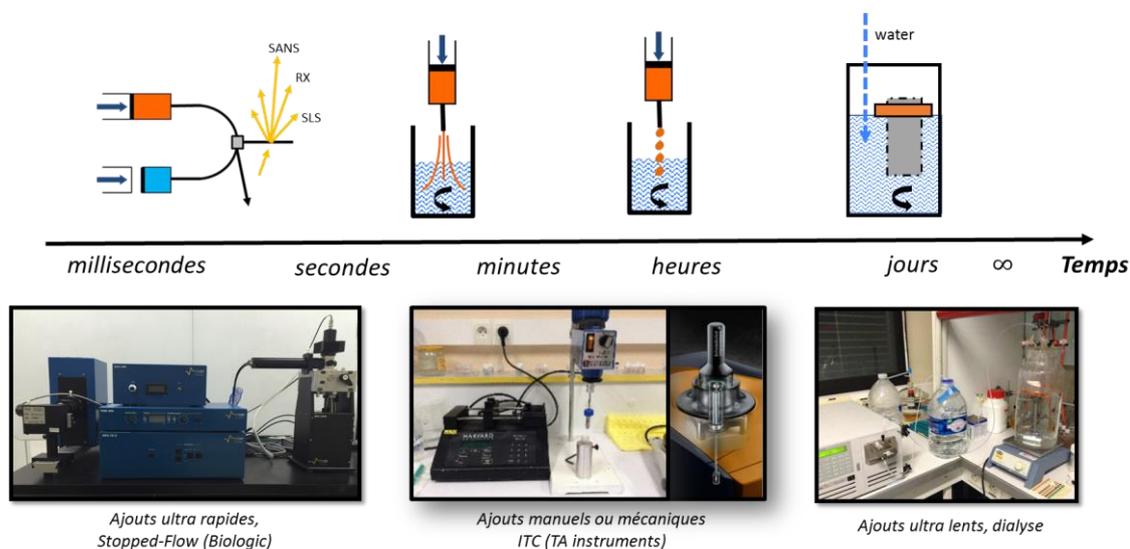


Figure 1-42 : Protocoles de mélange, appareillages et temps de mélange associés utilisés lors de cette thèse.

## Ordre d'ajout des PE

L'étude de l'ordre d'ajout des PE a été entreprise par de nombreux chercheurs ces dernières années [136,109,122,93] et constitue un élément-clé, en particulier parce qu'il permet un contrôle de la taille des complexes.[122,93] Dans la fabrication de PECs à partir de chitosane(CH) et de sulfate de dextrane(DxS), Schatz *et al.* comparent la taille des PECs pour deux types de mélange et montrent que l'ajout rapide permet de former des PECs de taille plus faible et de plus grande stabilité que par ajout lent goutte à goutte.[72] Pour ce système, l'ordre d'ajout est un paramètre crucial et conditionne la stabilité des PECs. Dans l'addition lente, le PE en défaut doit être celui ajouté au PE en excès, sous peine de voir le système s'agréger de façon quasi irréversible. Dans le cas d'un ajout rapide, il n'y a pas d'influence de l'ordre d'ajout sur l'état final de la solution, le système est stable.

Pozar *et al.* montrent par mesures calorimétriques l'influence de l'ordre d'ajout sur l'enthalpie de mélange sur un système PAH/PSSNa. Ils observent que l'enthalpie est toujours négative quel que soit l'ordre d'ajout. Cependant, dans le cas du titrage de PAH par le PSSNa (Figure 1-43 b, PSSNa in PAH), l'enthalpie est constante à partir d'un rapport en PE  $n_{\text{PSSNa}}/n_{\text{PAH}}=0.75$ . Pour le titrage inverse, il est possible de mesurer des variations de chaleur pour des rapports  $n_{\text{PAH}}/n_{\text{PSSNa}}=1$  (voire un peu plus). Ceci signifie donc que les complexes formés sont de nature différente comme le suggère leur signature calorimétrique.[133]

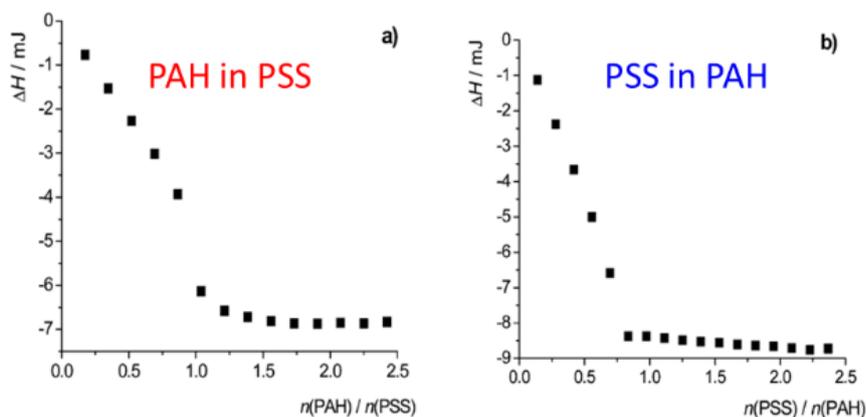


Figure 1-43 : (a) Variation d'enthalpie obtenue par titrage du PAH( $c=5$  mM,  $V_0=1.3$  mL) par le PSSNa( $c=60$  mM,) à 25 °C. (b) Variation d'enthalpie obtenue par titrage du le PSSNa( $c=5$  mM,  $V_0=1.3$  mL) par le PAH ( $c=75$ mM) à 25 °C.[133]

Vitarozzi *et al.* montrent par mesures calorimétriques l'influence de l'ordre d'ajout sur l'enthalpie de mélange du PANa et du PDADMAC à pH=10. On distingue nettement un pic exothermique dans le cas d'un ajout de polycation dans le polyanion et un pic endothermique dans le cas inverse ; ces données mettent donc en évidence un comportement très différent du système d'un point de vue thermodynamique en fonction de l'ordre d'ajout des composants (Figure 1-44). En effet, dans le sens PAA<sub>2K</sub> in PDADMAC (jusqu'à  $Z[+]/[-]=0.5$ ) il y a génération de complexes solubles. Dans le sens PDADMAC in PAA<sub>2K</sub>, les PECs dispersés sont directement formés ce qui est donc à l'origine de cette différence d'enthalpie de mélange.

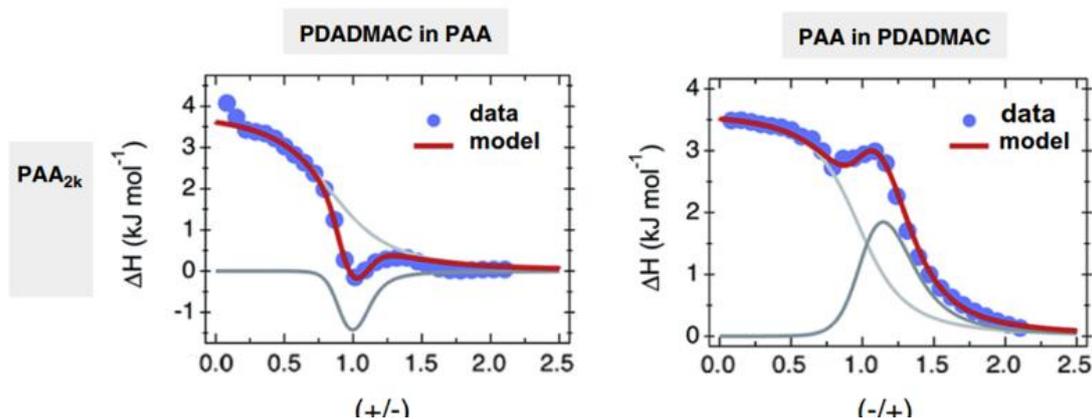


Figure 1-44 : Variation d'enthalpie par ITC normalisée par le nombre de moles de PE ajouté en fonction du rapport molaire de charge pour le système PAA/PDADMAC à pH 10 pour deux sens d'ajout. Les courbes sont modélisées par un modèle séquentiel à deux contributions indépendantes : (i) la complexation (gris clair) et (ii) la coacervation (gris foncé).[109,143]

### 1.2.3.3 Application de mélangeurs à la détermination de diagrammes de phase

Au vu des effets des paramètres chimiques, physiques et de formulation des complexes polyélectrolytes, il apparaît crucial de pouvoir décrire de façon la plus précise et reproductible le diagramme de phase des systèmes.[96,99,81,137,121] Les systèmes étudiés dans cette thèse subissent une séparation de phase autour de la stœchiométrie correspondant à un minimum (local) d'énergie libre et l'étude du diagramme de phase est indispensable à la compréhension de l'effet des paramètres et des interactions sur la stabilité du système.

Le développement ces dernières années d'instruments micro ou milli fluidique a permis de rationaliser le protocole de mélange. En effet, ces puces permettent des ajouts contrôlés à vitesse ajustable au sein de gouttes sur une large gamme de temps de mélange, et ce en s'affranchissant du paramètre du manipulateur. Il est ainsi possible d'explorer les systèmes en variant la température, la concentration, le pH, la force ionique ou encore le débit d'ajout.[138–140] Ce processus permet par ailleurs de contrôler la taille et la stabilité des complexes formés et d'étudier les morphologies résultantes. Dans son étude Amine *et al.* utilisent ce système de choix pour l'étude du diagramme de phase de biopolymères formant une phase coacervat : la gomme arabique (GA) et la  $\beta$ -lactoglobuline (BLG). L'ensemble est équipé d'un mélangeur en T relié à un pousse-seringue à deux seringues remplies de GA et BLG, dont le contenu est mélangé et entraîné par un flux contrôlé d'huile de tournesol. Ce système possède de nombreux avantages : il permet l'élaboration rapide d'un diagramme de phase, ne nécessite que peu de matière première, le système de mélange est rapide, reproductible et modulable, le nettoyage entre les changements de composition se fait par passage des composés à l'intérieur jusqu'à la concentration

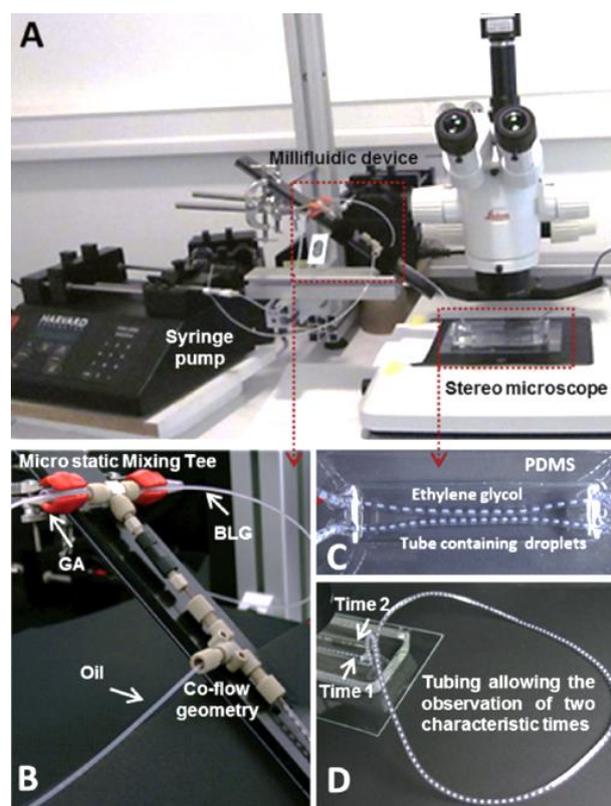


Figure 1-45 : Système millifluidique pour la détermination de diagrammes de phase liquide-liquide de gomme arabique et  $\beta$ -lactoglobuline (A) Montage expérimental.(B) Design du mélangeur en T. (C) Bain de PDMS utilisé pour l'observation des gouttes de mélange par stéréomicroscopie. (D) Observation simultanée à deux temps caractéristiques post-mélange [138].

désirée et une calibration pour la mesure par turbidité est possible et permet donc un suivi cinétique des différents mélanges. Le montage expérimental (Figure 1-45 A) ainsi qu'un exemple de résultats obtenus sur ce système par Amine *et al.* sont représentés sur la Figure 1-46.[138]

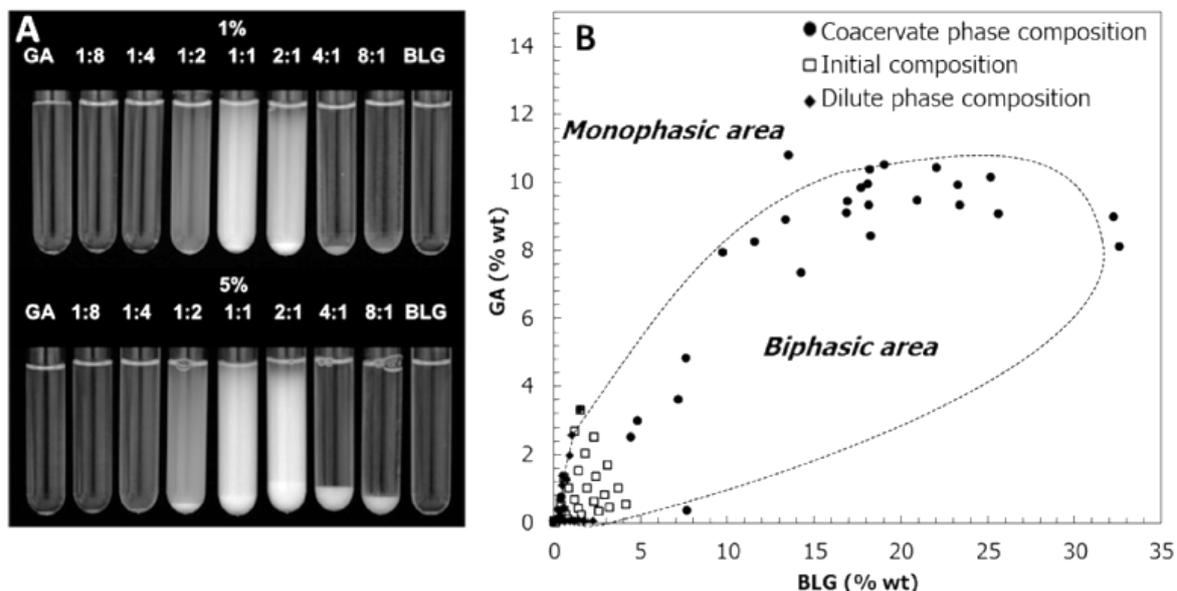


Figure 1-46 : Etude du système BLG/GA à l'équilibre thermodynamique. (A) Mélange BLG/GA, pH=4.2 étude de l'influence du rapport BLG/GA sur le taux de coacervation du système pour une concentration totale en biopolymères de 0.1-5%wt. (b) Diagramme de phase du système BLG/GA, pH 4.2 à l'équilibre après titrage de chacun des composants dans les deux phases pour déterminer la concentration précise (les lignes en pointillés correspondent à la binodale). [132]

### 1.2.3.4 Cinétique de la complexation

La première étape du processus d'association consiste en l'appariement des charges opposées sous l'action de forces électrostatiques, et ce en l'espace de quelques millisecondes. Dans un second temps, de l'ordre de l'heure, le système se réorganise pour corriger les distorsions des chaînes polymères et former de nouvelles liaisons électrostatiques afin de définir une nouvelle conformation des chaînes. On assiste enfin sous l'action de forces majoritairement hydrophobes à l'agrégation de ces complexes secondaires.

La cinétique du processus de complexation a été étudiée par Kabanov et Zezin dans les années quatre-vingt [53], plus récemment par Lindhoud et Kovacevic [91,141], ainsi que par les équipes de Schmitt, Sanchez, Renard [85,84,138] sur le système de coacervat à base de  $\alpha$ -lactoglobuline et de gomme d'acacia au moyen de techniques telles que la microscopie optique ou la diffusion de la lumière. Zheng *et al.*[142] ont suivi la cinétique de réorganisation de l'ADN avec des sels (NaCl, KCl,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Ils suivent les étapes de formation de complexes primaires, d'agrégation secondaire et de précipitation du système par diffusion de lumière, spectroscopie UV-vis et AFM. Mais il reste difficile de déterminer si la coacervation est initiée par un mécanisme de décomposition spinodale ou de nucléation et croissance car les étapes du processus sont très rapides pour être mesurées. Récemment, Liu *et al.* attestent par des mesures de stopped-flow de la rapidité de la formation des complexes (<5 ms), ainsi que des mécanismes en jeu lors de la formation de coacervat. Ils ont ainsi mis en évidence des courbes caractéristiques de diffusion aux temps courts discriminant les PECs solubles et dispersés/insolubles et la phase coacervat.

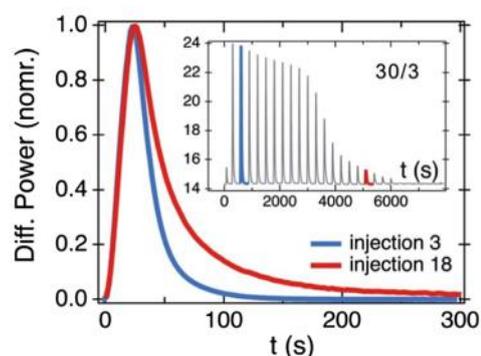


Figure 1-47 : Superposition de pics d'injection d'ITC ( $\Delta P$  normalisé en fonction du temps) pour le titrage du PANa dans le PDADMAC.[109]

Aux temps longs, l'étude par ITC du retour à la ligne de base des pics d'ITC superposés à différents temps de la réaction permet une détermination qualitative de la vitesse de réaction dans le système. Ainsi, Vitorazi *et al.* confirment (Figure 1-47) l'existence de deux processus distincts à l'œuvre dans le système PANA/PDADMAC par la présence de deux cinétiques distinctes selon le rapport de charge visé.[109] Pour les injections avant la stœchiométrie les pics sont étroits ce qui est caractéristique d'un processus rapide. Pour les injections après l'équivalence, le retour à la ligne de base est beaucoup plus lent, signe d'un processus de réorganisation du système

Aux temps courts, l'étude menée par Liu *et al.* [87] sur ce même système PAA/PDADMAC par stopped-flow met en évidence la rapidité de formation des complexes dits primaires. En effet, le signal enregistré au temps initial montre une intensité plus élevée que celui des polymères seuls non complexés. Cela suggère donc une complexation plus rapide que le temps mort de l'appareillage, évalué à 4 ms. Ce système présentant un coacervat à pH 10 [87,143], Liu *et al.* mettent en évidence par cette technique de mélange stopped-flow trois types de signatures cinétiques aux temps courts pour différents rapports de charge et sans sel ajouté. Ces résultats sont présentés sur la Figure 1-48 et résultent de différents processus de réorganisation des PECs primaires.

- (i) Des intensités décroissantes\* pour des rapports de charge faibles. Une intense et abrupte diminution est constatée en moins d'une seconde suivie d'une extinction lente du signal. Ce type de courbe caractérise le réarrangement et ou la relaxation de PECs solubles ayant une structure peu dense vers des PECs solubles plus denses.
- (ii) Une augmentation de l'intensité diffusée en fonction du temps pour des rapports de charge plus élevés mais différents de la stœchiométrie. Ces courbes correspondent à l'agrégation et au réarrangement des PECs solubles en nanoparticules de PECs neutres (dispersion). Ces dernières peuvent dans une certaine mesure se condenser pour former des gouttelettes de coacervat et cela d'autant plus que le système est proche de la stœchiométrie. Il y a alors coexistence des deux types d'objets en solution, nanoparticules de PECs et gouttelettes de coacervat.
- (iii) Des courbes en cloche†, sont observées en conditions de neutralité c'est-à-dire proches de la stœchiométrie et sont caractéristiques de la condensation cette fois-ci totale des PECs neutres en structures de grande taille correspondant aux gouttelettes de coacervat. Le système subit alors une séparation de phase liquide-liquide en une phase dense riche en PE en équilibre thermodynamique avec une phase appauvrie en polymère.

Takahashi *et al.* utilisent eux aussi un mélangeur ultra-rapide de type stopped-flow pour étudier les premiers instants (temps mort de l'appareillage de 2.5 ms) de la complexation du polyacrylate de sodium (PANA) et du poly(hydrochlorure d'allylamine)(PAH) par diffusion des rayons X aux petits angles TR-USAXS‡. Ils définissent par cette méthode trois étapes de la complexation : (i) juste après mélange, les chaînes de PE s'associent très rapidement (<2.5 ms) en complexes presque neutres sous l'effet d'interactions électrostatiques ; (ii) après 2.5 à 5 ms, des complexes de structure proche de la neutralité sont formés sous l'action de forces de van der Waals, des interactions hydrophobes et des effets de charges en excès sur les particules; (iii) enfin, après 360 ms, les petits agrégats aléatoires électrostatiques s'assemblent en particules sphériques polydisperses. En terme de structure, l'étude par USAXS révèle une structure d'agrégat fractale; les particules de complexe évoluent ensuite vers une morphologie plus compacte avec le temps.[98]

Pour les systèmes hors-équilibre donnant lieu à des transitions liquide-solide (précipitation), une seule étude cinétique a été trouvée dans la littérature pour expliquer le mécanisme de séparation de

\* Decay curves

† Bell-shaped curves

‡ Time-resolved ultra-small-angle X-ray scattering en anglais

phase aux temps courts [144], car la quasi-totalité d'entre-elles se focalisant plutôt sur des systèmes coacervats [145] ou sur des PECs solubles ou insolubles.

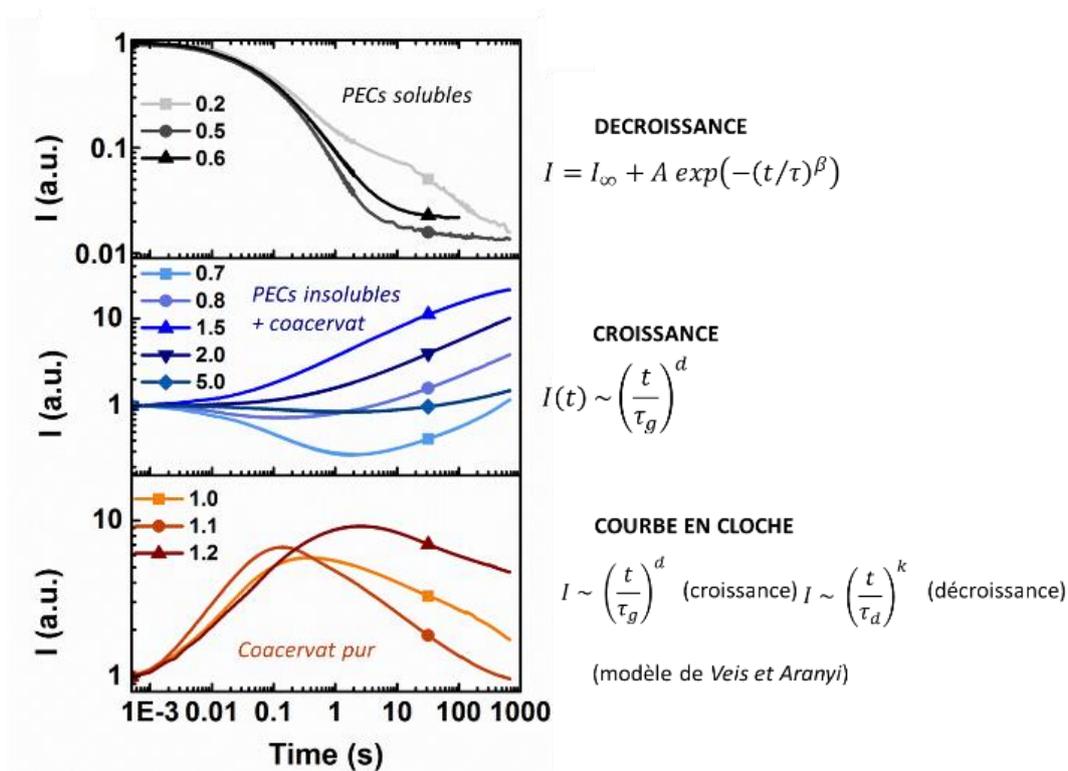


Figure 1-48 : Intensité du rayonnement en lumière à 90° normalisée pour des mélanges réalisés au stopped-flow sur des solutions de PAA et PDADMAC à pH 10.[263]

### 1.2.4 Thermodynamique de la complexation

L'interaction électrostatique, à l'origine dans les systèmes chargés de la floculation ou de la coacervation est une interaction à longue portée, contrairement aux forces d'interactions de type van der Waals. Dans le cas de PEs, l'étude des interactions électrostatiques est complexe car elles se manifestent à différents niveaux : interaction inter- et intramoléculaire des charges portées par les monomères, interaction des contre-ions avec les charges, interaction des charges avec les ions du milieu, interaction des contre-ions avec les ions du milieu.

De plus, si dans un premier temps, ce mécanisme semble être gouverné principalement par les forces électrostatiques, il faut également tenir compte des forces de solvation et plus précisément d'hydratation dans le cas de l'eau. Ainsi la complexation entre deux polyélectrolytes forts met en jeu non seulement l'interaction électrostatique entre les charges opposées mais il faut également tenir compte de l'énergie à fournir au système pour déshydrater les charges avant d'interagir. Il peut donc y avoir une compétition entre différents types d'interactions (électrostatique, coulombienne, hydrophobe, hydratation...) selon les conditions expérimentales et la nature des PEs étudiées.

En solution aqueuse, les macromolécules chargées sont entourées d'une double-couche électrique c'est-à-dire une région dans laquelle la concentration en contre-ions est plus élevée que celle en co-ions. D'un point de vue thermodynamique, cette double couche possède une énergie plus basse que dans le cas d'une répartition homogène car on a alors la

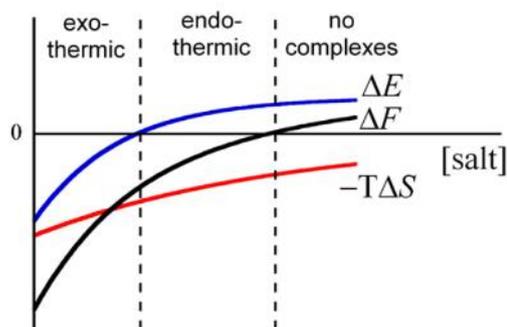


Figure 1-49 : Effet de l'ajout de sel sur les paramètres thermodynamiques de la complexation :  $\Delta F$  correspond à l'énergie libre de complexation ( $\Delta E$  à l'énergie électrostatique de la réaction et  $-T\Delta S$  à l'entropie).

distance entre charges opposées (contre ions/chaînes PE) plus faible qu'entre charges de même signe sur la chaîne du PE. L'entropie est également plus faible car les ions perdent en liberté translationnelle. Ainsi, quand deux macromolécules chargées sont associées pour former un complexe, ces doubles couches disparaissent en partie et des contre-ions sont libérés en solution et l'énergie et l'entropie du système varient.

L'enthalpie du système peut être de nature exothermique ou endothermique, en fonction de la force ionique en solution (Figure 1-49). A faible taux de sel, la longueur de Debye est importante ce qui se traduit par un nuage de contre-ions dense autour des PEs. Dans ces conditions, la complexation permet de diminuer fortement l'énergie électrostatique de surface des PEs. Ce gain d'énergie se traduit par le caractère exothermique de la complexation lorsque la force ionique est faible. À l'inverse, à forte salinité, l'énergie de surface des polyélectrolytes est fortement diminuée et l'interaction entre charges opposées est écrantée. Dans ces conditions la complexation est endothermique c'est-à-dire qu'il n'y a pas de gain enthalpique.[22]

L'entropie associée à la formation du système est positive, due principalement à la libération des contre-ions confinés dans la double couche. Cependant le gain entropique diminue avec l'augmentation de la force ionique car la différence de concentration en ions entre l'intérieur du nuage de contre-ions condensés et la solution diminue.[17] Une seconde contribution à l'entropie du système et qui s'oppose à la complexation est la perte d'entropie configurationnelle et conformationnelle des chaînes de PEs. Ce terme reste en général faible comparé à la composante positive des contre-ions (Figure 1-49).

La concentration en sel pour laquelle on passe d'une réaction exothermique à endothermique varie en fonction des systèmes choisis ; celle-ci est caractéristique en solution d'un changement d'état de la phase complexée à savoir un état solide (précipité) ou liquide (coacervat).[137,146,147]

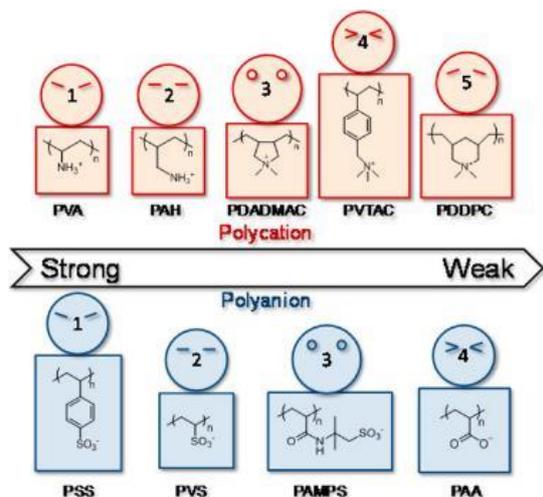


Figure 1-50 : Classification des PEs en fonction de la force d'interaction.[150]

Plus le motif du PE est 'hydrophile', plus l'association sera faible entre les PEs. D'autre part, plus le contre-ion sera hydraté plus il sera facile de le séparer de son PE. Ce qui leur permet de classer différents PEs classiquement utilisés en fonction de leur aptitude à la formation de PECs à interaction forte ou faible (Figure 1-50).[148–150]

Si l'on regarde maintenant des exemples de paramètres thermodynamiques pour des systèmes étudiés dans la littérature (Tableau Annexe 3), il paraît impossible de comparer les systèmes tant les paramètres chimiques et physiques reliés à l'intensité de l'interaction et les chemins de formulation varient. En effet, outre la physico-chimie du solvant, la température, la concentration, la vitesse de mélange et la vitesse d'injection sont à prendre en compte dans la comparaison de deux réactions de complexation. Enfin, les paramètres indirects comme l'énergie libre du système, l'entropie ou la constante de couplage sont à manipuler avec précaution car les caractéristiques dérivent directement

de modèles physiques qui ne prennent pas toujours en compte les différentes contributions à l'interaction totale ( $\Delta H$ ) mesurée en ITC.[151]

### 1.2.5 Conclusion

En fonction de l'intensité de l'interaction, on assiste donc à la stœchiométrie à une séparation de phase liquide-liquide ou liquide-solide du système de PEs. Les agrégats solides présentent la particularité d'être hors-équilibre, c'est à dire très sensibles aux variations des 'chemins de formulation' et associés à des constantes d'équilibre élevées (Tableau 1-13). Les coacervats sont quant à eux dans un état de quasi équilibre thermodynamique avec une phase appauvrie en polymère correspondant au surnageant, en équilibre avec une phase riche en polymère, le coacervat ; avec des constantes d'association faible. Dans les processus d'auto/co-assemblage de macromolécules comme la complexation de polyélectrolytes, le système tend à minimiser son énergie libre  $\Delta G$ . Pour atteindre cette condition, il faut que le système soit très exothermique ( $\Delta H < 0$ )

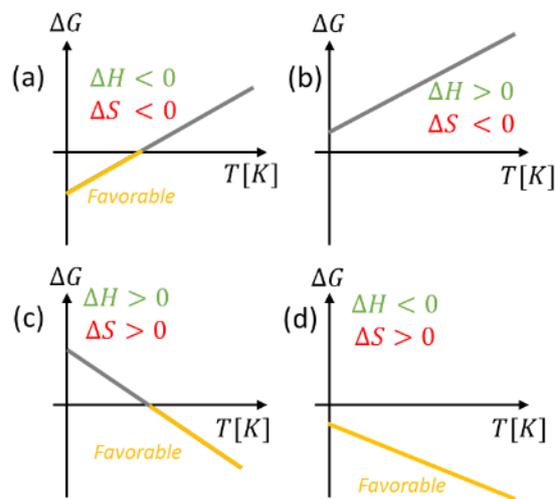
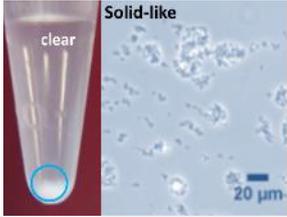
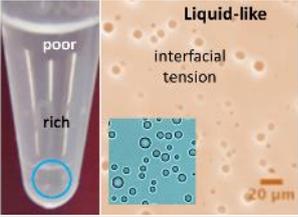


Figure 1-51: Relation entre énergie libre ( $\Delta G$ ), enthalpie ( $\Delta H$ ) et entropie ( $\Delta S$ ) de la réaction en fonction de la température.

	Système à forte interaction	Système à faible interaction
Force de l'association	$K > 10^6 \text{ M}^{-1}$ , $\Delta H < 0$ , Système de PEs peu hydraté	$K < 10^4 \text{ M}^{-1}$ , $\Delta H > 0$ , Système de PEs hydraté
Force motrice	Enthalpique et Entropique Expulsion contre-ions et molécules d'eau ( $\Delta S > 0$ )	Entropique Expulsion contre-ions et molécules d'eau et Mélange aléatoire des PEs ( $\Delta S > 0$ )
Thermodynamique	Exothermique	Endothermique
Stabilité	'Hors équilibre' Influence des chemins de formulation	'Equilibre' thermodynamique $\neq$ chemins $\rightarrow$ même morphologie
Morphologie associée at Z=1	Précipité Transition de phase liquide $\rightarrow$ solide 	Coacervat Transition de phase liquide $\rightarrow$ liquide 
Propriétés et applications	Précipité, structures vitreuses, faible labilité des PECs, faible perméabilité aux ions et petites molécules, croissance linéaire en multicouches (LbL)	Coacervat, comportement labile pendant la formation de PECs, transport facilité de petites molécules et ions, croissance exponentielle en multicouches (LbL)

et/ou gagne en entropie ( $T\Delta S > 0$ ). Ainsi, les systèmes ont comme force motrice (i) l'enthalpie si le système est fortement exothermique ; (ii) l'entropie si le processus est endothermique ( $\Delta H > 0$ ) (Figure 1-51).[22]

Tableau 1-13 : Classification et caractéristiques des systèmes PECs à la stœchiométrie en fonction de l'intensité de l'interaction à l'œuvre dans le système. [109,87,143]

Si l'électrostatique est généralement admise par la physique classique comme moteur de la complexation, Fu *et al.* expliquent que c'est le gain entropique qui prime sur l'électrostatique. Ils remettent ainsi en cause la vision classique de l'appariement des charges à longue portée. Ils étudient les contributions enthalpiques par ITC en mesurant les variations des enthalpies de mélange pendant la

complexation du PSSNa et du PDADMAC pour différents contre-ions du PDADMAC avec différents ions de la série d'Hoffmeister. D'après leurs résultats, l'origine des échanges de chaleur provient des échanges de molécules d'eau autour des PEs et des ions et non de la somme des différentes contributions enthalpiques (répulsives/attractives) de Coulomb à longue portée. Pour ces auteurs, on se trouve dans le cas d'un continuum électrostatique, et l'on assiste à un échange perpétuel d'ions\* à l'échelle locale entre les paires d'ions complexés et les PEs libres. L'étude plus systématique de l'hydratation de ces paires d'ions et des PEs pourrait être la clé de la compréhension du mécanisme de complexation.[151,150,152]

Ils montrent par ailleurs sur le système PSSNa/PDADMAC qu'il existe un continuum entre les différentes morphologies, et qu'il est possible de passer de façon réversible d'une morphologie à l'autre par modulation de l'intensité de la force d'interaction, en particulier en jouant sur la quantité de sel ajoutée au système.[151,153,152]

De plus, si l'on s'intéresse aux paramètres décrits par la physique classique pour deux paires de PEs classiquement étudiées dans la littérature, PANa/PDADMAC et PSSNa/PDADMAC on obtient à la stœchiométrie des morphologies très différentes. Or, les paramètres de Manning de ces 2 systèmes sont identiques deux à deux :  $\Gamma_{\text{PDADMAC}}=1.44$  ;  $\Gamma_{\text{PANa}}=2.88$  ;  $\Gamma_{\text{PSSNa}}=2.88$ . [121] Du seul point de vue de la physique, cela signifierait une complexation similaire. Si on intègre des caractéristiques plus globales, selon la classification de Figure 1-50, le système PANa x PDADMAC interagit avec une intensité bien plus faible que le système PSSNa x PDADMAC. Par ailleurs, des données thermodynamiques sur l'hydratation des PEs suggèrent un système en forte interaction, sensible aux chemins de formulations et qui précipite pour la paire PSSNa x PDADMAC et relativement faible, à l'équilibre et qui coacerve pour la paire PANa x PDADMAC (Tableau 1-14)[137,143].

Tableau 1-14 : Caractéristiques des systèmes PANa x PDADMAC et PSSNa x PDADMAC.[137,143]

Système	PANa x PDADMAC	PSSNa x PDADMAC
<i>Morphologie à la stœchiométrie</i>	Transition liquide → liquide coacervat	Transition liquide → solide Précipité/agrégat
<i>Stabilité</i>	Equilibre	Hors équilibre
<i>Thermodynamique</i>	$\Delta H > 0, K \sim 10^3 M^{-1}$	$\Delta H < 0, K \sim 10^6 M^{-1}$
<i>Hydratation</i>	Très hydraté	Peu hydraté
<i>Paramètre de charge Manning-Ôsawa</i>	$\Gamma_{\text{PANa}}=2.88$ ; $\Gamma_{\text{PDADMAC}}=1.44$	$\Gamma_{\text{PSSNa}}=2.88$ ; $\Gamma_{\text{PDADMAC}}=1.44$

N

Dans la plupart des systèmes, la formation des PECs est cinétique et donc soumise aux chemins de formulation suivis (paramètres de mélange, caractéristiques des PE, spécificités de la solution...). En outre, la densité de charge du PE, la nature des groupements chimiques, et la facilité des PEs à s'hydrater en solution et se déshydrater lors de la complexation jouent un rôle primordial sur les morphologies finales des PECs. Etudier la formation des PECs en milieu dilué, à la lumière de leur signature thermodynamique, cinétique et leur morphologie finale permet d'examiner l'influence des paramètres de formulation sur les propriétés physiques des PECs.

La stabilité des PECs et le contrôle de l'assemblage passent par une approche globale et une maîtrise de la compétition entre les temps de réaction et de mélange afin de minimiser la polydispersité et le polymorphisme en solution. Pour y parvenir, il faut contrôler l'intensité des interactions et les chemins de formulations; pour les systèmes forts, les chemins de formulation vont influencer fortement sur les morphologies/propriétés finales des complexes alors que les systèmes faibles, à l'équilibre, seront peu impactés. Certains paramètres clés seront donc à étudier :

\* *Ion-pairing ou ion-exchange en anglais.*

*Intensité de l'interaction et temps de réaction*

Une interaction forte est synonyme de systèmes cinétiquement figés et donc hors-équilibre car les liaisons se forment très rapidement sans que les ajustements conformationnels nécessaires à l'obtention d'un état de faible énergie aient pu se produire. Au contraire, une interaction faible permet au système d'atteindre un état d'équilibre dynamique où les composants sont dans leur plus faible état énergétique. L'absence d'interaction donne lieu à un système 'dormant'. De façon intéressante il est possible pour n'importe quel système et en particulier les systèmes électrostatiques de moduler la force d'interaction en jouant sur la température, la polarité du solvant et la salinité. Un système où les interactions sont fortes peut ainsi être placé de façon réversible dans un état dormant où l'interaction est 'éteinte', les divers composants n'interagissent plus.

*Chemins de formulation et temps de mélange*

Les mélangeurs actuels permettent une très grande diversité de temps de mélange (de quelques millisecondes avec le stopped-flow à plusieurs jours avec un système de dialyse). Le temps de mélange qui correspond au temps nécessaire pour atteindre un système avec une répartition homogène des composants doit être choisi en fonction de l'intensité de l'interaction: un système interagissant faiblement sera à l'équilibre et sera indépendant de la vitesse de mélange, alors qu'un système en forte interaction sera très sensible à ce paramètre de formulation. Il est donc indispensable de pouvoir quantifier le temps d'homogénéisation de chaque mélangeur. Cela se fait le plus souvent par un suivi colorimétrique.[154]

En conclusion, la thermodynamique d'assemblage des PEs de charge opposée est très documentée mais les études sont difficilement comparables tant le nombre de paramètres diffèrent entre les diverses expériences. Le lien entre la constante d'interaction et les autres paramètres thermodynamiques reste peu étudié. La cinétique du mélange est très majoritairement suivie aux temps longs par turbidimétrie et celle aux temps courts est peu documentée. Enfin, la morphologie de ces complexes de PEs réalisés à la stœchiométrie comme les coacervats et les précipités ont été étudiées de façon soutenue par des techniques de microscopie (optique, électronique...) et de diffusion de rayonnement (lumière, neutron, RX).

### 1.3 Conclusion

Ce chapitre bibliographique a permis de mettre en évidence l'intérêt scientifique, technologique et industriel des PECs. Nous avons pu nous rendre compte néanmoins de la complexité de ces systèmes souvent hors équilibres et donc fortement dépendant des conditions de formulation. Si des études se penchent sur le lien entre thermodynamique et morphologie, la signature cinétique en particulier aux temps courts reste peu étudiée voire anecdotique. Le lien entre thermodynamique, morphologie et cinétique de la complexation semble une approche naturelle pour optimiser les divers paramètres clés de contrôle du processus de complexation/assemblage. Enfin, si les morphologies de coacervats et de précipités sont très étudiées dans la littérature, la structure cœur-couronne des PECs colloïdaux reste peu documentée en termes d'imagerie. À travers l'étude de plusieurs systèmes et en corrélant thermodynamique, morphologies et cinétique, cette thèse entreprend d'apporter des éléments de réponse à la compréhension de la complexation de PEs. Dans les chapitres suivants nous étudieront tout d'abord le système PSSNa/  $\ell$  PEI pour lequel i) le temps de mélange *versus* temps de réaction sera étudié par l'utilisation de diverses techniques d'ajout, ii) la morphologie des PECs sera élucidée par AFM et DNPA pour différentes longueurs de chaîne de PSS. Le chapitre 3 s'intéressera au système biologique DxS/  $\ell$  PEI : i) au lien entre morphologie/thermodynamique/morphologie en fonction de l'ordre d'ajout des composés, ii) à la structure des coacervats formés à  $Z \sim 1$ . Enfin le chapitre 4 posera les jalons d'un protocole global pour l'étude systématique de systèmes de PEs corrélant thermodynamique, morphologies, cinétique, intensité d'interaction et hydratation des PEs sur 4 systèmes de PEs.

# CHAPITRE 2

*'Beau chemin n'est jamais long'  
Proverbe provençal*

# Table des Matières

2.1 Introduction .....	67
2.2 Conditions expérimentales .....	69
2.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes .....	69
2.2.2 Préparation des solutions .....	69
2.2.2.1 Méthode d'ajout des PEs .....	69
2.2.2.2 Suivi de la complexation .....	70
2.2.3 Microscopie à force atomique .....	71
2.3 Caractéristiques générales de la complexation du système PSSNa/ $\ell$ PEI .....	72
2.3.1 Caractérisation par diffusion de la lumière .....	72
2.3.2 Imagerie AFM des complexes .....	77
<i>Analyse AFM des PSSNa</i> .....	77
<i>Analyse des complexes</i> .....	78
<i>Influence de la masse molaire</i> .....	78
<i>Influence du rapport de charge</i> .....	81
<i>Influence du temps de mélange</i> .....	82
2.3.3 Caractérisation par diffusion des neutrons aux petits angles (DNPA) .....	84
2.3.4 Étude de la complexation en stopped-flow .....	89
2.3.4.1 Cinétique de complexation .....	89
2.3.4.2 Etude de la morphologie des complexes formés par MALS .....	91
2.4 Application à un micro mélangeur .....	93
2.4.1 Partie expérimentale .....	93
2.4.1.1 Mélanges manuels .....	93
2.4.1.2 Micromélangeur .....	93
<i>Appareillage</i> .....	93
<i>Précaution d'emploi</i> .....	94
Détermination du temps de mélange par colorimétrie .....	94
2.4.1.3 Caractérisation des PECs par DLS .....	94
2.4.2 Résultats .....	95
2.4.2.1 Mélanges manuels .....	95
2.4.2.2 Mélangeur microfluidique .....	96
2.4.3 Conclusion .....	99

# CHAPITRE 2

## Etude d'un système complexant fort : Polyéthylène imine/Polystyrène sulfonate

### 2.1 Introduction

L'étude expérimentale de ce travail de thèse débute avec l'étude d'un système complexant fort à base de polystyrène sulfonate et de polyéthylèneimine linéaire.

Le polystyrène sulfonate est un PE modèle utilisé dans la plupart des études théoriques dédiées au comportement des PEs en solution. Le polystyrène sulfonate, sous sa forme sodique  $C_8H_7SO_3Na$  (PSSNa) est issu du polymère hydrophobe de référence, le polystyrène sur lequel est fixé en position para du groupement phényle un motif sulfonate  $-SO_3^-$  (Figure 2-1). Il est obtenu par polymérisation du styrène sulfonate ou par sulfonation de polystyrène. La masse de son motif de répétition est de 206.19 g/mol. Les fonctions sulfonate ayant un  $pK_a$  de 2, les chaînes de PSSNa sont chargées sur une très large gamme de pH et ce PE est ainsi considéré comme un PE fort. L'intérêt d'utiliser le PSSNa est qu'il est commercialement disponible dans une large gamme de masse molaire et avec des dispersités faibles puisque il est vendu aussi comme étalon de GPC.

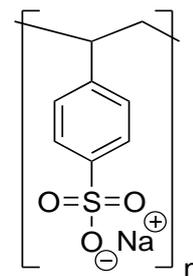


Figure 2-1 : Structure chimique du polystyrène sulfonate de sodium (PSSNa).

En termes d'applications, le PSSNa est essentiellement connu pour son utilisation dans le domaine des polymères conducteurs où il est complexé avec le PEDOT (poly(3,4-éthylènedioxythiophène)).[155] De façon intéressante le PSSNa est aussi utilisé dans le domaine médical pour réguler la concentration en potassium dans le tube digestif; il est par conséquent administré en cas d'hyperkaliémie chez l'homme.[156]

Le polyéthylène imine (PEI) ou polyaziridine linéaire est une polybase dont le motif de répétition contient une amine secondaire (Figure 2-2). Le PEI utilisé dans ce chapitre possède une très faible masse molaire (2000 g/mol). Sous sa version protonée, c'est un polyélectrolyte faible, dont le taux d'ionisation en solution est alors contrôlé par le pH. Les valeurs de  $pK_a$  typiquement reportées pour le PEI sont autour de 7.[157]

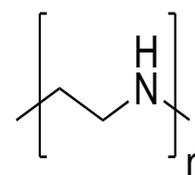


Figure 2-2 : Structure chimique du polyéthylène imine linéaire (PEI).

Utilisé dans de nombreuses applications médicales pour son aptitude à capter les protons [158], on trouve le PEI dans des domaines aussi variés que la détergence, le traitement de l'eau, la cosmétique, l'industrie du papier [159], les adhésifs ou encore la médecine comme réacteur ou capteurs.[160] Enfin, il est l'agent de transfection par excellence car il condense l'ADN sous forme de particules cationiques, et permet ainsi la transfection de matériel génétique. La capacité du PEI à capter les protons permet un afflux de contre-ions dans la cellule et augmente la pression osmotique de la vésicule ce qui résulte en son éclatement et à la libération de l'ADN dans le cytoplasme.[161]

Comme il a été vu dans le chapitre bibliographique, lorsque l'on est à la stœchiométrie en charge, les complexes peuvent former soit un précipité soit un coacervat en fonction de l'intensité de l'interaction entre les PEs de charge opposée. Hors stœchiométrie, on obtient le plus souvent des complexes sous une forme colloïdale. Dans ce cas les structures formées sont des agrégats de taille finie contenant un nombre limité de charges complexées et présentant souvent une forte stabilité en solution aqueuse. Les particules de PECs ainsi obtenues sont constituées d'un cœur hydrophobe résultant d'un appariement quasiment stœchiométrique des paires d'ions et stabilisées en surface par

l'excès de PE partiellement complexé. (Figure 2-3). Même s'il est souvent fait référence dans la littérature à ce type de structuration celle-ci a rarement été mise en évidence de façon explicite.[128,90,134,162,163] Ici on se propose d'étudier par diffusion de rayonnement (lumière et neutrons) et AFM la morphologie des complexes non stœchiométriques à base de  $\ell$  PEI et de PSSNa formés en présence d'un excès de PSSNa. Outre le rapport de charge  $Z[+]/[-]$  que l'on fera varier entre 0.025 et 0.9, on étudiera également une très large gamme de masses molaires de PSSNa. Comme on est dans le cas d'un système où les interactions électrostatiques sont fortes, on peut s'attendre à ce que les structures des complexes soient relativement stables ce qui permettra d'effectuer des analyses avec différentes techniques. Le  $\ell$  PEI utilisé ayant une très faible masse molaire, on vérifiera également si des complexes solubles peuvent se former en présence d'un large excès de PSSNa de forte masse.

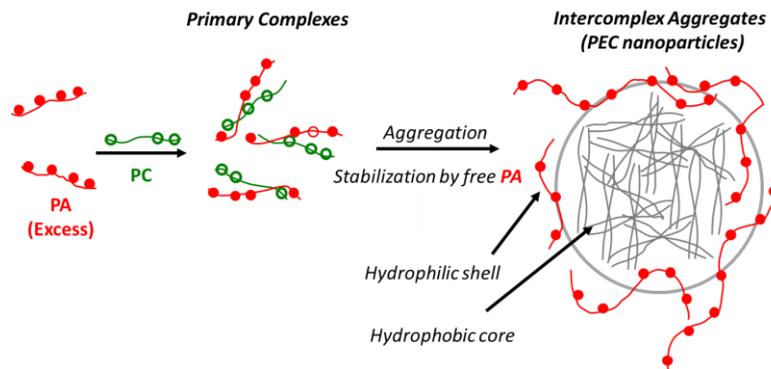


Figure 2-3 : Schéma attendu pour la formation de complexes polyélectrolytes en présence d'un excès de polyanion. (PA: polyanion, PC: polycation) Adapté de [264].

Par ailleurs, le couple PEI/PSSNa étant potentiellement un système hors équilibre, on va s'intéresser à l'influence du temps de mélange en comparant différentes techniques d'ajout : l'ajout lent au pousse-seringue, l'ajout rapide à la micropipette, et l'ajout rapide avec un mélangeur de type stopped. Enfin, on s'intéressera à l'utilisation d'un mélangeur microfluidique qui permet de moduler le temps de mélange sur une large gamme.

Toutes les réactions de complexation ont été réalisées à pH 4.0. À ce pH le PEI présente un taux de protonation de 66% comme cela a pu être déterminé par dosage potentiométrique (Figure 2-4 et Figure Annexe 5).

Afin de vérifier si le pH demeure constant pendant la complexation on a réalisé un dosage potentiométrique du PSSNa<sub>150K</sub> par le  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>, les solutions initiales étant ajustées à pH 4.0. On observe une légère augmentation du pH avec un maximum autour de 4.75 autour de l'équivalence puis une diminution jusqu'à la valeur initiale de 4. Ceci traduit une augmentation du  $pK_a$  du PEI en cours de complexation ce qui est attendu dans le cas de la complexation d'une polyamine par un polyanion.[164] Par exemple, dans le cas d'un système polyallylamine/polystyrène sulfonate (PAH/PSSNa), Petrov *et al.* ont montré que le  $pK_a$  des groupements amine augmentait de 8.7 à 10.7 lorsque le PAH est complexé avec le PSSNa.[164] En effet, au cours de la complexation le nombre de charges libres sur le PEI diminue et donc les interactions répulsives intra et intermoléculaires sont diminuées ce qui conduit à une protonation plus importante de la chaîne c'est-à-dire une augmentation du  $pK_a$ .

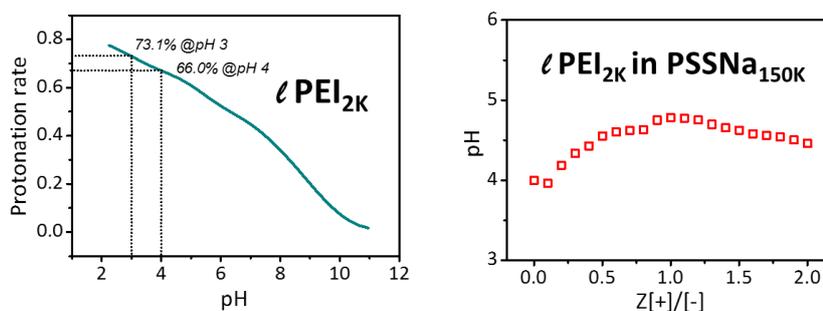


Figure 2-4 : (gauche) Taux de protonation calculé à partir du dosage du  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> (c = 51 mM) par une solution de HCl à 0.1M à 25°C. (droite) Evolution du pH lors de la complexation par ajout lent d'une solution de PEI à une solution de PSSNa<sub>150K</sub> en fonction du rapport de charge  $Z$ . Le pH initial des deux solutions de PE est ajusté à 4 et la concentration en charges est de 4.85 mM pour les deux PE.

## 2.2 Conditions expérimentales

### 2.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes

L'ensemble de l'étude a été effectuée avec un PEI linéaire de masse molaire 2000 g/mol ce qui correspond à un degré de polymérisation (DP) d'environ 47. Concernant le PSSNa, on utilisera des étalons de chromatographie possédant des masses molaires comprises entre 4.3K et 2.6M de g/mol. Les caractéristiques des polymères sont présentées dans le Tableau 2-1.

Tableau 2-1 : Caractéristiques des polyélectrolytes utilisées au cours de cette étude.

PE	Référence	N° lot	Fournisseur	MW g/mol	DP	Forme physique	Teneur massique en eau (%) <sup>*</sup>
[-]	PSSNa <sub>4.3K</sub>	81606 Standard GPC	#BCBP3826V Fluka (Aldrich)	4 230	21	Poudre	13.3
	PSSNa <sub>32K</sub>	81610 Standard GPC	#BCBQ8970V #BCBP6433V Fluka (Aldrich)	29 100	140	Poudre	12-14
	PSSNa <sub>150K</sub>	81614 Standard GPC	#BCBL0159V Sigma Aldrich	148 000	720	Poudre	11
	PSSNa <sub>600K</sub>	PSSNa- PSSNa600k	#PSSNa4070-2 PSSNa	679 000	3 000	Poudre	11.1
	PSSNa <sub>2.6M</sub>	81617 Standard GPC	#BCBN0304V Fluka (Aldrich)	2 260 000	13 000	Poudre	13.4
[+]	PEI <sub>2K</sub>	406700- 250ML	#10910440 Sigma Aldrich	2 000	47	Solution aqueuse	50

### 2.2.2 Préparation des solutions

Les PEs sont dissous en solution aqueuse à une concentration de 48.5 mM, soit dix fois supérieure à celle nécessaire pour former les complexes. Le pH initial des solutions de PE est fixé à 4.0 et ajusté si nécessaire 24 heures après. Les solutions de PE sont ensuite diluées 10 fois pour réaliser les différentes expériences et le pH ajusté à nouveau si nécessaire. Une filtration des solutions de PE est également effectuée systématiquement sur membranes de cellulose de porosité 0.45 µm (Acrodisc®).

#### 2.2.2.1 Méthode d'ajout des PEs

La méthode d'ajout la plus lente qui a été utilisée et désignée par [SLOW] est celle réalisée au pousse seringue à un débit de 0.048 mL/min, la solution titrée étant sous agitation à 450 tours par minute (agitateur de type thermomixer, Eppendorf®). Dans la mesure où l'on souhaite obtenir des complexes avec un excès de PSSNa, la solution de PEI en défaut a toujours été ajoutée à celle de PSSNa en excès. Comme cela a été montré par Müller *et al.* sur le système PEI/PAA, il est en effet préférable d'ajouter le composé en défaut à celui en excès pour éviter le passage par la stœchiométrie synonyme d'agrégation pouvant être irréversible (précipité) dans le cas des PEs forts [73]. La méthode d'ajout rapide désignée par [FAST] est réalisée par un ajout à la micropipette en utilisant également un agitateur Eppendorf® pour la solution titrée. Enfin la méthode par addition très rapide dite [ULTRAFast] fera appel au micromélangeur de type stopped-flow de Bio-logic® muni d'un mélangeur turbulent de type

\* déterminé par analyse thermogravimétrique (TGA)

Berger Ball. Les caractéristiques des différents types de mélanges effectués sont décrites dans le Tableau 2-2.

Tableau 2-2 : Caractéristiques des techniques de mélange utilisées au cours de cette étude.

Type de mélange	Mélangeur	Vitesse d'ajout (ml/min)	volumes de solution de PE engagés (titrant/titré)
[SLOW]	pousse-seringue/thermomixer	0.048	200-500 $\mu$ L/600-1000 $\mu$ L
[FAST]	micropipette/thermomixer	120	
[ULTRA-FAST]	stopped-flow	540	180-220 $\mu$ L/180-220 $\mu$ L

### 2.2.2.2 Suivi de la complexation

La complexation sera toujours suivie en fonction du rapport de charge Z, défini par :

$$Z = \frac{[+]}{[-]} \quad \text{Equation 2-1}$$

où les concentrations molaires en motifs cationiques et anioniques sont déterminées en considérant que le PEI est chargé à 66% et le PSSNa à 100%. Ici, les solutions initiales de PEI et PSSNa sont à 4.85 mM en charge.

Comme tous les complexes sont préparés avec un excès de PSSNa, les rapports Z seront toujours inférieurs à 1. A l'issue de la complexation, les suspensions de complexes sont filtrées sur des membranes en acétate de cellulose (0.8 et 1.2  $\mu$ m, Acrodisc®) pour s'assurer de caractériser les PECs colloïdaux et non le précipité qui peut apparaître dès Z=0.7 pour le PSSNa de 150K. En effet, comme cela est visible sur la Figure 2-5 pour des taux de charge proches de la stœchiométrie on observe la formation d'agrégats qui semblent être de nature fractale. Il est important de préciser que cette précipitation ne concerne qu'une partie du système, la majorité des complexes étant sous forme de particules colloïdales qui sont conservées après filtration, comme cela a été mesuré par diffusion de la lumière. Par ailleurs, on a pu vérifier par microscopie optique que les agrégats de type précipité ne se reformaient pas après filtration (Figure 2-5).

Les suspensions sont ensuite conservées dans des tubes en plastique pour éviter que le PEI ne se complexe avec les parois des tubes en verre. Les suspensions sont maintenues en agitation jusqu'à leur analyse.

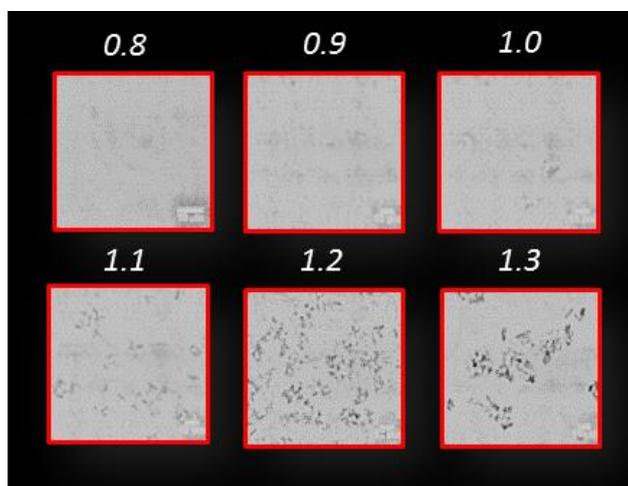


Figure 2-5 : Microscopie optique des complexes PSSNa<sub>150K</sub>/PEI<sub>2K</sub> à pH 4 et 10 mM NaCl préparés par ajout rapide de PEI dans le PSSNa sous agitation. La barre d'échelle est de 10  $\mu$ m.

### 2.2.3 Microscopie à force atomique

La microscopie à force atomique ou AFM, est utilisée dans cette étude pour apporter une information sur la morphologie des complexes. Les expériences ont été menées à température ambiante, sur des échantillons à l'état sec, en utilisant un microscope Multimode 8™ (Veeco Instruments Inc.).

Les images topographiques et de phase des complexes polyélectrolytes ont été obtenues à l'aide d'un levier rectangulaire en silicone (AC 160-TS, Atomic Force, Allemagne). Le mode intermittent™ a été utilisé avec une constante de raideur du ressort de  $26 \text{ N.m}^{-2}$  et une fréquence de résonance variant de 270 à 330 Hz, ainsi qu'un rayon de courbure de moins de 10 nm au niveau de la pointe (Figure 2-6).

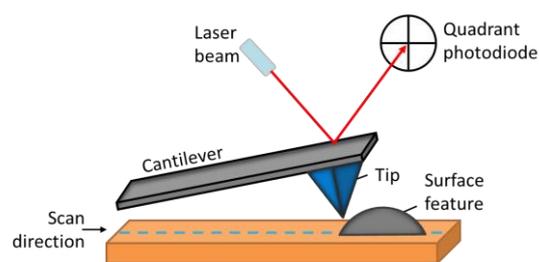


Figure 2-6 : Illustration du principe de fonctionnement de l'AFM.

Des expériences préliminaires pour déterminer la concentration, la méthode de dépôt et la nature du substrat ont été conduites et certains résultats sont présentés ci-dessous.

Tout d'abord il convient de préciser que les chaînes de PEI sont beaucoup trop petites pour être visualisées en AFM. Par contre les chaînes de PSSNa, plus encombrées peuvent être visualisées à partir d'une masse molaire de 32K.

Deux types de substrats ont été testés : le mica hydrophile et le graphite hydrophile de type HOPG (highly oriented pyrolytic graphite), une forme très pure de graphite synthétique se présentant sous forme de couches orientées. Le dépôt d'une solution de PSSNa<sub>150K</sub> sur une surface fraîchement clivée

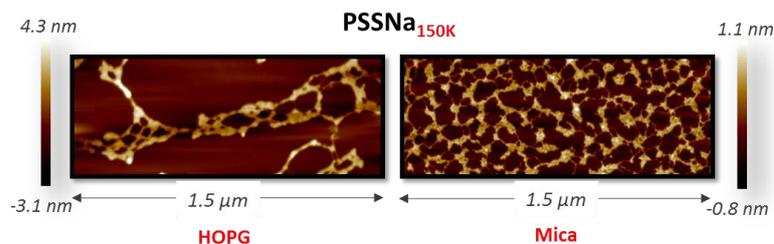


Figure 2-7 : Images topographiques du PSSNa<sub>150K</sub> déposé à 100 ppm sur HOPG (gauche) et mica (droite). Après dépôt les substrats sont rapidement séchés sous flux d'azote.

de HOPG montre la formation de larges structures constituées de nombreuses chaînes agrégées de polymère. Cette agrégation est certainement due au caractère hydrophobe du graphite qui va engendrer le démouillage local de la solution de polymère lors de l'évaporation. Dans le cas du mica on peut distinguer plus facilement les chaînes individuelles de polymère même si certaines d'entre elles sont partiellement agrégées en raison de la concentration en polymère relativement élevée pour cette expérience (Figure 2-7). Un meilleur étalement du PSSNa à la surface du mica (1 charge négative/50 Å<sup>2</sup>) traduit l'existence de répulsions électrostatiques entre la surface du substrat et les chaînes de PSS.

Deux méthodes de dépôt sont également testées. Dans les deux cas, une goutte de suspension de complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> à une concentration de 1 ppm est déposée sur du mica fraîchement clivé. Dans le premier cas, la goutte est séchée à l'air ambiant alors que dans le second cas, la goutte est évaporée par un flux d'azote pendant environ 5 secondes (Figure 2-8). Enfin pour les deux méthodes, les substrats sont placés sous vide statique pendant 10 h à 40 °C pour compléter le séchage. On note que la première méthode sans flux d'azote ne permet pas une visualisation optimale car les complexes se rétractent de la surface du mica sous l'effet des forces capillaires lors du séchage. Dans la seconde méthode, le flux d'azote engendre un meilleur étalement du liquide figeant rapidement la morphologie des complexes sur la surface du mica. On peut ainsi observer distinctement la couronne de PSS qui s'étale autour du cœur des complexes.

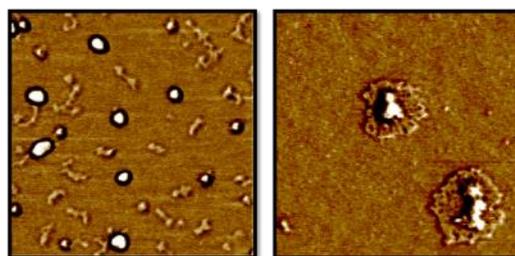


Figure 2-8 : Images de phase des complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> ( $Z=0.9$ ) déposés à une concentration de 1 ppm sur mica et séchés à l'air (gauche) ou sous flux

Concernant la concentration optimale en polymère à utiliser pour l'analyse AFM, une gamme de concentrations de 1 à 100 ppm en PSSNa de 150K a été préparée à partir d'une solution mère à 0.2 g/L. La Figure 2-9 met en évidence une concentration très faible de 1ppm à partir de laquelle on peut observer les chaînes individuelles sans phénomène d'agrégation. Les concentrations choisies au cours de cette étude se situeront alors entre 0.5 et 2 ppm afin de permettre l'observation individuelle des chaînes de PE et des complexes.

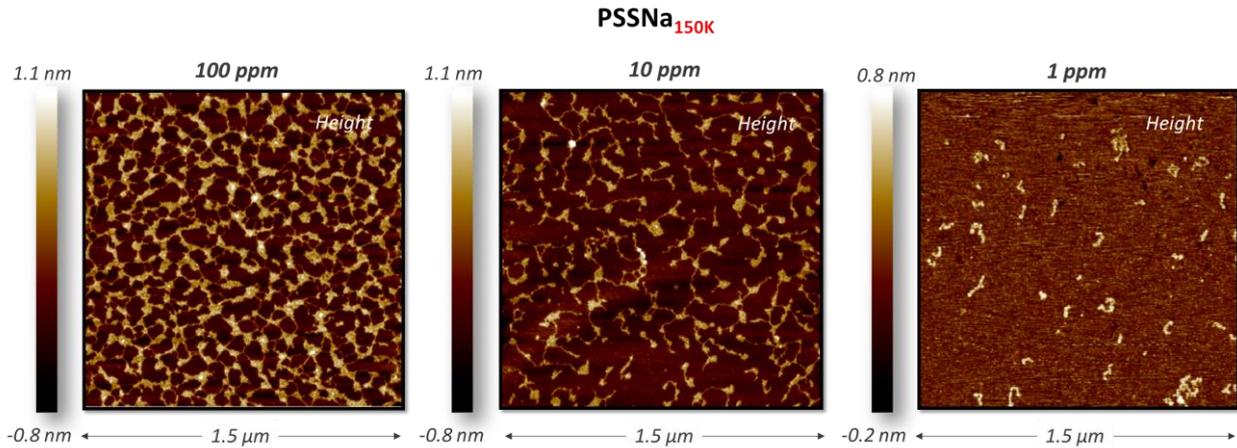


Figure 2-9 : Images topographiques du PSSNa<sub>150K</sub> sur mica à 3 concentrations : 100 ppm, 10 ppm et 1ppm (de gauche à droite). Les substrats ont été séchés sous flux d'azote après dépôt.

En résumé, les conditions expérimentales pour l'analyse en AFM consisteront à utiliser des suspensions diluées de complexes ( $C < 5$  ppm), à déposer une goutte de 4 μL sur une surface de mica fraîchement clivée, suivi d'un séchage du substrat sous flux d'azote pendant 5 secondes puis à 40°C sous vide statique pendant 10 heures.

### 2.3 Caractéristiques générales de la complexation du système PSSNa/ $\ell$ PEI

Lorsque les complexes sont obtenus hors de la stœchiométrie en charge, à dire en présence d'un excès d'un des deux PEs des particules colloïdales sont formées et stabilisées par effet électrostatique apporté par le PE en excès (Figure 2-3). Pour des systèmes complexants forts, les caractéristiques de ces assemblages (structure, taille, stabilité) dépendent fortement des paramètres moléculaires des PEs et des paramètres de mélange. Dans cette partie, l'effet de la longueur de chaîne du PSSNa, du rapport Z et de la force ionique sont étudiés sur des systèmes choisis. Par ailleurs, trois vitesses de mélange sont également étudiées. En solution, la présence de complexes colloïdaux est attestée par la turbidité des suspensions. C'est donc par une analyse des complexes par diffusion de la lumière que cette étude commence.

#### 2.3.1 Caractérisation par diffusion de la lumière

Dans cette partie, les solutions de PE sont préparées en présence de 10 mM de NaCl afin de modérer les interactions électrostatiques et de faciliter ainsi l'analyse des complexes par diffusion de la lumière qui est très sensible à la présence de larges structures agrégées. Ici, le  $\ell$  PEI est ajouté dans le PSSNa de masse molaire variable en utilisant la méthode [FAST]. Les rapports Z sont étudiés entre 0.1 et 0.9. Les solutions sont analysées 30 min après préparation puis 3 jours après par diffusion statique et dynamique de la lumière à 90° pour déterminer le rapport de Rayleigh, le rayon hydrodynamique et l'indice de polydispersité (méthode des cumulants)(Figure 2-10). On compare également deux méthodes d'ajout, [SLOW] et [FAST] dans le cas des complexes préparés à partir du PSSNa<sub>150K</sub>.

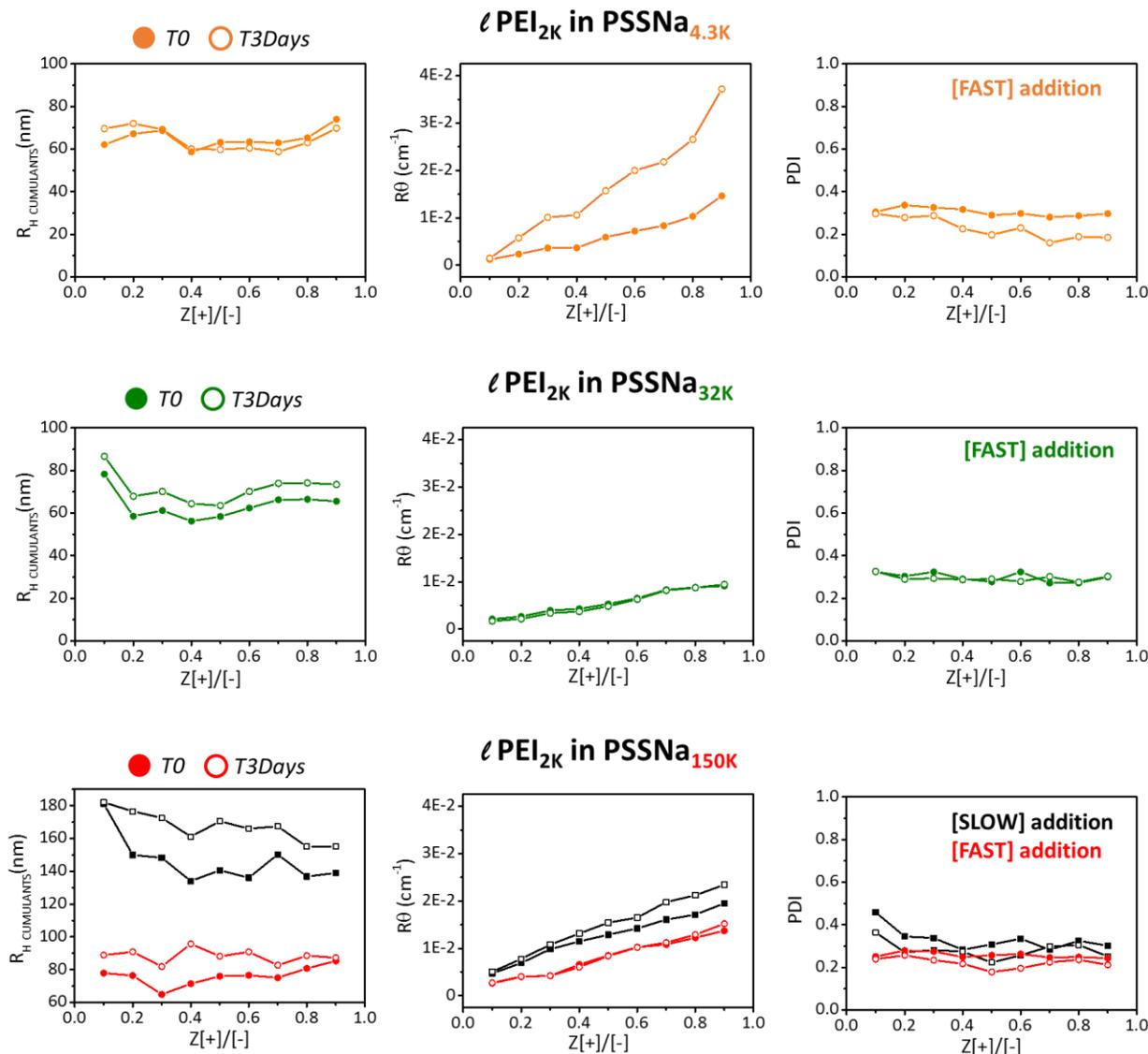


Figure 2-10 : Rayons hydrodynamiques obtenus par la méthode des cumulants ( $R_H$ ), rapport de Rayleigh ( $R_\theta$ ) et indices de polydispersité (PDI) des complexes obtenus par ajout [FAST] de la solution de  $\epsilon$  PEI<sub>2K</sub> dans le (a) PSSNa<sub>4.3K</sub>, (b) PSSNa<sub>32K</sub>, (c) PSSNa<sub>150K</sub> en fonction du rapport  $Z[+]/[-]$ . Les solutions initiales de PEI<sub>2K</sub> et de PSSNa sont préparées à une concentration de 4.85 mM en charge en présence de 10mM de NaCl et le pH est ajusté à 4. Un suivi dans le temps à T+3jours est réalisé et matérialisé par des symboles vides sur chaque graphique. Dans le cas (c), les complexes formés par ajout [SLOW] sont aussi représentés. Toutes les mesures de diffusion sont effectuées à 90°.

De façon surprenante, les rayons hydrodynamiques (cumulants) des complexes formés dans les conditions ci-dessus varient très peu en fonction du rapport de charge dans la gamme  $Z=0.1-0.9$  (Figure 2-10). De même, la taille des complexes est globalement invariante pour les 3 masses molaires de PSSNa testées. L'indice de polydispersité évalué par la méthode des cumulants est toujours assez élevé, autour de 0.3 et il est également invariant quel que soit le rapport  $Z$  et la masse molaire de PSSNa. Très souvent, lorsque l'indice de polydispersité est proche ou supérieur à 0.3 cela atteste de la présence de plusieurs populations. Dès lors, l'analyse en diffusion dynamique de la lumière a également été entreprise en utilisant la méthode de Contin (transformée de Laplace inverse de la fonction d'autocorrélation) qui permet de révéler les populations de taille distincte contrairement à la méthode des cumulants qui ne fournit qu'une taille moyenne et un indice de dispersité. La Figure 2-11 met en évidence la présence d'une population très majoritaire vers 100 nm quel que soit le rapport de charge et la masse molaire du PSSNa. On peut également voir la présence d'une population possédant une taille beaucoup plus faible, en dessous de 10 nm, sur quasiment l'ensemble des distributions à T0 et sur la plupart des distributions à 3 jours. Les distributions de taille étant obtenues par rapport à l'intensité diffusée, elles sont fortement

influencées par les objets de taille importante puisque l'intensité est proportionnelle à  $R^6$  (diffusion de Rayleigh) où  $R$  est le rayon des objets diffusants.

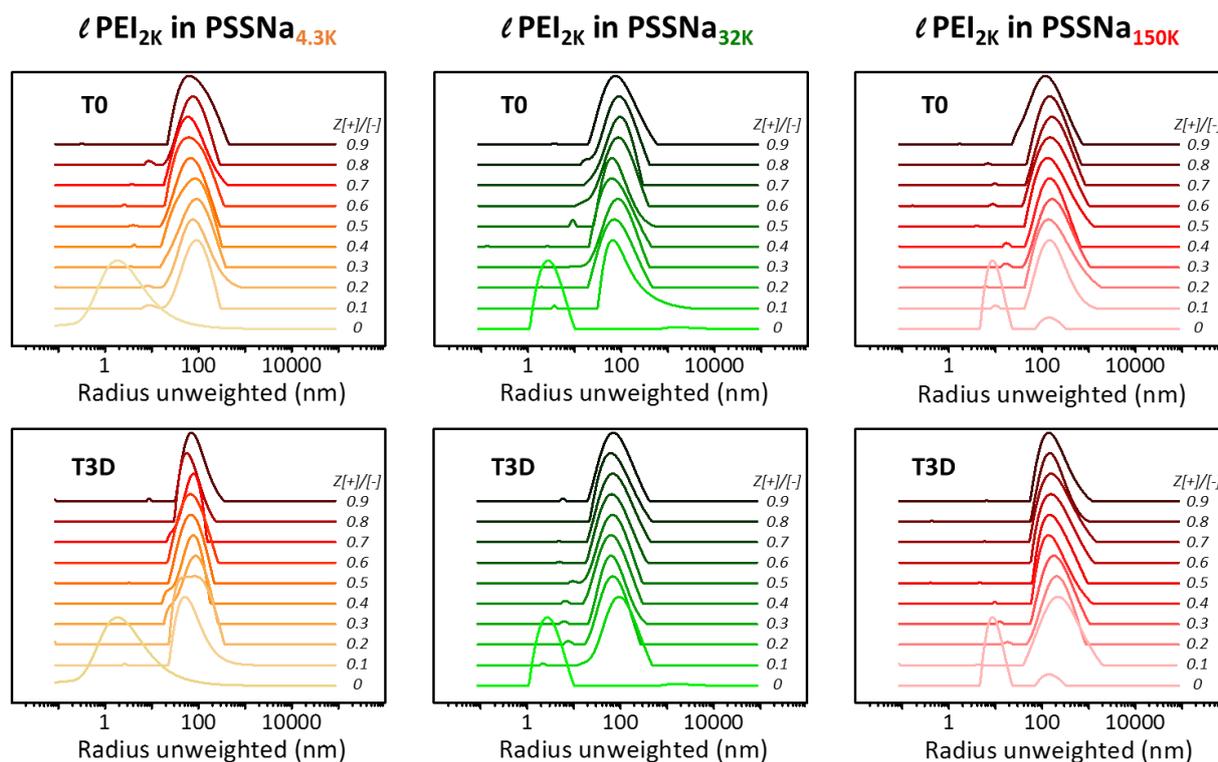


Figure 2-11 : Distribution en intensité des rayons hydrodynamiques des complexes de la Figure 2-10. (a) PSSNa<sub>4.3K</sub> ; (b) PSSNa<sub>32K</sub> ; (c) PSSNa<sub>150K</sub> à T0 (haut) et T + 3 jours (bas) pour une gamme de  $Z[+]/[-]$  de 0.1 à 0.9. Le point  $Z=0$  correspond au polymère PSSNa seul, dans 10 mM NaCl à pH 4.

Aussi il est intéressant de représenter également les distributions de taille par rapport au nombre de particules. Les distributions en nombre ont été déterminées à partir des distributions en intensité dans le cas du système  $l$ -PEI/PSSNa<sub>150K</sub> pour toutes les valeurs de  $Z$  entre 0.1 et 0.9. La Figure 2-12 met en évidence l'existence d'une unique population de taille très faible, entre 6 et 10 nm qui ne semble pas dépendre du rapport  $Z$ . Au-delà des valeurs de rayon hydrodynamique qui sont entachées d'une incertitude importante liée à la transformation de la distribution d'intensité en nombre, au choix des canaux utilisés pour analyser les corrélogrammes et au fait que l'on assimile les objets diffusants à des sphères denses et monodisperses, cela met en évidence que les structures de 100 nm déterminées précédemment ne représentent en nombre qu'une fraction modeste des complexes formés. Les petites particules pourraient correspondre à du polymère libre mais le fait que cette population soit visible à  $Z=0.9$  exclue cette hypothèse. En effet, dans le cas du PSSNa<sub>150K</sub>, toutes les chaînes de PSSNa sont complexées avec le  $l$ -PEI<sub>2K</sub> à partir de  $Z=0.06$  (Tableau 2-3). Ces petites structures pourraient alors correspondre à des complexes peu agrégés qui coexistent avec des agrégats de complexes de taille plus importante mais peu présents en nombre. Dans la suite ces petites particules de complexes seront assimilées à des complexes primaires c'est-à-dire les précurseurs de la complexation alors que les larges structures qui résultent probablement de l'agrégation des complexes primaires seront assimilées à des complexes secondaires ou particules de PEC. Par ailleurs à  $Z=0$ , on a une distribution resserrée, en accord avec la présence de sphères denses monodisperses (Figure 2-12).

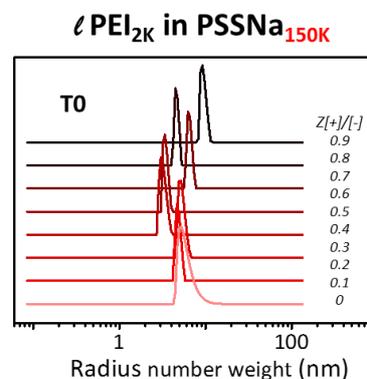


Figure 2-12 : Distributions en nombre obtenues par la méthode de Contin pour les complexes à base de  $l$ -PEI/PSSNa<sub>150K</sub> préparés en méthode [FAST].

Tableau 2-3 : Rapports de charge  $Z[+]/[-]$  à partir desquels toutes les chaînes de PSSNa d'une masse molaire donnée sont statistiquement complexées par une chaîne de PEI.

	DP PEI	DP PSSNa	$Z[+]/[-]$
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> -PSSNa <sub>4.3K</sub>	46.5	21	2.23
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> -PSSNa <sub>32K</sub>	46.5	155	0.30
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> -PSSNa <sub>150K</sub>	46.5	730	0.06
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> -PSSNa <sub>600K</sub>	46.5	3000	0.016
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> -PSSNa <sub>2.6M</sub>	46.5	13000	0.0037

La Figure 2-10 met aussi en évidence que l'intensité diffusée évaluée à travers le rapport de Rayleigh augmente de façon quasi linéaire avec  $Z$  et ceci quelle que soit la masse molaire du polymère. Cela suggère que les complexes formés entre 0.1 et 0.9 sont de même nature et seul le nombre de complexes augmente. En particulier l'augmentation linéaire de l'intensité exclue la formation de complexes solubles pour lesquels il a été vu dans la littérature que l'intensité diffusée était constante jusqu'à  $Z=0.3-0.5$  puis augmentait brusquement lorsque des complexes insolubles (complexes secondaires) se formaient.[53] Ainsi, même dans le cas d'un système présentant une très forte asymétrie au niveau des longueurs de chaîne comme le  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>150K</sub> on ne détecte pas à faibles  $Z$  la présence de complexes solubles formés d'une chaîne de PSS complexée avec quelques chaînes de PEI. L'absence de complexes solubles souligne le fait que l'interaction entre le PSSNa et le PEI est très forte. Dans ces conditions les sections de PSSNa complexées par le PEI deviennent hydrophobes et vont alors avoir tendance à s'agréger en complexes primaires puis secondaires pour minimiser le contact avec l'eau. Les complexes ainsi formés sont certainement stabilisés à leur surface par l'excès de PSSNa non complexé. Il est intéressant de noter que même à l'approche de la stœchiométrie ( $Z=0.9$ ) les complexes conservent leur stabilité, ce qui signifie qu'un faible excès de charge est suffisant pour garantir la stabilité colloïdale. De la même manière, dans le cas des complexes  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>4.3K</sub>, même si le bloc PSSNa est plus court que le bloc  $\ell$  PEI, il semble jouer son rôle stabilisant sur toute la gamme de  $Z$ . Cela indique que les fonctions sulfonates sont très efficaces pour générer des répulsions électrostatiques entre les particules chargées de PEC.

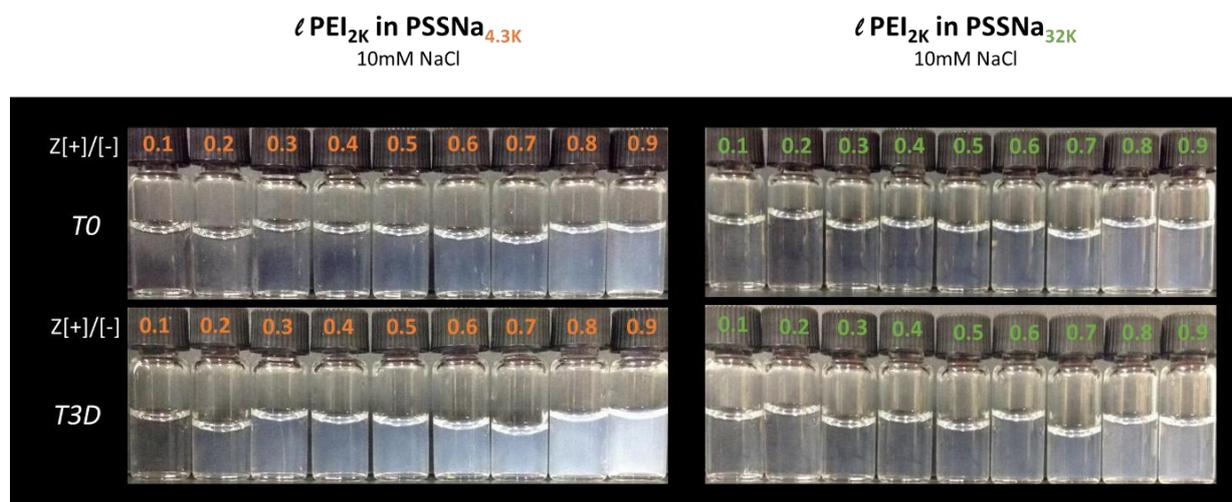


Figure 2-13 : Aspect des suspensions de complexes à base de PSSNa<sub>4.3K</sub> et PSSNa<sub>32K</sub> à T0 et T+3 jours (voir Figure 2-10 pour les conditions de complexation).

Dans le cas des PSSNa<sub>150K</sub> et PSSNa<sub>32K</sub>, les rayons hydrodynamiques, les rapports de Rayleigh et les PDI des complexes ne varient que très peu après 3 jours. Cela confirme que les complexes primaires ( $< 10$  nm) et les complexes secondaires ( $\sim 100$  nm) sont efficacement stabilisés par un excès de polyélectrolyte à la surface. Cependant dans le cas du PSSNa<sub>4.3K</sub>, on observe que le rapport de Rayleigh augmente considérablement après 3 jours sans toutefois que la taille moyenne (cumulants) ne soit modifiée. De plus, on observe que les suspensions de complexes à base de PSSNa<sub>4.3K</sub> sont beaucoup plus

troubles au bout de 3 jours, et cela d'autant plus que le rapport de charge augmente. Dans le cas du PSSNa<sub>32K</sub>, il n'y a quasiment aucun changement d'aspect après 3 jours (Figure 2-13). Par ailleurs, l'analyse par la méthode de Contin met en évidence pour les complexes à base de PSSNa<sub>4,3K</sub> que la position du pic principal vers 100 nm sur la distribution en intensité n'est pas modifiée au bout de 3 jours alors que le pic correspondant aux complexes primaires de faible taille disparaît totalement (Figure 2-11). Cela se confirme sur la distribution en nombre obtenue à 3 jours où l'on ne voit que le pic correspondant aux complexes de grande taille (Figure 2-14). La polydispersité (cumulant) diminue aussi au bout de 3 jours quel que soit le rapport de charge considéré (Figure 2-10). Tous ces éléments suggèrent que le système  $\ell$  PEI/PSSNa<sub>4,3K</sub> évolue au cours du temps. Ici, il est fait l'hypothèse que les complexes primaires de petite taille deviennent plus hydrophobes par un meilleur appariement des charges puis s'agrègent avec les particules de PECs de taille plus importante, ce qui contribue à diminuer la polydispersité du système. Même si la taille des particules de PEC est peu modifiée, leur pouvoir diffusant augmente (Figure 2-14). Ce mécanisme de réorganisation des complexes primaires n'est pas (ou moins) observé pour les PSSNa<sub>32K</sub> et PSSNa<sub>150K</sub> où la présence d'un pic vers 10 nm est toujours visible après 3 jours sur les distributions en intensité pour la majorité des rapports Z. La mobilité des PSSNa<sub>32K</sub> et PSSNa<sub>150K</sub> étant beaucoup faible que celle du PSSNa<sub>4,3K</sub>, cela pourrait expliquer pourquoi de tels réarrangements au sein des complexes primaires n'ont pas lieu. Par ailleurs la complexation étant par nature un processus coopératif, la constante de complexation doit être également plus faible pour le PSSNa<sub>4,3K</sub> ce qui favorise les réactions d'échange.

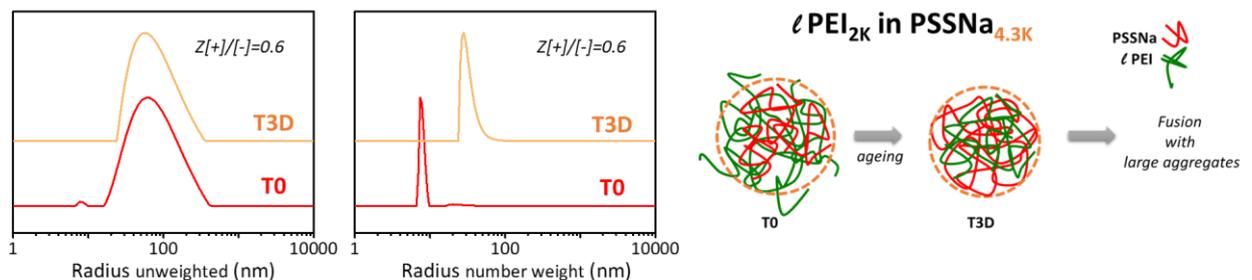


Figure 2-14 : Distributions en intensité (gauche) et nombre (droite) des complexes PEI/PSSNa<sub>4,3K</sub> à Z=0.6 à T0 et T+3 jours. Réarrangement probable des complexes primaires et fusion avec les complexes de grande taille.

L'influence de la vitesse d'ajout a été étudiée dans le cas du PSSNa<sub>150K</sub> en comparant les propriétés des complexes préparés par mélange [FAST] et [SLOW]. Les principaux résultats obtenus par diffusion de la lumière dans le cas d'un mélange [FAST] sont indiqués sur la Figure 2-10 (analyse cumulants) et sur la Figure 2-11 (analyse Contin). Par ajout [SLOW] de la solution de  $\ell$  PEI, on observe une augmentation importante de la taille des complexes et de l'intensité diffusée (Figure 2-10). Par ailleurs ils évoluent également davantage dans le temps par rapport aux complexes formés dans des conditions de mélange rapide à en juger par l'augmentation significative du rayon hydrodynamique et du rapport de Rayleigh après 3 jours (Figure 2-10). On peut voir sur les distributions en intensité et en nombre (Contin) à T0 et T+3 jours que l'on a toujours des complexes primaires de faible taille qui coexistent avec des particules des PECs comme dans le cas d'un ajout rapide (Figure 2-15). Ces résultats démontrent que le temps de mélange lié à la vitesse d'ajout ne modifie pas le mécanisme général de la complexation mais il influence de façon assez significative les caractéristiques des complexes primaires et secondaires en termes de taille et de pouvoir diffusant. On peut supposer qu'un ajout lent favorise une surconcentration locale de  $\ell$  PEI qui conduit alors à une complexation primaire et secondaire plus importante comme cela est visible sur la Figure 2-15 dans le cas de trois rapports de charge (Z=0.3, Z=0.6, Z=0.9) où l'on peut voir que les tailles des complexes primaires et secondaires augmentent dans le cas d'un ajout lent.

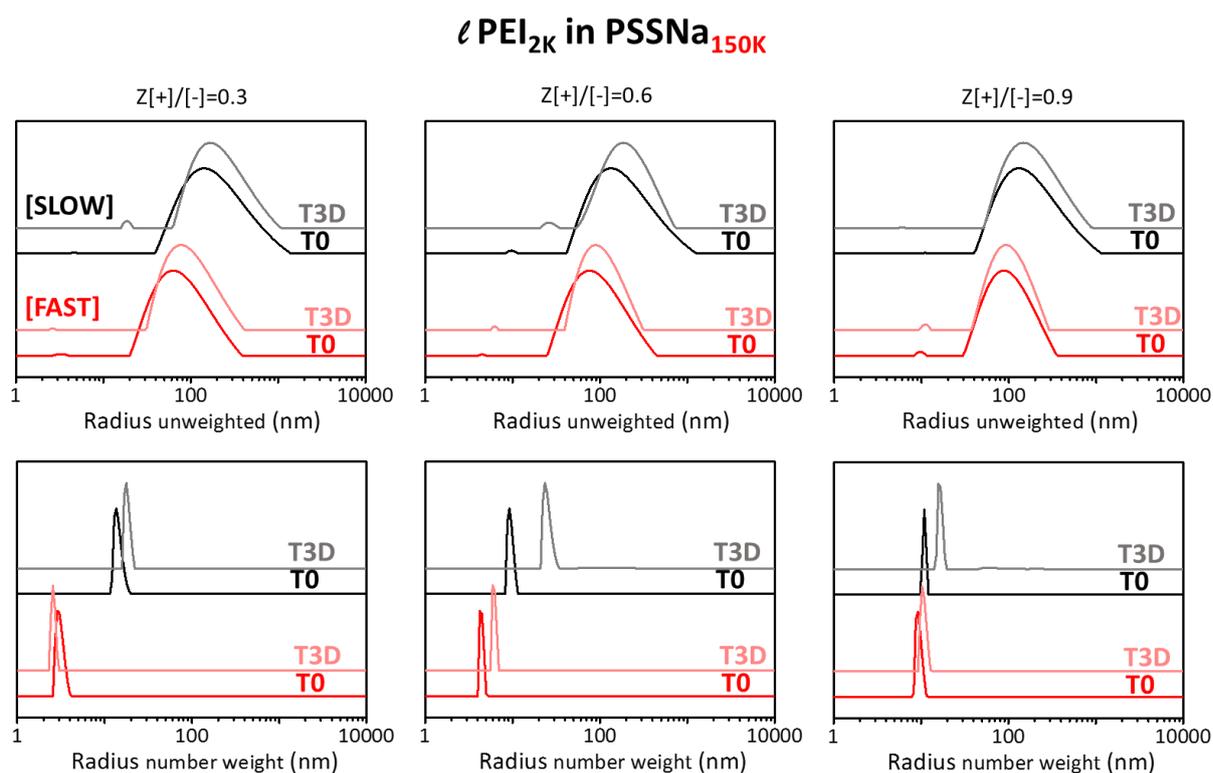


Figure 2-15 : Distributions en intensité (haut) et nombre (bas) des complexes PEI/PSSNa<sub>150K</sub> par ajout [FAST] et [SLOW] à Z=0.6 à T0 et T+3 jours.

### 2.3.2 Imagerie AFM des complexes

La visualisation des chaînes de polymère et des complexes est réalisée en utilisant la microscopie à force atomique sur des échantillons préparés dans l'eau à pH 4 sans sel ajouté. Les conditions de dépôt décrites précédemment ont été mises en œuvre : dilution des solutions de PE ou des suspensions de complexes au ppm, dépôt sur mica d'une goutte de 4 microlitres, séchage rapide à l'azote puis sous vide statique à 40°C. En plus des complexes à base de PSSNa<sub>32K</sub> et PSSNa<sub>150K</sub>, on s'intéresse aussi à ceux formés à partir du PSSNa<sub>600K</sub> et PSSNa<sub>2.6M</sub>.

#### *Analyse AFM des PSSNa*

Une première série d'analyses est réalisée sur des solutions de PSSNa de différentes masses molaires (Figure 2-17). À faible masse molaire (PSSNa<sub>32K</sub>) les chaînes polymère apparaissent sous forme de très petites particules isolées. À partir de 150K, on distingue la présence de chaînes rigides qui s'étalent à la surface du substrat. À partir de 2.6M, on observe des repliements de chaînes assez conséquents. Quelle que soit la masse molaire du PSSNa, la hauteur des chaînes mesurée par AFM est autour de 0.5 nm. Une analyse en phase à petite échelle du PSSNa<sub>600K</sub> permet de distinguer une sous structure qui peut correspondre aux blobs décrits par le modèle en collier de perles des PEs hydrophobes (Figure 2-17).

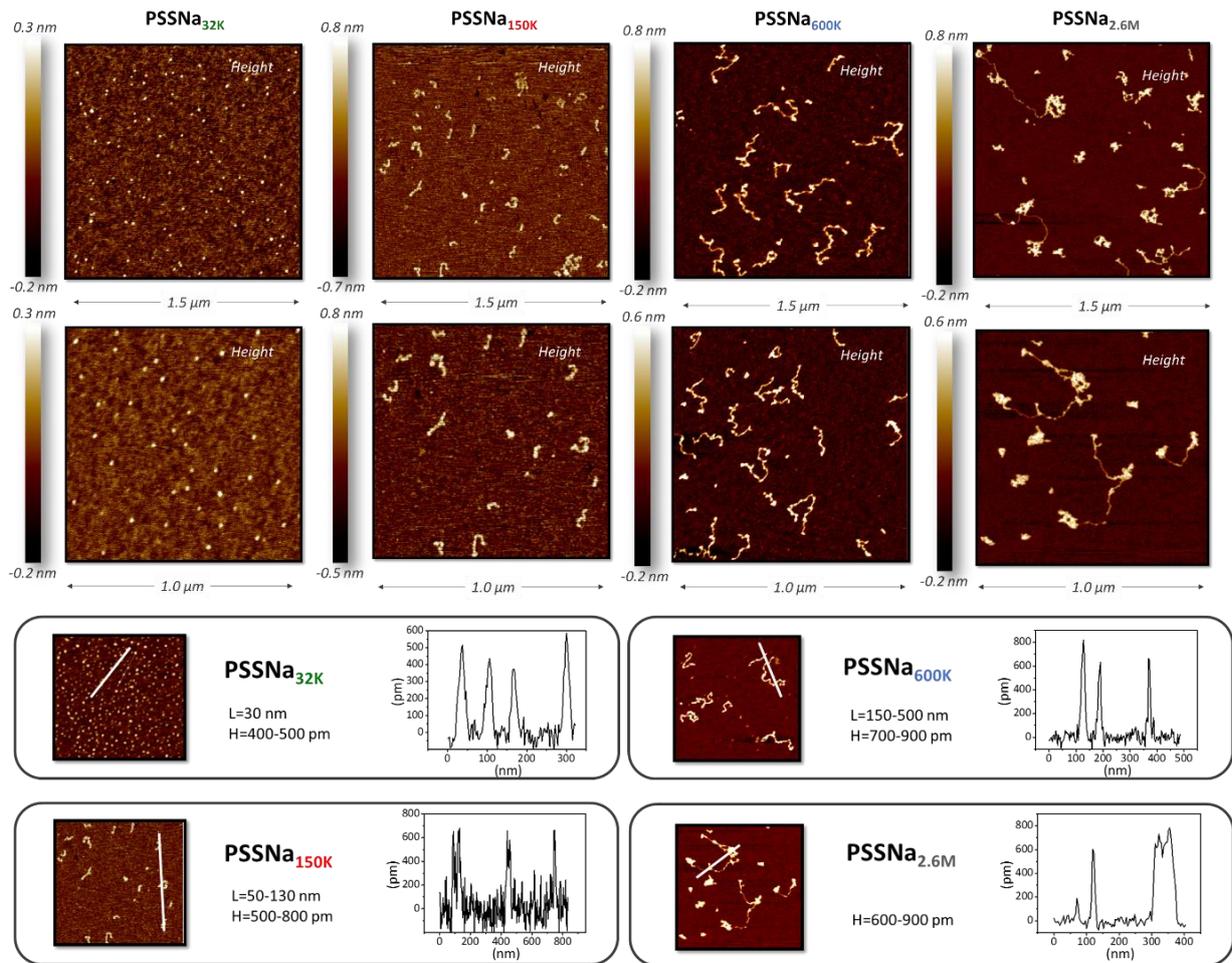


Figure 2-17 : Images topographiques sur 1.5 μm et 1.0 μm et profils de hauteur des chaînes de PSSNa de masse 32K, 150K, 600K et 2.6M déposés sur mica. Les solutions de PE sont à 1 ppm sauf pour le 600K (5 ppm).

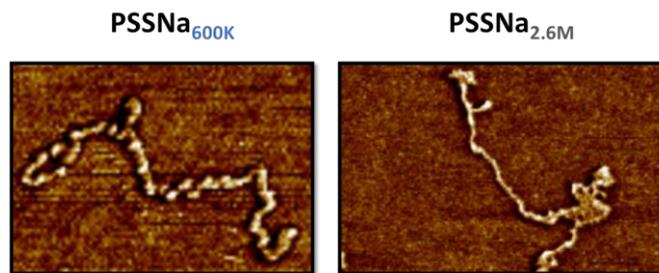


Figure 2-17 : (gauche) Analyse en phase d'une chaîne de PSSNa<sub>600K</sub> (largeur de l'image = 500 nm); (droite) Analyse en phase d'une chaîne de PSSNa<sub>2.6M</sub> (largeur de l'image = 700 nm).

### Analyse des complexes

On s'intéresse maintenant aux complexes  $\ell$  PEI/PSSNa. Trois principaux paramètres ont été étudiés : la masse molaire de PSSNa, le rapport de charge Z et la méthode d'ajout.

### Influence de la masse molaire

Concernant l'influence de la masse molaire, la Figure 2-18 représente les structures de complexes formés par ajout [SLOW] à pH 4, Z=0.9 et sans sel ajouté. Deux types de structures peuvent être mis en évidence. Premièrement, dans le cas du PSSNa<sub>32K</sub> on observe de très petites particules de complexe qui

pourraient correspondre aux complexes primaires décrits ci-dessus. Ces complexes ont tendance à se regrouper à la surface du mica en clusters peu denses de taille assez importante par rapport aux dimensions des complexes primaires. La structure éclatée des clusters observée sur la Figure 2-18 pourrait provenir de leur désagrégation lors du dépôt sur mica en raison de l'énergie de surface élevée de ce dernier. Par ailleurs, l'absence de couronne autour des complexes secondaires suggère que la majorité des segments de chaînes de PSS sont au sein des complexes primaires.

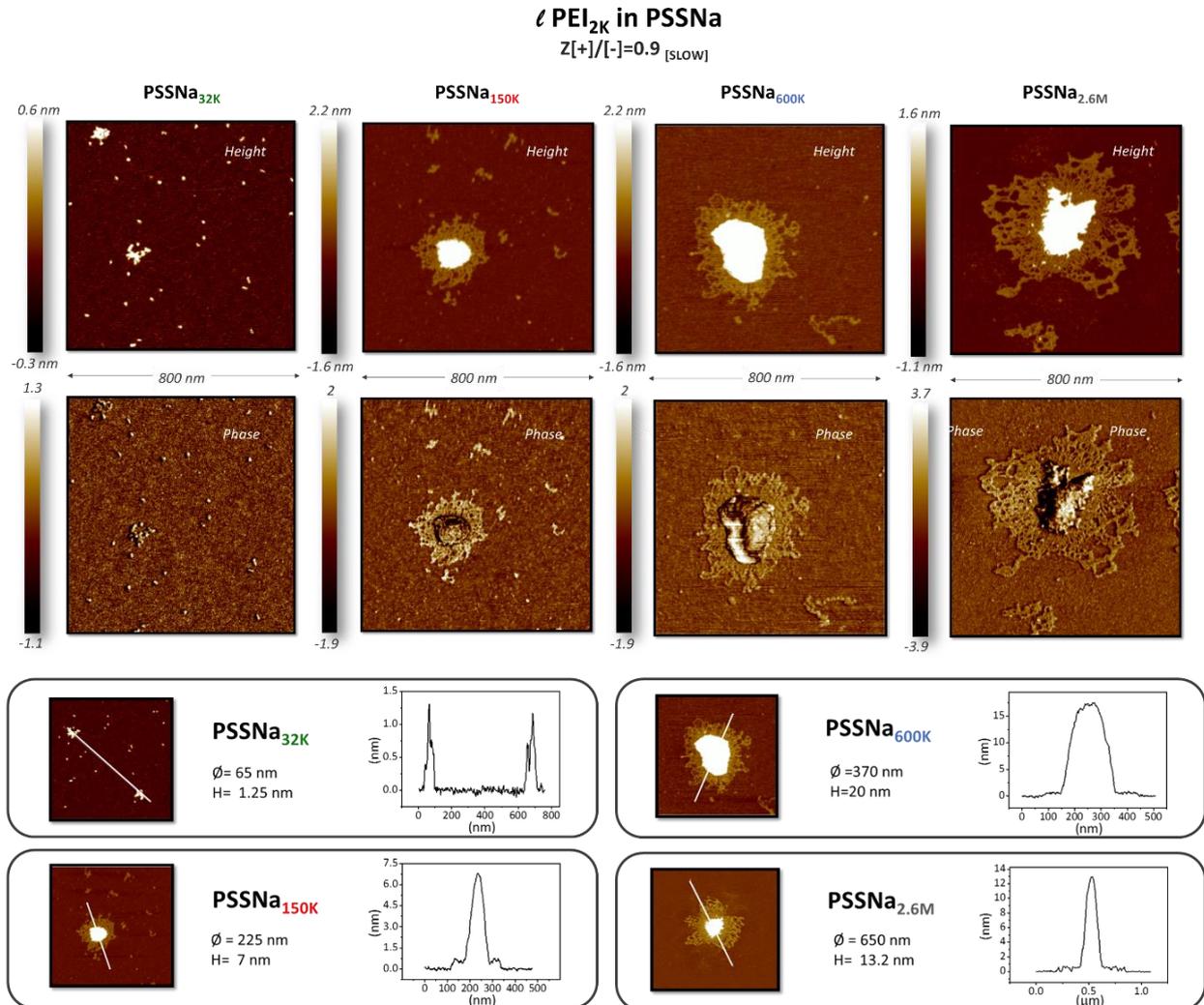


Figure 2-18 : Images topographiques (haut) et de phase (bas) et profils topographiques des complexes PEI/PSSNa de masse molaire 32K, 150K, 600K et 2.6M préparés au rapport Z[+]/[-]=0.9 par ajout [SLOW]. Les complexes sont préparés dans l'eau à pH 4 sans sel ajouté et sont déposés sur mica à une concentration de 0.5 ppm sauf pour le PSSNa<sub>600K</sub> (1 ppm).

Le deuxième type de complexe observé avec les PSSNa 150K, 600K et 2.6M présente une structure de type cœur-écorce. Le cœur d'une centaine de nanomètres de diamètre semble être très dense mais on peut distinguer, en particulier sur les images de phase, une sous structure constituée de petits agrégats qui pourraient correspondre aux complexes primaires. La couronne autour du cœur est d'autant plus large que la masse molaire du PSSNa est élevée. Une observation attentive permet d'y distinguer non seulement des segments de chaîne polymères libres mais aussi de petits agrégats sphériques, en particulier à proximité du cœur.

A plus grande échelle, il est possible d'observer les différents stades de la complexation. On peut ainsi voir sur la Figure 2-19 des petits complexes denses sans couronne qui pourraient correspondre à des complexes primaires et aussi des complexes de type cœur-couronne de différentes tailles. Il apparaît ainsi que différents stades de la complexation peuvent coexister simultanément en solution.

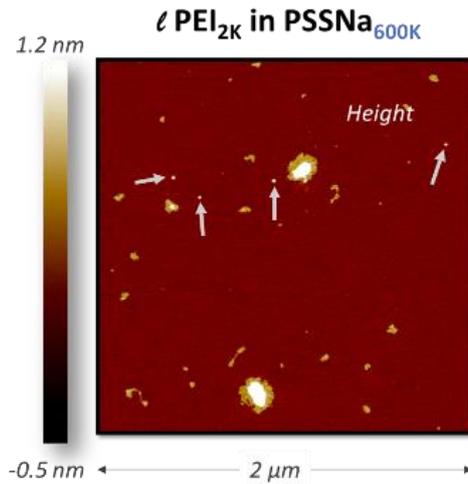


Figure 2-19 : Image topographique des complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> à 1 ppm préparés par la méthode [SLOW] et déposés sur mica. Les complexes primaires individuels non agrégés sont repérés par les flèches blanches.

Ces observations nous permettent de proposer que les complexes PEI/PSS formés par ajout lent de la solution de  $\ell$  PEI à celle de PSS sont constitués de petites particules de complexes primaires en forte interaction formant un cœur dense entouré d'une couronne de polymère partiellement complexé qui est d'autant plus large que la masse molaire du PSS est élevée. Il faut souligner que la formation d'une telle couronne nécessite que le PSS soit relativement long par rapport au  $\ell$  PEI puisque dans le cas du PSS<sub>32K</sub> seuls les complexes primaires sont visibles. Cela signifie que pour des longueurs de chaîne relativement proches le PSS et le PEI se complexent mutuellement dans leur quasi intégralité à  $Z=0.9$  sans possibilité d'avoir des segments de PSS libre suffisamment longs pour former une couronne autour du cœur. Dans le cas des PSS de plus forte masse molaire où l'on observe la formation d'une large couronne, les rapports des DP du PSS sur celui du PEI varient entre 17 et 280 pour des masses molaires respectives de PSS de 150K et 2.6M. Dans ces conditions et si l'on admet qu'un ajout lent du  $\ell$  PEI ne permet pas d'avoir un mélange homogène à  $Z=0.9$ , certaines chaînes de PSS peuvent être totalement complexées au sein des complexes primaires tandis que d'autres ne le seront que de façon partielle permettant alors la formation d'une couronne. Si l'on suppose que la couronne est faiblement liée au cœur, celle-ci peut alors facilement s'en détacher lorsque les complexes sont en interaction avec le mica lors de la phase de séchage (peignage des chaînes libres de PSSNa).

Ce type de structuration s'oppose dans une certaine mesure à la description faite des PECs dans la littérature où il est souvent proposé que le cœur possède une structure hydrophobe composée de chaînes complexées dans un état enchevêtré. Ici les analyses AFM suggèrent que le cœur résulte de l'agrégation de particules de complexes primaires de faible dimension qui conservent leur structure dense à en juger par les images d'AFM obtenues en phase où l'on distingue une sous structure constituée de petits agrégats au niveau du cœur (Figure 2-19). La couronne est constituée de polymère en excès sous une forme majoritairement libre (Figure 2-20). Cependant, la présence de complexes primaires dans la couronne n'est pas exclue, en particulier au niveau de l'interface cœur/couronne. Le schéma de la Figure 2-21 illustre ces différentes hypothèses. Ce type de structuration a été aussi proposé par Cousin *et al.* pour des complexes à base de PSS et de lysozyme [92] et par Konko *et al.* pour des complexes à base de PSS et de PDADMAC.[96]

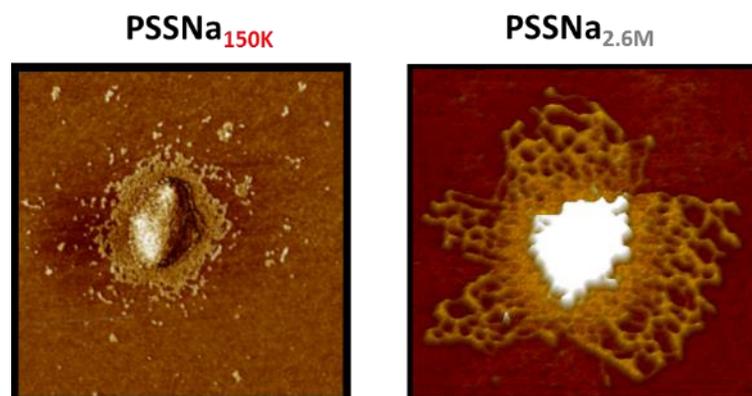


Figure 2-20 : Images en phase des complexes  $\ell$  PEI/PSSNa 150K et 2.6M à  $Z[+]/[-]=0.9$  préparés en [SLOW] et déposés sur mica. Les concentrations sont respectivement de 0.5 et 1 ppm.

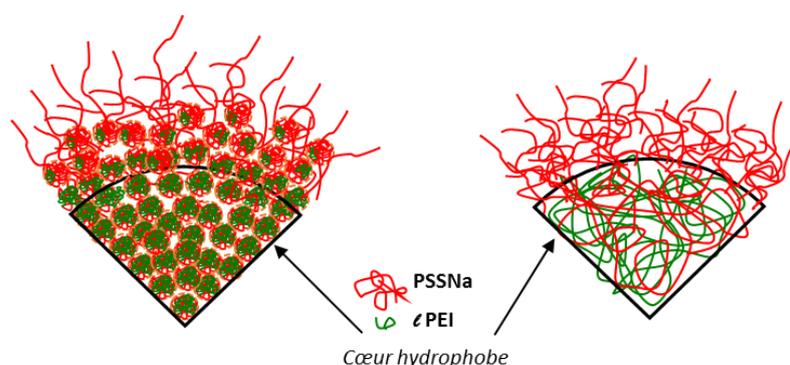


Figure 2-21 : Structure des PECs à partir des observations AFM (gauche) et celle classiquement décrite dans la littérature (droite).

### *Influence du rapport de charge*

On s'intéresse maintenant à l'effet du rapport de charge sur la structure des complexes formés avec le PSSNa<sub>600K</sub> par ajout [SLOW] (Figure 2-22). Deux rapports de charges extrêmes ont été choisis  $Z=0.05$  et  $Z=0.9$  afin d'étudier respectivement le tout début de la formation des complexes et leur état final juste avant la stœchiométrie. À  $Z=0.05$ , on observe des clusters constitués de petites particules relativement allongées qui pourraient correspondre à des chaînes de PSS partiellement complexées. On remarque également de façon surprenante qu'il n'y a pas de PSS libre (cela a été confirmé par une analyse AFM à plus grande échelle (4  $\mu\text{m}$ , Figure Annexe 6). A ce rapport de charge une chaîne de PSS peut se complexer avec un peu plus de 3 chaînes de  $\ell$  PEI en moyenne (Tableau 2-3) ce qui peut être suffisant pour induire un collapse significatif des chaînes de PSS. Il faut aussi considérer que la méthode d'ajout [SLOW] favorise une surconcentration locale en  $\ell$  PEI ce qui peut permettre la complexation d'une chaîne de PEI par plusieurs chaînes de PSS. La présence de petits globules denses confirme que la complexation est hétérogène à ce rapport de charge dans ces conditions d'ajout [SLOW]. Les clusters contiennent moins d'une dizaine de particules (chaînes partiellement complexées ou globules). Malgré cela ils sont de taille assez importante (150-200 nm) en raison de leur faible densité. À  $Z=0.9$ , le cœur du complexe se densifie par agrégation des complexes primaires et on observe la formation de la couronne stabilisatrice constituée de PSS partiellement complexé comme décrit ci-dessus. Les tailles globales des complexes formés à  $Z=0.05$  et  $Z=0.9$  ne sont pas si différentes même si leur structure interne diffère beaucoup.

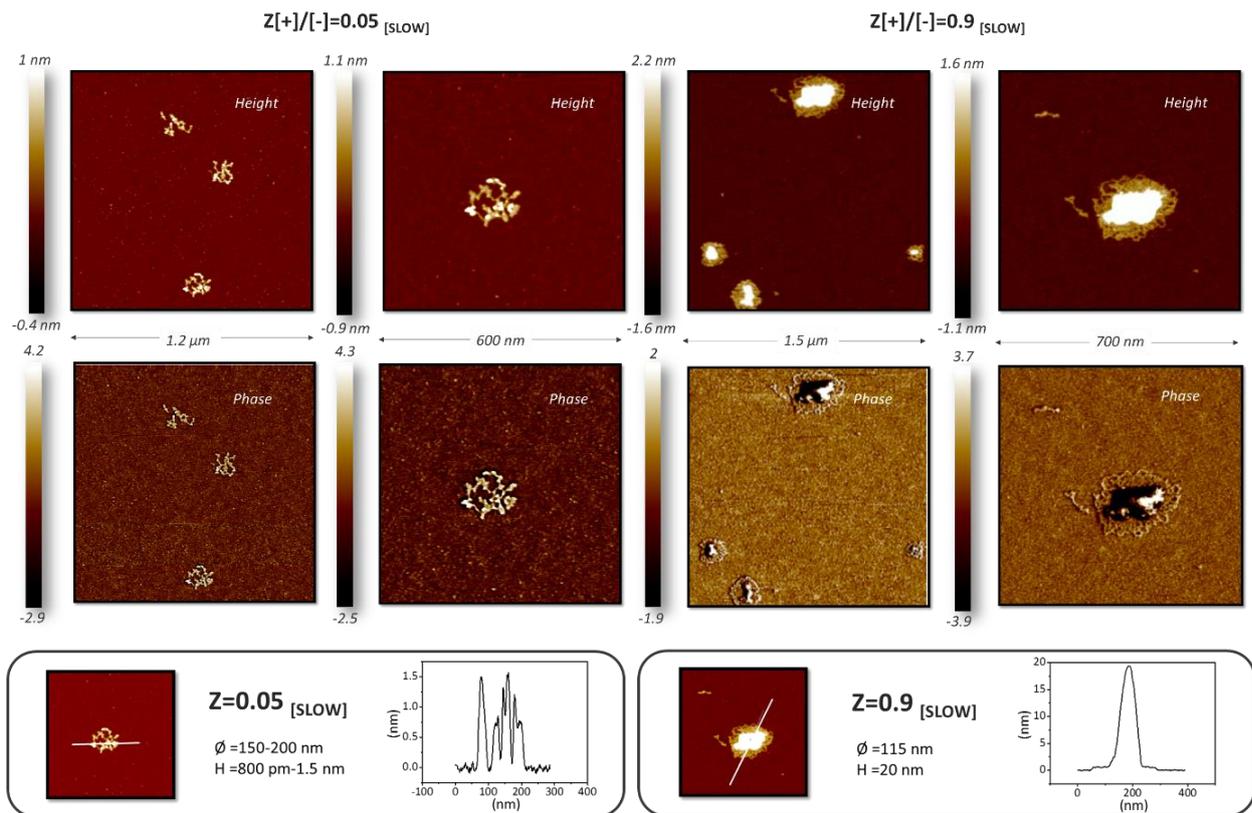
$\ell$  PEI<sub>2K</sub> in PSSNa<sub>600K</sub>

Figure 2-22 : Images topographiques (haut) et de phase (bas) et profils de hauteur des complexes  $\ell$  PEI/PSSNa<sub>600K</sub> à Z[+]/[-]=0.05 et 0.9 préparés par ajout [SLOW] et déposés sur mica à une concentration de 0.5 ppm.

### Influence du temps de mélange

Afin d'étudier l'influence du temps de mélange sur la formation des complexes, nous avons étudié la morphologie des complexes à base de PSSNa<sub>600K</sub> préparés à Z=0.9 par ajout [SLOW] et [ULTRA FAST]. Comme on peut le voir sur la Figure 2-23, les complexes préparés par ajout [SLOW] sont plus gros et mieux définis que ceux préparés par un ajout [ULTRA FAST] c'est-à-dire par stopped-flow. Ces observations confirment les résultats obtenus par diffusion de la lumière où un ajout rapide du  $\ell$  PEI donnait systématiquement des complexes de plus petite taille. Cela confirme également les travaux de Dragan *et al.* qui ont montré que la taille des complexes diminue lorsque la vitesse d'ajout augmente.[163]

Outre les effets de taille et de polydispersité, l'analyse AFM met en évidence qu'un ajout très rapide du  $\ell$  PEI à la solution de PSSNa donne lieu à une plus grande variété de morphologies de complexes. On peut ainsi voir sur la Figure 2-23 de droite des complexes possédant plusieurs cœurs qui n'ont pas pu se réorganiser en un cœur unique de taille plus importante comme cela est observé dans le cas d'un ajout lent. Cela indique qu'un ajout très rapide de type stopped-flow conduit à une forte homogénéisation des PE à l'issue de la phase de mélange. Comme la cinétique de complexation est très rapide (voir paragraphe Cinétique aux temps courts du chapitre 1) le système se retrouve alors figé dans un continuum de morphologies allant des chaînes libres de polymère jusqu'aux complexes dans différents états d'agrégation. Dans le cas d'un ajout lent, la plus forte concentration locale en  $\ell$  PEI permet l'obtention de complexes dans un état d'agrégation bien plus important. Cela se manifeste non seulement par des tailles élevées mais aussi par l'obtention d'une structure cœur-couronne relativement bien définie résultant de l'agrégation des complexes primaires et de la stabilisation par l'excès de PSS non complexé.

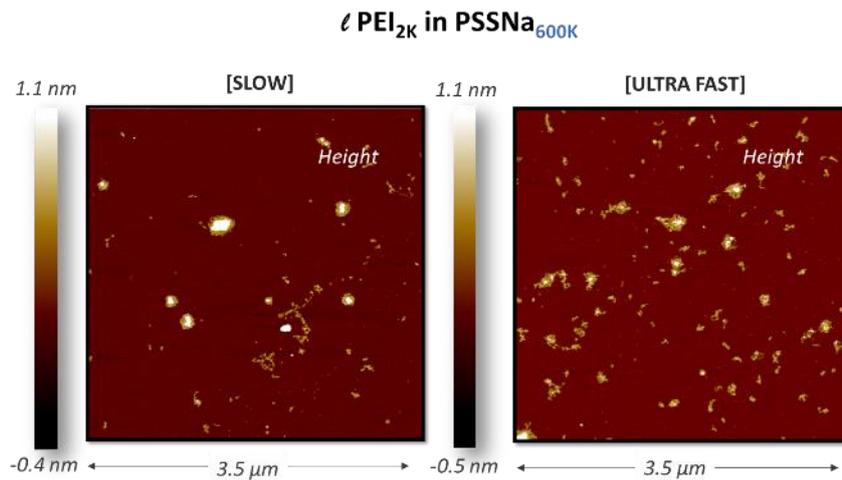
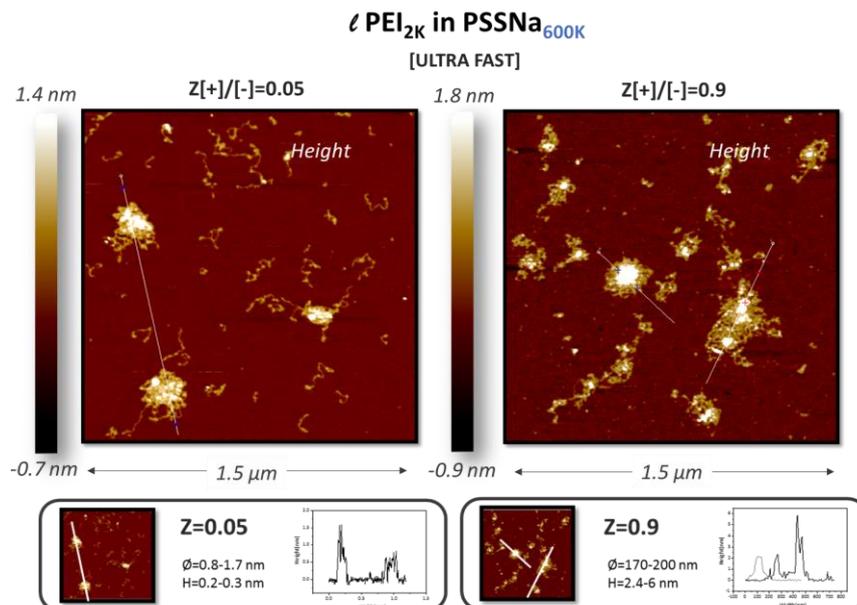


Figure 2-23 : Images topographiques des complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> obtenus à Z[+]/[-]=0.9 préparés par ajout [SLOW] et [ULTRA FAST] et déposés sur mica à une concentration en polymère de 0.5 ppm.

Une analyse comparative des complexes préparés par stopped-flow à Z=0.05 et Z=0.9 a aussi été effectuée par AFM afin de mieux comprendre le mécanisme de formation des complexes dans des conditions d'ajout très rapide (Figure 2-24). A Z=0.05, on observe tout d'abord de nombreuses chaînes de PSS libres en accord avec la très faible quantité de PEI ajouté alors qu'à Z=0.9 on ne voit presque pas de PSS libre. Cela confirme que l'ajout rapide par SF permet une meilleure homogénéisation des PEs contrairement à l'ajout lent où l'on n'observait pas de PSS libre à Z=0.05 (Figure 2-21). A Z=0.05, on observe également que le cœur des complexes est constitué de petites particules denses (complexes primaires) en interaction les unes avec les autres par une phase moins dense (PSS partiellement complexé). A Z=0.9 la structure du cœur paraît plus homogène mais d'après les images en phase de la Figure 2-25 il semblerait que les complexes primaires conservent toutefois leur structure individuelle au sein du cœur. Ces observations sont en accord avec l'étude effectuée par Cousin *et al.* sur un système lysozyme/PSS où les auteurs montrent que dans le cas d'un ajout rapide (vortex) la forte interaction électrostatique entre les PEs figent les structures initiales (complexes primaires) empêchant toute réorganisation ultérieure.[92]



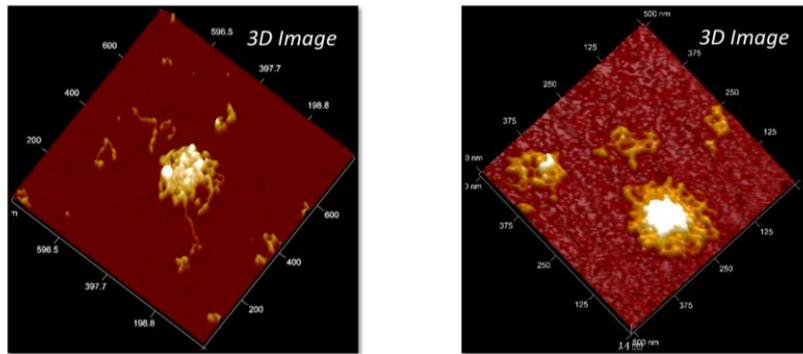


Figure 2-26 : (haut) Images topographiques des complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> obtenus à  $Z[+]/[-]=0.05$  et  $0.9$  préparés par ajout [ULTRA FAST] et déposés sur mica à une concentration en polymère de  $0.5$  ppm. (bas) Reconstruction 3D à partir des images de hauteur et de phase de la structure d'un complexe à  $Z=0.05$  et  $Z=0.9$ .

### 2.3.3 Caractérisation par diffusion des neutrons aux petits angles (DNPA)

La diffusion des neutrons aux petits angles a été employée ici pour caractériser la structure des complexes préparés à partir des PSSNa de différentes masses molaires et à différents rapports de charge. Les solutions initiales de PEs ont été préparées à pH 4.0 à une concentration de  $4.85$  mM en motifs chargés et la force ionique a été ajustée à  $10$  mM avec NaCl. Les complexes ont été formés essentiellement par ajout rapide (micropipette) de la solution de  $\ell$  PEI à celle de PSSNa afin de pouvoir facilement préparer les complexes à proximité de la ligne neutrons. Dans ces conditions d'ajout rapide l'analyse AFM a montré que les complexes ont une structure de type cœur-couronne assez variable en taille. La formation du cœur semble résulter de l'agrégation de petites particules denses que l'on a assimilées à des complexes primaires. La couronne semble être majoritairement constituée de PSSNa partiellement complexé. L'analyse DNPA devrait apporter un éclairage sur l'organisation structurale des complexes  $\ell$  PEI/PSSNa et permettre de confirmer éventuellement certaines hypothèses établies à partir de l'analyse AFM.

Les courbes neutrons des complexes préparés à base de PSSNa  $4.3K$ ,  $32K$  et  $150K$  sont reportées sur la Figure 2-27. Les intensités diffusées ont été normalisées par rapport à la concentration totale en polymère. A  $Z=0$ , c'est-à-dire en l'absence de  $\ell$  PEI ajouté, on peut observer comme attendu la présence d'un pic polyélectrolyte qui traduit l'existence de corrélations à longues distances entre les chaînes de PE. Ce pic d'origine purement électrostatique disparaît dès qu'une certaine quantité de  $\ell$  PEI même minime est ajoutée. Ainsi dans le cas des complexes à base de PSS<sub>150K</sub> par exemple, le pic polyélectrolyte est totalement absent sur la courbe de diffusion obtenue à  $Z=0.0125$ .

Les caractéristiques des complexes déduites par analyse DNPA sont reportées dans le Tableau 2-4 en considérant principalement deux types de structures, les complexes primaires et leur agrégation en structures plus grandes que l'on assimile aux complexes secondaires comme cela a été vu par analyse AFM. On discutera dans un premier temps les caractéristiques détaillées des complexes à base de PSSNa<sub>32K</sub> puis on soulignera les principales différences obtenues avec le PSSNa<sub>4.3K</sub> et le PSSNa<sub>150K</sub>.

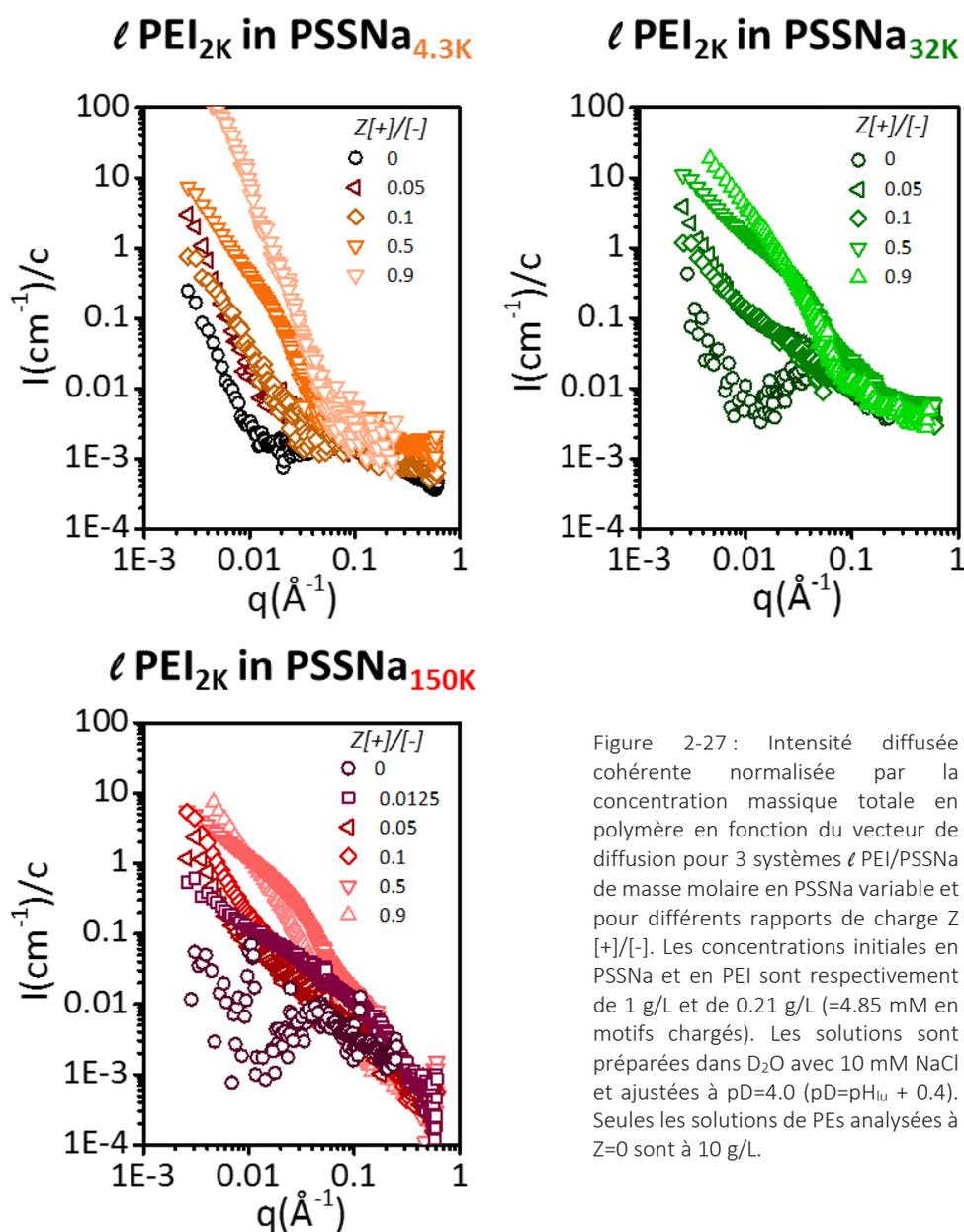


Figure 2-27 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration massique totale en polymère en fonction du vecteur de diffusion pour 3 systèmes  $\ell$  PEI/PSSNa de masse molaire en PSSNa variable et pour différents rapports de charge  $Z$  [+]/[-]. Les concentrations initiales en PSSNa et en PEI sont respectivement de 1 g/L et de 0.21 g/L (=4.85 mM en motifs chargés). Les solutions sont préparées dans  $D_2O$  avec 10 mM NaCl et ajustées à  $pD=4.0$  ( $pD=pH_{liq} + 0.4$ ). Seules les solutions de PEI analysées à  $Z=0$  sont à 10 g/L.

Tableau 2-4 : Caractéristiques des complexes  $\ell$  PEI/PSSNa à base de PSSNa 4.3K, 32K et 150K obtenues par analyse DNPA.

$Z[+]/[-]$	Structures primaires		Structures secondaires	
<b>PSSNa 4.3K</b>	Type de modèle	$R_{g,1}$ (nm)	$R_{g,2}$ (nm)	Exposant à petits $q$
0	Pic PE	-	-	Remontée PE
0.05	Pelote	~1-2	-	Remontée PE
0.1	Pelote	~2-3	-	Remontée PE
0.5	Sphères chevelues polydisperses	9	~4	-2.3
0.9	Sphères chevelues polydisperses	30	~3	Pas d'agrégation (ou alors à plus grande échelle)
$Z[+]/[-]$	Structures primaires		Structures secondaires	
<b>PSSNa 32K</b>	Type de modèle	$R_{g,1}$ (nm)	$R_{g,2}$ (nm)	Exposant à petits $q$
0	Pic PE	-	-	Remontée PE
0.05	Pelote	~6	-	Remontée PE
0.5	Polymère branché	~7	-	-1.5
0.9	Sphères chevelues polydisperses	6.5	~3	-2.1

Z[+]/[-]	Structures primaires		Structures secondaires	
PSSNa 150K	Type de modèle	$R_{g,1}$ (nm)	$R_{g,2}$ (nm)	Exposant à petits q
0	Pic PE			Remontée PE
0.0125	Pelote	~ 14		NA
0.05	Pelote	~ 9		NA
0.5	Polymère branché	8.5		-1.2
0.9	Sphères chevelues polydisperses	8	5	-2.4

Les complexes à base de PSSNa<sub>32K</sub> présentent plusieurs types de sous-structures en fonction de Z comme cela est aussi visible sur la Figure 2-28.

Chaînes gaussiennes à Z = 0.05. Même si le pic PE n'est plus visible à ce rapport de charge, il reste du PSS libre (non complexé) dans le milieu selon les prédictions du Tableau 2-4. Un modèle de chaîne gaussienne capture convenablement le mélange de chaînes complexées et libres. La remontée aux petits q traduit l'existence d'agrégats électrostatiques dont certains peuvent correspondre à des complexes de taille colloïdale. L'exposant à petit q est le même que celui trouvé à Z=0 mais l'intensité diffusée est bien supérieure ce qui ne laisse pas de doutes sur le fait que le PSS ait été complexé, même partiellement.

Structures branchées à Z = 0.5. A ce rapport de charge il n'y a plus de PSS libre et l'intensité diffusée est alors correctement modélisée par le facteur de forme d'un polymère branché ce qui traduit l'existence de petites structures complexées peu denses. Ces complexes sont possiblement arrangés à plus grande échelle en structure fractale de dimension  $D_f=1.5$  ce qui pourrait caractériser la formation d'agrégats peu denses de type DLCA (Diffusion limited controlled aggregation,  $D_f=1.8$ ).

Sphères chevelues à Z = 0.9. A un rapport de charge élevé, là où la plupart des motifs de PSS sont complexés, c'est un modèle de petites sphères chevelues ( $R_g$  sphère = 6.5 nm,  $R_g$  cheveux = 2.8 nm) qui peut modéliser la sous structure des complexes. Aux petits vecteurs de diffusion, on observe là encore une remontée en  $q^{-2.1}$  qui semble indiquer la formation d'agrégats plus denses qu'à Z=0.5. Ces structures agrégées pourraient donc correspondre aux clusters imagés par AFM (Figure 2-18).

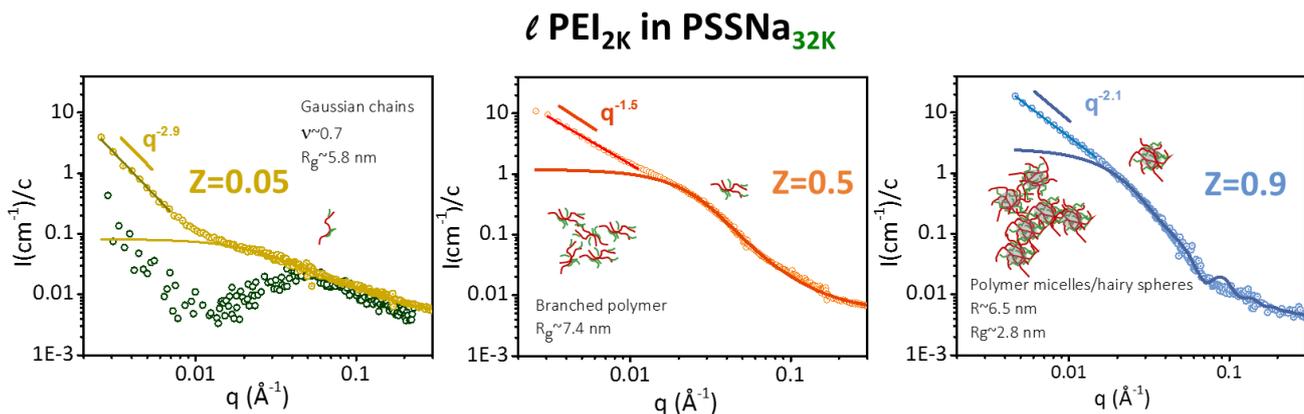


Figure 2-28 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration massique totale en polymère en fonction du vecteur de diffusion pour le système  $\ell$  PEI/PSSNa avec le PSSNa<sub>32K</sub>. Trois rapports de charge sont considérés : 0.05 ; 0.5 et 0.9. Les conditions de préparation sont identiques à celles décrites sur la Figure 2-27. La courbe de diffusion du PSSNa<sub>32K</sub> (Z=0) est présentée à titre de comparaison (vert).

Pour le PSSNa<sub>4,3K</sub> la structure finale des complexes à Z=0.9 peut être assimilée à une sphère chevelue homogène de taille plus importante ( $R_g=30$  nm) ne présentant pas a priori de sous structure interne contrairement au PSSNa<sub>32K</sub> et au PSSNa<sub>150K</sub>. Cela traduit un effet de compaction important des complexes primaires formés à partir du PSSNa<sub>4,3K</sub>. Comme il a été vu précédemment la faible longueur

de chaîne de ce PSS facilite un meilleur appariement des charges au sein des complexes primaires qui peuvent alors évoluer vers des structures plus proches de la stœchiométrie et donc plus facilement compactables jusqu'à ne plus distinguer de sous structure. Par contre à  $Z=0.5$ , la structure des complexes est similaire à celle obtenue avec le PSSNa<sub>32K</sub> à savoir des petites sphères chevelues agrégées ( $\sim q^{-2.3}$ ) de  $R_g=9$  nm avec des 'cheveux' de  $R_g=4$  nm (Figure 2-29).

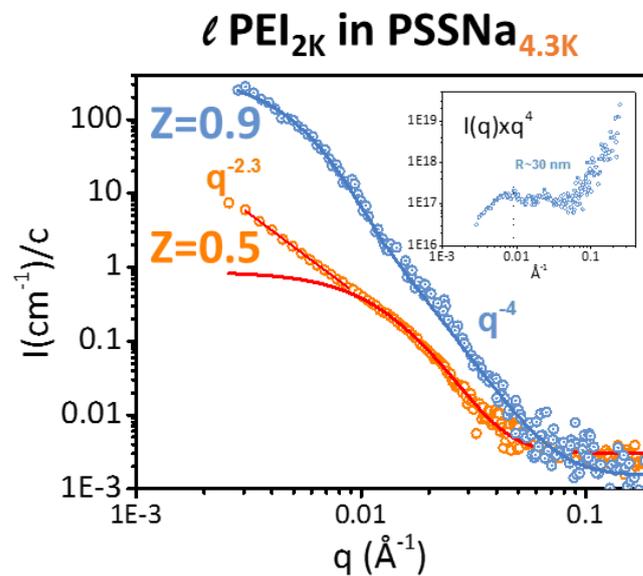


Figure 2-29 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration massique totale en polymère en fonction du vecteur de diffusion pour le système ℓ PEI/PSSNa<sub>4.3K</sub> à  $Z=0.5$  et  $Z=0.9$ . La représentation de Porod du  $Z=0.9$  est présentée en haut à droite.

Alors que la taille des complexes primaires augmente avec  $Z$  pour le PSSNa<sub>4.3K</sub> ou est constante pour le PSSNa<sub>32K</sub>, on observe pour le PSSNa<sub>150K</sub> une compaction des complexes primaires lorsque  $Z$  augmente. Cela peut traduire le fait que les complexes primaires formés avec le PSSNa<sub>150K</sub> ont initialement une structure peu dense en raison de la dissymétrie de taille entre le PSSNa et le PEI et dès lors l'ajout supplémentaire de PEI contribue à densifier leur structure interne. Pour les PSSNa plus courts, la structure des complexes est certainement plus homogène et l'ajout de PEI permet alors leur croissance et/ou leur agrégation.

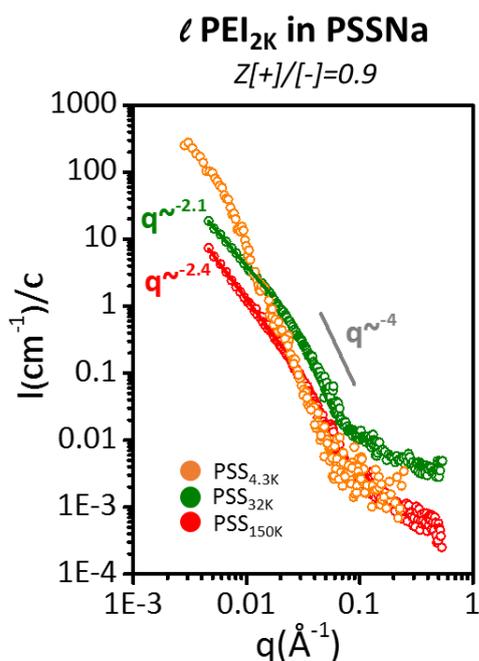


Figure 2-30 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration massique totale en polymère en fonction du vecteur de diffusion pour le système  $\ell$  PEI/PSSNa à  $Z=0.9$ . Trois masses molaires de PSSNa sont considérées.

La Figure 2-30 représente les courbes de diffusion des complexes obtenus à  $Z=0.9$  à partir des différents PSS décrits ci-dessus. Cette figure comparative illustre les deux types de structure de complexes observables à l'échelle des neutrons. Pour les PSSNa<sub>32K</sub> et PSSNa<sub>150K</sub> les pentes en  $q^{-2.1}$  ou  $q^{-2.4}$  à petits  $q$  et en  $q^{-4}$  à moyens  $q$  traduisent la formation de structures agrégées constituées d'objets sphériques denses (complexes primaires) de petite taille. Le fait que l'exposant aux petits  $q$  soit légèrement plus élevé pour le PSSNa<sub>150K</sub> que pour le PSSNa<sub>32K</sub> indique que les agrégats sont plus denses avec le PSSNa<sub>150K</sub> ce qui est inattendu puisque les complexes primaires sont plus grands avec le PSSNa<sub>150K</sub>. Cela suggère que le mécanisme d'agrégation des complexes primaires est limitée par la réaction et non par la diffusion. Pour le PSSNa<sub>4.3K</sub> la dépendance en  $q^{-4}$  sur un domaine relativement large de  $q$  indique la présence de sphères (chevelues) non agrégées, de taille finie et relativement grandes par rapport aux complexes primaires obtenus avec le PSSNa<sub>32K</sub> et le PSSNa<sub>150K</sub>.

Par ailleurs, il est important de préciser que l'analyse par diffusion des neutrons n'a pas permis de mettre en évidence l'existence de grandes structures colloïdales de type cœur-écorce comme celles vues en AFM en raison de leur taille relativement importante par rapport à l'échelle accessible en DNPA par rapport à la gamme de  $q$  choisie.

Enfin l'influence du procédé d'ajout du PEI, ajout [SLOW] et ajout [FAST], a été étudiée en DNPA à travers une nouvelle série d'expériences avec trois PSS de masse molaire différente. Les complexes ont été préparés systématiquement à  $Z=0.9$  et analysés moins de 12 heures après leur préparation (Figure 2-31). Alors que par analyse AFM, il était possible de voir un effet très significatif du temps de mélange ici il n'est pas possible de distinguer l'effet de la méthode de mélange sur les courbes en tout cas à l'échelle DNPA. Cela indique clairement que les caractéristiques des complexes primaires ne sont pas sensibles aux effets de concentration locale, probablement en raison de la cinétique de complexation extrêmement rapide à l'échelle de quelques molécules de PE. Dès lors, les seuls effets perceptibles relatifs à la méthode d'ajout du PEI se manifestent sur la taille et la structure des complexes secondaires, c'est-à-dire à une échelle supérieure à celle accessible en diffusion des neutrons.

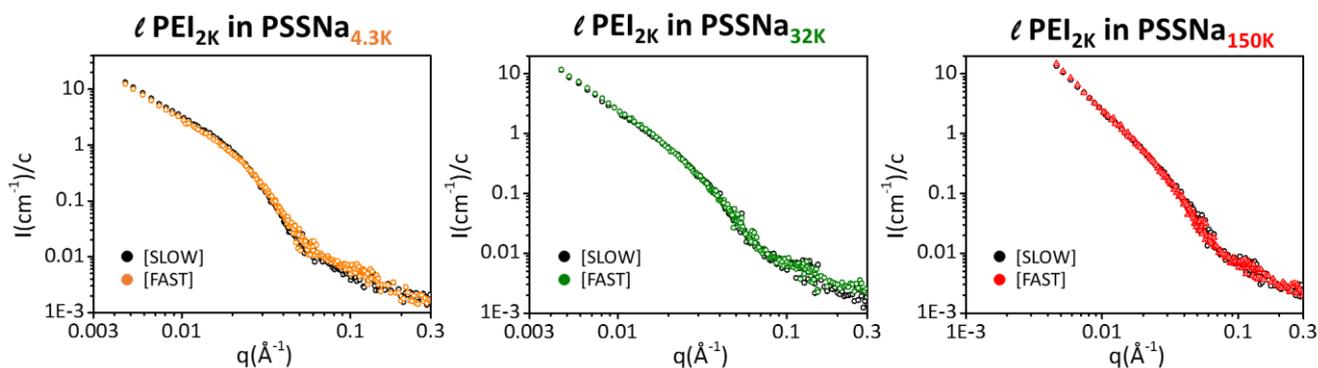


Figure 2-31 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration massique totale en polymère en fonction du vecteur de diffusion pour le système  $\ell$  PEI/PSSNa à  $Z=0.9$ . Quatre masses molaires de PSSNa et deux méthodes d'ajout, [SLOW] et [FAST] sont considérées.

### 2.3.4 Étude de la complexation en stopped-flow

L'analyse AFM des complexes a permis de mettre en évidence que les complexes préparés par la méthode de mélange [ULTRAFast] c'est-à-dire en stopped-flow sont plus petits et plus polydisperses en taille que ceux préparés par un ajout lent à l'aide d'un pousse seringue. Comme décrit précédemment le mélange du PEI et du PSS par stopped-flow fige le système dans un continuum d'états d'agrégation allant des chaînes libres aux complexes. Ces derniers sont nettement moins structurés que ceux obtenus par un ajout lent de la solution de PEI. Cela indique que la cinétique de complexation est très rapide et que dans ces conditions la structure des complexes est gelée c'est-à-dire qu'elle ne peut plus évoluer vers des états d'agrégation supérieurs qui permettraient de diminuer l'énergie de surface des complexes. Ici, la cinétique de complexation du système PEI/PSS a été étudiée en stopped-flow et les caractéristiques des complexes obtenus par cette méthode de mélange ont été déterminées par diffusion statique et dynamique de la lumière.

#### 2.3.4.1 Cinétique de complexation

Pour toute la série de données cinétiques obtenues sur les systèmes sans sel d'ajouté, les signaux d'intensité diffusée en fonction du temps sont constants à l'échelle de la seconde quel que soit le rapport de charge  $Z$  ce qui suggère que le temps de formation des complexes primaires et secondaires est bien inférieur au temps mort de l'appareil fixé à 4 ms (Figure 2-32). L'augmentation de l'intensité diffusée avec le rapport de charge est globalement en accord avec les résultats de la Figure 2-10 où les complexes ont été formés par ajout rapide à la micropipette (méthode [FAST]). Cela confirme que le processus de complexation est dominé par la formation de complexes primaires dont la quantité formée est directement liée à la quantité de PEI ajoutée c'est dire au rapport de charge  $Z$ .

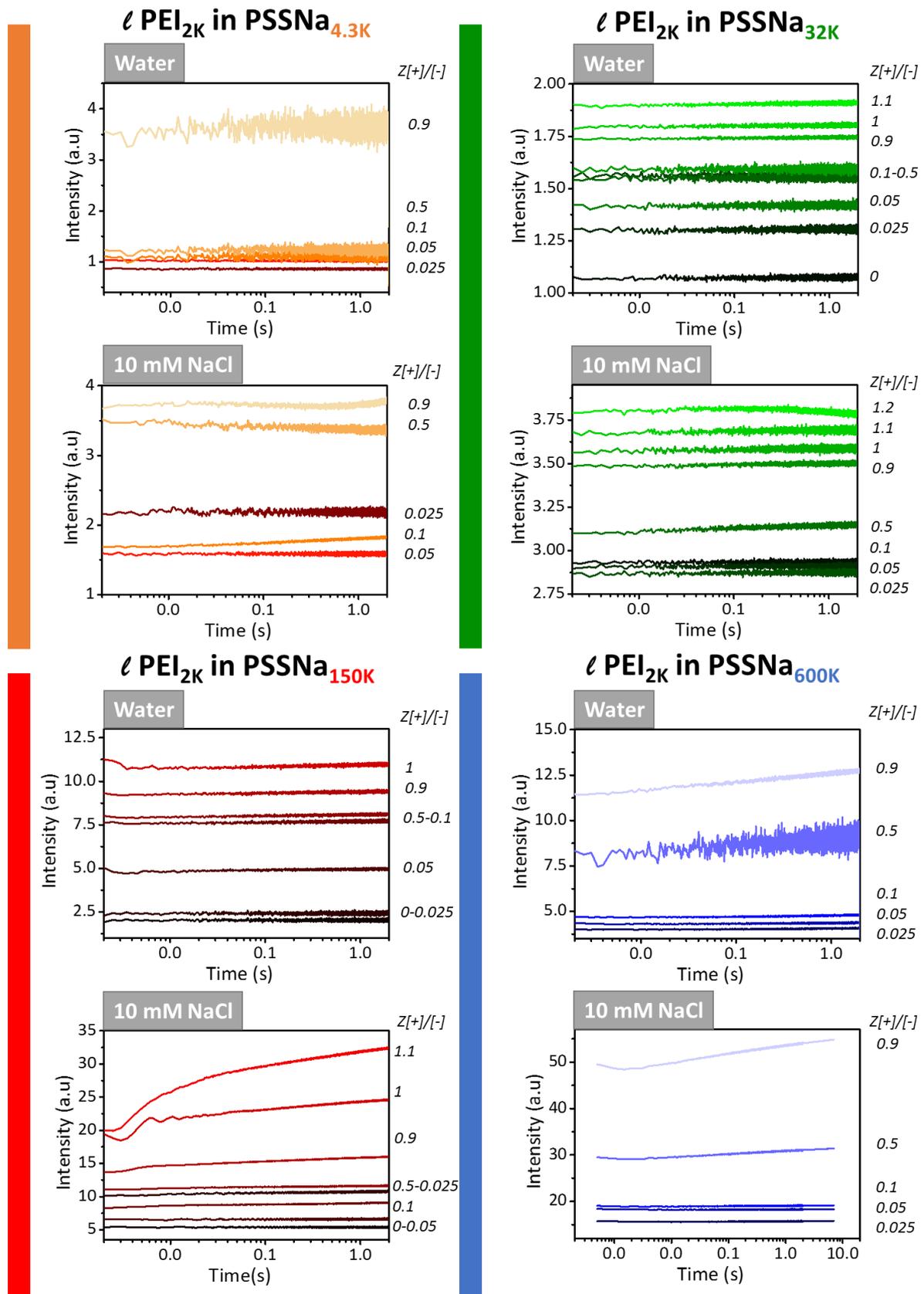


Figure 2-32 : Cinétique de complexation par la technique du stopped-flow couplée à la diffusion de la lumière. L'intensité diffusée à 90° est représentée en fonction du temps pour les complexes PEI<sub>2K</sub>/PSSNa à pH 4.0 à différents Z[+]/[-] en présence ou non de 10 mM de NaCl. Les masses molaires étudiées de PSSNa sont 4.3K, 32K, 150K et 600K. Les valeurs d'intensité ont été normalisées par la concentration massique totale en polymère.

En présence de 10 mM de sel, la même tendance est globalement observée tant sur l'invariance du signal diffusé en fonction du temps que sur l'augmentation de l'intensité diffusée avec Z ce qui

indique que même en affaiblissant les interactions électrostatiques les complexes se forment très rapidement et ne voient pas leur structure évoluer c'est-à-dire qu'ils sont dans un état figé comme en l'absence de sel ajouté. Tout ceci confirme que les interactions entre le PEI et le PSS sont effectivement très fortes. La seule différence notable est la nette augmentation de l'intensité diffusée par rapport aux complexes préparés en l'absence de sel ajouté. Le pouvoir diffusant supérieur des complexes préparés en présence de sel peut être dû à une taille plus importante ou au fait que les complexes soient davantage déshydratés. En effet, en diminuant la longueur de Debye, les chaînes sont plus flexibles ce qui peut favoriser a priori l'appariement des charges et ainsi la formation de particules de complexe primaires plus compactes et donc plus diffusantes. Dans ces conditions de sel, l'agrégation des complexes primaires en complexes secondaires peut également être favorisée.

### 2.3.4.2 Etude de la morphologie des complexes formés par MALS

Les complexes formés en stopped-flow ont été systématiquement analysés quelques heures après leur préparation en diffusion statique et dynamique de la lumière à plusieurs angles (Figure 2-33). De façon générale les complexes ont une structure davantage polydisperses que ceux formés par ajout rapide à la micropipette ou par ajout lent au pousse seringue. En effet la représentation de Guinier en diffusion statique laisse apparaître une courbure prononcée aux petits angles indiquant la présence de structures agrégées. De même les distributions de tailles hydrodynamiques en Contin révèlent souvent l'existence d'au moins deux populations dont la plus petite présente une intensité beaucoup plus élevée par rapport à celle obtenue pour les complexes préparés par mélange par méthode [FAST] (Figure 2-11). Les indices de polydispersité fournis par la méthode des cumulants sont systématiquement supérieurs à 0.35 contrairement à ceux obtenus par ajout micropipette, inférieurs à 0.3. Enfin, la polydispersité est aussi visible sur les représentations  $\Gamma(q^2)$  qui ne sont pas parfaitement linéaires, en particulier pour les rapports Z proches de la stœchiométrie. Cette tendance confirme qu'un mélange ultra rapide fige les complexes dans de multiples états d'agrégation. Un autre aspect important à souligner est l'absence de structures de type complexes solubles même pour des rapports Z extrêmement faibles (0.025 et 0.05) où l'on peut voir tant par diffusion dynamique que statique la présence de complexes fortement diffusants de taille colloïdale ce qui confirme que les interactions entre le PEI et le PSS sont très fortes.

Concernant le traitement des données, il a été choisi pour la diffusion dynamique de linéariser les variations de  $I(q^2)$  à petits q d'une part mais aussi sur toute la série de q ce qui permet de caractériser d'une certaine manière la polydispersité en tailles du système. Concernant la diffusion statique, les variations d'intensité normalisées par la concentration totale en polymère des échantillons ont été traitées avec le formalisme de Guinier. Les tracés  $\ln(I)$  vs  $q^2$  présentent toujours une forte courbure aux petits angles caractéristique d'objets de taille supérieure à la centaine de nanomètres quel que soit le rapport de charge considéré ou la masse molaire du PSSNa. Par ailleurs, on note quasi systématiquement une cassure aux petits angles, signe de deux populations distinctes en solution; Deux parties linéaires (aux petits q et aux moyens-grands q) ont été analysées par l'équation habituelle de Guinier en vérifiant que  $q R_g < 2.5$ . On détermine ainsi pour chaque système deux valeurs de rayon de giration et deux valeurs de rayon hydrodynamique en accord avec les distributions de taille obtenues en DLS qui sont bimodales dans la plupart des cas.

Il est intéressant de remarquer que des complexes de taille importante sont obtenus dès Z=0.025 ce qui confirme que le système PEI/PSS est un système complexant fort où la formation de complexes solubles constitués d'une unique chaîne de PSS complexée par quelques chaînes de PEI n'est pas possible. Comme pour l'ajout [FAST] (ajout par micropipette, Figure 2-10) les tailles de PECs varient peu en fonction de la masse molaire du PSS à part pour le PSSNa<sub>4.3K</sub>. De la même façon, les tailles des PECs varient peu en fonction de Z hormis à Z=0.025. La seule différence notable entre les deux méthodes d'ajout est que les valeurs de  $R_g$  et de  $R_H$  des complexes préparés par stopped-flow [ULTRA FAST] sont globalement plus grandes que celles des complexes formés par ajout manuel [FAST] à concentrations égales en PE. Cela indique que le stopped-flow permet une meilleure homogénéisation des PE dans le milieu. Les complexes formés sont ainsi moins denses que ceux obtenus par [FAST] où des effets de

surconcentration locale en PEI ajouté conduisent à des PECs plus denses et donc moins volumineux. On remarque aussi qu'à Z=0.025 les tailles sont systématiquement plus élevées ce qui est également en accord avec la formation de structure peu denses constitués de PSS faiblement complexé par le PEI comme cela a été vu par AFM (Figure 2-26 gauche) sans toutefois former des complexes solubles.

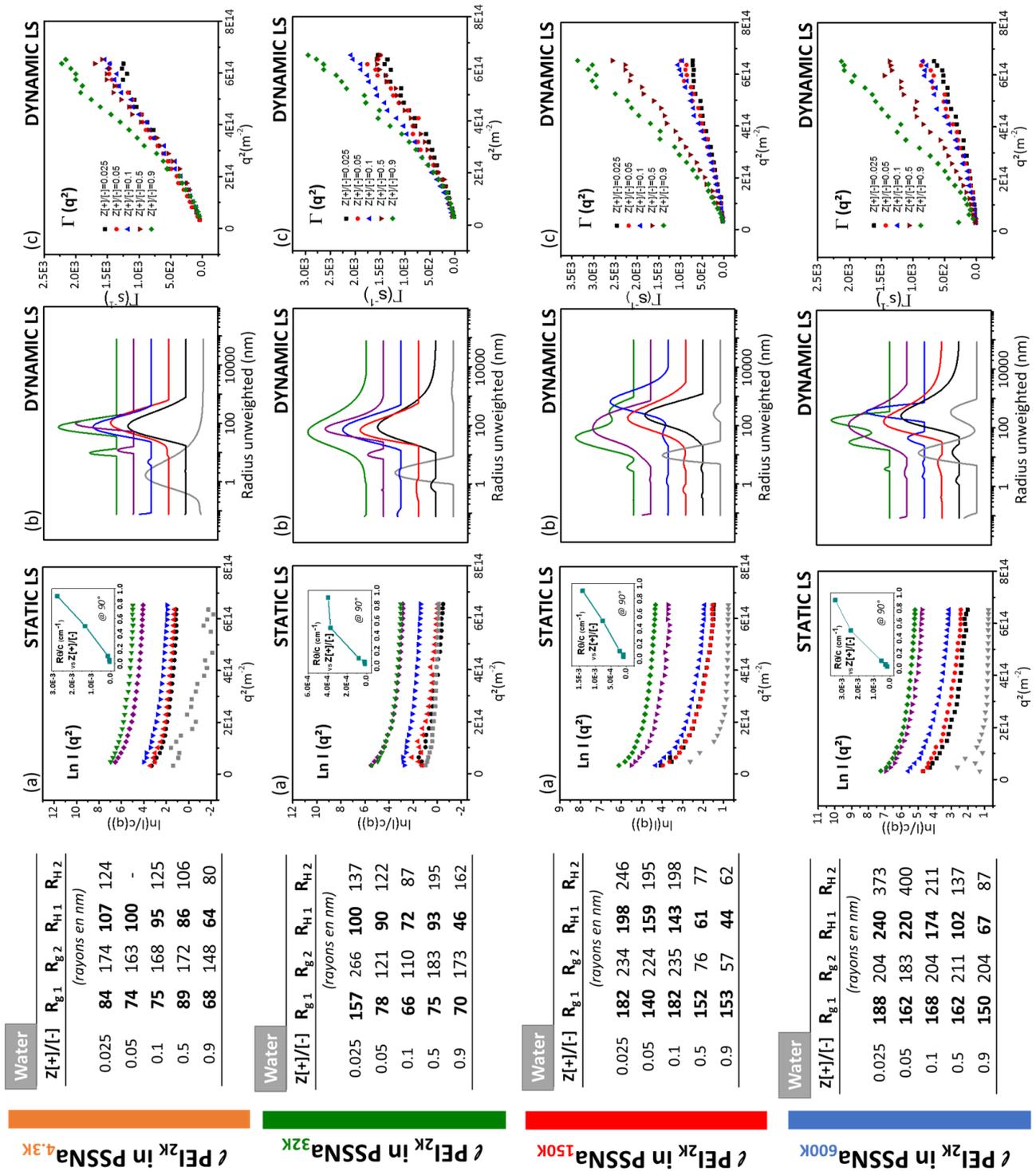


Figure 2-33 : Analyse par diffusion multiangle de la lumière (statique et dynamique) des complexes  $\ell$  PEI / PSSNa préparés en stopped-flow à pH 4 sans sel ajouté (Tableau des concentrations utilisées en Tableau Annexe 4) R<sub>g1</sub> et R<sub>g2</sub> sont déterminés à moyens-grands q (tracé rouge) et petits q (tracé bleu) respectivement. R<sub>H1</sub> et R<sub>H2</sub> sont déterminés respectivement sur toute la gamme de q (tracé rouge) et sur la partie petits q (tracé bleu). Les séries de points sont toutes analysées par régression linéaire (voir Figure Annexe 7).

## 2.4 Application à un micro mélangeur

La cinétique rapide de complexation du système PEI/PSS fait que les caractéristiques des complexes sont sensibles aux conditions initiales de mélange. Dans ce cas il est nécessaire de pouvoir contrôler les paramètres de formulation tels que la vitesse de mélange pour obtenir des résultats reproductibles. L'enjeu de cette partie est précisément de développer un protocole reproductible de mélange des deux polyélectrolytes qui permettrait de contrôler la taille des particules formées par complexation. Le choix s'est orienté vers l'utilisation d'un système micro-fluidique qui présente de nombreux avantages. Grâce à cet appareil, le volume du mélangeur est réduit et l'efficacité du mélange est optimisée. Il permet par ailleurs un contrôle quasi-total des conditions de mélange (pression, température, temps, débit,...). Cette méthode d'ajout sera comparée à des méthodes manuelles [SLOW] et [FAST] sur l'ensemble de la gamme de Z pour obtenir une vision globale du comportement du système.

### 2.4.1 Partie expérimentale

Les polyélectrolytes utilisés sont le polyéthylène imine linéaire à 2000 g/mol ( $\ell$  PEI<sub>2K</sub>) et le polystyrène sulfonate de sodium à 77 000 g/mol (PSSNa<sub>77K</sub>). Le taux de charge du PEI est évalué par spectroscopie en présence d'orange II à 0.73 charge par motif au pH d'étude, fixé à 3.0.

#### 2.4.1.1 Mélanges manuels

Les complexes sont formés en ajoutant l'un des deux polyélectrolytes dans l'autre à différents rapports de charges Z[+]/[-]. Les concentrations initiales des solutions de PSSNa et de PEI sont fixées à 1 mM en motifs chargés et les solutions sont ajustées à pH 3.0 avant chaque utilisation. Les mélanges sont effectués selon les méthodes d'ajout [SLOW] et [FAST] présentées en début de chapitre avec un volume total de solution fixé à 5 mL (Tableau Annexe 5).

#### 2.4.1.2 Micromélangeur

##### *Appareillage*

Le système microfluidique utilisé a été conçu par Dolomite™. Il est équipé d'une puce en verre comportant 3 entrées, 12 micro-mélangeurs à chevrons en série et une sortie. Deux circuits complets sont présents sur chaque puce et peuvent être connectés en série (Figure 2-34). Le dispositif de contrôle des flux de solutions est composé de pompes à pression équipées de débitmètres permettant d'obtenir des flux précis sans à-coups. Trois débits sont choisis pour l'étude : Débit 1=250  $\mu$ L/min ; Débit 2=700  $\mu$ L/min ; Débit 3=1100  $\mu$ L/min. Ces pompes sont reliées à la puce par des tubings en PTFE de 0.5 mm de diamètre interne. Un microscope équipé d'une caméra permet la visualisation en direct de la puce. Le dispositif est installé dans une pièce climatisée dont la température est régulée à 22°C. Le système permet de mélanger jusqu'à 3 solutions à l'aide de pompes contrôlées par ordinateur. Le contrôle se fait soit en imposant la pression dans les pompes soit le débit en sortie des pompes.[165]

Deux pompes ont été utilisées dont une connectée à un diviseur de flux pour alimenter la puce en PSSNa<sub>77K</sub>. L'autre pompe connectée à une entrée simple a été utilisée pour le  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>. La répartition des débits appliqués aux deux PEs est décrite en annexe de ce chapitre. Toutes les manipulations sont suivies grâce à une caméra haute vitesse qui permet de visualiser l'intérieur de la puce.

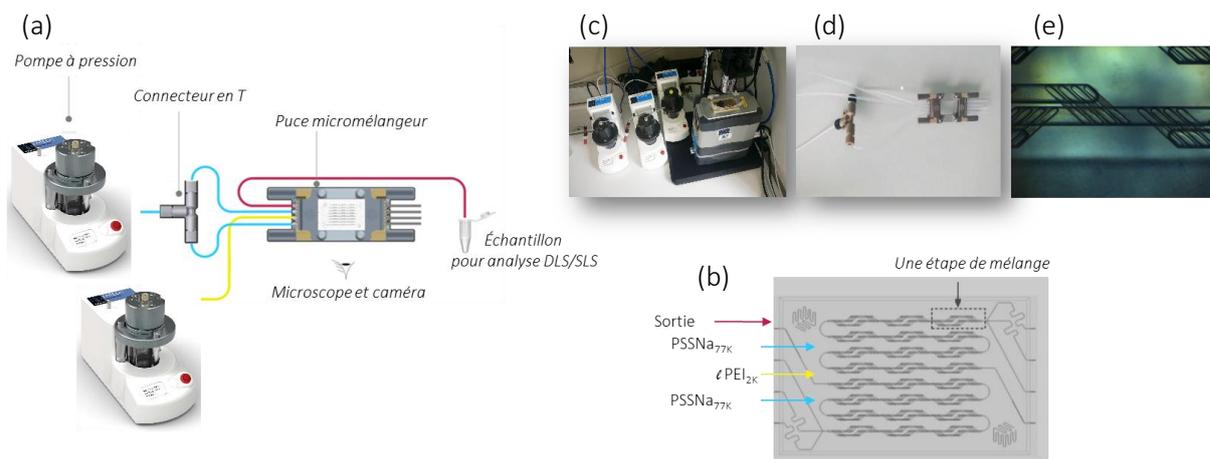


Figure 2-34 : (a) schéma de fonctionnement du mélangeur [DOLOMITE] et (b) de sa puce microfluidique. (c) Ensemble puce, microscope et pompes, (d) puce, et (e) micromélangeur à chevrons. Schéma adapté de [265].

### Précaution d'emploi

La puce étant en verre et les polyélectrolytes étant chargés, des agrégats sont susceptibles de se former et s'accrocher aux parois de la puce, plus particulièrement lorsque le  $\epsilon$ PEI<sub>2k</sub> est en excès. Un traitement de surface a été effectué pour prévenir ce problème. Lorsque les complexes à former contiennent un excès de PEI, ce dernier est mis à circuler à travers la puce pendant plusieurs minutes puis celle-ci est rincée à l'eau. Cela permet d'adsorber une fine couche de PEI à la surface de la puce et d'éviter ainsi la fixation de particules de PECs chargés positivement. Une approche similaire a été effectuée dans les cas des complexes chargés négativement en faisant circuler au préalable du PSSNa puis en rinçant à l'eau. Par ailleurs, après chaque formulation de PEC à un Z donné, il est nécessaire de rincer plusieurs fois la puce avec une solution saline (1 M en NaCl) pour diminuer l'interaction électrostatique, puis avec une solution contenant un tensioactif (SDS) pour solubiliser l'ensemble et enfin avec de l'eau pour éliminer les impuretés restantes.

### Détermination du temps de mélange par colorimétrie

Les temps de mélange pour les trois débits mentionnés ci-dessus ont été déterminés par colorimétrie en utilisant une solution de soude 0.1 M et une solution éthanolique de phénolphaléine et en visualisant pour chaque débit à partir de quel micromélangeur on observe une coloration constante. Connaissant le volume d'un micromélangeur (~0.35  $\mu$ L), il est alors possible de remonter au temps de mélange des solutions au sein de la puce en fonction des débits choisis. Les temps d'homogénéisation déterminés sont les suivants : 336 ms pour le débit 1, 90 ms pour le débit 2 et enfin 60 ms pour le débit 3.

Tableau 2-5 : Détermination des temps de mélange pour les 3 débits étudiés.

Débit	Débit 1=250 $\mu$ L/min	Débit 2=700 $\mu$ L/min	Débit 3=1100 $\mu$ L/min
Etapas de mélange	4	3	3
Volume	1.4 $\mu$ L	1.05 $\mu$ L	1.05 $\mu$ L
Temps de mélange	336 ms s	90 ms s	60 ms s

#### 2.4.1.3 Caractérisation des PECs par DLS

La détermination de l'intensité diffusée (Derived Count Rate, DCR), du diamètre hydrodynamique ( $D_H$ ), de la polydispersité (méthode des cumulants, PDI) et de la charge de surface (potentiel zêta) des particules de complexes a été effectuée en utilisant un Zetasizer Nano ZS (Malvern) opérant à 633 nm

avec une détection à 90° pour les mesures de diffusion de la lumière et 13° pour les mesures de potentiel zêta (Phase Analysis Light Scattering, PALS).

## 2.4.2 Résultats

### 2.4.2.1 Mélanges manuels

Deux paramètres de mélange, la vitesse d'ajout ([SLOW] et [FAST]) et l'ordre d'ajout (PSSNa dans PEI et PEI dans PSSNa) ont été étudiés (Figure 2-37). Les flèches grises indiquent le sens d'ajout des polymères pendant la complexation.

Lors d'une addition de type [SLOW] l'ordre d'ajout exacerbe les différences au niveau des caractéristiques des PECs. En effet, on peut observer que des complexes de taille relativement faibles ( $\sim 100$  nm), moyennement polydisperses ( $PDI < 0.3$ ) et stables dans le temps sont obtenus pour  $Z[+]/[-] > 1$  (PSSNa dans PEI) et pour  $Z[+]/[-] < 1$  (PEI dans PSSNa). En d'autres termes, les complexes sont nettement moins agrégés lorsque le PE en défaut est ajouté au PE en excès. Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque le PE ajouté est en excès par rapport au PE introduit, l'ajout [SLOW] conduit de façon générale à une agrégation importante du système. En effet, dans ces conditions, le système atteint systématiquement la neutralité ( $Z=1$ ) où il précipite (Figure 2-35). Dès lors, il faut un excès important de PE pour dissocier le précipité en complexes colloïdaux. Ainsi, le fait de passer par  $Z=1$  en ajout lent est une étape quasiment irréversible pour le système qui garde la mémoire de ce passage par la neutralité.

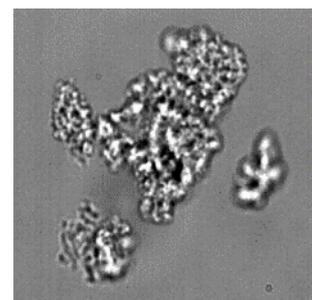


Figure 2-35 : Microscopie optique d'un agrégat de PEI/PSSNa. La largeur de la photo est de 10  $\mu$ m.

En procédant à un ajout [FAST], les particules de complexe présentent globalement les mêmes caractéristiques de part et d'autre de l'équivalence et il n'y a pas d'influence significative du sens d'ajout. La méthode [FAST] est donc adaptée à la formation de complexes 'forts'. Elle permet d'obtenir des complexes de taille relativement faible et bien définis dans les deux sens d'ajout quel que soit le rapport de charge à l'exception évidemment de  $Z=1$ .

Ces résultats sont en accord avec les mesures de diffusion et de stabilité menées par Müller *et al.* sur des particules de polyéthylène imine/poly acide acrylique en fonction de l'ordre d'ajout [73] et celles de Mihai *et al.* sur des complexes basés sur le couple l'AMPS/ionènes [162] en fonction de la vitesse d'ajout.

Concernant la charge de surface des complexes, les mesures de la mobilité électrophorétique montrent que les particules portent la charge du PE en excès. Ainsi, les valeurs de potentiel zêta sont négatives pour  $Z[+]/[-] < 1$  et positives pour  $Z[+]/[-] > 1$  quels que soient l'ordre et la vitesse d'ajout (Figure 2-36).

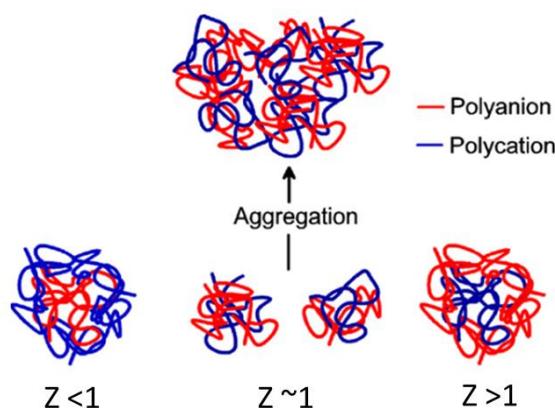


Figure 2-36 : Illustration schématique du modèle cœur-écorce pour des complexes polycation/polyanion et du comportement à la neutralité ( $Z=1$ ) [71].

Même si l'ajout rapide permet l'obtention de particules stables et assez bien définies, ce type d'ajout présente un problème de reproductibilité au niveau des caractéristiques des complexes, car celles-ci peuvent varier significativement lorsque les expériences sont répétées ou effectuées par un autre opérateur. Par ailleurs, la détermination des temps d'homogénéisation du système est difficile à estimer pour les méthodes d'ajout [SLOW]/[FAST]. Dans une seconde partie, un mélangeur microfluidique a été utilisé pour mieux contrôler la complexation.

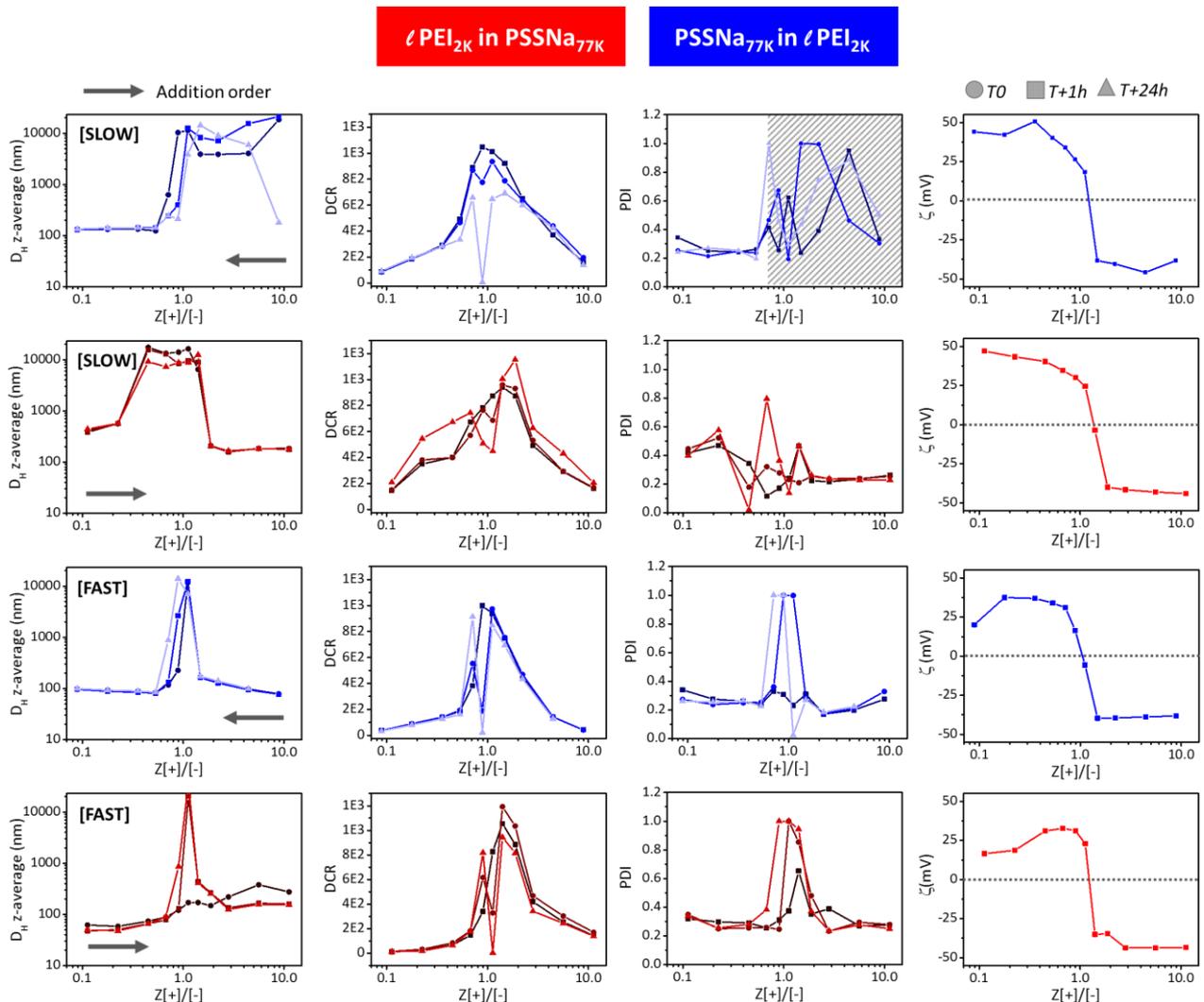


Figure 2-37 : Formation de complexes à partir du système ℓPEI<sub>2K</sub> / PSSNa<sub>77K</sub> en utilisant deux sens d'ajout et deux méthodes d'ajout, [SLOW] et [FAST]. De gauche à droite: diamètre hydrodynamique (z-average) (nm), intensité diffusée (DCR), polydispersité (PDI) et potentiel zêta (mV). Le sens d'ajout est repéré par la flèche grise. Les solutions de PEI et PSSNa sont à une concentration de 1 mM en charge, ajustées à pH 3.0 et filtrées sur membrane de cellulose à 0.2 µm avant utilisation. Analyses effectuées sur le Nanosizer ZS avec une détection à 90°. La partie hachurée montre des données non interprétables car à la limite de la technique de caractérisation utilisée.

### 2.4.2.2 Mélangeur microfluidique

La principale difficulté rencontrée lors de l'utilisation du mélangeur microfluidique est la formation d'agrégats qui peuvent conduire au bouchage complet de la puce (Figure 2-38). Afin d'éviter cette situation, les solutions de PEs sont diluées (1 mM) et filtrées en ligne (membrane cellulose 0.45 µm) avant d'être introduites dans la puce. Par ailleurs uniquement les rapports de charges Z assez éloignés de la stœchiométrie (Z[+]/[-] : 0.1 ; 0.2 ; 0.3 ; 0.4 ; 2.5 ; 3.33 ; 5 ; 10) ont été étudiés afin de limiter au maximum la formation de

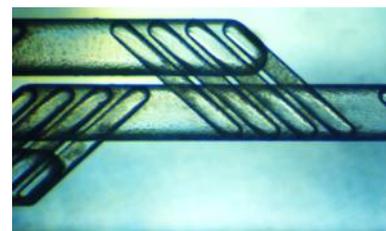


Figure 2-38 : Agrégats sur les parois des canaux de la puce au niveau d'un étage de micromélange.

complexes de grande taille qui peuvent s'agréger, en particulier au contact des parois des canaux microfluidiques. Comme cela a été décrit ci-dessus un revêtement de la puce par du PEI pour les complexes formés à  $Z[+]/[-] > 1$  et par du PSS pour les complexes formés à  $Z[+]/[-] < 1$  est également effectué avant chaque manipulation. Deux configurations de la puce ont été testées : i) introduction du PE en défaut dans le canal central et du PE en excès dans les deux autres canaux, ii) configuration inverse. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence au niveau des caractéristiques des complexes entre ces deux configurations. Dans les résultats reportés ci-dessous, les expériences ont été effectuées avec le PE en défaut dans le canal central et le PE en excès dans les deux autres canaux.

Les variations d'intensité diffusée en fonction de  $Z$  ont tout d'abord été comparées entre les trois méthodes d'ajout : [SLOW], [FAST] et [MICROFLUIDIC]. Ici un débit de 1100  $\mu\text{L}/\text{min}$  est considéré pour l'ajout microfluidique (soit une vitesse d'ajout entre [FAST] et [ULTRA FAST]). Les analyses ont été effectuées sur le Nanosizer ZS avec une détection à  $90^\circ$ . La Figure 2-39 met en évidence une influence importante du temps de mélange sur l'intensité diffusée totale, celle-ci étant d'autant plus faible que le temps de mélange est faible aussi. Les expériences étant effectuées dans les mêmes conditions de concentrations, ces résultats suggèrent que les structures formées par ajout microfluidique sont probablement moins denses et donc moins diffusantes que celles obtenues par les autres méthodes d'ajout comme cela a été vu dans le chapitre précédent, en particulier par AFM. Cela met à nouveau en évidence que la cinétique de complexation est très rapide et que dans ces conditions un ajout très rapide permet une meilleure homogénéisation du milieu réactionnel au moment de la complexation.

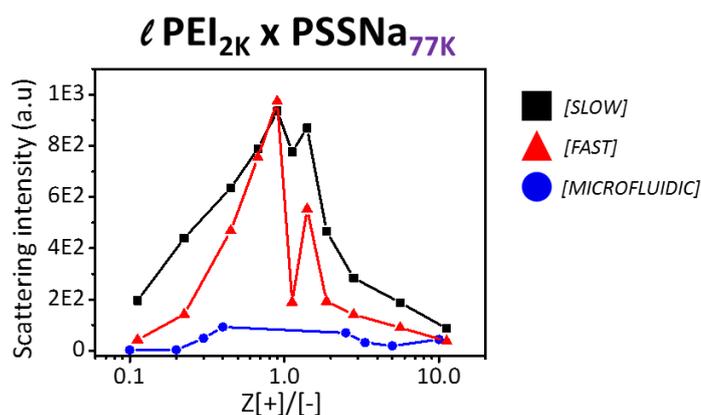


Figure 2-39: Variations d'intensité diffusée des suspensions de PECs préparées par différentes méthodes d'ajout: [SLOW] (PSS dans  $\ell$  PEI), [FAST] (PSS dans  $\ell$  PEI), [MICROFLUIDIC] (1100  $\mu\text{L}/\text{min}$ ). Analyses effectuées sur le Nanosizer ZS avec une détection à  $90^\circ$ .

Concernant l'influence du débit d'ajout en microfluidique, aucune différence significative au niveau de l'intensité diffusée n'a pu être mise en évidence au cours de ces expériences pour des débits variant entre 250  $\mu\text{L}/\text{min}$  et 1100  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Cela est en partie lié aux intensités diffusées très faibles difficilement détectables par le Nanosizer ZS à  $90^\circ$ . Par ailleurs, les tailles hydrodynamiques des PECs n'ont pas pu être directement corrélées aux débits d'ajout en raison de la polydispersité élevée du système. Afin d'améliorer la précision de ces analyses, les suspensions ont été étudiées en utilisant l'ALV-CGS3 (Figure 2-40). Dans ces conditions, on peut alors remarquer qu'il y a des différences significatives tant au niveau de l'intensité diffusée que des tailles lorsque le débit est modifié. Ainsi, les plus petites structures de PEC ont pu être obtenues avec le débit d'ajout le plus élevé (1100  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) ce qui correspond à un temps de mélange de 60 ms (Tableau Annexe 6). Dans la mesure où la cinétique de formation des PECs est encore plus rapide on peut estimer que des tailles plus faibles de PEC pourraient être obtenues en augmentant encore davantage le débit d'injection. Ici il est limité pour des raisons pratiques liées à la pression maximale d'azote disponible avec l'équipement microfluidique utilisé (5 bars). Cette étude a donc permis de mettre en évidence que dans le cas d'un système complexant fort tel que le  $\ell$  PEI/PSSNa, le degré d'agrégation des PECs est directement lié au temps de mélange des PE. Ces résultats sont en bon accord avec ceux obtenus par Ankerfors *et al.* qui ont utilisé un micromélangeur de type CIJ (*Confined Impinging Jets*) pour étudier la complexation du système PAH/PAA. En effet, les auteurs montrent que le degré d'agrégation des complexes est intimement lié à la

vitesse d'addition du titrant et donc au temps de mélange, le temps caractéristique de formation des complexes primaires étant lui toujours beaucoup plus faible ( $\sim \mu s$ ) que le temps de mélange (Figure 2-41).[163]

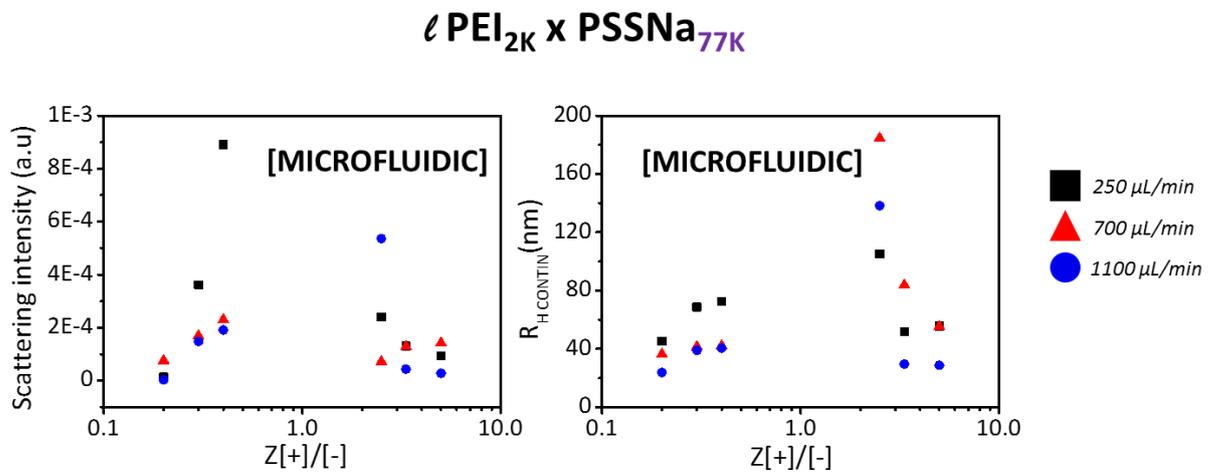


Figure 2-40 : Analyse en diffusion de la lumière (ALV-CGS3) des suspensions de complexes  $\ell$ PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>77K</sub> préparées à différents débits d'ajout avec le système microfluidique Dolomite. (a) Intensité diffusée, (b) Rayon hydrodynamique de la population majoritaire sur la distribution en intensité des tailles (méthode de Contin). Les données sont représentées en fonction du rapport de charge Z[+]/[-].

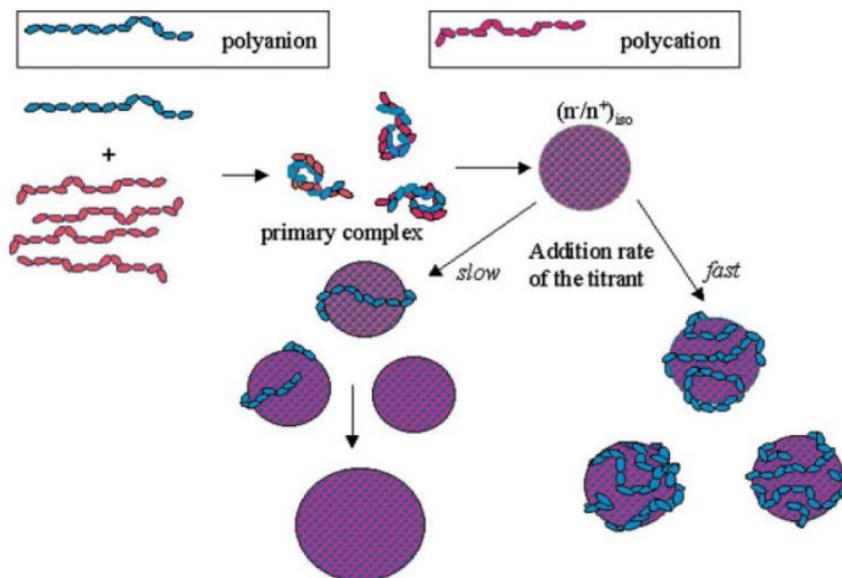


Figure 2-41 : Influence de la vitesse d'ajout sur le degré d'agrégation des particules de PEC en solution.[163]

### 2.4.3 Conclusion

Le couple  $\ell$  PEI/PSSNa à pH 4.0 est un système complexant fort qui précipite à l'équivalence en charges. La plupart des complexes étudiés dans ce chapitre ont été obtenus à partir de  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> en défaut et de PSSNa en excès de masse molaire comprise entre 4.3 kDa et 600 kDa. L'utilisation de la diffusion de la lumière, de l'AFM et de la DNPA a permis de mettre en évidence en milieu relativement dilué la formation de complexes colloïdaux stables (PECs) dont la taille typique est de l'ordre de la centaine de nanomètres. Les PECs possèdent une sous-structure constituée de particules de complexes primaires (~20 nm) agrégés au sein d'un cœur relativement dense entouré d'une couronne de PSSNa d'épaisseur variable selon la masse molaire de PSSNa utilisé.

De façon importante cette étude a montré que la cinétique de complexation est très rapide. Même s'il n'a pas été possible de déterminer précisément le temps caractéristique de la réaction de complexation, on peut affirmer qu'il est très inférieur au temps mort du stopped-flow (4 ms). Dans ces conditions la taille, la polydispersité et la morphologie des complexes dépendent beaucoup des conditions d'ajout des PEs et particulièrement du temps de mélange défini comme le temps nécessaire pour obtenir une homogénéisation complète des PEs dans le mélange final. Dans le cas d'un ajout lent de type goutte à goutte caractérisé par un temps de mélange élevé, les complexes sont de grande taille et possèdent un cœur dense entouré d'une couronne de PSSNa de taille variable en fonction de la masse molaire du PSSNa (Figure 2-42). Ceci traduit l'effet d'une surconcentration locale en PEI ajouté qui favorise l'agrégation des complexes primaires en un cœur dense. Dans le cas d'un ajout rapide par stopped-flow, les structures obtenues sont globalement plus petites, moins denses et beaucoup plus polydisperses que celles formées par ajout lent (Figure 2-42). Comme la cinétique de complexation est très rapide, cela met en évidence que le mélange par stopped-flow permet d'avoir un bon état initial de dispersion des PEs sans effet de surconcentration locale. Il est à noter que même dans des conditions d'ajout rapide, le mécanisme global de formation des PECs n'est pas modifié à savoir que l'on a la formation de complexes primaires qui s'agrègent en structures colloïdales. La présence de petites particules de complexe primaire est visible en particulier par AFM à faibles rapports de charge ( $Z[+]/[-] = 0.05$ ) dans le cas d'un mélange en stopped-flow.

L'utilisation de l'outil microfluidique permet a priori de garantir une plus grande reproductibilité dans la préparation des complexes par rapport aux méthodes traditionnelles telles que l'ajout lent avec un pousse-seringue ou l'ajout rapide à la micropipette. Cependant de nombreuses difficultés techniques ont été rencontrées en raison de l'apparition fréquente d'agrégats de taille micrométrique capables de bloquer les canaux de la puce de micromélange. Il a cependant pu être vérifié que l'utilisation de débits élevés associés à des temps de mélange très courts permettait de former des complexes de très petite taille. Cela a donc permis de confirmer que la taille et la morphologie des complexes sont essentiellement déterminées par les conditions de mélange dans le cas de PEs en forte interaction. La question de l'état d'équilibre thermodynamique du système  $\ell$  PEI/PSSNa sera étudiée dans le chapitre 4 mais il est d'ores et déjà possible d'affirmer que ce système n'est pas à l'équilibre thermodynamique.

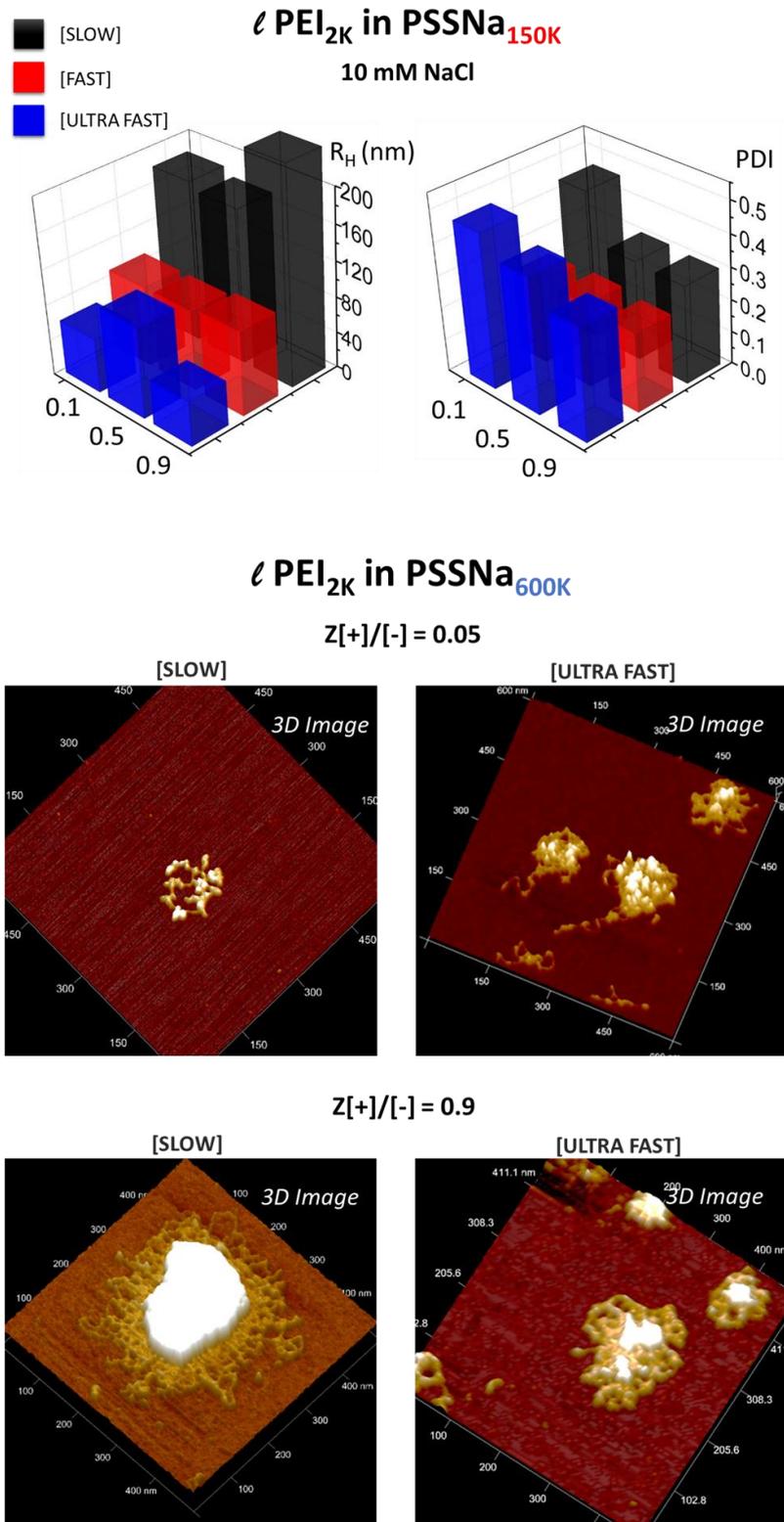


Figure 2-42 : Illustration des principales caractéristiques physicochimiques du système  $\ell$ PEI<sub>2K</sub>/PSSNa en fonction de la méthode de mélange utilisée. (haut) Rayons hydrodynamiques ( $R_H$ ) et polydispersité (PDI) des complexes en fonction du rapport de charge pour le système PEI<sub>2K</sub>/PSS<sub>150K</sub>. (bas) Morphologie des complexes analysés par AFM à Z[+]/[-]=0.05 et Z[+]/[-]=0.9 pour le système PEI<sub>2K</sub>/PSS<sub>600K</sub>.

# CHAPITRE 3

*'Quand on a choisi un chemin, aussi compliqué soit-il, on le poursuit jusqu'au bout.  
Sinon, on ne saura jamais ce qu'il nous promet'  
Yasmina Khadra*

# Table des Matières

<b>3.1 Introduction</b> .....	<b>103</b>
<b>3.2 Etude de la complexation du système DxS/PEI en milieu dilué</b> .....	<b>104</b>
3.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes.....	104
3.2.1.1 Le sulfate de dextrane .....	104
3.2.1.2 Le polyéthylène imine.....	105
3.2.2 Conditions expérimentales de la complexation.....	109
3.2.3 Suivi calorimétrique de la complexation .....	110
3.2.4 Suivi morphologique du système au cours de la complexation.....	111
3.2.4.1 Diffusion statique et dynamique de la lumière .....	111
<i>Concentration titrant/titré : 10/1 mM</i> .....	112
<i>Concentration titrant/titré : 100/10 mM</i> .....	116
3.2.4.2 Caractérisation des charges des PECs.....	119
Détermination de la composition des complexes.....	120
3.2.5 Analyse morphologique des complexes par AFM.....	122
3.2.6 Choix d'un modèle pour l'analyse ITC .....	124
3.2.7 Discussion.....	125
3.2.7.1 Thermodynamique de la complexation électrostatique .....	125
3.2.7.2 Thermodynamique de la coacervation .....	127
3.2.7.3 Origine de la coacervation précoce dans le sens DxS dans PEI.....	129
3.2.7.4 Etat d'équilibre du système.....	130
<b>3.3 Etude du coacervat obtenu à partir du système DxS/ PEI</b> .....	<b>132</b>
3.3.1 Analyses microscopiques du coacervat.....	132
3.3.1 Rhéologie de la phase coacervat .....	136
3.3.2 Analyse par DNPA des solutions initiales de DxS et PEI .....	137
3.3.3 Analyse par DNPA du coacervat .....	138
3.3.4 Cinétique de la coacervation .....	139
<b>3.4 Conclusion</b> .....	<b>141</b>

# CHAPITRE 3

## Etude d'un système complexant faible: Polyéthylène imine/Sulfate de dextrane

### 3.1 Introduction

Comme développé dans les chapitres précédents, la complexation des PEs occupe une place très forte dans l'industrie. Outre ces applications dans nos produits du quotidien, les associations électrostatiques de polymères chargés tiennent une place de choix dans les processus biologiques, et en particulier dans le domaine de la génétique.[161] La forte compaction de l'ADN dans le noyau des cellules est ainsi rendue possible par interaction électrostatique des molécules polyanioniques d'ADN avec des protéines fortement cationiques que l'on appelle des histones, riches en motifs arginine et histidine.[166] Ce type d'assemblages a fortement inspiré les chimistes pour développer des systèmes de délivrance d'acides nucléiques avec des applications prometteuses en nanomédecine. Le principe de cette approche consiste à former des PECs de dimension colloïdale par complexation entre l'ADN (ou l'ARN) et des lipides cationiques ou des polycations. Les complexes ainsi formés sont appelés 'lipoplexes' ou 'polyplexes' selon le type de molécules utilisées. Ces assemblages sont en général chargés positivement pour favoriser l'interaction avec la surface des cellules qui est chargée négativement en raison de la présence des glycoprotéines souvent riches en acides sialiques. Le polyéthylène imine (PEI), en particulier sous sa forme branchée ( $\beta$  PEI), a été l'un des tous premiers polycations synthétiques qui a permis de transférer de l'ADN dans les cellules.[167]

Au cours de cette étude il a été envisagé d'étudier la complexation du système PEI/ADN mais en raison des difficultés techniques (et financières) à se procurer de l'ADN de grande pureté, nous avons choisi d'étudier un autre biopolymère fortement chargé négativement, le sulfate de dextrane (DxS). En effet, le DxS présente comme l'ADN une densité de charge élevée et il est donc attendu que ses propriétés de complexation soient similaires à celles de l'ADN. Par ailleurs, des études antérieures effectuées en ITC sur le système  $\beta$  PEI/DxS avaient montré une forte dépendance de l'ordre d'ajout sur la thermodynamique de la complexation (travaux de Gilles Sigaud au CRPP, 2012-2013 [168]). Dans la mesure où l'on verra par la suite que ce système donne lieu à la formation d'un coacervat, cette dépendance aux conditions de formulation s'avère inattendue puisque le coacervat est généralement supposé être dans un état de pseudo-équilibre en raison des interactions relativement faibles entre les PEs. En cela ce système trouve une place de choix dans le cadre de cette étude où l'on s'intéresse au rôle des chemins de formulation sur la complexation de polyélectrolytes.

Ce chapitre est organisé en deux parties. La première partie concerne l'étude thermodynamique et morphologique de la complexation du DxS/ $\beta$  PEI en milieu dilué ( $c < c^*$ ). La formation des complexes sera effectuée dans les conditions de l'ITC c'est-à-dire en procédant par ajout lent et en utilisant des solutions diluées. Les deux sens d'ajout seront systématiquement étudiés afin d'accéder aux rapports de charge ( $Z$ ) positifs et négatifs. Outre l'ITC, la diffusion de la lumière, la microscopie optique et la spectroscopie UV-visible en présence de pigments chargés seront les principales techniques de caractérisation utilisées au cours de cette étude. La seconde partie du chapitre est consacrée aux propriétés physico-chimiques de la phase coacervat qui seront déterminées par analyse rhéologique, diffusion des neutrons ainsi que par diverses techniques microscopiques.

## 3.2 Etude de la complexation du système DxS/PEI en milieu dilué

### 3.2.1 Caractéristiques des polyélectrolytes

#### 3.2.1.1 Le sulfate de dextrane

Le sulfate de dextrane (DxS) est un polymère anionique obtenu par sulfatation du dextrane. Ce dernier est un polysaccharide constitué d'unités D-glucose majoritairement liées par des liaisons glycosidiques de type  $\alpha$ -1,6 (Figure 3-1). Le dextrane est connu pour avoir des branchements de type  $\alpha$ -1,3 mais dans le cas des dextrans de faible masse molaire (<10 kDa) le taux de branchement demeure relativement faible (<5%). Le DxS est généralement obtenu par réaction du dextrane avec de l'acide chlorosulfonique.[169] Le pourcentage de fonctions sulfatées est en général de l'ordre de 17%, ce qui correspond à environ 1.9 groupes sulfate par résidu glycosylé de dextrane. Le DxS est un polyélectrolyte fort. En effet, il existe sous sa forme totalement dissociée indépendamment de la force ionique ou du pH d'utilisation en raison du  $pK_a$  très faible des fonctions sulfate ( $pK_a \text{ HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}=1.9$ ).

Le principal domaine d'application du sulfate de dextrane est le biomédical, en particulier comme analogue naturel de l'héparine pour les traitements anticoagulants.[170] Sa nature fortement chargée en fait aussi un polymère de choix dans l'isolation de certaines protéines. Par ailleurs, il a été aussi montré qu'il contribuait à augmenter le taux d'hybridation de l'ADN.[171] Le DxS est aussi connu pour ses propriétés anti-virales sur divers virus comme le HIV grâce à un mécanisme d'interaction électrostatique avec les résidus cationiques des glycoprotéines GP120 à la surface des virus.[172–174] Récemment, il a été utilisé par Lamichhane *et al.* comme plateforme de délivrance de principes actifs tel que le paclitaxel (PAT), utilisé en chimiothérapie pour les cancers du sein, des ovaires et du poumon.[175] Enfin, il est utilisé comme agent filmogène et viscosifiant dans le domaine de la cosmétique.[176]

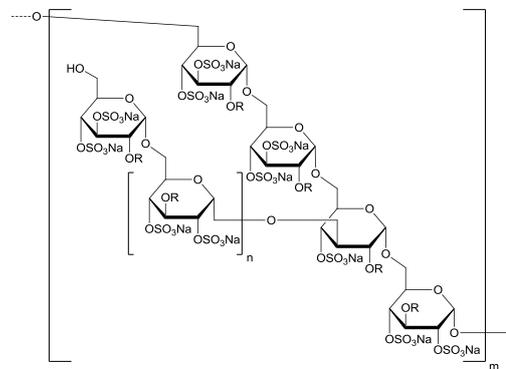


Figure 3-1 : Structure chimique du sulfate de dextrane, sel de sodium (DxS). R=H ou  $\text{SO}_3\text{Na}$ .

Le DxS utilisé au cours de cette étude a une masse molaire de 20 000 g/mol comme indiqué par le fournisseur (Sigma Aldrich). Afin de quantifier le taux de fonctions sulfate du DxS, une méthode de complexation entre un colorant, le bleu de toluidine (BT) et le  $\text{DxS}_{20\text{K}}$  a été utilisée (Figure 3-2).[101] La complexation est stœchiométrique c'est-à-dire que chaque molécule de BT se lie spécifiquement à un unique motif sulfaté.[126] En introduisant des quantités croissantes de DxS dans une solution de concentration fixe en BT, il est possible de quantifier précisément le nombre de charges par motif de DxS. En effet, lorsque le sulfate de dextrane est totalement complexé par le BT, le polymère précipite et le BT libre est alors dosé dans le surnageant par mesure d'absorbance à 595 nm. Ainsi, en faisant varier la concentration en DxS on peut déterminer précisément la concentration en BT nécessaire pour complexer tous les motifs sulfatés et connaître le taux de sulfatation du dextrane. On a pu déterminer par cette méthode que le DxS contenait 2.44 fonctions sulfate par motif polysaccharide, en accord avec la littérature.[101] Cette densité de charge correspond à un paramètre de Manning de 3.4,\* une valeur relativement proche de celle de l'ADN ( $\zeta_M=4.1$ ).

\* En considérant 2.44 fonctions sulfate par motif saccharidique et une taille de motif de 5.14 Å.

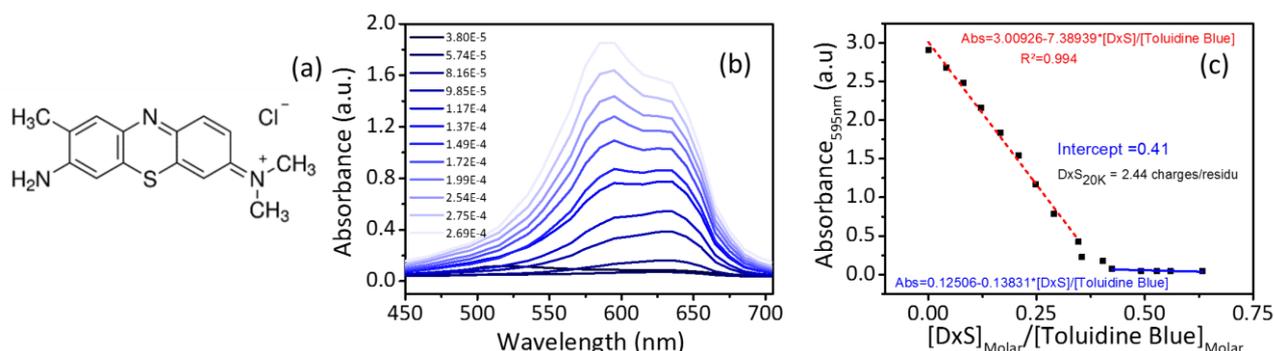


Figure 3-2 : (a) Structure chimique du bleu de toluidine (BT). (b) Exemples de spectres d'absorbance du BT libre dans les solutions de DxS/BT après centrifugation. Les concentrations utilisées en DxS sont indiquées à gauche (c) Absorbance à 595 nm des surnageants des solutions de DxS/BT après centrifugation en fonction du rapport de charge molaire initial. L'analyse est réalisée en tampon acétate 0.1 M à pH 4.8.

### 3.2.1.2 Le polyéthylène imine

Alors que dans le chapitre précédent nous nous sommes intéressés au polyéthylène imine linéaire ( $\ell$  PEI) composé uniquement d'amines secondaires, ici nous utiliserons le PEI branché ( $\mathcal{B}$  PEI) qui comporte des amines primaires, secondaires et tertiaires (Figure 3-3). Il est à noter qu'il existe également des formes dendritiques du PEI.[177]

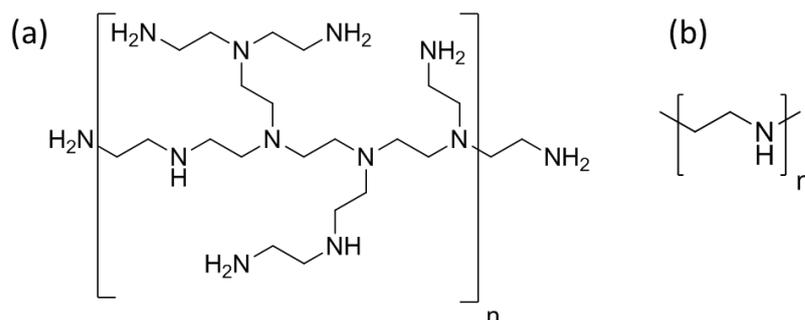


Figure 3-3 : Structure chimique du (a) polyéthylène imine branché ( $\mathcal{B}$  PEI), (b) polyéthylène imine linéaire ( $\ell$  PEI).

Les PEI sont produits à l'échelle industrielle et utilisés dans une large variété d'applications en raison de leur nature polycationique. On les utilise comme modificateurs de surface en présence de fibres de cellulose.[178] Il sont aussi utilisés comme agent anti-mouillant dans l'industrie du papier [179,5], et comme agent fixant, floculant et chélatant d'ions métalliques.[180] Le PEI est également utilisé dans un certain nombre d'applications biologiques. On notera son utilisation dans le traitement des supports utilisés en culture cellulaire. C'est aussi et surtout le second agent de transfection découvert après la poly(L-lysine).[181] En effet, le PEI a la capacité de condenser l'ADN sous forme de nanoparticules chargées positivement, permettant ainsi l'internalisation du matériel génétique dans la cellule. Par ailleurs il a été démontré que le PEI facilitait la fuite endosomale de l'ADN vers le cytoplasme et ceci grâce à un effet dit 'd'éponge'. [182] En effet, le PEI n'est que partiellement protoné en conditions physiologiques (pH 7.4) en raison d'un  $pK_a$  assez faible ( $\sim 5-6$ ). En conséquence, lorsque le PEI est internalisé dans les endosomes et que le pH est fortement diminué (pH < 5), il va pouvoir capter une quantité importante de protons (effet d'éponge) provoquant ainsi une forte augmentation de la pression osmotique pouvant conduire à l'éclatement des endosomes et *in fine* à la libération de l'ADN initialement complexé dans le cytoplasme.[161] Cependant, le PEI présentant une certaine toxicité, il n'est utilisé que pour des tests *in-vitro*.

Le PEI est classé dans la catégorie des polyélectrolytes faibles à savoir que son taux d'ionisation est fortement dépendant du pH et de la force ionique des solutions (Figure 3-4 et Tableau 3-1). Deux PEI seront utilisés dans cette étude, un PEI linéaire 2K et un PEI branché de 25K. Les deux polymères ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion multiangle de la lumière (SEC-MALS). La Figure 3-4 montre que la distribution du  $\ell$  PEI est monomodale contrairement à celle du  $\ell$  PEI qui est multimodale. Pour ce dernier, l'épaulement du côté des hautes masses correspond à une masse molaire en nombre ( $M_n$ ) de 14 500 g/mol, alors que le pic principal correspond à une masse de 7 000 g/mol. Les valeurs de  $M_n$  et  $M_w$  fournies dans le Figure 3-1 ont été obtenues en considérant l'ensemble de la distribution des masses molaires. Au cours de cette étude la diéthylènetriamine (DETA) dont la structure est proche de celle du motif du PEI sera également employée à des fins de comparaison avec le PEI.

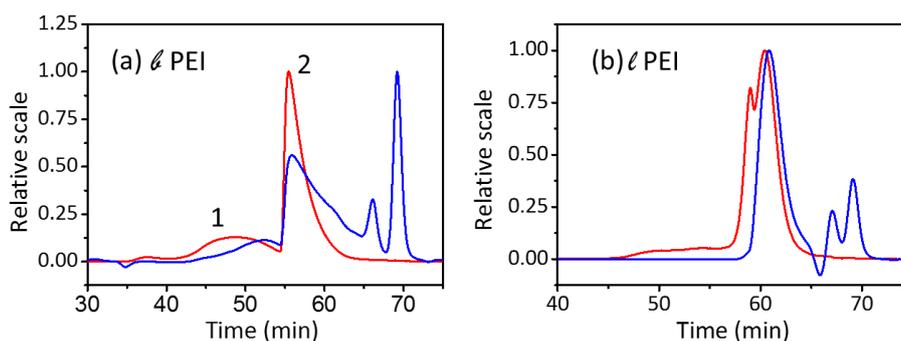


Figure 3-4 : Caractérisation du  $\ell$  PEI<sub>25K</sub> (a) et du  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> (b) par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la détection multiangle de la lumière (SEC-MALS) (Tampon 0.3 M CH<sub>3</sub>COOH/ 0.2 M CH<sub>3</sub>COONa-pH 4.5). Le chromatogramme du  $\ell$  PEI dans ces conditions présente deux pics distincts. La réponse du détecteur réfractométrie (bleu) est superposée à celle de la diffusion de la lumière à 90° (rouge).

Tableau 3-1 : Masses molaires moyennes du  $\ell$  PEI et du  $\ell$  PEI obtenues par SEC-MALS.

	$\ell$ PEI <sub>25K</sub>	$\ell$ PEI <sub>2K</sub>
Masse molaire du motif (g/mol)	43	43
dn/dc (mL/g)	0.3044	0.3083
$M_n$ (g/mol)	9000	1600
$M_w$ (g/mol)	14500	2000
$\bar{D}$	1.665	1.24

Les taux d'ionisation du  $\ell$  PEI et  $\ell$  PEI ont été déterminés par deux méthodes, une méthode spectroscopique basée sur l'utilisation d'un pigment qui se complexe avec les amines protonées et par une méthode plus classique basée sur un dosage potentiométrique.

Dans le cas de la méthode spectroscopique, une approche similaire à celle réalisée avec le DxS/BT est entreprise. L'orange II (acide orange 7) a été sélectionné comme pigment complexant avec les charges cationiques portées par le PEI. Ce pigment se complexe de façon stœchiométrique avec les amines protonées.[101] Cette méthode a permis de déterminer que le taux de protonation du  $\ell$  PEI est de 0.80 en tampon acétate 100 mM à pH 4.8 (Figure 3-5 a). Considérant que la distance entre les groupements amine est de 0.29 nm [158], la densité de charge du  $\ell$  PEI est de 2.76 charges/nm ce qui correspond à un paramètre de Manning de 2.0.

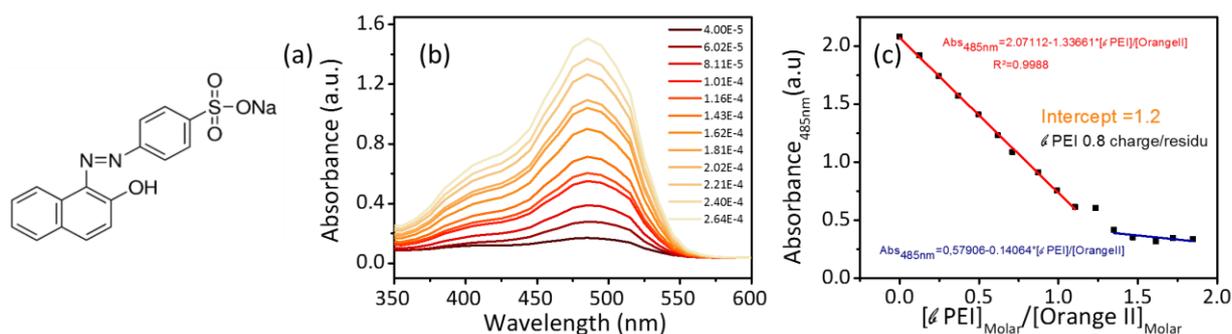


Figure 3-5 : (a) Structure chimique de l'orange II. (b) Exemples de spectres d'absorbance de l'orange II libre dans les solutions de  $\epsilon$  PEI/orange II après centrifugation. Les concentrations utilisées en  $\epsilon$  PEI sont indiqués à droite (c) Absorbance à 485 nm des surnageants obtenus à partir des solutions  $\epsilon$  PEI/orange II après centrifugation en fonction du rapport de charge molaire initial. L'analyse est réalisée en tampon acétate 0.1 M à pH 4.8. L'approche utilisée est en tout point similaire à celle utilisée précédemment pour doser les fonctions sulfates du DxS avec le bleu de toluidine (Figure 3-2).

Les titrages potentiométriques du  $\epsilon$  PEI et du  $\ell$  PEI ont été effectués en solution aqueuse sans sel ajouté (Figure 3-6 a et b) afin de déterminer la constante de dissociation apparente ( $\text{pK}_{a, \text{app}}$ ) et le taux d'ionisation du PEI. Les valeurs de concentration en  $\text{H}_3\text{O}^+$  sont représentées en fonction du volume d'acide ajouté (HCl 0.1 M).

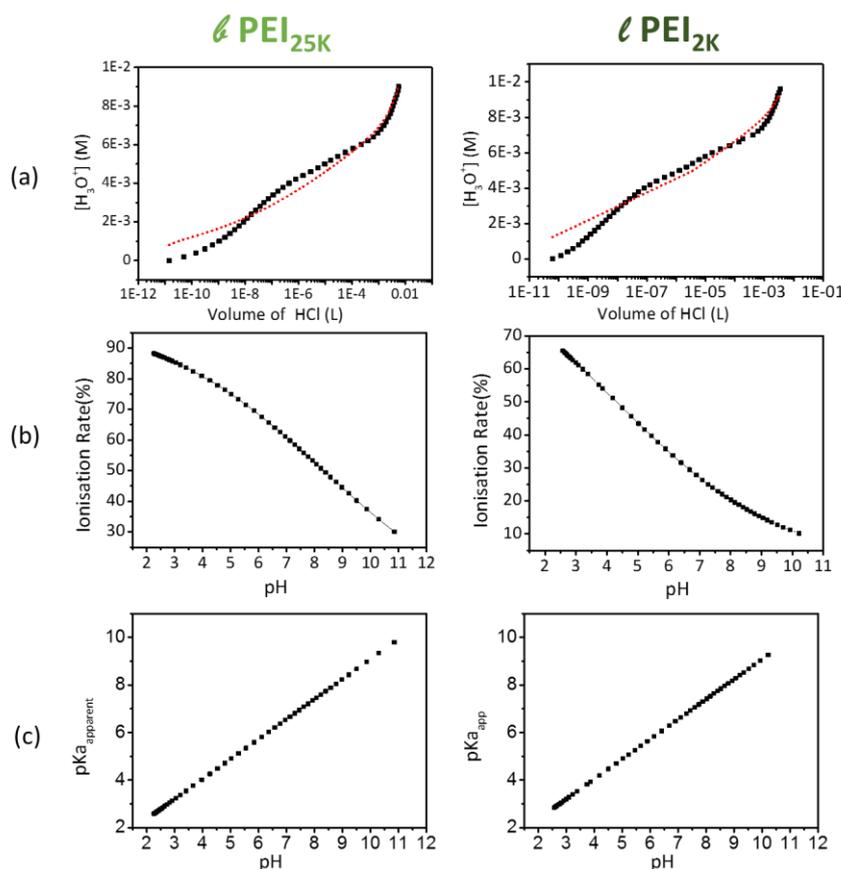


Figure 3-6 : Dosages potentiométriques du  $\epsilon$  PEI 25K et du  $\ell$  PEI 2K. (a) Concentration en ions hydronium ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) en fonction du volume de HCl 0.1 M (L) ajouté, (b) Taux d'ionisation en fonction du pH (c)  $\text{pK}_{a, \text{app}}$  en fonction du pH. Les courbes de dosage ont été ici modélisées (ligne brisée rouge) à partir de la méthode proposée par Suh *et al.*[183](moyennes obtenues sur quatre dosages pour chaque polymère).

Le comportement acido-basique du PEI ne peut pas être étudié simplement à partir de l'équation de Henderson-Hasselbalch traditionnellement utilisée pour le dosage des polyacides ou des polyamines en raison de la présence de différents types de fonctions amines et des interactions existant entre elles.[7]

Les données sont modélisées à l'aide de la méthode proposée par Suh *et al.*[183] qui a été reprise entre autre par Utsuno *et al.*[136] dans le cadre d'une étude particulièrement détaillée sur la complexation de l'ADN avec un  $\ell$ PEI de 600K (Figure 3-6 b). Le modèle de Suh introduit un quotient de déprotonation Q défini comme le rapport des fractions des groupements amine protonés et non protonés (Equation 3-1).

$$Q = \frac{f_{\text{groupements amine non protonés}}}{f_{\text{groupements amine protonés}}} = \frac{f_B}{f_{BH^+}} = \frac{(1 - f_{BH^+})}{f_{BH^+}} \quad \text{Equation 3-1}$$

Il est admis par la suite que log Q présente une dépendance linéaire avec le pH.

$$\log Q = \alpha \text{pH} + \beta \quad \text{Equation 3-2}$$

où  $\alpha$  et  $\beta$  sont définis comme des constantes

Le  $pK_a$  peut alors être défini comme suit:

$$pK_a = (1 - \alpha) * \text{pH} - \beta \quad \text{Equation 3-3}$$

On représente sur la Figure 3-6 a les données expérimentales des dosages du  $\ell$ PEI et du  $\ell$ PEI, analysées par la modèle de Suh *et al.* Les variations du taux ionisation et du  $pK_{a,app}$  sont représentées en Figure 3-6 b et c. Les détails de la méthode sont décrits en Annexe (paragraphe 11.1.4). Il existe un écart non négligeable entre les données expérimentales et modélisées. Un tel écart a également été obtenu par les auteurs de la méthode originale. Cependant, en considérant les nombreuses divergences dans la littérature sur le dosage des PEI et la détermination de leur taux d'ionisation, la méthode de Suh paraît assez satisfaisante.

Les résultats obtenus montrent que  $\sim 80\%$  des fonctions amine du  $\ell$ PEI sont protonées à pH 4.8 alors que seulement  $\sim 53\%$  le sont à pH 8. La valeur de 80% confirme le résultat obtenu par méthode spectroscopique avec l'orange II. Par ailleurs, on note un très grand défaut de protonation pour le  $\ell$ PEI (62% à pH 3) ce qui a déjà été mis en évidence dans la littérature.[158] Malgré l'importance présumée de 'l'effet éponge' du  $\ell$ PEI, l'état d'ionisation de ce polymère reste relativement méconnu. Par exemple, pour un PEI linéaire de 50 000 g/mol, Suh *et al.* [183] déterminent 10-20% d'ionisation à pH de 7.4, alors que l'équipe de Nagaya [184] propose des valeurs de 30%. En se basant sur des expériences de titrages associées à des simulations, Kober *et al.* [19] ont déterminé qu'indépendamment de la structure du PEI (linéaires, étoiles, greffé), environ 50% des amines sont protonées à pH physiologique. Ici, nous nous baserons sur les valeurs d'ionisation déterminées sur la Figure 3-6 b. Concernant le  $pK_a$  apparent du PEI, la Figure 3-6 c montre que le  $pK_{a,app}$  diminue de façon régulière lorsque le pH diminue. En d'autres termes cela signifie qu'il est d'autant plus difficile de protoner les chaînes de PEI que le pH est faible. En particulier, on remarque que l'on ne peut atteindre un taux de protonation de 100% même pour des pH inférieurs à 2. Ceci démontre que la protonation du PEI est un processus anti-coopératif en raison des fortes répulsions électrostatiques qui gênent la protonation des amines lorsque les sites voisins sont eux-mêmes protonés.[164] Dans le cas de la diéthylènetriamine (DETA) qui correspond au motif de répétition du PEI

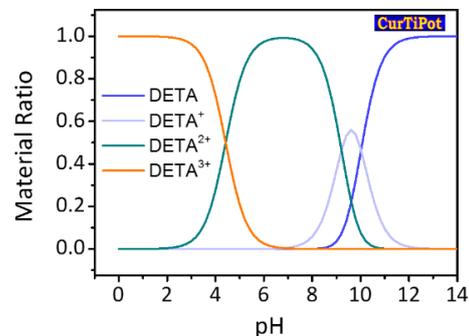


Figure 3-7 : Taux d'ionisation du DETA en fonction du pH obtenus par simulation avec le logiciel Curtipot.

(Figure 3-8), un logiciel de simulation de titrage acido-basique (Curtipot)\* a été utilisé pour déterminer le taux de protonation de la molécule en fonction du pH. Celui-ci est de 76% à pH 4.8 (Figure 3-7).

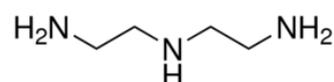


Figure 3-8 : Structure du DETA.

### 3.2.2 Conditions expérimentales de la complexation

L'étude thermodynamique par ITC de la complexation du DxS/PEI est au cœur de ce chapitre. Comme l'ITC est une méthode calorimétrique basée sur l'ajout lent du titrant dans la solution à titrer, nous étudierons les deux sens d'ajout, à savoir DxS dans PEI et PEI dans DxS, afin de couvrir une large gamme de rapports de charge Z déterminés à partir des taux de charge des polymères :

$$Z = \frac{[\text{titrant}]_{\text{seringue}}}{[\text{titré}]_{\text{cellule}}} \text{ où les concentrations sont en moles de motifs chargés.}$$

Dans les conditions de mélange utilisées, le rapport de charges Z [+]/[-] varie de 0.175 à 2.18 pour le sens d'ajout PEI dans DxS et le rapport Z [-]/[+] varie de 0.162 à 2.03 pour le sens d'ajout DxS dans PEI. La Figure 3-9 représente la variation des rapports de charges étudiés sur une échelle commune mettant ainsi en évidence que deux domaines différents de composition sont explorés suivant chaque sens d'ajout. Outre la gamme de Z qui varie selon le sens d'ajout, il faut aussi préciser que l'ajout lent propre à l'ITC exacerbe les effets de formulation des systèmes hors-équilibre. En particulier, on peut s'attendre à obtenir des caractéristiques différentes selon que les complexes sont obtenus avant ou après la stœchiométrie du système (Z=1).

Dans le but de corréliser les données thermodynamiques par ITC à la morphologie des structures obtenues nous avons conçu un dispositif de mélange qui reproduit les conditions de l'ITC tout en garantissant l'obtention d'un volume suffisant pour effectuer l'ensemble des caractérisations physico-chimiques (Figure 3-10 a).

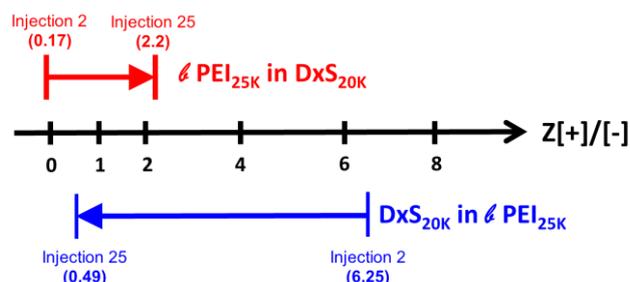


Figure 3-9 : Correspondance des injections effectuées en ITC avec les rapports de charges lors des expériences de complexation DxS/PEI. Ici une échelle unique de Z[+]/[-] est représentée pour les deux sens d'ajout. L'ensemble des valeurs de Z étudiées en ITC sont indiquées dans le Tableau Annexe 2.

Les caractéristiques de l'ITC utilisée (Nano ITC-TA Instruments) sont les suivantes :

- Volume de la cellule : 950  $\mu\text{L}$
- Volume de la seringue d'injection : 250  $\mu\text{L}$
- Volume d'injection: 8  $\mu\text{L}$
- Nombre d'injections: 25
- Délai entre les injections: 900 secondes
- Débit d'injection : 48  $\mu\text{L}/\text{min}$
- Vitesse d'agitation : 250 tours par minute

Notons aussi que la seringue d'injection d'ITC présente la particularité d'être munie d'une pâle d'agitation à son extrémité (a). Une reproduction à plus grande échelle du mélangeur a été créée en collaboration avec l'atelier mécanique du Centre de Recherche Paul Pascal. Pour ce faire, une réplique à l'échelle x 4 de la pâle a été conçue et montée sur un moteur d'agitation ; un tube conique de la forme de la cellule d'ITC et un pousse-seringue complètent le dispositif permettant ainsi une adaptation quasi à l'identique du mélangeur initial présent sur l'instrument d'ITC (Figure 3-10 a).

\* <http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot-.html>

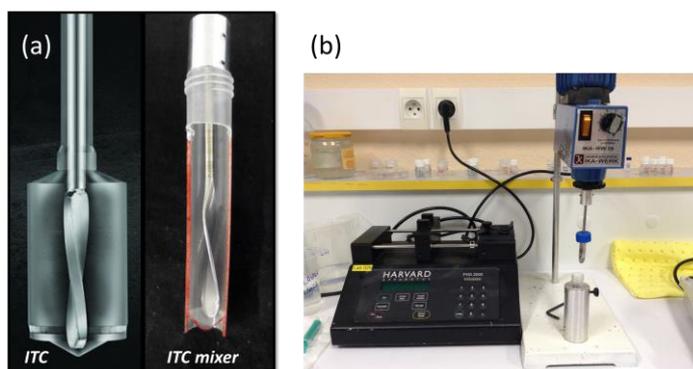


Figure 3-10 : (a) Aiguille d'injection munie d'une pôle d'agitation présente sur l'ITC (Nano ITC-TA Instruments) et réplique de la pôle mise au point pour reproduire les conditions de l'ITC à plus grande échelle. Le volume de la cellule ITC est de 950  $\mu\text{L}$  et celui de la réplique de 4 mL (b) Montage complet avec le pousse-seringue utilisé pour ajouter le titrant, le moteur d'agitation, la pôle et le flacon contenant la solution à titrer (bleu) et son support en aluminium.

L'essentiel de cette étude est consacrée à la complexation du polyéthylène imine branché de 25 000 g/mol avec le sulfate de dextrane de 20 000 g/mol sous sa forme sodique. Le PEI linéaire de 2000 g/mol et le DETA seront également utilisés à des fins de comparaison. Dans toute l'étude le rapport des concentrations molaires titrant/titré est fixé à 10:1. Ainsi, la plupart des expérimentations ont été effectuées en utilisant une concentration 10 mM en charges pour le polymère titrant (seringue) et de 1 mM en charges pour le polymère titré (cellule). Ces concentrations sont inférieures aux concentrations critiques de recouvrement du  $\beta$  PEI et du DxS (voir analyse DNPA paragraphe 5.5.1) ce qui signifie que l'on se situe dans le régime dilué. Quelques expériences seront toutefois menées à des concentrations plus importantes, 100 mM (titrant) et 10 mM (titré). La notation 10/1 ou 100/10 sera utilisée pour décrire le rapport de concentrations molaires titrant/titré. Toutes les expériences ont été menées en tampon acétate 100 mM à pH 4.8, ce qui correspond à une force ionique de 50 mM. Pour certaines expériences comme l'AFM le tampon acétate est remplacé par une solution de HCl ajustée à pH 4.8.

La morphologie des complexes obtenus en milieu dilué a été étudiée par diffusion statique et dynamique de la lumière. Des mesures de mobilité électrophorétique (potentiel zêta) et de conductivité ont également été mises en œuvre pour caractériser l'état de charge des complexes. L'utilisation de la spectroscopie visible comme décrit précédemment avec l'utilisation du BT et de l'orange II a été utilisée pour quantifier les stœchiométries de complexation.

### 3.2.3 Suivi calorimétrique de la complexation

Les données calorimétriques correspondant aux titrages DxS/ $\beta$  PEI sont représentées sur la Figure 3-11 a. On représente les variations du flux de chaleur échangé en fonction de l'avancement pour les deux sens d'ajout. Les thermogrammes correspondant aux dilutions des solutions de polymères par le tampon sont également représentés pour les deux sens d'ajout ; ces données permettent non seulement de corriger les données de titrage mais aussi de déterminer les énergies d'hydratation des polymères.

Les thermogrammes mettent en évidence un processus de complexation en deux étapes. Dans le cas de l'ajout du  $\beta$  PEI<sub>25K</sub> dans DxS<sub>20K</sub>, la chaleur de mélange diminue de façon régulière mais le signal reste toujours exothermique jusqu'à l'équivalence, où l'on observe des pics fortement endothermiques. Dans le cas de l'ajout de DxS<sub>20K</sub> dans le  $\beta$  PEI<sub>25K</sub>, la complexation est exothermique avec un signal d'amplitude constante jusqu'à  $Z[-]/[+]=0.6$ , suivi d'un pic également exothermique mais d'amplitude beaucoup plus importante.

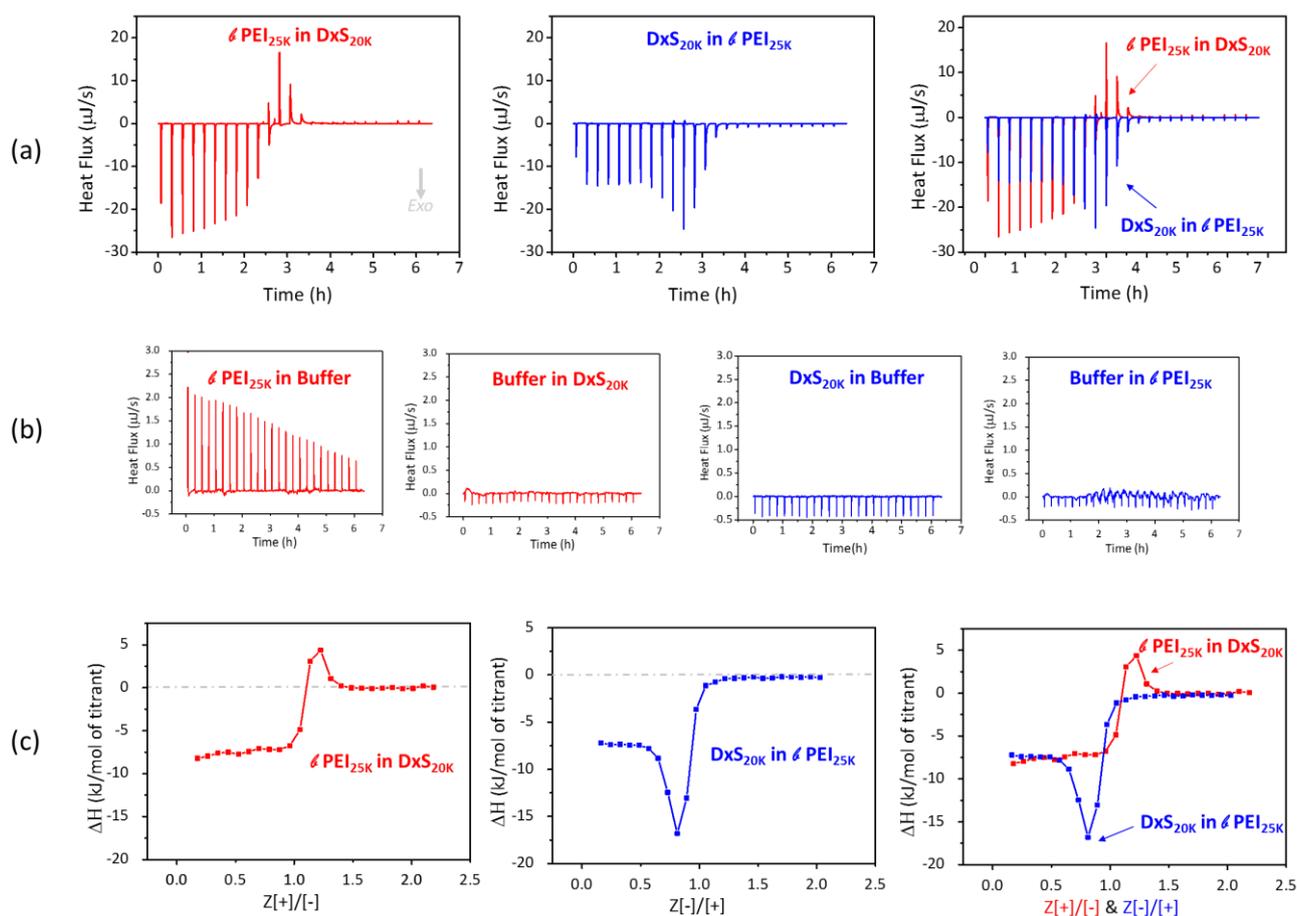


Figure 3-11 : Complexation du système PEI<sub>25K</sub> / DxS<sub>20K</sub> en tampon acétate 100 mM pH 4.8. (a) Thermogrammes représentant les flux de chaleur échangés en fonction de l'avancement du titrage exprimé ici en heures pour les deux sens d'ajout. (b) Thermogrammes des titrages des polymères par le tampon (et réciproquement) pour les deux sens d'ajout; ces données seront soustraites des thermogrammes pour éliminer la contribution due aux chaleurs de dilution (a). (c) Enthalpies différentielles (kJ par mole de charge de polymère titrant) en fonction du rapport molaire de charges Z. Les concentrations en polymère sont respectivement de 1 mM et 10 mM en charges dans la cellule et la seringue.

En raison de ce processus de complexation en deux étapes, les paramètres thermodynamiques de ces titrages ne peuvent pas être obtenus par un modèle simple d'interaction à un site classiquement utilisé pour les couples ligands-macromolécules. Afin de déterminer le modèle le plus approprié, il est nécessaire d'avoir une connaissance plus approfondie de la morphologie du système au cours du titrage. Pour cela nous avons effectué une étude physico-chimique complète du système dans les conditions de l'ITC en fonction du sens d'ajout.

### 3.2.4 Suivi morphologique du système au cours de la complexation

Les conditions de titrage en ITC sont reproduites à l'aide du mélangeur décrit précédemment afin d'avoir des volumes de solution suffisants pour effectuer toutes les analyses physico-chimiques sur un même échantillon.

#### 3.2.4.1 Diffusion statique et dynamique de la lumière

La complexation est suivie par diffusion statique et dynamique de la lumière en fonction du sens d'ajout. On déterminera comme pour le chapitre précédent :

- Le rapport de Rayleigh  $R_{\theta}$  (cm<sup>-1</sup>) qui caractérise l'intensité totale diffusée du système
- Le rayon de giration  $R_g$  (nm) des objets diffusants (moyenne en z)

- Le rayon hydrodynamique  $R_H$  (nm) des objets diffusants déterminé ici par la méthode de Contin (moyenne en z)
- L'indice de polydispersité du système (PDI) obtenu par la méthode des cumulants\*
- La distribution des tailles des objets diffusants obtenue par la méthode de Contin

On travaillera ici à deux concentrations en polymère (environ 10/1 et 100/10) afin d'étudier le comportement du système en milieu dilué et relativement concentré (10/1 mM et 100/10 mM).

*Concentration titrant/titré : 10/1 mM*

Dans le sens d'ajout  $\neq$  PEI dans DxS, pour des rapports de charge croissants et  $Z < 1$ , le rapport de Rayleigh ( $R_\theta$ ) augmente mais le rayon hydrodynamique ( $R_H$ ) reste constant (Figure 3-12 b et c). Cela signifie que l'on forme des objets a priori de même nature en quantité croissante au fur et à mesure que le PEI est ajouté. Les structures formées sont stables dans le temps comme l'atteste l'absence d'évolution de  $R_H$  et de  $R_\theta$  sur 9 jours ; ceci suggère que les complexes ont possiblement atteint leur état d'équilibre ou qu'ils sont dans des états métastables persistants. Par ailleurs, aucune structure de dimension micronique ne peut être décelée par microscopie optique pour des rapports  $Z$  inférieurs à 1. L'équivalence en charge du système ici obtenue pour  $Z \sim 1.1$  est marquée par une forte augmentation de l'intensité du signal diffusé et du rayon hydrodynamique, ce qui est caractéristique d'un phénomène de floculation ou ici de coacervation comme on le verra plus tard. Au-delà de  $Z=1$ , le système est caractérisé par la présence d'objets de taille plus importante qui évoluent fortement dans le temps, le  $R_H$  diminue de 300 nm à 150 nm à l'échelle de 9 jours. En parallèle, l'analyse par microscopie optique montre systématiquement à  $Z > 1$  l'existence de nombreuses gouttelettes de coacervat de dimension comprise entre 1 et 5 microns qui coexistent avec les complexes observés en diffusion de la lumière (Figure 3-12 b).

Dans le sens d'ajout DxS dans  $\neq$  PEI, pour  $Z < 0.65$ , la taille des complexes est stable autour de  $R_H=50$  nm mais l'intensité diffusée décroît fortement au cours du temps. A partir de  $Z=0.65$ , la taille des complexes augmente sensiblement. Ceci coïncide avec l'apparition prématurée de gouttelettes de coacervat détectées ici par microscopie optique (Figure 3-12 e). Ainsi, une partie des complexes colloïdaux semble se réorganiser sous forme d'objets microniques non détectables en DLS. Au-delà de  $Z=0.65$ , cette tendance s'accroît puisque les complexes formés grossissent rapidement au cours du temps et on détecte de plus en plus de gouttelettes de coacervat en microscopie optique. Cela démontre clairement une transition d'un état colloïdal (complexes dispersés) vers un état macroscopique (gouttelettes de coacervat). Lorsque le système a dépassé l'équivalence qui est ici obtenue vers  $Z=0.9$  on observe comme précédemment la présence de particules de taille comprise entre 200 et 300 nm qui évoluent lentement dans le temps comme on peut le voir à travers la diminution progressive de  $R_\theta$  et de  $R_H$ . Par ailleurs on observe toujours la présence de gouttelettes en microscopie.

---

\*  $PDI = \frac{\mu_2}{\langle r \rangle^2}$  avec où  $\mu_2$  est le deuxième cumulant et  $\Gamma$  la fréquence de relaxation

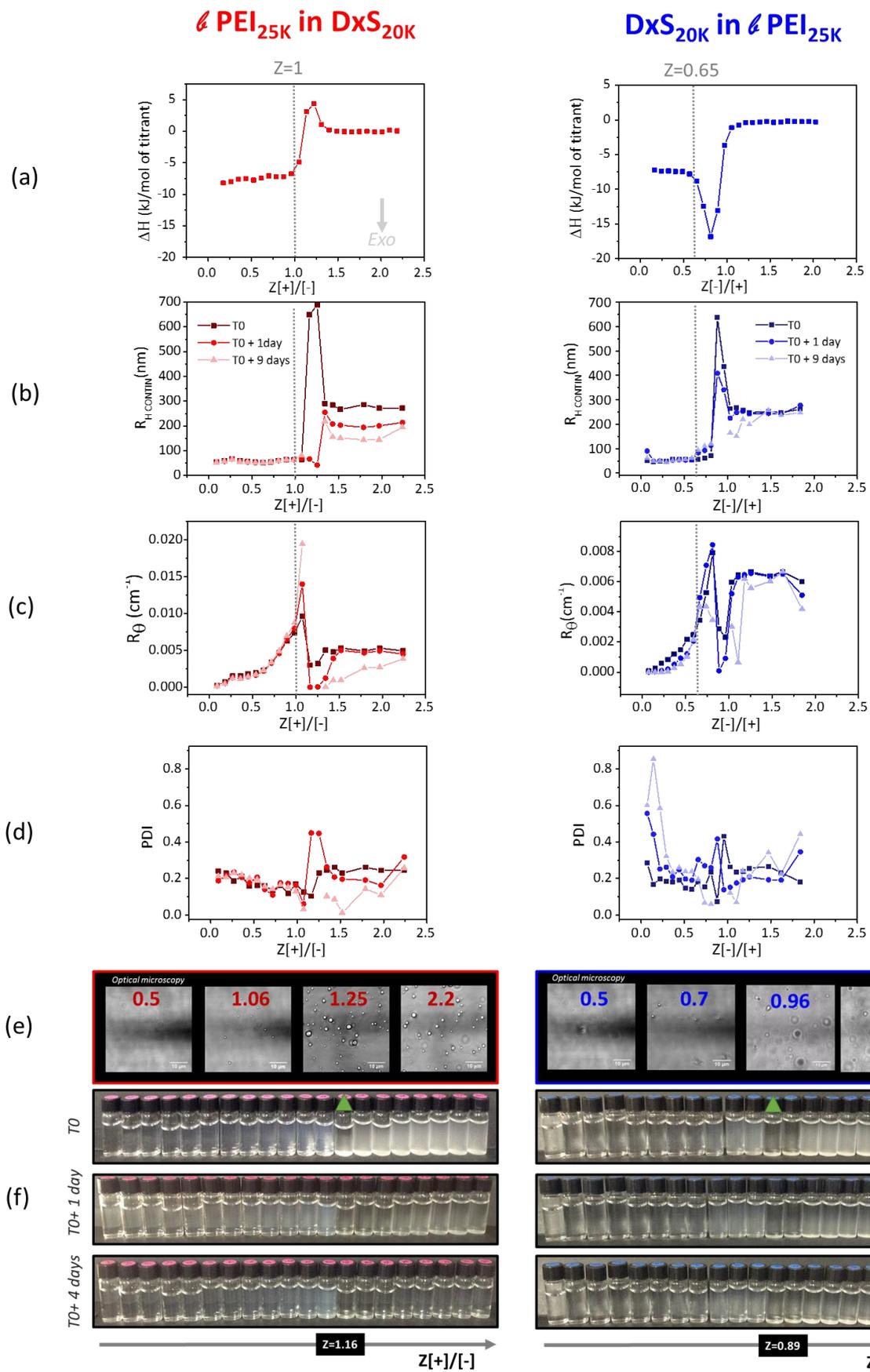


Figure 3-12 : (a) Enthalpies différentielles obtenues en ITC, (b) Rayons hydrodynamiques mesurés par DLS à 90° (méthode de CONTIN), (c) Rapports de Rayleigh mesurés à 90°. (d) Indices de polydispersité obtenus par la méthode des cumulants. Les analyses sont effectuées à T0, T0 + 1 jour et T0 + 9 jours. (e) Analyse en microscopie optique des suspensions de complexes préparées à différents rapports de charge Z ((objectif x 63, barre d'échelle=10  $\mu$ m). (f) Aspect des suspensions de complexes en fonction du temps. Les flèches vertes pointent le rapport de charge correspondant au maximum de coacervation. Des agrandissements des analyses(e) et (f) sont consultables en Annexe du chapitre 3(Figure Annexe 9).

L'observation des suspensions de complexes indique que l'équivalence est obtenue pour des valeurs de rapport de charge sensiblement différentes de  $Z=1.0$ . Cet écart peut provenir des incertitudes sur la détermination des taux d'ionisation des PEI ou de la teneur en eau dans les polymères mais aussi de la stœchiométrie de la complexation (voir paragraphe Détermination de la composition des complexes). Il est intéressant de remarquer que le maximum de coacervation c'est-à-dire là où les gouttelettes sédimentent rapidement pour former une phase dense est obtenu à  $[+]/[-]=1.16$  dans le sens  $\nabla$  PEI dans DxS et à  $[-]/[+]=0.89$  pour le sens DxS dans  $\nabla$  PEI (Figure 3-12 f) ce qui correspond donc globalement à la même composition du système. Ainsi, même si les caractéristiques de la complexation au niveau de la thermodynamique et de la morphologie dépendent du sens d'ajout, la coacervation totale du système demeure insensible au chemin de formulation. Les valeurs de  $\Delta H$  cumulées conforte cette théorie car dans les deux sens d'ajout jusqu'à l'équivalence présumée par la microscopie, les valeurs d'enthalpie sont quasi identiques ( $-82.7$  kJ/mol pour le sens DxS dans  $\nabla$  PEI et de  $-79.5$  kJ/mol dans le sens  $\nabla$  PEI dans DxS).

Quatre rapports de charge ont été étudiés directement après leur préparation en diffusion statique et dynamique de la lumière multiangle afin de caractériser plus précisément la morphologie des agrégats (symboles gris, Figure 3-13). Deux rapports de charge avant l'équivalence et deux après ont été sélectionnés pour chaque sens d'ajout. Les données de diffusion dynamiques ont été traitées à partir de la représentation de la variation angulaire de la fréquence de relaxation des objets diffusants ( $\Gamma$ ) en fonction de  $q^2$ . Les variations de  $\Gamma$  en fonction de  $q^2$  sont parfaitement linéaires et passent par l'origine ce qui suggère que toutes les structures formées sont isotropes (sphériques), homogènes à l'échelle de la longueur d'onde utilisée, diffusives (diffusion translationnelle) et peu polydisperses en taille (Figure 3-13 c). Ceci est également confirmé par l'invariance des mesures de  $R_H$  en fonction de  $q^2$  (Figure 3-13 d). Par ailleurs, une unique population d'objets diffusant a été observée pour chaque rapport de charge ce qui est en accord avec les indices de polydispersité inférieurs à 0.3 obtenus par la méthode des cumulants. Comme observé sur la Figure 3-13 a, les tailles des PECs sont beaucoup plus faibles avant l'équivalence ( $Z < 1$ ) qu'après l'équivalence ( $Z > 1$ ). Cela est lié à la méthode d'ajout (lente) qui, dans le cas des complexes formés à  $Z > 1$ , force le système à passer par la neutralité où la quantité de coacervat formé est maximale. Dès lors le système ne peut pas se réorganiser rapidement en présence d'un excès de polymère ajouté. Ainsi, avant l'équivalence et quel que soit le sens d'ajout, les complexes ont une taille hydrodynamique comprise entre 50 et 85 nm, alors qu'après l'équivalence, la taille des complexes est comprise entre 220 et 260 nm. On peut noter cependant que les dimensions des complexes formés après l'équivalence diminuent lentement au cours du temps (Figure 3-13 b), signe que le système est capable de se réorganiser vers un état de pseudo équilibre.

Concernant la diffusion statique multiangle, les variations d'intensité lumineuse ont été traitées avec le formalisme de Guinier qui est valable en toute rigueur lorsque  $qR_g \ll 1$ .\*

$$\ln(I(q)) = \ln(I_0) - \frac{q^2 R_g^2}{3} \quad \text{Equation 3-4}$$

Deux tendances caractéristiques sont mises en évidence sur la Figure 3-13 b. Pour des rapports de charge précédant l'équivalence on observe des variations quasiment linéaires de  $\ln(I)$  en fonction de  $q^2$ , caractéristiques de la présence de petits objets diffusants et qui se modélisent bien par l'équation de Guinier. Dans le cas des complexes formés au-delà de l'équivalence, les tracés  $\ln(I)$  vs  $q^2$  présentent toujours une forte courbure aux petits angles caractéristique d'objets de taille supérieure à la centaine de nanomètres. On note cependant l'absence de cassure aux petits angles qui serait révélatrice de la coexistence d'une population d'objets de taille inférieure à 100 nm et d'une population d'agrégats par exemple (Figure 3-13 b). La présence de cette courbure ne permet pas de linéariser de façon satisfaisante les données d'intensité diffusée aux petits angles. Aussi comme cela a été suggéré par Effler *et al.* [185], ce problème peut être résolu en appliquant une fonction polynomiale d'ordre 2 (Equation 3-4) tel que cela a été décrit dans le chapitre 2.

\* En pratique, on admet généralement que l'hypothèse de Guinier demeure acceptable jusqu'à  $qR_g = 2.5$

$$\ln(I(q)) = a_1 + a_2q^2 + a_3q^4 \text{ avec } R_g = \sqrt{-3a_2}$$

Equation 3-5

Globalement les valeurs de rayon de giration suivent la même tendance que les rayons hydrodynamiques à savoir qu'ils varient entre 50 et 85 nm pour les PECs formés avant l'équivalence et entre 285 et 350 nm après celle-ci (Figure 3-13 tableau). Par ailleurs, l'analyse multiangle souligne que dans le sens d'ajout PEI dans DxS la taille des complexes est constante avant d'atteindre l'équivalence, alors que dans le sens d'ajout DxS dans PEI, le rayon hydrodynamique des complexes augmente de 48.5 nm (Z=0.25) à 85 nm (Z=0.75) (Figure 3-13 bas). Il en est de même pour la variation du rayon de giration. Cela traduit une réorganisation importante du système lorsque la quantité de DxS ajoutée augmente comme cela a déjà été observé précédemment (Figure 3-13 b). Au-delà de l'équivalence, il n'y a pas d'influence significative de l'ordre d'ajout sur la taille des complexes.

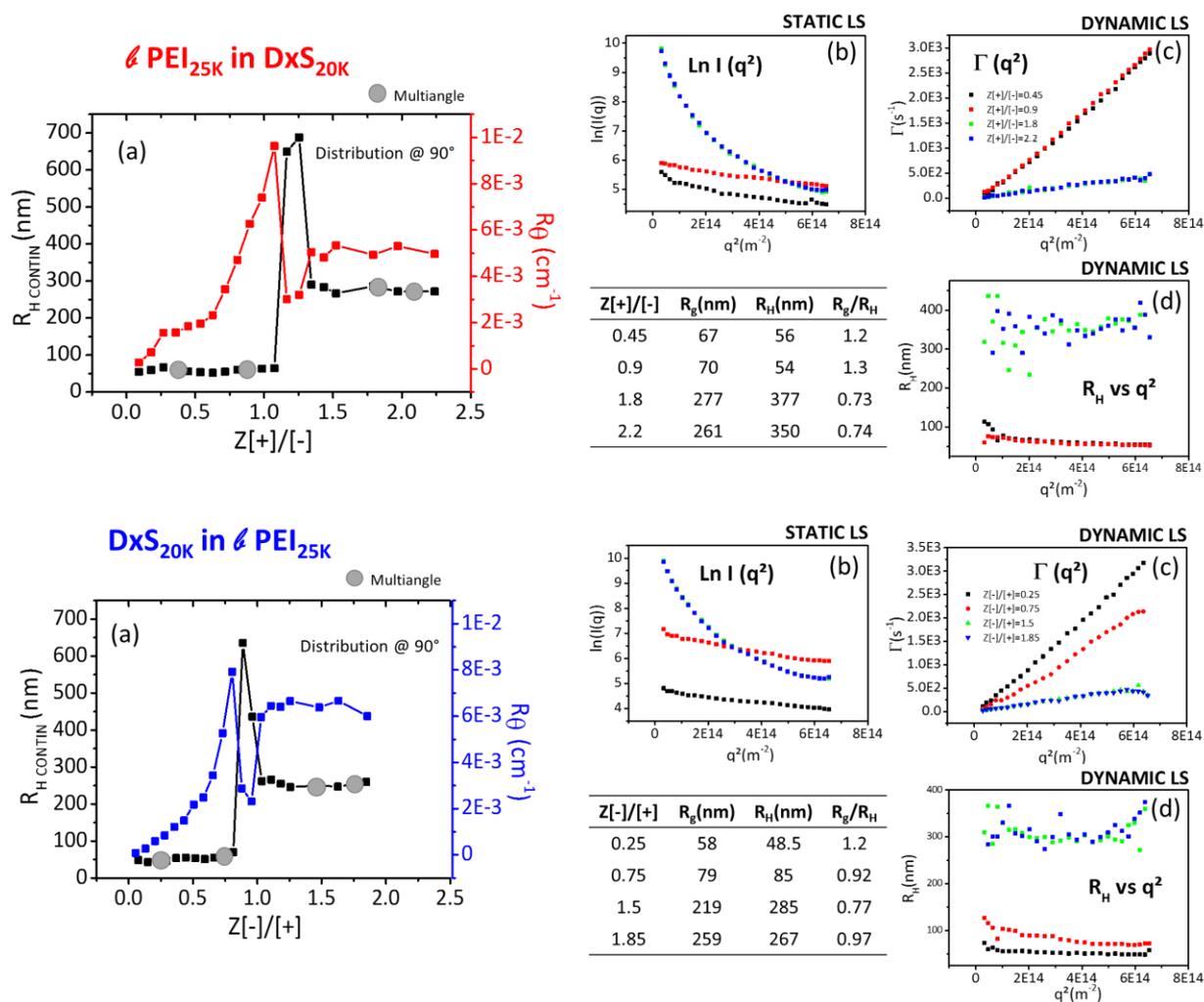


Figure 3-13 : Caractérisation par diffusion statique et dynamique multiangle de la lumière des complexes formés à T0 dans les deux sens d'ajout pour 4 rapports de charge Z choisis avec des concentrations de 10/1 mM. PEI dans DxS (haut) et DxS dans PEI (bas).

L'interprétation du rapport  $R_g/R_H^*$  est ici assez délicate car les suspensions de complexes présentent tout de même une polydispersité non négligeable même si le PDI demeure inférieur à 0.3. On observe que les valeurs sont proches de 1 ce qui traduit la formation de structures globalement sphériques. Avant l'équivalence, on remarque cependant que quel que soit le sens d'ajout le rapport  $R_g/R_H$  est supérieur à 1 ce qui peut correspondre à des complexes chevelus comme cela a été vu dans le chapitre précédent. Après l'équivalence, les complexes auraient une structure plus proche d'une

\* Le rapport  $R_g/R_H$  introduit par W. Burchard caractérise la forme de l'objet diffusant. [258,259] Les valeurs de  $R_g/R_H$  typiquement considérées sont 0.78 (sphère), 1.0 (sphère creuse ou vésicule), 1.07-1.225 (structures en étoiles avec plusieurs branches) et 2.0 (cylindre). [259]

sphère homogène avec des valeurs de  $R_g/R_H$  entre 0.73 et 0.97. Cela indique un profond changement d'organisation colloïdale des complexes au passage de l'équivalence. Il est probable que dans ces conditions les complexes primaires s'agrègent en structures relativement sphériques et de taille assez importante. Comme on le verra plus tard ces structures vont lentement grossir puis sédimenter pour former une phase dense et homogène constituant la phase coacervat.

*Concentration titrant/titré : 100/10 mM*

L'étude de la complexation DxS/PEI à des concentrations 100/10 mM met en évidence un certain nombre de singularités par rapport aux résultats obtenus à des concentrations 10/1 mM. Ainsi, dans le sens PEI dans DxS, on note la formation de complexes colloïdaux bien définis avant et également après l'équivalence (Figure 3-15 d). Ceux-ci sont caractérisés par une taille de 100 nm en rayon hydrodynamique et par un indice de polydispersité faible de l'ordre de 0.20. La variation linéaire du rapport de Rayleigh en fonction de  $Z$  de part et d'autre de l'équivalence confirme que les PECs ont une structure a priori similaire sur l'ensemble des rapports de charge  $Z[+]/[-]$  étudiés ici c'est-à-dire entre 0.09 et 2.2 (Figure 3-15 b). Les complexes formés sont stables durant au moins 9 jours comme l'attestent les valeurs de rapport de Rayleigh ainsi que la simple observation visuelle des suspensions colloïdales de PECs (Figure 3-15 e). De façon intéressante on observe la formation de gouttelettes de coacervat bien avant la neutralité, dès  $Z[+]/[-]=0.24$ . En augmentant la concentration en polymère on a ainsi un système où coexistent des PECs avec des gouttelettes de coacervat bien avant l'équivalence. Ceci peut s'expliquer en considérant un mécanisme de dismutation où les PECs se réorganisent pour diminuer la quantité de charges libres en surface (voir paragraphe 0). Cette réorganisation inter et/ou intra PECs conduit à la formation de PECs neutres qui peuvent alors fusionner entre eux pour former des gouttelettes de coacervat. Dans le sens DxS dans PEI, les effets d'instabilité observés précédemment à des concentrations de 10/1 mM sont exacerbés comme on peut le voir à partir des valeurs de rapports de Rayleigh qui décroissent très fortement après 24 heures lorsque  $Z < 1$ . On observe également une différence de taille très importante avant et après l'équivalence ainsi que la formation de coacervat sur une gamme beaucoup plus étendue de  $Z$  que pour l'autre sens d'ajout.

L'ensemble des observations indiquent que :

- i) la formation de coacervat est favorisée lorsque la concentration totale en polymère est augmentée (Figure 3-14), en accord avec la théorie de Zhang *et al.*[186] et l'étude appliquée de Liu *et al.*[187]
- ii) le système est particulièrement instable dans le sens PEI dans DxS ce qui pourrait indiquer que les complexes primaires contiennent moins de charges libres de surface que pour le sens d'ajout DxS dans PEI. C'est une hypothèse à vérifier.

- iii) Selon leur degré d'instabilité, une certaine proportion de particules de PEC peut se réorganiser selon un schéma probable de dismutation pour donner lieu à la formation de gouttelettes de coacervat coexistant avec des particules de PEC.

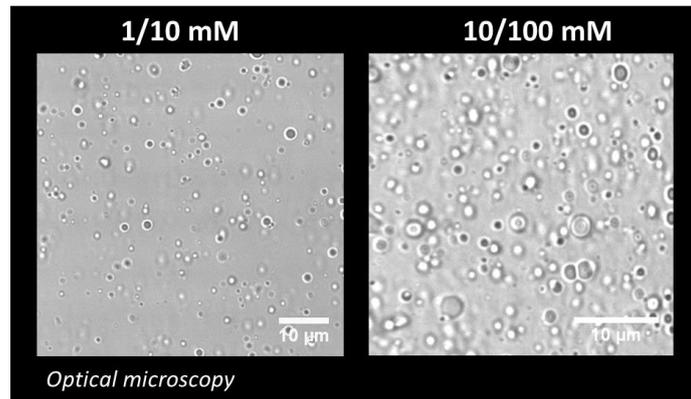


Figure 3-14 : Analyse par microscopie optique (objectif x 63) des complexes DxS/ $\phi$  PEI préparés à 10/1 mM (gauche) et 100/10 mM (droite). Ici, le sens d'ajout est  $\phi$  PEI dans DxS et Z=1.

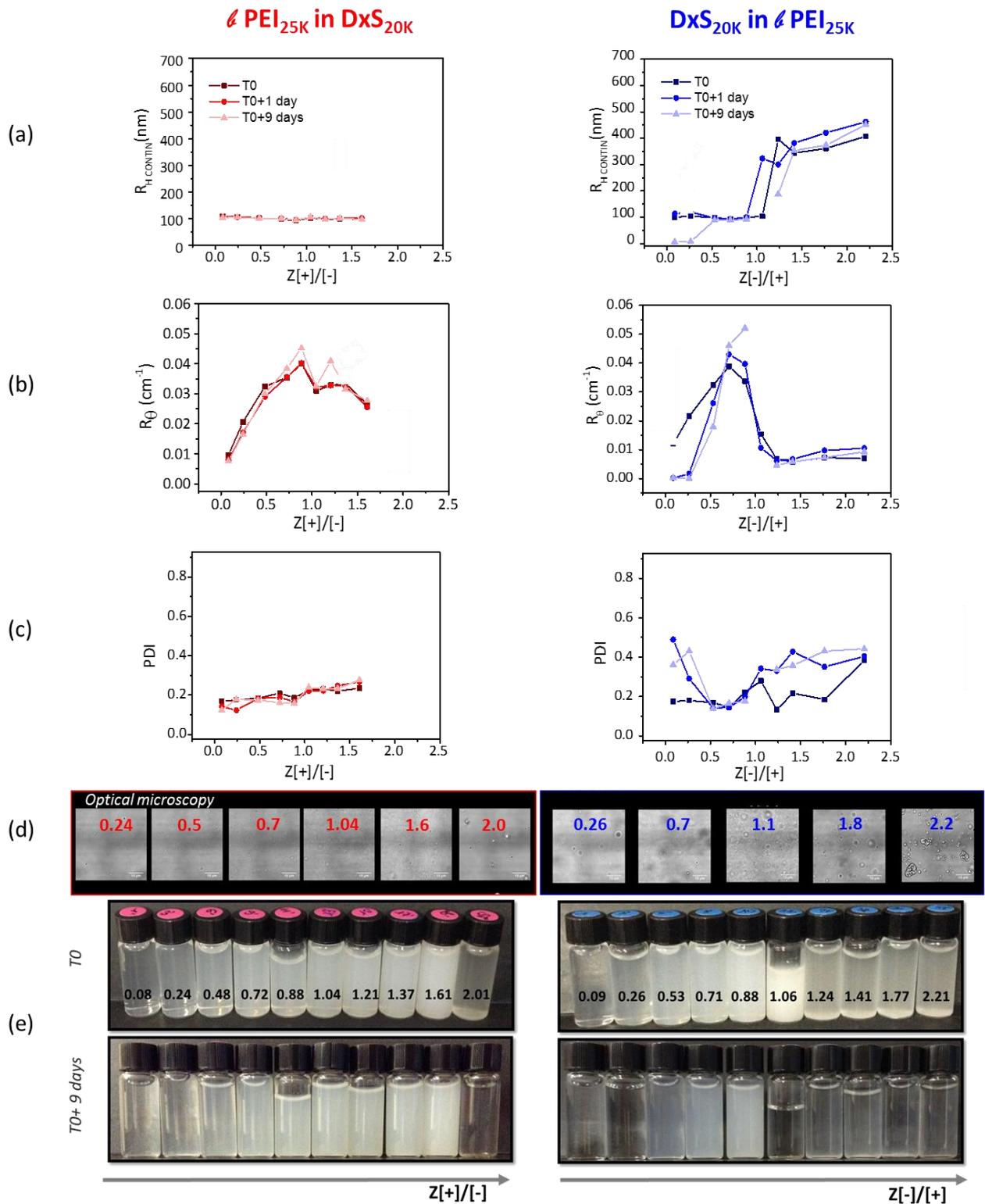


Figure 3-15 : (a) Rayons hydrodynamiques mesurés par DLS à 90° (méthode de CONTIN), (b) Rapports de Rayleigh mesurés à 90°, (c) Indice de polydispersité (méthode des cumulants) Les analyses sont effectuées à T0, T0 + 1 jour et T0 + 9 jours. (d) Analyse par microscopie optique (objectif x 63, échelle 10  $\mu$ m), (e) Aspect des suspensions de complexes. Les concentrations utilisées sont 100/10 mM.

### 3.2.4.2 Caractérisation des charges des PECs

Compte-tenu de la nature chargée des complexes PEI/DxS, des mesures de mobilité électrophorétique (potentiel zêta) et de conductivité (Figure 3-16 a et b) ont été effectuées à partir des solutions préparées dans les conditions de l'ITC. La formation des liaisons électrostatiques a également été suivie par une méthode spectroscopique basée sur le dosage des charges libres des PE c'est-à-dire non complexées. A l'issue de la complexation les suspensions de complexes ont été incubées en présence d'un excès de BT et d'orange II afin de complexer toutes les charges résiduelles du DxS et du PEI\*. Dans ces conditions de complexation totale, les PE précipitent et après centrifugation l'analyse spectroscopique des surnageants permet de déterminer la fraction de pigments libres à l'aide des droites de calibration des Figure 3-2 et Figure 3-5. Connaissant les concentrations initiales engagées en DxS et PEI, on peut ainsi déterminer la fraction de groupements chargés (sulfates et amines) qui a été complexée (Figure 3-16 c) et la représenter en fonction du rapport molaire de charge (Z).

Dans le sens d'ajout PEI dans DxS, les mesures de conductivité et de potentiel zêta mettent en évidence que l'équivalence correspondant à la neutralité du système est obtenue pour  $Z[+]/[-]$  proche de 1. Ceci suggère que les complexes formés à l'équivalence sont globalement stœchiométriques c'est-à-dire qu'ils contiennent un nombre égal de groupements sulfate et amine complexés lorsque  $Z=1$ . Si ces résultats ne permettent pas de conclure sur la stœchiométrie des complexes avant et après l'équivalence on peut tout de même considérer à partir des mesures de potentiel zêta que les particules de PECs ont un excès de DxS à leur surface avant l'équivalence et un excès de PEI après l'équivalence. Concernant les mesures de conductivité, on peut remarquer que la variation de conductivité est plus importante avant l'équivalence car on a la libération des contre-ions du titrant et du titré lors de la complexation alors qu'après l'équivalence le titrant est simplement ajouté en excès et ne peut plus se complexer. Les dosages spectroscopiques non seulement confirment que l'équivalence est obtenue à  $Z=1$  mais ils montrent aussi que le mécanisme de complexation est continu c'est-à-dire que les charges du DxS sont complexées de façon régulière par le PEI tout au long du titrage. Plus précisément, le fait que la variation de la fraction complexée de charges varie linéairement en fonction de Z avec une pente égale à l'unité indique que les complexes auraient une composition stœchiométrique égale à Z tout au long du titrage. Aucune trace de PEI libre n'est présente dans le milieu de complexation avant l'équivalence.

Dans le sens d'ajout DxS dans PEI, le même type de comportement est globalement observé à savoir que l'équivalence est proche de  $Z=1$ , les complexes sont chargés positivement avant l'équivalence et négativement après la complexation et la stœchiométrie des complexes est proche de 1. Les mesures de conductivité, de potentiel zêta et les dosages spectroscopiques n'ont donc pas permis dans les conditions utilisées de mettre en évidence des différences entre composition structurale et effective en fonction du sens d'ajout contrairement à l'étude thermodynamique (ITC) et morphologique (diffusion de la lumière).

---

\* Expériences réalisées indépendamment à partir des mêmes suspensions de complexes. On suppose que les pigments ne modifient pas les interactions électrostatiques déjà formées entre les deux PE.

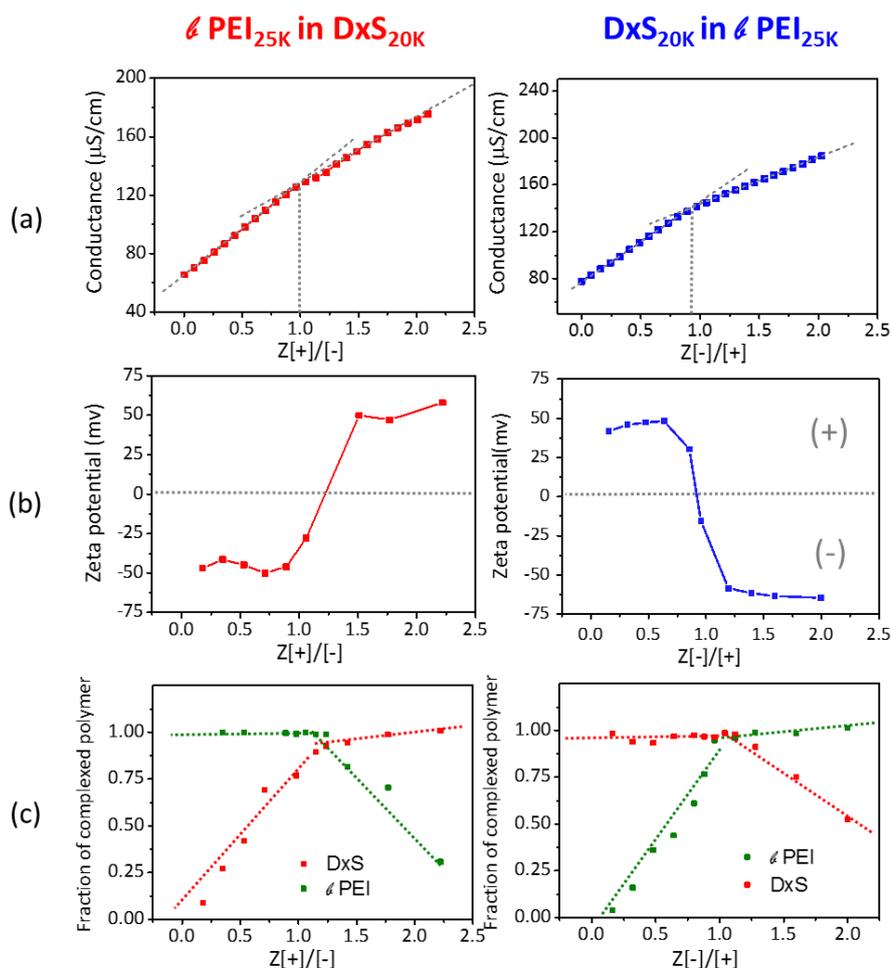


Figure 3-16 : (a) Dosages conductimétriques effectués à pH 4.8 en l’absence de tampon, (b) Mesures de potentiel zêta en tampon acétate 100 mM pH 4.8, (c) Fraction en polymère complexé déterminée par analyse spectroscopique-en fonction du rapport en charge des deux polymères. Les dosages spectroscopiques sont effectués en tampon acétate 100 mM pH 4.8. Les concentrations utilisées sont 10/1 mM.

### Détermination de la composition des complexes

Si la méthode spectroscopique décrite ci-dessus permet de déterminer le nombre de liaisons électrostatiques formées au cours du titrage elle ne permet pas d'accéder directement à la composition réelle des complexes. Pour rendre compte de cette différence, la Figure 3-17 illustre deux compositions de complexes possibles lorsque deux chaînes de DxS interagissent avec une chaîne de PEI. Dans les deux cas, le nombre de liaisons électrostatiques formées est le même, mais les complexes obtenus n'ont pas la même composition.

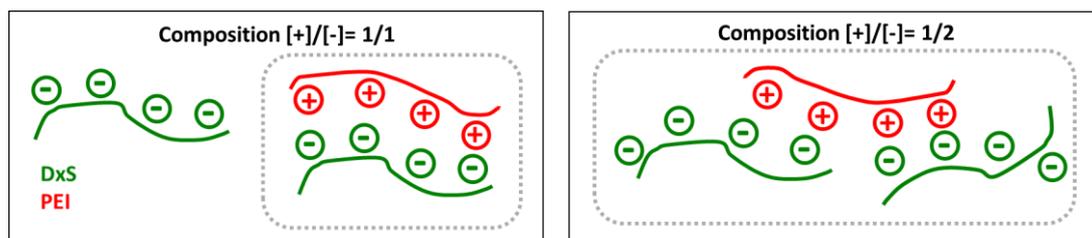


Figure 3-17 : Illustration de la formation de complexes de deux compositions différentes pour une même composition initiale en DxS et en PEI et un même nombre de liaisons électrostatiques formées. Ici, la composition (+/-) des complexes est 1/1 à gauche et 1/2 à droite. Les complexes sont représentés dans les pointillés gris.

Afin de déterminer la composition, une variante au dosage spectroscopique précédent a été réalisée à savoir que les complexes que l'on suppose être de nature colloïdale sont d'abord séparés du milieu réactionnel par centrifugation (18 000 x g, 1 heure). Puis la quantité de DxS et de  $\epsilon$  PEI non complexée est déterminée dans le surnageant par dosage spectroscopique avec le BT et l'orange II comme décrit précédemment. On peut alors déterminer deux paramètres caractéristiques de la complexation, le facteur d'avancement (F) et le facteur stœchiométrique (S) qui sont définis comme suit [101] :

$\epsilon$ PEI <sub>25K</sub> in DxS <sub>20K</sub>	DxS <sub>20K</sub> in $\epsilon$ PEI <sub>25K</sub>
$F = \frac{[SO_4^{2-}]_{complexé}}{[SO_4^{2-}]_{initial}}$	$F = \frac{[NH_2^+]_{complexé}}{[NH_2^+]_{initial}}$
$S = \frac{[SO_4^{2-}]_{complexé}}{[NH_2^+]_{complexé}}$	$S = \frac{[NH_2^+]_{complexé}}{[SO_4^{2-}]_{complexé}}$

Cette méthode a été appliquée aux deux sens d'ajout. Afin d'améliorer la précision des mesures, les réactions de complexation sont ici effectuées de façon continue et un volume suffisant de suspension est prélevé à chaque rapport Z visé suivi d'une centrifugation et du dosage spectroscopique du DxS et du  $\epsilon$  PEI.

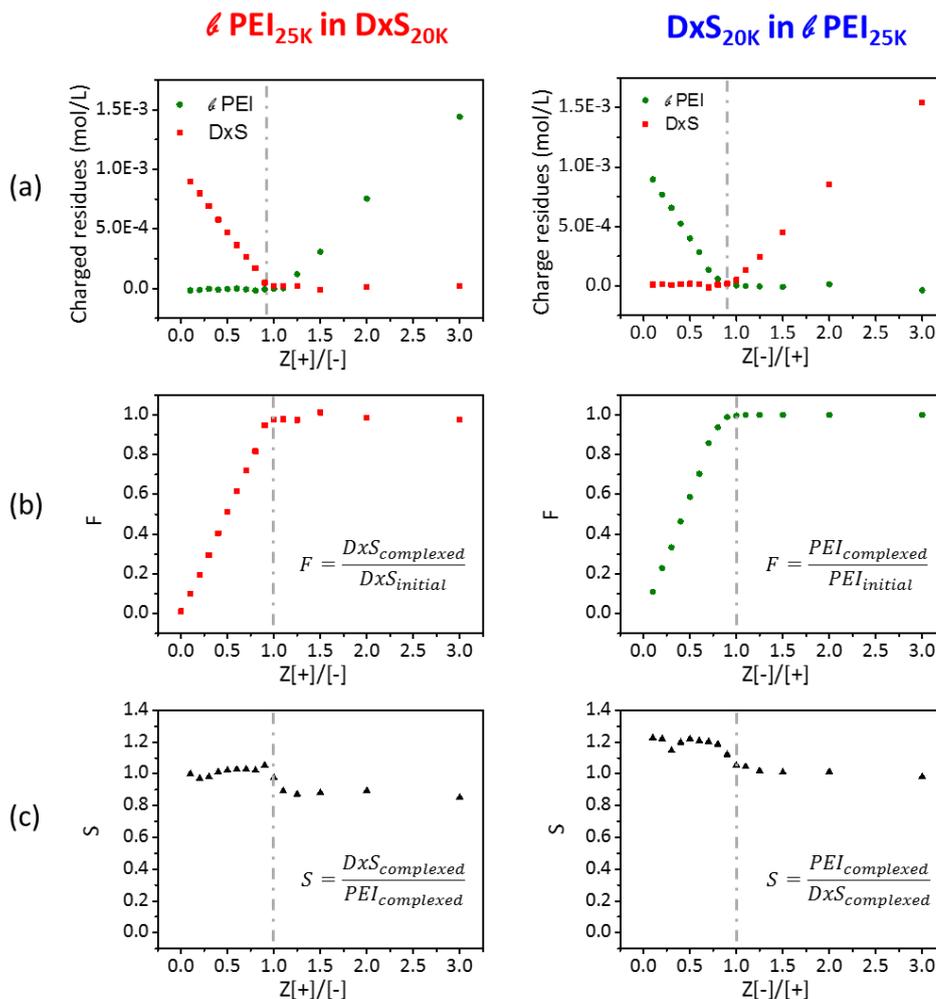


Figure 3-18 : (a) Dosage spectroscopique du DxS et du  $\epsilon$  PEI dans les surnageants des suspensions de complexe pour les deux sens d'ajout. (b) Evolution du facteur d'avancement F en fonction de Z. (c) Evolution du facteur stœchiométrique en fonction de Z. Les concentrations utilisées sont 10/1 mM.

Les résultats des Figure 3-18 a et Figure 3-18 b confirment ceux de la Figure 3-16 c à savoir que l'équivalence est proche de  $Z=1$  et que tout le titrant est complexé lorsqu'on atteint l'équivalence. Cependant on peut noter que l'équivalence est sensiblement inférieure à 1 dans le cas de l'ajout DxS dans le  $\ell$  PEI. Cet écart faible mais significatif avait déjà été observé par conductimétrie (Figure 3-16 a), par micro-électrophorèse (Figure 3-16 b) et par diffusion de la lumière (Figure 3-11) ce qui tend à montrer que la composition des complexes n'est pas parfaitement stœchiométrique dans ce sens d'ajout. La Figure 3-18 c confirme cet écart à la stœchiométrie. Précisément, la composition des complexes avant l'équivalence est quasiment stœchiométrique pour le sens DxS dans  $\ell$  PEI alors que l'on a un excès de 20% en  $\ell$  PEI dans le sens d'ajout  $\ell$  PEI dans DxS. On peut aussi observer pour les deux sens d'ajout une modification significative de la composition des complexes pour  $Z > 1$  ( $\ell$  PEI dans DxS) et  $Z > 0.8$  (DxS dans  $\ell$  PEI). Dans les deux cas les complexes s'enrichissent en PE ajouté ce qui signifie que l'on peut avoir des réactions d'échange. Ici, on suppose que l'on a au voisinage de la stœchiométrie ( $\ell$  PEI dans DxS) ou avant (DxS dans  $\ell$  PEI) un mécanisme de dismutation des complexes conduisant à la formation de gouttelettes de coacervat (Figure 3-28 ci-après).

### 3.2.5 Analyse morphologique des complexes par AFM

Les complexes DxS/ $\ell$  PEI ont été caractérisés par microscopie à force atomique en fonction de l'ordre d'ajout. Toutes les expérimentations sont réalisées en l'absence de tampon pour éviter la cristallisation des sels. Aussi les PECs ont été préparés en solution aqueuse ajustée à pH 4.8 et déposés sur mica selon le protocole défini au chapitre précédent. Tout d'abord les polymères seuls ont pu être visualisés sous forme de petites sphères (Figure 3-19) relativement bien dispersées à l'exception de quelques agrégats en particulier pour le PEI. Les complexes DxS/ $\ell$  PEI ont été analysés en fonction des deux sens d'ajout. Un rapport de charge [-]/[+] et [ + ]/[ - ] de 0.65 a été choisi car il correspond au point de transition précédemment décrit pour le sens DxS dans  $\ell$  PEI (Figure 3-12).

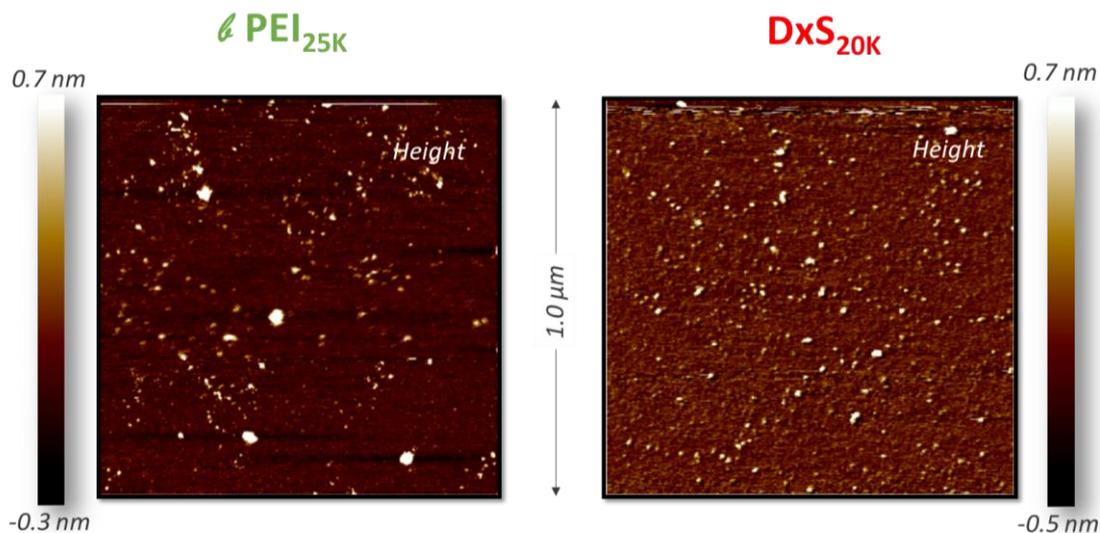


Figure 3-19 : Images topographiques par AFM des polymères  $\ell$  PEI et DxS sur mica. Les polymères sont dissous sans sel ajouté et les solutions sont ajustées à pH 4.8. La concentration des échantillons est 1 ppm.

La Figure 3-20 met en évidence des complexes de taille comprise entre 50 et 300 nm en diamètre. Les complexes obtenus par addition de DxS dans  $\ell$  PEI ont une taille plus importante que ceux obtenus dans le sens inverse d'ajout, ce qui est en accord avec les mesures de diffusion effectuées précédemment, où l'on a observé une augmentation significative de la taille des complexes à partir de  $Z=0.65$  pour le sens DxS dans  $\ell$  PEI (Figure 3-12). Concernant la morphologie, les complexes présentent à leur surface une couronne en interaction avec le cœur des complexes. Il est difficile de déterminer si la couronne est constituée du polymère en excès partiellement complexé ou si elle résulte de l'agrégation de complexes primaires comme dans le cas des PECs à base de  $\ell$  PEI et de PSS. Il apparaît aussi que les particules de complexes paraissent plus homogènes avec une couronne moins épaisse

dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI. Cela démontre que les complexes formés dans ce sens d'ajout peuvent davantage se réorganiser pour minimiser leur énergie et que le système est donc plus dynamique que pour le sens d'ajout inverse. En particulier, il est fait l'hypothèse que les complexes préparés dans ces conditions sont davantage hydratés comme leur forme ronde le suggère et qu'ils ont atteint un état permettant au système de coacerver prématurément. Des mesures de force par AFM liquide permettraient d'accéder aux tensions de surface des complexes et de déterminer ainsi plus précisément leur état physique en fonction du sens d'ajout. Par ailleurs, hors stœchiométrie, la couronne des PECs dans le sens  $\epsilon$  PEI dans DXS est négative comme le mica alors que dans le DxS dans  $\epsilon$  PEI cationique, les complexes sont de charge opposée au substrat ce qui peut aussi expliquer les différences observées en termes de forme de particules.

Sachant que les deux polymères individuels sont visualisés de la même façon (Figure 3-19), on devrait voir dans les deux sens d'ajout un même excès de polymère non complexé lorsque l'on a un rapport de charge  $Z=0.65$ . Ici, on note l'absence quasi complète de  $\epsilon$  PEI libre dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI (a) alors que du DxS libre coexiste avec les complexes dans le sens  $\epsilon$  PEI dans DxS (b). Cela confirme que la composition des complexes n'est pas exactement la même suivant le sens d'ajout. L'absence de  $\epsilon$  PEI libre dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI indique que les complexes sont enrichis en  $\epsilon$  PEI comme cela a été vu précédemment par analyse spectroscopique alors que la présence de DxS libre pour l'autre sens d'ajout est conforme à la formation de complexes de composition stœchiométrique formés à  $Z < 1$ .

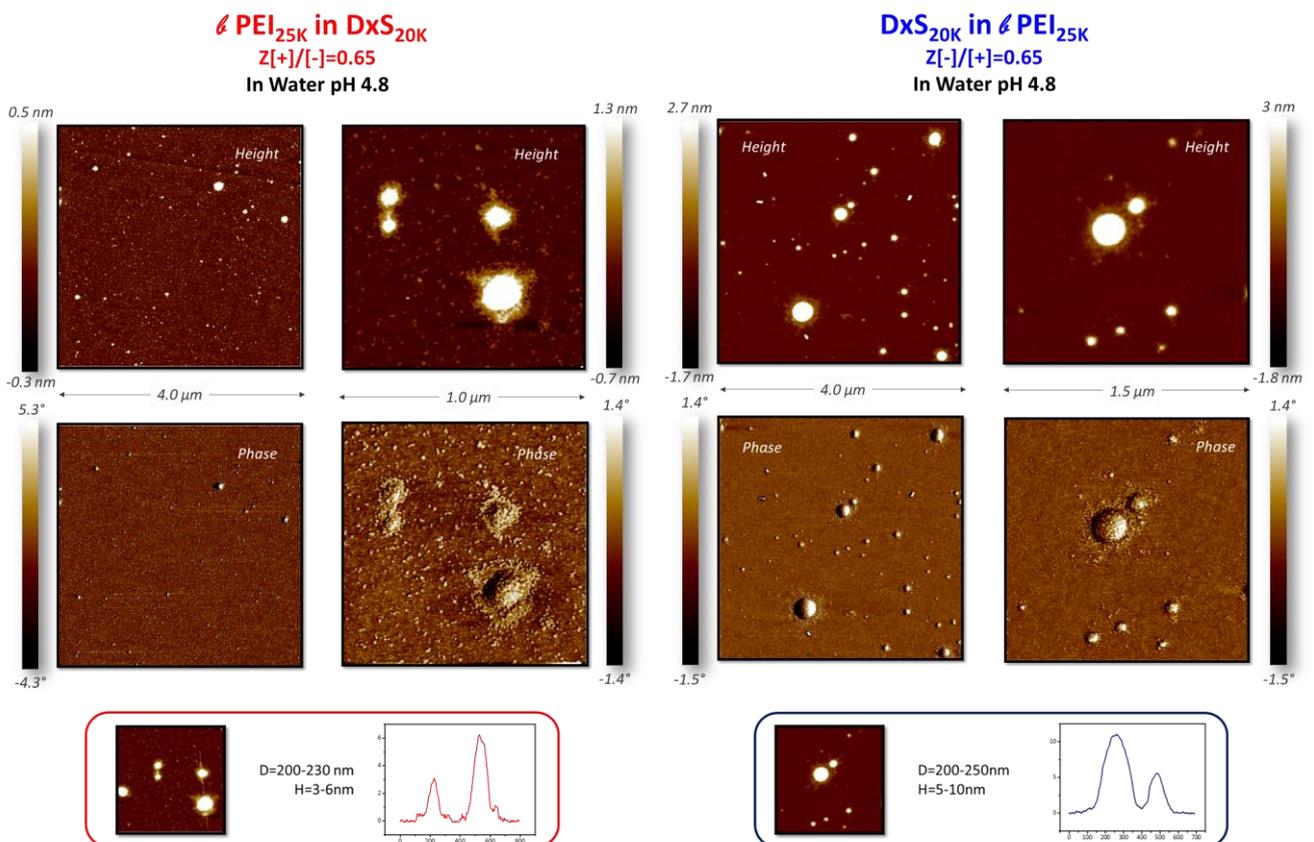


Figure 3-20 : Analyse AFM des PECs obtenus à  $Z= 0.65$  ([+]/[-] ou [-]/[+]) pour les deux sens d'ajout à des concentrations de 10/1 mM. Les suspensions sont diluées à 1 ppm avant dépôt sur mica. Analyse en hauteur (a), phase (b) et profil topographique d'une partie de l'échantillon (c).

### 3.2.6 Choix d'un modèle pour l'analyse ITC

Au vu des résultats précédents, la complexation entre le DxS et le  $\ell$  PEI peut être considérée comme un processus en deux étapes :

- i) la formation de complexes dispersés dont la taille et la composition dépendent significativement du sens d'ajout
- ii) la coacervation, qui apparaît à partir de  $Z[+]/[-]=1$  dans le sens  $\ell$  PEI dans DxS et à  $Z[-]/[+]=0.65$  dans le sens DxS dans  $\ell$  PEI (Figure 3-21).

Ayant à présent une meilleure compréhension de la morphologie du système en fonction de Z, il a été choisi d'appliquer un modèle à sites multiples indépendants (MNIS) [106] pour le traitement des données ITC présentées en début de chapitre. Ce modèle introduit dans le chapitre 1 (Modélisation des données par le modèle MNIS) devrait modéliser au mieux les deux étapes de la complexation. Les données thermodynamiques issues de ce modèle sont présentés en en Figure 3-22 et Tableau 3-2.

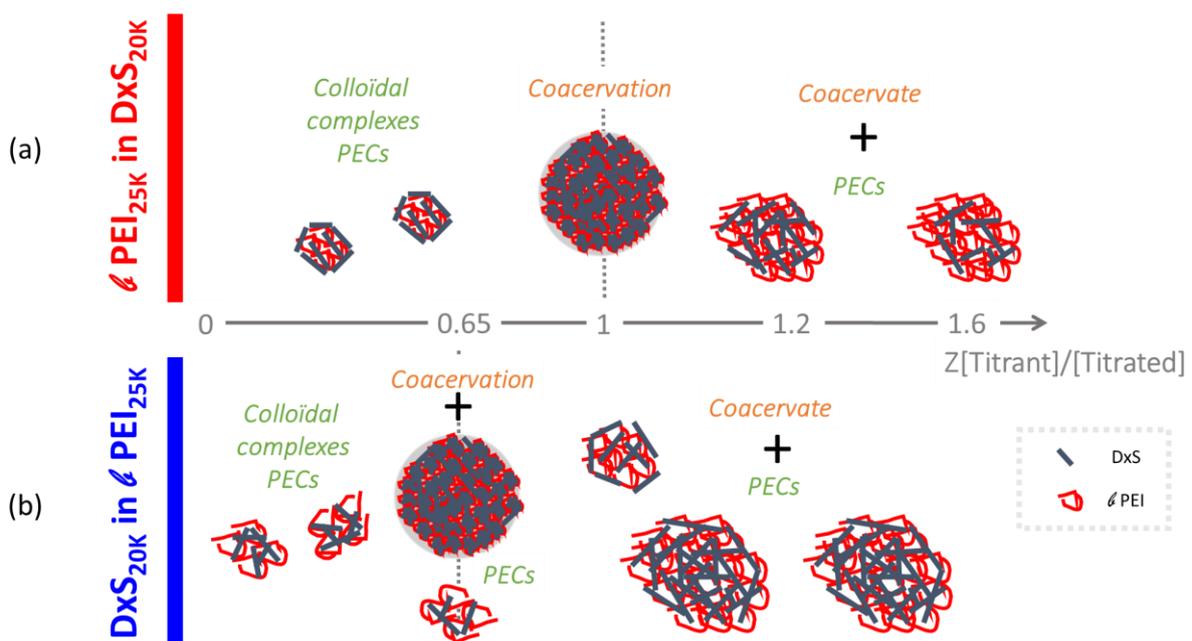


Figure 3-21 : Schéma représentatif du processus de complexation dans le système DxS/ $\ell$  PEI pour les deux sens d'ajout. (a)  $\ell$  PEI dans DxS et (b) DxS dans  $\ell$  PEI. Le DxS est représenté sous forme de bâtonnets bleus et le  $\ell$  PEI de chaînes rouges.

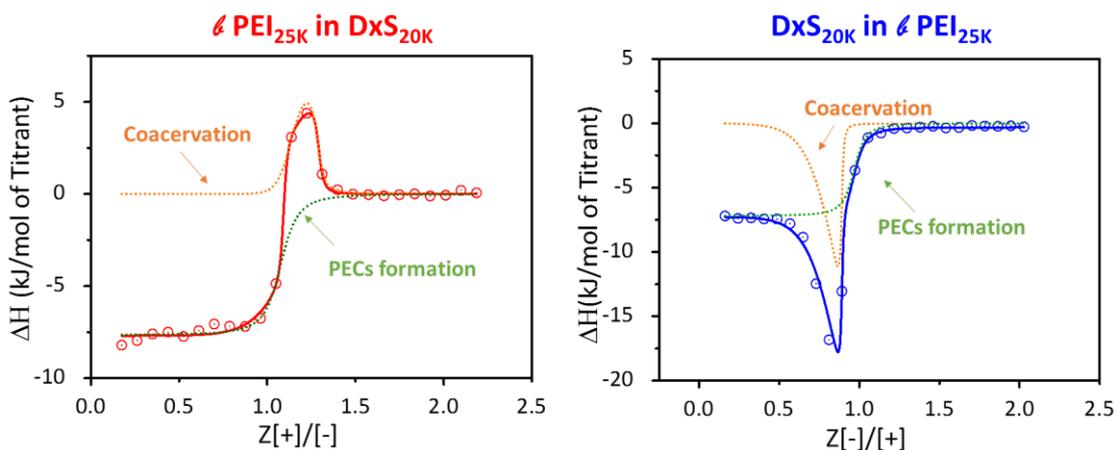


Figure 3-22 : Enthalpies différentielles pour le titrage du DxS<sub>20K</sub> dans le  $\ell$  PEI<sub>25K</sub> et du  $\ell$  PEI dans le DxS. Les symboles ouverts correspondent aux données expérimentales. Les lignes en trait plein correspondent au modèle MNIS basé sur un mécanisme d'interaction en deux étapes, la formation des PECs (pointillés verts) et la coacervation (pointillés orange). Les concentrations utilisées sont 10/1 mM.

Tableau 3-2 : Tableau récapitulatif des grandeurs thermodynamiques obtenues pour les titrages 10/1 mM du système DxS/PEI en fonction de l'ordre d'ajout et des deux régimes de complexation correspondant successivement à la complexation (formation de PECs) et la coacervation. Les valeurs de  $\Delta H$  sont obtenues par intégration des pics d'injection. Les valeurs de  $K$  et  $n$  découlent de la modélisation MNIS. Les valeurs de  $\Delta S$  et  $\Delta G$  sont calculées à partir de  $\Delta G = -RT \ln K$  et  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  en considérant  $T=25^\circ\text{C}=298.15\text{ K}$ .

	PEI dans DxS	DxS dans PEI
<b>Processus 1 : Formation des PECs</b>		
$\Delta H_1$ (kJ/mol de titrant)	-7.7	-7.2
$\Delta G_1$ (kJ/mol de titrant)	-25.7	-27.4
$T\Delta S_1$ (kJ/mol de titrant)	18	20.3
$K_1(M^{-1})$	$3.1 \times 10^4$	$6.4 \times 10^4$
$n_1$	1.08	0.97
<b>Processus 2 : Coacervation</b>		
$\Delta H_2$ (kJ/mol de titrant)	5.8	-27.1
$\Delta G_2$ (kJ/mol de titrant)	-32.2	-35.9
$T\Delta S_2$ (kJ/mol de titrant)	38.0	8.8
$K_2(M^{-1})$	$4.3 \times 10^5$	$1.9 \times 10^6$
<b>Global=Processus 1+2</b>		
$\Delta H_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-1.9	-34.3
$\Delta G_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-57.9	-63.3
$T\Delta S_{global}$ (kJ/mol de titrant)	56.0	29.1
$K_{global}(M^{-1})$	$4.6 \times 10^5$	$19.6 \times 10^5$

### 3.2.7 Discussion

Ayant à disposition les grandeurs thermodynamiques et les données de morphologiques, il est maintenant possible de fournir une description assez précise du système en considérant séparément l'étape de complexation et de coacervation. Dans le sens PEI dans DxS des PECs de faible taille se forment jusqu'à l'équivalence suivant un processus exothermique puis se réorganisent pour coacerver suivant un processus endothermique. Dans le sens contraire d'ajout, DxS dans PEI, l'étape de complexation est également exothermique mais les PECs formés sont beaucoup moins stables et coacervent prématurément à  $Z[-]/[+]=0.65$  suivant un processus cette fois-ci exothermique.

Ces résultats posent un certain nombre de questions auxquelles nous allons tenter de répondre :

- pourquoi la complexation est exothermique ?
- pourquoi le signe de l'enthalpie de la coacervation dépend du sens d'ajout ?
- pourquoi observe-t-on une coacervation précoce dans le sens DxS dans PEI ?
- est-ce que les complexes formés sont à l'équilibre ?

#### 3.2.7.1 Thermodynamique de la complexation électrostatique

L'étape de complexation est caractérisée par une variation d'enthalpie négative d'environ -8 kJ/mol de titrant qui est similaire pour les deux sens d'ajout (Tableau 3-2). Afin de déterminer dans quelle mesure les interactions électrostatiques sont à l'origine de cette variation d'enthalpie, la complexation a été suivie par ITC en tampon acétate 100 mM pH 4.8 en présence de NaCl à une concentration de 1.5 M ce qui correspond à une longueur de Debye,  $\lambda_D$ , de 0.24 nm.

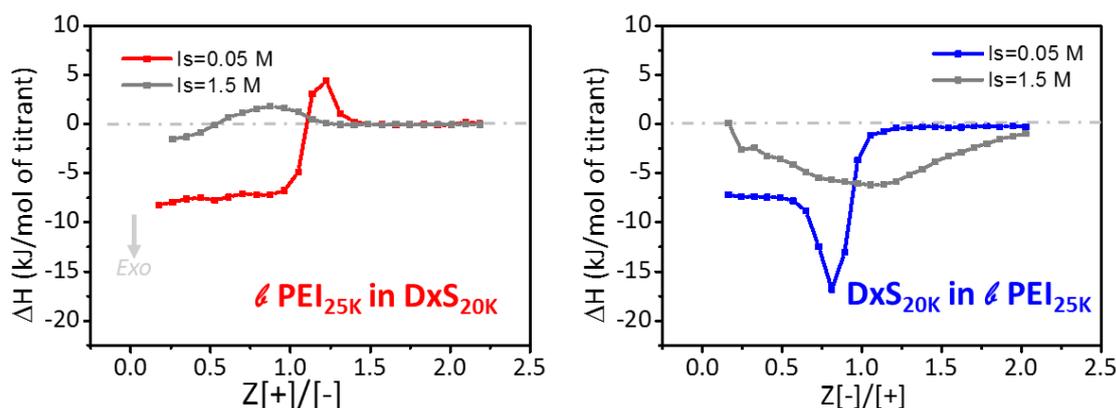


Figure 3-23 : Complexation du système  $\epsilon$  PEI<sub>25K</sub> / DxS<sub>20K</sub> en tampon acétate 100 mM pH 4.8 avec ou sans sel ajouté à des concentrations de 10/1 mM en polymère.  $I_s$  est la force ionique du système.

La Figure 3-23 montre que le signal calorimétrique est fortement atténué en présence de 1.5 M de NaCl ce qui suggère que le processus de complexation est effectivement de nature majoritairement électrostatique mais que des forces secondaires sont également présentes puisque le signal n'est pas totalement éliminé dans ces conditions. On ne peut pas directement quantifier ces interactions car les signaux en ITC sont difficiles à modéliser en présence de 1.5 M en sel. Par ailleurs, à une telle concentration en sel, il est probable que les liaisons hydrogène, soient également affaiblies en raison de leur origine électrostatique. On a pu montrer par une expérience de dessalage [129] que l'écrantage total des forces d'interaction entre le  $\epsilon$  PEI et le DxS est obtenu pour une concentration en sel extrêmement élevée de 3.6 M (Figure 3-24).

De par la dépendance en  $1/T$  de la constante diélectrique du solvant, l'interaction électrostatique en solution aqueuse est : i) d'une part un processus de nature exothermique car il a création d'une liaison entre deux entités chargées, ii) d'autre part de nature endothermique qui représente le coût énergétique associé à la libération des molécules d'eau et des contre-ions initialement liés aux charges. De ce point de vue la complexation électrostatique est alors favorisée par le gain entropique associé au départ de ces petites molécules.[188] Le fait que l'on observe ici un processus exothermique quel que soit le sens d'ajout indique que d'autres interactions en plus de l'interaction électrostatique sont à l'œuvre. En particulier, il est connu que le  $pK_a$  des polyacides et des polyamines varie en cours de

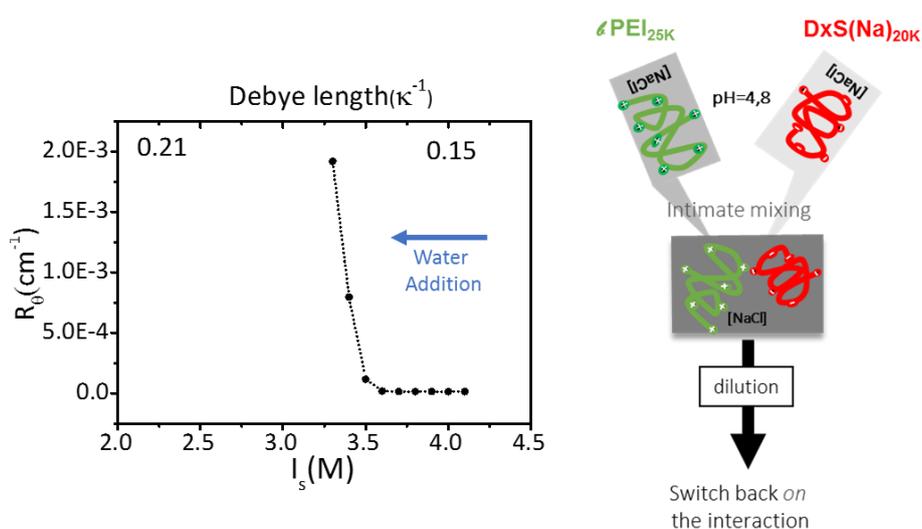


Figure 3-24 : Transition de dessalage du couple DxS/ $\epsilon$  PEI suivie en diffusion de la lumière par mesure du rapport de Rayleigh à différentes forces ioniques ( $I_s$ ). Des solutions aqueuses de polymère à une concentration de 14 mM en charge sont préparées séparément à pH 4.8 en présence de 4.2 M NaCl. Des volumes équivalents des solutions sont ensuite mélangés puis la force ionique est diminuée par dilution en ajoutant une solution d'acide à pH 4.8 ne contenant pas de sels.

complexation à travers un mécanisme de régulation de charges.[136] Le  $\epsilon$  PEI est une polybase faible pouvant induire ce type d'effet.

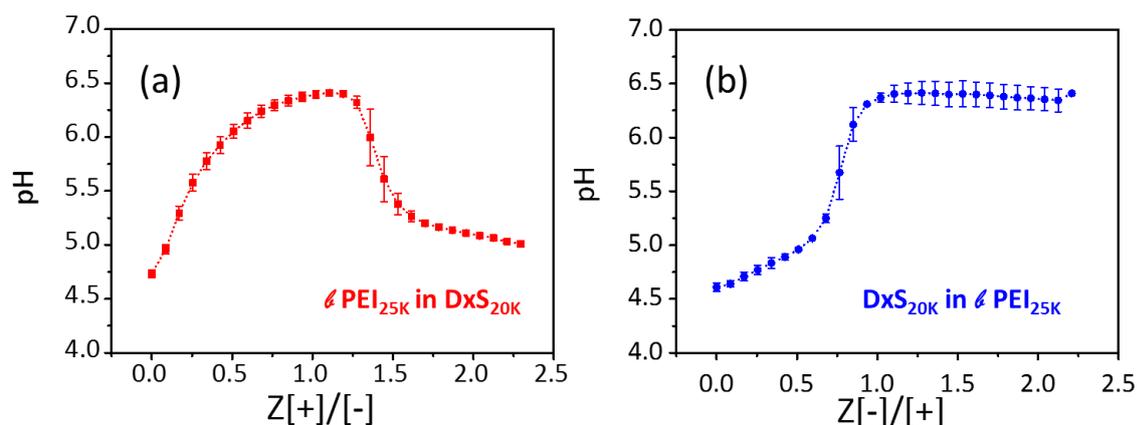


Figure 3-25 : Dosages potentiométriques du  $\epsilon$ PEI<sub>25K</sub> dans DxS et du DxS dans  $\epsilon$ PEI<sub>25K</sub> à pH 4.8 à une force ionique de 50 mM en fonction du rapport de charge. Les barres d'erreur correspondent à la reproductibilité issue de deux expériences.

Un suivi en pH de la complexation a été effectué en milieu non tamponné ajusté initialement au même pH et à la même force ionique que le tampon acétate utilisé en ITC (pH 4.8,  $I_s=0.05$  M). Les variations de pH selon les deux sens d'ajout sont représentées sur la Figure 3-25. L'augmentation du pH au cours de la complexation dans les deux sens d'ajout met en évidence que les chaînes de PEI se protonent au fur et à mesure de la complexation avec le DxS. Cela traduit une augmentation du  $pK_a$  du PEI en lien avec l'effet coopératif de la complexation sur le taux d'ionisation du PEI [189]. En d'autres termes, la protonation des groupements amines du PEI est favorisée par la complexation des sites aminés voisins. La protonation d'une polyamine étant exothermique[190], cela pourrait expliquer, au moins en partie, l'exothermicité de la complexation du DxS avec le  $\epsilon$  PEI. La formation de liaisons hydrogène entre le DxS et le  $\epsilon$  PEI reste aussi une hypothèse plausible. Par contre, dans le cas des expériences effectuées en tampon, on peut a priori négliger la chaleur d'ionisation du tampon acétate car celle-ci est très faible, de l'ordre de -0.8 kJ/mol (valeur obtenue par analyse calorimétrique de la neutralisation de l'acide acétique par de la soude).[191]

### 3.2.7.2 Thermodynamique de la coacervation

Dans le sens PEI dans DxS, l'étape de coacervation se manifeste par un pic fortement endothermique au voisinage de l'équivalence associé à un gain entropique élevé. Le caractère endothermique est lié à la réorganisation des PECs en une phase liquide dense visible à travers la formation de gouttelettes de coacervat ; ce processus contribue à augmenter le mélange entre les chaînes d'où l'augmentation de l'entropie du système. Les valeurs de  $\Delta H$  et  $\Delta S$  reportées dans le Tableau 3-2 sont en assez bon accord avec les valeurs décrites dans la littérature pour des polymères synthétiques.[109] Dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI, l'apparition d'une transition fortement exothermique à  $Z[-]/[+]=0.65$  coïncide avec le phénomène de coacervation prématurée décrit précédemment. La coacervation étant un phénomène de nature endothermique il est étonnant que le sens d'ajout puisse ainsi modifier le signe de la variation d'enthalpie associée. En analysant plus précisément les thermogrammes, on peut cependant remarquer que les pics se dédoublent au voisinage de l'équivalence avec une forte contribution exothermique suivi d'un faible signal endothermique (Figure 3-26). Cela suggère que le phénomène de coacervation (endothermique) pour ce sens d'ajout est masqué par un phénomène compétitif fortement exothermique dont il s'agit de déterminer l'origine. Enfin, les valeurs de la constante d'association  $K_1$  sont du même ordre de grandeurs pour les deux sens d'ajout ce qui signifie que l'on a bien le même processus de formation des PECs indépendamment de l'ordre d'addition.[192]

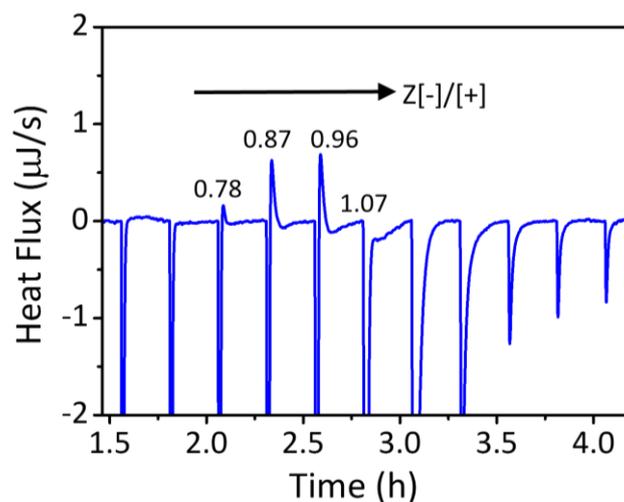


Figure 3-26 : Agrandissement du thermogramme présentant le flux de chaleur en fonction du l'avancement du titrage dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI. Les indications au-dessus des pics indiquent les valeurs de Z pour les différentes injections considérées.

Il est acquis que le système est particulièrement instable dans le sens d'ajout DxS dans PEI comme il a été vu précédemment à travers les expériences de vieillissement où une forte diminution de l'intensité diffusée 24 h après la préparation des complexes a été observée tandis que les complexes préparés dans l'autre sens d'ajout étaient relativement stables (Figure 3-12 c). Un suivi cinétique effectué à temps plus court a permis de mettre en évidence que le système préparé dans le sens DxS dans PEI subissait effectivement une réorganisation rapide, à l'échelle de quelques heures (Figure 3-27). Il a été vu précédemment que les complexes préparés dans ces conditions contiennent un excès de PEI non complexé. Ces complexes sont ainsi potentiellement instables en raison de cet excès de charge libre et cela peut favoriser leur coacervation précoce suivant un mécanisme de dismutation [186] décrit sur la Figure 3-28 où des gouttelettes de coacervat coexistent avec des PECs. Ce mécanisme de réorganisation à l'échelle moléculaire implique la formation d'un certain nombre de nouvelles liaisons électrostatiques (ou autres) qui peuvent ainsi être à l'origine de ce pic exothermique. Un suivi conductimétrique ou par dosage spectroscopique en présence de pigments aurait pu apporter un éclairage sur le mécanisme d'interaction mis en jeu. Il est aussi constaté dans la littérature que dans la majorité des cas, les systèmes les plus hydratés ont des composantes endothermiques plus fortes que les systèmes moins hydratés. Par ailleurs, pour le processus 1 de formation des PECs dans les deux sens d'ajout, l'entropie est prédominante avec :  $\Delta H \approx \frac{1}{3} \Delta S$  ; pour des systèmes très hydratés comme le PAA/PDADMAC, le rapport  $\Delta H/\Delta S > 10$ . [192,193] Enfin, si l'on s'intéresse à la constante d'association  $K_2$  dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI, sa valeur est beaucoup plus élevée que celle du  $\epsilon$  PEI dans DxS ; ce qui suggère la présence d'autres interactions plus énergétiques et peut-être fortement exothermiques ?

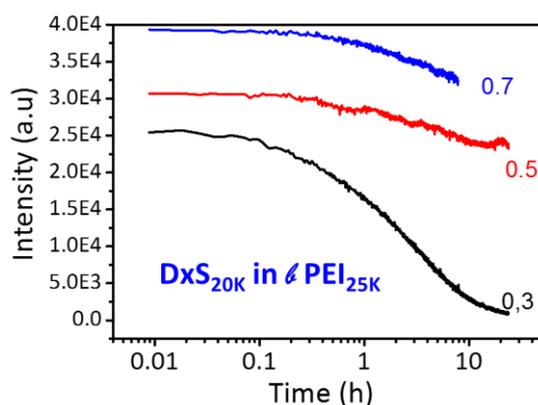


Figure 3-27 : Variation temporelle de l'intensité diffusée par des suspensions de PECs préparées par ajout de DxS dans du  $\epsilon$  PEI en tampon acétate 100 mM à pH 4.8 pour différents rapports de charge (Z[-]/[+]). L'acquisition est lancée immédiatement après la préparation des suspensions.

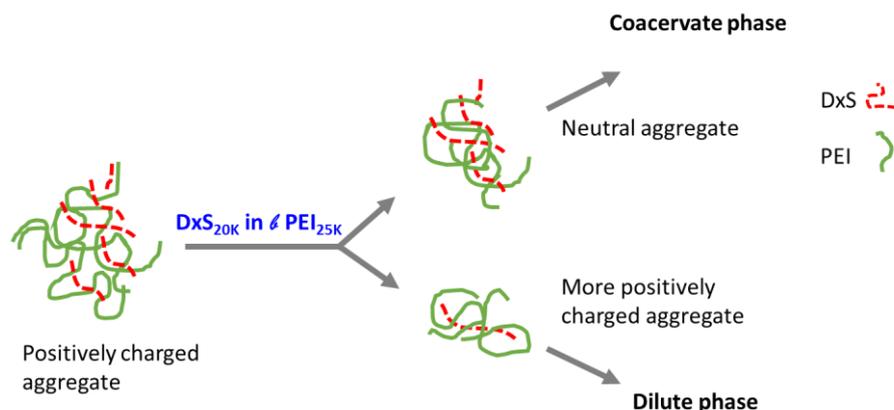


Figure 3-28 : Dismutation des particules de complexes formés dans le sens DxS dans l-PEI avant l'équivalence. D'après Kizilay et al.[80]

### 3.2.7.3 Origine de la coacervation précoce dans le sens DxS dans l-PEI

La différence de structure macromoléculaire entre le DxS, un polymère linéaire et flexible, et le l-PEI, un polymère branché avec une conformation globulaire pourrait être à l'origine de l'instabilité des PECs formés à  $Z[-]/[+] = 0.65$ . Afin de vérifier cette hypothèse, l'analyse calorimétrique de la complexation du DxS avec des PEI linéaires de 2K et 5K a été effectuée dans les mêmes conditions de concentration et de pH que celles utilisées avec le l-PEI de 25K.

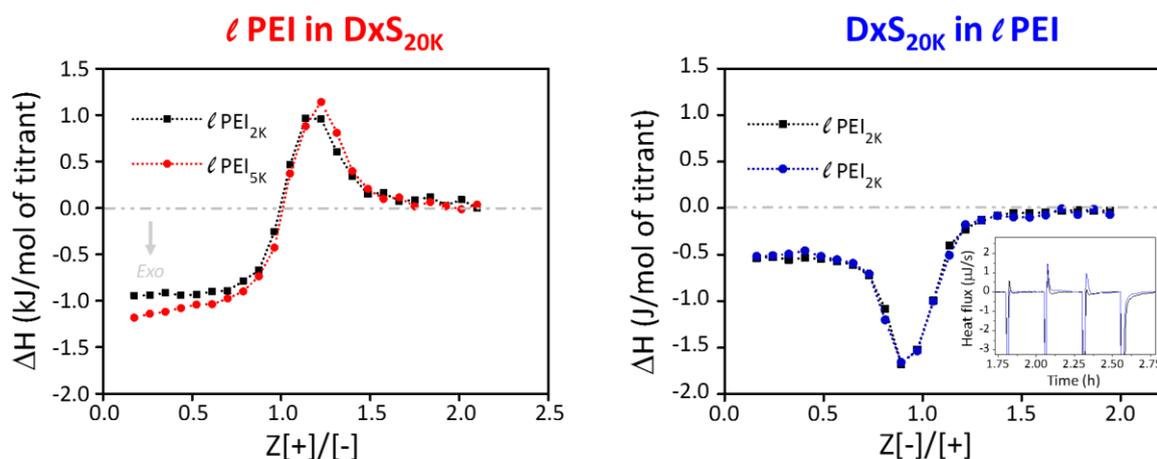


Figure 3-29 : Titrage ITC du DxS avec le l-PEI<sub>5K</sub> et l-PEI<sub>2K</sub> pour les deux sens d'ajout. Les concentrations des polymères sont 10/1 mM et le tampon acétate 100 mM - pH 4.8.

Comme on peut le voir sur la Figure 3-29, les thermogrammes correspondants aux deux sens d'ajout sont très similaires à ceux obtenus précédemment avec le l-PEI<sub>25K</sub>. Cela signifie que les mécanismes d'interaction et de réorganisation moléculaires ne dépendent pas de l'architecture des chaînes de PEI. Dès lors, on suppose que l'instabilité des PECs précédant la coacervation est liée à la différence de densité linéique de charge entre les deux polymères où l'on a 2.3 charges/nm pour le l-PEI et 4.8 charges/nm pour le DxS. En effet dans le cas où le DxS est ajouté au l-PEI, il est probable que les chaînes de PEI se complexent initialement de façon imparfaite avec le DxS selon le schéma décrit sur la Figure 3-30 (droite) ce qui conduit à la formation de PECs instables en raison des nombreuses charges non complexées du PEI. Le mécanisme de dismutation décrit précédemment permet alors d'abaisser l'énergie du système. Une telle situation ne se produit pas avec l'ordre inverse d'ajout car comme le DxS est beaucoup plus chargé que le PEI, il n'est pas nécessaire d'avoir un large excès de DxS pour complexer toutes les charges du PEI ajouté (Figure 3-30). La présence du pic exothermique observé en

ITC dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI illustre alors que le bilan énergétique de la dismutation des complexes est en faveur de la formation de nouvelles liaisons électrostatiques.

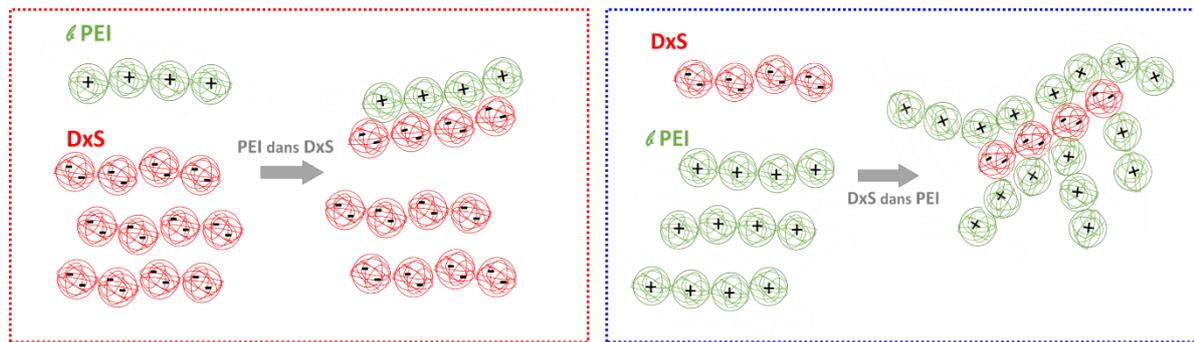


Figure 3-30 : Schémas possibles de complexation du DxS et du  $\epsilon$  PEI  $Z < 1$  (composé titré en excès) en fonction de l'ordre

### 3.2.7.4 Etat d'équilibre du système

Afin d'évaluer l'état d'équilibre du système, différentes conditions de mélange ont été étudiées lors des titrages en ITC tels que la concentration en polymère ou le délai entre deux injections successives.

Les Figure 3-32 et Figure 3-31 mettent en évidence que la complexation dans le sens  $\epsilon$  PEI dans DxS n'est ni sensible aux variations de concentrations ni au temps d'équilibrage du système ce qui suggère que les complexes sont dans un état proche de l'équilibre. En revanche, dans le sens DxS dans  $\epsilon$  PEI, il y a un effet assez significatif du délai entre les injections en particulier au niveau de la position du pic exothermique obtenu après  $Z=0.5$ . Ceci est en accord avec l'état métastable du système dans ce domaine de composition (Figure 3-12 et Figure 3-27); le fait d'ajouter plus rapidement le DxS exacerbe cette métastabilité. La concentration en polymère n'a pas d'effet sur le thermogramme sauf à 100/10 mM où l'on observe une enthalpie de complexation beaucoup plus faible et la quasi absence de pic exothermique vers 0.65. Au vu de la capacité du système à se réorganiser dans ce sens d'ajout et considérant que la coacervation est favorisée en augmentant la concentration (Figure 3-15 et Figure 3-14), il est alors possible que la complexation et la coacervation se déroulent simultanément dès les premières injections de DxS dans le  $\epsilon$  PEI.

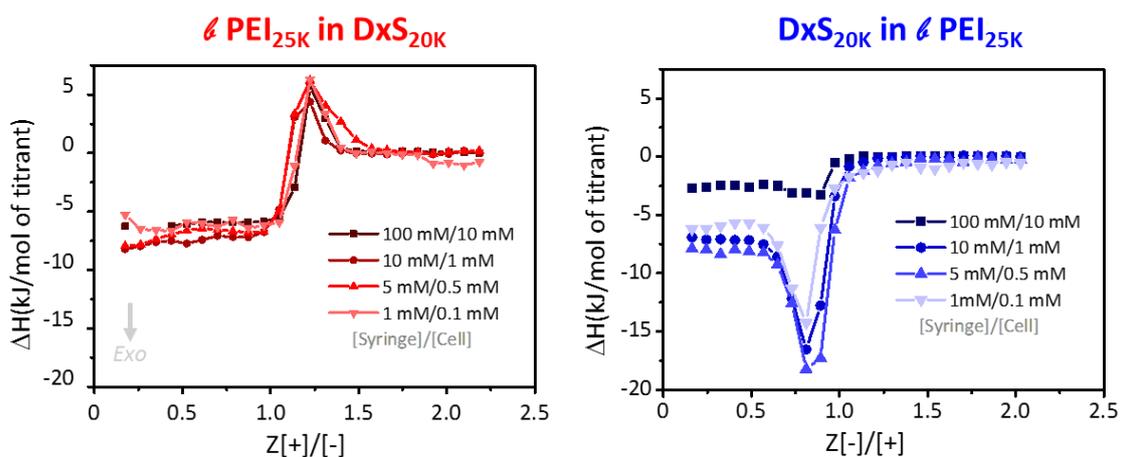


Figure 3-31 : Titrages ITC du système DxS/ $\epsilon$  PEI pour les deux sens d'ajout en fonction de la concentration en polymère. Les concentrations 10/1 mM correspondent aux concentrations de référence (voir Figure 3-11 c).

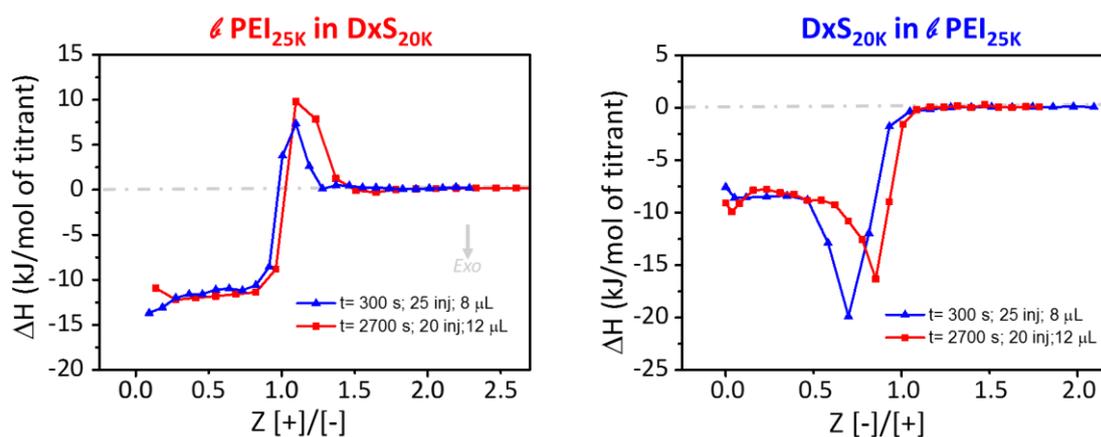


Figure 3-32 : Titrages ITC du système DxS/PEI pour les deux sens d'ajout en fonction du temps d'équilibration (s) entre chaque injection. Les concentrations des polymères sont 10/1 mM et les solutions ont été préparées en tampon acétate 100 mM à pH 4.8.

Enfin, l'interaction du DxS avec une amine de faible masse molaire correspondant au motif de répétition du PEI, la diéthylènetriamine (DETA) (Figure 3-34) a été étudiée en ITC afin de déterminer si l'ordre d'ajout influence la thermodynamique de la complexation. Ces expériences ont été effectuées à des concentrations élevées de DxS et de DETA car la constante d'équilibre du système ( $K$ ) est relativement faible en raison de l'absence d'effets coopératifs de la masse molaire sur la complexation.

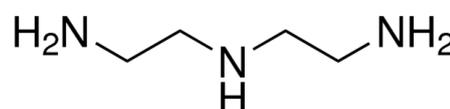


Figure 3-34 : Formule chimique de la diéthylènetriamine (DETA).

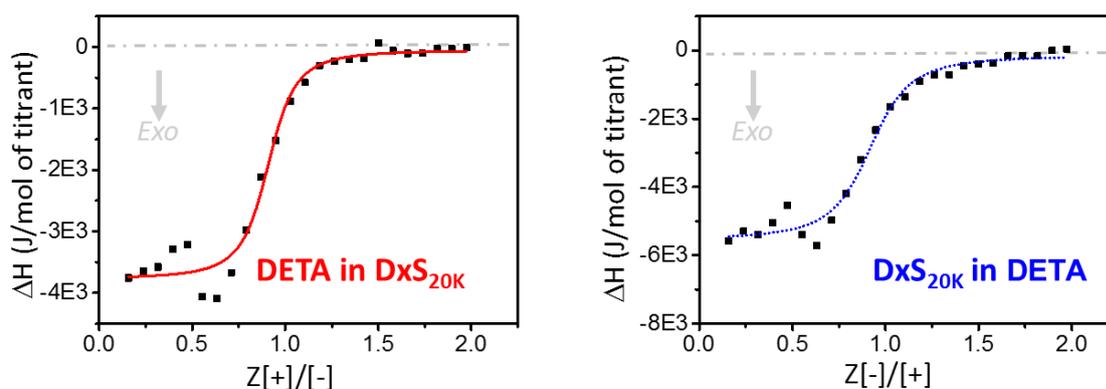


Figure 3-33 : Titrages ITC du système DxS/DETA pour les deux sens d'ajout à des concentrations de 120/12 mM en tampon acétate 100 mM à pH 4.8. Le tracé correspond à l'ajustement par un modèle d'interaction à un site.

La Figure 3-33 montre que les thermogrammes ont une allure classique de sigmoïde sans que l'on puisse détecter une quelconque transition secondaire, signe que les complexes ne coacervent pas dans ce cas. Il n'y a également pas d'influence du sens d'ajout comme l'indiquent les données thermodynamiques traitées avec un modèle d'interaction à un site (Tableau 3-3). Cela signifie que l'état hors équilibre obtenu précédemment est réellement lié à la nature macromoléculaire du PEI.

Tableau 3-3 : Données thermodynamiques obtenues pour le système DxS/DETA à partir des thermogrammes de la Figure 3-27.

	DETA dans DxS	DxS dans DETA
<i>Processus : Formation des PECs</i>		
$\Delta H$ (kJ/mol de titrant)	-3.7	-5.4
$\Delta G$ (kJ/mol de titrant)	-17.7	-16.3
$T\Delta S$ (kJ/mol de titrant)	13.9	10.9
$K$ ( $M^{-1}$ )	$1.3 \times 10^3$	$7.1 \times 10^2$
$n$	0.92	0.93

### 3.3 Etude du coacervat obtenu à partir du système DxS/PEI

La première partie de ce chapitre faisait état de l'étude du système DxS/PEI à une concentration relativement faible, autour de 0.1% en masse, afin d'être dans la bonne gamme de mesures de l'ITC et de pouvoir caractériser les PECs par diffusion de rayonnement. On a pu mettre en évidence l'apparition d'une transition liquide-liquide, où un liquide riche en polymère coexiste avec une phase pauvre en polymère.

Cette partie présente une étude des propriétés physiques du coacervat DxS/PEI obtenu à partir de solutions relativement concentrées de polymère. Tout d'abord diverses techniques de microscopie ont été mises en œuvre pour observer les gouttelettes de coacervat. Ensuite, des analyses rhéologiques et DNPA ont été effectuées afin de proposer un modèle structural. Enfin, la cinétique de formation du coacervat a été étudiée, en particulier à travers des mesures en stopped-flow. D'un point de vue expérimental, le coacervat a toujours été préparé, sauf exception, à partir de solutions de DxS et PEI équimolaires en charge c'est-à-dire à un rapport de charge de 1. Le pH a été ajusté à 4.8 et aucun sel n'a été ajouté.

#### 3.3.1 Analyses microscopiques du coacervat

La microscopie optique a tout d'abord été utilisée pour mettre en évidence le phénomène de coacervation. En particulier un suivi cinétique a été réalisé sur des suspensions de complexes préparées à deux concentrations en polymère (1.3% et 4.4% en masse, concentration totale en polymère). On peut voir sur la Figure 3-35 en particulier à concentration élevée, que les gouttelettes de coacervat fusionnent progressivement au cours du temps. Ce phénomène de fusion est plus rapide lorsque la concentration en polymère augmente. Les dimensions des gouttelettes sont typiquement comprises entre 1 et 10  $\mu\text{m}$  en milieu dilué et peuvent atteindre plus de 50  $\mu\text{m}$  en milieu concentré.[69] Dans le cas de la solution diluée, on peut avoir l'impression que la taille des gouttelettes diminue au cours du temps. En fait l'analyse est effectuée dans un plan situé juste au-dessus de la phase dense de coacervat et c'est ainsi la sédimentation des petites gouttelettes de coacervat que l'on visualise au cours du temps, juste avant qu'elles ne fusionnent avec le coacervat.

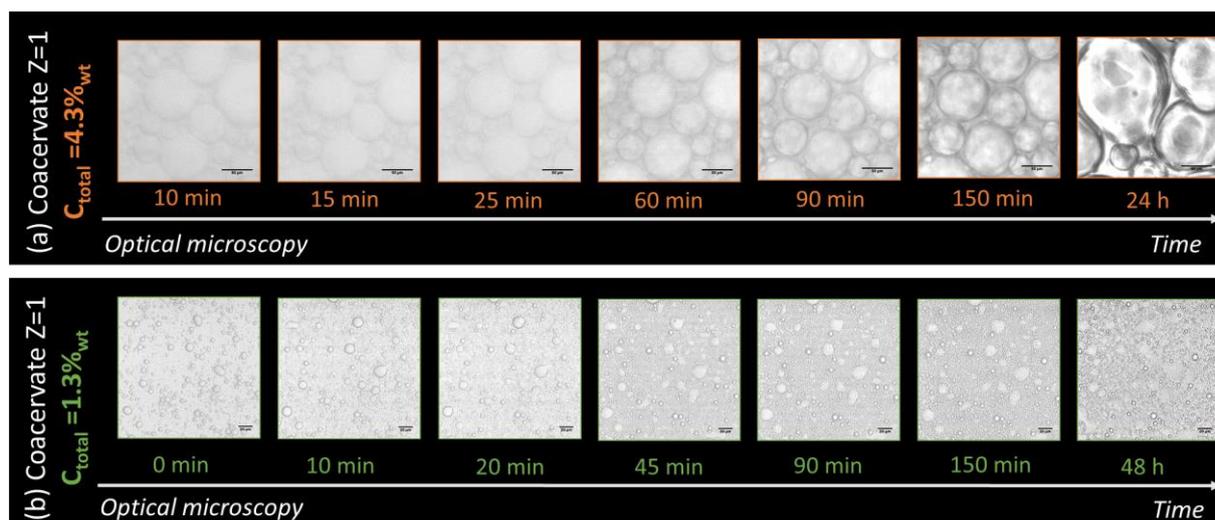


Figure 3-35 : Suivi en microscopie optique de la cinétique de mûrissement des gouttelettes de coacervat pour le système DxS/PEI à pH 4.8 pour deux concentrations en polymère (1.3 et 4.3% en masse). Les suspensions sont analysées en fonction du temps en conservant la même position d'observation de l'échantillon. Les barres d'échelle correspondent à 50  $\mu\text{m}$  (haut) et 20  $\mu\text{m}$  (bas).

La microscopie confocale de fluorescence a également été mise en œuvre à partir d'un coacervat marqué à la rhodamine. Dans ce but, le PEI a été modifié à hauteur de 0.2% des groupements amine par un ester de N-hydroxysuccinimide de rhodamine. Dans ces conditions l'intensité en fluorescence est trop élevée et le PEI<sub>25K</sub>-Rhodamine a alors été mélangé à du PEI<sub>25K</sub> non marqué afin d'avoir une concentration finale de 0.01 % en groupements amine marqués. L'étude du mûrissement du coacervat est réalisée à une concentration finale de 4.3% en masse de polymère en se plaçant à la stœchiométrie en charges. Le coacervat est formé puis 50  $\mu\text{L}$  sont immédiatement placés dans un puit de microplaque. Un suivi est réalisé sous excitation laser, pendant 9 jours. L'échantillon est protégé de l'évaporation et scanné en conservant la même position d'observation durant cette période.

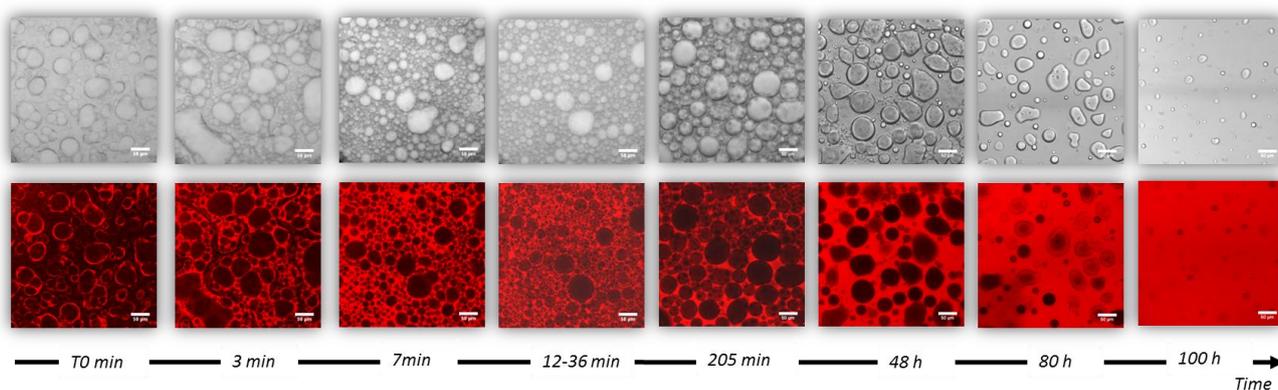


Figure 3-36 : Suivi cinétique en microscopie optique (haut) et confocale de fluorescence (bas) du coacervat préparé à une concentration totale en polymère de 4.3% en masse à  $Z[+]/[-]=1$ . Le PEI a été préalablement marqué avec de la rhodamine-NHS, puis dilué avec une solution de PEI non marqué (dilution au 20<sup>ème</sup>). La quantité de rhodamine présente dans l'échantillon observé se situe autour de 1ppm. La barre d'échelle est de 50  $\mu\text{m}$ .

On peut voir sur la Figure 3-36 la présence de gouttelettes de taille assez importante ( $\sim 50 \mu\text{m}$ ) dès le début de la coacervation. Après quelques minutes, on note l'apparition de très nombreuses gouttelettes de plus petite taille ( $\sim 25 \mu\text{m}$ ) qui ont décanté dans le puit d'observation et qui vont peu à peu fusionner avec les plus grandes; ce processus dure environ 48 heures. On note ensuite une diminution progressive de la taille des grosses gouttelettes jusqu'à leur disparition quasi-totale au bout de 4 jours. A ce stade le coacervat se présente sous la forme d'un gel homogène contenant encore quelques gouttelettes de petite taille. On peut aussi remarquer au cours du processus de coacervation

que ce sont les gouttelettes de petite taille qui semblent fusionner le plus facilement avec les plus grosses comme dans le cas du mûrissement d'Ostwald. Le suivi cinétique a également permis d'effectuer des reconstructions tridimensionnelles de la phase coacervat. La Figure 3-40 illustre l'évolution d'une section du coacervat à proximité du fond du puit suivant deux directions d'observation (haut et bas). Cette expérience confirme la réorganisation extrêmement lente d'un système constitué de gouttelettes très polydisperses en taille vers une phase homogène de type gel.

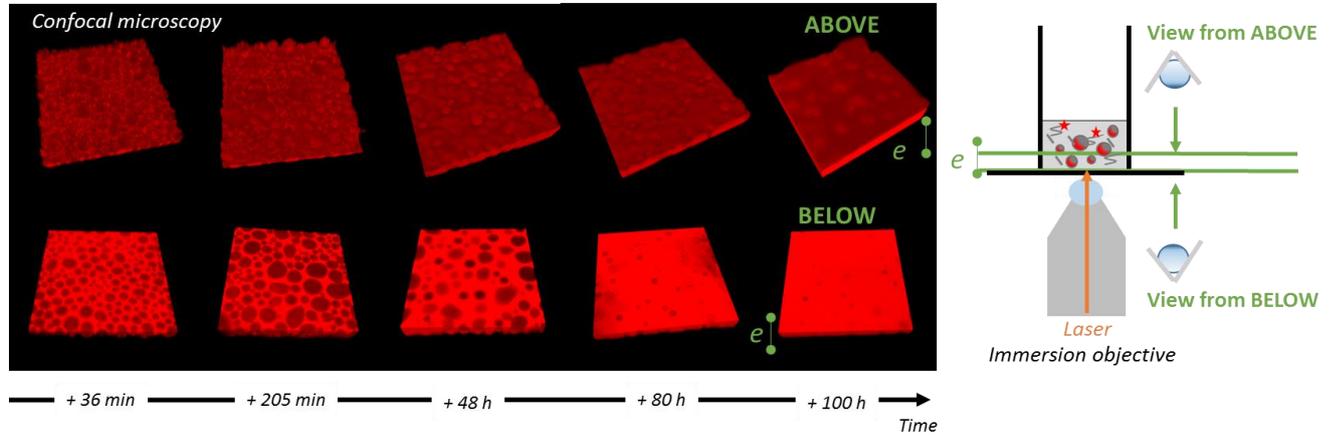


Figure 3-37 : Observation en microscopie confocale de fluorescence du coacervat préparé à une concentration totale en polymère de 4.3% en masse à  $Z[+]/[-]=1$ . Une reconstruction tridimensionnelle d'une section du coacervat est effectuée et observée avec un grossissement  $\times 40$  (immersion eau) suivant deux directions comme indiqué sur le schéma à droite.

Pour comparaison nous avons également effectué un suivi cinétique de la coacervation du système PAA/PDADMAC par microscopie optique. Comme la dynamique de ce système est beaucoup plus rapide, il a été nécessaire d'effectuer un enregistrement vidéo. L'échantillon de coacervat a été déposé immédiatement après sa préparation dans un puit constitué par deux lamelles de verre et un espaceur. Les images extraites de cette vidéo sont présentées sur la Figure 3-38. On peut noter qu'une goutte de coacervat d'environ  $10 \mu\text{m}$  en taille fusionne avec la phase continue en moins d'une seconde ce qui souligne que la dynamique de ce système est très différente du système  $\neq$  PEI / DxS.

#### Coacervate PDADMAC<sub>60K</sub>/PAA<sub>2K</sub>

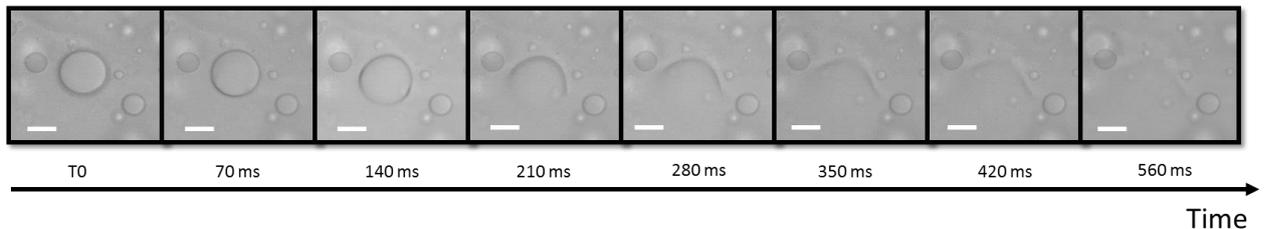


Figure 3-38 : Clichés extraits d'une vidéo de la cinétique de formation d'un coacervat à base de PAA<sub>2K</sub>/PDADMAC<sub>60K</sub>. Le coacervat a été réalisé à partir de solutions équimolaires de polymère (148 mM) ajustées à pH 10. L'échelle est de  $10 \mu\text{m}$ .

Les gouttelettes de coacervat ont été également analysées par AFM dans l'air (Figure 3-39) où l'on peut voir qu'elles sont parfaitement homogènes et qu'aucune sous-structure ne peut être décelée.[194] La couronne de petits agrégats de forme géométrique entourant les coacervats correspond probablement à des cristaux de sel formés lors du séchage. Le coacervat étant réalisé dans l'eau, ces sels peuvent provenir des contre ions libérés lors de la complexation de la solution de HCl utilisée pour ajuster le pH à 4.8. Par ailleurs, d'après les analyses thermogravimétriques réalisées sur le coacervat centrifugé (Figure Annexe 13) la phase coacervat a une teneur massique de 55% en polymère contre 20-30% pour la plupart des coacervats décrits dans la littérature [87]; cela peut aussi justifier une concentration élevée en contre ions dans le milieu.

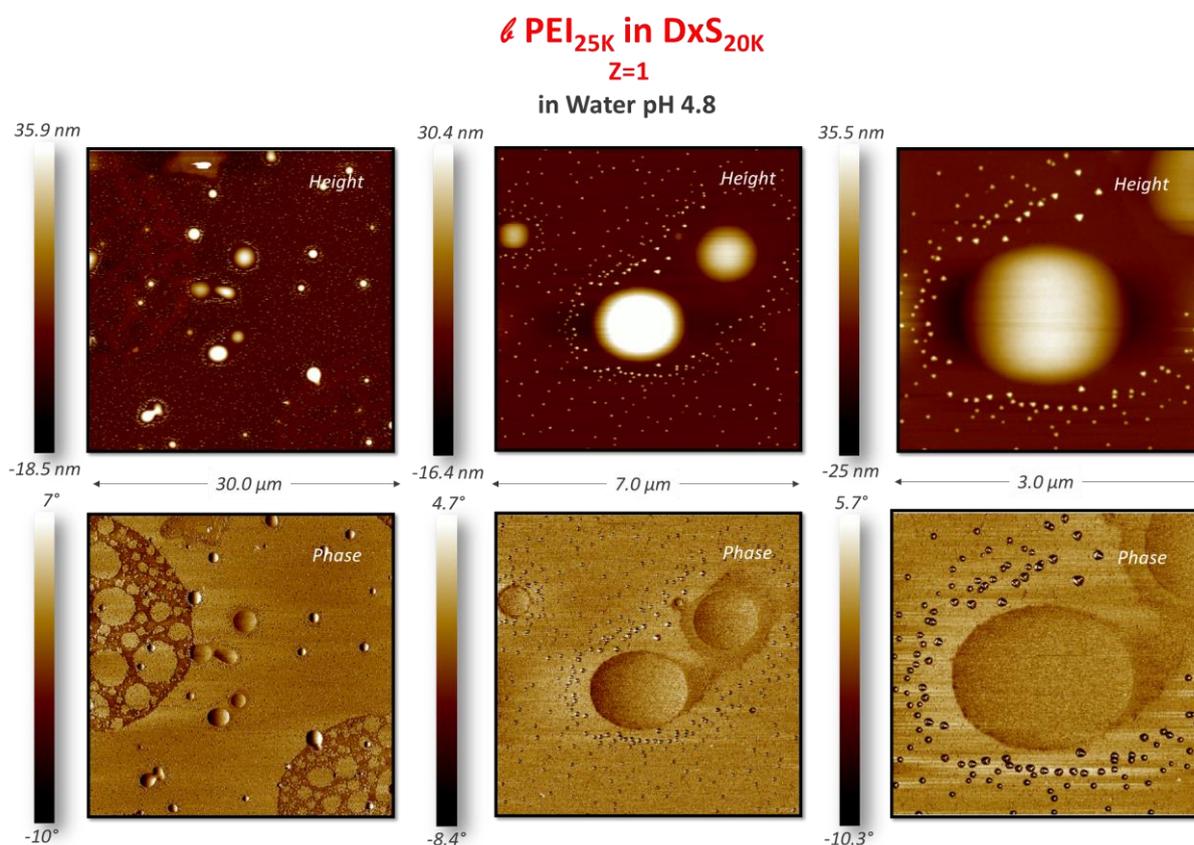


Figure 3-39: Images topographiques (haut) et de phase (bas) en AFM du coacervat de PEI/DxS, préparé à Z=1 à pH 4.8 à partir de solutions de polymère à une concentration de 10 mM (~0.1% en masse). La suspension de coacervat est diluée à 1 ppm avant dépôt sur mica.

Afin d'étudier le comportement du système à petite échelle en s'affranchissant des effets de séchage, une analyse par cryo-microscopie électronique à balayage a été effectuée sur une suspension de coacervat préparée à une concentration totale en polymère de 1.3% en masse. (Figure 3-40). L'échantillon est préparé 5 heures avant cryofracture afin de stabiliser le système. On distingue sur les images de cryo-microscopie la présence de microparticules sphériques de coacervat de l'ordre du micromètre qui coexistent avec des petites particules de l'ordre de la centaine de nanomètres qui pourraient éventuellement correspondre à des PECs. On peut noter que la structure des gouttelettes de coacervat est homogène, aucune sous structure ne peut être perçue comme dans le cas de l'analyse AFM. Le fond des images paraît également assez homogène et pourrait correspondre à la phase dense de coacervat.

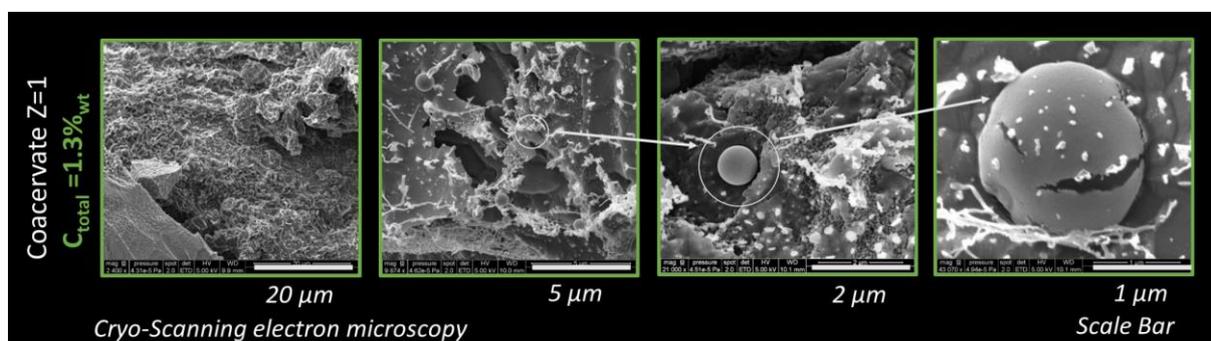


Figure 3-40 : Analyse en cryo-microscopie électronique à balayage du coacervat DxS/PEI préparé à pH 4.8 à une concentration totale en polymère de 1.3% en masse.

### 3.3.1 Rhéologie de la phase coacervat

Classiquement, les coacervats sont caractérisés par une signature rhéologique singulière se démarquant de la rhéologie des solutions mères de polymère. Ici, un coacervat préparé à la stœchiométrie à pH 4.8 à partir de volumes équivalents de solutions équimolaires de polymère (20 g/L pour le PEI<sub>25K</sub> et 66 g/L pour le DxS<sub>20K</sub>) a été utilisé pour les analyses rhéologiques. Le coacervat a été préparé par ajout de la solution de PEI dans la solution de DxS, la concentration finale est de 43 g/L. La suspension a été décantée pendant cinq jours afin d'avoir une phase homogène dans un état proche de l'équilibre et une centrifugation a encore été effectuée pour obtenir une décantation totale. Le coacervat que l'on récupère se présente sous la forme d'un 'caramel' relativement dur (Figure 3-41 a). La coloration jaune-marron est vraisemblablement due à un phénomène d'oxydation des amines du PEI. Une teneur en eau de 43.5% en masse a été déterminée par TGA (Figure Annexe 13) ce qui est relativement faible pour un coacervat, les teneurs en eau indiquées dans la littérature étant typiquement comprises entre 70% et 80% en masse.[74,195,196] Alors que les solutions de polymère utilisées pour préparer le coacervat présentent un comportement de liquide newtonien avec une viscosité de l'ordre du mPa.s [87], le coacervat obtenu montre quant à lui une viscosité de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5$  Pa.s en fonction du taux de cisaillement (Figure 3-41 b). Cette valeur est très élevée par rapport aux viscosités relevées dans la littérature pour différents coacervats qui sont souvent de l'ordre de la dizaine de Pa.s ou moins.[195,197,87,198] Ce résultat est en accord avec la teneur en eau relativement faible et conforte l'idée que les polyélectrolytes sont en très forte interaction. Il est supposé que c'est la densité élevée de charges du DxS qui est à l'origine de cette forte cohésion au sein du coacervat. L'analyse en fréquence du coacervat a également été effectuée (Figure 3-41 c). Aux faibles fréquences, le module de conservation ( $G'$ ) qui caractérise le comportement élastique est inférieur au module de perte ( $G''$ ) qui caractérise le comportement visqueux. Cela est une réponse typique d'un fluide viscoélastique, avec une forte contribution visqueuse et une dispersion significative des temps de relaxation de l'échantillon. Les coacervats décrits dans la littérature soulignent cette même caractéristique de fluide viscoélastique.[199] Aucune intersection des deux composantes n'est observée aux hautes fréquences, le domaine caoutchouteux n'étant pas atteint. L'expérience de fluage, consistant en l'observation de la réponse en déformation à l'application d'une contrainte maintenue constante permet d'accéder au taux de cisaillement  $\dot{\gamma}=2.38 \cdot 10^{-5} \text{s}^{-1}$  (sur la partie linéaire du fluage) (Figure 3-41 d). Considérant la cohésion très élevée du matériau, il n'est pas possible de faire un profil d'écoulement. Le temps de stabilisation est par ailleurs très important, et le matériau tend à se fracturer et glisser sous forte déformation. Toutes ces caractéristiques attestent de la présence dans le coacervat d'une polydispersité à l'échelle microscopique malgré une cohésion macroscopique. A l'échelle macroscopique, il est difficile de conclure sur l'arrangement intrinsèque du coacervat.

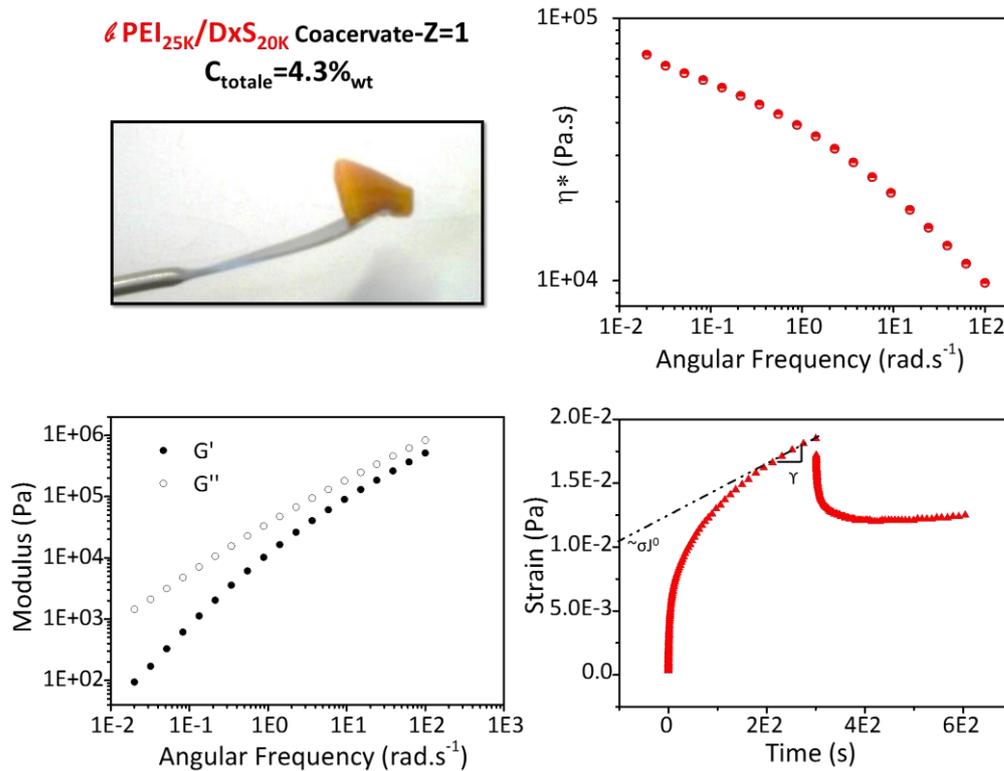


Figure 3-41 : Caractérisation rhéologique du coacervat obtenu à partir du DxS et du PEI à pH 4.8 pour une concentration totale en polymère de 43 g/L et à un rapport molaire de charges de 1. (a) Phase coacervat obtenue après 5 jours d'équilibre (b) Viscosité du coacervat en fonction du taux de cisaillement (c) Variation de  $G'$  et  $G''$  en fonction de la fréquence d'oscillation à une contrainte fixe de 500 Pa (d) Expérience de fluage, présentant la déformation de l'échantillon en fonction du temps à une contrainte fixe de 500 Pa.

### 3.3.2 Analyse par DNPA des solutions initiales de DxS et PEI

Le DxS<sub>20K</sub> et le PEI<sub>25K</sub> ont été caractérisés par DNPA dans D<sub>2</sub>O ajusté à pD=4.8 dans une large gamme de concentrations afin de détecter la concentration critique de recouvrement qui marque la transition entre le régime dilué et le régime semi dilué. On voit très clairement sur la Figure 3-42 le déplacement du pic polyélectrolyte ( $q^*$ ) en fonction de la concentration en polymère. Comme nous l'avons vu dans l'introduction ce pic résulte des interactions électrostatiques entre les polyions qui imposent une distance préférentielle entre les chaînes et conduisent ainsi à une structure pseudo organisée selon un arrangement uniforme dans le régime dilué ( $q^* \sim C^{1/3}$ ) ou hexagonal ou cylindrique dans le régime semi-dilué ( $q^* \sim C^{1/2}$ ). [200] Ici, nous avons déterminé des concentrations critiques de 0.31 M et 1 M en motifs respectivement pour le DxS et le PEI. Les rayons de giration n'ont pas pu être déterminés expérimentalement de façon satisfaisante par la méthode de Guinier en raison de la remontée importante d'intensité diffusée aux petits angles qui est liée à la présence d'agrégats électrostatiques en solution. Cependant, on peut déterminer la distance caractéristique entre les centres de masse des chaînes de PE à partir de la position du pic polyélectrolyte à  $C^*$  et estimer ainsi le rayon de giration correspondant à l'aide de la relation  $R_g = \frac{\pi}{q^*}$ . On trouve  $R_g=3.7$  nm pour le DxS et  $R_g=4.7$  nm pour le PEI. La valeur obtenue pour le PEI est proche de celle proposée par Zeghal *et al.* [201],  $R_g=4.5$  nm pour le même PEI de 25K. Pour le DxS, il est possible de calculer une valeur théorique de  $R_g$  selon la relation proposée par Fishman *et al.* [202] pour des dextrans de faible masse molaire ( $R_{g,z} \leq 103 \text{ \AA}$ ) :  $\overline{M}_w = 11.9 R_{gz}^2$ . On obtient un  $R_g$  de 4.1 nm, cohérent avec la version sulfatée du dextrane utilisée, plus étirée en raison des répulsions électrostatiques.

Les courbes d'intensité diffusée de neutrons fournissent aussi des informations sur la conformation des chaînes. En effet dans le domaine des grands  $q$  compris entre  $\frac{2\pi}{R_g}$  et  $\frac{2\pi}{a}$  où  $a$  est la

longueur d'un monomère, on peut exprimer l'intensité diffusée suivant la relation  $I \sim q^{-D_f}$  où  $D_f$  est la dimension fractale.  $D_f$  reflète la structure locale non perturbée des chaînes et correspond ainsi aux corrélations intra-blobs.[203] Les valeurs typiques de  $D_f$  sont de 1 pour des chaînes en bâton, 2 pour des pelotes statistiques en solvant  $\Theta$  et de 4 pour des structures globulaires. Pour le  $\ell$ PEI,  $D_f=2$  donc le polymère adopterait à cette échelle une conformation de pelote en solvant  $\Theta$  ce qui est en accord avec sa structure branchée. Pour le DxS, la valeur de 1.8 indique que le polymère se comporte comme une pelote possédant une conformation intermédiaire entre les conditions  $\Theta$  ( $D_f = 2$ ) et les conditions de bon solvant ( $D_f = \frac{5}{3}$ ).

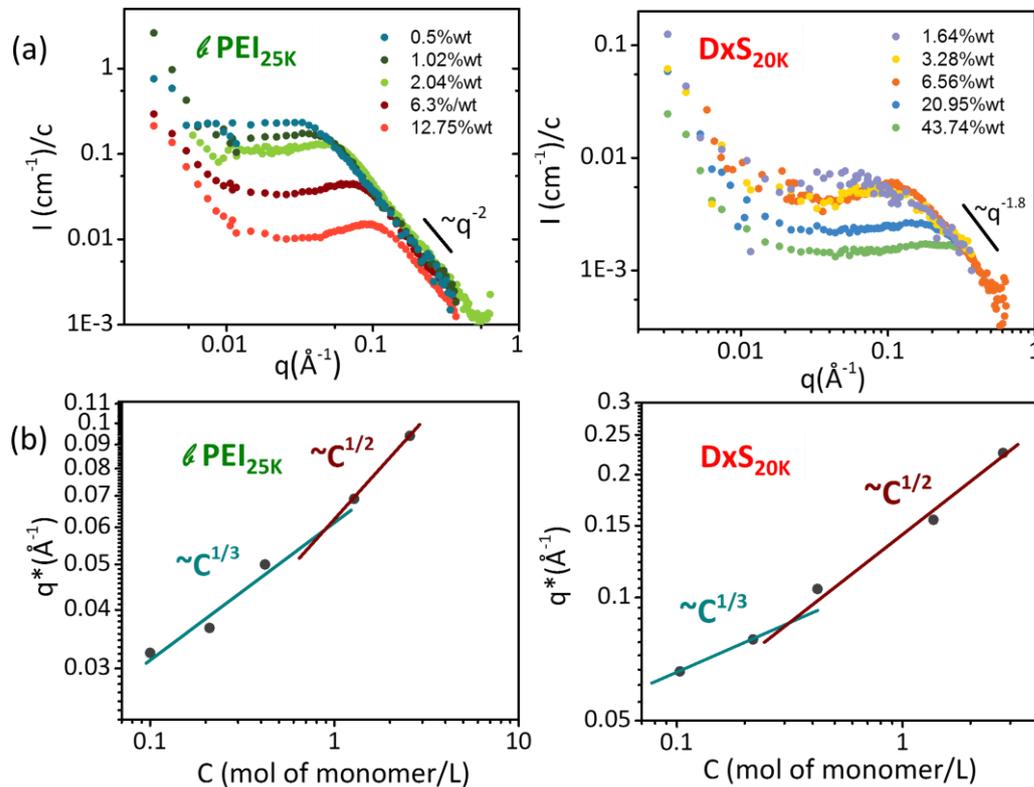


Figure 3-42 : (a) Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration en polymère ( $I \text{ (cm}^{-1}\text{)}/c$ ) en fonction du vecteur de diffusion pour le DxS<sub>20K</sub> et le  $\ell$ PEI<sub>25K</sub> dans du D<sub>2</sub>O à pD=4.8 à différentes concentrations. (b) Position du pic polyélectrolyte ( $q^*$ ) en fonction de la concentration en motifs de polymère.

Enfin, il est possible d'estimer le contraste de nos deux PEs en solution dans D<sub>2</sub>O pour comprendre quel PE sera préférentiellement 'vu' en DNPA lors de l'observation du coacervat. Le contraste en diffusion de neutrons ( $(\Delta\rho)^2$ ) est défini par le carré de la différence entre les valeurs des densités de diffusion entre PE et solvant (voir Diffusion des neutrons aux petits angles). Sachant que  $b_{PEI} = 0.214 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ ,  $b_{DxS} \sim 1.4 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$  et que pour le solvant D<sub>2</sub>O,  $b_{99\%D_2O/1\%H_2O} = 6.33 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ , le contraste sera bien meilleur pour le PEI dans le D<sub>2</sub>O ( $3.74 \times 10^{-11} \text{ \AA}^{-2}$ ) que pour le DxS dans ce même solvant ( $2.43 \times 10^{-11} \text{ \AA}^{-2}$ ). Lorsque l'on analysera nos échantillons sous flux de neutrons, ce sera donc la signature du PEI qui sera observée de manière dominante.

### 3.3.3 Analyse par DNPA du coacervat

L'utilisation de la diffusion des neutrons aux petits angles permet l'étude en solvant deutéré de l'agencement des chaînes de polymère au sein du coacervat.[204,95,205] Le coacervat précédemment décrit pour les analyses rhéologiques a été préparé en solvant deutéré (D<sub>2</sub>O + DCI) et analysé en DNPA (Figure 3-42). Il présente un pic polyélectrolyte clairement visible situé à un vecteur de diffusion de 0.13  $\text{\AA}^{-1}$  ce qui correspond à une distance de corrélation de 48.4  $\text{\AA}$ . Sachant que le coacervat contient 43.5% d'eau, on détermine que les concentrations respectives en DxS et en  $\ell$ PEI dans le coacervat sont de

43.74% et 12.75% (0.9 M et 2.9 M respectivement, en motif monomère). À de telles concentrations, les deux polymères sont en régime semi-dilué d'après l'analyse effectuée précédemment. Les solutions de  $\zeta$  PEI et de DxS ont alors été préparées en solvant deutéré à ces concentrations et analysées en DNPA (Figure 3-43). Le  $\zeta$  PEI présente un pic polyélectrolyte nettement visible à  $0.09 \text{ \AA}^{-1}$ . Quant au DxS, le pic polyélectrolyte est plus difficile à détecter et on suppose qu'il correspond à la petite bosse visible à  $0.27 \text{ \AA}^{-1}$ . Il est probable qu'à cette concentration très élevée en polymère on assiste à un écrantage partiel des charges en raison de la forte concentration en contre-ions d'où la disparition progressive du pic polyélectrolyte. On détermine alors que la longueur de corrélation du coacervat ( $\xi=48.4 \text{ \AA}$ ) est intermédiaire entre celles du  $\zeta$  PEI et du DxS obtenues à partir de la distances caractéristiques à  $q^*$  ( $\xi=69.7 \text{ \AA}$  pour le  $\zeta$  PEI et  $\xi=23.3 \text{ \AA}$  pour le DxS). En d'autres termes si l'on considère que les solutions semi-diluées de PE dans le coacervat forment un réseau, cela suggère que la coacervation tend à contracter le réseau de  $\zeta$  PEI et distend celui du DxS. La présence du pic polyélectrolyte dans le coacervat demeure toutefois inattendue dans la mesure où l'on pouvait s'attendre à ce que les interactions électrostatiques soient fortement écrantées en présence des deux polyélectrolytes de charge opposée. Ce résultat est néanmoins en accord avec le pic du PDADMAC observé dans la phase coacervat dans le système PAA/PDADMAC.[88] La remontée en  $q^{-4}$  observée aux plus petits angles sur la courbe du coacervat pourrait être la signature d'une sous-structure préservée au sein du coacervat telles que des gouttelettes qui n'auraient pas totalement coalescé même 5 jours après la préparation de l'échantillon. Cette hypothèse est confortée par l'analyse en microscopie optique qui a permis de mettre en évidence la présence de gouttelettes de coacervat 4 jours suivant la préparation (Figure 3-37) et par l'analyse rhéologique qui suggère une polydispersité à une échelle micronique (Figure 3-41).

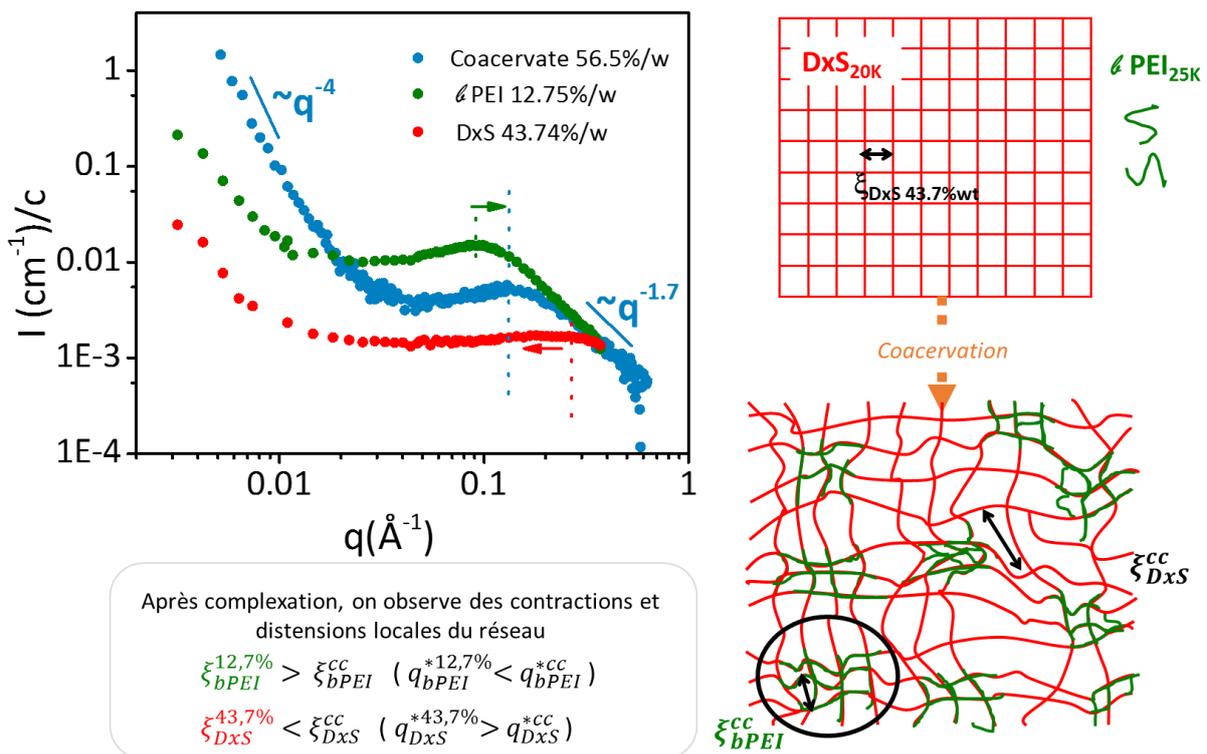


Figure 3-43 : Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration en polymère ( $I/(cm^{-1})/c$ ) en fonction du vecteur de diffusion pour un coacervat DxS/ $\zeta$  PEI à 56.5% en masse en polymère et des solutions de DxS et de  $\zeta$  PEI aux mêmes concentrations que celles trouvées dans le coacervat en supposant une stœchiométrie de charge.

### 3.3.4 Cinétique de la coacervation

La technique de stopped-flow précédemment décrite a été utilisée pour le suivi de la complexation du système  $DxS_{20K}/\zeta PEI_{25K}$ . La complexation a été étudiée à différents rapports de charge  $Z[+]/[-]$  compris entre 0.5 et 2 à pH 4.8 dans l'eau ou en tampon acétate 0.1 M afin de varier la force

ionique du milieu. La concentration a été fixée à 1.01 mM en charges pour le DxS et 1.35 mM en  $\zeta$  PEI. Les résultats obtenus en SF avec une détection en diffusion de lumière à 90° mettent en évidence que l'intensité diffusée est quasiment constante pour tous les rapports de charge étudiés sauf pour  $Z[+]/[-]=1$  où l'on observe un comportement atypique caractérisé par une variation très rapide et intense de l'intensité diffusée qui suit un comportement en cloche (Figure 3-44). Ce phénomène très particulier observé uniquement à l'équivalence a été récemment décrit par Liu *et al* [87] dans le cadre de la coacervation du PAA avec le PDADMAC à pH 10. Il correspondrait à la formation massive de gouttelettes de coacervat résultant de la condensation totale des complexes à l'équivalence. La forme de la courbe ne laisse aucun doute sur le fait qu'il s'agisse bien d'un phénomène de coacervation et non de précipitation à savoir que le phénomène est rapide alors que dans le cas de la précipitation la diminution de l'intensité diffusée est beaucoup plus lente car liée à la sédimentation des particules de précipité ainsi que l'on a pu l'observer avec la complexation du PSS et du PDADMAC.[144] C'est d'ailleurs une méthode très précise qui permet de déceler l'apparition de la coacervation en dehors de la stœchiométrie de charge dans d'autres systèmes PEs alors que l'on ne les observe pas encore en microscopie optique. Le maximum de la courbe est obtenu à 50.4 s et 10.5 s pour des forces ioniques respectives de 2 mM et 55 mM ce qui illustre que la présence du sel facilite la réorganisation du système vers la coacervation grâce à un affaiblissement des interactions électrostatiques comme cela a déjà pu être observé.[186] La présence d'un épaulement après 100s pourrait être liée à la polydispersité élevée du système comme les expériences en rhéologie l'ont montré. Il peut aussi être dû à la génération de microbulles avec le temps dans le SF. Par rapport au système PAA/PDADMAC où le maximum de la courbe est obtenu en moins d'une seconde,[87] il est important de noter que la cinétique de coacervation est ici beaucoup plus lente ce qui met en évidence que les gouttelettes de coacervat contiennent davantage de polymère en raison des fortes interactions développées par les deux PEs. Il y a ainsi une bonne corrélation entre la cinétique de formation des gouttelettes aux temps courts (stopped-flow) et leur réorganisation en une phase homogène (microscopie optique).

L'absence de variations d'intensité diffusée à tous les autres rapports de charge ou presque signifie que l'on a essentiellement des structures de type PECs en présence dont la cinétique de formation est relativement rapide et donc probablement masquée par le temps mort de l'instrument de stopped-flow qui est de l'ordre de 4 ms. Dans le cas du système PAA<sub>2K</sub>/PDADMAC<sub>60K</sub> on a pu voir précédemment d'autres types de relaxation qui ont pu être détectées aux temps courts pour des rapports de charge différents de 1 car à nouveau il s'agit d'un système caractérisé par une dynamique beaucoup plus rapide.

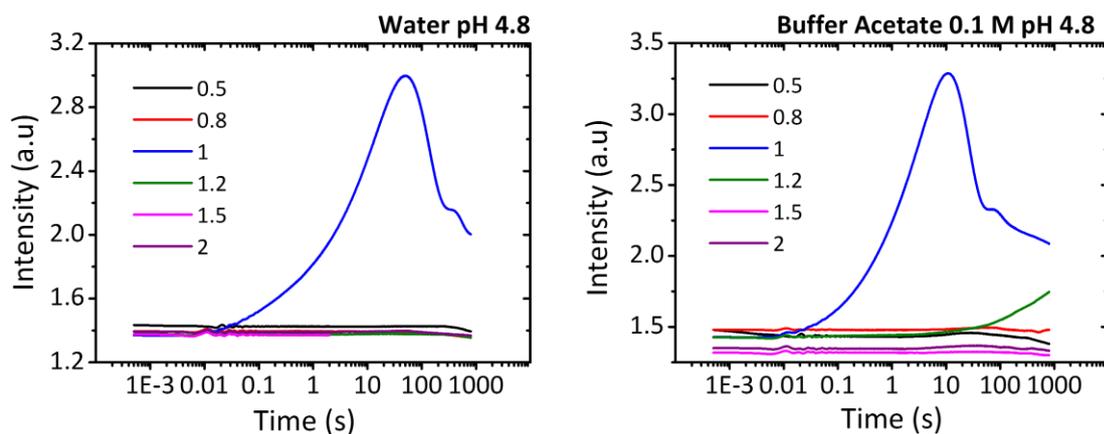


Figure 3-44 : Analyse en stopped-flow du système DxS/ $\zeta$  PEI avec une détection en diffusion de la lumière à 90° pour différents rapports de charge  $Z[+]/[-]$  à pH 4.8 dans l'eau et dans un tampon acétate 0.1 M. Les solutions de DxS et  $\zeta$  PEI sont équimolaires (1 mM). L'intensité du rayonnement à 90° est normalisée par la concentration totale en polymère pour chaque rapport de charge.

### 3.4 Conclusion

Le système DxS/ℳ PEI est capable de former une phase coacervat dense à pH 4.8 contenant plus de 50% en masse de polymère ce qui est inhabituel par rapport aux coacervats décrits dans la littérature. Ceci met en évidence une cohésion importante entre les PEs qui se manifeste par une exothermicité importante au niveau de l'étape de complexation contrairement à la plupart des coacervats pour lesquels l'enthalpie de complexation est positive. L'origine de l'exothermicité n'a pas pu être déterminée avec certitude mais il est probable que les densités de charge particulièrement élevées du DxS ( $\zeta_M = 3.4$ ) et du ℳ PEI ( $\zeta_M = 2.0$ ) soient responsables de l'obtention d'un tel coacervat que l'on pourrait qualifier de 'fort' comme l'indique du reste les constantes d'association globales ( $K_{\text{global}}$ ) de l'ordre de  $10^5$ - $10^6$  M<sup>-1</sup>. En conséquence, la cinétique de coacervation est lente tant au niveau de la formation des gouttelettes de coacervat que de leur réorganisation en une phase homogène. Au niveau des propriétés rhéologiques, la viscosité du coacervat est élevée, de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5$  Pa.s en fonction du taux de cisaillement.

En raison des fortes interactions entre les PEs, le système n'atteint pas spontanément l'équilibre thermodynamique. Ainsi, les propriétés des PECs, c'est-à-dire les précurseurs du coacervat, dépendent des conditions initiales de mélange, en particulier en milieu dilué. Lorsque la complexation est effectuée par titrage c'est-à-dire par addition lente du titrant, il a été observé par ITC, diffusion de la lumière, potentiel zêta, spectroscopie visible et AFM que le sens d'ajout influençait les propriétés des PECs. Dans le cas où le ℳ PEI est ajouté au DxS les complexes obtenus avant l'équivalence forment des particules de PECs chargées négativement qui sont stables jusqu'à la coacervation obtenue vers  $Z=1$ . Dans le cas où le DxS est ajouté au ℳ PEI les complexes qui sont alors chargés positivement sont instables et commencent à coacerver vers  $Z=[-]/[+]=0.65$ . L'origine de cette instabilité a été attribuée à la différence de densité de charges entre les PEs qui conduit à la formation de complexes enrichis en ℳ PEI avant qu'ils ne se réorganisent suivant un mécanisme de dismutation donnant lieu à une coacervation prématurée.



# CHAPITRE 4

*'Ce n'est pas la destination qui compte mais bien le chemin'*  
*Proverbe chinois*

# Table des Matières

4.1 Introduction .....	145
4.2 Polyélectrolytes.....	146
4.2.1.1 Chlorure de polydiallyldiméthylammonium .....	147
Généralités .....	147
Domaines de concentration par DNPA.....	147
4.2.1.2 Polyacide acrylique .....	148
Généralités .....	148
Détermination du taux de charge effectif du PAA par conductimétrie.....	148
4.2.1.3 Caractérisation par chromatographie d'exclusion stérique .....	149
4.3 Conditions expérimentales.....	150
4.3.1 Caractérisation des complexes .....	150
Thermodynamique et morphologie.....	150
Cinétique de complexation .....	150
Evaluation de la contribution de l'interaction électrostatique à la complexation .....	151
Hydratation des polyélectrolytes.....	151
4.4 Morphologies des complexes.....	152
4.5 Cinétique de la complexation aux temps courts .....	156
4.6 Thermodynamique de la complexation .....	157
4.7 Evaluation de l'intensité électrostatique par expérience de dessalage .....	161
4.8 Hydratation des polyélectrolytes.....	163
4.9 Conclusion .....	166

# CHAPITRE 4

## Vers une généralisation de la démarche. Etude de quatre systèmes de polyélectrolytes.

### 4.1 Introduction

Dans les chapitres précédents l'accent a été porté sur deux systèmes particuliers le PSSNa/ $\ell$  PEI et le DxS/ $\ell$  PEI qui précipite et coacerve respectivement à la stœchiométrie de charge, dont l'étude approfondie a permis de mettre en évidence la complexité de leur assemblage en solution. L'état hors équilibre associé au système fort PSS/PEI montre clairement qu'il existe une forte dépendance à la fois aux paramètres physico-chimiques (nature des groupements, longueur de la chaîne polymère, concentration, densité de charge, force ionique...) et aux chemins de formulation temps de mélange, ordre d'ajout, concentration...). Il a également été montré sur le système DxS/PEI qu'au-delà des seules interactions électrostatiques des forces secondaires comme les liaisons hydrogène et/ou les interactions hydrophobes pouvaient participer à la complexation. Il apparaît donc relativement difficile voire illusoire de prédire le comportement de tels systèmes macromoléculaires sur ses seules caractéristiques intrinsèques (nature, densité de charge, masse molaire) sans passer par une étude approfondie, longue, fastidieuse, et couteuse en temps comme en moyens. On entrevoit donc la nécessité de développer une méthodologie afin de classer et de quantifier de manière représentative le(s) comportement(s) du système investigué.

Ce chapitre se propose à l'aide d'expériences préliminaires d'établir une première ébauche de protocole pour l'étude systématique des systèmes de PE de charge opposée et de pouvoir ainsi peut-être répondre à la question : *est-il possible de comparer des systèmes macromoléculaires potentiellement hors équilibre ?*

Afin d'apporter des éléments de réponse, le choix a été fait d'une étude de quatre systèmes d'intensité de complexation variable à partir de quatre PE modèles commercialement disponibles et communément utilisés par la communauté scientifique pour des recherches fondamentales et des applications industrielles. Le polyéthylèneimine linéaire ( $\ell$  PEI) et le chlorure de polydiallyldiméthylammonium (PDADMAC) sont choisis comme polycations et le polystyrène sulfonate de sodium (PSSNa) et l'acide polyacrylique (PAA) comme polyanions. Les  $\ell$  PEI et PAA sont des PE faibles, les PDADMAC et PSSNa appartiennent à la classe des PE forts. Les combinaisons étudiées (Figure 4-1) permettront l'étude de systèmes à intensité d'interaction variable.

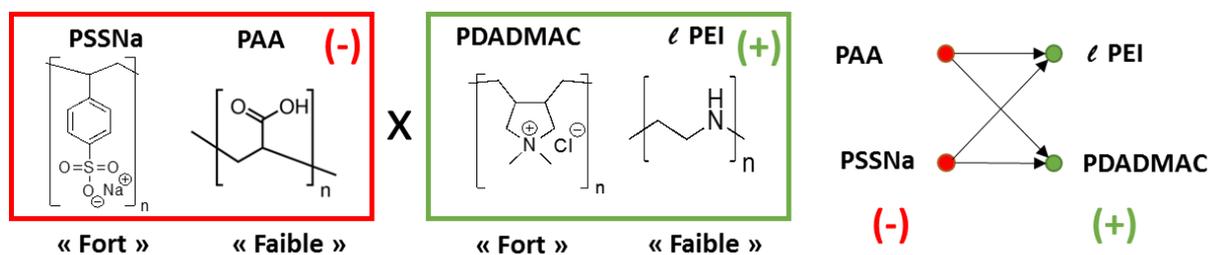


Figure 4-1 : (gauche) Structure des PE utilisés: le polystyrène sulfonate de sodium (PSSNa, polyanion fort hydrophobe) ; le polyacide acrylique (PAA, polyanion faible hydrophile) ; le polyéthylèneimine linéaire ( $\ell$  PEI, polycation faible hydrophile) et le chlorure de polydiallyldiméthylammonium (PDADMAC, polycation -légèrement hydrophobe- fort). (droite) combinaisons des PE étudiées.

Il est fait l'hypothèse que c'est l'intensité de l'interaction à travers la constante d'association  $K$  qui dicte le type de morphologie obtenue : une faible valeur donnera lieu à la formation d'un coacervat alors qu'une constante  $K$  élevée générera plutôt un précipité à la stœchiométrie. Une étude calorimétrique (ITC) permettra de confirmer cette hypothèse en déterminant la constante d'association  $K$  pour les différents systèmes de PEs.

Les domaines d'applications des complexes sous forme de coacervat et/ou de complexes colloïdaux issus de ces PEs sont multiples et diversifiés. On les retrouve ainsi comme matériaux [213,217,218] et revêtement de surface [221,58, 161,216,214] au travers en particulier de la technique de déposition multicouches (*layer-by-layer*) popularisée par Decher [49], comme base de capsules de substances actives [166,215] et plus récemment comme cellules artificielles. [208,209] Chaque système bénéficie d'autre part d'études approfondies et exhaustives ; PAA/PEI [212,160], PAA/PDADMAC [211,193,109], PSS/PDADMAC [212] qui ont servi de guide à l'élaboration de ce chapitre.

Dans le chapitre 2, l'étude des complexes PSS/PEI a montré la grande sensibilité aux paramètres de mélange d'un système à forte interaction. À la stœchiométrie de charge, la complexation génère des agrégats macroscopiques issus de la séparation de phase *liquide-solide* du système. En dehors de la stœchiométrie, les PECs formés sont chargés et stables dans le temps. Les systèmes dits faibles, forment quant à eux autour de la stœchiométrie une phase dite *coacervat* enrichie en PEs, en équilibre avec une phase appauvrie en polymère au travers d'une séparation de phase *liquide-liquide*; et donc bien moins sensibles aux chemins de formulation que leurs homologues forts.

Afin de réaliser une étude synoptique, la complexation de chacun des systèmes est étudiée et comparée sur 5 aspects clefs et discriminants :

- les morphologies générées (taille, polydispersité, charge de surface, stabilité...)
- la thermodynamique d'association (constante d'association  $K$ , enthalpie de mélange  $\Delta H$ , entropie  $\Delta S$  et énergie libre du système  $\Delta G$ )
- la cinétique aux temps courts (signature caractéristique des objets formés)
- la présence éventuelle de forces secondaires (détermination de la transition de dessalage et de la force ionique  $I_{\text{desalting}}$  et la concentration en sel  $C_{\text{NaCl}}$  associés)
- l'état d'hydratation des PEs (mesure de l'enthalpie de mélange à dilution infinie  $\Delta H_{\text{hydratation}}$ )

Il est donc nécessaire de définir au préalable des conditions optimales pour les quatre systèmes choisis permettant une utilisation optimale des diverses techniques de caractérisation. Les études sont réalisées avec une concentration relativement faible en PEs, de 1 à 15 mM en charge, ce qui correspond à une organisation homogène et au régime dilué pour tous les PEs à l'exception du PDADMAC (voir mesures de DNPA chapitre 3 et ci-dessous).

## 4.2 Polyélectrolytes

Les caractéristiques générales des PEs utilisés dans ce chapitre sont présentées dans le Tableau 4-1. Les principales propriétés du PDADMAC et du PAA sont présentées ci-dessous. Concernant le PEI et le PSS, on pourra se référer au chapitre 2.

Tableau 4-1 : Caractéristiques des PEs.

Dénomination	Classe	$M_{\text{motif}}$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	DP
PDADMAC <sub>60K</sub>	[+] fort	162	44 200	273
ℓ PEI <sub>2K</sub>	[+] faible	43	2 000	46
PSSNa <sub>4.3K</sub>	[-] fort	206	4 300	21
PAA <sub>2K</sub>	[-] faible	72	2 560	36

## 4.2.1.1 Chlorure de polydiallyldiméthylammonium

*Généralités*

Le PDADMAC ou chlorure de polydiallyldiméthylammonium ( $C_8H_{16}Cl$ )<sub>n</sub>, (Figure 4-2). Ce polycation est dit 'fort' car il possède une amine quaternaire, et une densité de charge élevée. De plus, il est soluble dans l'eau ce qui lui permet une complexation forte avec les espèces de charge opposée en solution.[213]

Par conséquent, ce PE est très utilisé comme agent de floculation des particules cationiques colloïdales dans le traitement des polluants des eaux usées.[214] Il est également pour les mêmes raisons employé dans la purification de l'eau par coagulation avec les algues, argiles ou encore des bactéries. On le retrouve dans le domaine des biomatériaux comme analogue de cartilage (saloplastique).[215] Il est également utilisé comme revêtement des capillaires d'électrophorèse par application de la technique de *layer-by-layer*. [216] Dubin *et al.* montrent qu'il est possible de l'associer à des protéines telles que la BSA pour former spontanément des phases coacervats qui permettront la micro-encapsulation de substances actives.[194,217] Enfin dans l'industrie du papier, il aide à la fixation de la broie (résine) issue de la transformation des arbres, augmente la capacité de rétention et la déshydratation pendant le processus de fabrication et améliore l'efficacité des charges cationiques ajoutées à la pâte de papier.[218–220,5]

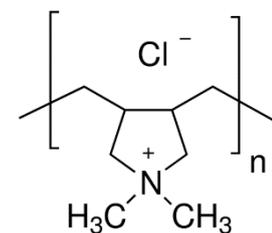


Figure 4-2: Structure du PDADMAC.

*Domaines de concentration par DNPA*

Le PDADMAC<sub>60K</sub> a été caractérisé par DNPA en solution dans D<sub>2</sub>O sans ajustement de pH dans une large gamme de concentrations afin de détecter les transitions entre les différents régimes de concentration. On voit sur la Figure 4-3 à gauche le déplacement du pic polyélectrolytique ( $q^*$ ) en fonction de la concentration en polymère (le bruit de fond a été soustrait pour superposer à grand  $q$  toutes les courbes, et ce quelle que soit la concentration en PDADMAC).[221] On observe également que l'intensité diffusée normalisée  $I(q)/c$  diminue à petit  $q$  lorsque la concentration en PE augmente. On peut le voir comme l'augmentation progressive du nombre de contre-ions libres en solution ( $C_{libre} \sim f_{eff} \times c$ ) responsables en grande partie de la compressibilité osmotique de la solution.[221] Comme nous l'avons vu dans l'introduction et le chapitre 2, ce pic résulte des interactions électrostatiques entre les polyions qui sont à l'origine d'une structure *pseudo-organisée* dont l'arrangement est caractérisé par une position du pic polyélectrolyte proportionnelle à une puissance de la concentration en PE.[200] Le déplacement du pic en fonction de  $c$  présenté dans la Figure 4-3 (droite) est en bon accord avec les résultats de Rawiso *et al.* sur ces lois d'échelle.[222] Le régime dilué ( $q^* \sim c^{1/3}$ ) n'est pas visible ici et le PDADMAC se trouve en régime semi-dilué aux concentrations relativement faibles retenues pour notre étude ; la concentration critique entre régime dilué et semi-dilué peut néanmoins être estimée à 20 mM. À des concentrations plus fortes comme celles par exemple de la phase coacervat obtenue dans le système PDADMAC/PANa [88], les chaînes de PDADMAC se trouvent (vraisemblablement) entre deux régimes : i) celui mis en avant très récemment par l'équipe de Rawiso et qualifié de '*nouveau régime*' où  $q^* \sim c^1$  avec une organisation dite encombrée\* de segments de chaîne de taille  $\sim Lp^\dagger$  avec i) une orientation aléatoire et ii) une organisation dite *nématique* de ces segments ( $q^* \sim c^{1/2}$ ) qu'il est par ailleurs difficile à atteindre et à quantifier. [143,222]

\* *Jammed*

† *Longueur de persistance*

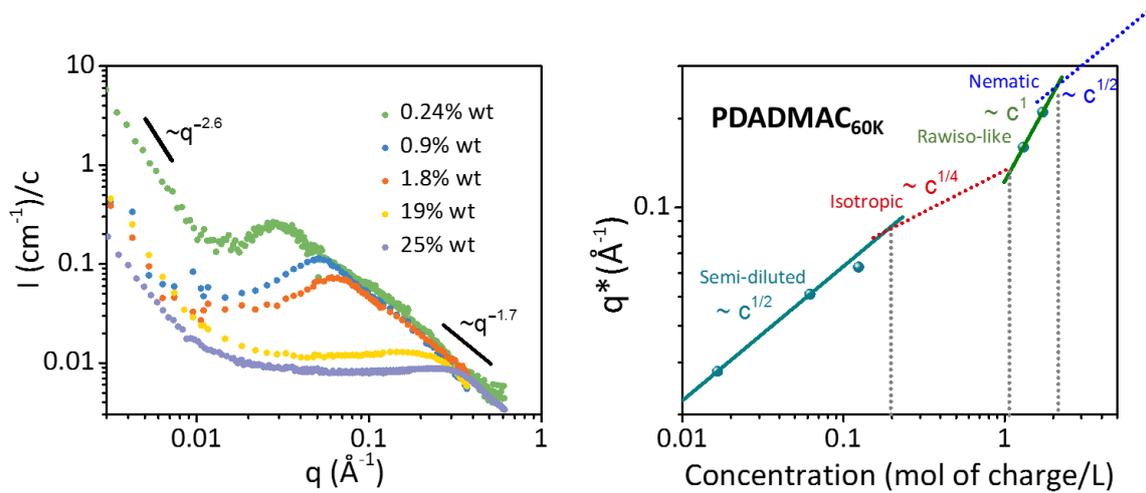


Figure 4-3 : (gauche) Intensité diffusée cohérente normalisée par la concentration en polymère ( $I \text{ (cm}^{-1}\text{)}/c$ ) en fonction du vecteur de diffusion pour des solutions de PDADMAC<sub>60K</sub> préparé dans le D<sub>2</sub>O sans ajustement de pH à différentes concentrations. Les concentrations en pourcentage massiques sont indiquées sur le graphique. (droite) Position du pic polyélectrolytique ( $q^*$ ) en fonction de la concentration en moles de charges par litre de solution. Les expériences à 0.24 et 25% ont été réalisées sur le spectromètre D22 (ILL) et celles de 0.9% à 19% sur le spectromètre PACE (LLB).

#### 4.2.1.2 Polyacide acrylique

##### Généralités

Le poly (1-carboxyéthylène), poly(acide acrylique) ou PAA est un PE faible ( $pK_a=5$ ) issu de la polymérisation de l'acide acrylique (la masse du motif est de 72.06 g/mol et de 94 g/mol pour la forme acrylate de sodium PANa). Il peut être associé à un ion métallique ou un ammonium. Du fait de sa sensibilité aux conditions physico-chimique de la solution, ce polyanion présente une aptitude à capter et libérer des protons en fonction du pH du milieu. En solution, cette caractéristique lui permet donc d'absorber de l'eau et d'augmenter son volume en gonflant. Il empêche également la séparation des émulsions, et contrôle la viscosité des formulations cosmétiques. Ces propriétés sont par ailleurs utilisées dans des domaines aussi variés que les soins à la personne (couches super absorbantes [223,7]), la pharmaceutique (systèmes à délivrance contrôlée [224,55], soins de la peau [225]), les adhésifs (colles médicales [226]), l'industrie du papier [159] ou encore les revêtements de surface (peintures [227], protections d'implants [3]) et les membranes de désalinisation.[228]

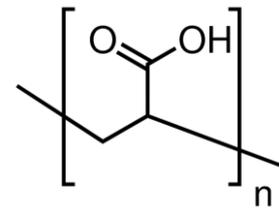


Figure 4-4 : Structure du PAA.

##### Détermination du taux de charge effectif du PAA par conductimétrie

Avec une masse molaire de 2kDa seulement, le PAA est en régime dilué aux concentrations utilisées pour cette étude. On estime la concentration critique de ce PAA<sub>2K</sub> à 0.5 mol/L. La concentration en mole de charge effective pour ce PAA<sub>2K</sub> en solution est déterminée par dosage conductimétrique avec une solution d'acide chlorhydrique à 1 M. Le pH de la solution de PAA est préalablement fixé à 10 par ajout d'une quantité connue d'une solution de NaOH à 0.5 M. L'excès de soude et le PAA sont titrés par ajout de HCl (Figure 4-5). Chaque portion est modélisée par une droite et l'intersection entre chaque droite correspond au volume d'acide 'consommé' par le PAA. Pour le PAA<sub>2K</sub>, la concentration réelle en monomères potentiellement chargés (sous forme de COO<sup>-</sup>) à pH=10 est ainsi de 84.2% seulement (en

partie à cause des bouts de chaînes différents et/ou de la présence d'eau fortement physisorbée dans la poudre).

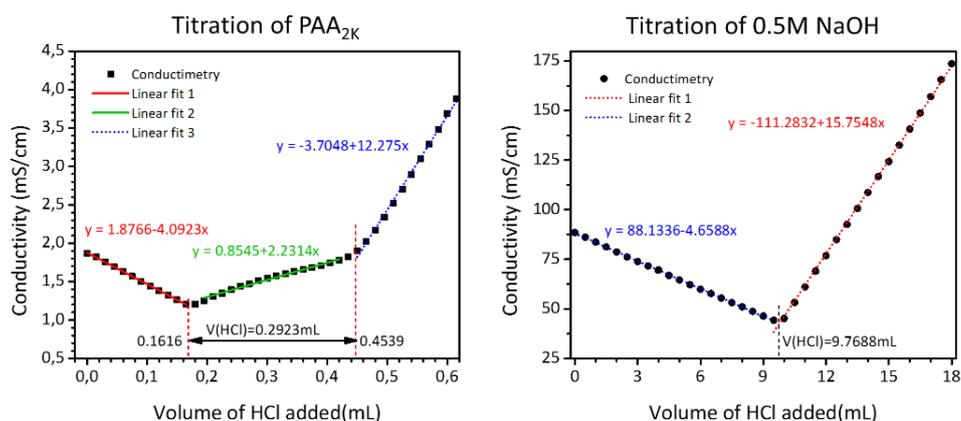


Figure 4-5 : (gauche) Titrage conductimétrique d'une solution de PAA<sub>2K</sub> à 1g/L à pH<sub>i</sub>=10 par de l'acide chlorhydrique à 1M. (Droite) Titrage conductimétrique de la solution de HCl utilisée par NaOH 1M.

#### 4.2.1.3 Caractérisation par chromatographie d'exclusion stérique

Les PAA<sub>2K</sub> et le PDADMAC ont été analysés par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion multiangle de la lumière (SEC-MALS). La Figure 4-6 montre que les distributions des masses molaires du PAA et du PDADMAC sont monomodales. Les valeurs de  $M_n$  et  $M_w$  fournies dans le Tableau 4-2 ont été obtenues en considérant l'ensemble de la distribution des masses molaires.

Tableau 4-2 : Masses molaires moyennes du PAA et du PDADMAC obtenues par SEC-MALS.

Polymères	dn/dc (mL/g)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	Polydispersité
PAA	0.1242	2560	3730	1.45
PDADMAC purifié*	0.1887	44200	70100	1.59

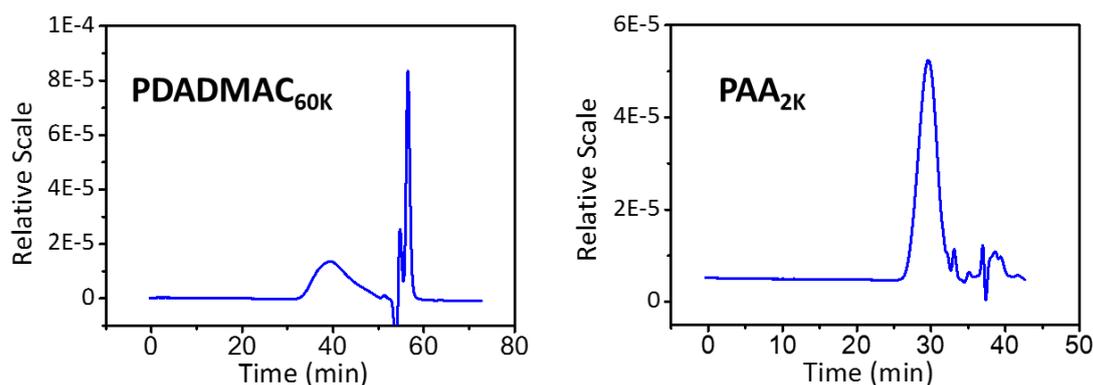


Figure 4-6 : Caractérisation du PAA<sub>2K</sub> et du PDADMAC<sub>60K</sub> par chromatographie d'exclusion stérique couplée à la détection multiangle de la lumière (SEC-MALS) (PAA : Tampon 0.01M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / 0.2 M NaNO<sub>3</sub>, pH 9 ; PDADMAC : Tampon 0.3 M CH<sub>3</sub>COOH/ 0.2 M CH<sub>3</sub>COONa). La réponse du réfractomètre (dRI, bleu) est représentée en fonction du temps de rétention (min).

\* dialysé

### 4.3 Conditions expérimentales

Les concentrations des PEs sont définies pour permettre un signal optimal en ITC (voir chapitre 1). En particulier, l'utilisation du paramètre de Wiseman a permis d'estimer les concentrations pour chaque système en se basant sur les valeurs des constantes d'association  $K$  des couples de PEs étudiés de la littérature. Aux concentrations de l'étude, les polymères sont en régime dilué à l'exception du PDADMAC qui est en régime semi dilué. Le pH des solutions est ajusté pour obtenir un taux d'ionisation élevé dans le cas des PEs faibles à savoir pH 3 pour le PEI et pH 10 pour le PAA. Dans ces conditions, le taux d'ionisation du PEI est de 0.73 (chapitre 3) et celui du PAA est 1.0.[164] Les solutions de PE sont filtrées sur membranes de cellulose à 0.45  $\mu\text{m}$  (Acrodisc®) avant utilisation. Toutes les données relatives aux solutions de PE utilisées dans ce chapitre sont décrites dans le tableau 4-3.

Tous les complexes ont été préparés par ajout lent (48  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) soit par ITC soit en utilisant un dispositif décrit dans le chapitre 2. Suite aux résultats mis en évidence dans le chapitre 3 pour le système  $\ell$  PEI/DxS, les deux sens d'ajout ont été systématiquement étudiés en fonction du rapport de charge  $Z$ . Pour les expériences de cinétique, le débit utilisé en stopped flow est fixé à 540 mL/min.

Tableau 4-3 : Conditions expérimentales utilisées pour l'étude de la complexation des quatre systèmes modèles de PEs.

Réaction complexation	$C_{\text{initiale PE}}$ Titrant( $\sim 10c$ )/Titré( $\sim c$ ) ( $mM_{\text{charge}}$ )	pH	$f_{\text{charge/motif}}$ Titrant/Titré	DP Titrant/Titré
PDADMAC <sub>60K</sub> dans PAA <sub>2K</sub>	14/1.4	10	1/1	7.5
PAA <sub>2K</sub> dans PDADMAC <sub>60K</sub>	14/1.4	10	1/1	0.13
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> dans PAA <sub>2K</sub>	16.5/0.8	8	0.33/0.8*	0.6
PAA <sub>2K</sub> dans $\ell$ PEI <sub>2K</sub>	11.2/1.65	8	0.8/0.33	1.7
PDADMAC <sub>60K</sub> dans PSSNa <sub>4.3K</sub>	14/1.4	10	1/1	5.9
PSSNa <sub>4.3K</sub> dans PDADMAC <sub>60K</sub>	14/1.4	10	1/1	0.17
$\ell$ PEI <sub>2K</sub> dans PSSNa <sub>4.3K</sub>	7/0.5	3	0.73/1	0.45
PSSNa <sub>4.3K</sub> dans $\ell$ PEI <sub>2K</sub>	5/0.7	3	1/0.73	2.2

#### 4.3.1 Caractérisation des complexes

Les solutions sont préparées suivant le protocole décrit ci-dessus puis caractérisées par différentes techniques.

##### *Thermodynamique et morphologie*

A partir des thermogrammes obtenus en ITC, une série de compositions ( $Z$ ) a été sélectionnée et reproduite dans les mêmes conditions avec des quantités plus importantes de solutions afin de pouvoir réaliser les différentes analyses physicochimiques suivantes (T+1 heure et T+24 heures) : diffusion dynamique de la lumière, potentiel zêta, microscopie optique et dosage potentiométrique (Figure 4-7).

##### *Cinétique de complexation*

La cinétique aux temps courts est suivie à l'aide d'un appareillage de stopped-flow sur des solutions à la concentration  $c$  (Tableau 4-3). L'intensité diffusée du rayonnement à 90° est normalisée par sa valeur à  $T=0$  ( $I_0$ ) tout comme au chapitre 2. Les volumes de mélange des deux seringues sont ajustés afin d'obtenir les rapports de charge  $Z$  souhaités tout en conservant un débit global de 540 mL/min et un temps mort de l'appareillage de 4 ms.

\* Taux de charge du  $\ell$  PEI déterminé au chapitre 2 ; taux de charge du PAA déterminé par Petrov et al.[189]

Evaluation de la contribution de l'interaction électrostatique à la complexation

La présence de forces secondaires (non électrostatiques) est estimée à partir des transitions de dessalage au sein des différents systèmes. Cela consiste à augmenter la force ionique du milieu (NaCl) jusqu'à 'éteindre' l'interaction électrostatique ou inversement à diminuer la force ionique d'une solution initiale contenant une concentration initiale en sel élevée. Les techniques de visualisation seront multiples : microscopie optique, diffusion statique de la lumière à 90° sur des échantillons réalisés à la main ([FAST]) ou par stopped-flow ([ULTRA FAST]).

Hydratation des polyélectrolytes

L'hydratation des PEs a été évaluée par ITC par mesures d'enthalpie à dilution infinie des PEs. De l'eau déionisée ajustée au pH de travail est ajoutée dans une solution de polymère jusqu'à obtenir des pics d'injection constants correspondant au signal de l'eau dans l'eau. L'aire des pics est alors sommée et normalisée par la concentration totale en motifs polymère (chargés et non chargés). Cette enthalpie de dilution infinie ( $\Delta H_d$ ) est assimilée à l'enthalpie d'hydratation (Figure 4-8 et Figure 4-17).

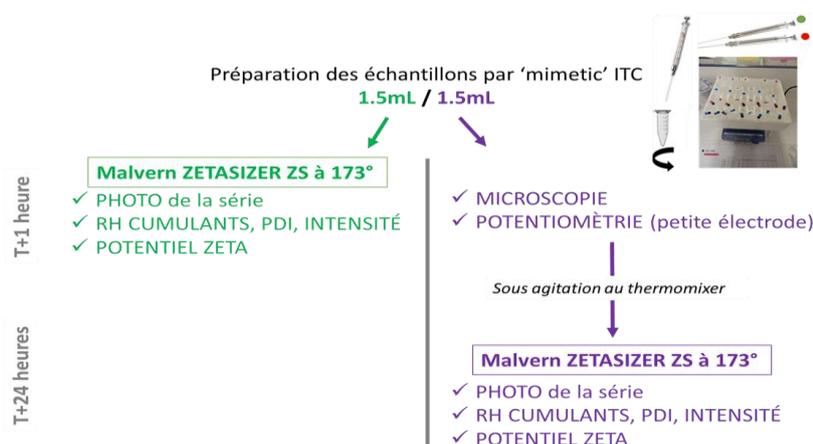
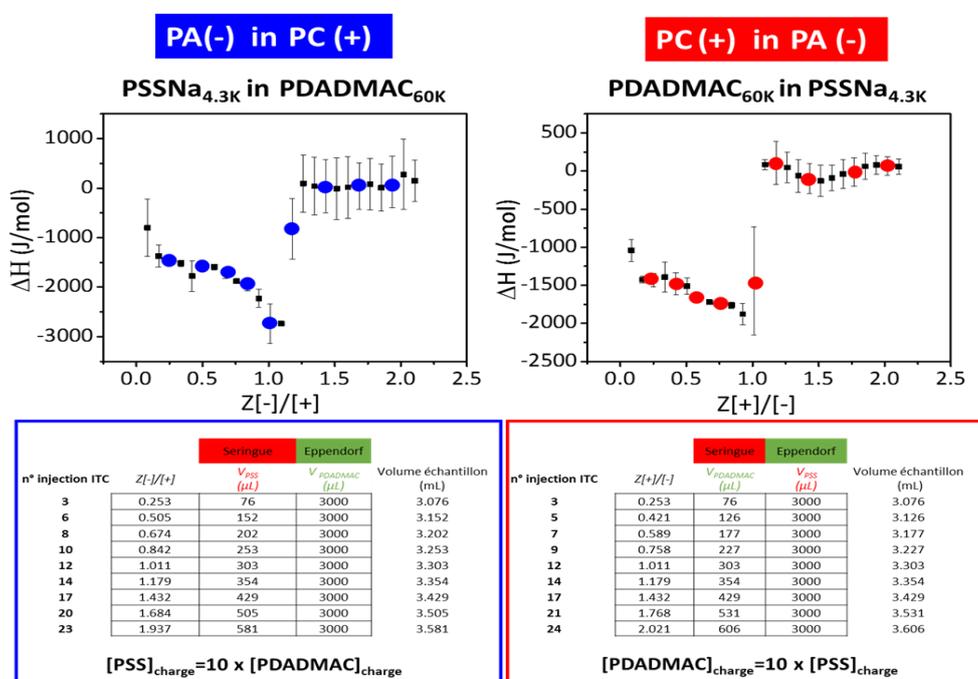


Figure 4-7 : Méthodologie générale pour l'étude des systèmes modèles de PEs, illustrée ici avec le système PSSNa/PDADMAC à pH 10. (haut) Détermination des points d'intérêt à partir des thermogrammes pour le

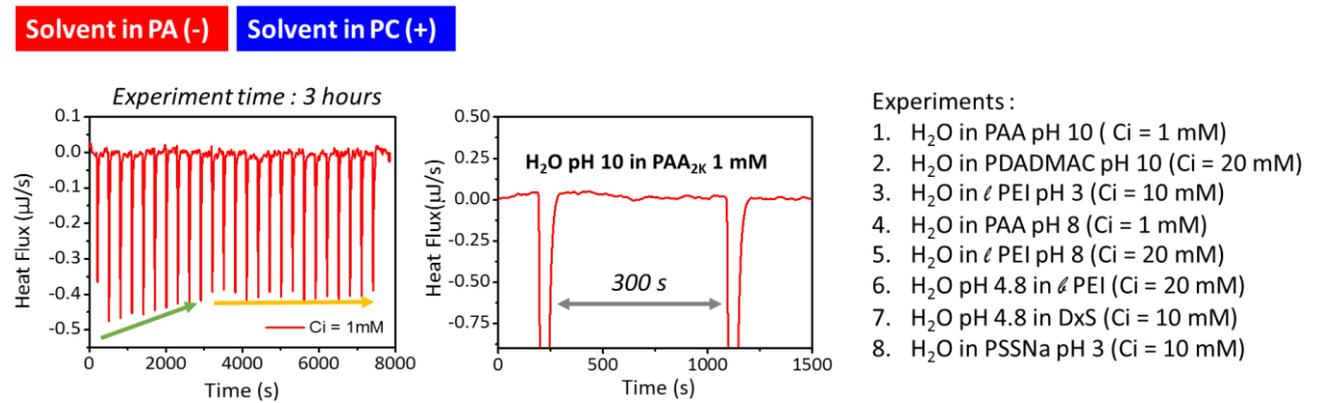


Figure 4-8 : Exemple de thermogramme pour la détermination de l'enthalpie d'hydratation des PEs,  $\Delta H_{\text{hydratation}}$ . Les concentrations sont en mM de motifs (chargés + non chargés).

## 4.4 Morphologies des complexes

Les points choisis à partir des titrations réalisés en ITC sont reproduits par mélange [SLOW] à la main et analysés. A l'image des chapitres précédents, une étude morphologique est alors conduite sur chaque échantillon en fonction de Z dans les deux sens d'ajout afin de déterminer :

- Le pH des solutions
- Le potentiel zêta par la mesure de la mobilité électrophorétique  $\zeta$  (mV) qui caractérise la charge de surface des PECs
- L'intensité DCR (kcps) à 90° qui caractérise l'intensité totale diffusée du système à  $T_0 + 1$  heure et  $T_0 + 24$  heures.
- Le rayon hydrodynamique  $R_H$  (nm) à 90° des objets diffusants déterminé ici par la méthode des cumulants (moyenne en z) à  $T_0 + 1$  heure et  $T_0 + 24$  heures.

Les Figure 4-10 et Figure 4-10 présentent les résultats de cette étude pour les deux sens du titrage, respectivement polycation (+) dans polyanion (-) et polyanion (-) dans polycation (+). Le Tableau 4-4 résume les informations générales tirées de ces figures et permettent une comparaison globale des systèmes.

Le pH est mesuré pour toutes les solutions et sa stabilité est un paramètre important à vérifier en premier lieu. En effet, toute variation au cours de la titration est le signe d'un changement de  $pK_a$  d'un des deux PEs qui se traduit par un changement d'ionisation et donc de charges disponibles dans le cas d'un PE dit faible. Il faudrait alors en tenir compte afin d'utiliser le rapport de charge Z effectif par la suite pour interpréter correctement les résultats. Par exemple, le système PAA x ℓ PEI montre une variation de 1.9 points de pH dans les deux sens d'ajout, suggérant un taux d'ionisation de ces deux PEs faibles qui changent durant le titrage. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sekar *et al.* qui montrent ces même fortes variations sur le système PAA x ℓ PEI.[229]

**PC(+) in PA(-)**

**MORPHOLOGIES**

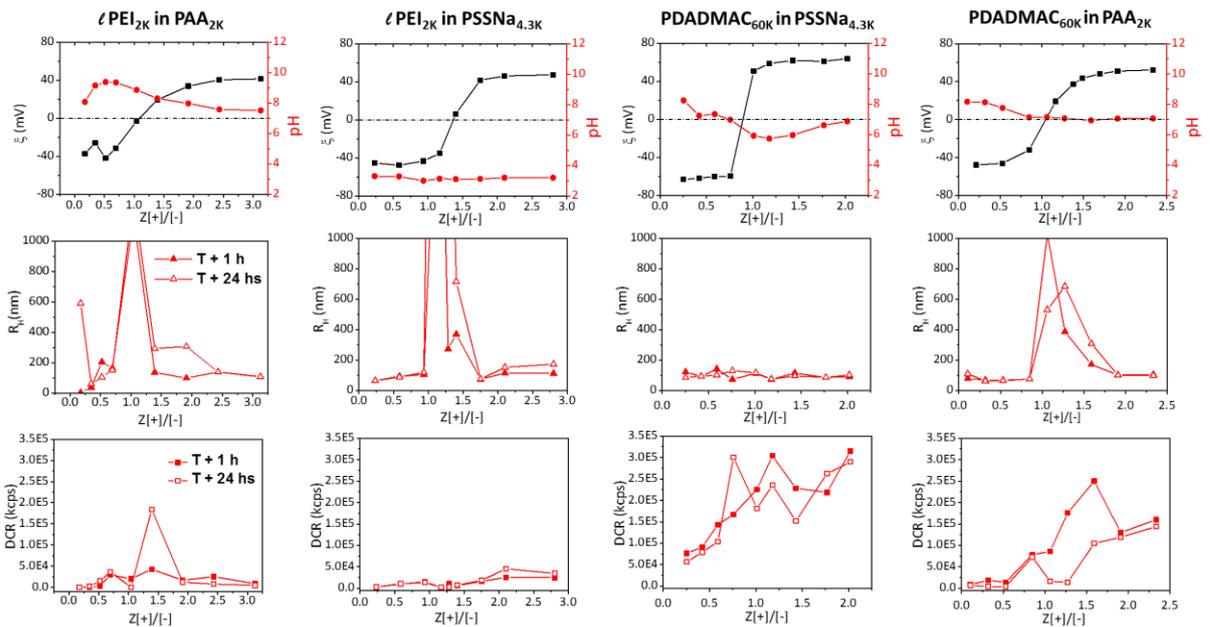


Figure 4-10 : Complexation dans le sens polycation (+) dans polyanion (-) par méthode d'ajout [SLOW] pour les quatre systèmes d'études :  $lPEI_{2K}/PAA_{2K}$ ;  $lPEI_{2K}/PSSNa_{4.3K}$ ;  $PDADMAC_{60K}/PSSNa_{4.3K}$ ;  $PDADMAC_{60K}/PAA_{2K}$ . Le potentiel zêta ZP (mV) et le pH des solutions sont présentés sur la première ligne. Le rayon hydrodynamique  $R_H$  (nm) déterminé par la méthode des cumulants et, l'intensité du rayonnement représentée par le DCR (kcps) à  $90^\circ$  sont présentés sur les deux lignes suivantes. Les conditions de préparation des complexes sont répertoriées dans le Tableau 4-3.

**PA(-) in PC(+)**

**MORPHOLOGIES**

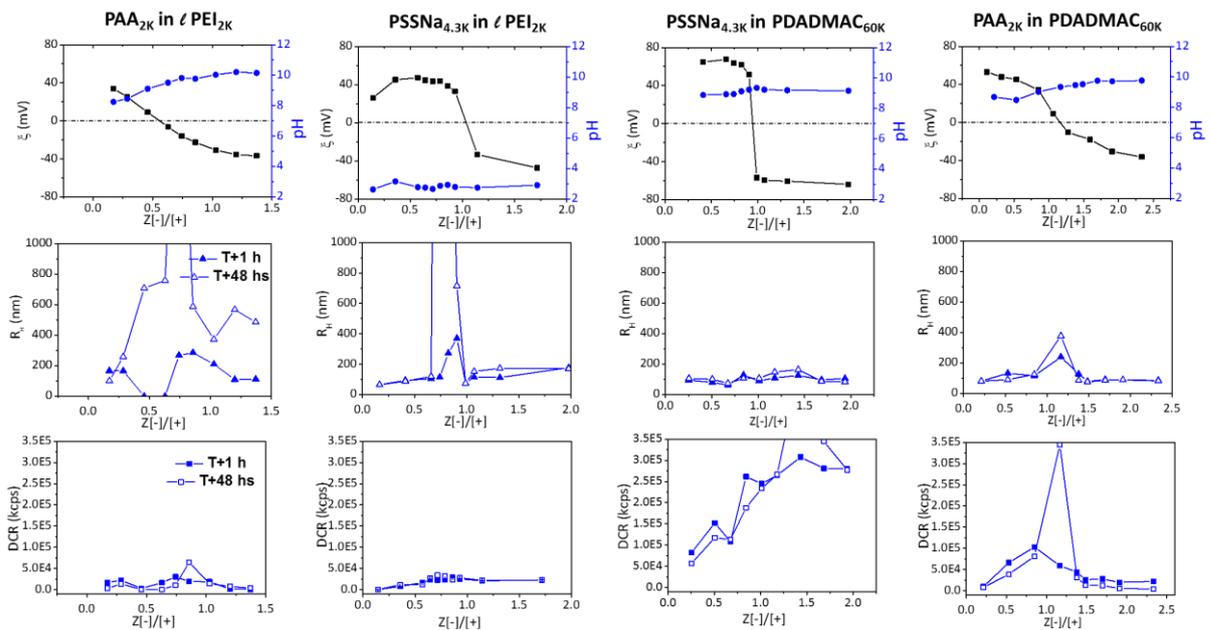


Figure 4-10 : Complexation dans le sens polyanion (-) dans polycation (+) par méthode d'ajout [SLOW] pour les quatre systèmes d'études :  $PAA_{2K}/lPEI_{2K}$ ;  $PSSNa_{4.3K}/lPEI_{2K}$ ;  $PSSNa_{4.3K}/PDADMAC_{60K}$ ;  $PAA_{2K}/PDADMAC_{60K}$ . Le rayon hydrodynamique  $R_H$  (nm) déterminé par la méthode des cumulants et, l'intensité du rayonnement représentée par le DCR (kcps) à  $90^\circ$  sont présentés sur les deux lignes suivantes. Les conditions de préparation des complexes sont répertoriées dans le Tableau 4-3.

Pour le système PSSNa x PDADMAC composé de deux PEs forts, on note une chute importante de 2.5 unités pH dans le sens PDADMAC dans PSSNa, très certainement le signe d'un pH différent dans les deux solutions de départ. Dans l'autre sens d'ajout, le pH est quasi constant, tout comme dans le système PSSNa x  $\ell$  PEI. Enfin, le pH du système PAA x PDADMAC varie d'1 unité dans les deux sens d'ajout. Les valeurs de Z seront ainsi légèrement sous estimées dans le sens PDADMAC dans PAA et surestimées dans le sens PDADMAC dans PAA.

La mesure de la mobilité électrophorétique des solutions et du potentiel zêta nous renseigne sur la charge des objets en solution. Lors du titrage de deux PEs de charge opposée, le signe de la charge de surface des PECs formés est donné par le PE en excès, et passe donc par un point isoélectrique assimilable à une stœchiométrie effective plus proche de la réalité que la stœchiométrie structurale du mélange initial. Pour le sens [+] dans [-], les deux systèmes PAA x PEI et PSSNa x PDADMAC montrent expérimentalement un passage à la neutralité plus précoce ( $Z=0.85$  et  $Z=0.9$ ) certainement consécutif à une variation de pH importante durant la titration. Pour les autres systèmes dans les deux sens d'ajout le passage à la neutralité est proche de  $Z = 1$ .

Classiquement, les tailles des objets sont mesurées par diffusion de la lumière dynamique à  $90^\circ$  (méthode des cumulants). La mesure de l'intensité statique de la diffusion au même angle d'observation renseigne quant à elle sur la densité et le nombre des objets diffusants et est accompagnée de clichés photographiques des solutions. On note sur la Figure 4-10 et la Figure 4-10 que le système PSSNa x PDADMAC semble se comporter indifféremment dans les deux sens d'ajout ; une taille d'objets constante de 100 nm (de rayon) avec une intensité diffusée qui augmente quasi linéairement, ce qui suggère la formation avec Z d'un nombre croissant d'objets de même nature.

Un suivi de la stabilité des PECs (taille et nombre), réalisé après 24 heures sous agitation apporte des informations sur l'équilibre du système et sur leur intégrité structurale. Loin de la stœchiométrie, les PECs semblent relativement stables. A l'approche de la neutralité, tous les systèmes à l'exception du PSSNa x PDADMAC subissent un changement en taille et de l'intensité de leur diffusion (Tableau 4-4). En effet, autour de  $Z=1$ , tous les PECs opèrent une transition morphologique plus ou moins rapide (voir paragraphe sur le suivi cinétique) avec une signature bien spécifique selon l'intensité de l'interaction : i) une augmentation de la taille des objets et (donc) de leur diffusion pour les systèmes forts générant des agrégats et ii) une diminution nette de l'intensité diffusée en solution pour les systèmes à faible interaction formant une phase coacervat (Figure 4-10).

Tableau 4-4 : Caractéristiques morphologiques des complexes pour les quatre systèmes d'études dans le sens PC (+) dans PA (-) et PA (-) dans PC(+). Les conditions de préparation des complexes sont répertoriées dans le Tableau 4-3.

<i>PC(+) in PA(-)</i>	<i>PAA x <math>\ell</math> PEI</i>	<i>PSSNa x <math>\ell</math> PEI</i>	<i>PSSNa x PDADMAC</i>	<i>PAA x PDADMAC</i>
<i>Z à la neutralité des PECs (ZP)</i>	0.85	1.04	0.90	1.05
<i><math>\Delta pH</math> (max/min du titrage)</i>	-1.9	-0.2	-2.5	-1
<i><math>R_H</math> (nm)</i>				
<i>Z<math>\neq</math>1</i>	~200-600 nm	Stable~100 nm	Stable~100 nm	Stable~200 nm
<i>Z~1</i>	$R_H \gg 1 \mu m$	$R_H \gg 1 \mu m$	100 nm	~ 800-1000 nm
<i>DCR (kcps)</i>				
<i>Z<math>\neq</math>1</i>	Constant	↑ quasi linéaire	↑ linéaire avant Z~1	↑ quasi linéaire
<i>Z~1</i>	Chute puis Pic	Légère chute	-	Chute

<i>PA(-) in PC(+)</i>	<i>PAA x ℓ PEI</i>	<i>PSSNa x ℓ PEI</i>	<i>PSSNa x PDADMAC</i>	<i>PAA x PDADMAC</i>
<i>Z à la neutralité des PECs (ZP)</i>	1.03	0.96	1.01	1.1
<i>ΔpH (max/min du titrage)</i>	+1.9	+ 0.2	+ 0.2	+1
<i>R<sub>H</sub>(nm)</i>				
<i>Z≠1</i>	~100-300 nm	Stable~100 nm	Stable~100 nm	Stable~100 nm
<i>Z~1</i>	R <sub>H</sub> >> 1 μm	R <sub>H</sub> >> 1 μm	~100 nm	~400 nm
<i>DCR (kcps)</i>				
<i>Z≠1</i>	Constant	↑ avant et ↓ après Z~1	↑ quasi linéaire	↑ avant ↓ diminution après Z~1
<i>Z~1</i>	Léger Pic	Léger Pic	100 nm	~800-100 nm

La morphologie à la stœchiométrie en charge est attestée par microscopie optique. Elle permet d'apporter les premières informations sur la morphologie du système autour du point de neutralité. Ces clichés représentatifs des morphologies observées à proximité de Z=1 sont présentés en Figure 4-11. On note que pour les systèmes PSSNa/PEI, PAA/PDADMAC, PSSNa/PDADMAC, les objets observés dans les deux sens du titrage semblent présenter des morphologies équivalentes. Dans la littérature, les solutions de coacervat (séparation liquide-liquide) sont décrites comme contenant des objets globulaires micrométriques possédant une tension interfaciale liquide-liquide (avec la phase appauvrie en polymère) très faible (<1 mN/m) ; la formation d'agrégats (précipités) issus cette fois-ci d'une séparation liquide-solide est attestée par la présence d'objets microniques irréguliers et sensiblement plus denses (contraste optique). Dans les cas des systèmes PSSNa x PDADMAC et PSSNa x ℓ PEI, des floculats macroscopiques sont même visibles à l'œil nu (Figure Annexe 17 et Figure Annexe 16). Par ailleurs, dans le cas du système PAA x ℓ PEI, (constitué de deux PEs faibles et sujets aux variations de pH lors du titrage) on observe de manière très intéressante deux types de morphologies : i) des agrégats dans le sens PAA dans ℓ PEI signe d'une transition liquide-solide ii) des objets clairement globulaires dans le sens ℓ PEI dans PAA plus en ligne avec une coacervation.

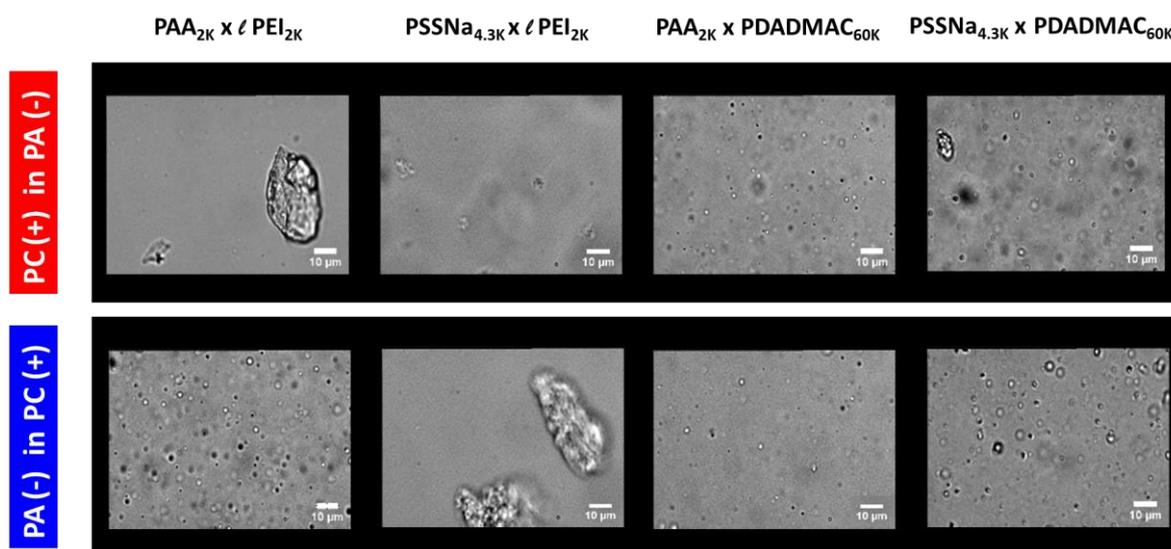


Figure 4-11 : Visualisation par microscopie optique des complexes préparés à la stœchiométrie de charge par une méthode d'ajout [SLOW] dans les deux sens d'ajout pour les quatre systèmes étudiés : ℓ PEI<sub>2K</sub>/PAA<sub>2K</sub> ; ℓ PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>4.3K</sub> ; PDADMAC<sub>60K</sub>/PSSNa<sub>4.3K</sub> ; PDADMAC<sub>60K</sub>/PAA<sub>2K</sub>. Les conditions de préparation des complexes sont mentionnées dans le Tableau 4-3. La barre d'échelle est de 10 μm.

Tableau 4-5 : Morphologies observées par microscopie optique dans la Figure 4-11.

	<i>PAA x ℓ PEI</i>	<i>PSSNa x ℓ PEI</i>	<i>PAA x PDADMAC</i>	<i>PSSNa x PDADMAC</i>
PC(+) in PA(-)	Agrégats	Agrégats	Coacervats	Agrégats
PA(-) in PC(+)	Coacervats	Agrégats	Coacervats	Agrégats

### 4.5 Cinétique de la complexation aux temps courts

La cinétique du processus de complexation est suivie par ajout ultra rapide dans un mélangeur à flux stoppé couplé à un détecteur de diffusion de la lumière. Dans les chapitres 2 et 3 qui s'intéressaient de manière approfondie à deux systèmes d'intensité d'interaction différente, l'étude cinétique a mis en évidence deux types de signatures distinctes:

- des courbes en cloche à la stœchiométrie pour les systèmes à interaction faible, qui coacervent ( $DxS/\ell$  PEI).
- des courbes 'plates' atteignant un plateau à l'équivalence pour les systèmes à interaction forte ; systèmes qui forment des agrégats ( $PSSNa/\ell$  PEI) à des temps inférieurs au temps mort de l'instrument. Une forme exponentielle a été occasionnellement obtenue pour les masses molaires élevées de PE ou en présence de sel ce qui traduit une cinétique de complexation plus lente.

L'idée est ici d'essayer de discriminer les systèmes en fonction de la forme adoptée par les courbes de diffusion de la lumière en fonction du temps. Les courbes sont normalisées par  $I_0$  l'intensité à  $T=0$  afin de pouvoir comparer les systèmes entre eux pour chaque rapport de charge  $Z$ . Dans cette géométrie symétrique de mélange ultra-rapide, il n'y a aucun ordre d'ajout préférentiel des PEs. Le choix de représenter les  $Z[+]/[-]$  est donc arbitraire. Sur la Figure 4-12, on note deux types de comportement :

- les systèmes  $PAA_{2K} x \ell$  PEI<sub>2K</sub> et  $PAA_{2K} x$  PDADMAC<sub>60K</sub> montrent des courbes en cloche caractéristiques de systèmes qui coacervent à la stœchiométrie.[144,230,87]
- les systèmes  $PSSNa_{4.3K} x \ell$  PEI<sub>2K</sub> et  $PSSNa_{4.3K} x$  PDADMAC<sub>60K</sub> qui présentent des courbes exponentielles à la stœchiométrie, signature de systèmes qui s'aggrègent.[144]

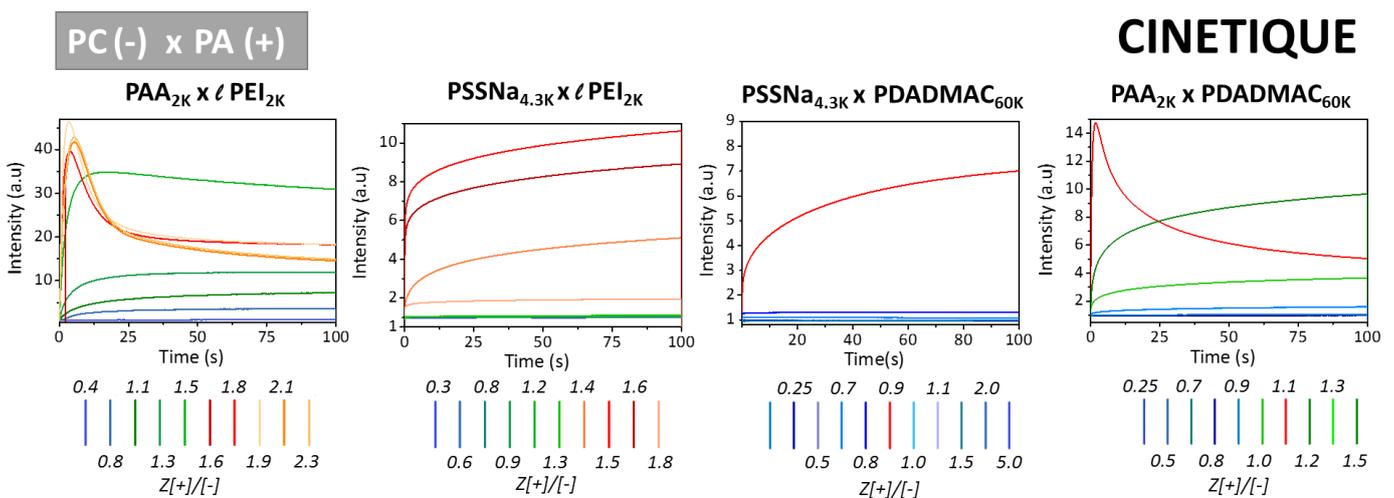


Figure 4-12 : Intensité diffusée à 90° normalisée ( $I = I/I_0$ ) en fonction du temps pour les quatre systèmes d'études :  $PAA_{2K}/\ell$  PEI<sub>2K</sub>,  $PSSNa/\ell$  PEI<sub>2K</sub>. La concentration de chaque PE est identique et égale à  $c$  (concentration *Titre*, Tableau 4-3) et les rapports de charge  $Z[+]/[-]$  entre 0.25 et 5 en fonction des systèmes. Le voltage de l'appareillage est précisé pour chaque système en Tableau Annexe 10.

L'intensité diffusée (unité arbitraire) des systèmes dits 'forts' qui s'agrègent, augmente avec le temps et présente des valeurs au temps long (100 s) comprises entre 4 et 11 pour le  $\text{PSSNa}_{4.3\text{K}} \times \ell \text{PEI}_{2\text{K}}$  et 6 pour le  $\text{PSSNa}_{4.3\text{K}} \times \text{PDADMAC}_{60\text{K}}$ . Pour les systèmes plus 'faibles' qui coacervent, la variation de l'intensité n'est pas monotone mais atteint très rapidement un maximum (<1-2 s) avant de décroître plus lentement : les systèmes  $\text{PAA}_{2\text{K}} \times \ell \text{PEI}_{2\text{K}}$  et  $\text{PAA}_{2\text{K}} \times \text{PDADMAC}_{60\text{K}}$  présentent un pic d'intensité à 40 et 14 et une intensité à 100 s de 14 et 6 respectivement. Il est à noter qu'en microscopie optique on observe bien une phase coacervat (globules microniques) sur les systèmes  $\text{PAA}_{2\text{K}} \times \ell \text{PEI}_{2\text{K}}$  et  $\text{PAA}_{2\text{K}} \times \text{PDADMAC}_{60\text{K}}$  et des agrégats sur les systèmes  $\text{PSSNa}_{4.3\text{K}} \times \ell \text{PEI}_{2\text{K}}$  et  $\text{PSSNa}_{4.3\text{K}} \times \text{PDADMAC}_{60\text{K}}$  (Figure 4-11).

Dans le cas de systèmes 'forts', l'intensité augmente relativement lentement avec une forme qui rappelle un processus d'agrégation limité par la diffusion puis par la réaction au temps plus long en accord avec une signature DNPA en  $q^{-2.1/2.3}$ [93] ; après quelques heures (/jours), le tout sédimente au fond du flacon (/cellule). Le cas de la coacervation est plus délicat et à ce stade on ne peut émettre que des hypothèses quant au mécanisme au temps court. En moins d'une seconde l'intensité atteint un maximum avant de décroître plus lentement. Lors du mélange ultra-rapide, les PECs précurseurs globalement neutres (vraisemblablement formés pendant le temps mort - 4 ms) vont fusionner très rapidement les uns avec les autres afin d'augmenter l'entropie du système formant des objets de plus en plus gros (globules) en ligne avec une intensité qui augmente fortement dans le même temps. Il s'ensuit une phase de mélange et de réorganisation à l'intérieur des globules fortement hydratés (de 80 à 45 %/w), les chaînes PEs adoptent alors une configuration sans doute moins compacte que dans les précurseurs ; l'indice optique  $n$  du système PAA/PDADMAC mesuré dans la phase coacervat à l'aide d'un réfractomètre de Fresnel est en effet de  $n \sim 1.385$ . Sans en avoir encore la preuve formelle, les précurseurs quant à eux qui ne sont pas encore fortement hydratés (à  $Z=0.9$  par exemple les PECs du système PAA/PDADMAC s'adsorbent à l'interface eau/air) et possèdent certainement encore un  $n$  proche de celui des PEs ( $\sim 1.45$ -50). Dans ce contexte, il apparaît plausible que l'intensité diffusée diminue lors de cette réorganisation interne avec  $n$ . Au temps très long (> 24 h), les globules ont tous fusionné puis sédimenté pour former une phase dense et homogène de coacervat.

## 4.6 Thermodynamique de la complexation

Les paramètres thermodynamiques des systèmes de PEs sont obtenus par titrage calorimétrique isotherme (ITC), technique déjà utilisée dans le chapitre 3 avec le système  $\text{DxS}/\ell \text{PEI}$ . Les échanges de chaleur sont mesurés en fonction du temps et des injections, et la contribution à la chaleur totale des polymères seuls (dilution) est soustraite du thermogramme brut. L'aire sous la courbe donne directement la mesure de l'enthalpie réactionnelle normalisée par la quantité de matière du PE titrant (voir Grandeurs thermodynamiques accessibles par ITC et Caractéristiques expérimentales en ITC du chapitre 1).

Les titrages réalisés sur les divers couples de PEs dans les deux sens d'ajout sont présentées sur la Figure 4-13. L'ajustement de chaque thermogramme expérimental est réalisé à l'aide d'un modèle à deux sites indépendants. En effet, la complexation des PEs se fait en deux étapes supposées séquentielles : i) la formation de PECs (en vert) suivie ii) d'une agrégation ou d'une coacervation (en orange). Le processus complet est représenté en rouge (PC dans PA) ou bleu (PA dans PC).

Il est alors possible d'accéder aux grandeurs thermodynamiques suivantes (voir Figure Annexe 18) :

- $K_1$  la constante d'association des PEs sous forme de PECs.
- $n_1$  la stœchiométrie de cette complexation.
- $\Delta H_1$  et  $\Delta H_2$  les enthalpies respectives de la formation des PECs et du processus de séparation de phase (agrégation vs. coacervation)
- $\Delta S_1$  et  $\Delta S_2$  les contributions entropiques des deux processus.
- $\Delta G_1$  et  $\Delta G_2$  l'énergie libre des deux processus.
- $\Delta H_{\text{global}}$ ,  $\Delta S_{\text{global}}$  et  $\Delta G_{\text{global}}$  les grandeurs thermodynamiques du processus global (1+2).

Pour rappel, le modèle, MNIS à deux sites, est construit en utilisant la même fonction sigmoïdale pour chacun des processus supposés séquentiels et indépendants (voir Modélisation des données par le modèle MNIS du chapitre 1). Les paramètres thermodynamiques essentiels de la Figure 4-13 sont présentés synthétiquement dans le Tableau 4-6 et en intégralité en Figure Annexe 16).

Tous les systèmes présentent des thermogrammes sensibles à l'ordre d'ajout, avec de très importantes variations dans le cas des systèmes  $\ell$  PEI x PAA et  $\ell$  PEI x PSSNa. Pour rappel, les représentations utilisées sont  $Z[+]/[-]$  et  $Z[-]/[+]$ . Sur une même échelle de  $Z$ , les valeurs ne se recouvrent pas ; ce n'est donc pas le même dosage qui est représenté dans les deux sens d'ajout (voir chapitre 3, Conditions expérimentales de la complexation). Afin d'estimer l'impact de la cinétique sur les mesures, on peut regarder dans un premier temps sans faire appel à aucun modèle si i) les échanges de chaleur tendent bien vers 0 lorsque  $Z$  tend vers 1 suggérant que tous les groupes anioniques ont réagi avec leurs *alter ego* cationiques ii) si la valeur de l'enthalpie cumulée jusqu'à  $Z=1$  dépend de l'ordre d'ajout. [152] Les systèmes PAA x PDADMAC et PDADMAC x PSSNa ne semblent donc pas être impactés par la cinétique d'association. Cela suggère que ces 2 systèmes sont à l'équilibre thermodynamique. En effet, le système PAA x PDADMAC, très étudié dans notre groupe forme des (globules) coacervats en équilibre avec une phase appauvrie en polymère, le surnageant. Le système PSSNa x PDADMAC quant à lui présente des transitions entre agrégats solides  $\rightarrow$  coacervats  $\rightarrow$  solution de PEs lorsque du sel est ajouté [137,144] ; toutes ces phases étant à l'équilibre comme l'a récemment montré Schlenoff *et al.* Pour les systèmes PAA x  $\ell$  PEI et le PSSNa x  $\ell$  PEI, les différences d'enthalpies cumulées sont nettement plus importantes suggérant des systèmes hors-équilibre sensibles aux chemins de formulation.

La valeur de  $n_1$ , associée à l'étape de formation des PECs souvent proche de 1 dans la littérature nous renseigne sur les écarts éventuels à la stœchiométrie de charge du système dus par exemple à une variation de pH durant le titrage. Comme pour les valeurs déterminées par mobilité électrophorétique (ZP) du Tableau 4-4, des écarts très importants sont observés pour le système basé sur les deux PEs faibles  $\ell$  PEI x PAA (et dans une moindre mesure, on observe des variations également pour le système PAA x PDADMAC).

Bien que le terme de 'complexation électrostatique' soit très utilisé dans la littérature pour décrire l'association de PEs de charge opposée, il apparaît néanmoins très souvent que la force motrice soit non pas d'origine enthalpique mais entropique (relargage des contre-ions et des molécules d'eau) C'est bien le cas pour les systèmes étudiés dans ce chapitre qui présentent un  $|T\Delta S_1| > |\Delta H_1|$  à l'exception toutefois du PAA dans  $\ell$  PEI avec un  $\Delta H_1$  ( $\sim -40$  kJ/mol) très fortement exothermique ; un effet en partie dû à la variation de pH durant le titrage

Au niveau purement enthalpique, lors de la complexation des liaisons sont formées (phénomène exothermique) et d'autres sont détruites (endothermique). Avant de réaliser un appariement ionique\* ( $\Delta H < 0$ ) *via* des forces de Coulomb, (ou tout autre type d'interaction attractive comme les liaisons hydrogènes, l'interaction hydrophobe...) il faut relarguer les contre-ions et déshydrater les groupes ioniques ( $\Delta H > 0$ ) qui pourront dans un deuxième temps se réhydrater partiellement ( $\Delta H < 0$ ). L'ITC donne simplement une mesure globale de toutes ces contributions sans pour autant pouvoir les distinguer.

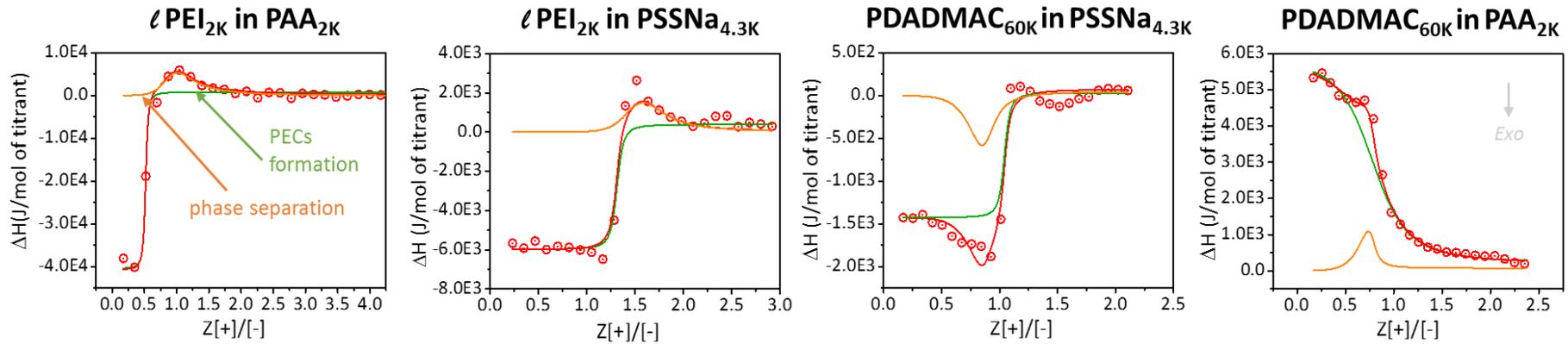
Dans le Tableau 4-6, il est intéressant de noter que le  $\Delta H_1$  peut-être i) soit exothermique et dans ce cas il participe avec l'entropie à la minimisation de l'énergie libre  $\Delta G$  de la réaction ii) soit endothermique et dans ce cas il s'oppose à la complexation (contrôlée par l'entropie) et donc en minimise son intensité. Les valeurs d'entropie  $T\Delta S$  du processus 1 sont de 25 à 30 kJ/mol pour tous les systèmes à l'exception du PAA x  $\ell$  PEI, ce qui conforte la position motrice de ce paramètre dans la complexation de PEs.

---

\* ion-pairing

# THERMODYNAMIQUE

## PC (+) in PA (-)



## PA (-) in PC (+)

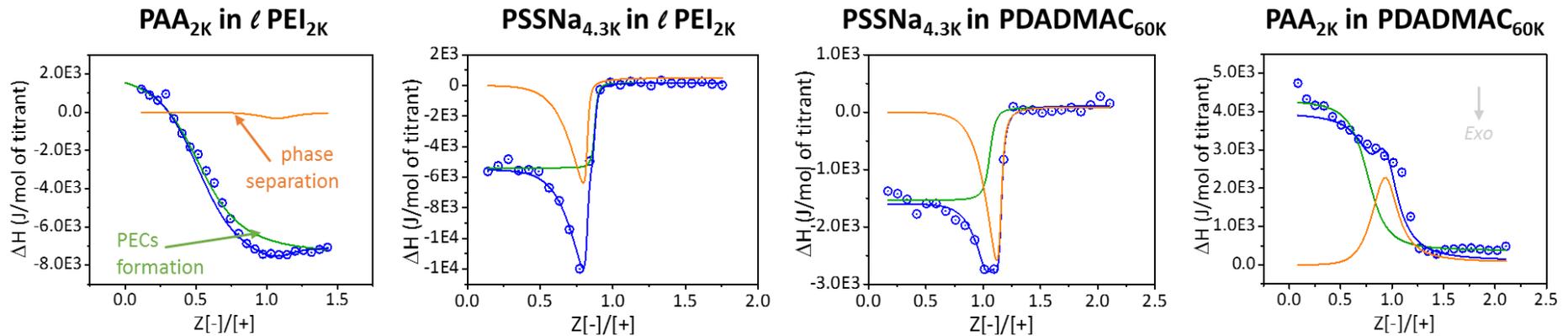


Figure 4-13 : Enthalpies différentielles (Joules par mole de charge de polymère titrant) en fonction du rapport molaire de charges  $Z$ , dans les deux sens de titrage pour les quatre systèmes d'étude. Les concentrations en polymère et pH des solutions sont répertoriées dans le Tableau 4-3. Les données issues de l'expérience sont représentées en symboles ouverts, la courbe de la même couleur montre la modélisation de ces données. Les courbes vertes et orange modélisent les deux processus du modèle MNIS, respectivement la formation des PECs et la séparation de phase (liquide-liquide dans le cas de coacervats et liquide-solide dans le cas d'agrégats).

Tableau 4-6 : Paramètres et grandeurs d'intérêt thermodynamiques pour les quatre systèmes d'études ; dans les conditions du Tableau 4-3.

	PAA <sub>2K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>		PSSNa <sub>4.3K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>		PSSNa <sub>4.3K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>		PAA <sub>2K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>	
	PC(+) in PA(-)	PA(-) in PC(+)	PC(+) in PA(-)	PA(-) in PC(+)	PC(+) in PA(-)	PA(-) in PC(+)	PC(+) in PA(-)	PA(-) in PC(+)
<b>Processus 1 : formation des PECs</b>								
$K_1(M^{-1})$	$7.1 \times 10^4$	$1.9 \times 10^3$	$1.5 \times 10^5$	$1.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	$8.4 \times 10^4$	$1.6 \times 10^3$	$5.9 \times 10^3$
$n_1$	0.5	0.6	1.3	0.9	1.0	1.1	0.8	0.8
'Force motrice $\Delta S$ '	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓
$\Delta H_{cumulé}(kJ/mol)$	-88.3	-54.1	-47.0	-73.0	-17.4	-19.8	44.7	41.1
$T\Delta S_1(kJ/mol)$	13.6	29.7	28.3	18.8	27.3	26.5	24.0	25.5
<b>Processus 2 : séparation de phase (liquide/liquide ou liquide/solide)</b>								
Morphologie	Agrégat	Coacervat	Agrégat	Agrégat	Agrégat	Agrégat	Coacervat	Coacervat
<b>Processus global : 1 + 2</b>								
$K_{global}(M^{-1})$	$7.3 \times 10^4$	$2.4 \times 10^4$	$1.6 \times 10^5$	$3.2 \times 10^6$	$1.3 \times 10^5$	$3.4 \times 10^5$	$4.9 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$
$T\Delta S_{global}(kJ/mol)$	52.7	53.0	51.4	48.3	49.7	50.0	54.3	58.3
$\Delta G_{global}(kJ/mol)$	-44.9	-43.4	-51.8	-41.0	-53.4	-59.0	-45	-45.4
Paramètre $c_{Wiseman}$	33	38	110	7000	495	2000	44	12

En observant les thermogrammes et plus particulièrement la constante d'association  $K_1$  (processus 1) relative à la formation des PECs et le type de morphologies finales générées lors de la séparation de phase (processus 2), on distingue deux classes de systèmes en parfait accord avec les résultats obtenus par stopped flow :

Les systèmes dits 'forts' qui génèrent des agrégats solides (PSSNa x PDADMAC, PSSNa x  $\ell$  PEI et  $\ell$  PEI dans PAA) caractérisés par des constantes  $K_1$  de l'ordre de  $10^5$ -  $10^6$  M<sup>-1</sup> et une forte exothermicité enthalpique.[137]

Les systèmes dits 'faibles' (PAA x PDADMAC et PAA dans  $\ell$  PEI) caractérisés par des constantes  $K_1$  bien plus faibles de l'ordre de  $10^3$  M<sup>-1</sup> et une grande contribution endothermique qui va modérer l'intensité de la complexation et donc générer à la stœchiométrie des systèmes moins denses et bien plus hydratés : les coacervats. [229,109]

On note enfin que les valeurs globales d'entropie ( $T\Delta S$ ) et d'énergie libre ( $\Delta G$ ) normalisées par la quantité de charge du PE titrant sont comparables pour tous les systèmes. Le paramètre de Wiseman\* qui permet d'anticiper les conditions optimales d'une mesure ITC est également (re)calculé pour chaque système. On voit bien comme cela a été indiqué au chapitre 1 que plus le système est 'fort' (K élevé) plus la valeur de C est grande et donc que son étude doit être réalisée en solution diluée afin d'obtenir des courbes d'ITC exploitables.[231,232,119]

A ce stade il est intéressant de s'arrêter sur la notion d'interaction électrostatique. Ce concept basée sur une 'matière continue' suppose une interaction de Coulomb entre charges de signe opposé, une constante diélectrique uniforme, des (contre)-ions indifférenciés et sans dimension, une longueur de Bjerrum  $l_B$ , une condensation (possible) des ions et une longueur d'écrantage de Debye  $\lambda_D$ . D'après cette approche 'du point de vue de la physique', deux systèmes PEs qui possèdent les mêmes paramètres de Manning  $\Gamma^+$  (où la charge effective est  $f_{eff}=1/\Gamma$ ) devraient se comporter de la même façon (voir Conformation des PEs fortement chargés, chapitre 1).

C'est justement le cas des deux systèmes PDADMAC X PAA et PDADMAC X PSSNa qui présentent les mêmes paramètres de Manning ( $\xi_{PDADMAC}=1.44$ ,  $\xi_{PSSNa}$  et  $\xi_{PAA}=2.88$ ). Ces deux couples de PEs se complexent néanmoins d'une façon radicalement différente. À la stœchiométrie, le système 'faible' forme une phase coacervat très hydratée tandis que le système 'fort' génère des agrégats solides denses.

Ainsi, le caractère *discret de la matière*, la spécificité des ions avec leur taille finie et leur couche d'hydratation doivent être pris en compte pour espérer expliquer cette différence importante au niveau de la morphologie des complexes et de manière plus générale, pour mieux comprendre et prédire la complexation des PEs.[30,152,233,234]

## 4.7 Evaluation de l'intensité électrostatique par expérience de dessalage

La détermination de la transition de dessalage d'un système de PEs permet d'identifier pour une nature de sel donnée la quantité qu'il faut ajouter pour écranter (*doper*) les charges des PEs [152]; au-dessus de cette valeur critique, les deux PEs n'interagissent plus, la solution est dite dormante. Si cette valeur est élevée (>1 M en concentration molaire en sel  $C_{sel}$ ), cela peut signifier que :

- L'interaction au sein du système est forte, il sera donc plus difficile de séparer les PEs appariés ; le plus souvent ces systèmes sont hors équilibre et possèdent des constantes de réaction  $>10^4$ - $10^5$  M<sup>-1</sup>.

\*  $C_{Wiseman}=[\text{macromolécules titrées}] \times K_a$

†  $\xi = \frac{l_b}{b} = \frac{e^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 kTb}$  avec b les distance entre monomères

- A ces forces ioniques, l'interaction électrostatique 'classique' est totalement écartée ( $\lambda_D < 0.3$  nm), il existe donc des forces secondaires à l'œuvre (forces hydrophobes, liaisons hydrogènes...).

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer la transition de dessalage, et leur utilisation dépend du système à étudier.

- Une solution 'dormante' est réalisée à une concentration en sel élevée, puis le système est dilué progressivement au pH de l'étude jusqu'à observer une 'reprise' de l'interaction entre PEs (détection visuelle et/ou par augmentation brusque de l'intensité diffusée en SLS ou du  $R_H$ ).
- Une solution de PEs sans sel est réalisée, et une solution saline concentrée est ajoutée pour augmenter la force ionique du système jusqu'à obtenir une diminution importante de l'intensité diffusée synonyme de transition.
- Diverses solutions mères peuvent être préparées avec des quantités de sel connues puis les mélanges sont réalisés et laissés sous agitation pour une détermination visuelle ou par diffusion de la lumière.

Etudier l'effet de l'ajout de sel dans des systèmes chargés de PEs, c'est s'intéresser également à l'intensité de l'interaction. Ainsi, lorsque la concentration en sel augmente, le système devient de moins en moins sensible aux paramètres de formulation car on diminue la réactivité des PEs ce qui constitue un atout pour des systèmes 'forts', difficiles à maîtriser car hors-équilibre pour la plupart.[235] Schlenoff et Tirrell indiquent quant à eux que cette concentration en sel serait la *concentration effective* nécessaire pour dissocier totalement toutes les liaisons ioniques entre les PEs présents en solution.[152,236]

Tableau 4-7 : Caractéristiques des mesures de transitions de dessalage pour les cinq systèmes d'étude à  $Z \sim 1$ . La concentration, le pH, la méthode d'ajout, et la technique de détermination des transitions sont précisées (voir Tableau 4-3).

Couple de PEs	PAA <sub>2K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>	PSSNa <sub>70K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>	PSSNa <sub>70K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>	PAA <sub>2K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>	DxS <sub>20K</sub> /ℓ PEI <sub>25K</sub>
$C_{NaCl}$ (M)	2.1 (pH 6) 1.1 (pH 7)	4.7	0.54	0.28	3.6
pH	pH 6/pH 7	pH 3	pH 10	pH 10	pH 10
[PE]	9 mM	14 mM	14 mM	14 mM	10 mM
Ajout sel	[FAST]	[FAST]	[ULTRA FAST]	[FAST]	[FAST]
Détermination	SLS	Visuel	SF	SLS/DLS +SF	SLS

Pour les quatre systèmes d'étude, des mesures de transition de dessalage en NaCl ont été effectuées en utilisant les différentes techniques citées ci-dessus, et les résultats sont répertoriés dans le Tableau 4-7 (et en Annexe 4, Evaluation de la force électrostatique par expérience de dessalage). On observe que les systèmes DxS x ℓ PEI et PSSNa x ℓ PEI ont des transitions élevées (4.7 M et 3.6 M) si toutefois cela représente encore quelque chose de significatif à des concentrations aussi élevées en sel. Le système PAA x PDADMAC cesse d'interagir à 0.28 M, en deçà il forme une phase coacervat. Le système PAA x ℓ PEI semble intermédiaire avec 1.1 (pH 6) et 2.1 M (pH 7) en sel.[237] Le système PSSNa x PDADMAC quant à lui passe progressivement d'une phase précipité à une phase coacervat vers 0.55 M puis une solution dormante à 3 M.

Schlenoff *et al.* et Giermanska *et al.* montrent effectivement que sur le système 'fort' PSSNa/PDADMAC il existe un continuum de morphologies (agrégats-coacervats-solution) en fonction de la quantité et de la nature du sel.[137,144,238] Cela confirme donc que les morphologies finales sont bien contrôlées par l'intensité de l'interaction entre PEs (Figure 1-39 et Figure 4-14 a). L'utilisation du SF est un véritable atout car permet d'une part de déterminer les transitions de dessalage mais également grâce à une signature spécifique de distinguer la nature des morphologies générées (voir Figure 4-14 b et Figure 1-39).

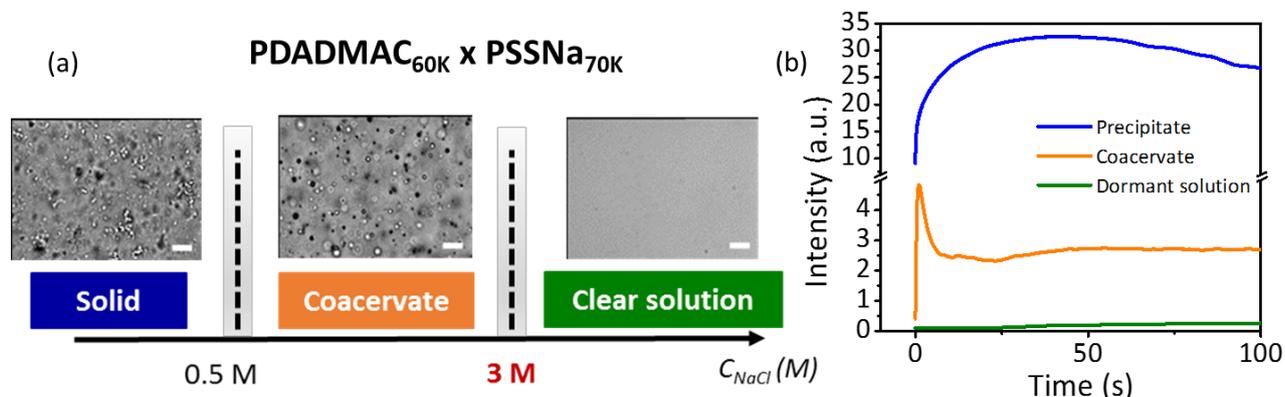


Figure 4-14 : Transitions de dessalage du système PSSNa<sub>70K</sub> x PDADMAC<sub>60K</sub> à Z<sup>-1</sup>, pH 10 et 14 mM pour les deux PEs en partant d'une solution de PECs sans sel ajouté. (a) Diagramme de phase des systèmes par microscopie optique en fonction de C<sub>NaCl</sub> (M) ; échelle 10 μm et (b) détection de la transition de dessalage par diffusion de la lumière par ajout d'eau à pH 10 dans une solution dormante à une concentration de 3.25 M à l'aide d'un mélangeur SF ([ULTRA FAST]). D'après les résultats de Giermanska *et al.*[144]

Dans la Figure 4-14, 3 sels différents (KBr, NaNO<sub>3</sub> et NaCl) sont utilisés à la même concentration (0.5 M) afin d'étudier leur impact sur les morphologies générées à la stœchiométrie dans le système PSSNa x PDADMAC. On passe ainsi d'une phase coacervat avec le KBr à des agrégats pour le NaCl. Cela montre une fois de plus les limites de la théorie électrostatique classique pour décrire la complexation des PEs. Cette sensibilité à la nature du sel est par ailleurs utilisée par Schlenoff *et al.* pour la fabrication des matériaux saloplastiques à partir de PECs dopés au KBr.[46,239,212,240,215,241]

## 4.8 Hydratation des polyélectrolytes

Les PEs en solution sont généralement entourés d'une couche d'eau physisorbée plus ou moins fortement en fonction de la nature du PE et des contre-ions associés. Lorsqu'un PE de charge opposée est rajouté au système, leur association va dépendre comme nous l'avons évoqué plus haut des différentes contributions à l'énergie libre du système ΔG :

- Avant de former une liaison de type ion-ion à courte distance\* avec une libération de chaleur (processus exothermique), il faut détruire ou réduire du moins cette couche d'hydratation autour des ions. Plus les PEs sont hydratés plus il faudra fournir de l'énergie pour les déshydrater et plus la contribution à l'enthalpie ΔH du système sera endothermique (le départ des contre-ions liés aux PEs donnera également lieu à une contribution endothermique).

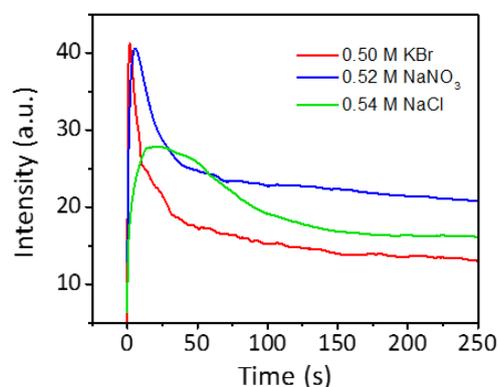


Figure 4-15 : Transitions en fonction de la nature du sel dans les mêmes conditions que la Figure 4-14. D'après les résultats de Giermanska *et al.*[144]

\* ion-pairing

- Un fort gain entropique (entropie de translation) consécutif aux départs (relargage) des contre-ions et des molécules d'eau dans le volume de la solution ; et qui semble être le moteur de la complexation pour la plupart des systèmes étudiés dans ce travail.

Par ailleurs, l'organisation des ions et des molécules d'eau en solution peut s'avérer difficile à décrire sans l'utilisation de techniques telles que la RPE, comme en témoigne l'étude approfondie d'Abhyankar *et al.* sur le PDADMAC dans l'eau en présence d'ions  $Mn^{2+}$  et  $Cl^-$  (Figure 4-16 gauche). Ces auteurs expliquent que lors de la complexation du PDADMAC/PSS en présence de  $Mn^{2+}$  et  $Cl^-$  comme contre-ions, on passe d'une localisation entre paires d'ions et unités monomère chargées à une interaction globale sans localisation spécifique des ions dans les PECs (Figure 4-16 a et b).[233]

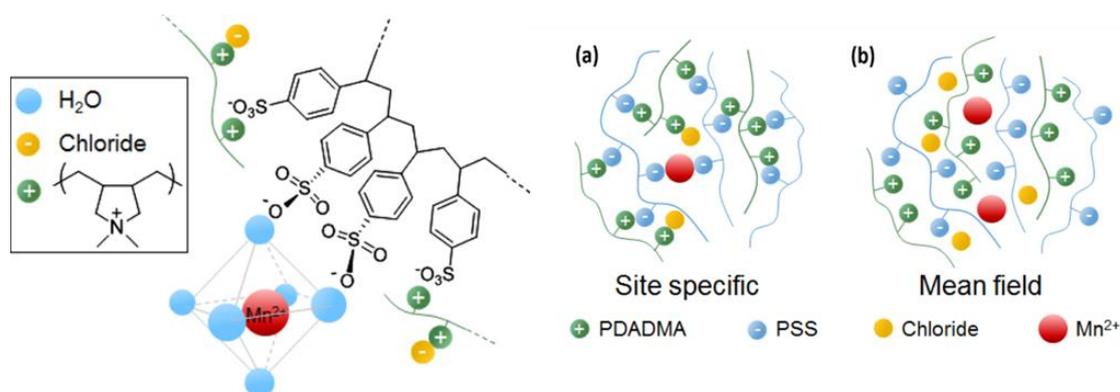


Figure 4-16 : (gauche) Localisation et environnement des ions  $Mn^{2+}$  et des molécules d' $H_2O$  autour du PDADMAC, déterminés par RPE. (a) Localisation des contre-ions et des motifs chargés de PE chargés en sites spécifiques par paires (dopage) comme le présente Schlenoff et al. (b) sans localisation privilégiée mais avec une configuration qui minimise leur énergie comme le prédit l'électrostatique classique (champ moyen).[233]

Il apparaît donc difficile de prédire le comportement des systèmes de PE sans aucune information sur leur capacité à s'hydrater/déshydrater. C'est cet aspect que nous nous proposons d'étudier dans la partie suivante en effectuant des mesures d'enthalpie d'hydratation des PE. L'idée est ici de mesurer par ITC la chaleur dégagée par la dilution infinie d'un PE dans de l'eau (au pH de l'étude). Une solution en PE de concentration connue (en mole par unité monomère/L) est placée dans la cellule de l'ITC puis titrée par de l'eau jusqu'à obtention d'un signal constant qui correspond à la chaleur de la réaction de titrage de 'l'eau dans l'eau'. Le signal obtenu (Figure 4-17) est intégré jusqu'à la partie invariante (verte). Connaissant la concentration initiale dans la cellule  $C_i$ , et l'aire intégrée  $A_{tot}$ , il est possible de déterminer l'enthalpie de dilution infinie  $\Delta H_d$ , (en J/moles de motif monomère). Cette valeur correspond dans ce cas à l'enthalpie d'hydratation des PE et sera par la suite appelée  $\Delta H_{hydratation}$ .

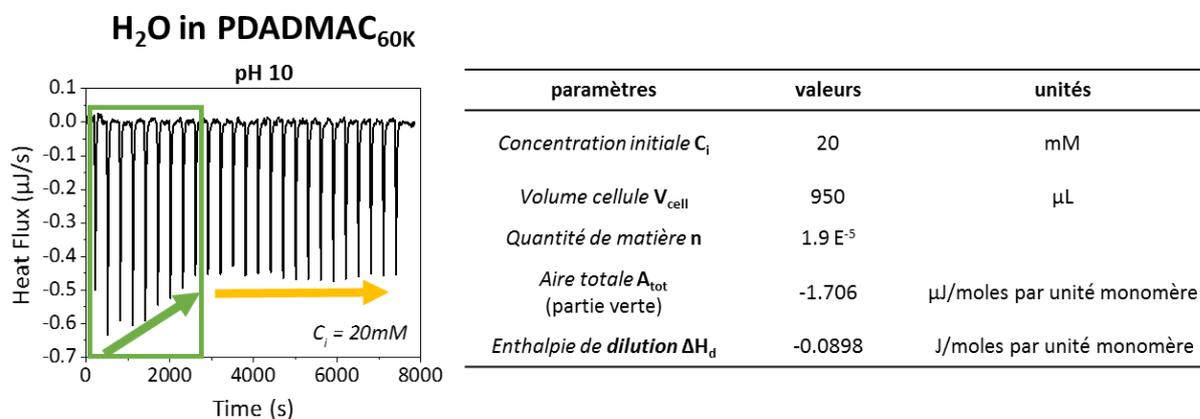


Figure 4-17 : Méthode de détermination de l'enthalpie de dilution infinie du PDADMAC<sub>60K</sub> à pH 10.

Ces expériences sont réalisées pour tous les PE de ce chapitre en incluant également le DxS et  $\epsilon$  PEI pour comparaison, dans les conditions définies en Figure 4-8. Les principaux résultats sont exposés

en Figure 4-18 et Tableau 4-8 (Les calculs et thermogrammes sont répertoriés en Figure Annexe 24 et Tableau Annexe 12).

La Figure 4-18 classe les PEs en fonction de leur enthalpie d'hydratation. Plus la valeur est élevée en valeur absolue et plus la chaleur de dilution est importante. Le PE le plus hydraté est le PAA<sub>2K</sub> à pH 10 (maximum d'ionisation du PAA), avec une valeur de -162 J/moles, soit 6 fois supérieure à celle du  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> à pH 3. Viennent ensuite le PEI (linéaire et branché) à pH acide et le PAA<sub>2K</sub> à pH 8 avec des valeurs de  $\Delta H_{\text{hydratation}}$  comprises entre -24 et -10 J/mole d'unité monomère. Le DxS est à -4.5 J/mol, et les PSSNa<sub>4.3K</sub> et le PDADMAC<sub>60K</sub> sont très peu hydratés, à environ -0.1 J/mole. Le  $\ell$  PEI à pH 8 n'est pas représenté car à ce pH où il est très peu ionisé, il forme des agrégats qui modifient les échanges de chaleur en ajoutant une composante endothermique à l'enthalpie mesurée. Il n'est alors pas possible de déterminer l'enthalpie de dilution car elle est masquée par ce phénomène (voir Figure Annexe 24).

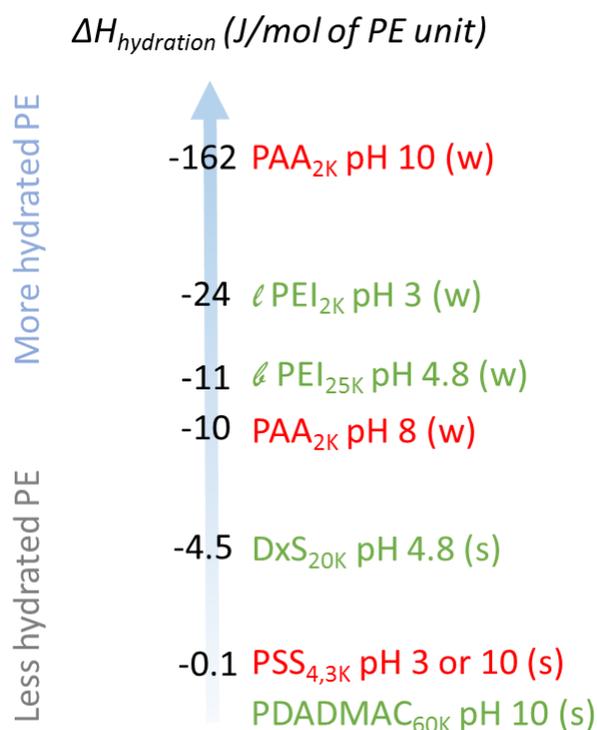


Figure 4-18 : Enthalpies d'hydratation  $\Delta H_{\text{hydratation}}$  (J/moles d'unité monomère) pour les PEs suivants :  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>,  $\ell$  PEI<sub>25K</sub>, PDADMAC<sub>60K</sub>, PSSNa<sub>4.3K</sub>, DxS<sub>20K</sub>, PAA<sub>2K</sub>. (w) : PE 'faible' ; (s) : PE 'fort'.

Il est par ailleurs difficile d'évaluer l'enthalpie moyenne d'hydratation d'un couple de PEs car on ne connaît pas directement la contribution de chaque PE aux échanges de chaleur. Si on estime que les deux PEs de charge opposée ont la même contribution, on peut essayer d'utiliser une moyenne géométrique\* des enthalpies d'hydratation en valeur absolue pour pouvoir comparer les systèmes de PEs (Tableau 4-8). On obtient deux types de valeurs :

- Les systèmes PAA/PDADMAC et DxS/ $\ell$  PEI qui possèdent des valeurs élevées de 4.0 et 7.0, correspondant aux systèmes les plus hydratés. Ces systèmes sont à l'origine d'une séparation de phase liquide-liquide autour de l'équivalence (coacervation) et possèdent de constante d'association K relativement faible ( $10^3$ - $10^4$  M<sup>-1</sup>).
- Les systèmes PSSNa/ $\ell$  PEI et PSSNa/PDADMAC, peu hydratés, prompts à former des agrégats à la stœchiométrie (Z~1), fortement réactifs sans sel ajouté et qui possèdent des constantes K relativement élevées ( $10^5$ - $10^6$  M<sup>-1</sup>).

\* moyenne géométrique =  $\sqrt{\Delta H_{\text{hydratation}}(PA) \times \Delta H_{\text{hydratation}}(PC)}$

Aucune information sur le système PAA/  $\ell$  PEI à pH 8 n'a pu être obtenue car la mesure de l'hydratation du  $\ell$  PEI à ce pH n'est pas réalisable. Ce système montre deux types de morphologies (agrégats vs. coacervat) en fonction de l'ordre d'ajout ; un effet sans doute lié au pH qui n'est pas constant lors du titrage.

Tableau 4-8 : Enthalpies d'hydratation des couples de PEs de cette thèse et morphologies observées à Z $\sim$ 1.

Couples de PEs	PAA/PDADMAC	PAA/ $\ell$ PEI	PSSNa/PDADMAC	PSSNa/ $\ell$ PEI	DxS/ $\ell$ PEI
$\Delta H_{hydratation}$ (J/mol)	-162/-0.1	-10/x	-0.1/-0.1	-0.1/-24	-4.5/-11
pH	10	8	10	3	4.8
Moyenne géométrique	<b>4.0</b>	<b>x</b>	<b>0.1</b>	<b>1.5</b>	<b>7.0</b>
Morphologies	Coacervat	Coacervat +Agrégats	Agrégats	Agrégats	Coacervat
%wt eau (ATG)	70	-	< 5	< 5	43.5

A l'issue de ces mesures d'hydratation, il semble bien que l'état d'hydratation des systèmes de PEs étudiés soit corrélé à leur capacité à former : i) des coacervats par le biais de constantes d'association (K) faibles et une contribution endothermique de l'enthalpie de complexation qui s'oppose donc à la minimisation de l'énergie libre ii) des agrégats solides (précipité) *via* des K élevés avec une contribution (fortement) exothermique de l'enthalpie qui participe cette fois-ci à la minimisation de  $\Delta G$ .

## 4.9 Conclusion

Le but de chapitre était d'identifier les corrélations possibles entre '*morphologies-thermodynamique-cinétique-hydratation des PEs*' en étudiant 4 systèmes de PEs en parallèle. En ajoutant les informations obtenues sur le système DxS/  $\ell$  PEI au chapitre 3 pour comparaison, nous avons pu montrer que l'hydratation des systèmes initiaux impacte directement les morphologies générées à l'équivalence en charge. Ainsi, plus le système sera hydraté, plus il aura tendance à transiter vers une phase coacervat (faiblement liée et fortement hydraté) au travers d'une séparation de phase *liquide-liquide*. À l'inverse, un système très peu hydraté et souvent hors-équilibre formera des agrégats (fortement liés/cohésifs) au travers d'une séparation de phase *liquide-solide*. Au niveau thermodynamique, cela se traduit par des systèmes dont les constantes pour l'étape de complexation sont relativement faibles ( $10^3$ - $10^4$  M $^{-1}$ ) pour les premiers et sensiblement plus élevée ( $10^5$ - $10^6$  M $^{-1}$ ) pour les derniers. Il est par ailleurs possible de distinguer deux sous catégories de coacervats au sein des systèmes dits 'faibles': le coacervat PAA/PDADMAC, très hydraté (70-75% d'eau) qui atteint rapidement l'équilibre thermodynamique est dit 'faible' comparé au coacervat DxS/  $\ell$  PEI dit 'fort' moins hydraté (45% d'eau) et qui relaxe plus lentement vers l'équilibre. Ces deux types de coacervat qui possèdent des propriétés très différentes sont comparés dans la Figure 4-19.

Pour finir, une mesure relativement simple du caractère hors équilibre du système étudié est mise en avant en comparant la valeur des enthalpies cumulées  $\Delta H_{cumulées}$  jusqu'à l'équivalence (où les échanges de chaleur doivent être proches de zéro) dans les deux sens d'ajout du titrage. Des valeurs différentes suggèrent une variation dans les échanges globaux d'énergie et donc la formation d'objets différents sensibles aux paramètres/chemins de formulation.

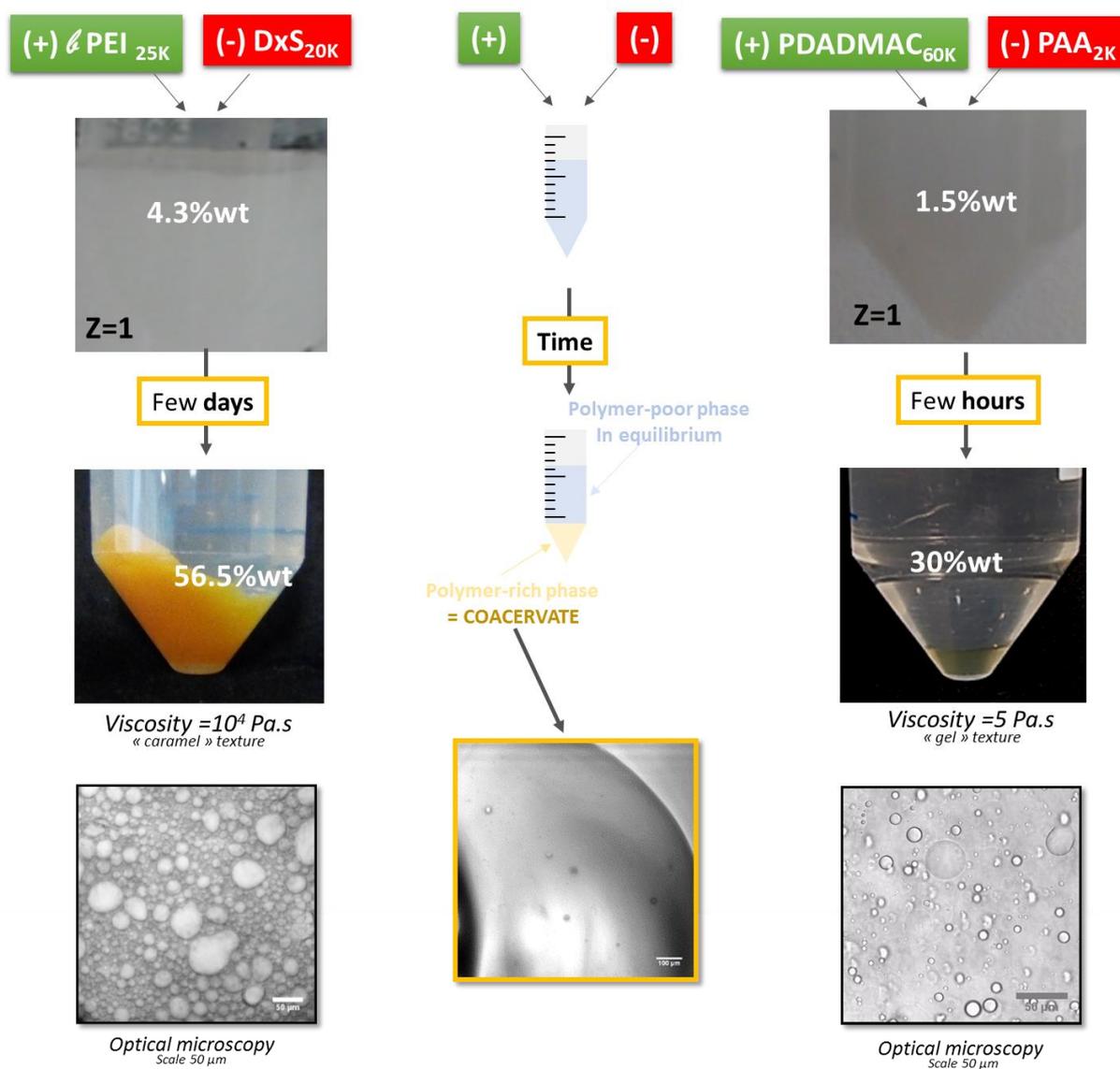


Figure 4-19 : Comparaison des caractéristiques du coacervat 'fort' DxS<sub>20K</sub>/PEI<sub>25K</sub> et du coacervat 'faible' PAA<sub>2K</sub>/PDADMAC<sub>60K</sub>.



# CONCLUSION GÉNÉRALE

Les complexes de polyélectrolytes, sont des systèmes macromoléculaires de PEs de charge opposée. En solution, ces systèmes s'assemblent essentiellement sous l'action d'interactions électrostatiques mais d'autres types d'interaction peuvent aussi participer à l'assemblage (liaisons hydrogène, van der Waals, effet hydrophobe...). Les morphologies et stabilité en solution, la thermodynamique et la cinétique de complexation vont dépendre de plusieurs types de paramètres décrits en Figure Conclusion 1 :

- les propriétés des PEs
- l'environnement en solution
- la nature et l'intensité des interactions
- les chemins de formulation

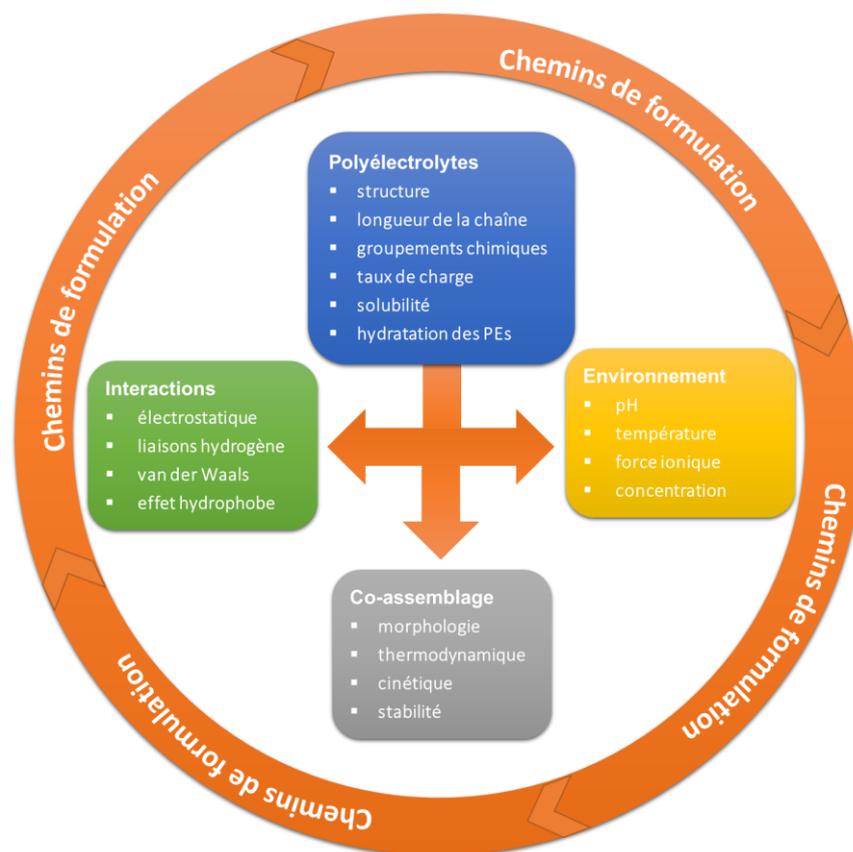


Figure Conclusion 1 : Paramètres physico-chimiques de l'assemblage de polyélectrolytes en solution.

Par conséquent, il apparaît très difficile d'étudier ces systèmes de PEs sans passer par des étapes longues et fastidieuses de diagramme de phase. Dans cette thèse, on se propose tout d'abord d'étudier deux systèmes d'intensité d'interaction différente : le PSSNa/l PEI et le Dxs/l PEI, formant respectivement à l'équivalence en charge des précipités et des coacervats. Lors de ces deux études, il a été entrepris de mesurer l'importance des paramètres de formulation suivants :

- longueur de la chaîne polymère (C2)
- force ionique (C2)
- temps de mélange (C2)
- ordre de mélange (C3)
- concentration (C3)

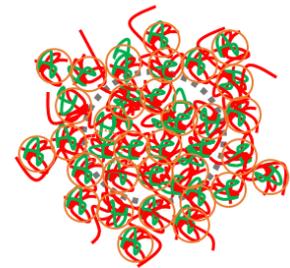
Dans le même temps, des études spécifiques des morphologies rencontrées ont été menées. La structure à petite échelle des PECs colloïdaux du système PSSNa/ℓ PEI a été élucidée. L'étude a montré une structuration interne des PECs colloïdaux PSSNa/ℓ PEI qui consiste en de petites particules de complexes primaires agrégées les unes aux autres. Le même type de structuration a été mise en évidence sur d'autres systèmes comme les complexes de PSSNa/lysozyme[92] et de PDADMAC/PSSNa [96]. On distingue ainsi des systèmes où les PECs colloïdaux sont formés d'un mélange homogène de chaînes [88] de ceux où une agrégation des complexes primaires est observée (Figure Conclusion 2).

PAA/PDADMAC



Excess PAA

PSSNa/ℓ PEI



Excess PSSNa

Figure Conclusion 2 : Représentation de deux structurations de PECs élucidée par étude en DNPA et AFM.

La phase coacervat du DxS/ℓ PEI a été analysée à plusieurs échelles d'observation (DNPA, microscopies, rhéologie, SLS/DLS...). L'ensemble des analyses a pu mettre en évidence que ce système forme un coacervat 'fort' c'est-à-dire caractérisé par une énergie de cohésion importante. En cela, il diffère profondément du coacervat PAA/PDADMAC beaucoup plus fluide et que l'on peut qualifier de coacervat 'faible'. La cohésion importante du système DxS/ℓ PEI provient de la densité de charge élevée des PEs caractérisés par un paramètre de Manning ( $\Gamma_M$ ) supérieur à 2. De façon intéressante le sens d'ajout des PEs influence fortement la thermodynamique de l'assemblage du système DxS/ℓ PEI. En particulier, il a pu être mis en évidence l'existence d'une transition fortement exothermique précédant la coacervation lorsque le ℓ PEI est en excès dans le milieu. L'origine de cette transition réside dans un mécanisme de dismutation des complexes que l'on peut attribuer à la différence de densité de charges entre les PEs.

Enfin, le chapitre 4 propose une série d'expériences réalisées en parallèle sur 4 systèmes d'intensité d'interaction différentes. L'idée était ici de poser les premiers jalons d'une méthodologie pour des études systématiques des systèmes de PEs de charge opposée. Pour pouvoir répondre à la question : *est-il possible de comparer des systèmes macromoléculaires potentiellement hors équilibre ?*, la complexation de chacun des systèmes a été étudiée et comparée sur 5 aspects: les morphologies générées, la thermodynamique d'association, la cinétique aux temps courts, la présence éventuelle de forces secondaires, l'état d'hydratation des PEs.

Pour ces systèmes nous avons donc tenté de relier :

- les morphologies à  $Z \sim 1$  (coacervat, agrégats) force ionique (C2, C3)
- la thermodynamique de la complexation (caractérisée par la constante d'association  $K$  : i)  $10^{-3-4}$  pour les systèmes formant un coacervat, ii)  $10^{-5-6}$  pour ceux formant des précipités ; l'entropie  $\Delta S$  comme moteur de la formation des PECs et une énergie libre  $\Delta G$  du système comme prérequis à la complexation)
- la signature cinétique des morphologies (pour plusieurs systèmes formant des coacervats, DxS/ℓ PEI et PAA/PDADMAC, la structuration semble différente ce qui suggère une diversité pour une même morphologie)
- la transition de dessalage (élevée pour les systèmes avec forces secondaires ; possibilité pour certains systèmes de former différentes morphologies en fonction de  $C_{NaCl}$  ajouté)
- la capacité des PEs à s'hydrater ou se déshydrater ( $\Delta H_{\text{hydratation}}$  très élevé en valeur absolue pour les systèmes très hydratés ; plus les systèmes sont hydratés, plus la composante endothermique à l'enthalpie  $\Delta H$  sera élevée et plus le système sera capable de se réorganiser pour atteindre l'équilibre thermodynamique et former des coacervats)

Il apparaît que c'est généralement l'intensité de l'interaction qui permet de discriminer les systèmes de PEs. L'enthalpie d'hydratation mesurée à dilution infinie va dans le sens de l'interaction, ce qui permet d'utiliser ce paramètre accessible par calorimétrie pour évaluer la force de l'interaction. Bien entendu, outre l'hydratation des PEs, la nature des contre-ions joue un rôle clé et devra être un axe à étudier avec attention et en particulier la disposition des contre-ions et des molécules d'eau qui renseignent sur l'aptitude des systèmes à réagir plus ou moins rapidement (Figure Conclusion 3). Enfin, prédire la complexation de PECs comprend la maîtrise comme suggéré dans le C2 et Figure Conclusion 4 du temps de réaction (intensité de l'interaction) et du temps de mélange (paramètres de formulation). Ces deux paramètres impliquent un contrôle de la mise en contact des PEs réalisable avec plusieurs techniques : i) l'interaction à travers des membranes de dialyse par dessalage [88] ii) l'échange de solvants [242] iii) l'utilisation du micromélangeur Dolomite).

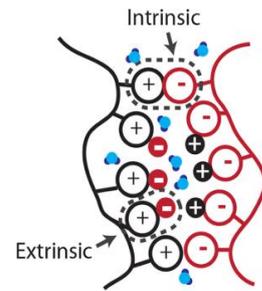
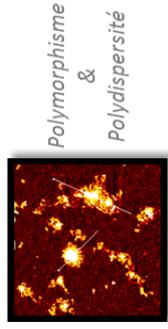


Figure Conclusion 3 : Co-assemblage de PEs ; on distingue deux types d'appariement : intrinsèque (paires polycations-polyanions) et extrinsèque (paires PEs-contre-ions). [152]

L'étude des systèmes de PEs modèles se verra également facilitée par l'utilisation du stopped-flow qui garantit un mélange rapide et homogène. En effet, cet appareil versatile permet une étude spécifique des morphologies aux temps courts (DNPA, DLS/SLS, RX, conductimétrie) mais aussi la détection de morphologies dans des situations plus spécifiques comme cela a été vu avec la transition de dessalage où l'on a pu mettre en évidence une signature particulière de la précipitation et de la coacervation.[144,143,88]

# Vers un contrôle des chemins de formulation...

Compétition : temps de **Réaction** vs. temps de **Mélange**

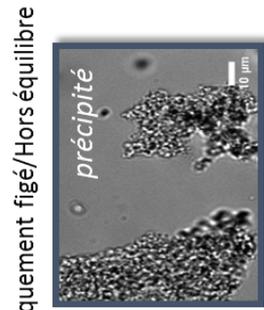
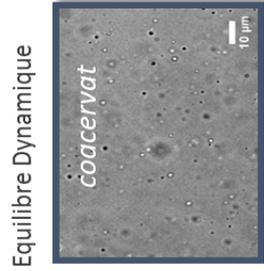
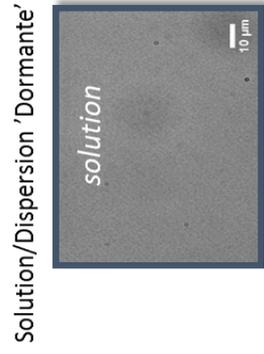


**Pas d'interaction Off**

**Interaction Faible**

**On Interaction Forte**

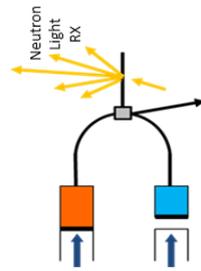
Intensité de l'interaction



Forte dépendance des paramètres :  
d'ordre, de  $M_w$ , de concentration ,  
du pH, de la  $\kappa^{-1}$ , du solvant...

Contrôle des Interactions :  
Écrantage de l'électrostatique,  
Écrantage des liaisons hydrogènes...

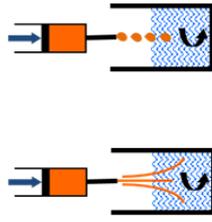
Stopped-Flow



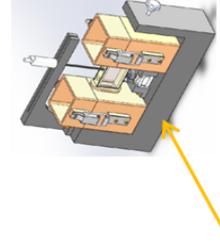
Microfluidique



Ajouts manuels/ITC



Dialyse  
Dilution contrôlée



Etape de mélange

Figure Conclusion 4 : Vers un contrôle des chemins de formulation dans le cas de systèmes de PEs.

# BIBLIOGRAPHIE

- [1] Sharma, R.; Kamal, A.; Kang, T. S.; and Mahajan, R. K., Interactional behavior of the polyelectrolyte poly sodium 4-styrene sulphonate (NaPSS) with imidazolium based surface active ionic liquids in an aqueous medium, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 23582–23594, <https://doi.org/10.1039/C5CP02642C>.
- [2] Baigl, D., Etude expérimentale de polyélectrolytes hydrophobes modèles, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, (2003).
- [3] Buriuli, M. and Verma, D., "*Advances in Biomaterials for Biomedical Applications*", Springer Singapore, Singapore, (2017).
- [4] Karpushkin, E. A., Hydrogels for Treatment of Water Polluted with Macromolecules : Effect of Network Polyelectrolyte Composition on the Sorption Rate, *Russ. J. Gen. Chem.* **83** (2013) 2731–2737, <https://doi.org/10.1134/S1070363213130197>.
- [5] Wågberg, L., Polyelectrolyte adsorption on cellulose fibres – a review, *Nord. Pulp Pap.* **15** (2001) 586–597, <https://doi.org/10.1515/9783110213447>.
- [6] DOBRYNIN, A. and RUBINSTEIN, M., Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces, *Prog. Polym. Sci.* **30** (2005) 1049–1118, <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.07.006>.
- [7] Koetz, J. and Kosmella, S., "*Polyelectrolytes and Nanoparticles*", 1st ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Heidelberg, (2007).
- [8] Radeva, T., "*Physical Chemistry of Polyelectrolytes*", 99th ed., CRC Press, Boca Roca, (2001).
- [9] Barrat, J.-L. and Joanny, F., in eds. Prigogine, I., and Rice, S. A., Theory of Polyelectrolyte Solutions, *Polym. Syst. Vol. 94*, Wiley-Interscience, (2007), pp. 1–66.
- [10] Frueh, J.; Gai, M.; Halstead, S.; and He, Q., in eds. P. M., V., Bayraktar, O., and Picó, G. A., Structure and Thermodynamics of Polyelectrolyte Complexes, *Polyelectrolytes*, Springer International Publishing, Cham, (2014), pp. 19–86.
- [11] Fuoss, R. M., Viscosity function for polyelectrolytes, *J. Polym. Sci.* **4** (1949) 96–96, <https://doi.org/10.1002/pol.1949.120040111>.
- [12] Schiessel, H. and Pincus, P., Counterion-Condensation-Induced Collapse of Highly Charged Polyelectrolytes, *Macromolecules* **31** (1998) 7953–7959, <https://doi.org/10.1021/ma980823x>.
- [13] Dobrynin, A. V.; Colby, R. H.; and Rubinstein, M., Scaling Theory of Polyelectrolyte Solutions, *Macromolecules* **28** (1995) 1859–1871, <https://doi.org/10.1021/ma00110a021>.
- [14] Hamad, F. G.; Chen, Q.; and Colby, R. H., Linear Viscoelasticity and Swelling of Polyelectrolyte Complex Coacervates, *Macromolecules* **51** (2018) 5547–5555, <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.8b00401>.
- [15] Dou, S. and Colby, R. H., Solution Rheology of a Strongly Charged Polyelectrolyte in Good Solvent, *Macromolecules* **41** (2008) 6505–6510, <https://doi.org/10.1021/ma8001438>.
- [16] De Gennes, P.-G., "*Scaling concepts in polymer physics.*", First Edit, Cornell University Press, United States, (1979).
- [17] De Gennes, P. G.; Pincus, P.; Velasco, R. M.; and Brochard, F., Remarks on polyelectrolyte conformation, *J. Phys.* **37** (1976) 1461–1473, <https://doi.org/10.1051/jphys:0197600370120146100>.
- [18] Manning, G. S., Limiting Laws and Counterion Condensation in Polyelectrolyte Solutions. III. An Analysis Based on the Mayer Ionic Solution Theory, *J. Chem. Phys.* **51** (1969) 3249–3252, <https://doi.org/10.1063/1.1672502>.
- [19] Dobrynin, A. V., Theory and simulations of charged polymers: From solution properties to polymeric nanomaterials, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **13** (2008) 376–388, <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2008.03.006>.
- [20] Combet, J., Structure des solutions de polyélectrolytes : apport de la diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles, *École Thématique La Société Française La Neutron.* **11** (2010) 153–176, <https://doi.org/10.1051/sfn/201011010>.
- [21] Borue, V. Y. and Erukhimovich, I. Y., A statistical theory of weakly charged polyelectrolytes: fluctuations, equation of state and microphase separation, *Macromolecules* **21** (1988) 3240–3249, <https://doi.org/10.1021/ma00189a019>.

- [22] Ou, Z. and Muthukumar, M., Entropy and enthalpy of polyelectrolyte complexation: Langevin dynamics simulations, *J. Chem. Phys.* **124** (2006) 154902, <https://doi.org/10.1063/1.2178803>.
- [23] ATOMER, Constantes physico-chimiques de solvants usuels, <http://www.atomer.fr/1/1bcsu.html>, accessed 01/13/2019.
- [24] Hiemenz, P. C. and Rajagopalan, R., "*Principles of Colloid and Surface Chemistry*", 3rd Editio, CRC Press, (1997).
- [25] Ōsawa, F.; Imai, N.; and Kagawa, I., Theory of strong polyelectrolyte solutions. I. Coiled macro ions, *J. Polym. Sci.* **13** (1954) 93–111, <https://doi.org/10.1002/pol.1954.120136808>.
- [26] Khokhlov, A. R., On the collapse of weakly charged polyelectrolytes, *J. Phys. A. Math. Gen.* **13** (1980) 979–987, <https://doi.org/10.1088/0305-4470/13/3/030>.
- [27] Dobrynin, A. V. and Rubinstein, M., Hydrophobic Polyelectrolytes, *Macromolecules* **32** (1999) 915–922, <https://doi.org/10.1021/ma981412j>.
- [28] Zeghal, M. and Auvray, L., Structure of polymer complexes in water, *Europhys. Lett.* **45** (1999) 482–487, <https://doi.org/10.1209/epl/i1999-00192-1>.
- [29] Limbach, H. J.; Holm, C.; and Kremer, K., Structure of polyelectrolytes in poor solvent, *Europhys. Lett.* **60** (2002) 566–572, <https://doi.org/10.1209/epl/i2002-00256-8>.
- [30] Malikova, N.; Rollet, A.-L.; Čebašek, S.; Tomšič, M.; and Vlachy, V., On the crossroads of current polyelectrolyte theory and counterion-specific effects, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 5650–5658, <https://doi.org/10.1039/C4CP05469E>.
- [31] Kiriya, A.; Gorodyska, G.; Minko, S.; Jaeger, W.; Štěpánek, P.; and Stamm, M., Cascade of Coil-Globule Conformational Transitions of Single Flexible Polyelectrolyte Molecules in Poor Solvent, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 13454–13462, <https://doi.org/10.1021/ja0261168>.
- [32] Cranford, S. W. and Buehler, M. J., Variation of weak polyelectrolyte persistence length through an electrostatic contour length, *Macromolecules* **45** (2012) 8067–8082, <https://doi.org/10.1021/ma3008465>.
- [33] Chodanowski, P. and Stoll, S., Polyelectrolyte adsorption on charged particles in the Debye-Hückel approximation. A Monte Carlo approach, *Macromolecules* **34** (2001) 2320–2328, <https://doi.org/10.1021/ma000482z>.
- [34] Stoll, S. and Chodanowski, P., Polyelectrolyte adsorption on an oppositely charged spherical particle. Chain rigidity effects, *Macromolecules* **35** (2002) 9556–9562, <https://doi.org/10.1021/ma020272h>.
- [35] Muthukumar, M., Ordinary–extraordinary transition in dynamics of solutions of charged macromolecules, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113** (2016) 12627–12632, <https://doi.org/10.1073/pnas.1612249113>.
- [36] Sedláč, M., What Can Be Seen by Static and Dynamic Light Scattering in Polyelectrolyte Solutions and Mixtures?, *Langmuir* **15** (1999) 4045–4051, <https://doi.org/10.1021/la981189j>.
- [37] Sedláč, M. and Amis, E. J., Concentration and molecular weight regime diagram of salt-free polyelectrolyte solutions as studied by light scattering, *J. Chem. Phys.* **96** (1992) 826–834, <https://doi.org/10.1063/1.462468>.
- [38] Sedláč, M., The ionic strength dependence of the structure and dynamics of polyelectrolyte solutions as seen by light scattering: The slow mode dilemma, *J. Chem. Phys.* **105** (1996) 10123–10133, <https://doi.org/10.1063/1.472841>.
- [39] Sedláč, M. and Amis, E. J., Dynamics of moderately concentrated salt-free polyelectrolyte solutions: Molecular weight dependence, *J. Chem. Phys.* **96** (1992) 817–825, <https://doi.org/10.1063/1.462467>.
- [40] Sedlak, M.; Konák, C.; Stepanek, P.; and Jakes, J., Semidilute solutions of poly(methacrylic acid) in the absence of salt : Dynamic light- scattering study, *Polymer (Guildf)*. **28** (1987) 873–880, [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(87\)90156-X](https://doi.org/10.1016/0032-3861(87)90156-X).
- [41] Förster, S.; Schmidt, M.; and Antonietti, M., Static and dynamic light scattering by aqueous polyelectrolyte solutions: effect of molecular weight, charge density and added salt, *Polymer (Guildf)*. **31** (1990) 781–792, [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(90\)90036-X](https://doi.org/10.1016/0032-3861(90)90036-X).
- [42] Sedlak, M.; Konak, C.; and Labsky, J., Dynamic behaviour of poly (methacrylic acid) in methanolic solutions, *Polymer (Guildf)*. **32** (1991) 1688–1691, [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(91\)90406-9](https://doi.org/10.1016/0032-3861(91)90406-9).

- [43] Dakhara, S. and Anajwala, C., Polyelectrolyte complex: A pharmaceutical review, *Syst. Rev. Pharm.* **1** (2010) 121–127, <https://doi.org/10.4103/0975-8453.75046>.
- [44] Xiao, Z.; Liu, W.; Zhu, G.; Zhou, R.; and Niu, Y., A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology, *J. Sci. Food Agric.* **94** (2014) 1482–1494, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6491>.
- [45] Wang, Q. and Schlenoff, J. B., Tough strained fibers of a polyelectrolyte complex: pretensioned polymers, *RSC Adv.* **4** (2014) 46675–46679, <https://doi.org/10.1039/C4RA08733J>.
- [46] Hariri, H. H. and Schlenoff, J. B., Saloplastic macroporous polyelectrolyte complexes: Cartilage mimics, *Macromolecules* **43** (2010) 8656–8663, <https://doi.org/10.1021/ma1012978>.
- [47] Hellweg, T.; Henry-Toulmé, N.; Chambon, M.; and Roux, D., Interaction of short DNA fragments with the cationic polyelectrolyte poly(ethylene imine): A dynamic light scattering study, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **163** (2000) 71–80, [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(99\)00432-X](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(99)00432-X).
- [48] Ankerfors, C., Polyelectrolyte complexes: Their preparation, adsorption behaviour, and effect on paper properties, Royal Institute of Technology (KTH), (2008).
- [49] Decher, G.; Eckle, M.; Schmitt, J.; and Struth, B., Layer-by-layer assembled multicomposite films, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **3** (1998) 32–39, [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(98\)80039-3](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(98)80039-3).
- [50] Tsuchida, E., Formation of Polyelectrolyte Complexes and Their Structures, *J. Macromol. Sci. Part A* **31** (1994) 1–15, <https://doi.org/10.1080/10601329409349713>.
- [51] Tsuchida, E.; Abe, K.; and Honma, M., Aggregation of Polyion Complexes between Synthetic Polyelectrolytes, *Macromolecules* **9** (1976) 112–117, <https://doi.org/10.1021/ma60049a022>.
- [52] Kabanov, V. A., Kinetics and mechanism of reactions of the formation of polyelectrolytic complexes, *Dokl. Akad. Nauk SSR* **299** (1988) 1405–1408.
- [53] Kabanov, V. A. and Zezin, A. B., A new class of complex water-soluble polyelectrolytes, *Die Makromol. Chemie* **6** (1984) 259–276, <https://doi.org/10.1002/macp.1984.020061984120>.
- [54] Meka, V. S.; Sing, M. K. G.; Pichika, M. R.; Nali, S. R.; Kolapalli, V. R. M.; and Kesharwani, P., A comprehensive review on polyelectrolyte complexes, *Drug Discov. Today* **22** (2017) 1697–1706, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.06.008>.
- [55] Lankalapalli, S. and Kolapalli, V. R. M., Polyelectrolyte complexes: A review of their applicability in drug delivery technology, *Indian J. Pharm. Sci.* **71** (2009) 481–487, <https://doi.org/10.4103/0250-474X.58165>.
- [56] Kato, I., The application of sodium dextran sulfate to the field of cosmetics, *Int. J. Cosmet. Sci.* **29** (2007) 68–68, [https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2007.00358\\_5.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2007.00358_5.x).
- [57] Onesippe, C., Etude des systèmes polyélectrolytes / tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide / gaz . Application à l'élaboration de micro - capsules, (2005).
- [58] Insua, I.; Wilkinson, A.; and Fernandez-Trillo, F., Polyion complex (PIC) particles: Preparation and biomedical applications, *Eur. Polym. J.* **81** (2016) 198–215, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.06.003>.
- [59] Piraino, F.; Camci-Unal, G.; Hancock, M. J.; Rasponi, M.; and Khademhosseini, A., Multi-gradient hydrogels produced layer by layer with capillary flow and crosslinking in open microchannels, *Lab Chip* **12** (2012) 659–661, <https://doi.org/10.1039/C2LC20515G>.
- [60] Chen, S.-L.; Krishnan, L.; Srinivasan, S.; Benziger, J.; and Bocarsly, A. B., Ion exchange resin/polystyrene sulfonate composite membranes for PEM fuel cells, *J. Memb. Sci.* **243** (2004) 327–333, <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.06.037>.
- [61] Ye, Y.-S.; Rick, J.; and Hwang, B.-J., Water Soluble Polymers as Proton Exchange Membranes for Fuel Cells, *Polymers (Basel)*. **4** (2012) 913–963, <https://doi.org/10.3390/polym4020913>.
- [62] Schatz, C., Auto-assemblages en solution : polyelectrolytes (Lecture), (2016).
- [63] Lu, H.; Dai, Y.; Lv, L.; and Zhao, H., Chitosan-Graft-Polyethylenimine/DNA Nanoparticles as Novel Non-Viral Gene Delivery Vectors Targeting Osteoarthritis, *PLoS One* **9** (2014) e84703, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084703>.
- [64] Johnson, N. R. and Wang, Y., Coacervate delivery systems for proteins and small molecule drugs, *Expert Opin. Drug Deliv.* **11** (2014) 1829–1832, <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.941355>.
- [65] Lei, Q.; Hadinoto, K.; and Ni, R., Complexation of Polyelectrolytes with Hydrophobic Drug

- Molecules in Salt-Free Solution: Theory and Simulations, *Langmuir* **33** (2017) 3900–3909, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b00526>.
- [66] Vergaro, V.; Scarlino, F.; Bellomo, C.; Rinaldi, R.; Vergara, D.; Maffia, M. et al., Drug-loaded polyelectrolyte microcapsules for sustained targeting of cancer cells, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **63** (2011) 847–864, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.05.007>.
- [67] Webster, L.; Huglin, M. B.; and Robb, I. D., Complex formation between polyelectrolytes in dilute aqueous solution, *Polymer (Guildf)*. **38** (1997) 1373–1380, [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(96\)00650-7](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(96)00650-7).
- [68] Ou, Z., Structure and thermodynamics of polyelectrolyte complexes: simulation and experiment., University of Massachusetts Amherst, (2008).
- [69] Comert, F.; Malanowski, A. J.; Azarikia, F.; and Dubin, P. L., Coacervation and precipitation in polysaccharide–protein systems, *Soft Matter* **12** (2016) 4154–4161, <https://doi.org/10.1039/C6SM00044D>.
- [70] Michaels, A. S.; Mir, L.; and Schneider, N. S., A Conductometric Study of Polycation–Polyanion Reactions in Dilute Aqueous Solution, *J. Phys. Chem.* **69** (1965) 1447–1455, <https://doi.org/10.1021/j100889a003>.
- [71] Sæther, H. V.; Holme, H. K.; Maurstad, G.; Smidsrød, O.; and Stokke, B. T., Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan, *Carbohydr. Polym.* **74** (2008) 813–821, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.04.048>.
- [72] Schatz, C.; Lucas, J.-M.; Viton, C.; Domard, A.; Pichot, C.; and Delair, T., Formation and Properties of Positively Charged Colloids Based on Polyelectrolyte Complexes of Biopolymers, *Langmuir* **20** (2004) 7766–7778, <https://doi.org/10.1021/la049460m>.
- [73] Müller, M.; Keßler, B.; Fröhlich, J.; Poeschla, S.; and Torger, B., Polyelectrolyte Complex Nanoparticles of Poly(ethyleneimine) and Poly(acrylic acid): Preparation and Applications, *Polymers (Basel)*. **3** (2011) 762–778, <https://doi.org/10.3390/polym3020762>.
- [74] Priftis, D. and Tirrell, M., Phase behaviour and complex coacervation of aqueous polypeptide solutions, *Soft Matter* **8** (2012) 9396–9405, <https://doi.org/10.1039/C2SM25604E>.
- [75] Bungenberg de Jong, H. G. and Kruyt, H. R., Coacervation (partial miscibility in colloid systems), *Proc. Acad. Sci Amsterdam* **32** (1929) 849–856.
- [76] Kara Rogers, Abiogenesis-The Oparin-Haldane theory, <https://www.britannica.com/science/abiogenesis>, accessed 01/08/2019.
- [77] Xia, J.; Zhang, H.; Rigsbee, D. R.; Dubin, P. L.; and Shaikh, T., Structural elucidation of soluble polyelectrolyte-micelle complexes: intra- vs interpolymer association, *Macromolecules* **26** (1993) 2759–2766, <https://doi.org/10.1021/ma00063a019>.
- [78] Black, K. a.; Priftis, D.; Perry, S. L.; Yip, J.; Byun, W. Y.; and Tirrell, M., Protein Encapsulation via Polypeptide Complex Coacervation, *ACS Macro Lett.* **3** (2014) 1088–1091, <https://doi.org/10.1021/mz500529v>.
- [79] Xu, Y.; Mazzawi, M.; Chen, K.; Sun, L.; and Dubin, P. L., Protein Purification by Polyelectrolyte Coacervation: Influence of Protein Charge Anisotropy on Selectivity, *Biomacromolecules* **12** (2011) 1512–1522, <https://doi.org/10.1021/bm101465y>.
- [80] Kizilay, E.; Kayitmazer, A. B.; and Dubin, P. L., Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids, *Adv. Colloid Interface Sci.* **167** (2011) 24–37, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.06.006>.
- [81] Li, Y.; Xia, J.; and Dubin, P. L., Complex Formation between Polyelectrolyte and Oppositely Charged Mixed Micelles: Static and Dynamic Light Scattering Study of the Effect of Polyelectrolyte Molecular Weight and Concentration, *Macromolecules* **27** (1994) 7049–7055, <https://doi.org/10.1021/ma00102a007>.
- [82] Li, Y.; Dubin, P. L.; Havel, H. A.; Edwards, S. L.; and Dautzenberg, H., Complex Formation between Polyelectrolyte and Oppositely Charged Mixed Micelles: Soluble Complexes vs Coacervation, *Langmuir* **11** (1995) 2486–2492, <https://doi.org/10.1021/la00007a029>.
- [83] Qiao, Y.; Li, M.; Booth, R.; and Mann, S., Predatory behaviour in synthetic protocell communities, *Nat. Chem.* **9** (2017) 110–119, <https://doi.org/10.1038/nchem.2617>.
- [84] Sanchez, C.; Mekhloufi, G.; and Renard, D., Complex coacervation between  $\beta$ -lactoglobulin and Acacia gum: A nucleation and growth mechanism, *J. Colloid Interface Sci.* **299** (2006) 867–873,

- <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.02.031>.
- [85] Schmitt, C.; Sanchez, C.; Lamprecht, A.; Renard, D.; Lehr, C.-M.; de Kruijff, C. G. et al., Study of  $\beta$ -lactoglobulin/acacia gum complex coacervation by diffusing-wave spectroscopy and confocal scanning laser microscopy, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **20** (2001) 267–280, [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(00\)00200-9](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(00)00200-9).
- [86] Sanchez, C.; Mekhloufi, G.; Schmitt, C.; Renard, D.; Robert, P.; Lehr, C.-M. et al., Self-Assembly of  $\beta$ -Lactoglobulin and Acacia Gum in Aqueous Solvent: Structure and Phase-Ordering Kinetics, *Langmuir* **18** (2002) 10323–10333, <https://doi.org/10.1021/la0262405>.
- [87] Liu, X.; Haddou, M.; Grillo, I.; Mana, Z.; Chapel, J.-P.; and Schatz, C., Early stage kinetics of polyelectrolyte complex coacervation monitored through stopped-flow light scattering, *Soft Matter* **12** (2016) 9030–9038, <https://doi.org/10.1039/C6SM01979J>.
- [88] Liu, X.; Haddou, M.; Grillo, I.; Cousin, F.; Porcar, L.; Schatz, C. et al., The three possible states of polyelectrolyte complex coacervates : soluble, dispersed and the macroscopic phase, *Submitt. Manusc.* (2019).
- [89] Boyko, V.; Richter, S.; Mende, M.; Schwarz, S.; Zschoche, S.; and Arndt, K.-F., Characterization of Polyelectrolyte Complexes Based on Maleic Anhydride Alternating Copolymers by Static and Dynamic Light Scattering, *Macromol. Chem. Phys.* **208** (2007) 710–717, <https://doi.org/10.1002/macp.200600599>.
- [90] Dautzenberg, H.; Hartmann, J.; Grunewald, S.; and Brand, F., Stoichiometry and structure of polyelectrolyte complex particles in diluted solutions, *Berichte Der Bunsengesellschaft Für Phys. Chemie* **100** (1996) 1024–1032, <https://doi.org/10.1002/bbpc.19961000654>.
- [91] Lindhoud, S.; Norde, W.; and Cohen Stuart, M. a, Reversibility and Relaxation Behavior of Polyelectrolyte Complex Micelle Formation, *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 5431–5439, <https://doi.org/10.1021/jp809489f>.
- [92] Cousin, F.; Gummel, J.; Ung, D.; and Boué, F., Polyelectrolyte–Protein Complexes: Structure and Conformation of Each Specie Revealed by SANS, *Langmuir* **21** (2005) 9675–9688, <https://doi.org/10.1021/la0510174>.
- [93] Qi, L.; Fresnais, J.; Berret, J.-F.; Castaing, J.-C.; Grillo, I.; and Chapel, J.-P., Influence of the Formulation Process in Electrostatic Assembly of Nanoparticles and Macromolecules in Aqueous Solution: The Mixing Pathway, *J. Phys. Chem. C* **114** (2010) 12870–12877, <https://doi.org/10.1021/jp101465c>.
- [94] Kizilay, E.; Seeman, D.; Yan, Y.; Du, X.; Dubin, P. L.; Donato-Capel, L. et al., Structure of bovine  $\beta$ -lactoglobulin–lactoferrin coacervates, *Soft Matter* **10** (2014) 7262–7268, <https://doi.org/10.1039/C4SM01333F>.
- [95] Spruijt, E., Strength, structure and stability of polyelectrolyte complex coacervates, Wageningen University & Research, (2012).
- [96] Konko, I., Solutions aqueuses de complexes formés par des polyélectrolytes modèles de charge opposée, Strasbourg, (2015).
- [97] Zhang, J.; Chen, S.; Zhu, Z.; and Liu, S., Stopped-flow kinetic studies of the formation and disintegration of polyion complex micelles in aqueous solution, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16** (2014) 117–127, <https://doi.org/10.1039/C3CP53608D>.
- [98] Takahashi, R.; Narayanan, T.; and Sato, T., Growth Kinetics of Polyelectrolyte Complexes Formed from Oppositely-Charged Homopolymers Studied by Time-Resolved Ultra-Small-Angle X-ray Scattering, *J. Phys. Chem. Lett.* **8** (2017) 737–741, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.6b02957>.
- [99] Sekar, S.; Giermanska, J.; Saadaoui, H.; and Chapel, J.-P., Fine-tuning the assembly of highly stable oppositely charged cerium oxide nanoparticles in solution and at interfaces, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **500** (2016) 98–104, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.04.005>.
- [100] Lounis, F.; Chamieh, J.; Leclercq, L.; Gonzalez, P.; and Cottet, H., The Effect of Molar Mass and Charge Density on the Formation of Complexes between Oppositely Charged Polyelectrolytes, *Polymers (Basel)*. **9** (2017) 50, <https://doi.org/10.3390/polym9020050>.
- [101] Drogoz, A.; David, L.; Rochas, C.; Domard, A.; and Delair, T., Polyelectrolyte Complexes from Polysaccharides: Formation and Stoichiometry Monitoring, *Langmuir* **23** (2007) 10950–10958, <https://doi.org/10.1021/la7008545>.

- [102] HORIBA Scientific, Dynamic Light Scattering, <http://www.horiba.com/fr/scientific/products/particle-characterization/technology/dynamic-light-scattering/>, accessed 01/13/2019.
- [103] Vander Meulen, K. a and Butcher, S. E., Characterization of the kinetic and thermodynamic landscape of RNA folding using a novel application of isothermal titration calorimetry, *Nucleic Acids Res.* **40** (2012) 2140–2151, <https://doi.org/10.1093/nar/gkr894>.
- [104] Grosseohme, N. E.; Spuches, A. M.; and Wilcox, D. E., Application of isothermal titration calorimetry in bioinorganic chemistry, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **15** (2010) 1183–1191, <https://doi.org/10.1007/s00775-010-0693-3>.
- [105] Chiad, K.; Stelzig, S. H.; Gropeanu, R.; Weil, T.; Klapper, M.; and Müllen, K., Isothermal Titration Calorimetry: A Powerful Technique To Quantify Interactions in Polymer Hybrid Systems, *Macromolecules* **42** (2009) 7545–7552, <https://doi.org/10.1021/ma9008912>.
- [106] Courtois, J. and Berret, J.-F., Probing Oppositely Charged Surfactant and Copolymer Interactions by Isothermal Titration Microcalorimetry, *Langmuir* **26** (2010) 11750–11758, <https://doi.org/10.1021/la101475x>.
- [107] Grosseohme, N. E.; Spuches, A. M.; and Wilcox, D. E., Application of isothermal titration calorimetry in bioinorganic chemistry, *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **15** (2010) 1183–1191, <https://doi.org/10.1007/s00775-010-0693-3>.
- [108] Pierce, M. M.; Raman, C. S.; and Nall, B. T., Isothermal Titration Calorimetry of Protein–Protein Interactions, *Methods* **19** (1999) 213–221, <https://doi.org/10.1006/meth.1999.0852>.
- [109] Vitorazi, L.; Ould-Moussa, N.; Sekar, S.; Fresnais, J.; Loh, W.; Chapel, J.-P. et al., Evidence of a two-step process and pathway dependency in the thermodynamics of poly(diallyldimethylammonium chloride)/poly(sodium acrylate) complexation, *Soft Matter* **10** (2014) 9496–9505, <https://doi.org/10.1039/C4SM01461H>.
- [110] Covington, A. K.; Paabo, M.; Robinson, R. A.; and Bates, R. G., Use of the glass electrode in deuterium oxide and the relation between the standardized pD (paD) scale and the operational pH in heavy water, *Anal. Chem.* **40** (1968) 700–706, <https://doi.org/10.1021/ac60260a013>.
- [111] Baranauskienė, L.; Petrikaitė, V.; Matulienė, J.; and Matulis, D., Titration Calorimetry Standards and the Precision of Isothermal Titration Calorimetry Data, *Int. J. Mol. Sci.* **10** (2009) 2752–2762, <https://doi.org/10.3390/ijms10062752>.
- [112] Freyer, M. W. and Lewis, E. A., Isothermal Titration Calorimetry: Experimental Design, Data Analysis, and Probing Macromolecule/Ligand Binding and Kinetic Interactions, *Methods Cell Biol.* **84** (2008) 79–113, [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(07\)84004-0](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(07)84004-0).
- [113] TA Instruments, Titration calorimétrique isotherme, <http://www.tainstruments.com/produits/microcalorimetrie/isothermal-titration-calorimetry/?lang=fr&lang=fr>, accessed 01/13/2019.
- [114] Wiseman, T.; Williston, S.; Brandts, J. F.; and Lin, L.-N., Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter, *Anal. Biochem.* **179** (1989) 131–137, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90213-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90213-3).
- [115] Holdgate, G. A., Making cool drugs hot : isothermal titration calorimetry as a tool to study binding energetics, *Biotechniques* **31** (2001) 164–184.
- [116] Duff, Jr., M. R.; Grubbs, J.; and Howell, E. E., Isothermal Titration Calorimetry for Measuring Macromolecule-Ligand Affinity, *J. Vis. Exp.* (2011) 2–5, <https://doi.org/10.3791/2796>.
- [117] Christensen, J.; Hansen, L. D.; and Izatt, R. M., "Handbook of Proton Ionization Heats and Related Thermodynamic Quantities", 99th ed., John Wiley & Sons, New-York, (1976).
- [118] Priftis, D.; Laugel, N.; and Tirrell, M., Thermodynamic Characterization of Polypeptide Complex Coacervation, *Langmuir* **28** (2012) 15947–15957, <https://doi.org/10.1021/la302729r>.
- [119] Freyer, M. W. and Lewis, E. A., in eds. Correia, J. J., and Detrich III, W., Biophysical Tools for Biologists, Volume One: In Vitro Techniques, *Methods Cell Biol.*, Academic Press - Elsevier, (2008), pp. 79–113.
- [120] Frueh, J.; Gai, M.; Halstead, S.; and He, Q., "Polyelectrolytes", Springer I, Springer International Publishing, Cham, (2014).
- [121] Lounis, F. M.; Chamieh, J.; Gonzalez, P.; Cottet, H.; and Leclercq, L., Prediction of Polyelectrolyte Complex Stoichiometry for Highly Hydrophilic Polyelectrolytes, *Macromolecules* **49** (2016) 3881–

- 3888, <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b00463>.
- [122] Qi, L.; Fresnais, J.; Berret, J.-F.; Castaing, J.-C.; Destremaut, F.; Salmon, J.-B. et al., Influence of the Formulation Process in Electrostatic Assembly of Nanoparticles and Macromolecules in Aqueous Solution: The Interaction Pathway, *J. Phys. Chem. C* **114** (2010) 16373–16381, <https://doi.org/10.1021/jp106610t>.
- [123] Lund, R.; Willner, L.; Monkenbusch, M.; Panine, P.; Narayanan, T.; Colmenero, J. et al., Structural Observation and Kinetic Pathway in the Formation of Polymeric Micelles, *Phys. Rev. Lett.* **102** (2009) 188301–(1–4), <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.102.188301>.
- [124] Kayitmazer, A. B.; Koksal, A. F.; and Kilic Ililik, E., Complex coacervation of hyaluronic acid and chitosan: effects of pH, ionic strength, charge density, chain length and the charge ratio, *Soft Matter* **11** (2015) 8605–8612, <https://doi.org/10.1039/C5SM01829C>.
- [125] Thünemann, A. F.; Müller, M.; Dautzenberg, H.; Joanny, J.-F.; and Löwen, H., in ed. Schmidt, M., Polyelectrolyte Complexes, *Polyelectrolytes with Defin. Mol. Archit. II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, (2004), pp. 113–171.
- [126] Drogoz, A.; David, L.; Rochas, C.; Domard, A.; and Delair, T., Polyelectrolyte Complexes from Polysaccharides: Formation and Stoichiometry Monitoring, *Langmuir* **23** (2007) 10950–10958, <https://doi.org/10.1021/la7008545>.
- [127] Dautzenberg, H., Polyelectrolyte Complex Formation in Highly Aggregating Systems. 1. Effect of Salt: Polyelectrolyte Complex Formation in the Presence of NaCl, *Macromolecules* **30** (1997) 7810–7815, <https://doi.org/10.1021/ma970803f>.
- [128] Karibyants, N.; Dautzenberg, H.; and Cölfen, H., Characterization of PSS/PDADMAC- co -AA Polyelectrolyte Complexes and Their Stoichiometry Using Analytical Ultracentrifugation, *Macromolecules* **30** (1997) 7803–7809, <https://doi.org/10.1021/ma970802n>.
- [129] Giermanska, J.; Sekar, S.; Ly, I.; and Chapel, J.-P., Influence of the formulation pathway on the growth of polyelectrolyte multilayer films, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **509** (2016) 666–674, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.09.053>.
- [130] Lukšič, M.; Bončina, M.; Vlachy, V.; and Druchok, M., Isothermal titration calorimetry and molecular dynamics study of ion-selectivity in mixtures of hydrophobic polyelectrolytes with sodium halides in water, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14** (2012) 2024–2031, <https://doi.org/10.1039/c2cp23137a>.
- [131] Luo, Z.; Wang, X.; and Zhang, G., Ion-specific effect on dynamics of polyelectrolyte chains, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14** (2012) 6812–6816, <https://doi.org/10.1039/c2cp40077d>.
- [132] Sinn, C. G.; Dimova, R.; and Antonietti, M., Isothermal Titration Calorimetry of the Polyelectrolyte/Water Interaction and Binding of Ca<sup>2+</sup>: Effects Determining the Quality of Polymeric Scale Inhibitors, *Macromolecules* **37** (2004) 3444–3450, <https://doi.org/10.1021/ma030550s>.
- [133] Požar, J. and Kovačević, D., Complexation between polyallylammonium cations and polystyrenesulfonate anions: the effect of ionic strength and the electrolyte type, *Soft Matter* **10** (2014) 6530–6545, <https://doi.org/10.1039/C4SM00651H>.
- [134] Ankerfors, C.; Ondaral, S.; Wågberg, L.; and Ödberg, L., Using jet mixing to prepare polyelectrolyte complexes: Complex properties and their interaction with silicon oxide surfaces, *J. Colloid Interface Sci.* **351** (2010) 88–95, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.07.027>.
- [135] Qi, L., Design of hybrid organic-inorganic nanostructures via electrostatic assembly in solutions and at interfaces, University of Pennsylvania, (2009).
- [136] Utsuno, K. and Uludağ, H., Thermodynamics of Polyethylenimine-DNA Binding and DNA Condensation, *Biophys. J.* **99** (2010) 201–207, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.04.016>.
- [137] Wang, Q. and Schlenoff, J. B., The Polyelectrolyte Complex/Coacervate Continuum, *Macromolecules* **47** (2014) 3108–3116, <https://doi.org/10.1021/ma500500q>.
- [138] Amine, C.; Boire, A.; Davy, J.; Marquis, M.; and Renard, D., Droplets-based microfluidic for the rapid determination of biopolymers phase diagrams, *Food Hydrocoll.* **70** (2017) 134–142, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.035>.
- [139] Marquis, M.; Davy, J.; Fang, A.; and Renard, D., Microfluidics-Assisted Diffusion Self-Assembly: Toward the Control of the Shape and Size of Pectin Hydrogel Microparticles, *Biomacromolecules* **15** (2014) 1568–1578, <https://doi.org/10.1021/bm401596m>.

- [140] Destremaut, F.; Salmon, J.-B.; Qi, L.; and Chapel, J.-P., Microfluidics with on-line dynamic light scattering for size measurements, *Lab Chip* **9** (2009) 3289–3296, <https://doi.org/10.1039/b906514h>.
- [141] Kovacevic, D.; van der Burgh, S.; de Keizer, A.; and Cohen Stuart, M. A., Kinetics of Formation and Dissolution of Weak Polyelectrolyte Multilayers: Role of Salt and Free Polyions, *Langmuir* **18** (2002) 5607–5612, <https://doi.org/10.1021/la025639q>.
- [142] Zheng, C.; Niu, L.; Pan, W.; Zhou, J.; Lv, H.; Cheng, J. et al., Long-term kinetics of DNA interacting with polycations, *Polymer (Guildf)*. **55** (2014) 2464–2471, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2014.03.038>.
- [143] Liu, X.; Chapel, J.-P.; and Schatz, C., Structure, thermodynamic and kinetic signatures of a synthetic polyelectrolyte coacervating system, *Adv. Colloid Interface Sci.* **239** (2017) 178–186, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.10.004>.
- [144] Giermanska, J.; Chapel, J.-P.; and Schatz, C., Distinctive coacervation vs. aggregation signature in polyelectrolyte systems through stopped-flow light scattering measurements, *Prep.* (2019).
- [145] Zhang, J.; Chen, S.; Zhu, Z.; and Liu, S., Stopped-flow kinetic studies of the formation and disintegration of polyion complex micelles in aqueous solution, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16** (2014) 117–127, <https://doi.org/10.1039/C3CP53608D>.
- [146] Laugel, N.; Betscha, C.; Winterhalter, M.; Voegel, J.; Schaaf, P.; and Ball, V., Relationship between the Growth Regime of Polyelectrolyte Multilayers and the Polyanion/Polycation Complexation Enthalpy, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 19443–19449, <https://doi.org/10.1021/jp062264z>.
- [147] Hofs, B.; Voets, I. K.; de Keizer, A.; and Cohen Stuart, M. A., Comparison of complex coacervate core micelles from two diblock copolymers or a single diblock copolymer with a polyelectrolyte, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8** (2006) 4242–4251, <https://doi.org/10.1039/b605695d>.
- [148] Izumrudov, V. A.; Bronich, T. K.; Zezin, A. B.; and Kabanov, V. A., The kinetics and mechanism of intermacromolecular reactions in polyelectrolyte solutions, *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* **23** (1985) 439–444, <https://doi.org/10.1002/pol.1985.130230808>.
- [149] Izumrudov, V. A.; Bronich, T. K.; Saburova, O. S.; Zezin, A. B.; and Kabanov, V. A., The influence of chain length of a competitive polyanion and nature of monovalent counterions on the direction of the substitution reaction of polyelectrolyte complexes, *Macromol. Chem., Rapid Commun.* **12** (1988) 7–12, <https://doi.org/10.1002/marc.1988.030090102>.
- [150] Fu, J.; Fares, H. M.; and Schlenoff, J. B., Ion-Pairing Strength in Polyelectrolyte Complexes, *Macromolecules* **50** (2017) 1066–1074, <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.6b02445>.
- [151] Fu, J. and Schlenoff, J. B., Driving Forces for Oppositely Charged Polyion Association in Aqueous Solutions: Enthalpic, Entropic, but Not Electrostatic, *J. Am. Chem. Soc.* **138** (2016) 980–990, <https://doi.org/10.1021/jacs.5b11878>.
- [152] Schlenoff, J. B., Site-specific perspective on interactions in polyelectrolyte complexes: Toward quantitative understanding, *J. Chem. Phys.* **149** (2018) 163314–(1–8), <https://doi.org/10.1063/1.5035567>.
- [153] Fares, H. M.; Ghossoub, Y. E.; Delgado, J. D.; Fu, J.; Urban, V. S.; and Schlenoff, J. B., Scattering Neutrons along the Polyelectrolyte Complex/Coacervate Continuum, *Macromolecules* **51** (2018) 4945–4955, <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.8b00699>.
- [154] Cabaret, F.; Bonnot, S.; Fradette, L.; and Tanguy, P. A., Mixing Time Analysis Using Colorimetric Methods and Image Processing, *Ind. Eng. Chem. Res.* **46** (2007) 5032–5042, <https://doi.org/10.1021/ie0613265>.
- [155] Jin Bae, E.; Hun Kang, Y.; Jang, K.; and Yun Cho, S., Enhancement of Thermoelectric Properties of PEDOT:PSS and Tellurium-PEDOT:PSS Hybrid Composites by Simple Chemical Treatment, *Sci. Rep.* **6** (2016) 18805, <https://doi.org/10.1038/srep18805>.
- [156] Moreno, I., Physiopathologie du potassium, <https://slideplayer.fr/slide/1596794/>, accessed 01/13/2019.
- [157] Curtis, K. A.; Miller, D.; Millard, P.; Basu, S.; Horkay, F.; and Chandran, P. L., Unusual Salt and pH Induced Changes in Polyethylenimine Solutions, *PLoS One* **11** (2016) 1–20, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158147>.
- [158] Ziebarth, J. D. and Wang, Y., Understanding the Protonation Behavior of Linear Polyethylenimine in Solutions through Monte Carlo Simulations, *Biomacromolecules* **11** (2010) 29–38,

- <https://doi.org/10.1021/bm900842d>.
- [159] Lewis, J., Novel Inks for Direct-Write Assembly of 3-D Periodic Structures, *Mater. Matters* **3** (2008) 4–7,.
- [160] Ariga, K. and Hill, J. P., Layer-by-Layer (LbL) Assembly, A “Gentle Yet Flexible” Method Toward Functional Biomaterials, *Mater. Matters* **3** (2011) 57–65,.
- [161] Boussif, O.; Lezoualc’h, F.; Zanta, M. A.; Mergny, M. D.; Scherman, D.; Demeneix, B. et al., A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92** (1995) 7297–7301, <https://doi.org/10.1073/pnas.92.16.7297>.
- [162] Mihai, M.; Dragan, E. S.; Schwarz, S.; and Janke, A., Dependency of Particle Sizes and Colloidal Stability of Polyelectrolyte Complex Dispersions on Polyanion Structure and Preparation Mode Investigated by Dynamic Light Scattering and Atomic Force Microscopy †, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 8668–8675, <https://doi.org/10.1021/jp071655q>.
- [163] Dragan, E. S. and Schwarz, S., Polyelectrolyte complexes. VII. Complex nanoparticles based on poly(sodium 2-acrylamido-2-methylpropanesulfonate) tailored by the titrant addition rate, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **42** (2004) 5244–5252, <https://doi.org/10.1002/pola.20388>.
- [164] Petrov, A. I.; Antipov, A. A.; and Sukhorukov, G. B., Base–Acid Equilibria in Polyelectrolyte Systems: From Weak Polyelectrolytes to Interpolyelectrolyte Complexes and Multilayered Polyelectrolyte Shells, *Macromolecules* **36** (2003) 10079–10086, <https://doi.org/10.1021/ma034516p>.
- [165] Lebleu, C., "*Dolomite User Manual 1 . Important information*", Bordeaux, (2016).
- [166] Dai, Z. and Wu, C., How Does DNA Complex with Polyethylenimine with Different Chain Lengths and Topologies in Their Aqueous Solution Mixtures?, *Macromolecules* **45** (2012) 4346–4353, <https://doi.org/10.1021/ma2027963>.
- [167] Godbey, W. T.; Barry, M. A.; Saggau, P.; Wu, K. K.; and Mikos, A. G., Poly(ethylenimine)-mediated transfection: A new paradigm for gene delivery, *J. Biomed. Mater. Res.* **51** (2000) 321–328, [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20000905\)51:3<321::AID-JBM5>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20000905)51:3<321::AID-JBM5>3.0.CO;2-R).
- [168] Sigaud, G., unpublished results, (n.d.).
- [169] Novikova, E. V.; Smychenko, V. M.; and Iozep, A. A., Sulfation of dextran with chlorosulfonic acid in organic solvents, *Russ. J. Appl. Chem.* **80** (2007) 1151–1153, <https://doi.org/10.1134/S1070427207070270>.
- [170] Zeerleder, S.; Mauron, T.; Lämmle, B.; and Wuillemin, W. A., Effect of low-molecular weight dextran sulfate on coagulation and platelet function tests, *Thromb. Res.* **105** (2002) 441–446, [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(02\)00041-5](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(02)00041-5).
- [171] Ku, W.-C.; Lau, W. K.; Tseng, Y.-T.; Tzeng, C.-M.; and Chiu, S.-K., Dextran sulfate provides a quantitative and quick microarray hybridization reaction, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **315** (2004) 30–37, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.01.013>.
- [172] Baba, M.; Pauwels, R.; Balzarini, J.; Arnout, J.; Desmyter, J.; and De Clercq, E., Mechanism of inhibitory effect of dextran sulfate and heparin on replication of human immunodeficiency virus in vitro., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85** (1988) 6132–6136, <https://doi.org/10.1073/pnas.85.16.6132>.
- [173] Lüscher-Mattli, M.; Glück, R.; Kempf, C.; and Zanoni-Grassi, M., A comparative study of the effect of dextran sulfate on the fusion and the in vitro replication of influenza A and B, Semliki Forest, vesicular stomatitis, rabies, Sendai, and mumps virus, *Arch. Virol.* **130** (1993) 317–326, <https://doi.org/10.1007/BF01309663>.
- [174] Mathes, L. E.; Hayes, K. A.; Swenson, C. L.; Polas, P. J.; Weisbrode, S. E.; and Kociba, G. J., Evaluation of antiviral activity and toxicity of dextran sulfate in feline leukemia virus-infected cats., *Antimicrob. Agents Chemother.* **35** (1991) 2147–2150, <https://doi.org/10.1128/AAC.35.10.2147>.
- [175] Lamichhane, S.; Anderson, J.; Remund, T.; Kelly, P.; and Mani, G., Dextran sulfate as a drug delivery platform for drug-coated balloons: Preparation, characterization, in vitro drug elution, and smooth muscle cell response, *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **104** (2016) 1416–1430, <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33494>.
- [176] Starchenko, V.; Müller, M.; and Lebovka, N., Sizing of PDADMAC/PSS Complex Aggregates by Polyelectrolyte and Salt Concentration and PSS Molecular Weight, *J. Phys. Chem. B* **116** (2012)

- 14961–14967, <https://doi.org/10.1021/jp3095243>.
- [177] Nguyen, F. N.; Saks, A. M.; and Berg, J. C., Use of polyethyleneimine dendrimer as a novel graded-modulus interphase material in polymeric composites, *J. Adhes. Sci. Technol.* **21** (2007) 1375–1393, <https://doi.org/10.1163/156856107782313610>.
- [178] Chachulski, B.; Gebicki, J.; Jasinski, G.; Jasinski, P.; and Nowakowski, A., Properties of a polyethyleneimine-based sensor for measuring medium and high relative humidity, *Meas. Sci. Technol.* **17** (2006) 12–16, <https://doi.org/10.1088/0957-0233/17/1/003>.
- [179] Horn, D.; Linhart, F.; and Roberts, J. ., in ed. Roberts, J. C., Retention aids, *Pap. Chem.*, 2nd Editio, Blackie Academic and Professional, London & Glasgow, (1996), pp. 64–82.
- [180] Matsumoto, K.; Suganuma, A.; and Kunui, D., The effect of cationic polymer on the settling characteristics of activated sludge, *Powder Technol.* **25** (1980) 1–10, [https://doi.org/10.1016/0032-5910\(80\)87001-X](https://doi.org/10.1016/0032-5910(80)87001-X).
- [181] Godbey, W. T.; Wu, K. K.; and Mikos, A. G., Poly(ethylenimine) and its role in gene delivery, *J. Control. Release* **60** (1999) 149–160, [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00090-5](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00090-5).
- [182] Behr, J., The proton sponge: a trick to enter cells the viruses did not exploit, *Int. J. Chem.* **51** (1997) 34–36,.
- [183] Suh, J.; Paik, H. J.; and Hwang, B. K., Ionization of Poly(ethylenimine) and Poly(allylamine) at Various pH's, *Bioorg. Chem.* **22** (1994) 318–327, <https://doi.org/10.1006/bioo.1994.1025>.
- [184] Nagaya, J.; Homma, M.; Tanioka, A.; and Minakata, A., Relationship between protonation and ion condensation for branched poly(ethylenimine), *Biophys. Chem.* **60** (1996) 45–51, [https://doi.org/10.1016/0301-4622\(95\)00143-3](https://doi.org/10.1016/0301-4622(95)00143-3).
- [185] Effler, L. J.; Lewis, D. N.; and Fellers, J. F., in Quantitative Small-Angle Light Scattering of Liquid Crystalline Copolyester Films, *Polym. Assoc. Struct.*, American Chemical Society, (1989), pp. 225–254.
- [186] Zhang, R. and Shklovskii, B. I., Phase diagram of solution of oppositely charged polyelectrolytes, *Phys. A Stat. Mech. Its Appl.* **352** (2005) 216–238, <https://doi.org/10.1016/j.physa.2004.12.037>.
- [187] Liu, X.; Haddou, M.; Grillo, I.; Mana, Z.; Chapel, J.; and Schatz, C., Early stage kinetics of polyelectrolyte complex coacervation monitored through stopped-flow light scattering, *Soft Matter* **12** (2016) 9030–9038, <https://doi.org/10.1039/C6SM01979J>.
- [188] Berger, M. and Schmidtchen, F. P., The Binding of Sulfate Anions by Guanidinium Receptors is Entropy-Driven, *Angew. Chemie Int. Ed.* **37** (1998) 2694–2696, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19981016\)37:19<2694::AID-ANIE2694>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19981016)37:19<2694::AID-ANIE2694>3.0.CO;2-Q).
- [189] Petrov, A. I.; Antipov, A. A.; and Sukhorukov, G. B., Base–Acid Equilibria in Polyelectrolyte Systems: From Weak Polyelectrolytes to Interpolyelectrolyte Complexes and Multilayered Polyelectrolyte Shells, *Macromolecules* **36** (2003) 10079–10086, <https://doi.org/10.1021/ma034516p>.
- [190] Ma, P. L.; Lavertu, M.; Winnik, F. M.; and Buschmann, M. D., New Insights into Chitosan–DNA Interactions Using Isothermal Titration Microcalorimetry, *Biomacromolecules* **10** (2009) 1490–1499, <https://doi.org/10.1021/bm900097s>.
- [191] Maechling, C. and Ball, V., Exothermic–Endothermic Transition in the Titration of Poly(allylamine chloride) with Sodium Hexametaphosphate Associated with a Change in the Proton Release Regime, *J. Phys. Chem. B* **120** (2016) 4732–4741, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b02709>.
- [192] Vitorazi, L.; Ould-Moussa, N.; Sekar, S.; Fresnais, J.; Loh, W.; Chapel, J.-P. et al., Evidence of a two-step process and pathway dependency in the thermodynamics of poly(diallyldimethylammonium chloride)/poly(sodium acrylate) complexation, *Soft Matter* **10** (2014) 9496–9505, <https://doi.org/10.1039/C4SM01461H>.
- [193] Liu, X.; Chapel, J.-P.; and Schatz, C., Structure, thermodynamic and kinetic signatures of a synthetic polyelectrolyte coacervating system, *Adv. Colloid Interface Sci.* **239** (2017) 178–186, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.10.004>.
- [194] Bohidar, H.; Dubin, P. L.; Majhi, P. R.; Tribet, C.; and Jaeger, W., Effects of Protein–Polyelectrolyte Affinity and Polyelectrolyte Molecular Weight on Dynamic Properties of Bovine Serum Albumin–Poly(diallyldimethylammonium chloride) Coacervates, *Biomacromolecules* **6** (2005) 1573–1585, <https://doi.org/10.1021/bm049174p>.
- [195] Priftis, D.; Megley, K.; Laugel, N.; and Tirrell, M., Complex coacervation of poly(ethylene-

- imine)/polypeptide aqueous solutions: Thermodynamic and rheological characterization, *J. Colloid Interface Sci.* **398** (2013) 39–50, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.01.055>.
- [196] Wang, X.; Lee, J.; Wang, Y.; and Huang, Q., Composition and Rheological Properties of  $\beta$ -Lactoglobulin/Pectin Coacervates: Effects of Salt Concentration and Initial Protein/Polysaccharide Ratio, *Biomacromolecules* **8** (2007) 992–997, <https://doi.org/10.1021/bm060902d>.
- [197] Spruijt, E.; Cohen Stuart, M. A.; and van der Gucht, J., Linear Viscoelasticity of Polyelectrolyte Complex Coacervates, *Macromolecules* **46** (2013) 1633–1641, <https://doi.org/10.1021/ma301730n>.
- [198] Weinbreck, F.; Wientjes, R. H. W.; Nieuwenhuijse, H.; Robijn, G. W.; and de Kruif, C. G., Rheological properties of whey protein/gum arabic coacervates, *J. Rheol. (N. Y. N. Y.)* **48** (2004) 1215–1228, <https://doi.org/10.1122/1.1795191>.
- [199] Liu, Y.; Winter, H. H.; and Perry, S. L., Linear viscoelasticity of complex coacervates, *Adv. Colloid Interface Sci.* **239** (2017) 46–60, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.08.010>.
- [200] Villetti, M.; Borsali, R.; Diat, O.; Soldi, V.; and Fukada, K., SAXS from Polyelectrolyte Solutions under Shear: Xanthan and Na-Hyaluronate Examples †, *Macromolecules* **33** (2000) 9418–9422, <https://doi.org/10.1021/ma000971z>.
- [201] Mengarelli, V.; Zeghal, M.; Auvray, L.; and Clemens, D., Phase behavior and structure of stable complexes between a long polyanion and a branched polycation, *Phys. Rev. E* **84** (2011) 021805, <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.84.021805>.
- [202] Fishman, M. L.; Damert, W. C.; Phillips, J. G.; and Barford, R. A., Evaluation of root-mean-square radius of gyration as a parameter for universal calibration of polysaccharides, *Carbohydr. Res.* **160** (1987) 215–225, [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(87\)80313-0](https://doi.org/10.1016/0008-6215(87)80313-0).
- [203] Mortensen, K., in ed. Nalwa, H. ., Structural Studies of Polymer Systems Using Small-Angle Neutron Scattering, *Adv. Funct. Mol. Polym. Vol.2 Process. Spectrosc.*, Overseas P, Gordon&Breach Science Publ. OPA, (2001), pp. 223–269.
- [204] Spruijt, E.; Leermakers, F. A. M.; Fokkink, R.; Schweins, R.; van Well, A. A.; Cohen Stuart, M. A. et al., Structure and Dynamics of Polyelectrolyte Complex Coacervates Studied by Scattering of Neutrons, X-rays, and Light, *Macromolecules* **46** (2013) 4596–4605, <https://doi.org/10.1021/ma400132s>.
- [205] Gummel, J.; Boué, F.; Demé, B.; and Cousin, F., Charge Stoichiometry Inside Polyelectrolyte-Protein Complexes: A Direct SANS Measurement for the PSSNa-Lysozyme System, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 24837–24846, <https://doi.org/10.1021/jp064383k>.
- [206] Rydzek, G.; Ji, Q.; Li, M.; Schaaf, P.; Hill, J. P.; Boulmedais, F. et al., Electrochemical nanoarchitectonics and layer-by-layer assembly: From basics to future, *Nano Today* **10** (2015) 138–167, <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2015.02.008>.
- [207] Buriuli, M. and Verma, D., "Advances in Biomaterials for Biomedical Applications", Springer Singapore, Singapore, (2017).
- [208] Koga, S.; Williams, D. S.; Perriman, A. W.; and Mann, S., Peptide-nucleotide microdroplets as a step towards a membrane-free protocell model, *Nat. Chem.* **3** (2011) 720–724, <https://doi.org/10.1038/nchem.1110>.
- [209] Martin, N.; Li, M.; and Mann, S., Selective Uptake and Refolding of Globular Proteins in Coacervate Microdroplets, *Langmuir* **32** (2016) 5881–5889, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b01271>.
- [210] Priftis, D.; Xia, X.; Margossian, K. O.; Perry, S. L.; Leon, L.; Qin, J. et al., Ternary, Tunable Polyelectrolyte Complex Fluids Driven by Complex Coacervation, *Macromolecules* **47** (2014) 3076–3085, <https://doi.org/10.1021/ma500245j>.
- [211] Alonso, T.; Irigoyen, J.; Iturri, J. J.; Larena, I. L.; and Moya, S. E., Study of the multilayer assembly and complex formation of poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDADMAC) and poly(acrylic acid) (PAA) as a function of pH, *Soft Matter* **9** (2013) 1920–1928, <https://doi.org/10.1039/C2SM26884A>.
- [212] Reisch, A.; Tirado, P.; Roger, E.; Boulmedais, F.; Collin, D.; Voegel, J.-C. et al., Compact Saloplastic Poly(Acrylic Acid)/Poly(Allylamine) Complexes: Kinetic Control Over Composition, Microstructure, and Mechanical Properties, *Adv. Funct. Mater.* **23** (2013) 673–682,

- <https://doi.org/10.1002/adfm.201201413>.
- [213] John, W., SYNTHESIS, PROPERTIES AND ANALYSIS OF POLYDADMAC FOR WATER PURIFICATION, University of Stellenbosch, (2008).
- [214] Roach, J. D.; Lane, R. F.; and Hussain, Y., Comparative study of the uses of poly(4-vinylpyridine) and poly(diallyldimethylammonium) chloride for the removal of perchlorate from aqueous solution by polyelectrolyte-enhanced ultrafiltration, *Water Res.* **45** (2011) 1387–1393, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.027>.
- [215] Schaaf, P. and Schlenoff, J. B., Saloplastics: Processing Compact Polyelectrolyte Complexes, *Adv. Mater.* **27** (2015) 2420–2432, <https://doi.org/10.1002/adma.201500176>.
- [216] Adusumilli, M., POLYELECTROLYTE MULTILAYER FILMS FOR ION SEPARATION AND WATER, Michigan State University, (2010).
- [217] Du, X.; Dubin, P. L.; Hoagland, D. A.; and Sun, L., Protein-Selective Coacervation with Hyaluronic Acid, *Biomacromolecules* **15** (2014) 726–734, <https://doi.org/10.1021/bm500041a>.
- [218] Aarne, N.; Kontturi, E.; and Laine, J., Carboxymethyl cellulose on a fiber substrate: the interactions with cationic polyelectrolytes, *Cellulose* **19** (2012) 2217–2231, <https://doi.org/10.1007/s10570-012-9793-2>.
- [219] Bratby, J., "Coagulation and flocculation: With an emphasis on water and wastewater treatment", Uplands Press Ltd., (1980).
- [220] Gernandt, R.; Wågberg, L.; Gärdlund, L.; and Dautzenberg, H., Polyelectrolyte complexes for surface modification of wood fibres, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **213** (2003) 15–25, [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(02\)00335-7](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(02)00335-7).
- [221] Teixeira, J., SANS : An Introduction, **20** (n.d.) 129–136,.
- [222] Lorchat, P.; Konko, I.; Combet, J.; Jestin, J.; Johnner, A.; Laschewski, A. et al., New regime in polyelectrolyte solutions, *Epl* **106** (2014) 28003, <https://doi.org/10.1209/0295-5075/106/28003>.
- [223] Schosseler, F.; Ilmain, F.; and Candau, S. J., Structure and properties of partially neutralized poly(acrylic acid) gels, *Macromolecules* **24** (1991) 225–234, <https://doi.org/10.1021/ma00001a035>.
- [224] Gentile, P.; Carmagnola, I.; Nardo, T.; and Chiono, V., Layer-by-layer assembly for biomedical applications in the last decade, *Nanotechnology* **26** (2015) 1–21, <https://doi.org/10.1088/0957-4484/26/42/422001>.
- [225] Blocher, W. C. and Perry, S. L., Complex coacervate-based materials for biomedicine, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* **9** (2017) e1442, <https://doi.org/10.1002/wnan.1442>.
- [226] Delaney, K. T. and Fredrickson, G. H., Theory of polyelectrolyte complexation—Complex coacervates are self-coacervates, *J. Chem. Phys.* **146** (2017) 224902–(1–14), <https://doi.org/10.1063/1.4985568>.
- [227] Leistner, M.; Haile, M.; Rohmer, S.; Abu-Odeh, A.; and Grunlan, J. C., Water-soluble polyelectrolyte complex nanocoating for flame retardant nylon-cotton fabric, *Polym. Degrad. Stab.* **122** (2015) 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.10.008>.
- [228] Fadhillah, F.; Javaid Zaidi, S. M.; Khan, Z.; Khaled, M.; and Hammond, P. T., Reverse osmosis desalination membrane formed from weak polyelectrolytes by spin assisted layer by layer technique, *Desalin. Water Treat.* **34** (2011) 44–49, <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.2856>.
- [229] Sekar, S., Modulation de l'interaction électrostatique entre nanomatériaux en solutions et aux interfaces Vers la génération de surfaces fonctionnelles hybrides, Université de Bordeaux 1, (2013).
- [230] Dubin, P. . and Schatz, C., En cours, (2019).
- [231] Turnbull, W. B. and Daranas, A. H., On the Value of  $c$  : Can Low Affinity Systems Be Studied by Isothermal Titration Calorimetry?, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 14859–14866, <https://doi.org/10.1021/ja036166s>.
- [232] Freire, E.; Mayorga, O. L.; and Straume, M., Isothermal titration calorimetry, *Anal. Chem.* **62** (1990) 950A–959A, <https://doi.org/10.1021/ac00217a002>.
- [233] Abhyankar, N.; Ghossoub, Y. E.; Wang, Q.; Dalal, N. S.; and Schlenoff, J. B., Ion Environments in Mn<sup>2+</sup>-Doped Polyelectrolyte Complexes: Dilute Magnetic Saloplastics, *J. Phys. Chem. B* **120**

- (2016) 6771–6777, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b02697>.
- [234] Chapel, J.-P., Electrolyte Species Dependent Hydration Forces between Silica Surfaces, *Langmuir* **10** (1994) 4237–4243, <https://doi.org/10.1021/la00023a053>.
- [235] Fresnais, J.; Lavelle, C.; and Berret, J.-F., Nanoparticle Aggregation Controlled by Desalting Kinetics, *J. Phys. Chem. C* **113** (2009) 16371–16379, <https://doi.org/10.1021/jp904665u>.
- [236] Tirrell, M., Polyelectrolyte Complexes: Fluid or Solid?, *ACS Cent. Sci.* **4** (2018) 532–533, <https://doi.org/10.1021/acscentsci.8b00284>.
- [237] Haile, M.; Sarwar, O.; Henderson, R.; Smith, R.; and Grunlan, J. C., Polyelectrolyte Coacervates Deposited as High Gas Barrier Thin Films, *Macromol. Rapid Commun.* **38** (2017) 1600594 (1-5), <https://doi.org/10.1002/marc.201600594>.
- [238] Liu, Y.; Momani, B.; Winter, H. H.; and Perry, S. L., Rheological characterization of liquid-to-solid transitions in bulk polyelectrolyte complexes, *Soft Matter* **13** (2017) 7332–7340, <https://doi.org/10.1039/C7SM01285C>.
- [239] Fu, J.; Wang, Q.; and Schlenoff, J. B., Extruded superparamagnetic saloplastic polyelectrolyte nanocomposites, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7** (2015) 895–901, <https://doi.org/10.1021/am5074694>.
- [240] Porcel, C. H. and Schlenoff, J. B., Compact polyelectrolyte complexes: “Saloplastic” candidates for biomaterials, *Biomacromolecules* **10** (2009) 2968–2975, <https://doi.org/10.1021/bm900373c>.
- [241] Gummel, J.; Cousin, F.; and Boué, F., Counterions Release from Electrostatic Complexes of Polyelectrolytes and Proteins of Opposite Charge: A Direct Measurement, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 5806–5807, <https://doi.org/10.1021/ja070414t>.
- [242] Pucci, C.; Cousin, F.; Dole, F.; Chapel, J.-P.; and Schatz, C., Impact of the Formulation Pathway on the Colloidal State and Crystallinity of Poly- $\epsilon$ -caprolactone Particles Prepared by Solvent Displacement, *Langmuir* **34** (2018) 2531–2542, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b04198>.
- [243] Joly, R. and Vincent, E., L'équation de Smoluchowski : Existence de solutions et phénomène de gélation, (2000) 1–19.
- [244] Cousin, F., Small angle neutron scattering, *EPJ Web Conf.* **104** (2015) 01004, <https://doi.org/10.1051/epjconf/201510401004>.
- [245] Grillo, I., "Soft Matter Characterization", Springer Netherlands, Dordrecht, (2008).
- [246] Lounis, F. M., Etude des interactions entre polyélectrolytes de charges opposées par électrophorèse capillaire et titration calorimétrique isotherme, Université de Montpellier, (2016).
- [247] Yu, S.; Xu, X.; Yigit, C.; van der Giet, M.; Zidek, W.; Jankowski, J. et al., Interaction of human serum albumin with short polyelectrolytes: a study by calorimetry and computer simulations, *Soft Matter* **11** (2015) 4630–4639, <https://doi.org/10.1039/C5SM00687B>.
- [248] Feng, X.; Leduc, M.; and Pelton, R., Polyelectrolyte complex characterization with isothermal titration calorimetry and colloid titration, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **317** (2008) 535–542, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.11.053>.
- [249] Hadian, M.; Hosseini, S. M. H.; Farahnaky, A.; Mesbahi, G. R.; Yousefi, G. H.; and Saboury, A. A., Isothermal titration calorimetric and spectroscopic studies of  $\beta$ -lactoglobulin-water-soluble fraction of Persian gum interaction in aqueous solution, *Food Hydrocoll.* **55** (2016) 108–118, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.11.006>.
- [250] Li, X.; Hua, Y.; Chen, Y.; Kong, X.; and Zhang, C., The selective complex behavior between soybean whey proteins and  $\iota$ -carrageenan and isolation of the major proteins of the soybean whey, *Food Hydrocoll.* **56** (2016) 207–217, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.023>.
- [251] Le Cerf, D.; Pepin, A. S.; Niang, P. M.; Cristea, M.; Karakasyan-Dia, C.; and Picton, L., Formation of polyelectrolyte complexes with diethylaminoethyl dextran: Charge ratio and molar mass effect, *Carbohydr. Polym.* **113** (2014) 217–224, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.015>.
- [252] Jauregi, P.; Olatujoye, J. B.; Cabezudo, I.; Frazier, R. A.; and Gordon, M. H., Astringency reduction in red wine by whey proteins, *Food Chem.* **199** (2016) 547–555, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.052>.
- [253] Sorlier, P.; Denuziere, A.; Viton, C.; and Domard, A., Relation between the Degree of Acetylation and the Electrostatic Properties of Chitin and Chitosan, *Biomacromolecules* **2** (2001) 765–772,

- <https://doi.org/10.1021/bm015531>.
- [254] Leclercq, L.; Boustta, M.; and Vert, M., Dynamics of polyelectrolyte complex formation and stability when a polycation is progressively added to a polyanion under physico-chemical conditions modeling blood, *J. Bioact. Compat. Polym.* **26** (2011) 3–19, <https://doi.org/10.1177/0883911510393075>.
- [255] Mende, M.; Petzold, G.; and Buchhammer, H. M., Polyelectrolyte complex formation between poly(diallyldimethyl-ammonium chloride) and copolymers of acrylamide and sodium-acrylate, *Colloid Polym. Sci.* **280** (2002) 342–351, <https://doi.org/10.1007/s00396-001-0614-7>.
- [256] Brand, F. and Dautzenberg, H., Structural Analysis in Interpolyelectrolyte Complex Formation of Sodium Poly(styrenesulfonate) and Diallyldimethylammonium Chloride–Acrylamide Copolymers by Viscometry, *Langmuir* **13** (1997) 2905–2910, <https://doi.org/10.1021/la960592s>.
- [257] Philipp, B.; Dautzenberg, H.; Linow, K.-J.; Kötz, J.; and Dawydoff, W., Polyelectrolyte complexes — recent developments and open problems, *Prog. Polym. Sci.* **14** (1989) 91–172, [https://doi.org/10.1016/0079-6700\(89\)90018-X](https://doi.org/10.1016/0079-6700(89)90018-X).
- [258] Antonietti, M.; Bremser, W.; and Schmidt, M., Microgels: model polymers for the crosslinked state, *Macromolecules* **23** (1990) 3796–3805, <https://doi.org/10.1021/ma00218a014>.
- [259] Burchard, W., in *Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers, Light Scatt. from Polym.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, (1983), pp. 1–124.
- [260] Muthukumar, M., 50th Anniversary Perspective : A Perspective on Polyelectrolyte Solutions, *Macromolecules* **50** (2017) 9528–9560, <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.7b01929>.
- [261] Monroy, F.; Arriaga, L. R.; and Langevin, D., Langmuir polymer films: recent results and new perspectives, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **14** (2012) 14450–14459, <https://doi.org/10.1039/c2cp42454a>.
- [262] Spruijt, E.; Leermakers, F. A. M.; Fokkink, R.; Schweins, R.; van Well, A. A.; Cohen Stuart, M. A. et al., Structure and Dynamics of Polyelectrolyte Complex Coacervates Studied by Scattering of Neutrons, X-rays, and Light, *Macromolecules* **46** (2013) 4596–4605, <https://doi.org/10.1021/ma400132s>.
- [263] Liu, X., Données non publiées, (2017).
- [264] Buchhammer, H.-M.; Petzold, G.; and Lunkwitz, K., Nanoparticles based on polyelectrolyte complexes: effect of structure and net charge on the sorption capability for solved organic molecules, *Colloid Polym. Sci.* **278** (2000) 841–847, <https://doi.org/10.1007/s003960000330>.
- [265] Lebleu, C., "Auto-assemblages de copolymères à blocs poly(éthylène glycol)-*b*-poly(triméthylène carbonate) pour la vectorisation", Bordeaux, (2016).

# ANNEXES



# ANNEXES

## Table des matières

<b>ANNEXE METHODES DE CARACTERISATION</b>	<b>191</b>
<b>8.1 Caractérisation des PEs</b>	<b>191</b>
8.1.1 Détermination de la teneur en eau par analyse thermogravimétrique	191
8.1.2 Masse moléculaire, polydispersité et indice de réfraction par GPC/SEC-MALS	191
<b>8.2 Caractérisation morphologique des complexes</b>	<b>192</b>
8.2.1 Techniques de diffusion	192
8.2.1.1 Diffusion statique et dynamique de la lumière	192
Analyses mono-angle	192
Analyses multi-angles	192
8.2.1.2 Diffusion des neutrons aux petits angles	193
8.2.2 Etude de l'environnement chargé lors de la complexation	195
Potentiométrie	195
Conductimétrie	195
Détermination de la charge de surface par mesure du potentiel zêta	195
8.2.3 Visualisation des complexes	195
Microscopie optique	195
Microscopie confocale	195
Cryo-microscopie à balayage	196
<b>8.3 Cinétique de la complexation</b>	<b>196</b>
Mélangeur à flux stoppé et détection par diffusion statique de la lumière (stopped-flow)	196
Mesures de diffusion statique aux temps longs	197
<b>8.4 Thermodynamique de la complexation</b>	<b>197</b>
Titration isotherme suivi par calorimétrie	197
<b>ANNEXE CHAPITRE 1</b>	<b>198</b>
<b>ANNEXE CHAPITRE 2</b>	<b>201</b>
<b>10.1 Polyélectrolytes</b>	<b>201</b>
10.1.1 Teneur en eau des PEs par TGA	201
10.1.2 Détermination du taux d'ionisation du $\ell$ PEI <sub>2K</sub> par dosage potentiométrique	201
<b>10.2 Caractéristiques générales de la complexation</b>	<b>202</b>
10.2.1 Imagerie AFM des complexes	202
10.2.2 Etude de la complexation par stopped-flow	202
Cinétique de la complexation	202
Caractérisation par diffusion de la lumière multi-angles (MALS)	203
<b>10.3 Application à un système microfluidique</b>	<b>206</b>
10.3.1 Mélanges manuels	206
10.3.2 Mélanges au Dolomite	206
<b>ANNEXE CHAPITRE 3</b>	<b>207</b>
<b>11.1 Polyélectrolytes et autres composés</b>	<b>207</b>
11.1.1 Spécifications	207
11.1.2 Masse moléculaire, PDI et indice de réfraction par GPC/SEC-MALS	207
11.1.3 Teneur en eau des PE par TGA	208
11.1.4 Détermination du taux de charge du $\ell$ PEI par potentiométrie	208

<b>11.2 Préparation des solutions</b>	<b>209</b>
11.2.1 Sulfate de dextrane	209
11.2.2 Polyéthylène imine	210
11.2.3 Tampon acétate	210
<b>11.3 Suivi de la complexation</b>	<b>210</b>
11.3.1 Titrage isotherme suivi par calorimétrie	210
11.3.2 Diffusion statique et dynamique multiangle de la lumière (SLS, DLS)	212
11.3.2.1 Préparation des échantillons	212
11.3.2.2 Fonctions de distributions lors de la complexation 10/1 mM	213
11.3.3 Etude de l'environnement chargé lors de la complexation	213
11.3.3.1 Potentiométrie	213
11.3.3.2 Conductimétrie	213
11.3.4 Evaluation de la stœchiométrie des complexes par suivi UV-visible	213
11.3.5 Visualisation des complexes	214
11.3.5.1 Microscopie optique	214
11.3.5.2 Microscopies électronique à balayage et confocale	214
Microscopie confocale	215
Cryo-microscopie à balayage	215
11.3.6 Transition de dessalage suivie par SLS	215
11.3.7 Cinétique de la complexation	215
11.3.7.1 Suivi par diffusion de lumière au Nano ZS	215
11.3.7.2 Cinétique aux temps courts par stopped-flow	215
<b>11.4 Etude du Coacervat DxS/PEI</b>	<b>216</b>
11.4.1 Caractérisation du coacervat par ATG	216
11.4.2 Structuration interne du coacervat en DNPA	216
11.4.3 Visualisation du processus de coacervation	217
<b>ANNEXE CHAPITRE 4</b>	<b>218</b>
<b>12.1 Polyélectrolytes</b>	<b>218</b>
12.1.1 Teneur en eau des solutions de PDADMAC et PAA par ATG	218
12.1.2 Dosage conductimétrique du PAA	218
Titration PAA <sub>2K</sub>	218
Titration of 0.5 M NaOH	218
<b>12.2 Visualisation des solutions</b>	<b>219</b>
<b>12.1 Cinétique de la complexation</b>	<b>219</b>
<b>12.2 Thermodynamique de la complexation</b>	<b>222</b>
<b>12.3 Evaluation de la force électrostatique par expérience de dessalage</b>	<b>225</b>
12.3.1 Calcul de la concentration des solutions de NaCl	225
12.3.2 Transitions de dessalage	227
PAA <sub>2K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>	227
PSSNa <sub>4.3K</sub> /ℓ PEI <sub>2K</sub>	227
PSSNa <sub>4.3K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>	227
PAA <sub>2K</sub> /PDADMAC <sub>60K</sub>	228
<b>12.1 Mesure de l'hydratation des PEs</b>	<b>228</b>

# ANNEXE Méthodes de caractérisation

Cette annexe présente les protocoles des méthodes caractérisations communes à l'ensemble de la thèse ; les spécificités et expériences propres à un chapitre en particulier sont directement placées dans le chapitre et/ou l'annexe correspondante.

## 8.1 Caractérisation des PEs

### 8.1.1 Détermination de la teneur en eau par analyse thermogravimétrique

La quantité d'eau présente dans les polymères sous forme de 'poudre' ou 'gel' influant sur la concentration finale de nos échantillons, il est nécessaire de quantifier précisément cette valeur. Le pourcentage d'eau présent dans les polymères utilisés lors de cette étude a été évalué par analyse thermogravimétrique (TGA). Toutes les mesures ont été réalisées sur le modèle Q500 (four en céramique) de TA Instruments (New Castle, USA). Un échantillon de 10 mg est prélevé puis introduit dans un double creuset afin de s'affranchir d'une éventuelle perte de matière des produits volatils sous gaz porteur. L'échantillon est ensuite porté sous flux d'azote à 60 mL par min, et la température augmentée par paliers de 2°C/min, de la température ambiante jusqu'à 200°C. (Évaporation de toutes les molécules d'eau physisorbées dans le polymère). On évalue la perte en masse au palier correspondant à la perte en eau des échantillons sur le thermogramme obtenu.

### 8.1.2 Masse moléculaire, polydispersité et indice de réfraction par GPC/SEC-MALS

Les PEI, DxS, PDADMAC et PAA ont été analysés par Chromatographie d'Exclusion Stérique (SEC) équipée d'un détecteur multiangle (18 angles) à diffusion de lumière DAWN HELEOS-II (Wyatt Technology, Santa Barbara, US\*) et d'un détecteur à indice de réfraction (WYATT, OptilabrEX, Santa Barbara, USA) afin de déterminer la masse moléculaire moyenne ( $M_w$ ) et la dispersité des polymères. Les valeurs de  $dn/dc$  ont été estimées pour chaque polymère à l'aide d'un détecteur d'indice de réfraction différentiel (WYATT, Optilab rEX), et ce dans des solutions préparées dans les mêmes conditions que précédemment présenté pour l'élution dans le processus de chromatographie. Les chromatogrammes de l'indice de réfraction différentiel (dRI) ainsi que les masses moléculaires moyennes ( $M_w$ ) sont présentées dans chaque annexe du chapitre correspondant.

Les polymères sont dissous dans le tampon indiqué en Tableau Annexe 1, puis analysés sur colonne 1 et sur une colonne de garde. Le débit est fixé pour toutes chaque expérience est et le volume en PE injecté dans la boucle précisé (Tableau Annexe 2).

---

\* <http://www.wyatt.eu/index.php?id=multi-angle-light-scattering>

Tableau Annexe 1 : Caractéristiques des analyses de PE par GPC/SEC MALS.

PE	Tampon	Colonne 1	Colonne de garde	Débit	Volume injections
PAA (-)	tampon phosphate 0.01M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> / 0.2 M NaNO <sub>3</sub> pH 9		OHpak SB-G 10 µm (guardcolumn 6 mm ID x 50 mm L)		
DxS (-)	tampon phosphate 0.01M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> / 0.2 M NaNO <sub>3</sub> pH 9	Aquagel (Shodex - OHpak SB-804 HQ),	OHpak SB-804 HQ 10 µm (8 mm ID x 300mm L) OHpak SB-804 HQ 10 µm (8 mm ID x 300 mm L)*	0.6 mL/min	100 µL
ℓ PEI (+)	tampon acétate (CH <sub>3</sub> COOH/CH <sub>3</sub> COONa) 0.1M pH 4.8	TOSOH TSK gel G5000PWXL			
ℓ PEI (+)					
PDADMAC (+)	tampon 0.3 M CH <sub>3</sub> COOH/0.2 M CH <sub>3</sub> COONa + 5 g/L Ethylène Glycol	TOSOH TSK gel G5000PWXL	PWXL	2.5 mg/mL	

## 8.2 Caractérisation morphologique des complexes

### 8.2.1 Techniques de diffusion

#### 8.2.1.1 Diffusion statique et dynamique de la lumière

La diffusion statique (SLS) et dynamique (DLS) de la lumière sont utilisées pour attester des : rayon hydrodynamique ( $R_H$ ), rayon de giration ( $R_g$ ), et intensité du rayonnement des complexes de polymères d'une taille inférieure au micron.

#### *Analyses mono-angle*

Un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd, Worcestershire, UK) est utilisé pour caractériser les PECs. Le rayon hydrodynamique des particules, la polydispersité et l'intensité de la diffusion de lumière à 173° sont enregistrés. Les échantillons sont placés après leur préparation dans des cuvettes à usage unique. Les mesures sont tripliquées. Les solutions étant dans en solution aqueuse et à faible concentration en sel, l'approximation de Smoluchowski est applicable pour tous les échantillons de PECs étudiés.[243]

Certaines analyses mono angle à 90° ont été conduites sur un appareillage ALV Cos-3 Compact Goniometer system (Hessen, Germany) muni d'une diode avalanche et d'un laser polarisé He-Ne de puissance 22 mW émettant à 632 nm (voir ci-après analyses multi-angles).

#### *Analyses multi-angles*

Les expériences mono et multi angles de diffusion dynamique de la lumière de ce chapitre ont été réalisées sur un appareillage ALV Cos-3 Compact Goniometer system (Hessen, Germany) muni d'une diode avalanche et d'un laser polarisé He-Ne de puissance 22 mW émettant à 632 nm. Le goniomètre permet un balayage angulaire de 25°-150°.

\* [http://www.shodex.net/index.php?prodcat=22&reiter=r\\_prod](http://www.shodex.net/index.php?prodcat=22&reiter=r_prod)

Les mélanges sont placés dans des tubes en verre préalablement nettoyés à l'azote pour limiter la présence de poussière perturbant la diffusion du rayonnement laser. Les expériences sont réalisées après équilibration 2h du bain de toluène de l'appareillage à 25°C, dans une salle climatisée.

Les expériences sont réalisées comme suit :

Dénomination	Angles	Mesures
Mono-angle	90°	2 séries de 3 x 15 s
Multi-angles	25°-150° par pas de 25°	15s x 3 balayages consécutifs de la gamme angulaire

La complexation est suivie par diffusion statique et dynamique de la lumière en fonction du sens d'ajout et de Z.

On déterminera ainsi :

- Le rapport de Rayleigh  $R_\theta$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) qui caractérise l'intensité totale diffusée du système

$$R_\theta = \frac{\frac{CR_{\text{solution}}}{I_{\text{moniteur solution}}} - \frac{CR_{\text{solvant}}}{I_{\text{moniteur solvant}}}}{\frac{CR_{\text{toluène}}}{I_{\text{moniteur toluène}}}} \times R_R \quad \text{Equation Annexe 1}$$

avec  $R_R = 1.355 \cdot 10^{-3} \text{cm}^{-1}$  à 25° et 632.8 nm

- Le rayon de giration  $R_g$  (nm) des objets diffusants
- Le rayon hydrodynamique  $R_H$  (nm) des objets diffusants
- L'indice de polydispersité du système (PDI) obtenu par la méthode des Cumulants et défini par

$$PDI = \frac{\mu_2}{\langle \Gamma \rangle^2} \quad \text{Equation Annexe 2}$$

où  $\mu^2$  est le deuxième cumulant, et  $\Gamma$  la fréquence de relaxation

- La distribution des tailles des objets diffusants obtenue par la méthode de Contin et Cumulants

### 8.2.1.2 Diffusion des neutrons aux petits angles

La technique de diffusion des neutrons aux petits angles est utilisée dans cette étude pour étudier la structuration locale des particules colloïdales formées. Une partie des expériences a été réalisée sur les spectromètres PAXY et PA20 alimentés par le réacteur Orphée de 14 MW au laboratoire Léon Brillouin (CEA Saclay, France). L'autre partie provient d'expériences menées à l'institut Laue Langevin (ILL, Grenoble, France) sur la ligne D22 alimentée en neutron par le réacteur à haut flux RHF de 58 MW. Les gammes de vecteur d'onde utilisées pour ces séries d'expériences varient de  $2.58 \times 10^{-3} \text{cm}^{-1}$  à  $6.63 \times 10^{-1} \text{cm}^{-1}$  pour D22 et  $4.5 \times 10^{-2} \text{cm}^{-1}$  à  $5.72 \times 10^{-1} \text{cm}^{-1}$  pour le PAXY et les configurations des appareillages sont présentées dans le Tableau Annexe 2. La Figure Annexe 1 présente les différents composants du système de mesure et le principe de fonctionnement du spectromètre.[244,245]

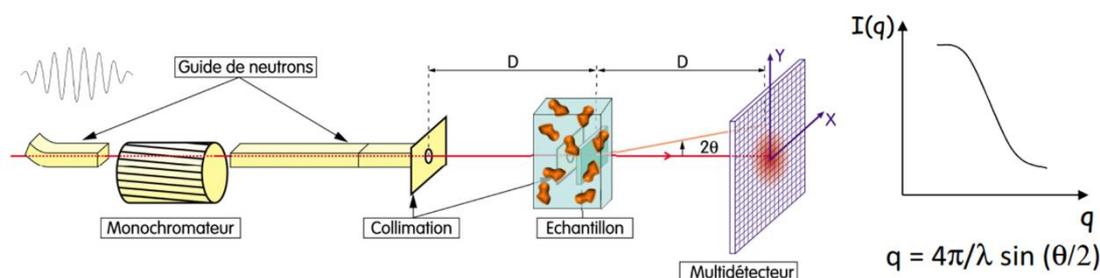


Figure Annexe 1 : Appareillage de mesure de diffusion de neutrons aux petits angles et grandeurs caractéristiques. [244]

Tableau Annexe 2 : Configurations des expériences de DNPA complétées par des mesures de MALS

	Dénomination	$\lambda^*(\text{Å})$	$D^\dagger(m)$	$q^\ddagger(\text{cm}^{-1})$
D22 (ILL)	PQ	6	1.4	$2.58 \times 10^{-3} - 5.63 \times 10^{-3}$
	MQ	6	5.6	$8.10 \times 10^{-2} - 5.73 \times 10^{-2}$
	GQ	6	17.6	$6.26 \times 10^{-2} - 5.12 \times 10^{-2}$
PAXY (LLB)	PQ	8.5	5	$4.5 \times 10^{-2} - 6.63 \times 10^{-1}$
	MQ	6	3	$1.05 \times 10^{-2} - 1.54 \times 10^{-1}$
	GQ	4.5	1	$3.67 \times 10^{-1} - 5.72 \times 10^{-1}$
ALV (LCPO)	lumière	6.328	-	$3.4 \times 10^{-4} - 2.58 \times 10^{-3}$

Les mesures sont complétées par des mesures de diffusion de la lumière statique multiangle (MALS) pour des angles entre 25 °et 150° soit des petits vecteurs d'ondes entre 0.00034-0.00258. On retranche ensuite l'intensité de la cellule vide, du solvant et celle du vide (détecteur) à l'intensité brute collectée pour obtenir une intensité corrigée  $I(q)$ . Cette intensité est fonction du nombre de particules et de la fraction volumique et peut être exprimée en fonction du module du vecteur d'onde  $q$  :

$$I(q) = \phi \times \Delta\rho^2 \times V_{particules} \times P(q) \times S(q) \quad \text{Equation Annexe 3}$$

avec  $\phi = \frac{NV_{particules}}{V}$  la fraction volumique

$P(q)$  le facteur de forme = taille et géométrie des particules

$S(q)$  le facteur de structure = présente les interactions entre particules

$\Delta\rho^2$  contraste = différence de densité de longueur de diffusion entre le solvant et la particule

$V_{particules}$  partie du volume totale  $V$  comprenant  $N$  particules

Si les particules sont diluées en solution, il est possible de négliger le terme  $S(q)$ .

Les polymères sont lyophilisés puis solubilisés dans 10 fois leur volume en D<sub>2</sub>O 99% (Eurisotop St Aubin, France) pour améliorer par la suite le contraste de la mesure entre l'échantillon et le solvant. Après 24 h et solubilisation complète, la solution est lyophilisée une seconde fois et le cycle répété 3 fois. Comme pour les solutions en H<sub>2</sub>O, le pD est ajusté avec du DCl préalablement à toute mesure. Les solutions mères sont préparées à l'avance et les mélanges réalisés juste avant mesure selon la méthode d'ajout désirée ([SLOW], [SHOT]). Les échantillons sont introduits dans des cuvettes en quartz de trajet optique 1 ou 2 mm de la marque THUET (Blodelsheim, France) et caractérisés à température ambiante sans contrôle de température soit 25°C en moyenne.

Les échantillons sont passés sous le faisceau de neutrons et le spectre brut enregistré. Les contributions de la cellule vide, du solvant et de la réflexion du détecteur (utilisation du carbure de bore

\* Longueur d'onde du monochromateur

† Distance échantillon-détecteur

‡ Vecteur d'onde

B<sub>4</sub>C absorbeur de neutrons) sont soustraites ainsi que la partie incohérente du signal pour obtenir des courbes d'intensité en fonction du vecteur d'onde d'observation en unité absolue. La courbe I(q) en fonction q ( $q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}$ ) est tracée et son étude permet la détermination de morphologie des objets en fonction des domaines étudiés. Les représentations classiques de Guinier et Porod sont utilisées par ailleurs pour attester des tailles d'objets.

## 8.2.2 Etude de l'environnement chargé lors de la complexation

### *Potentiométrie*

Des mesures des variations de pH lors du titrage sont effectuées à température ambiante sur le modèle InoLab pH 730 de WTW (Weilhem, Germany). Les mesures sont dupliquées et l'erreur est inférieure à 5%.

### *Conductimétrie*

Les mesures de conductimétrie sont conduites à température ambiante sur un appareillage Consort K912 (Turnhout, Belgium). Les titrages sont tripliqués et l'erreur inférieure à 5%.



Figure Annexe 2 : Montage utilisé pour les dosages potentiométriques et conductimétriques.

### *Détermination de la charge de surface par mesure du potentiel zêta*

Les charges de surface des complexes de polyélectrolytes découlent de la mesure du potentiel zêta (mV). Ils sont mesurés sur le même appareil Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern) opérant à 633 nm avec une détection à 13° (Phase Analysis Light Scattering, PALS). Les solutions à analyser sont placées dans des cuvettes adéquates. Les mélanges sont dupliqués. Les échantillons sont analysés en 5 passages pour plus de précision dans la mesure, à température ambiante. Le potentiel zêta est calculé à l'aide de l'équation de Henry après mesure de la mobilité électrophorétique des ions en solution.

## 8.2.3 Visualisation des complexes

### *Microscopie optique*

Les observations en microscopie optique ont été réalisées sur un microscope confocal DMI6000 inversé TCS SP5 AOBS de la société LEICA Microsystems. Ce microscope est muni de trois objectifs à différents grossissements : HCX PL APO **63x**/1.40-0.60 (immersion huile), HCX APO L **40x**/0.80 (immersion eau) et le HC PL APO CS **10x**/0.40.

### *Microscopie confocale*

Les échantillons sont placés dans des cuvettes spécialement conçues ou dans des micro-puits pour la prise d'image en épaisseur. Les observations en microscopie optique sont réalisées sur un microscope confocal DMI6000 inversé TCS SP5 AOBS de la société LEICA Microsystems avec l'objectif HCX APO L **40x**/0.80 (immersion eau). Les images des coacervats ont été obtenues en utilisant comme sources lumineuses le laser Hélium/Néon à 633 nm pour la transmission et le laser solide DPSSNa pour la fluorescence, permettant ainsi l'excitation de la rhodamine (fluorochrome) à une longueur d'onde de 561 nm. La fluorescence émise a été collectée en utilisant un photomultiplicateur dans une gamme de longueurs d'ondes comprises entre 575 nm – 650 nm. Grâce à une surplatine galvanométrique permettant des acquisitions en Z avec des incréments de 0.4µm, des reconstructions en trois dimensions des échantillons ont été réalisées sur des épaisseurs variant entre 100 µm et 200 µm.

*Cryo-microscopie à balayage*

Pour la cryo-microscopie électronique à balayage, les échantillons observés sont cryo-fixés sous haute pression. Après prélèvement dans la solution mère, une goutte est déposée dans une cupule spécifique de 2mm de diamètre sur 200µm de profondeur. Une seconde cupule est alors mise par-dessus afin de créer une chambre. Cet ensemble de cupules est inséré dans l'équipement de cryofixation haute pression (HPM100-Leica-Vienne-Autriche). L'échantillon va subir un jet d'azote liquide sous une pression de 2050 bars durant 1ms. Une fois congelé, l'échantillon va être conservé dans l'azote liquide jusqu'à l'observation.

Pour l'observation au microscope électronique à balayage, l'échantillon dans son support de fixation dans l'azote liquide est posé sur le porte-objet du MEB. Une fois cette étape effectuée, le porte-objet est transféré sous vide dans la chambre cryogénique (PP3010 Quorum). L'échantillon est alors sublimé durant 20min à -90°C puis métallisé au platine pendant 5 min, puis transféré dans la chambre du microscope (MEB Quanta 250 FEI Eindhoven Pays-Bas) pour être observé à -140°C sous vide poussé.

L'échantillon subit un jet d'azote liquide sous une pression de 2050 bars durant 1 ms. Une fois congelé, l'échantillon est conservé dans l'azote liquide jusqu'à l'observation.

### 8.3 Cinétique de la complexation

#### *Mélangeur à flux stoppé et détection par diffusion statique de la lumière (stopped-flow)*

Les expériences de diffusion de la lumière par mélangeur ultra rapide ont été réalisées sur l'appareillage stopped-flow Module SFM 400 de Bio-logic, équipé d'un spectrophotomètre MOS 450 et d'un contrôle de la seringue MPS70/4, un photo-détecteur PMS 450, et du logiciel dédié BK-MCS\*. Le système de mélange est constitué de quatre seringues de 10 mL contrôlées par des moteurs indépendants. Les seringues n° 2 et 4, disposées en diagonale seront utilisées pour mélanger les deux PE à complexer (Figure Annexe 3). Les seringues 1 et 3 contiendront de l'eau nécessaire pour les lavages de la cellule de mélange FC-15 de 1 mL en quartz. Le mélange est réalisé au moyen d'un mélangeur turbulent Berger Ball. Le débit d'ajout est fixé à 9 mL/min, et les volumes et concentrations en PE ajustés pour le conserver constant pour toutes les expériences et assurer un temps mort fixe de l'appareillage à 4 ms. La longueur d'onde d'excitation de la lampe He/Xe est fixée à 438 nm et la turbidité des solutions est enregistrée à un angle de 90° *in situ* à cette longueur d'onde. Il est vérifié que les PE n'absorbent pas à la longueur d'onde utilisée. On définit la turbidité  $\tau$  par :

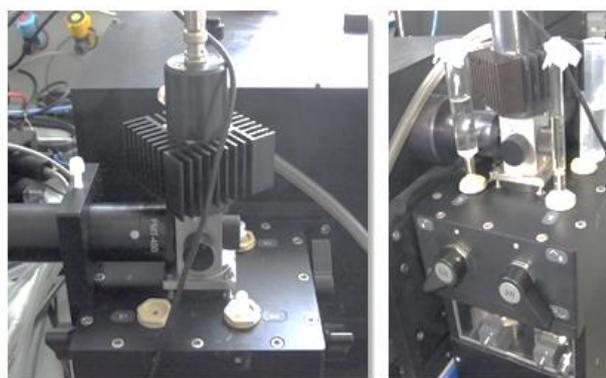


Figure Annexe 3 : Détails du mélangeur vu de l'extérieur.

$$\tau = -\frac{\ln(T)}{l}$$

Equation Annexe 4

où  $T$  est la transmittance observé lorsque la lumière traverse l'échantillon, et  $l$  est la longueur du trajet optique.

Par praticité, on utilise  $\tau = \ln(T)$  comme définition de la turbidité. La puissance du PM est ajustée en fonction des valeurs d'intensité pour se placer dans le domaine optimal de mesure (1 à 10 a.u.). La puissance du PMT varie entre 350 à 500 mV suivant la turbidité des échantillons.

Le signal brut peut ensuite être normalisé selon la formule :

\* *mcs-200-conductivity-measurements*

$$I = \frac{(I_t - I_{\text{solvant}})}{(I_0 - I_{\text{solvant}})} \quad \text{Equation Annexe 5}$$

où  $(I_t - I_{\text{solvant}})$ ,  $(I_0 - I_{\text{solvant}})$  représentent l'augmentation de l'intensité diffusée à  $t_0$  et  $t$ .

Plusieurs tirs sont réalisés pour parvenir à une intensité stable (10 tirs environ par rapport de charge) ; des échantillons de 1 mL issus de ces tirs sont collectés en sortie de l'appareil pour des mesures de MALS aux temps longs.

#### Mesures de diffusion statique aux temps longs

Des expériences (chapitre 3) sont réalisées sur un appareil Malvern Zetasizer ZS. Les échantillons sont placés directement après complexation dans les cuvettes et l'intensité de diffusion de la lumière à 173° est enregistrée en continu sur 4 heures.

## 8.4 Thermodynamique de la complexation

#### Titration isotherme suivi par calorimétrie

Les paramètres thermodynamiques de la complexation sont déterminés par titrage des PE à complexer dans une enceinte calorifugée. Cette technique appelée titrage isotherme par calorimétrie (ITC) est réalisée pour cette thèse dans un calorimètre Nano ITC de TA Instruments (New Castle, USA). La cellule de mesure est de 950  $\mu\text{L}$ , et la seringue de mélange et d'injection en verre Hamilton peut contenir jusqu'à 200  $\mu\text{L}$  de solution titrante. La cellule de référence est remplie d'eau Milli Q dégazée pendant 10 min à l'aide de la station de dégazage de TA Instruments (la concentration en sel étant très faible dans nos expériences, la densité du solvant reste inchangée et il n'est pas nécessaire de remplacer l'eau par une solution à la même salinité que celles dans la cellule de mesure). Le contenu de la cellule de référence est renouvelé toutes les deux semaines. Des étalonnages électriques et chimiques (système HCl/NaOH de constante  $k_a$  connue) sont réalisés tous les deux mois pour s'assurer de la bonne conversion température/impulsions électriques et impulsions électriques/enthalpie. A titre d'information la précision de la Nano ITC est la suivante :

En estimant que la capacité calorifique de nos échantillons peut être assimilée à celle de l'eau ( $c_{p, H_2O} = 4.186 \text{ J/g.K}$ ) et que le volume de l'échantillon est de 950  $\mu\text{L}$  ; toute élévation de 0.1  $\mu\text{J}$  sur nos thermogrammes correspond en température à une variation telle que suit :

$$\begin{aligned} & (d_{H_2O}^{25^\circ} \times \text{Volume cellule}) \times c_{p, H_2O} \times 1 \times 10^{-7} \\ & = (0.997 \times 0.95) \times 4.186 \times 1 \times 10^{-7} = 3.965 \times 10^{-7} \text{ K} \end{aligned} \quad \text{Equation Annexe 6}$$

Soit une différence de 0.397 millièmes de degré Celsius.

Pour réaliser une expérience d'ITC, comme pour toute expérience de calorimétrie, l'appareil doit se trouver dans une pièce où la température est contrôlée et suffisamment loin de la température de l'expérience pour que l'ajustement de la température soit minimal et constant. L'allumage du système s'accompagne d'un temps d'équilibrage (signal plat sur le thermogramme en temps réel) du système laissé sous eau entre chaque expérience (30 min). Après stabilisation, la cellule de mesure est remplie à la seringue par la solution choisie dégazée au préalable pendant 10 min (45 min). La seringue de mélange et d'injection est remplie de solution titrante dégazée et les bulles d'air éventuelles évacuées. La rotation est actionnée et on laisse le système atteindre l'équilibre avant de lancer les injections de titrage (7 heures). L'appareillage est ensuite vidé puis lavé consécutivement avec de l'eau et un système d'aspiration ; une solution de tensioactif ; une solution saline à 1 M pour éliminer les résidus de PE et enfin de l'eau pour rincer l'ensemble. Par précaution, une seringue en verre est dédiée à chaque type de PE (polycation et polyanion) pour éviter la formation de multicouches à l'intérieur des seringues.

Une expérience 'classique' de titrage est réalisée dans cette thèse selon les conditions suivantes : 25 injections de 8  $\mu\text{L}$  chacune, séparées par 900 secondes d'équilibrage permettant un retour à la ligne

de base du signal. L'agitation est fixée à 250 tours par minute et le débit d'injection à 48  $\mu\text{L}/\text{min}$ . La température est fixée à 25 °C, dans une salle de travail maintenue à 20 °C.

Chaque série d'expérience comme précisé au chapitre 1 entraîne la nécessité d'expériences annexes pour déterminer précisément la chaleur dégagée du système étudié :

- Expérience de titrage A dans B répétée 2 fois
- Expérience de dilution A dans solvant
- Expérience de dilution solvant dans B
- Expérience solvant dans solvant

Chaque thermogramme présenté inclut donc les contributions à la chaleur de mélange de chacune des entités en présence hors réaction entre les deux PEs.

A l'issue de ces mesures, on obtient un thermogramme dit brut de la variation du flux de chaleur en fonction du temps sur lequel on soustrait point à point les expériences de dilutions présentées ci-dessus. L'aire sous les pics est ensuite intégrée et le signal normalisé par la quantité de matière en charge par motif du PE titrant (dans la seringue d'injection). On peut ainsi tracer la variation d'enthalpie en fonction du rapport en charge en PE ( $Z(\text{titrant})/(\text{titré}) = Z(\text{seringue})/(\text{cellule})$ ). Le premier pic d'injection n'est pas pris en compte car on mesure une variation d'enthalpie et on ne peut calculer une variation sur une première injection. De plus, pendant les 45 min d'équilibrage du système, la diffusion du polymère dans la cellule rend la précision de la chaleur mesurée difficile à estimer.

Suivant la forme de la courbe obtenue à partir de l'enthalpie de réaction mesurée, il est possible d'estimer la stœchiométrie de la réaction  $n$ , la constante d'association  $K$  en utilisant des modèles de complexation à un ou plusieurs sites.[246]

L'étude de la thermodynamique des assemblages occupant une place centrale dans ce travail de thèse, les concentrations en espèce ont été choisies afin de garantir la faisabilité de cette méthode de mesure calorimétrique. Ainsi les concentrations se placent dans le domaine du milli molaire, soit le domaine de réponse adéquat de l'appareil de mesure.

Comme précisé dans le chapitre 1, le paramètre de Wiseman est calculé préalablement à chaque expérience. Par ailleurs, afin de garantir des expériences lisibles et modélisables, les concentrations ont été calculées afin de correspondre à une équivalence en charge entre les injections 10 et 14 des 25 de chaque expérience (soit une équivalence en charge au milieu du graphique, pour 95  $\mu\text{L}$  du polymère concentré dans la seringue 950  $\mu\text{L}$  du polymère dilué dans la cellule). Enfin, la méthode d'ajout en œuvre dans l'expérience d'ITC est caractérisée par l'ajout d'une solution de concentration dix fois supérieure dans la seringue par rapport à la cellule. Cela implique l'utilisation de ce même type de solution lors de la reproduction de mélanges hors ITC. Les diverses concentrations utilisées dans cette études sont reportées dans le tableau ci-dessous. Par la suite, les concentrations initiales d'ajout des polymères seront précisées en mol de charge de monomère ainsi que la concentration massique totale en polymère dans les mélanges finaux.

## ANNEXE chapitre 1

### Informations complémentaires

Tableau Annexe 3 : Grandeurs thermodynamiques issues de la complexation de différents couples d'espèces chargées en solution aqueuse par mesures ITC.

<i>P</i> <sup>+</sup>	<i>P</i> <sup>-</sup>	Conditions (température-solvant-rotation pâle)	<i>K</i> ( <i>M</i> <sup>-1</sup> )	$\Delta G$ (kJ/mol titrant)	$\Delta H$ (kJ/mol titrant)	$T\Delta S$ (kJ/mol titrant K)	Morphologie @stœchiométrie	Sources
HA* [1.1 g/L]	BSA <sup>†</sup> [1.4 mM]	25°C-pH 4.3- 90 mM NaCl + 10 mM phosphate-315 RPM	4 x 10 <sup>2</sup>	-15	20	35	Coacervat	[217]
PDADMAC* [14 mM]	BSA [1.4 mM]	25°C-pH 5.3- 10 mM NaCl -315 RPM	8 x 10 <sup>2</sup>	-16	-17	-1	Coacervat	
HA [1.5 g/L]	BLG <sup>†</sup> [1.4 mM]	25°C-pH 4.3- 90 mM NaCl + 10 mM phosphate-315 RPM	2 x 10 <sup>2</sup>	-13	12	26	Coacervat	
PDADMAC [14 mM]	BLG [1.4 mM]	25°C-pH 5.3- 0.1 M NaCl -315 RPM	2 x 10 <sup>3</sup>	-19	-20	-0.8	Coacervat	
PDADMAC [2/20 mM]	PANA <sup>‡</sup> [20/2 mM]	25°C-pH 10-No salt-307 RPM	1 x 10 <sup>5</sup>	-51	2	177	Coacervat	[109]
			5 x 10 <sup>4</sup>	-50	7	192		
PAH [1.3 g/L]	HSA# [0.9 g/L]	25°C-pH 7.2-10 mM MOPS-10 mM NaCl	1 x 10 <sup>4</sup>	-28	15	51	Coacervat	[247]
PDADMAC [0.01 equi]	PVSK <sup>§</sup> [1.10 <sup>-3</sup> equi]	30°C-50 mM NaCl-560 RPM	2 x 10 <sup>8</sup>	-	-2	45	Précipité	[248]
BLG [103 µM]	WPG <sup>**</sup> [1.33 µM]	25°C-pH 4.3-5 mM sodium acetate buffer-310 RPM	10 x 10 <sup>7</sup>	-108	-16 451	-16 343	Coacervat	[249]
SBA <sup>††</sup> [81 µM]	CG <sup>‡‡</sup> [0.67 µM]	25°C-pH 4.3-10 mM citrate buffer-1000 RPM	43 x 10 <sup>6</sup>	-44	-681	-2	Coacervat	[250]
β-amylase [81 µM]			8 x 10 <sup>6</sup>	-39	-285	-0.8	Coacervat	
PEI PGA [PEI]/[PGA]=30/70 molar		25°C-pH 7-200 mM NaCl- 307 RPM	3 x 10 <sup>3</sup>	-19	3	0.1	Coacervat	[195]
PEI PGA [PEI]/[PGA]=33/67 molar		25°C-pH 7-no salt- 307 RPM	2 x 10 <sup>5</sup>	-30	3	0.1	Précipité	
DEAE Dextran 3.3 mM 28.2 mM	CMP <sup>§§</sup> 17.6 mM 1.7 mM	25°C-pH 4.5-acetate buffer 50 mM-307 RPM	8 x 10 <sup>4</sup>	-29	1	30	Précipité	[251]
			1 x 10 <sup>4</sup>	-23	0.6	24	-	
Gelatin 0.2 mg/mL	Tannin acid 3 mg/mL	25°C-pH 4.5-No salt-800 RPM	2 x 10 <sup>4</sup>	-81	-31	-50	-	[252]

\* HA : Hyaluronic Acid

† HSA : Human Serum Albumine

---

\* PDADMA(Cl) : Poly(diallyldimethylammonium) Chloride

† BLG :  $\beta$  lactoglobulin

‡ PAA(Na) : Poly(sodium acrylate)

§ PVSK : Potassium poly(vinyl sulfat)

\*\* WPG : Water soluble fraction of persian gum

†† SBA : Soybean agglutinin

‡‡ CA : Carrageenan

§§ CMP : Carboxymethylpullulan

# ANNEXE chapitre 2

## Informations complémentaires

### 10.1 Polyélectrolytes

#### 10.1.1 Teneur en eau des PEs par TGA

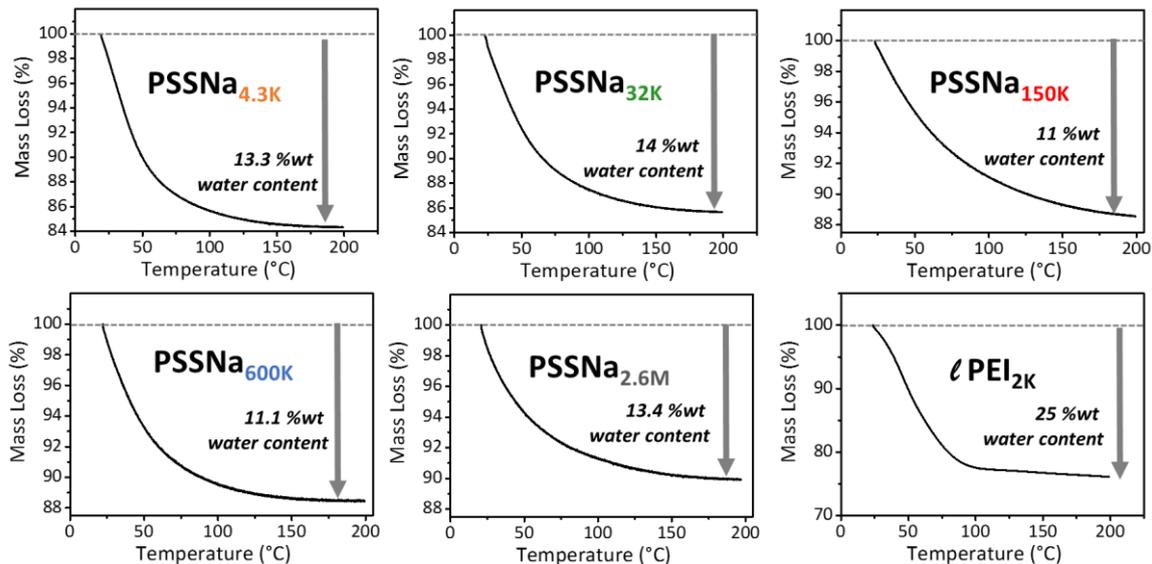


Figure Annexe 4 : Analyse thermogravimétrique des PSSNa de différentes masses molaires pour déterminer la teneur en eau des poudres.

#### 10.1.2 Détermination du taux d'ionisation du PEI<sub>2K</sub> par dosage potentiométrique

De plus, au pH d'étude de 4, le taux d'ionisation du PEI est de 66%. Il est déterminé par dosage du PEI par une solution d'acide chlorhydrique.[253] En connaissant la quantité de matière en amine globale à doser  $[NH]^0$  (cette concentration diminue par dilution au cours du dosage) et en faisant l'approximation à  $1 \text{ g/cm}^3$  de la masse volumique de la solution  $\rho$ , il est possible de déterminer la concentration en motif ionisé  $[NH_2^+]$  à chaque point du dosage en appliquant le principe de conservation de l'électroneutralité Equation Annexe 1 :

$$[OH^-] + [Cl] - [H^+] = [NH_2^+] \quad \text{Equation Annexe 1}$$

En connaissant avec précision la concentration en HCl (0.1 M), il est possible de calculer les concentrations en ions  $H^+$  avec le pH, déduire  $OH^-$  du produit ionique de l'eau et  $Cl^-$  avec la quantité de HCl de concentration connue. Le taux de protonation/ionisation  $f$  est défini Equation Annexe 2 comme :

$$f = \frac{[NH_2^+]}{[NH]^0} \quad \text{Equation Annexe 2}$$

Le taux de protonation est tracé en fonction du pH mesuré de la solution, et le taux de protonation déterminé par lecture graphique (Figure Annexe 5).

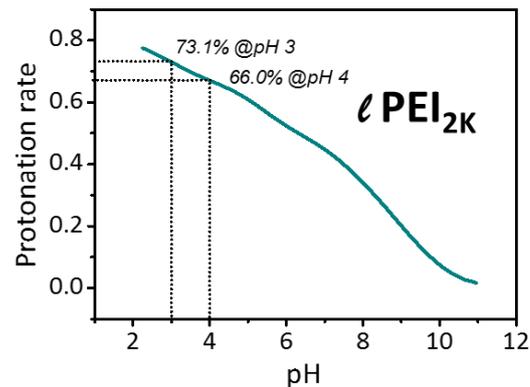


Figure Annexe 5 : Taux de protonation calculé à partir du dosage de 20 g de  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> à 51 mM en mol par résidu de polymère par une solution d'HCl à 0.1M à 25°C.

## 10.2 Caractéristiques générales de la complexation

### 10.2.1 Imagerie AFM des complexes

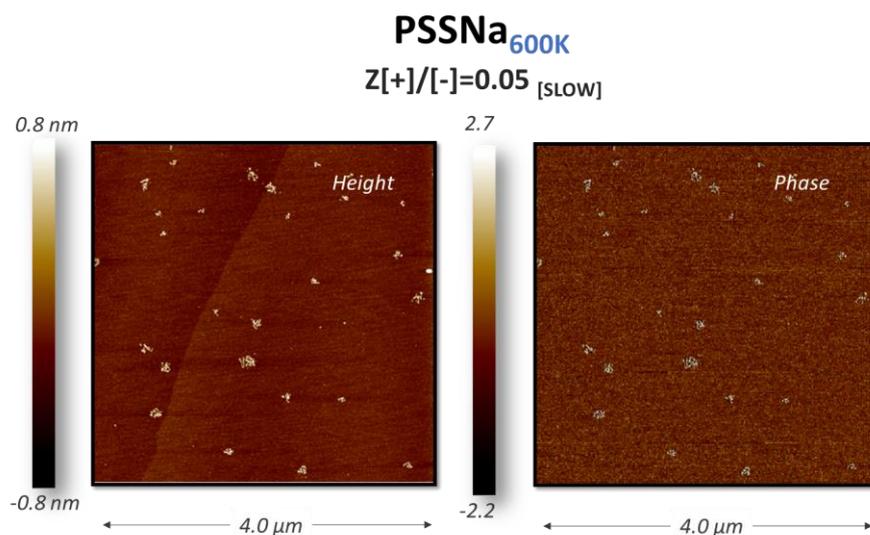


Figure Annexe 6 : Images topographiques (gauche) et de phase (droite) de complexes PEI/PSSNa<sub>600K</sub> préparés au rapport  $Z[+]/[-]=0.05$  par ajout [SLOW]. Les complexes sont préparés dans l'eau à pH 4 sans sel ajouté et sont déposés sur mica à une concentration de 0.5 ppm.

### 10.2.2 Etude de la complexation par stopped-flow

#### *Cinétique de la complexation*

Les seringues n° 2 et 4, disposées en diagonale seront utilisées pour mélanger les deux PE à complexer. Les seringues 1 et 3 contiendront de l'eau nécessaire pour les lavages de la cellule de mélange.

$$C_{finale} = \frac{(Ratio_{PEI} \times C_{PEI}) + (Ratio_{PSSNa} \times C_{PSSNa})}{(V_{PEI} + V_{PSSNa})} \quad \text{Equation Annexe 3}$$

Tableau Annexe 4 : Concentrations recalculées à partir des rapports et volumes introduits dans le mélangeur [ULTRA FAST].

Z[+]/[-]	Rapport V <sub>PEI</sub> /V <sub>PSSNa</sub>	C <sub>PEI</sub>	C <sub>PSSNa</sub>	V <sub>final</sub>
0.025	2.5/10	C/10	C	189 µL
0.05	5/10	C/10	C	
0.1	5/10	C/5	C	
0.5	5/10	C/2	C	
0.9	9/10	C	C	
1	1/1	C	C	220 µL
1.1	11/10	C	C	189 µL
1.2	12/10	C	C	

avec C=4.85 mM en charge par motif de PEI (S4) et de PSSNa (S2)

$$I_{corrigée} = \frac{(I_{échantillon} - I_{solvant})}{C_{finale}} \times \text{facteur}_{correctif \text{ du voltage}} \quad \text{Equation Annexe 4}$$

avec  $V_{échantillon/solvant}$  le voltage de la lampe en volt

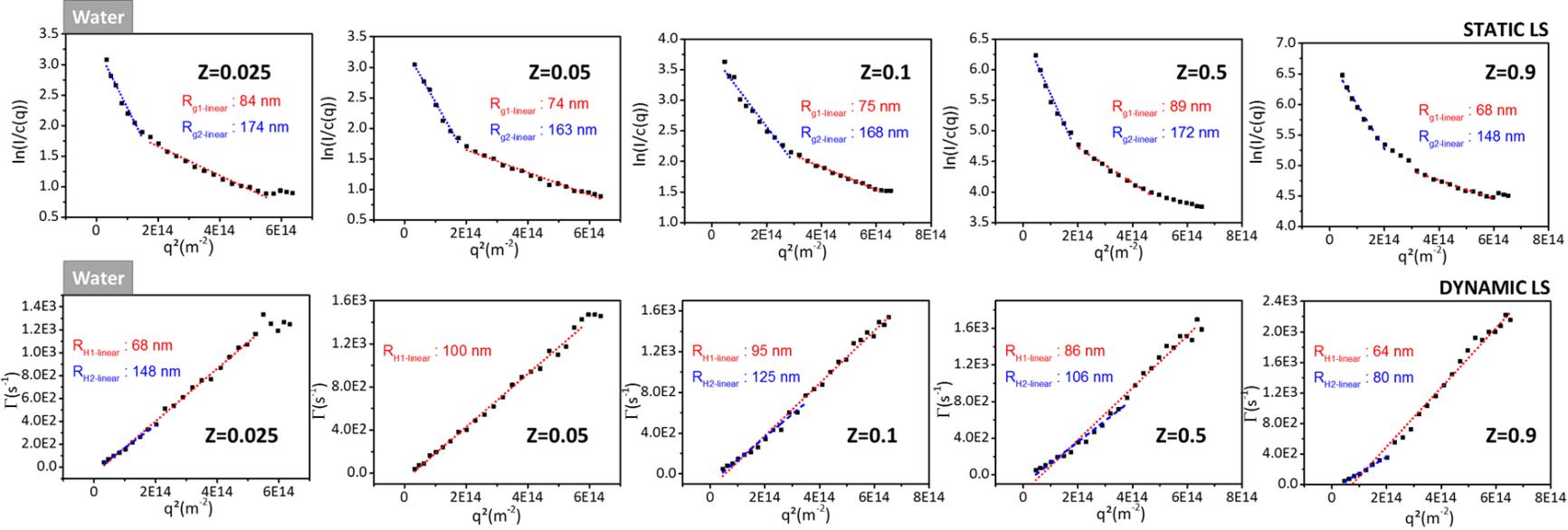
$I_{échantillon}$  l'intensité en transmission à 180°

$C_{finale}$  la concentration finale issue de l'Equation Annexe 3

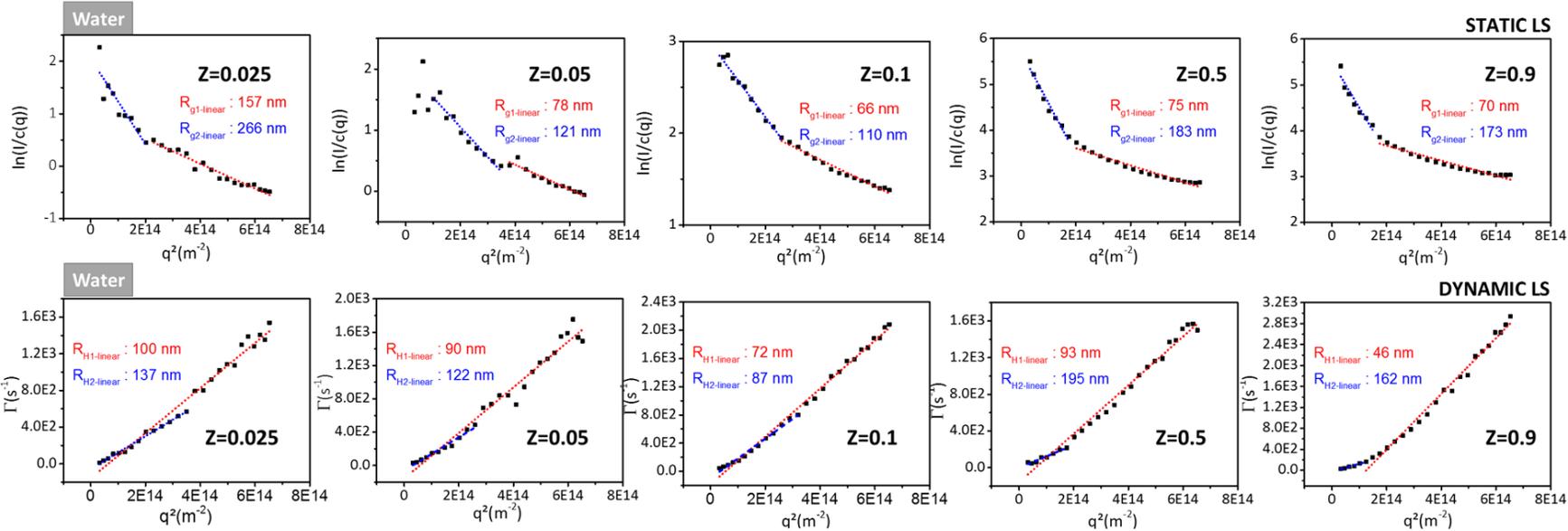
### Caractérisation par diffusion de la lumière multi-angles (MALS)

Figure Annexe 7 : Analyse par diffusion multiangle de la lumière (statique et dynamique) des complexes  $\ell$  PEI / PSSNa préparés en stopped-flow à pH 4 sans sel ajouté (Tableau des concentrations utilisées en Tableau Annexe 4)  $R_{g1}$  et  $R_{g2}$  sont déterminés à moyens-grands q (tracé rouge) et petits q (tracé bleu) respectivement.  $R_{H1}$  et  $R_{H2}$  sont déterminés respectivement sur toute la gamme de q (tracé rouge) et sur la partie petits q (tracé bleu). Les séries de points sont analysées par régression linéaire sauf la série 600K.

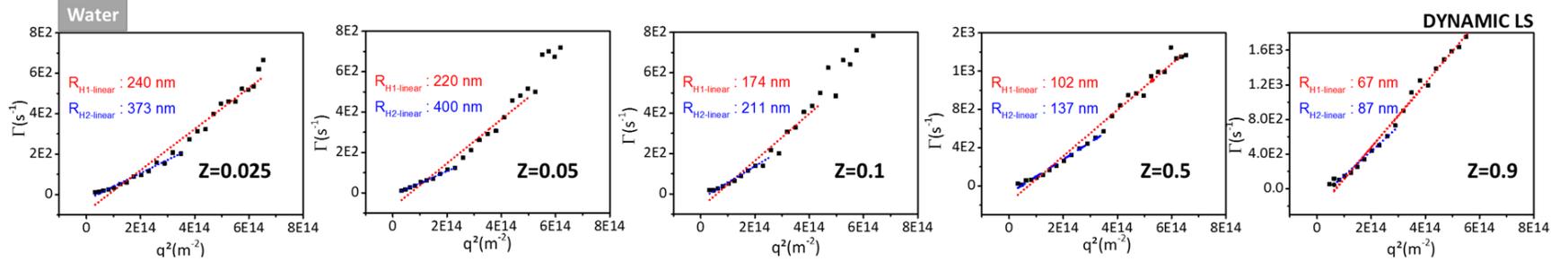
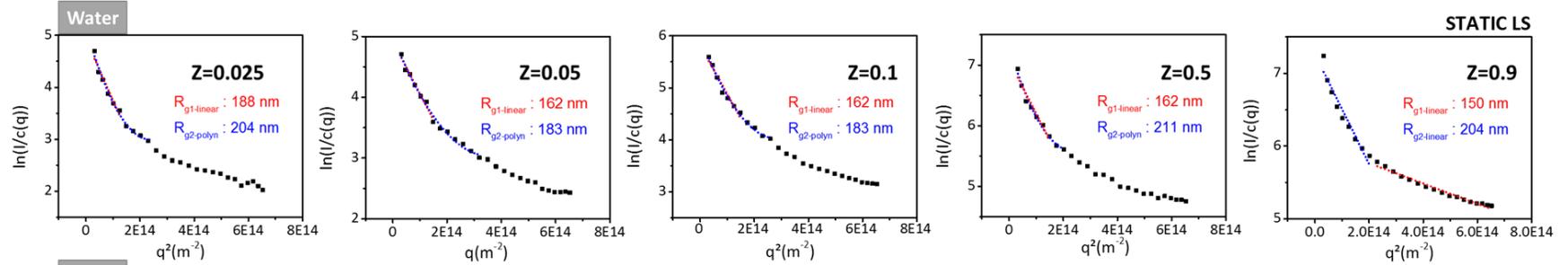
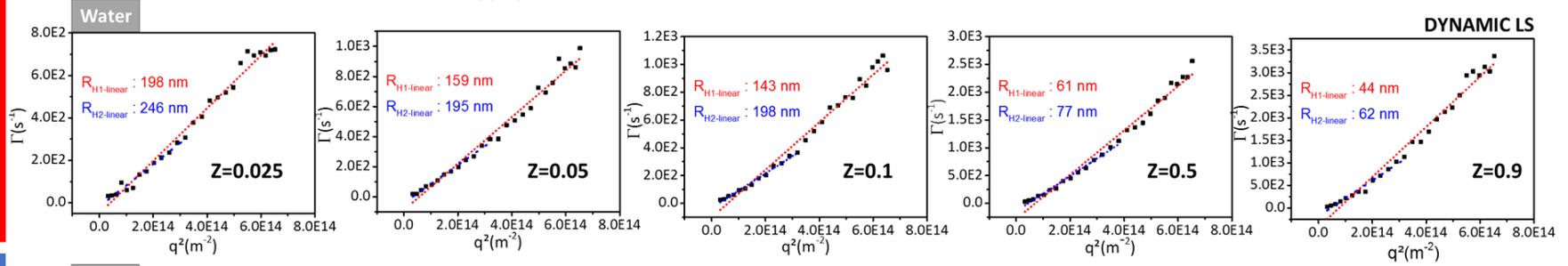
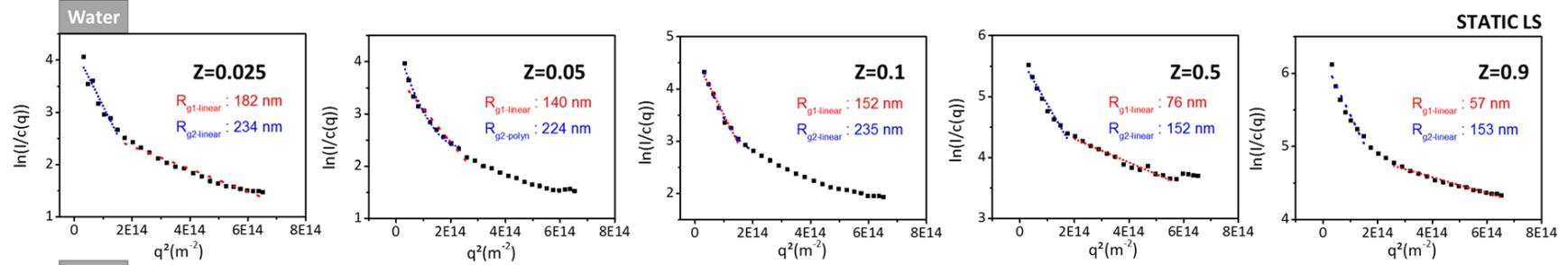
ℓ PEI<sub>2K</sub> in PSSNa<sub>4,3K</sub>



ℓ PEI<sub>2K</sub> in PSSNa<sub>32K</sub>



$\zeta$  PEI<sub>2K</sub> in PSSNa<sub>150K</sub>



## 10.3 Application à un système microfluidique

### 10.3.1 Mélanges manuels

Tableau Annexe 5 : Volumes pour la préparation des solutions [SLOW] et [FAST] entre  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> et PSSNa<sub>77K</sub> à 1 mM en charge et pH 3.

$Z[+]/[-]$	$V_{PEI}$ mL	$V_{PSSNa}$ mL	$V_{total}$ mL	$[PEI]$ mM en charge	$[PSSNa]$ mM en charge
0.1	0.45	4.55	5	9.09E-05	9.09E-04
0.2	0.83	4.17	5	1.67E-04	8.33E-04
0.4	1.43	3.57	5	2.86E-04	7.14E-04
0.6	1.88	3.13	5	3.75E-04	6.25E-04
0.8	2.22	2.78	5	4.44E-04	5.56E-04
1	2.50	2.50	5	5.00E-04	5.00E-04
1.25	2.78	2.22	5	5.56E-04	4.44E-04
1.67	3.13	1.87	5	6.25E-04	3.75E-04
2.5	3.57	1.43	5	7.14E-04	2.86E-04
5	4.17	0.83	5	8.33E-04	1.67E-04
10	4.55	0.45	5	9.09E-04	9.09E-05

### 10.3.2 Mélanges au Dolomite

Tableau Annexe 6 : Répartition des débits des pompes et débit total pour les trois débits de l'étude.

$Z[+]/[-]$	Débit 1 : 250 $\mu\text{m}/\text{min}$		Débit 2 : 700 $\mu\text{m}/\text{min}$		Débit 3 : 1100 $\mu\text{m}/\text{min}$	
	Débit PEI	Débit PSSNa	Débit PSSNa	Débit PEI	Débit PSSNa	Débit PEI
0.1	22.73	227.27	63.64	636.36	100	1000
0.2	41.67	208.33	116.67	583.33	183.33	916.67
0.3	57.69	192.31	161.54	538.46	253.85	846.15
0.4*	71.43	178.57	200.00	500.00	314.29	785.71
0.5	83.33	166.67	233.33	466.67	366.67	733.33
2.5	178.57	71.43	500.00	200.00	785.71	314.29
3.33	192.26	57.74	538.34	161.66	845.96	254.04
5	208.33	41.67	583.33	116.67	916.67	183.33
10	227.27	22.73	636.36	63.64	1000	100

\* Rapport en charge utilisé pour la détermination du temps de mélange aux 3 débits d'étude.

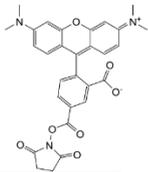
# ANNEXE chapitre 3

## Informations complémentaires

### 11.1 Polyélectrolytes et autres composés

#### 11.1.1 Spécifications

Tableau Annexe 7 : Composés utilisés dans le chapitre 3 et leurs caractéristiques.

Nom	Formule	Mw (g/mol)	Caractéristiques	Fournisseur
Dextran Sulfate Sodium Salt	$[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{R})]_n$ avec R=H ou $\text{SO}_3\text{H}$	407*	PE fort	Sigma Aldrich
Branched Poly(EthyleneImine)	$(\text{NHCH}_2\text{CH}_2)_n$	43.07	PE faible	Sigma Aldrich
Linear Poly(EthyleneImine)	$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH})_n$	43.07	PE faible	Sigma Aldrich
DETA DiethyleneTriamine	$(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$	103.17		Sigma Aldrich
Toluidine Blue O	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{S}$	305.83	Max Abs : 595nm	Sigma Aldrich
Orange II, Sodium Salt	$\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{NaO}_4\text{S}$	350.32	Max Abs : 485 nm	Sigma Aldrich
NHS-Rhodamine		527.5	Ex/Em : 552/575 nm	Thermo Scientific

#### 11.1.2 Masse moléculaire, PDI et indice de réfraction par GPC/SEC-MALS

Tableau Annexe 8 : Tableau présentant les caractéristiques mesurées par nos soins des polyélectrolytes manipulés lors de cette thèse.

	Nature PEs	Abréviation	Mw <sup>†</sup> approximée (g/mol)	Mn (g/mol)	dRI	dn/dc
(-) Anionique	(-) Fort	DXS <sub>25K</sub>	9000-20000			
	(+) Faible	PEI <sub>2K</sub>	2000			
(+) Cationique	(+) Faible	PEI <sub>25K</sub>	25000			

\* en prenant un taux de sulfatation du polymère de 2.44 par motif pour le DxS

<sup>†</sup> Détermination par SEC munie de détection du rayonnement multi-angle

## 11.1.3 Teneur en eau des PE par TGA

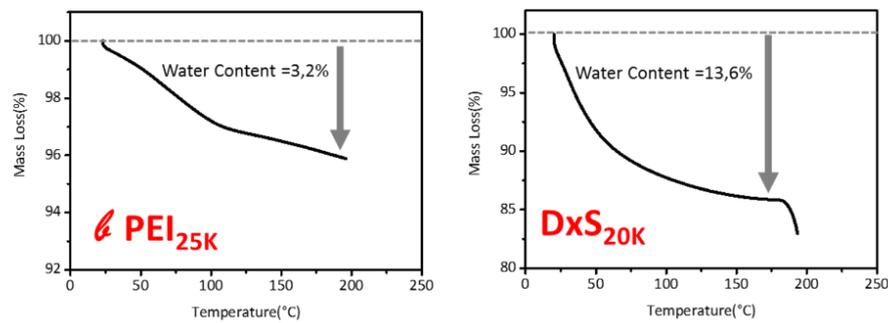


Figure Annexe 8 : Thermogrammes par TGA représentant la perte de masse en % en fonction de la rampe de température en degrés sous gaz inerte pour le DxS<sub>20K</sub>, et les PEI de cette étude.

## 11.1.4 Détermination du taux de charge du PEI par potentiométrie

Un suivi par potentiométrie, afin de déterminer le taux de protonation des molécules de PEI (linéaires et branchés). Afin de déterminer la constante de dissociation ( $pK_a$ ) du PEI à différents pH, un titrage des PEI par de l'acide chlorhydrique (HCl 0.1 M) est mené. 20 mL de PEI sont titrés par de l'HCl 0.1 M par pas de 200  $\mu$ L d'HCl ; le pH de la solution est relevé après chaque ajout tout en conservant la même solution durant tout le dosage. Les expériences sont quadruplées. Selon le modèle de Suh *et al.*[183], il existe une corrélation entre la variation du pH de la solution titrée avec le volume d'ajout d'HCl, soit une variation du  $pK_a$  apparent de la solution et donc le pourcentage d'amines protonées en solution en fonction du pH de travail.

Le quotient de déprotonation Q est défini comme la fraction des groupements aminés non protonés :

$$Q = \frac{f_{\text{groupements aminés non protonés}}}{f_{\text{groupements aminés protonés}}} = \frac{f_B}{f_{BH^+}} = \frac{(1 - f_{BH^+})}{f_{BH^+}} \quad \text{Equation Annexe 7}$$

$Z_A$  et  $Z_B$  les valences des charges A et B

$r$  la distance entre les deux charges

$e$  la charge électrique élémentaire,  $e = 1.6 \times 10^{-19} \text{ C}$

$\epsilon_0$  la constante diélectrique ou permittivité du vide,  $\epsilon_0 = 8.84 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ N}^{-1} \text{ m}^2$

$\epsilon_r$  la permittivité du milieu, normalisée par un milieu de référence

$\epsilon$  la permittivité du milieu

Il est admis par la suite que  $\log Q$  est une dépendance linéaire du pH.

$$\log Q = \alpha \text{ pH} + \beta \quad \text{Equation Annexe 8}$$

$$K_w = [H]^+ [OH]^- \quad \text{Equation Annexe 9}$$

où  $\alpha$  et  $\beta$  sont définis comme des constantes

$$f_{BH^+} + [P]_t + [H]^+ = [OH]^- \quad \text{Equation Annexe 10}$$

avec  $[P]_t$  la concentration totale en polymère en mole de motif et  $[P]_0$  la concentration initiale en polymère

$$[P]_t = \nu_0 [P]_0 \quad \text{Equation Annexe 11}$$

$$\nu_{HCl} = \nu_0 \left\{ \frac{\left( \frac{[P]_0}{(1 + ([H]^+)^{-\alpha} * 10^\beta)} - \frac{K_w}{[H]^+} \right)}{[HCl]_0 + \frac{K_w}{[H]^+} - [H]^+} \right\} \quad \text{Equation Annexe 12}$$

avec  $\nu_0$  le volume de la solution initiale en polymère en litre,  $\nu_{HCl}$  le volume total ajouté en acide chlorhydrique,  $K_w$  la constante d'équilibre de l'eau à la température d'étude (produit ionique de l'eau),  $[HCl]_0$  la concentration en acide chlorhydrique ajoutée lors du dosage,  $[H]^+$  la concentration en ions hydroxydes dans la solution.

Pour ce dosage les valeurs suivantes sont prises en compte ainsi que le pH lors de chaque ajout d'acide chlorhydrique :

$$[HCl]_0 = 0.1 \text{ M}$$

$$\nu_0 = 0.02 \text{ L}$$

$$K_w_{-25^\circ C} = 1.02 \cdot 10^{-14}$$

$$pK_a = (1 - \alpha) * pH - \beta * pK_a = (1 - \alpha) * pH - \beta \quad \text{Equation Annexe 13}$$

On représente les données obtenues sous la forme  $[H^+] = f(\nu_{HCl})$ . Les données sont modélisées en suivant le modèle (Equation Annexe 12) ci-dessus, et en utilisant  $\alpha=0.1443$  et  $\beta=-1.201$  pour le  $\ell$  PEI<sub>25K</sub> et  $\alpha=0.1602$  et  $\beta=-0.689$  pour le  $\ell$  PEI<sub>2K</sub> dans l'Equation Annexe 9). Les  $pK_a$  ainsi que la fraction de fonction amines protonées des PEI sont ensuite calculés en fonction du pH en utilisant ces paramètres (Equation Annexe 9 et Equation Annexe 10).

## 11.2 Préparation des solutions

L'utilisation de polymères dits faibles comme les PEI nécessite un ajustement du pH de travail des solutions. Pour toute l'étude, le pH des solutions est fixé à 4.8, soit par utilisation d'un tampon acétate soit par ajustement du pH par ajout d'acide chlorhydrique (HCl 1 M et 0.1 M ou DCl pour les solutions en solvant deutéré). Les protocoles spécifiques de préparation des polymères sont précisés dans chaque sous-rubrique. Un soin tout particulier est apporté à la préparation des solutions-mères (dont la concentration est vérifiée par TGA), qui seront diluées ensuite au poids pour chaque expérience. Le pH est ajusté avant chaque complexation et les concentrations et volumes d'ajout réajustés en conséquence. Tous les instruments de pesée et verrerie sont nettoyés à l'eau salée pour s'assurer de l'éviction de résidus de polymères et les contenants choisis en matière plastique pour éviter toute complexation au verre du PEI. Le pH-mètre est calibré avant chaque utilisation sur la gamme 4-7-10. Toutes les solutions mères en polymère sont filtrées sur filtres en acétate de cellulose de 0.45  $\mu\text{m}$ . Toutes les solutions utilisées lors de ces expériences ont été préparées en utilisant de l'eau distillée (Système Milli Q Plus,  $\rho=18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$  pour toutes les expériences sauf l'ITC où l'eau distillée est redistillée sur colonne). Le tampon acétate pH 4.8 à 100 mM, de force ionique  $I=50 \text{ mM}$  est utilisé pour la préparation des solutions, et du NaCl est ajouté pour modifier la force ionique à  $I=1.5 \text{ M}$ .

Les solutions de polymères sont préparées 24 heures avant utilisation pour une dissolution complète des polymères ; le pH est vérifié et éventuellement réajusté avant chaque expérience et la concentration de toutes les solutions mères sont vérifiées par ATG avant dilution au poids pour expérience.

### 11.2.1 Sulfate de dextrane

Une solution mère à environ 150 mM en charge est préparée puis diluée (au poids) aux concentrations désirées. La quantité de DxS (poudre) est pesée à la balance de précision puis ajustée par ajout de tampon acétate pH 4.8 et agitée à l'aide d'un barreau aimanté. Le pH est vérifié et ajusté avec une solution à 0.01 M en HCl au pH-mètre après 1 heure sous agitation et la solution conservée pour 2

semaines pour éviter toute contamination. Une ATG est utilisée pour connaître la concentration exacte, puis les solutions filles sont préparées par dilution au tampon ou à l'eau pH 4.8.

### 11.2.2 Polyéthylène imine

Une solution mère à environ 150 mM est préparée puis diluée (au poids) aux concentrations d'étude. La quantité de PEI (visqueux) est prélevée à la spatule et pesée à la balance de précision. La moitié de la quantité de tampon est ajoutée puis l'ensemble est mis sous agitation dans un récipient fermé pendant 2 heures puis le pH est ensuite ajusté à 4.8 avec d'acide chlorhydrique à 0.1 M). L'ensemble est remis sous agitation jusqu'à complète dissolution de l'espèce dans le solvant (10 heures). La quantité d'acide ajoutée est évaluée par pesée. (De l'ordre de 0.4 mL pour 50 mL de solution mère à 0.6 g/L). La solution est réajustée puis complétée au tampon acétate ou eau pH 4.8 et agitée. Le pH est vérifié une dernière fois au pH-mètre et la solution conservée pour 2-3 semaines (1 mois maximum) avec vérification et ajustement du pH à chaque utilisation. Après détermination de la concentration précise par ATG, la solution est diluée au tampon ou à l'eau pH 4.8 pour utilisation.

### 11.2.3 Tampon acétate

La force ionique de la solution est indiquée pour chaque expérience. Par convention, la force ionique\* des expériences usuelles est de 50 mM (elle est due intrinsèquement au tampon acétate). Elle est libellée  $I=0'$  par opposition aux solutions où du sel (NaCl) est ajoutée pour modifier la force ionique initiale. Les solutions de polymères préparées dans l'eau à pH 4.8 sont ajustées pour correspondre à une force ionique comparable au tampon acétate.

Le tampon acétate à pH 4.8,  $I_s=50$  mM est préparé à l'aide d'acide acétique et d'acétate de sodium en égale proportion molaire puis ajustement à la soude ou à l'acide jusqu'à pH 4.8.† Les espèces sont pesées puis l'ensemble est complété à l'eau distillée dégazée. Le pH est vérifié au pH-mètre et ce, toutes les semaines.

## 11.3 Suivi de la complexation

### 11.3.1 Titrage isotherme suivi par calorimétrie

L'étude de la thermodynamique du système occupant une place centrale dans ce chapitre, les concentrations en espèce ont été choisies afin de garantir la faisabilité de la méthode d'ITC très sensible de caractérisation. Ainsi les concentrations se placent dans le domaine du milli molaire, soit le domaine de réponse adéquat de l'appareil de mesure. Comme précisé dans le chapitre 1, le paramètre de Wiseman est calculé préalablement à chaque expérience. Par ailleurs, afin de garantir des expériences lisibles et modélisables, les concentrations ont été calculées afin de correspondre à une équivalence en charge entre les injections 10 et 14 des 25 de chaque expérience (soit une équivalence en charge au milieu du graphique, pour 95  $\mu$ L du polymère concentré dans la seringue et 950  $\mu$ L du polymère dilué dans la cellule). Enfin, la méthode d'ajout en œuvre dans l'expérience d'ITC est caractérisée par l'ajout d'une solution de concentration dix fois supérieure dans la seringue par rapport à la cellule. Cela implique l'utilisation de ce même type de solution lors de la reproduction de mélanges hors ITC. Les diverses concentrations utilisées dans cette études sont reportées dans le tableau ci-dessous. Par la suite, les concentrations initiales d'ajout des polymères seront précisées en mol de charge de monomère ainsi que la concentration massique totale en polymère dans les mélanges finaux.

\*  $I_s = \frac{1}{2} \sum C_i z_i^2$  avec  $C_i$  la concentration molaire de l'ion  $i$ , et  $z_i$  sa charge

† Source du calcul tampon – Université de Liverpool <http://www.liv.ac.uk/buffers/buffercalc.html>

Tableau Annexe 1 : Tableau récapitulatif des concentrations de l'étude et correspondance g/L et mmoles de charge par monomère par litre de solution, et ce en fonction de l'ordre d'ajout.

	$\text{PEI}_{25K}$ in $\text{DxS}_{20K}$		$\text{DxS}_{20K}$ in $\text{PEI}_{25K}$	
	$[\text{PEI}]_{\text{seringue}}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$[\text{DxS}]_{\text{cellule}}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$[\text{DxS}]_{\text{seringue}}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$[\text{PEI}]_{\text{cellule}}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
1/0.1	0.06 g/L-1.35 mM	0.02 g/L-0.101 mM	0.2 g/L-1 mM	0.006 g/L-0.135 mM
5/0.5	0.3 g/L-6.75 mM	0.1 g/L-0.505 mM	1 g/L-5.05 mM	0.03 g/L-0.675 mM
1	0.6 g/L-13.5 mM	0.2g/L-1.01 mM	2 g/L-10.1 mM	0.06 g/L-1.35 mM
100/10	6 g/L-135 mM	2 g/L-10.1 mM	20 g/L-101 mM	0.6 g/L-13.5 mM

Tableau Annexe 2: Correspondance entre injections de 8  $\mu\text{L}$  en ITC et le rapport de charge des polymères pour les deux sens d'ajout. Le rapport en concentration initiale dans le sens  $\text{PEI}$  dans  $\text{DxS}$  est de 13.5 mM/1.01 mM et de 10.1 mM/1.35 mM dans le sens  $\text{DxS}$  dans  $\text{PEI}$ .

	$\text{PEI}$ in $\text{DxS}$	$\text{DxS}$ in $\text{PEI}$
<i>injection</i>	$Z[+]/[-]$	$Z[-]/[+]$
1	0.08	0.09
2	0.16	0.18
3	0.24	0.27
4	0.32	0.35
5	0.40	0.44
6	0.48	0.53
7	0.56	0.62
8	0.64	0.71
9	0.72	0.80
10	0.80	0.89
11	0.88	0.98
12	0.96	1.06
13	1.04	1.15
14	1.12	1.24
15	1.20	1.33
16	1.28	1.42
17	1.36	1.51
18	1.44	1.60
19	1.52	1.68
20	1.60	1.77
21	1.68	1.86
22	1.76	1.95
23	1.84	2.04
24	1.92	2.13
25	2.00	2.22

## 11.3.2 Suivi morphologique du système au cours de la complexation

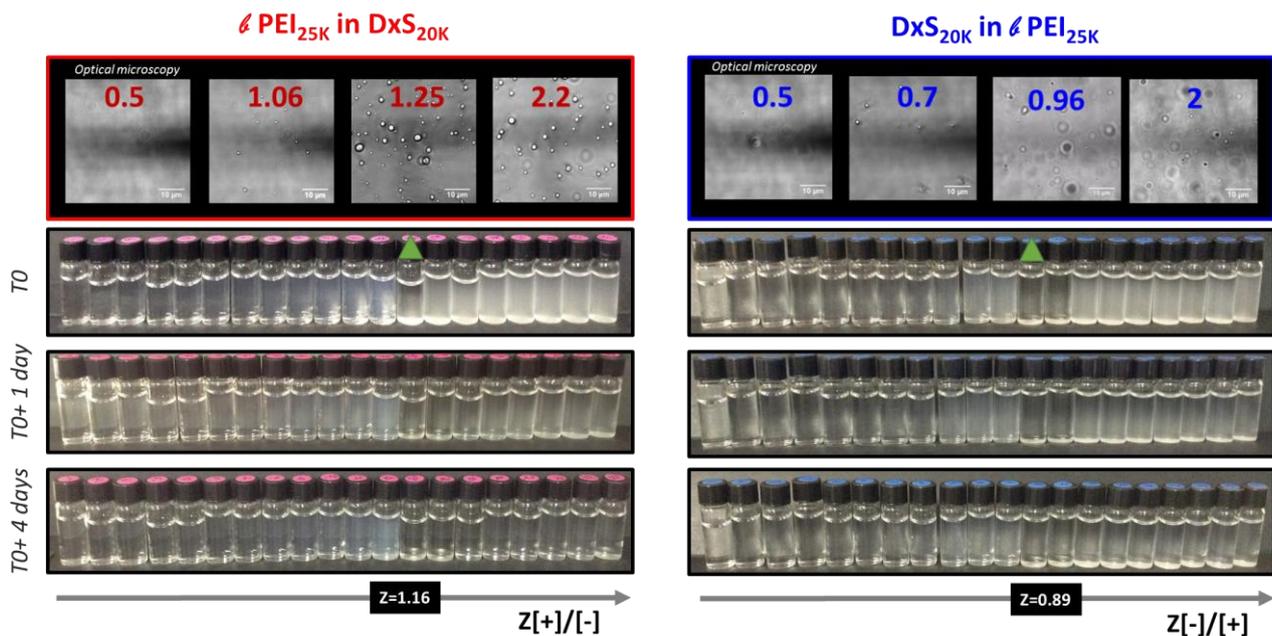


Figure Annexe 9 : Analyse en microscopie optique des suspensions de complexes préparées à différents rapports de charge  $Z$  (objectif x 63, barre d'échelle=10  $\mu\text{m}$ ). Aspect des suspensions de complexes en fonction du temps. Les flèches vertes pointent le rapport de charge correspondant au maximum de coacervation.

## 11.3.3 Diffusion statique et dynamique multiangle de la lumière (SLS, DLS)

## 11.3.3.1 Préparation des échantillons

Les solutions sont préparées suivant le protocole énoncé précédemment, puis mélangées selon le procédé ITC (aux concentrations 1/10 mM et 10/100 mM) à l'aide du mélangeur ITC, dans 4 fois le volume utilisé en ITC. Les mélanges sont placés dans des tubes en verre préalablement nettoyés à l'azote pour limiter la présence de poussière perturbant la diffusion du rayonnement laser. Les expériences sont répétées pour chaque rapport  $Z$  par ajout d'un volume différent au pousse-seringue. Un suivi dans le temps est réalisé sur les échantillons en les conservant sous agitation dans un tube en plastique scellé pendant la durée du suivi.

### 11.3.3.2 Fonctions de distributions lors de la complexation 10/1 mM

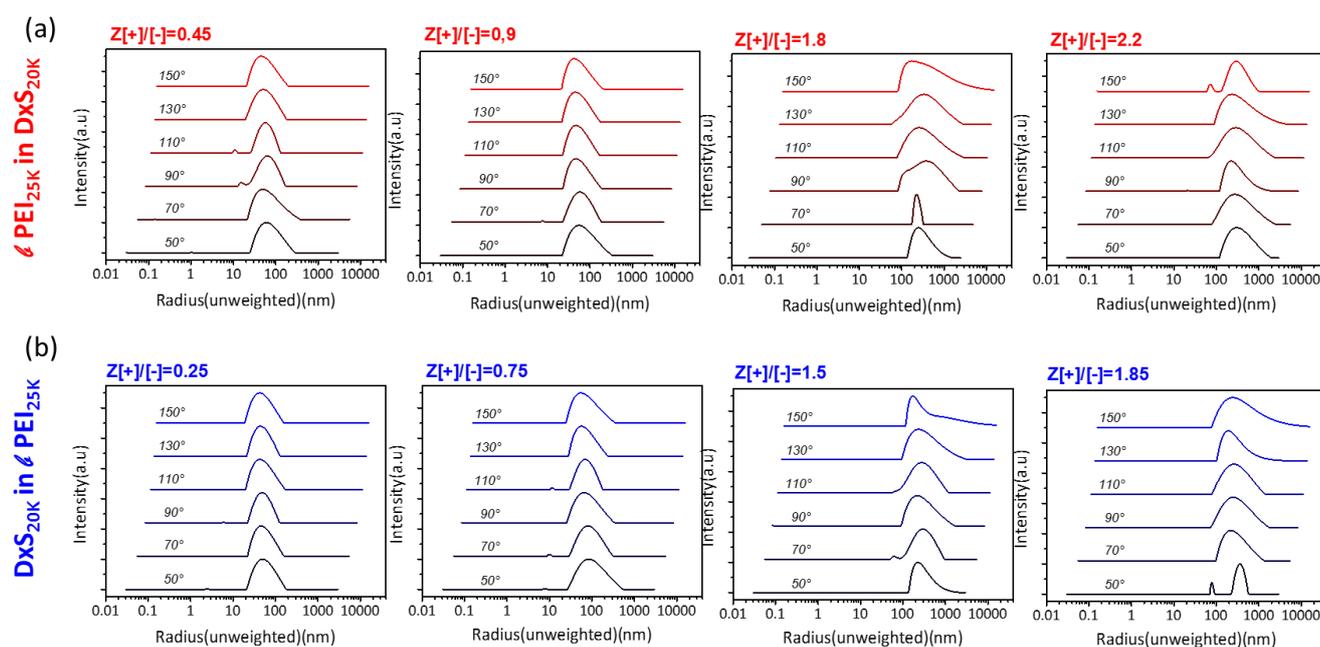


Figure Annexe 10 : Distribution en taille de complexes de DxS/PEI à différents Z en fonction de l'angle d'observation par la méthode CONTIN ; pour le sens (a) PEI dans DxS et (b) DxS dans PEI.

## 11.3.4 Etude de l'environnement chargé lors de la complexation

### 11.3.4.1 Potentiométrie

Les solutions de polymères sont préparées dans l'eau et 50 mM en NaCl et ajustées juste avant titrage à pH 4.8. Celles-ci sont réalisées au mélangeur ITC par ajout successifs au pousse-seringue correspondant aux injections de l'ITC. Le pH est relevé après stabilisation entre chaque ajout. Les concentrations utilisées correspondent à celles de l'expérience 1/10 mM. Les titrages sont tripliqués.

### 11.3.4.2 Conductimétrie

Les mélanges de polymères sont préparés sur des volumes 20 fois supérieurs à ceux en vigueur dans l'expérience d'ITC. Les expériences de conductimétries sont mises en œuvre à 25°C, les polyélectrolytes dissous dans l'eau pH 4.8 à 50 mM sont titrés au pousse-seringue selon les deux ordres d'ajout à la concentration 1/10 mM. Les titrages sont tripliqués.

## 11.3.5 Evaluation de la stœchiométrie des complexes par suivi UV-visible

La quantification de la charge des complexes ou des charges libres en solution est réalisé au moyen d'un spectrophotomètre à lecture de plaque SpectroMax M<sub>2</sub>e (Molecular Devices, Sunnyvale, USA). Les solutions sont réalisées comme précédemment décrit pour la diffusion de lumière sur des échantillons à concentration 1/10 mM. Les solutions sont dupliquées puis chaque point est analysé sur 3 puits de la microplaque.) Le DxS est associé au bleu de toluidine et le PEI à l'orange II, dans les conditions de tampon de l'étude (pH 4.8, tampon acétate 100 mM- $I_s$ =50 mM). Aucun des polymères seuls ne diffuse aux longueurs d'onde d'étude adoptées pour l'évaluation de la stœchiométrie des complexes. On dose tout ce qui n'a pas été complexé ce qui permet de connaître les quantités de DxS et PEI complexés et donc on accède ainsi à la réelle stœchiométrie de complexation.

Les expériences de dosage de charge suivi par spectrophotométrie UV-Visible se réalisent de la façon suivante : on mélange les polymères à différents Z en utilisant le mélangeur ITC, (3.6 x le volume de la cellule d'ITC) ; 200  $\mu\text{L}$  sont alors prélevés et additionnés à 1300  $\mu\text{L}$  du colorant (Orange II pour le dosage des amines du  $\beta$  PEI et bleu de toluidine pour le dosage des fonctions sulfatées du DxS). L'ensemble est mélangé 4 heures puis centrifugé (Figure Annexe 11). Les résultats présentés dans le chapitre font état du niveau d'absorbance à  $\lambda=485$  nm (orange II) et  $\lambda=590$  nm (bleu de toluidine). La solution tampon étant utilisée comme blanc.

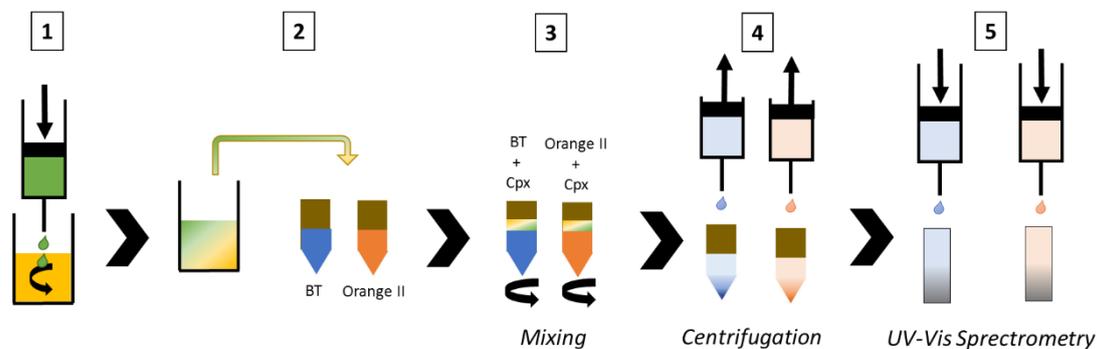


Figure Annexe 11 : Mode opératoire du dosage par complexation de l'orange II et du bleu de toluidine.

1. Réalisation du mélange de polymères
2. Prélèvement de 200  $\mu\text{L}$  de la solution et ajout dans 1300  $\mu\text{L}$  d'une solution de colorant dont la concentration correspond à celle en charge libre du polymère (PEI pour orange II et DxS pour BT) majorée de 20% (2 échantillons avec du bleu de toluidine, 2 échantillons avec de l'orange II)
3. Agitation des solutions sur une roue IKA à 500 RPM pendant 4 heures (des complexes entre les polymères libres et les colorants se forment).
4. Centrifugation des flacons plastiques teintés à 13201 x g pendant 30 min.
5. 200  $\mu\text{L}$  du surnageant sont prélevés puis analysés à 485 nm (orange II) et 585 nm (bleu de toluidine). Cette étape est répétée 3 fois pour chaque échantillon.

Dans un second temps, une variante de cette méthode est utilisée afin de suivre la cinétique de complexation (et réorganisation des complexes) au cours du temps. Dans cette série d'expériences, un spectrophotomètre à cuve UV-Visible Cary 100 UV (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) est utilisé. Le protocole est adapté en introduisant une quantité minimale de colorant, ce qui permet de suivre l'évolution de l'absorbance dans le temps et remonter à l'aide d'une droite d'étalonnage du colorant utilisé à une quantité de matière donc de charge en polymère réorganisé. (Pas de processus 3 et 4 d'agitation et centrifugation, mais un simple mélange à l'aide de la pipette avant mesure).

### 11.3.6 Visualisation des complexes

#### 11.3.6.1 Microscopie optique

Les échantillons sont issus des expériences de diffusion de la lumière réalisées au moyen du mimétique ITC. 40  $\mu\text{L}$  sont prélevés à la micropipette et déposés entre une lame et une lamelle de verre surélevées par un espaceur en paraffine.

#### 11.3.6.2 Microscopies électronique à balayage et confocale

Pour la microscopie confocale et électronique à balayage, les échantillons marqués sont fabriqués aux concentrations totales en polymère de 4.3%wt et 1.3%wt par ajout lent au mélangeur ITC de solutions équimolaires en charge.

### Microscopie confocale

Dans le cas de la microscopie confocale, le  $\zeta$  PEI est marqué de façon covalente avec de la rhodamine-NHS. Les échantillons sont placés dans des cuvettes spécialement conçues ou dans des micro-puits pour la prise d'image en épaisseur.

### Cryo-microscopie à balayage

Pour la cryo-microscopie électronique à balayage, les échantillons observés sont cryofixés sous haute pression. Après prélèvement dans la solution mère, une goutte est déposée dans une cupule spécifique de 2mm de diamètre sur 200  $\mu$ m de profondeur. Une seconde cupule est alors mise par-dessus afin de créer une chambre. Cet ensemble de cupules est inséré dans l'équipement de cryofixation haute pression (HPM100-Leica-Vienne-Autriche). L'échantillon va subir un jet d'azote liquide sous une pression de 2050 bars durant 1 ms. Une fois congelé, l'échantillon va être conservé dans l'azote liquide jusqu'à l'observation.

### 11.3.7 Transition de dessalage suivie par SLS

Cette technique consiste à réaliser des solutions dites 'dormantes' par ajout de sel (les polymères n'interagissent pas, les charges sont écrantées en solution). Les polymères sont dissous en solution aqueuses salines (NaCl) puis mélangées. Le système est ensuite dilué par ajout d'une solution d'eau distillée au même pH jusqu'à l'observation en SLS à 90° de la reprise de l'interaction, caractérisée par une augmentation de l'intensité du rayonnement, qui atteste de la formation de complexes qui diffusent plus la lumière. (Reprise de l'interaction)

Les solutions de polymères sans sel sont préparées en séparé à 14 mM en charge dans l'eau et ajustées à pH 4.8. Après dissolution des polymères, la quantité de NaCl nécessaire est ajoutée pour atteindre 4.1 M en sel. Après dissolution complète (30 min dans une cuve à ultrasons), les solutions sont filtrées sur filtres en acétate de cellulose 0.4  $\mu$ m. Enfin, les solutions sont mélangées de façon équimolaire pour réaliser la solution 'dormante' (sans interaction). L'intensité du rayonnement ( $R_{\theta}$ ) est enregistrée à 90°C et la solution dormante est diluée lentement par ajouts successifs d'eau à pH 4.8.

### 11.3.8 Cinétique de la complexation

#### 11.3.8.1 Suivi par diffusion de lumière au Nano ZS

Les suivis en intensité des cinétiques de complexation ont été obtenus sur un modèle Nano ZS de Malvern Instruments, à un angle de diffusion de 173°. Les échantillons préparés au mélangeur ITC sont introduits directement après fabrication dans la cuve de mesure et l'intensité est mesurée en continu pendant 6h.

#### 11.3.8.2 Cinétique aux temps courts par stopped-flow

L'acquisition est enregistrée toutes les 0.0005 s jusqu'à 4000 points. Les seringues 3( $\zeta$  PEI) et 4(DxS) de l'appareillage sont utilisées, avec des solutions de polymères équimolaires en charge de 1 mM. Les caractéristiques principales se situent dans le tableau ci-dessous.

Tableau Annexe 3 : Caractéristiques inhérentes aux expériences de cinétique aux temps courts par SF.

Rapport en charge Z[+]/[-]	Seringue 3 $\zeta$ PEI Rapport volumique	Seringue 4 DxS Rapport volumique	Volume des injections
0.5	5	1	226 $\mu$ L
0.8	8	1	227 $\mu$ L
1	1	1	226 $\mu$ L
1.2	6	5	227 $\mu$ L
1.5	15	10	226 $\mu$ L
2	2	1	226 $\mu$ L

## 11.4 Etude du Coacervat DxS/PEI

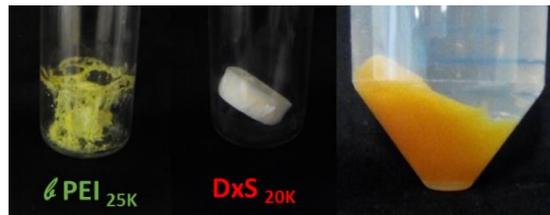


Figure Annexe 12 : PEI<sub>25K</sub> et DxS<sub>20K</sub> après lyophilisation, et photographie du coacervat DxS/PEI à 4.3%wt dans l'eau à pH 4.8.

### 11.4.1 Caractérisation du coacervat par ATG

Le coacervat est séparé de la phase surnageant, puis séché en surface avec un tissu. L'échantillon est ensuite caractérisé par ATG, en suivant le protocole spécifié précédemment pour l'évaluation de la teneur en eau des polymères.

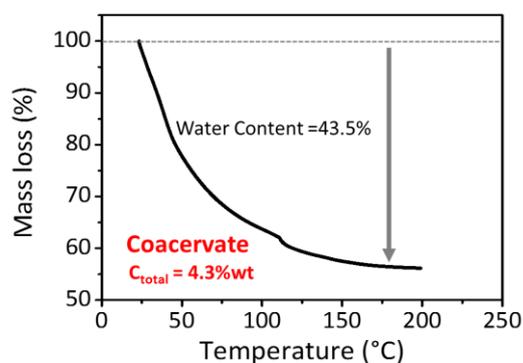


Figure Annexe 13 : Analyse thermogravimétrique du coacervat DxS/PEI préparé par ajout équimolaire en charge de 100 mM de chacun des polymères. Le coacervat est ensuite séché en surface et l'analyse est menée.

### 11.4.1 Rhéologie du coacervat

Les expériences de rhéologie ont été réalisées au LCPO par Jean-Francois Le Meins sur un rhéomètre Anton Paar modèle Mcr302 équipé d'une géométrie plan/plan de 25 mm. Le comportement en fluage est évalué à 500 Pa pendant 300 secondes. L'analyse en fréquence (comportement dynamique) est réalisée soit par application d'une déformation de 0.1%, soit pas application de 500 Pa en modulant les fréquences de 5 points par décades.

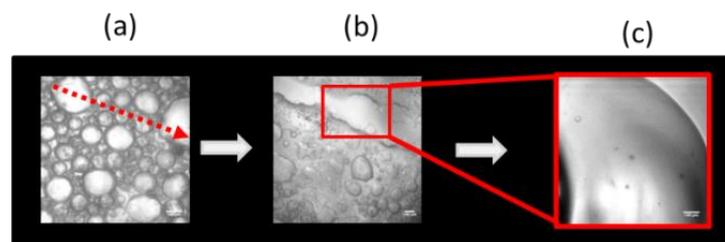
### 11.4.2 Structuration interne du coacervat en DNPA

Les expériences de diffusion des neutrons aux petits angles (DNPA/SANS) de ce chapitre ont été réalisées au Laboratoire Léon Brillouin (CEA Saclay, réacteur Orphée, 14 mégawatts) sur le spectromètre PACE sous l'expertise de Fabrice COUSIN. Quatre configurations ont été utilisées pour couvrir une gamme de vecteur d'onde  $q$  allant de 0.00243 à 0.13  $\text{\AA}^{-1}$ , en modifiant la distance au collimateur et la longueur d'onde en conséquence.

Tableau Annexe 4 : Tableau récapitulatif des caractéristiques relatives aux expériences de DNPA, réalisées sur le spectromètre PACE.

Dénomination	Distance au collimateur(m)	$\lambda$ monochromateur (Å)	$q$ (Å <sup>-1</sup> )
TPQ	4.7	17	0.00243-0.018
PQ	3	13	0.0186-0.0435
MQ	3	4.5	0.0438-0.129
GQ	1	4.5	0.13-0.49

### 11.4.3 Visualisation du processus de coacervation



*Création d'un canal Observation de la reformation du coacervat*

Figure Annexe 14 : Visualisation en microscopie optique après 100 heures de formation d'une phase coacervat à 1.3%wt en concentration totale en DxS + PEI. (a) Création d'un canal à l'aide d'une aiguille (b) Reformation du gel (c) Zoom sur le gel nouvellement formé. Les barres d'échelle sont de 100 µm.

# ANNEXE chapitre 4

## Informations complémentaires

### 12.1 Polyélectrolytes

Tableau Annexe 9 : Paramètre de Manning  $\Gamma$  des PEs.

	PAA	PDADMAC	DxS	PSSNa <sub>4.3K</sub>	$\ell$ PEI
$\Gamma_M$	2.85	1.44	3.05	2.88	1.97
Source	[254,121]	[255]	[101]	[256]	[257]

#### 12.1.1 Teneur en eau des solutions de PDADMAC et PAA par ATG

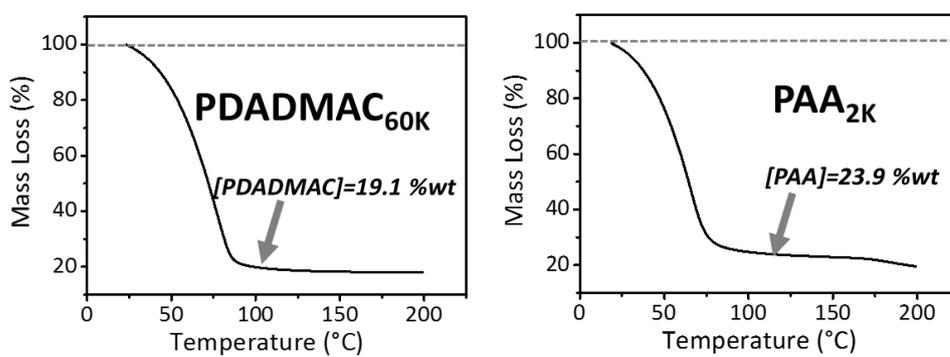


Figure Annexe 1 : Teneur en eau des solutions mères de PDADMAC<sub>60K</sub> et PAA<sub>2K</sub> utilisées dans ce chapitre, déterminées par ATG.

#### 12.1.2 Dosage conductimétrique du PAA

##### Titration PAA<sub>2K</sub>

Une solution à 1.0 g/L de PAA<sub>2K</sub> (25.011 g) est préparée et une solution à 0.5 M de NaOH (0.936g) lui est ajoutée. L'ensemble est mis sous agitation 20 minutes et un titrage est réalisé avec une solution de HCl à 1 M (standard). Les courbes sont présentées Figure Annexe 15 gauche et on distingue trois processus : i) le titrage de l'excès de NaOH ; ii) le titrage du PAA<sub>2K</sub> ; iii) l'ajout d'HCl. Chaque droite est modélisée par une régression linéaire. La différence entre les droites (rouges et bleue) correspond au volume d'acide V(HCL) consommé pendant le titrage du PE.

Pour le PAA<sub>2K</sub>, V(HCL) = 0.2923 mL, ce qui correspond à une quantité de matière  $n_{PAA} = 0.2923$  mmoles et 21.0631 mg de PAA. Par conséquent, on peut remonter à la quantité exacte de PAA :  $21.0631/25.011 \cdot 100\% = 84.2\%$ . En sachant que le taux d'humidité de la poudre est de 5.6% (ATG), la quantité de matière nette dans la poudre est de 79.4%.

##### Titration of 0.5 M NaOH

Pour évaluer l'erreur expérimentale, un titrage de la solution de 0.5 M NaOH est effectué en utilisant la même solution de 0.1 M en HCl. 20.424g de la solution de NaOH à 0.5 M est titré (Figure Annexe 15 droite). V(HCL) = 9.7688 mL, ce qui correspond à  $C_{NaOH} = 0.478$  M. Cela signifie que lors du titrage on a ajouté 0.450 mmoles de NaOH pour 0.4518 mmoles de HCl. On a donc un titrage très précis et cela confirme l'absence d'autres acides ou bases dans les solutions de PAA<sub>2K</sub>.

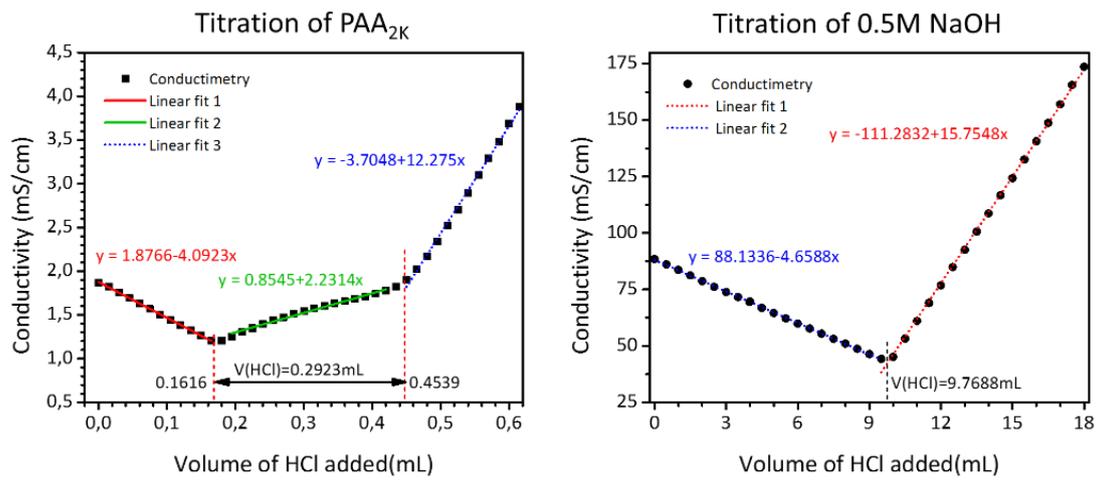


Figure Annexe 15 : (gauche) Titrage conductimétrique du PAA<sub>2K</sub> par de une solution d'acide chlorhydrique 1 M. (droite) Titrage de la solution de soude à 0.5 M par la même solution de HCl 1M.

## 12.2 Visualisation des solutions

Double page suivante

## 12.1 Cinétique de complexation

Tableau Annexe 10 : Voltage utilisé pour chaque système et maintenu constant pour tous les rapports de charge.

	PAA <sub>2K</sub> x PDADMAC <sub>60K</sub>	PSSNa <sub>4.3K</sub> x ℓ PEI <sub>2K</sub>	PSSNa <sub>4.3K</sub> x PDADMAC <sub>60K</sub>	PAA <sub>2K</sub> x ℓ PEI <sub>2K</sub>
Voltage de la lampe (V)	350	350	350	400

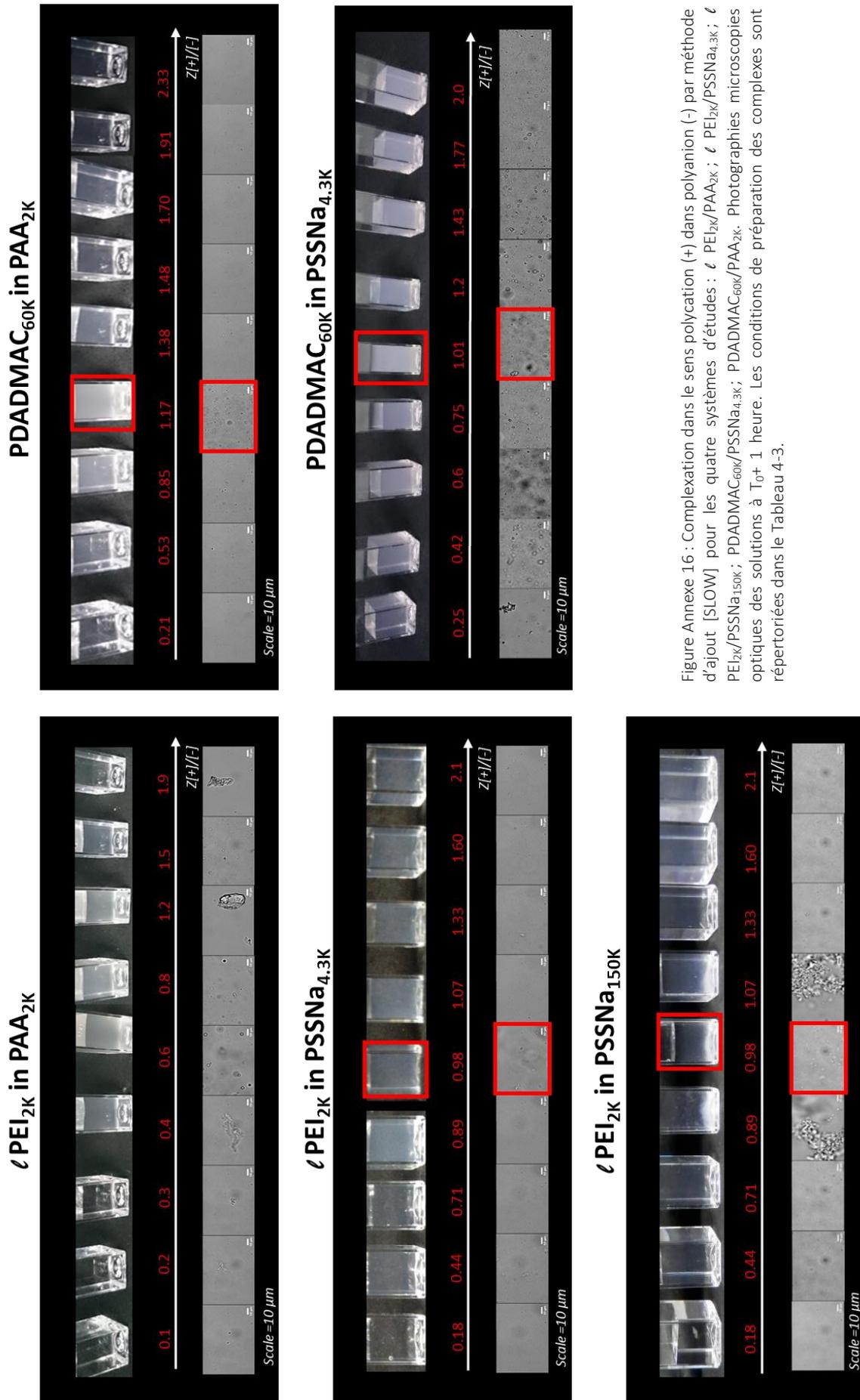


Figure Annexe 16 : Complexation dans le sens polyanion (-) dans polycation (+) par méthode d'ajout [SLOW] pour les quatre systèmes d'études :  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>/PAA<sub>2K</sub> ;  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>4.3K</sub> ;  $\ell$  PEI<sub>2K</sub>/PSSNa<sub>150K</sub> ; PDADMAC<sub>60K</sub>/PSSNa<sub>4.3K</sub> ; PDADMAC<sub>60K</sub>/PAA<sub>2K</sub>. Photographies microscopiques optiques des solutions à T<sub>0</sub>+ 1 heure. Les conditions de préparation des complexes sont répertoriées dans le Tableau 4-3.

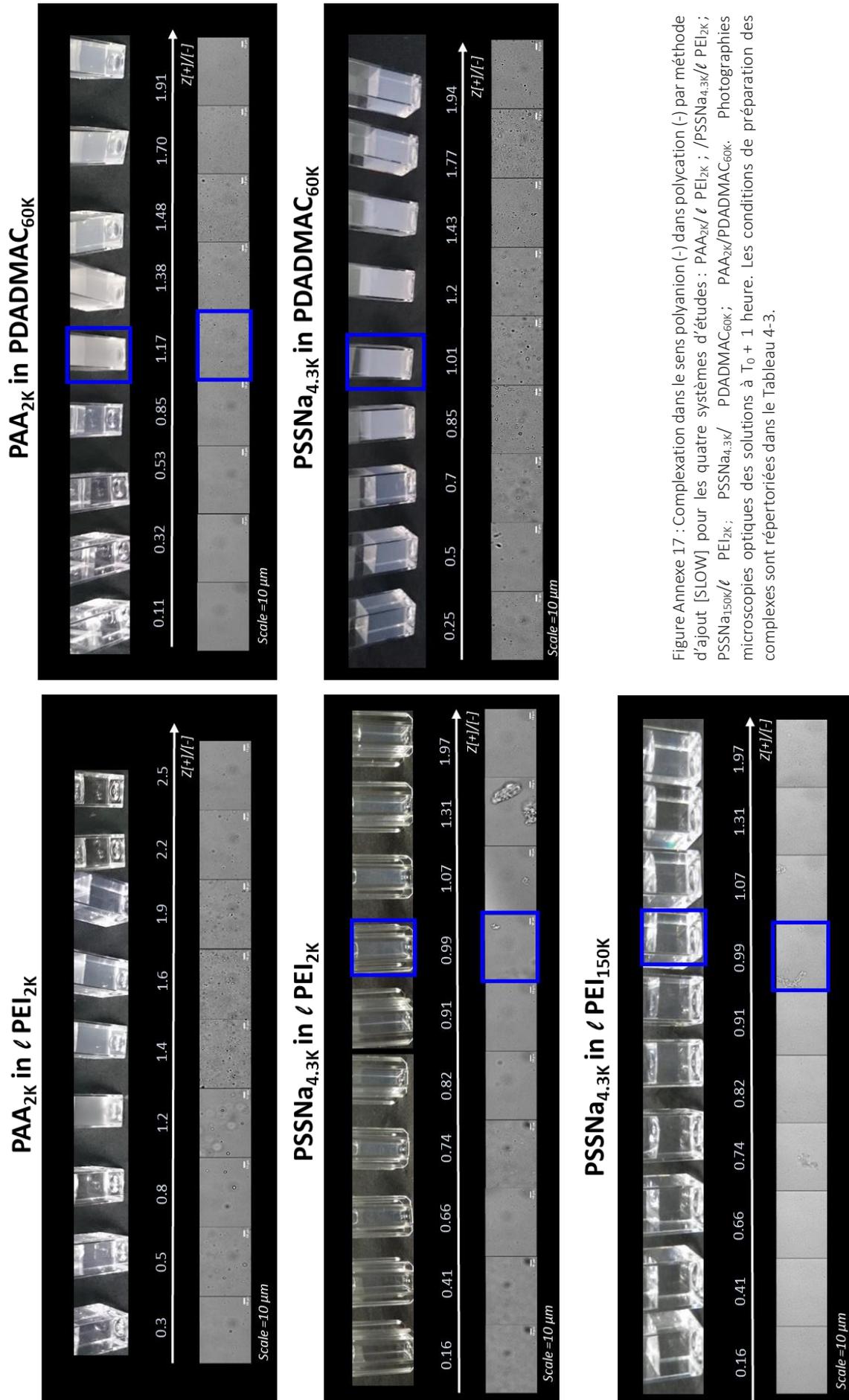
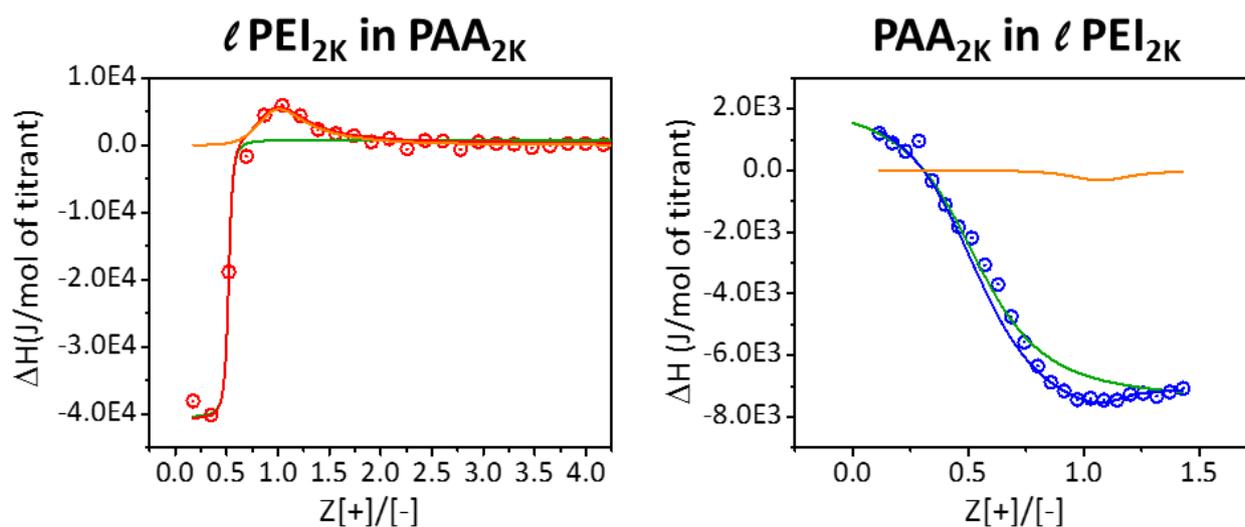


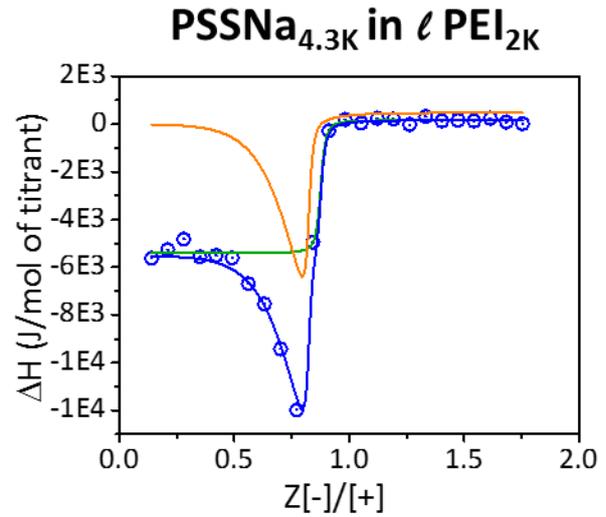
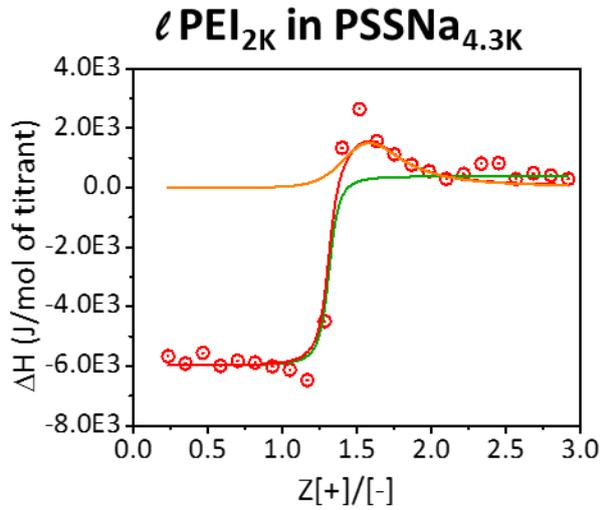
Figure Annexe 17 : Complexation dans le sens polyanion (-) dans polycation (-) par méthode d'ajout [SLOW] pour les quatre systèmes d'études : PAA<sub>2K</sub>/PEI<sub>2K</sub> ; /PSSNa<sub>4.3K</sub>/PEI<sub>2K</sub> ; PSSNa<sub>150K</sub>/PEI<sub>2K</sub> ; PSSNa<sub>4.3K</sub>/PDADMAC<sub>60K</sub> ; PAA<sub>2K</sub>/PDADMAC<sub>60K</sub>. Photographies microscopiques optiques des solutions à T<sub>0</sub> + 1 heure. Les conditions de préparation des complexes sont répertoriées dans le Tableau 4-3.

## 12.2 Thermodynamique de la complexation

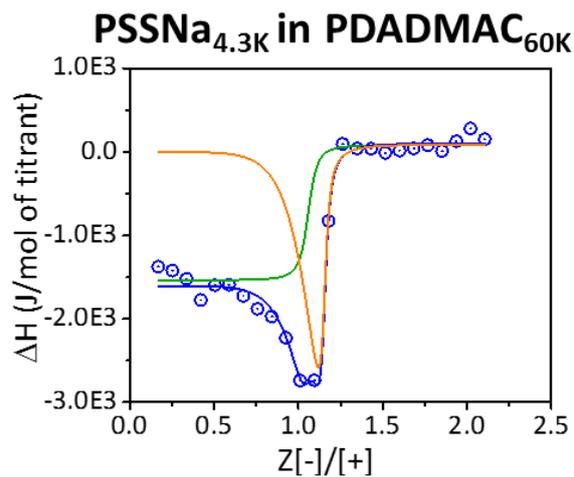
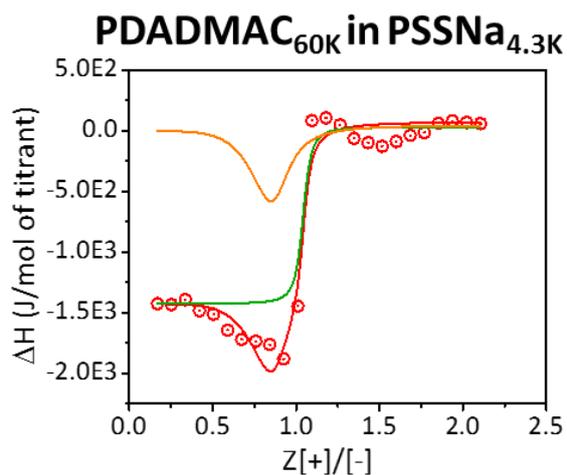


	ℓPEI in PAA	PAA in ℓPEI
<b>Processus 1 : Formation des PECs</b>		
$\Delta H_1$ (kJ/mol de titrant)	-41.3	10.9
$\Delta G_1$ (kJ/mol de titrant)	-27.7	-18.7
$T\Delta S_1$ (kJ/mol de titrant)	13.6	29.7
$K_1$ ( $M^{-1}$ )	$7.2 \times 10^4$	$1.9 \times 10^3$
$n_1$	0.5	0.6
<b>Processus 2 : Coacervation/agrégation</b>		
$\Delta H_2$ (kJ/mol de titrant)	21.9	-1.3
$\Delta G_2$ (kJ/mol de titrant)	-17.2	-24.8
$T\Delta S_2$ (kJ/mol de titrant)	39.1	23.5
$K_2$ ( $M^{-1}$ )	$1.0 \times 10^3$	$2.2 \times 10^4$
<b>Global=Processus 1+2</b>		
$\Delta H_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-19.4	9.6
$\Delta G_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-44.9	-43.4
$T\Delta S_{global}$ (kJ/mol de titrant)	52.7	53.0
$K_{global}$ ( $M^{-1}$ )	$7.3 \times 10^4$	$2.4 \times 10^4$

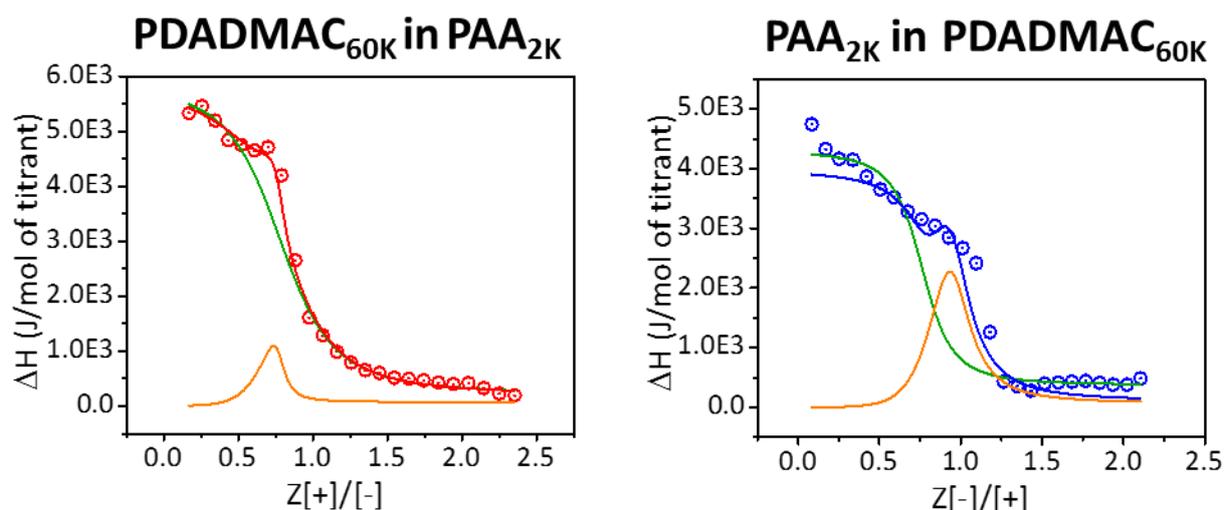
Figure Annexe 18 : Données issues de la modélisation MNIS à deux sites des thermogrammes ci-dessus pour les quatre systèmes d'études dans les conditions répertoriées dans le Tableau 4-3.



	$\ell$ PEI in PSS	PSS in $\ell$ PEI
<b>Processus 1 : Formation des PECs</b>		
$\Delta H_1$ (kJ/mol de titrant)	-6.4	-5.6
$\Delta G_1$ (kJ/mol de titrant)	-29.5	-35.1
$T\Delta S_1$ (kJ/mol de titrant)	23.1	29.5
$K_1$ ( $M^{-1}$ )	$1.5 \times 10^5$	$1.5 \times 10^6$
$n_1$	1.3	0.9
<b>Processus 2 : Agrégation</b>		
$\Delta H_2$ (kJ/mol de titrant)	6.4	-16.8
$\Delta G_2$ (kJ/mol de titrant)	-22.3	-35.6
$T\Delta S_2$ (kJ/mol de titrant)	28.3	18.8
$K_2$ ( $M^{-1}$ )	$8.0 \times 10^3$	$1.7 \times 10^6$
<b>Global=Processus 1+2</b>		
$\Delta H_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-0.3	-22.4
$\Delta G_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-51.8	-70.7
$T\Delta S_{global}$ (kJ/mol de titrant)	51.4	48.3
$K_{global}$ ( $M^{-1}$ )	$1.6 \times 10^5$	$3.2 \times 10^6$



	PDADMAC in PSS	PSS in PDADMAC
<b>Processus 1 : Formation des PECs</b>		
$\Delta H_1$ (kJ/mol de titrant)	-1.5	-1.6
$\Delta G_1$ (kJ/mol de titrant)	-28.8	-28.1
$T\Delta S_1$ (kJ/mol de titrant)	27.3	26.5
$K_1$ ( $M^{-1}$ )	$2.6 \times 10^5$	$8.4 \times 10^4$
$n_1$	1.0	1.0
<b>Processus 2 : Agrégation</b>		
$\Delta H_2$ (kJ/mol de titrant)	-2.3	-7.4
$\Delta G_2$ (kJ/mol de titrant)	-24.7	-30.9
$T\Delta S_2$ (kJ/mol de titrant)	22.4	23.5
$K_2$ ( $M^{-1}$ )	$2.1 \times 10^4$	$2.5 \times 10^5$
<b>Global=Processus 1+2</b>		
$\Delta H_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-3.7	-9.0
$\Delta G_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-53.4	-59.0
$T\Delta S_{global}$ (kJ/mol de titrant)	49.7	50.0
$K_{global}$ ( $M^{-1}$ )	$1.3 \times 10^5$	$3.4 \times 10^5$



	PDADMAC in PAA	PAA in PDADMAC
<b>Processus 1 : Formation des PECs</b>		
$\Delta H_1$ (kJ/mol de titrant)	5.7	3.9
$\Delta G_1$ (kJ/mol de titrant)	-18.3	-21.5
$T\Delta S_1$ (kJ/mol de titrant)	24.0	25.5
$K_1$ ( $M^{-1}$ )	$1.6 \times 10^3$	$5.6 \times 10^3$
$n_1$	0.8	0.8
<b>Processus 2 : Coacervation</b>		
$\Delta H_2$ (kJ/mol de titrant)	3.6	8.9
$\Delta G_2$ (kJ/mol de titrant)	-26.7	-23.9
$T\Delta S_2$ (kJ/mol de titrant)	30.2	32.8
$K_2$ ( $M^{-1}$ )	$4.8 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
<b>Global=Processus 1+2</b>		
$\Delta H_{global}$ (kJ/mol de titrant)	5.7	12.8
$\Delta G_{global}$ (kJ/mol de titrant)	-45.0	-45.4
$T\Delta S_{global}$ (kJ/mol de titrant)	54.3	58.3
$K_{global}$ ( $M^{-1}$ )	$4.9 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$

## 12.3 Evaluation de la force électrostatique par expérience de dessalage

Tableau Annexe 11 : Caractéristiques des PSSNa et PDADMAC utilisés pour les expériences de transition de dessalage.

Nom	Fournisseur	N°produit	Stockage
PSSNa <sub>70K</sub>	Sigma aldrich (Merck)	243051	Poudre
PDADMAC <sub>100K-200K</sub>	Sigma aldrich (Merck)	409014	20%wt dans l'eau

### 12.3.1 Calcul de la concentration des solutions de NaCl

Pour les solutions concentrées en sel comme dans le cas des expériences de dessalage, il faut tenir compte de la variation volumique engendrée par l'ajout du sel. Dans le premier temps, des solutions contenant des quantités de sel connues dans un volume de l'eau connu sont réalisées ; celles-

ci ont une concentration en moles de NaCl par litre de solvant (H<sub>2</sub>O) connue. Par la suite, la densité de ces solutions est mesurée en utilisant un densimètre d'Anton Paar, DMA 4500 (qui mesure la vitesse de propagation du son dans le milieu) et on obtient une courbe de calibration suivante (Figure Annexe 19 gauche).

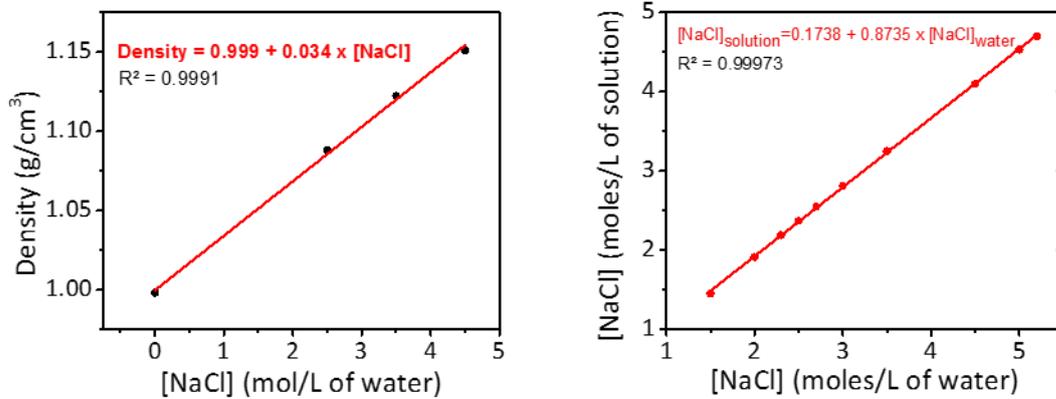


Figure Annexe 19 : (gauche) Courbe de calibration de la densité de sel en fonction de la concentration ajoutée en solution.(droite) Courbe de calibration entre concentration en moles/ litre d'eau et concentration en moles par litre de solution.

Cette courbe permet estimer la densité de n'importe quelle solution saline en NaCl dans l'eau en utilisant la relation :

$$\text{densité} = (1 + 0.0344 \times \text{molarité de la solution})$$

avec 0.0344 la pente de la courbe en  $\text{g}/(\text{cm}^3 \cdot \text{mol})$

Pour remonter à la concentration en moles de NaCl par litre de solution, on calcule le volume de chaque solution :

$$V_{\text{solution}} = \frac{(m_{\text{eau}} + m_{\text{NaCl}})}{\text{densité}}$$

Enfin, la concentration en moles de NaCl/litre de solution peut être calculée:

$$C_S = m_{\text{NaCl}} / (M_{\text{NaCl}} \times V_{\text{solution}})$$

On peut ainsi construire la courbe de calibration qui lie la concentration en moles par litre d'eau avec la concentration en moles par litre de solution (Figure Annexe 19 droite).

## 12.3.2 Transitions de dessalage

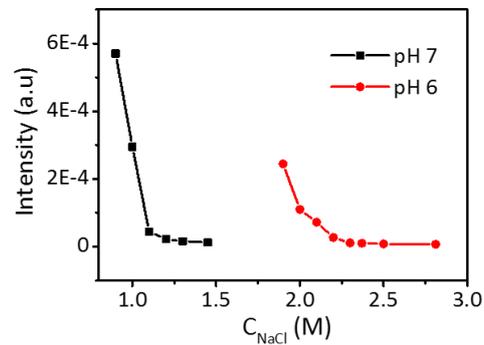
 $PAA_{2K}/\ell PEI_{2K}$ 

Figure Annexe 20 : Transition de dessalage du  $PAA_{2K}/\ell PEI_{2K}$  à pH 6 et pH 7 et à 14 mM en charge pour les deux PEs ( $Z \sim 1$ ). Détection par SLS à  $90^\circ$  en fonction de la concentration en sel,  $C_{NaCl}$  (M).

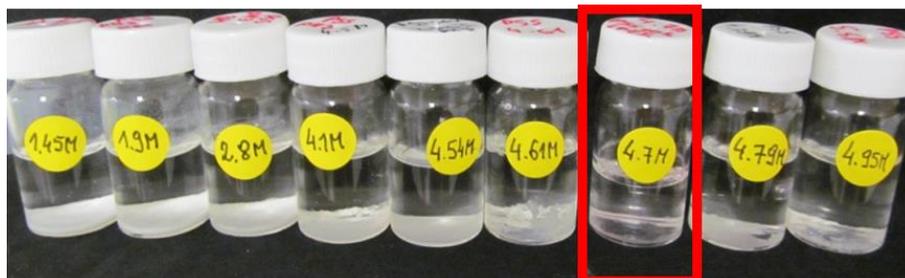
 $PSSNa_{4.3K}/\ell PEI_{2K}$ 

Figure Annexe 21 : Transition de dessalage du  $PSSNa_{4.3K}/\ell PEI_{2K}$  à pH 3 et à 14 mM en charge pour les deux PEs ( $Z \sim 1$ ). Détection visuelle macroscopique en fonction de la concentration en sel,  $C_{NaCl}$  (M).

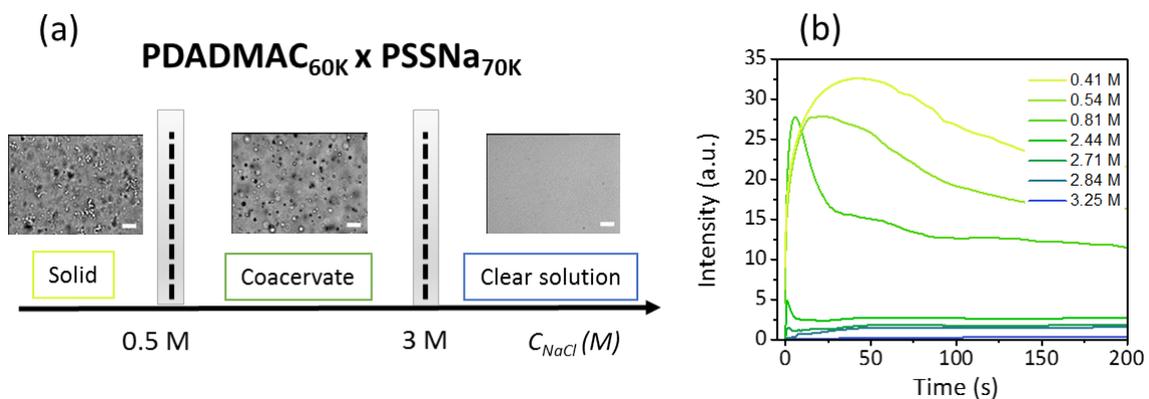
 $PSSNa_{4.3K}/PDADMAC_{60K}$ 

Figure Annexe 22 : Transition de dessalage du  $PSSNa_{4.3K}/PDADMAC_{60K}$  à pH 10 à 14 mM en charge pour les deux PEs ( $Z \sim 1$ ). (s) Microscopies optiques des solutions entre les transitions observées en fonction de  $C_{NaCl}$ . (b) Détection par SF à  $90^\circ$  en fonction de la concentration en sel,  $C_{NaCl}$  (M). Le signal est normalisé par la concentration massique des échantillons, et le signal amplifié par 10.

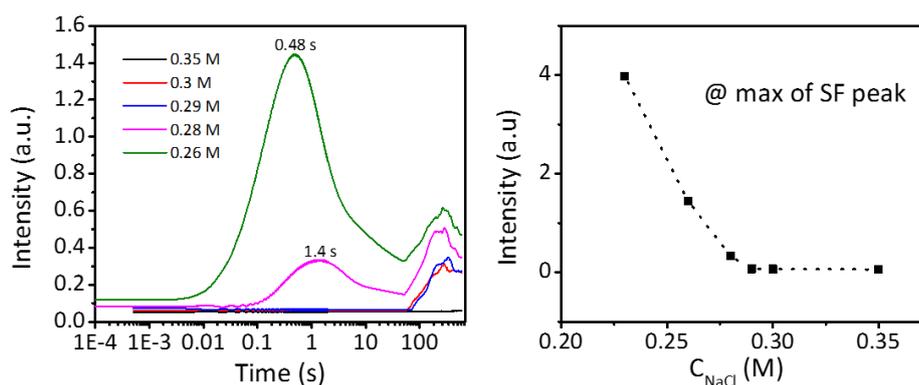


Figure Annexe 23 : Transition de dessalage du PAA<sub>2K</sub>/PEI<sub>2K</sub> à pH 6 et pH 7 à 14 mM en charge pour les deux PEs ( $Z \sim 1$ ). (gauche) Détection par SF à 90° en fonction de la concentration en sel,  $C_{\text{NaCl}}$  (M). Le signal est normalisé par la concentration massique des échantillons, et le signal amplifié par 10. (droite) Intensité au maximum des pics de SF en fonction de  $C_{\text{NaCl}}$ .

## 12.1 Mesure de l'hydratation des PEs

Tableau Annexe 12 : Conditions expérimentales et résultats des mesures d'enthalpie de dilution infinie des PEs par ITC.

	PDADMAC <sub>60K</sub>	PAA <sub>2K</sub>	PAA <sub>2K</sub>	ℓ PEI <sub>2K</sub>	PSSNa <sub>4.3K</sub>	ℓ PEI <sub>2K</sub>	ℓ PEI <sub>25K</sub>	DxS <sub>20K</sub>
<i>Conditions expérimentales</i>	pH 10	pH 8	pH 10	pH 8	pH 3/10	pH 3	pH 4.8 T.Acétate	pH 4.8 T.Acétate
<i>Volume cellule <math>V_{\text{cell}}</math> (<math>\mu\text{L}</math>)</i>	950	950	950	950	950	950	50 mM 950	50mM 950
<i><math>C_i</math> (mM de monomère)</i>	20	1	1	Mesure impossible	10	10	20	10
<i>Quantité de matière <math>n</math> (moles de monomère)</i>	$1.9 \times 10^{-5}$	$9.5 \times 10^{-7}$	$9.5 \times 10^{-7}$	Mesure impossible → baisse de solubilité du PEI (agrégation)	$9.5 \times 10^{-6}$	$9.5 \times 10^{-6}$	$1.9 \times 10^{-5}$	$9.5 \times 10^{-6}$
<i>Aire totale <math>A_{\text{tot}}</math> (<math>\mu</math>)</i>	-1.7	-9.8	-154.6		-1.3	-237.4	-207.4	-43.1
<i><math>\Delta H_{\text{hydratation}}</math> (J/mol de monomère)</i>	-0.009	-10.3	-162.7		0.1	-24.0	-10.9	-4.5

# HYDRATATION des PES

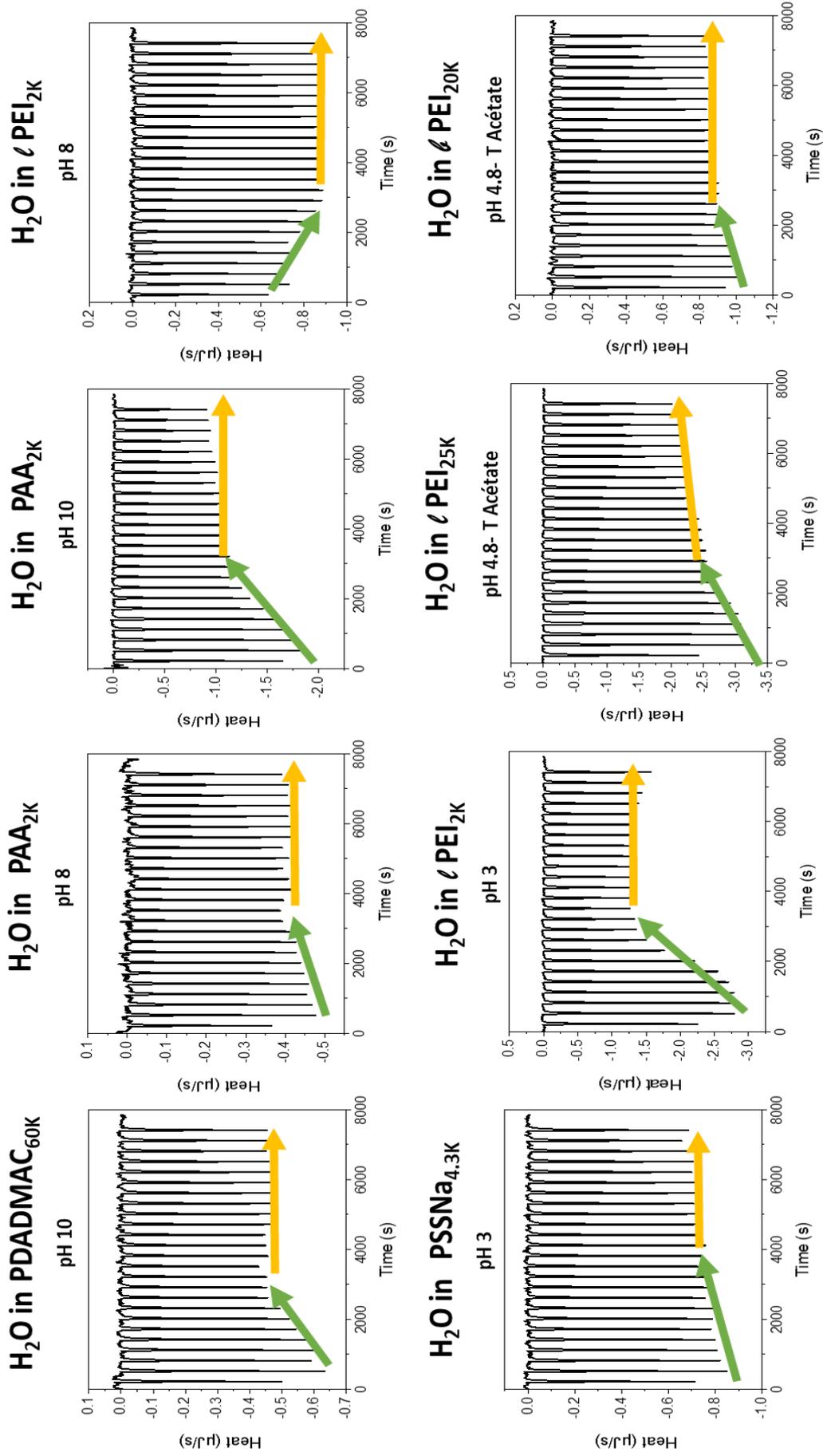


Figure Annexe 24 : Thermogrammes représentant les échanges de chaleur du système en fonction de l'avancement du titrage. L'exotherme est orientée vers le bas ; les conditions de dilution infinie des PES sont répertoriées en Tableau Annexe 12.



# RÉSUMÉ

Les complexes de polyélectrolytes (PECs) sont typiquement formés par interaction électrostatique entre deux polyélectrolytes de charge opposée. Alors que de nombreuses études ont été consacrées aux propriétés de ces complexes, l'objectif de la thèse est de mieux comprendre le rôle de l'intensité de l'interaction entre deux polyélectrolytes sur la morphologie des complexes ainsi que la cinétique et la thermodynamique de la complexation. Différents systèmes complexants, faibles et forts, donnant lieu à la formation de coacervats ou de précipités ont été choisis et étudiés sur une large gamme de rapport de charges ( $Z[+]/[-]$ ) afin d'obtenir différents états physiques (soluble, colloïdal, phase dense). La morphologie des complexes a été déterminée par microscopie (optique, fluorescence, force atomique) et diffusion de rayonnement (lumière, neutrons). La cinétique et la thermodynamique de complexation ont été étudiées par utilisation respective d'un mélangeur à flux stoppé et de la calorimétrie de titration isotherme. Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence un certain nombre de caractéristiques permettant de distinguer les systèmes complexants forts et faibles. En particulier, les complexes forts sont hors équilibre d'un point de vue thermodynamique et en conséquence ils présentent une forte dépendance aux conditions initiales de complexation. Un autre aspect important et qui pourrait être à l'origine de la distinction entre les complexes forts et faibles est l'énergie d'hydratation des polyélectrolytes qui a été déterminée pour de nombreux polyélectrolytes et corrélée aux propriétés des complexes.

*Mots clés* : polyélectrolytes, PECs, thermodynamique, cinétique, morphologie, interaction, co-assemblage, assemblages hors équilibre

---

# ABSTRACT

Complexes of polyelectrolytes (PECs) are oppositely charged polymers assemblies held together by electrostatic interaction. As the non-covalent assembly of macromolecules/colloids in solution has been thoroughly investigated over the last decade with a particular emphasis put on the morphology of the final aggregates as a function of the building blocks-chemistry, the objective of this thesis is to come to a better understanding of the influence of interaction strength between polyelectrolytes on complexes morphologies, as well as kinetics and thermodynamics of the complexation. For this study, weakly and strongly interacting systems given rise to coacervate and precipitate phases has been elected. Those systems have been studied on a wide charge ratio scale ( $Z[+]/[-]$ ) to span several physical states of the PECs (soluble and colloidal PECs, dense phases). Morphologies of assemblies are assessed by microscopy (optical, fluorescence, atomic force) and scattering techniques (neutron, light). Kinetics and thermodynamics of the complexation process are studied by use of a stopped-flow mixing device and an isothermal titration calorimeter. Results gave us keys to discriminate strongly interacting systems from weakly interacting ones. In particular, the 'strong systems' are showed to be non-equilibrium assemblies, *ie.* the formulation pathway or the way these different macromolecules are coming into contact is then a key step. Another important aspect that could explain the complexation process behavior is the hydration energy of the polyelectrolytes. Calorimetry measurements have been performed for numerous polyelectrolytes and then correlated to complexes properties.

*Key words*: polyelectrolytes, PECs, thermodynamics, kinetics, morphology, interaction strength, co-assembly, out-of-equilibrium assemblies