



HAL
open science

Interactions entre surfaces : Lifshitz et Helfrich avaient-ils déjà tout dit ?

Emanuel Bertrand

► **To cite this version:**

Emanuel Bertrand. Interactions entre surfaces : Lifshitz et Helfrich avaient-ils déjà tout dit ?. Physique [physics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2007. tel-00180309

HAL Id: tel-00180309

<https://theses.hal.science/tel-00180309>

Submitted on 18 Oct 2007

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

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

UNIVERSITÉ PARIS VI - Pierre et Marie Curie

HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

Spécialité : PHYSIQUE

Présentée par

Emanuel BERTRAND

Interactions entre surfaces : Lifshitz et Helfrich avaient-ils déjà tout dit ?

Soutenue le 1^{er} Octobre 2007 devant le jury composé de :

M. Fernando LEAL CALDERON	examineur
Mme Brigitte PANSU	rapportrice
Mme Régine PERZYNSKI	présidente
M. Frédéric PINCET	examineur
M. Grégoire PORTE	rapporteur
M. Elie RAPHAEL	examineur

Après avis des rapporteurs :

M. Henk LEKKERKERKER
Mme Brigitte PANSU
M. Grégoire PORTE

Pour Axel, infiniment plus important à mes yeux que toute la science.

Pour Cécile, qui m'a permis de concilier travail et amitié au quotidien pendant plusieurs années.

Pour Laetitia, dont l'intelligence et l'amitié ont illuminé quatre de mes années de recherche.

« Any man's death diminishes me, because I am involved in mankind. And therefore never send to know for whom the bell tolls; it tolls for thee. »

John Donne (1572-1631)

*« Seigneur, ne leur pardonne pas :
Ils savent ce qu'ils font. »*

Thikra Mohammed Nader, jeune romancière Irakienne, à propos des bombardements américains de 1991 sur le monastère de Mar Matti, près de Mossoul (Irak).

« Le sage cherche la vérité. L'imbécile l'a déjà trouvée. »

proverbe juif

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je souhaite remercier ici Valérie Cabuil, directrice de l'unité de recherche dans laquelle je travaille. Valérie, merci du fond du cœur de m'avoir accueilli dans ton équipe alors qu'il aurait été plus simple pour toi de me conseiller de rester où j'étais. Je n'oublierai pas ce geste de véritable gentillesse. Tu prouves chaque jour qu'il est possible d'être une directrice de laboratoire humaine et compréhensive.

Je tiens à remercier l'un de mes deux directeurs de thèse, Daniel Bonn, pour m'avoir appris que, sans bibliographie rigoureuse, la recherche n'est qu'une redite du travail des anciens. Merci aussi à Noushine et à toi pour nos collaborations et pour votre accueil à Amsterdam.

Je tiens aussi à remercier Jérôme Bibette pour avoir toujours su assurer le « marketing » de la recherche de son équipe, et, en conséquence, pu donner à ses collaborateurs les moyens financiers pour faire de la recherche de qualité. Heureusement, les contre-exemples sont aussi formateurs que les exemples, et je sais désormais, grâce à lui, le type de chef que j'espère ne jamais devenir.

Merci à Brigitte Pansu, Grégoire Porte et Henk Lekkerkerker d'avoir accepté la lourde tâche de rapporteurs de cette habilitation à diriger des recherches. Cela constitue pour moi un véritable honneur.

Merci aussi à Régine Perzynski d'avoir présidé le jury de cette habilitation. Tes conseils ont toujours été très précieux dans ce processus.

Merci à toi, Frédéric Pincet, d'avoir aussi accepté de juger ce travail. Tu es probablement le chercheur le plus humain et le plus gentil que j'ai rencontré au cours de ma thèse à l'Ecole Normale Supérieure. Et n'oublions pas : « Salut Fred ! ».

Je tiens par-dessus tout à remercier Elie Raphael, qui, outre des discussions passionnantes, scientifiques ou pas, a constitué pour moi un modèle de modestie et d'humilité, qualités si rares sur la Montagne Sainte Geneviève.

Je tiens aussi à faire une mention spéciale à Fernando Leal Calderon, qui est pour moi l'exemple de ce que doit être un enseignant-chercheur : humain, créatif, rigoureux, et surtout dévoué au service public.

Je veux aussi remercier Véronique Schmitt pour m'avoir initié à la rhéologie et au badminton. C'est toujours un plaisir de parler de science (et du reste) avec toi.

Merci également à Joseph Indekeu, qui est à mes yeux le plus pédagogue et le plus chaleureux des physiciens théoriciens que j'ai eu l'occasion de rencontrer.

Comment ne pas profiter de cette occasion pour remercier également Serge Pérez, qui en tant que président de la section 11 du Comité National de la Recherche Scientifique m'a offert sa confiance et son amitié ? Serge, tu n'es pas étranger au plaisir que je prends à être secrétaire scientifique de cette section.

J'ai aussi une pensée émue pour Pierre-Gilles de Gennes, disparu cette année, qui a tant fait pour la physique de la matière molle et dont la passion communicative pour les sciences est à l'origine de tant de vocations. Je n'oublierai pas le jour où il m'a reçu dans son bureau de l'Institut Curie et a accepté de préfacer la version publiée de ma thèse.

Dans un milieu où il est parfois sage de plus se méfier de ses prétendus amis que de ses ennemis déclarés, je suis heureux d'avoir pu trouver des amis de confiance, que je tiens à remercier ici : Fernando Leal Calderon, Véronique Schmitt, Elie Raphael, Olivier Greffier, Nicolas Lequeux, Pierre-Henri Puech, Valérie Cabuil, Olivier Sandre, Jean-Michel Siaugue, Laurent Fontaine, et, bien sûr, Cécile et Laetitia.

Merci à vous, Cécile et Laetitia, deux amies pour la vie (FKB). Merci en particulier à toi, Cécile, pour ton soutien moral et amical de tous les jours. Que la vie t'apporte tous les bonheurs que tu mérites. Merci tout spécial à toi, Laetitia, pour avoir été une thésarde aussi intelligente et pour avoir si bien encadré ton directeur de thèse, qui écrit ces quelques lignes bien futiles pour te dire tout ce que tu représentes pour lui ! Tu sais ce que ce mémoire te doit.

Merci aussi à Pierre Turq qui sait à la fois être drôle, profond et très habile politiquement. L'université peut s'enorgueillir d'avoir des hussards de la République de ton espèce.

Merci à Jean Baudry pour toutes les discussions passionnées, scientifiques et autres, que nous avons eues. Même si nous étions loin d'être toujours d'accord, ce fut toujours enrichissant.

Merci à Julie Guery pour notre collaboration fructueuse, pour sa bonne humeur de tous les jours au laboratoire, et pour tous les déjeuners au resto des cops.

Merci à Pierre Levitz pour son talent extraordinaire de physicien, pour sa culture généreuse et son sens de l'humour.

Merci à Patrick Davidson pour les nombreuses discussions passionnantes que nous avons eues au Comité National et pour ses conseils avisés.

Je veux aussi remercier Fabrice Springinsfeld, mon premier thésard dans ma nouvelle équipe. Après moins d'un an, c'est déjà un grand plaisir de travailler et de discuter avec toi.

Olivier Sandre et Jean-Michel Siaugue, merci d'être déjà beaucoup plus que des collègues de bureau. Je n'oublie pas non plus Sébastien Abramson, qui est, depuis désormais plusieurs années, un collègue de bureau « marxiste » mais attachant, à l'ESPCI comme à Jussieu, ni Olivier Hörner qui a bien du courage pour supporter les invectives (« social-traitre », « sarkozyste », « téléspectateur de TF1 », etc.) qui fusent dans le bureau !

Merci à Lise Michelot, muse chantante d'Xlab et autres malédictions administratives en tout genre.

Merci aussi à Sophie Cribier pour les précieux conseils au moment de la préparation de cette habilitation.

Je veux enfin remercier tous les militants et sympathisants socialistes que j'ai cotoyés pendant les campagnes électorales de 2007, et en particulier le camarade et ami Bertrand Rocheron, et l'humaniste Irakien et ami Samir Khamarou, qui ont fourni une grande part de la substance de ma vie extraprofessionnelle de ces douze derniers mois.

Merci surtout à ma famille et à tous mes amis, qui se reconnaîtront, sans lesquels ce travail n'aurait pour moi aucun sens.

Enfin, Emmanuelle, tu comptes déjà tellement... Je veux te remercier pour ta présence à mes côtés et pour bien plus encore.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	1
Chapitre 1 : Interactions de van der Waals et interactions électrostatiques entre surfaces.	2
1.1. Transitions de mouillage et interactions de van der Waals entre interfaces	2
1.2. Colloïdes et interactions DLVO entre surfaces	7
1.2.1. Propriétés des particules colloïdales magnétiques	7
1.2.2. Interactions colloïdales DLVO	15
Bibliographie du chapitre 1	20
Chapitre 2 : Des interactions plus subtiles entre surfaces.	22
2.1. Mouillage et interactions entropiques dues aux fluctuations d'interface	22
2.2. Colloïdes et interactions de pontage par des polymères	24
Bibliographie du chapitre 2	30
Chapitre 3 : Interactions spécifiques entre molécules biologiques reliées à des surfaces.	31
3.1. Interactions spécifiques et reconnaissance moléculaire	31
3.1.1. Qu'appelle-t-on vraiment « interactions spécifiques »? des interactions de nature différente ?	31
3.1.2. Que deviennent ces interactions lorsque les molécules sont reliées à des surfaces ?	36
3.2. La physique permet de caractériser la cinétique de reconnaissance entre molécules biologiques reliées à des surfaces	38
3.3. Les limites de l'approche du physicien : les interactions entre cadhérines	47
3.3.1. État de l'art sur les interactions entre cadhérines	47
3.3.2. Étude expérimentale de l'adhésion entre cadhérines	54
3.3.3. Profils force-distance de particules magnétiques liées par des cadhérines	57
3.3.4. Détermination expérimentale de la constante cinétique d'association entre cadhérines	64
3.3.5. Conclusions sur les interactions entre cadhérines et confrontation avec l'art antérieur	67
Conclusion du chapitre 3	69
Bibliographie du chapitre 3	70
Chapitre 4 : Des interactions entre surfaces d'objets en mouvement.	73
4.1. Influence des interactions sur les propriétés d'écoulement des suspensions	73
4.2. Rhéoépaississement des suspensions de particules fortement répulsives	79
Bibliographie du chapitre 4	85
Chapitre 5 : Projets de recherches.	86
5.1. Coalescence et mûrissement d'Ostwald des émulsions sous cisaillement	86
5.2. Rhéophysique des gels d'émulsions à base de substances cristallisables	88
Bibliographie du chapitre 5	90

Conclusion	91
Curriculum Vitae détaillé	93
Florilège de publications représentatives	101

INTRODUCTION

Après à peine plus de dix ans de recherche et d'enseignement, je peux dire que le métier d'enseignant-chercheur m'a apporté de nombreuses satisfactions et, parfois aussi, son lot de frustrations et de colères. J'ai eu la chance de travailler, souvent, avec des personnes brillantes et passionnantes, et cela m'a permis de me remettre constamment en question et de progresser. À l'heure de faire le bilan, en rédigeant ce mémoire, je me suis aperçu que, malgré leur diversité apparente, mes recherches partageaient toutes un même fil conducteur : l'étude des interactions entre surfaces. Dans ce domaine, qui s'est initié au XIX^e siècle, il n'est pas facile de faire preuve de fausse modestie que de se demander si, finalement, tout n'avait pas été déjà dit. En effet, comment ne pas se demander, en tant que physicien, si on peut encore apporter quelque chose à la compréhension des interactions entre surfaces au XXI^e siècle, bien après, entre autres, les travaux de Young, Laplace, van der Waals, Hamaker, Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek, Lifshitz, Cahn, de Gennes, Helfrich... ?

Sans vouloir, dès l'introduction, répondre à cette question un peu provocante, je crois que les apports originaux dans le domaine des interactions entre surfaces sont à rechercher principalement dans deux directions. En premier lieu, la connaissance du comportement des objets mésoscopiques en écoulement est à l'évidence moins avancée que celle des mêmes objets à l'équilibre. Il reste donc peut-être encore des choses à dire sur l'influence des interactions entre surfaces sur les propriétés d'écoulement de la matière complexe. En second lieu, il est indéniable que la biologie a offert, au cours des dernières décennies, aux physiciens de nouveaux objets d'étude permettant de renouveler leur appréhension de la matière. En particulier, la notion de reconnaissance moléculaire et d'interactions spécifiques entre molécules biologiques a conduit à se demander si les physiciens devaient considérer de nouvelles interactions que leurs théories classiques seraient incapables de décrire correctement. En outre, certaines molécules biologiques étant présentes à la surface des cellules, les interactions spécifiques se déclinent aussi en termes d'interactions entre surfaces, ouvrant ainsi un champ disciplinaire nouveau et très dynamique : l'étude de l'adhésion cellulaire, ou, plus généralement encore, de l'adhésion entre surfaces recouvertes par des molécules biologiques.

Dans ce mémoire, nous présenterons d'abord des résultats obtenus sur les interactions de van der Waals et les interactions électrostatiques entre surfaces, puis nous aborderons le cas d'interactions plus subtiles entre surfaces. Nous nous pencherons ensuite sur le cas des interactions spécifiques entre molécules biologiques reliées à des surfaces, à travers l'étude expérimentale du couple streptavidine-biotine. Nous essaierons aussi de montrer les limites de l'approche du physicien à travers l'étude expérimentale des interactions entre cadhérines, molécules biologiques directement impliquées dans l'adhésion cellulaire. Enfin, nous présenterons des études d'interactions entre surfaces en mouvement, puis deux projets de recherches futures. Nous nous efforcerons également, tout au long de ce manuscrit, de répondre à la question éponyme : Lifshitz et Helfrich avaient-ils déjà tout dit ?

Chapitre 1 :

Interactions de van der Waals et interactions électrostatiques entre surfaces.

Au cours de ce chapitre, je m'efforcerai de montrer la pertinence de la physique, et plus précisément de la thermodynamique de l'équilibre, de la première moitié du XX^e siècle, pour expliquer un certain nombre de phénomènes relatifs aux interactions entre surfaces. Nous verrons notamment comment la description de Hamaker (1937), corrigée et améliorée par Lifshitz (1966), des interactions de van der Waals entre surfaces, ainsi que le modèle « DLVO » des interactions colloïdales (Derjaguin et Landau, 1941; Verwey et Overbeek, 1948), permettent une description simple mais fidèle de ces phénomènes.

1.1. Transitions de mouillage et interactions de van der Waals entre interfaces

Collaborations internes : Daniel Bonn, Jacques Meunier (Laboratoire de Physique Statistique de l'Ecole Normale Supérieure, Paris)

Collaborations externes : Daniel Broseta (Institut Français du Pétrole, Rueil-Malmaison), Harvey Dobbs, Joseph Indekeu (Université Catholique de Leuven, Belgique)

Au cours de ma thèse, au Laboratoire de Physique Statistique de l'Ecole Normale Supérieure, j'ai étudié le rôle des interactions entre interfaces dans les transitions de mouillage, à partir d'expériences sur le mouillage des alcanes sur l'eau [Bertrand 2000c].

Les transitions de mouillage sont à la croisée des chemins entre l'étude des interfaces, amorcée par les travaux pionniers de Young [Young 1805] et Laplace [Laplace 1806] au début du dix-neuvième siècle, et celle, beaucoup plus récente, des phénomènes critiques. John Cahn est le grand nom du domaine. Il effectue, en 1977 [Cahn 1977], le lien entre la fameuse équation de Young (1805) et les phénomènes critiques [Landau 1967]. Il montre théoriquement qu'en s'approchant de la température critique d'un mélange binaire en contact avec une troisième phase, on passe d'un état de mouillage, dit partiel, à un autre état de mouillage, dit complet, selon une transition de phases de surface appelée **transition de mouillage**. Ces deux états de mouillage sont schématisés sur la figure 1.1.

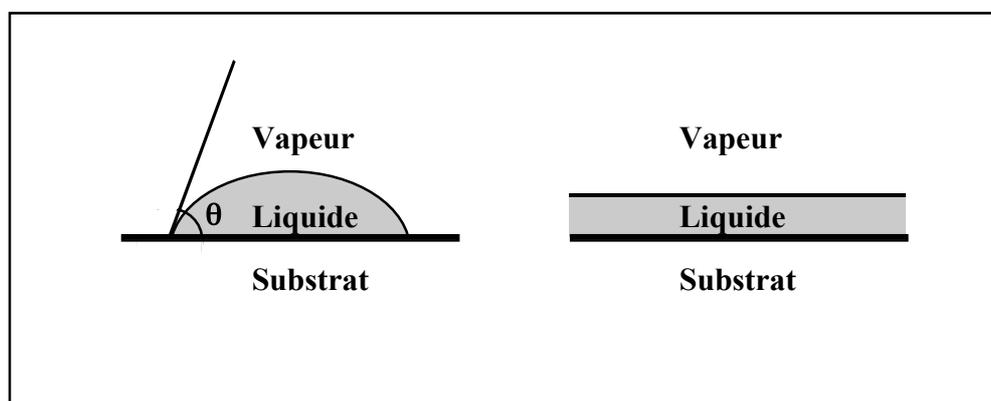


Figure 1.1 : les deux états de mouillage classiques : mouillage partiel/mouillage complet.

Les diverses interactions entre molécules des diverses phases impliquées dans les phénomènes de mouillage engendrent des **interactions entre interfaces**. Ces interactions entre interfaces influencent alors de façon profonde l'existence et la nature des transitions de mouillage. Ma thèse a apporté une contribution à la compréhension de ce lien complexe entre interactions entre interfaces et transitions de mouillage à partir d'études expérimentales du mouillage des alcanes sur l'eau et de considérations théoriques [Bertrand 2003].

Au cours de cette thèse, nous avons étudié en détail les divers états de mouillage des alcanes sur l'eau ainsi que les transitions de phases entre ces différents états. Outre l'aspect fondamental déjà évoqué, les alcanes étant des composants de base du pétrole [Chapelle 1990], cette étude nous a aussi permis de mieux comprendre l'influence, sur le comportement de mouillage du pétrole sur l'eau, des principales variables thermodynamiques à l'intérieur de la roche pétrolière : la température, la pression, la composition du pétrole, et la composition de la phase aqueuse [Shahidzadeh 2003].

Distinction entre interactions intermoléculaires à courte portée et à longue portée

Dans les systèmes étudiés au cours de ma thèse, les interactions électrostatiques entre molécules étaient absentes ou négligeables. En ce qui concerne les autres interactions intermoléculaires, il y a lieu de distinguer deux types d'interactions, bien qu'ils aient tous deux la même origine électrodynamique [Israelachvili 1991]. Le premier type correspond aux interactions intermoléculaires attractives de van der Waals [van der Waals 1894]. Ces interactions diminuent comme l'inverse de la puissance six de la distance entre molécules. On parle, pour une telle décroissance algébrique, d'**interactions à longue portée** [de Gennes 1981]. Le second type d'interactions intermoléculaires est à décroissance extrêmement rapide avec la distance entre molécules et c'est pourquoi, en comparaison avec les interactions de van der Waals, on parle d'**interactions à courte portée**. La notion d'interaction à courte portée n'a donc de sens que par comparaison avec la portée des interactions de van der Waals. Les interactions à courte portée sont répulsives et sont dues à l'impossibilité de recouvrement des nuages électroniques de deux molécules adjacentes. On parle parfois à leur sujet d'interactions de « cœur dur ». La forme exacte de ces interactions à courte portée est inconnue et il en existe de nombreux modèles [Israelachvili 1991]. Le premier de ces modèles est le « potentiel de sphère dure » : il s'agit d'un potentiel infini pour les distances inférieures à une certaine distance caractéristique de la taille des molécules et nul pour les distances supérieures [Israelachvili 1991]. Le deuxième modèle d'interaction à courte portée est un potentiel à décroissance exponentielle avec la distance entre molécules. Enfin, le troisième modèle est un potentiel qui décroît comme l'inverse d'une puissance entière de la distance intermoléculaire, cette puissance étant très supérieure à six puisqu'elle modélise une interaction à plus courte portée que les interactions de van der Waals. La puissance de ce modèle est généralement prise égale à douze, pour des raisons de commodités mathématiques ; on obtient alors comme potentiel intermoléculaire total le fameux « potentiel de Lennard-Jones » (ou « potentiel 6-12 ») [Lennard-Jones 1928].

Interactions intermoléculaires de van der Waals

Qu'elles possèdent ou non un moment dipolaire permanent, les molécules sont polarisables, et sont donc toutes susceptibles de posséder un moment dipolaire induit. Les interactions **attractives** entre ces moments dipolaires, permanents ou induits, sont à l'origine

de la cohésion des liquides : ce sont les **interactions de van der Waals** [van der Waals 1894]. Suivant la nature des moments dipolaires concernés, on distingue trois types d'interactions de van der Waals. L'interaction de van der Waals-Keesom [Keesom 1921] s'exerce entre molécules polaires. L'interaction de van der Waals-Debye [Debye 1921] concerne l'attraction entre une molécule polaire et une molécule apolaire. Enfin, l'interaction de van der Waals-London [London 1937] s'exerce entre deux molécules apolaires.

Les trois types d'interactions intermoléculaires de van der Waals sont attractifs et ont la même décroissance en $1/r^6$ avec la distance r intermoléculaire. On peut donc les inclure dans un même potentiel d'interaction de van der Waals [Israelachvili 1991]. Ainsi, pour deux molécules (i) et (j), l'énergie libre d'interaction de van der Waals s'écrit :

$$u(r) = -\frac{c_{ij}}{r^6}$$

où la constante c_{ij} d'interaction de van der Waals entre les molécules (i) et (j) est la somme de trois contributions respectivement dues aux interactions de Keesom, de Debye, et de London.

Interactions entre interfaces

Le cas du mouillage nécessite l'étude du système suivant : deux milieux semi-infinis (le substrat S et la phase V) séparés par une couche finie d'un troisième milieu (la phase L). Le bilan de l'ensemble des forces intermoléculaires d'un tel système se traduit par une interaction effective entre les deux interfaces séparant les trois milieux. On introduit donc un **potentiel effectif d'interaction entre interfaces**, $V(l)$, qui est en fait l'énergie libre d'interaction par unité de surface entre les deux interfaces séparées d'une distance l . L'équivalent en termes de force par unité de surface est la **pression de disjonction** $\Pi(l)$ du film de mouillage, définie par [Derjaguin 1955] :

$$\Pi(l) = -\frac{\partial V(l)}{\partial l}$$

Il s'agit de « la pression que l'on doit appliquer sur le film », en plus de la pression atmosphérique, si l'on veut le maintenir à une épaisseur l . Un état d'équilibre du film de mouillage correspond à un minimum du potentiel $V(l)$, ou encore à une pression de disjonction $\Pi(l)$ nulle et de dérivée négative.

Interaction entre interfaces due aux interactions intermoléculaires à longue portée

Le cas de l'intégration des interactions de van der Waals entre deux milieux semi-infinis séparés par une couche d'un troisième milieu est étudié en 1937 par Hamaker [Hamaker 1937]. Ce calcul repose sur une approximation, qui consiste à considérer que les interactions de van der Waals sont additives deux à deux, c'est-à-dire que l'on peut négliger les interactions à plusieurs corps [Israelachvili 1991]. Le potentiel d'interaction de van der Waals entre un milieu semi-infini et une molécule isolée située à une distance r de la surface de ce milieu décroît avec la distance r selon $1/r^3$ [Polanyi 1930]. Intégrant ce potentiel entre une distance l et l'infini, Hamaker trouve la forme suivante pour le potentiel effectif de van

der Waals entre deux interfaces distantes de l [Hamaker 1937] :

$$V(l) = -\frac{W}{12\pi l^2}$$

W est appelée **constante de Hamaker** et s'exprime simplement en fonction des constantes d'interaction de van der Waals intermoléculaires et des densités moléculaires des trois milieux considérés [Hamaker 1937]. Lorsque les deux milieux externes sont des phases condensées et la couche interne est composée de vide, l'ordre de grandeur typique de la constante de Hamaker est 10^{-19} J [Israelachvili 1991]. Une valeur positive de la constante de Hamaker correspond à une interaction effective **attractive** entre les deux interfaces, alors qu'une valeur négative correspond à une interaction **répulsive**. Le calcul rigoureux de ce potentiel effectif de van der Waals entre deux interfaces nécessite de s'affranchir des approximations utilisées par Hamaker. La théorie de Lifshitz [Lifshitz 1955], et sa généralisation par Dzyaloshinskii, Lifshitz, et Pitaevskii, ou **théorie DLP** [Dzyaloshinskii 1961], contournent le problème de la non-additivité des interactions de van der Waals car elles ignorent la structure moléculaire des milieux, qu'elle considère comme continue. Le potentiel effectif de van der Waals est alors une fonction intégrale de l .

Interaction entre interfaces due aux interactions intermoléculaires à courte portée

En ce qui concerne les interactions à courte portée, leur intégration sur les trois milieux considérés conduit à plusieurs types de modèles pour le potentiel interfacial $V(l)$. Le plus utilisé découle du modèle d'interaction à courte portée à décroissance exponentielle. Il s'agit d'un développement en puissances d'exponentielle [Brézin 1983] :

$$V(l) = \alpha e^{-l/\xi} + \beta e^{-2l/\xi} + \gamma e^{-3l/\xi} + \dots$$

où α , β , et γ sont des constantes et ξ est la longueur de corrélation de l'équilibre L/V , c'est-à-dire une longueur de l'ordre de grandeur de l'épaisseur de l'interface L/V [Schick 1990, de Gennes 1981]. Loin du point critique de l'équilibre L/V , la valeur de ξ est de l'ordre de 5 Å.

Étude expérimentale du mouillage des alcanes sur l'eau

Utilisant l'**ellipsométrie** [Azzam 1986] comme technique expérimentale, nous avons déterminé l'évolution avec la température du comportement de mouillage sur l'eau des alcanes compris entre le pentane et l'heptane.

Nous avons observé, pour chaque alcane, lors d'une augmentation de la température, la succession de deux transitions de mouillage, permettant de distinguer trois états de mouillage différents. Aux basses températures, l'état d'équilibre est le **mouillage partiel**, caractérisé par la coexistence d'un film microscopique et d'une lentille résistant à l'étalement. Aux hautes températures, il s'agit du **mouillage complet**, caractérisé par un film de mouillage macroscopique. Enfin, aux températures intermédiaires, on observe un troisième état de mouillage : le **mouillage complet frustré** [Bertrand 2000a et 2003], caractérisé par la coexistence d'un film mésoscopique (d'une centaine d'Ångströms d'épaisseur) et d'une lentille. Nous avons choisi ce terme, proposé par Joseph Indekeu, physicien théoricien de l'Université Catholique de Leuven, pour nommer ce nouvel état de mouillage car seules les

interactions de van der Waals empêchent le film de mouillage mésoscopique d'être macroscopique.

La première transition de mouillage, entre l'état de mouillage partiel et l'état de mouillage complet frustré est du premier ordre, et la seconde, entre l'état de mouillage complet frustré et l'état de mouillage complet, est une transition de mouillage critique (i.e. du second ordre). Les mesures ellipsométriques nous ont permis de déterminer expérimentalement les températures de transitions de mouillage, et de tracer un diagramme de phases global de mouillage des alcanes purs sur l'eau en fonction de la température et du nombre d'atomes de carbone de l'alcane (figure 1.2).

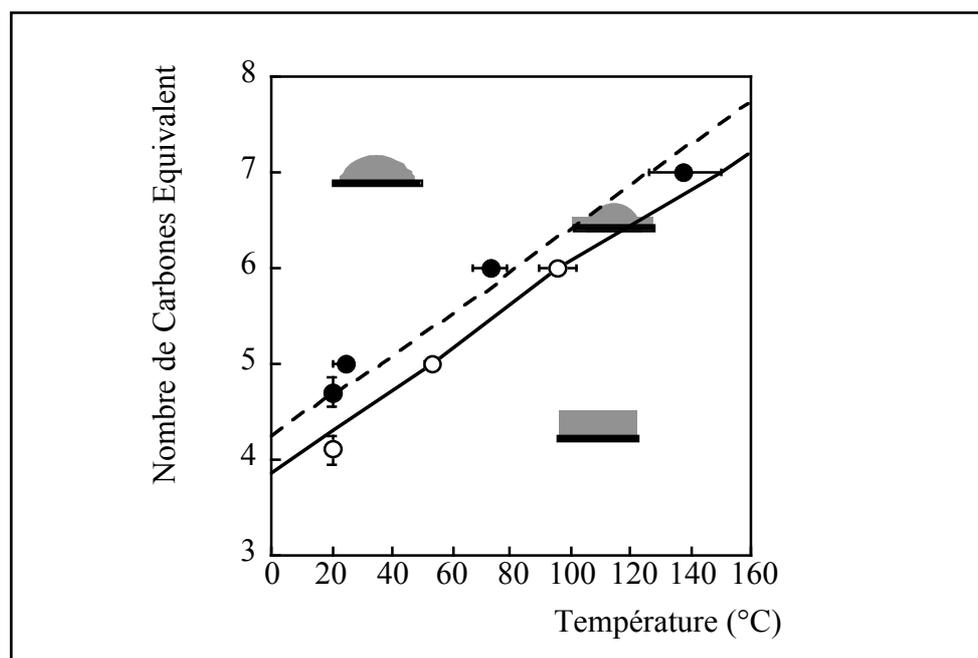


Figure 1.2 : diagramme de phases expérimental et théorique de mouillage des alcanes purs et des mélanges d'alcanes sur l'eau. La droite en traits pointillés représente les prédictions théoriques de températures de transition de mouillage du premier ordre obtenues à l'aide de la théorie de Cahn modifiée [Dobbs 2001]. La courbe en trait plein correspond aux prédictions théoriques de températures de transition de mouillage critique obtenues par annulation des constantes de Hamaker calculées dans le cadre de la théorie DLP [Bertrand 2003].

Nous avons également étudié le mouillage sur l'eau d'un mélange d'alcanes de composition variable. Ayant choisi un mélange d'hexane (liquide à température et pression ambiantes) et de propane (gazeux à température et pression ambiantes), nous avons fabriqué une cellule d'ellipsométrie capable de résister à des pressions de l'ordre de 10 bar, et utilisé la pression partielle d'alcanes comme paramètre de contrôle. Au cours de ces expériences d'ellipsométrie sous pression variable, nous avons observé, lors d'une augmentation de pression, la même succession de deux transitions de mouillage que dans le cas de l'étude du comportement des alcanes purs en fonction de la température. Ces résultats nous ont permis, à l'aide du concept de « nombre de carbones équivalent », d'étendre le diagramme de phases global de mouillage des alcanes purs aux mélanges d'alcanes [Bertrand 1999]. La particularité de ce diagramme de phases global de mouillage des alcanes sur l'eau (figure 1.2) est l'absence de **point critique terminal** dans la fenêtre expérimentale étudiée, c'est-à-dire de

point où les lignes de transitions de mouillage du premier ordre et de transitions de mouillage critiques se rencontrent. Ce phénomène expérimental est appuyé par des considérations théoriques mettant en œuvre les interactions à courte et à longue portée.

Une confrontation de ces résultats expérimentaux et de la **théorie de Lifshitz** des interactions de van der Waals [Lifshitz 1955] a en effet permis de confirmer notre interprétation des transitions de mouillage critique observées : la transition de mouillage critique correspond au changement de comportement, avec la température, de l'interaction effective entre interfaces due aux interactions intermoléculaires de van der Waals. Cette interaction entre interfaces est en effet attractive aux basses températures et répulsive aux hautes températures. Le calcul de la température de changement de signe de la constante de Hamaker fournit une prédiction de la température de transition de mouillage critique en excellent accord avec les observations expérimentales [Bertrand 2000b, Weiss 2007].

En ce qui concerne la transition de mouillage du premier ordre, la théorie phénoménologique de Cahn [Cahn 1977, van der Waals 1894], modifiée par Harvey Dobbs (physicien théoricien de l'équipe de Joseph Indekeu, de l'Université de Leuven) pour tenir compte des états de surface de faible adsorption [Dobbs 2001], permet une prédiction de la température de transition en très bon accord avec les expériences [Weiss 2003]. Par rapport à la théorie de Cahn « classique », la seule donnée supplémentaire requise par cette théorie de Cahn modifiée est la taille des molécules d'alcane étudiées.

Dans le cadre des phénomènes de mouillage, on peut donc presque dire qu'en ce qui concerne les interactions de van der Waals entre interfaces, *Lifshitz avait déjà tout dit*.

1.2. Colloïdes et interactions DLVO entre surfaces

Étudiante : Laetitia Cohen-Tannoudji

Collaboration externe : Paul Fannin (Trinity College, Dublin, Irlande)

Au cours de mon A.T.E.R. à l'E.S.P.C.I., puis en tant que maître de conférences E.S.P.C.I., à travers le stage de D.E.A. puis la thèse de Laetitia Cohen-Tannoudji [Cohen-Tannoudji 2006], j'ai étudié l'adhésion sous champ entre particules colloïdales magnétiques. Nous appelons « particule magnétique » la sphère super-paramagnétique solide de composition complexe, qui est notre matériau de base. Avant d'aborder les résultats que nous avons obtenus concernant les interactions dites « DLVO », il est nécessaire de présenter les propriétés de ces particules, tant magnétiques que physico-chimiques, et notamment les mesures de susceptibilité magnétique dynamique que nous avons effectuées.

1.2.1. Propriétés des particules colloïdales magnétiques

Les particules magnétiques utilisées tout au long de ces études sont distribuées par la société *Ademtech SA*. Elles ont été choisies, avant tout, pour leurs propriétés magnétiques : leur caractère **super-paramagnétique** est fondamental pour l'ensemble de nos études. Leur

taille, autour de 200 nm de diamètre, a aussi été un critère important dans le choix de ces particules : elles doivent être brownienne tout en étant « visibles » en microscopie optique et en diffusion statique de la lumière.

Ces particules sont appelées **super-paramagnétiques** car elles acquièrent une aimantation uniquement en présence d'un champ magnétique extérieur, d'où le terme de « paramagnétique », et car, pour un champ donné, cette aimantation est beaucoup plus grande que celle d'un matériau paramagnétique classique, d'où le préfixe « super ». Autrement dit, ces particules répondent à un champ magnétique avec une susceptibilité magnétique χ proche de 1, ce qui est à comparer à la valeur des corps les plus paramagnétiques, soit $\chi \approx 10^{-3}$ pour le $\text{Ho}(\text{No}_3)_3$.

C'est de leur constitution, et donc de leur fabrication, que proviennent ces propriétés magnétiques [Goubault 2004]. En effet, ces particules sont des matériaux composites. Elles sont constituées d'une matrice complexe contenant des grains d'oxyde de Fer, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghémite). Ces grains étant des monodomains d'un matériau ferrimagnétique, ils portent un moment magnétique permanent orienté suivant un axe principal d'aimantation facile. En l'absence de champ magnétique, les moments magnétiques de ces grains sont orientés de manière aléatoire au sein de la particule, et aucun moment global n'apparaît au niveau de la particule. Les particules sont alors soumises au mouvement brownien. Sous l'action d'un champ magnétique extérieur, tous les moments magnétiques des grains s'alignent dans la direction du champ, conférant à la particule un moment dipolaire magnétique global (figure 1.3).

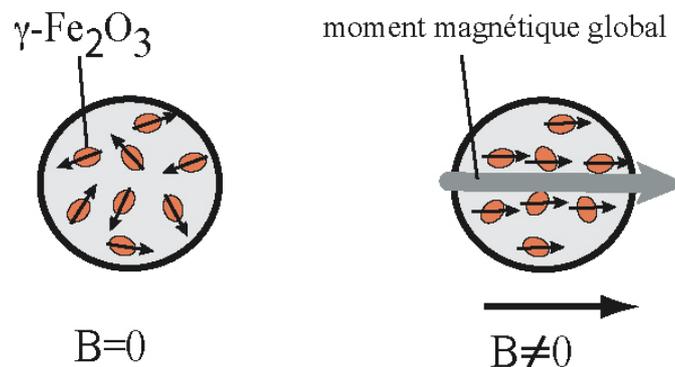


Figure 1.3 : particules super-paramagnétiques répondant à un champ magnétique. Avec l'application du champ magnétique B , il apparaît un moment magnétique au niveau de la particule (flèche grise).

Les interactions dipolaires magnétiques sont anisotropes : dans la direction du champ, les interactions sont attractives, et, perpendiculairement au champ, elles sont répulsives. Ainsi, pour minimiser l'énergie magnétique totale du système, les particules s'auto-organisent sous forme de chaînes dans la direction du champ magnétique extérieur (figure 1.4).

Après interruption du champ magnétique, les moments magnétiques des grains retrouvent une orientation aléatoire, les particules perdent donc leur moment magnétique global et se redispersent par mouvement brownien.

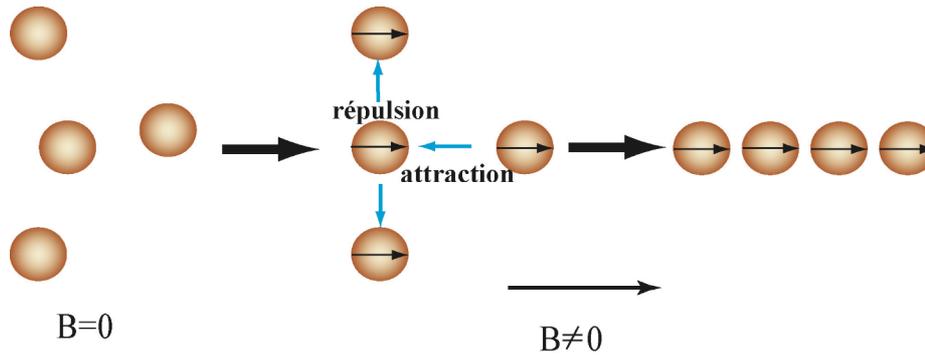


Figure 1.4 : auto-organisation des particules super-paramagnétiques sous champ.

Ces particules magnétiques sont fabriquées à partir de l'émulsification d'un ferrofluide organique dans une phase aqueuse. Le ferrofluide utilisé est une dispersion dans l'octane de grains de maghémite monodomaines, légèrement anisotropes, très polydisperses, de 10 à 20 nm de diamètre, et stabilisés par de l'acide oléique en excès [Montagne 2002]. L'émulsification est réalisée en appliquant un cisaillement contrôlé pour obtenir des gouttelettes de ferrofluide de taille calibrée [Mason 1996]. Puis, l'émulsion subit un traitement thermique, à l'issue duquel la totalité de l'octane des gouttelettes est évaporée, mais au cours duquel l'acide oléique est conservé. Ce traitement thermique intervenant en l'absence de champ magnétique, les grains sont concentrés dans des orientations aléatoires et décorréliées. Après cette série d'étapes, des particules sphériques quasi-solides et super-paramagnétiques de diamètre d'environ 200 nm sont obtenues.

Ces particules peuvent ensuite être recouvertes d'une couche de polymère. Cette couche de polymère peut améliorer la stabilité cinétique des suspensions aqueuses de ces particules, en apportant une contribution stérique aux répulsions colloïdales. Elle peut permettre également de fonctionnaliser les particules grâce à des couplages via des fonctions réactives du polymère. Dans notre cas, les particules sont enrobées d'une couche de polymère, composée de polystyrène, de PolyNipam et d'acide polyacrylique, dans des proportions non communiquées par le fournisseur (table 1.1). D'après les images de microscopie électronique à transmission (TEM) (figure 1.5), cette couche de polymère est relativement épaisse, allant de 10 à 20 nm d'épaisseur. Cette couche peut être considérée comme une couche dense de polymère réticulé avec, à la périphérie de cette couche dense, des chaînes de polymère diluées et étendues dans la solution.

En ce qui concerne les particules polymérisées, d'après les clichés de TEM, l'oxyde de fer semble n'être concentré que dans un cœur magnétique qui a une constitution très proche de celle des particules non polymérisées. En émettant cette hypothèse, pour des particules polymérisées ayant un rayon total (cœur magnétique + couche de polymère) de 100 nm, l'épaisseur de la couche de polymère est estimée à 18 nm. Ceci est, là encore, cohérent avec l'observation des clichés de TEM (figure 1.5). La taille des particules a été caractérisée par différentes méthodes, à savoir par diffusion dynamique de la lumière (spectromètre *Malvern* CGS-3) et par centrifugation sur gradient de sucrose. La figure 1.6 illustre la structure des particules magnétiques polymérisées.

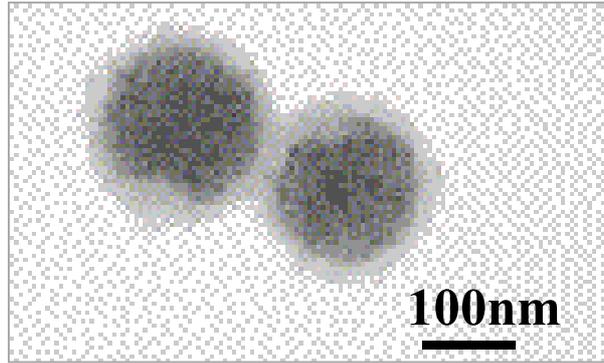


Figure 1.5 : cliché de microscopie électronique à transmission, réalisé au service de microscopie électronique de l'Université Paris 6 – Pierre et Marie Curie.

Particules	Densité	Oxyde de fer ($d \approx 5.1$)	Acide oléique ($d \approx 0.9$)	Polymère ($d \approx 1$)
		Fraction volumique	Fraction volumique	Fraction volumique
Non polymérisées	2.35	35%	65%	
Polymérisées	1.77	20%	37%	43%

Table 1.1 : composition des particules polymérisées et non polymérisées.

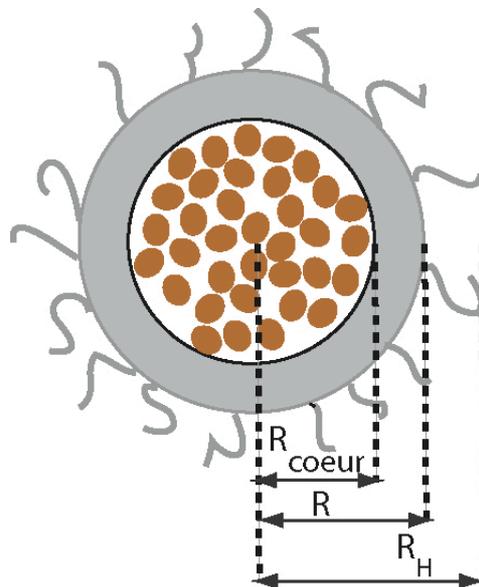


Figure 1.6 : particule magnétique polymérisée. Définition des différents rayons de la particule : rayon du cœur magnétique $R_{\text{cœur}}$ (déduit des clichés de TEM), rayon du cœur magnétique avec la couche dense de polymère R (mesuré en centrifugation), et rayon hydrodynamique R_H (mesuré en diffusion dynamique de la lumière). Pour des particules non-polymérisées les trois rayons sont identiques.

Il est fondamental de connaître la valeur de la susceptibilité magnétique des particules car elle intervient dans l'amplitude des interactions magnétiques. Connaissant la composition des particules en grains de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, la susceptibilité magnétique est déterminée en caractérisant les grains de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, autrement dit en caractérisant le ferrofluide initial. Pour cela, un échantillon de ferrofluide a été analysé à l'aide d'un magnétomètre SQUID (superconducting quantum interference device), en collaboration avec Philippe Monod du *Laboratoire de Physique du Solide* de l'ESPCI. L'échantillon à étudier est déplacé dans un champ magnétique, créé par des bobines supraconductrices. La variation du moment magnétique qui en résulte est mesurée via la variation d'intensité qu'elle induit dans les bobines. Le moment total de l'échantillon en est alors déduit et ce pour différentes valeurs de champ magnétique, allant de 0 à 5 T. La courbe d'aimantation de l'oxyde de fer $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ sous forme de grains monodomaines a ainsi été déterminée. De la valeur de cette aimantation et connaissant les fractions volumiques de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dans les particules (table 1.1), la susceptibilité du matériau constituant les particules peut être déduite, ainsi que la susceptibilité des particules, en tenant compte de leur sphéricité [Leal Calderon 1994]. Pour les deux types de particules, les susceptibilités ont ainsi été déterminées et sont données en figure 1.7.

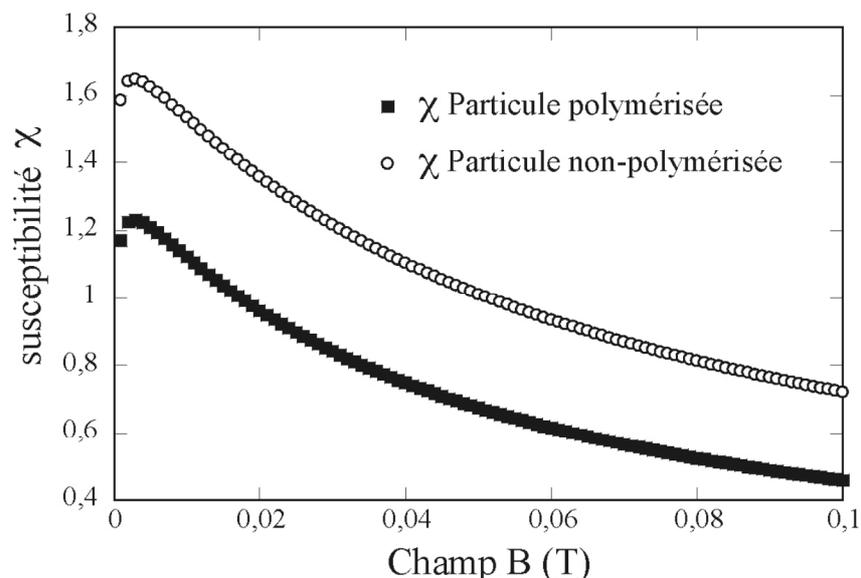


Figure 1.7 : susceptibilité magnétique des particules polymérisées et non-polymérisées.

Nous avons également étudié la **susceptibilité magnétique dynamique** des particules colloïdales afin de déterminer leurs propriétés de rotation en présence d'un champ magnétique. La connaissance de ces propriétés rotationnelles s'est en effet avérée fondamentale lors de l'utilisation de ces particules pour étudier les interactions spécifiques entre un ligand et un récepteur, comme nous le verrons au chapitre 3 de ce mémoire.

La détermination de la susceptibilité magnétique dynamique $\chi(\omega)$ d'un fluide magnétique, en réponse à un champ oscillant de pulsation ω , renseigne sur la dynamique des particules magnétiques qui le composent et sur leurs propriétés magnétiques intrinsèques. La susceptibilité magnétique se décompose en une composante parallèle χ_{\parallel} et une composante

perpendiculaire χ_{\perp} au champ oscillant. La composante χ_{\parallel} est reliée, à basse fréquence, aux phénomènes de relaxation. Sa mesure constitue un outil pertinent pour identifier les mécanismes de relaxation des moments magnétiques d'une assemblée de particules. La composante χ_{\perp} est reliée aux phénomènes de résonance magnétique, qui ont lieu à haute fréquence. Sa mesure permet de caractériser des propriétés magnétiques intrinsèques des particules. Pour mesurer une susceptibilité magnétique dynamique, le fluide magnétique est généralement introduit dans une bobine, d'inductance L et de résistance R, parcourue par un courant électrique alternatif, qui crée le champ magnétique oscillant. Les variations ΔL et ΔR , paramètres directement reliés à $\chi(\omega)$, sont alors mesurées.

Pour mener cette étude, nous avons collaboré avec Paul Fannin, du *Department of Electronic and Electrical Engineering* du *Trinity College*, à Dublin. Pour mesurer des susceptibilités dynamiques, Paul Fannin a mis au point la « toroidal technique » [Fannin 1986] pour les études à basses fréquences, entre 100 Hz et 1 MHz. Une suspension de particules polymérisées et une suspension de particules non-polymérisées ont fait l'objet d'une étude à basse fréquence.

Deux mécanismes de relaxation du moment magnétique sont envisageables. D'une part, le moment peut relaxer **au sein** de la particule via **une relaxation de Néel** [Néel 1949]. D'autre part, il peut relaxer avec la particule, c'est-à-dire grâce **au mouvement brownien de la particule**. Cette dernière relaxation est dite **brownienne** [Brown 1979]. Nous nous sommes attachés à identifier le mécanisme prépondérant de relaxation de nos particules magnétiques parmi ceux qui sont envisageables, à savoir : la relaxation brownienne des particules sphériques, la relaxation de Néel des grains de maghémite, ou la relaxation brownienne des grains. La relaxation brownienne des grains est peu probable car les grains, anisotropes et très concentrés, sont très encombrés dans la particule et ne disposent pas de suffisamment de volume libre pour bouger. Notons aussi que la relaxation de Néel pour des particules super-paramagnétiques n'a pas vraiment de sens, car elles n'ont pas de moment permanent.

À chaque mécanisme de relaxation est associé un temps caractéristique [Fannin 1998]. Le temps de relaxation brownienne, τ_B , est défini par :

$$\tau_B = \frac{4\pi r_H^3 \eta}{k_B T}$$

où r_H est le rayon hydrodynamique de l'objet soumis au mouvement brownien, η la viscosité du milieu, T la température absolue et k_B la constante de Boltzmann.

Dans le cas de la relaxation de Néel, le moment magnétique bascule au sein de la particule en franchissant une barrière énergétique, qui, dans le cas d'une particule anisotrope uniaxiale, est donnée par Kv , où K est la constante d'anisotropie de la particule et v son volume. Le temps τ_N associé à ce phénomène est estimé à :

$$\tau_N = \tau_0 \exp(Kv/k_B T)$$

avec τ_0 valant approximativement 10^{-9} s [Kneller 1966].

De façon globale, une assemblée de particules magnétiques relaxe suivant un temps effectif τ_{eff} donné par :

$$\tau_{\text{eff}} = \frac{\tau_N \tau_B}{\tau_N + \tau_B}$$

Si les deux mécanismes de relaxation ont des temps caractéristiques très différents, c'est le mécanisme le plus rapide qui impose le temps effectif de relaxation. Le temps de Néel croît beaucoup plus vite avec la taille des particules que le temps brownien. Pour la plupart des matériaux et pour une viscosité proche de l'eau, le temps brownien impose le temps de relaxation pour un rayon supérieur à environ 5 nm [Fannin 1998].

En mesurant la susceptibilité magnétique dynamique $\chi_{\parallel}(\omega) = \chi'(\omega) - i\chi''(\omega)$, nous avons déterminé la pulsation caractéristique ω_{max} du système, ou encore la fréquence f_{max} , et donc le temps effectif de relaxation via la relation :

$$\omega_{\text{max}} = 2\pi f_{\text{max}} = \frac{1}{\tau_{\text{eff}}}$$

Les tendances théoriques pour $\chi'(\omega)$ et $\chi''(\omega)$ sont données sur la figure 1.8.

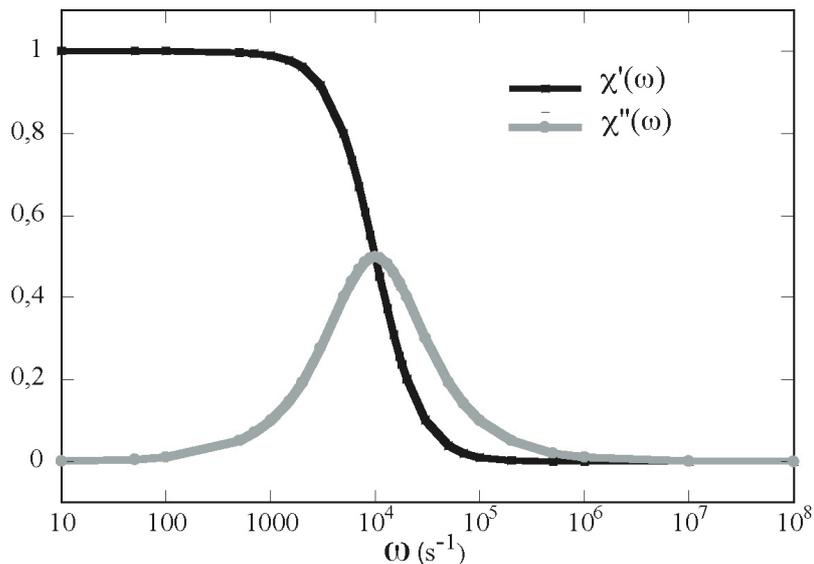


Figure 1.8 : allure des spectres théoriques pour $\chi'(\omega)$ et $\chi''(\omega)$

Les suspensions de particules magnétiques polymérisées ont été étudiées avec cette méthode. Deux phases continues ont été utilisées successivement : de l'eau et du glycérol, pour étudier l'influence de la viscosité du milieu sur le temps de relaxation mesuré, sachant que l'eau a une viscosité de 1 mPa.s et le glycérol une viscosité mille fois supérieure. Dans le cas de l'eau, des fréquences de 1 kHz à 1.9 kHz ont été obtenues. Pour l'échantillon dispersé dans le glycérol, la fréquence caractéristique varie entre 0.9 kHz et 2 kHz, ce qui est particulièrement proche. Enfin, pour des particules non polymérisées, les mêmes fréquences

ont été mesurées. Cette gamme de fréquences correspond à des temps effectifs de relaxation compris entre 0,08 ms et 0,16 ms [Fannin 2006].

Pour identifier le mécanisme de relaxation de nos particules, il faut d'abord récapituler les temps de relaxation que l'on pourrait attendre, d'après la composition de notre système et d'après ses tailles caractéristiques (table 1.2). La valeur de la constante d'anisotropie K de la maghémite a été mesurée par résonance magnétique, dont la méthode n'est pas détaillée ici. Une valeur de 10^4 J.m^{-3} a été obtenue, ce qui est comparable aux valeurs trouvées dans la littérature [Tronc 2000].

Relaxation brownienne des particules $r = 100\text{nm}$		Relaxation brownienne des grains $r = 10\text{nm}$		Relaxation de Néel des grains $K = 10^4 \text{ J/m}^3$		Mesures	
temps (ms)	f_{max}	temps (ms)	f_{max}	temps (ms)	f_{max}	temps (ms)	f_{max}
3ms	50 Hz	$3 \cdot 10^{-3}$ ms	50 kHz	0.04 ms	4kHz	0.08-0.16	1-2kHz

Table 1.2 : temps caractéristiques des différentes relaxations envisageables.

Les mesures à des viscosités significativement différentes (d'un facteur 1000) permettent d'affirmer que la relaxation brownienne des particules n'intervient pas dans notre système. En effet, le temps caractéristique de la relaxation brownienne est directement proportionnel à la viscosité du milieu. Or pour des viscosités différentes de 3 ordres de grandeur, le même temps de relaxation a été mesuré. Ceci exclut donc le processus de relaxation brownienne des particules. Le temps mesuré est d'ailleurs beaucoup plus petit que le temps attendu pour une relaxation brownienne (table 1.2). D'autre part, la relaxation brownienne des grains au sein des particules est difficilement envisageable. Comme nous l'avons déjà évoqué, les grains étant anisotropes et très concentrés (35% en volume), leur relaxation brownienne est probablement très ralentie, voire rendue impossible [Bertrand 2002]. Le seul mécanisme de relaxation envisageable est donc la relaxation de Néel des grains (table 1.2). Le temps mesuré correspond à un temps de relaxation de Néel de grains de 12 nm de rayon. En outre, les mesures sur des particules non-polymérisées, dont la seule similitude avec les particules polymérisées est la présence des grains de maghémite de même nature, ont donné, une fois de plus, la même gamme de temps de relaxation. Cette mesure confirme que l'on est sensible ici à un temps caractéristique relié aux grains de maghémite. Les particules voient donc leur moment magnétique relaxer via un processus interne relié aux grains de maghémite. Tout se passe comme si la particule relaxait suivant un processus de type Néel à l'échelle de la particule.

La conclusion selon laquelle les particules ne relaxent pas par mouvement brownien global, mais par une relaxation « au sein » de la particule s'avère cruciale. Elle permet de comprendre comment les particules réagissent en présence d'un champ magnétique : particule magnétique et moment magnétique global de la particule sont décorrélés. En effet, les moments des grains « basculent » plus vite que la particule elle-même. Ainsi, c'est par le basculement des moments des grains que le moment global suit la direction du champ magnétique, après une fluctuation de rotation de la particule. Le moment magnétique global n'est donc pas bloqué suivant une direction dans la particule. Autrement dit, d'un point de vue phénoménologique, « les états d'orientation » successifs de la particule ont tous le même niveau énergétique. Tous les états d'orientation de la particule sous champ magnétique sont

donc équivalents. La particule est donc libre de tourner sous l'effet de l'agitation thermique, même en présence d'un champ magnétique. Cette **libre rotation brownienne des particules sous champ magnétique** sera mise à profit au chapitre 3, lors de l'interprétation de nos expériences de cinétique de reconnaissance moléculaire.

1.2.2. Interactions colloïdales DLVO

Notre méthode d'étude des interactions entre particules colloïdales repose sur le fait que les particules magnétiques que nous avons utilisées s'auto-organisent sous forme de chaînes en présence d'un champ magnétique. Ces chaînes se redispersent lorsque le champ est interrompu, sauf si des liens permanents sont apparus entre particules adjacentes. La méthode d'étude des interactions colloïdales entre particules magnétiques consiste donc à suivre le nombre de liens permanents « particule – particule » en fonction du temps passé sous champ magnétique [Bressy 2003, Cohen-Tannoudji 2005].

Le suivi de la cinétique d'adhésion entre particules est réalisé par analyse d'images sur des particules super-paramagnétiques non polymérisées et suffisamment grosses, d'environ 1 μm de diamètre, dans une géométrie capillaire carrée de 50 μm de côté, qui fixe le nombre maximal de liens réalisables (figure 1.9). Le capillaire carré est placé sous champ magnétique à une température contrôlée et pendant un temps d'incubation donné. Après arrêt du champ, l'échantillon est observé au microscope optique (grossissement x40) et 6 photographies sont prises en différents endroits du capillaire. Pour chaque photographie, la somme des longueurs des chaînes est déterminée avec un logiciel d'imagerie (Image Pro Plus, MediaCybernetics). Le rapport entre cette longueur totale et le diamètre des particules donne le nombre N de liens adhésifs « particule – particule » et est moyenné sur les 6 images. Cette procédure est répétée pour différentes durées d'incubation, ce qui permet de construire la cinétique du processus adhésif étudié. L'intensité du champ magnétique a été choisie de telle sorte que le temps de formation des chaînes magnétiques soit négligeable devant le temps caractéristique de l'adhésion étudiée.

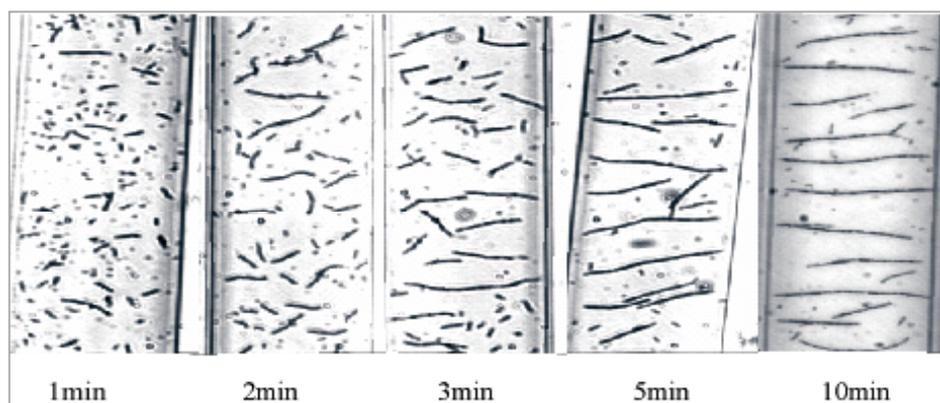


Figure 1.9 : suivi du nombre de liens particule-particule en fonction du temps passé sous champ, dans un capillaire de 50 μm de largeur.

Nous avons considéré ici un système « purement DLVO » (pour Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek [Derjaguin 1941, Verwey 1948]), c'est-à-dire où les seules interactions

colloïdales sont des répulsions électrostatiques (entropiques) et des attractions de van der Waals. Nous avons mesuré pour les particules utilisées un potentiel zêta de $-31,5$ mV à pH = 10 (Zetameter, Beckman Coulter). Nous avons donc une suspension très stable (cinétiquement) de particules chargées négativement. Néanmoins, en appliquant un champ magnétique à une telle suspension, à pH = 10 et avec 1 mM de NaCl, nous avons pu observer l'adhésion induite par les attractions de van der Waals. La figure 1.10 montre le nombre de liens adhésifs N en fonction du temps t d'incubation sous un champ d'intensité $B = 23$ mT, pour trois températures différentes. Dans tous les cas, il apparaît une croissance exponentielle, qu'il est possible de modéliser par une cinétique du premier ordre :

$$N(t) = N_0 (1 - \exp(-t/\tau))$$

où N_0 est le nombre total moyen de particules dans le volume correspondant à une photographie, et τ le temps caractéristique de la cinétique. $N_0 = 490$ a été déterminé et conservé constant pour l'ajustement exponentiel des points expérimentaux. Le seul paramètre ajustable est donc le temps caractéristique τ . Une cinétique du premier ordre semble tout à fait pertinente dans la mesure où les chaînes magnétiques se forment très rapidement (en quelques secondes [Furst 1998]) et où les formations de liens « particule – particule » peuvent être considérées comme des événements indépendants.

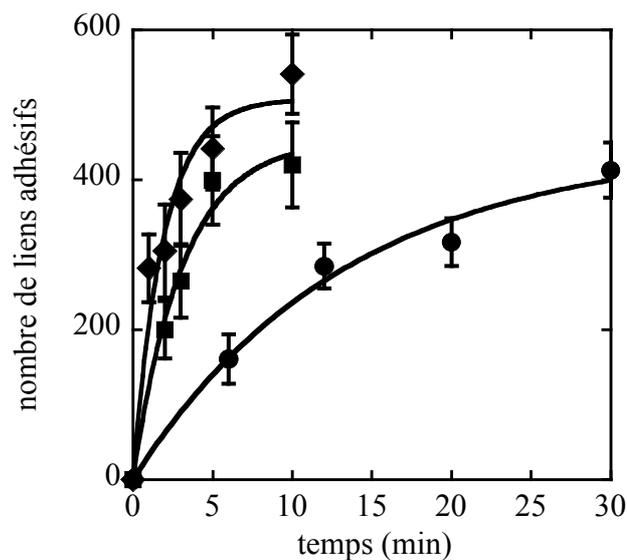


Figure 1.10 : cinétiques d'adhésion induites par les attractions de van der Waals. Influence de la température pour $B = 23$ mT: 25°C (●), 45°C (■) et 55°C (◆); les courbes sont des régressions exponentielles.

Nous avons ainsi démontré que l'adhésion par attractions de van der Waals était un phénomène thermiquement activé. De plus, comme on le voit sur la figure 1.11.a, la dépendance de τ avec la température est très bien décrite par une loi d'Arrhénius :

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} \exp\left[-\frac{E_a(B)}{k_B T}\right]$$

où $E_a(B)$, qui dépend de l'intensité B du champ, est l'énergie d'activation du processus d'adhésion étudié, et $1/\tau_0$ est la fréquence d'essai de ce même processus. $E_a(B)$ peut être interprétée comme la hauteur de la barrière d'énergie libre à franchir pour passer de l'état métastable de chaîne redispersible à l'état stable de chaîne irréversible. Cette barrière d'énergie libre est due aux répulsions électrostatiques colloïdales.

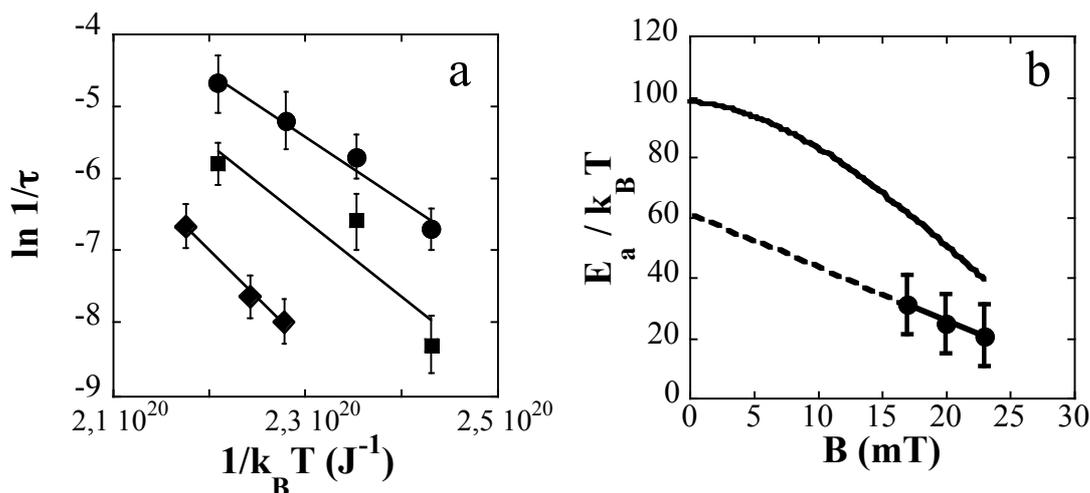


Figure 1.11 : **a)** : évolution de $\ln(1/\tau)$ en fonction de $1/k_B T$ pour $B = 17$ mT (\blacklozenge), 20 mT (\blacksquare), et 23 mT (\bullet); les droites sont des ajustements par une loi d'Arrhénius; **b)** : énergie d'activation en fonction de l'intensité B du champ magnétique (ligne pointillée : extrapolation ; ligne continue : estimation théorique).

La figure 1.11.b montre que l'énergie d'activation E_a décroît lorsque l'intensité B augmente. Le processus adhésif étudié est donc aussi activé par le champ magnétique. En effet, comme représenté sur la figure 1.12, le champ magnétique ajoute une interaction attractive entre les billes, d'autant plus importante que le champ est élevé. Cette attraction supplémentaire abaisse donc la barrière d'énergie d'autant plus que le champ est intense. En outre, les 3 points expérimentaux de la figure 1.11.b, qui représente l'énergie d'activation en fonction de l'intensité du champ, étant alignés, on peut faire une extrapolation de cette énergie d'activation à champ magnétique nul. Cela permet d'obtenir une valeur approximative de l'énergie d'activation du processus adhésif intrinsèque (i.e. sans champ). Nous avons ainsi trouvé une énergie d'activation $E_a \approx 60 k_B T$. Le fait que cette valeur soit très supérieure à l'énergie thermique $k_B T$ est cohérent avec la grande stabilité cinétique des suspensions correspondantes, en l'absence de champ magnétique.

Afin de décrire théoriquement le processus d'adhésion étudié ici, nous avons utilisé la **théorie DLVO**, qui est la théorie la plus simple pour décrire la stabilité des colloïdes. Cette théorie considère uniquement deux types d'interactions entre les surfaces des particules colloïdales : l'attraction de van der Waals, que nous avons déjà abordée au paragraphe 1.1, et la répulsion entropique due à la présence de charges électrostatiques en surface des particules, plus communément (et abusivement) appelée « répulsion électrostatique ». En minimisant

l'énergie libre résultant de la somme de ces deux interactions, on peut déterminer les états d'équilibre du système colloïdal.

Le calcul de l'attraction de van der Waals nécessite de connaître la composition, et plus précisément l'indice de réfraction et la constante diélectrique statique, des particules considérées, ainsi que leur taille. Le calcul de la répulsion « électrostatique » exige, quant à lui de connaître le potentiel électrostatique de surface des particules et la force ionique du milieu continu. La relation entre le potentiel électrostatique de surface et le potentiel zêta d'une particule colloïdale n'étant pas universelle, ni théoriquement ni empiriquement, nous avons pris le potentiel zêta comme approximation (grossière) du potentiel de surface. Disposant de toutes ces caractéristiques physico-chimiques pour nos particules, nous avons pu, dans le cadre de la théorie DLVO, déterminer l'énergie d'activation théorique en l'absence de champ magnétique. Une valeur $E_a \approx 100 k_B T$ a ainsi été obtenue, ce qui, compte tenu de la simplicité, voire de la naïveté, de la théorie DLVO, est une valeur assez proche de celle obtenue expérimentalement, par extrapolation à champ nul. Par ailleurs, la théorie de Kramers permet d'extraire du profil d'énergie DLVO la valeur théorique de la fréquence d'essai du processus adhésif [Kramers 1940]. Une valeur de 10^5 Hz a ainsi été obtenue. Expérimentalement, à cause de l'étroitesse de la gamme de températures absolues étudiée, seul un ordre de grandeur, compris entre 10^5 et 10^9 Hz , a pu être déterminé, ce qui est, là encore, cohérent avec l'estimation théorique.

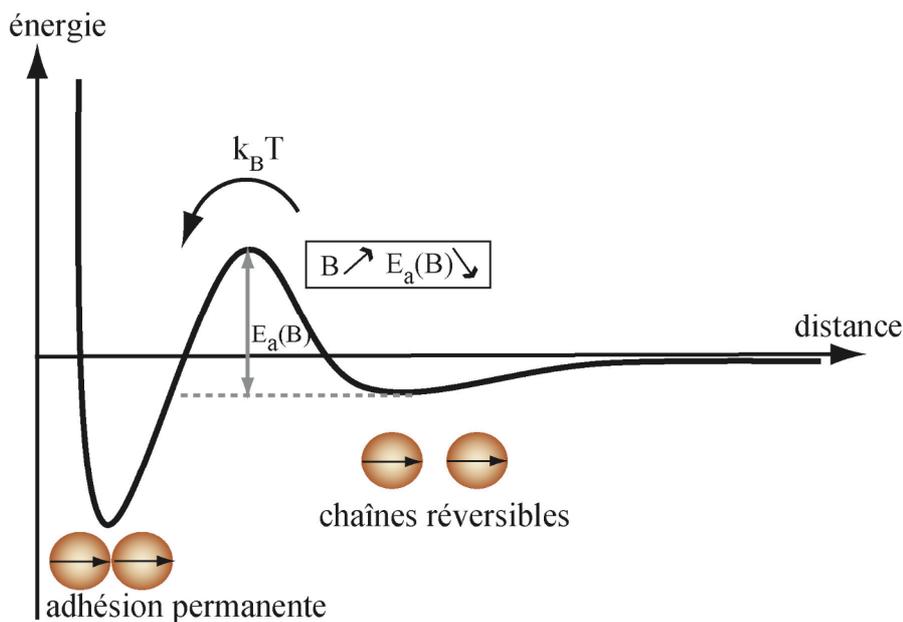


Figure 1.12 : profil d'énergie libre d'interaction entre particules colloïdales : l'adhésion est thermiquement et magnétiquement activée.

Avec les particules magnétiques, il est même possible d'aller au-delà de la simple théorie DLVO, en ajoutant à l'énergie libre le terme d'attraction dipolaire magnétique, dont la formule théorique a été explicitée par Zhang et Widom [Zhang 1995] et sera donnée au paragraphe 3.3.3 de ce mémoire. Dans ce cadre théorique, comme présenté en trait continu sur la figure 1.11.b, on obtient une variation presque linéaire de l'énergie d'activation avec l'intensité du champ magnétique. Encore une fois, la description théorique en termes

d'interactions « classiques » est donc en accord tout à fait raisonnable avec les résultats expérimentaux [Cohen-Tannoudji 2005].

On peut donc raisonnablement affirmer qu'en termes d'interactions de van der Waals et de répulsions électrostatiques entre surfaces colloïdales, *Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek (DLVO)* avaient déjà tout dit.

BIBLIOGRAPHIE du Chapitre 1

- [Azzam 1986] R.M.A. Azzam and N.M. Bashara, in : *"Ellipsometry and polarized light"* (North-Holland, Amsterdam,1986).
- [Bertrand 1999] E. Bertrand, D. Bonn, D. Broseta and J. Meunier, *J. Petrol. Sci. Eng.* **24**, 221 (1999).
- [Bertrand 2000a] E. Bertrand, H. Dobbs, D. Broseta, J.O. Indekeu, D. Bonn and J. Meunier, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 1282 (2000).
- [Bertrand 2000b] E. Bertrand, D. Bonn and J. Meunier, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 4189 (2000).
- [Bertrand 2000c] E. Bertrand, in : *"Transitions de mouillage des alcanes sur l'eau : rôle des interactions entre interfaces"*, Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2000.
- [Bertrand 2002] E. Bertrand, J. Bibette and V. Schmitt, *Phys. Rev. E* **66**, 060401 (R) (2006).
- [Bertrand 2003] E. Bertrand, in : *"Transitions de mouillage : rôle des interactions entre interfaces"*, Editions Publibook Université, préfacé par Pierre-Gilles de Gennes, Paris (2003).
- [Bonn 2001] D. Bonn, E. Bertrand, N. Shahidzadeh, K. Ragil, H. Dobbs, A.I. Posazhennikova, D. Broseta, J. Meunier and J.O. Indekeu, *J. Phys: Cond. Matt.* **13**, 4903 (2001)
- [Bonn 2002] D. Bonn, D. Ross, E. Bertrand, K. Ragil, N. Shahidzadeh, D. Broseta, and J. Meunier, *Physica A* **306**, 279 (2002).
- [Bressy 2003] L. Bressy, in : *"Elasticité et Adhésion du Caséinate Adsorbé aux Interfaces"*, Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2003.
- [Brézin 1983] E. Brézin, B.I. Halperin and S. Leibler, *J. Physique* **44**, 775 (1983).
- [Brown 1979] W.F. Brown, *Ieee Transactions on Magnetics* **15**, 1196 (1979).
- [Cahn 1977] J.W. Cahn, *J. Chem. Phys.* **66**, 3667 (1977).
- [Chapelle 1990] J. Chapelle, in : *"Encyclopædia Universalis"*, Corpus **17**, 955 (1990).
- [Cohen-Tannoudji 2005] L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, L. Bressy, C. Goubault, J. Baudry, J. Klein, J.-F. Joanny and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* **94**, 038301 (2005).
- [Cohen-Tannoudji 2006] L. Cohen-Tannoudji, in : *"Cinétique de réactions ligand-récepteur en surface – étude fondée sur l'utilisation de colloïdes magnétiques"*, Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2006.
- [Debye 1921] P. Debye, *Physikalische Zeit.* **22**, 302 (1921).
- [Debye 1929] P. Debye, *Chemical Catalog Company* (1929).
- [de Gennes 1981] P.-G. de Gennes, *J. Physique Lett. (Paris)* **42**, 377 (1981).
- [Derjaguin 1941] B.V. Derjaguin and L. Landau, *Acta Physicochim. URSS* **14**, 633 (1941).
- [Derjaguin 1955] B.V. Derjaguin, *Kolloid Zh.* **17**, 205 (1955).
- [Dobbs 2001] H. Dobbs, *J. Chem Phys.* **114**, 468 (2001).
- [Dzyaloshinskii 1961] I.E. Dzyaloshinskii, E.M. Lifshitz, L.P. Pitaevskii, *Adv. Phys.* **10**, 165 (1961).
- [Ebner 1985] C. Ebner, W.F. Saam and A.K. Sen, *Phys. Rev. B* **32**, 1558 (1985).
- [Fannin 1986] P.C. Fannin, B.K.P. Scaife and S.W. Charles, *J. of Phys. E-Scientific Instruments* **19**, 238-239 (1986).
- [Fannin 1998] P.C. Fannin, *Advances in Chem. Phys.* **104**, 181-292 (1998).
- [Fannin 2006] P.C. Fannin, L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, A.T. Giannitsis, C. Mac Oireachtaigh and J. Bibette, *J. Magn. Magn. Materials* **303**, 147 (2006).
- [Furst 1998] E.M. Furst *et al.*, *Langmuir* **14**, 7334 (1998).
- [Goubault 2003] C. Goubault, P. Jop, M. Fermigier, J. Baudry, E. Bertrand, and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 260802 (2003).

- [Goubault 2004] C. Goubault, in : "*Colloïdes magnétiques : auto-organisation et applications biologiques*", Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2004.
- [Hamaker 1937] H.C. Hamaker, *Physica* 4, 1059 (1937).
- [Indekeu 1999] J.O. Indekeu, K. Ragil, D. Bonn, D. Broseta and J. Meunier, *J. Stat. Phys.* 95, 1009 (1999).
- [Israelachvili 1991] J.N. Israelachvili, in : "*Intermolecular and Surface Forces*", (Academic Press, London, second edition, 1991).
- [Keesom 1921] W.H. Keesom, *Physikalische Zeit.* 22, 129 (1921).
- [Kneller 1966] N. Kneller and E.P. Wohlfarth, *J. Applied Phys.* 37, 4816 (1966).
- [Kramers 1940] H.A. Kramers, *Physica* 7, 284 (1940).
- [Landau 1967] L. Landau, E. Lifchitz, in : "*Physique Statistique*", (Mir, Moscou, 1967).
- [Laplace 1806] P.S. de Laplace, in : "*Mécanique Céleste*" (1806).
- [Leal Calderon 1994] F. Leal Calderon, T. Stora, O. Mondain Monval, P. Poulin and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* 72, 2959 (1994).
- [Lennard-Jones 1928] J.E. Lennard-Jones and B.M. Dent, *Trans. Faraday Soc.* 24, 92 (1928).
- [Lifshitz 1955] E.M. Lifshitz, *J. Exp. Theor. Phys. USSR* 29, 94 (1955).
- [London 1937] F. London, *Trans. Faraday Soc.* 33, 8 (1937).
- [Mason 1996] T.G. Mason and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* 77, 3481 (1996).
- [Montagne 2002] F. Montagne, O. Mondain-Monval, C. Pichot, H. Mozzanega and A. Elaissari, *J. Magn. Magn. Materials* 250, 302 (2002).
- [Néel 1949] L. Néel, *Annales de Géophysique* 5, 99 (1949).
- [Polanyi 1930] M. Polanyi und F. London, *Naturwissenschaften* 18, 1099 (1930).
- [Rafai 2004] S. Rafai, D. Bonn, E. Bertrand, J. Meunier, V.C. Weiss and J. Indekeu, *Phys. Rev. Lett.* 92, 245701 (2004).
- [Schick 1990] M. Schick, in : "*Liquids at interfaces*", Les Houches, Session XLVIII, 1988, ed. J. Charvolin, J.F. Joanny and J. Zinn-Justin (Elsevier, Amsterdam, 1990).
- [Shahidzadeh 2003] N. Shahidzadeh, E. Bertrand, J.-P. Dauplat, J.-C. Borgotti, P. Vié and D. Bonn, *Transport in Porous Media* 52, 213 (2003).
- [Tronc 2000] E. Tronc, A. Ezzir, R. Cherkaoui, C. Chaneac, M. Nogues, H. Kachkachi, D. Fiorani, A.M. Testa, J.M., Greneche and J.P. Jolivet, *J. Magn. Magn. Materials* 221, 63 (2000).
- [van der Waals 1894] J.D. van der Waals, *Z. Physik. Chem.* 13, 657 (1894).
- [Verwey 1948] E.J.W. Verwey and J. Th. G. Overbeek, in : "*Theory of Stability of Lyophobic Colloids*" (Elsevier, Amsterdam, 1948).
- [Weiss 2003] V.C. Weiss and J.O. Indekeu, *J. Chem. Phys.* 118, 10741 (2003).
- [Weiss 2007] V.C. Weiss, E. Bertrand, S. Rafai, J.O. Indekeu and D. Bonn, soumis pour publication à *Phys. Rev. E*.
- [Young 1805] T. Young, *Phil. Trans. Roy. Soc.* 95, 65 (1805).
- [Zhang 1995] H. Zhang and M. Widom, *Phys. Rev. E* 51, 2099 (1995).

Chapitre 2 : Des interactions plus subtiles entre surfaces.

Dans ce chapitre, nous allons voir que, lorsque l'on ne peut plus ignorer la dynamique des molécules en surface, une thermodynamique plus raffinée est nécessaire. Néanmoins, là encore, les anciens, comme Vogel (1921) ou Helfrich (1984), semblent avoir déjà fixé le cadre théorique permettant de comprendre nos observations expérimentales.

2.1. Mouillage et interactions entropiques dues aux fluctuations d'interface

Collaborations internes : Daniel Bonn, Jacques Meunier

Collaboration externe : Bernard Binks (Université de Hull, Royaume Uni)

Au cours de ma thèse, j'ai aussi étudié l'influence sur le mouillage d'un autre type d'interaction entre interfaces : la **répulsion entropique due aux fluctuations d'interface**. Nous avons à cet effet utilisé une molécule tensioactive, l'AOT, capable de diminuer de plusieurs ordres de grandeur la tension interfaciale entre un alcane et l'eau. Nous avons mesuré la pression de disjonction d'interaction entre les deux interfaces bordant un film de mouillage, due aux fluctuations thermiques de l'interface eau/alcane de basse tension interfaciale. Un modèle théorique [Helfrich 1984, Kellay 1992] pour cette interaction de nature entropique entre interfaces a ainsi été vérifié expérimentalement dans le cas du mouillage [Bertrand 2001].

Répulsion entropique entre interfaces due aux fluctuations thermiques

Dans les systèmes présentés ici, il existe un autre type d'interaction entre interfaces qui, contrairement aux interactions abordées au chapitre 1, n'a pas d'origine énergétique microscopique. Il s'agit au contraire d'un phénomène d'origine entropique lié aux fluctuations thermiques de l'interface entre deux fluides [Helfrich 1984]. Une interface de faible tension de surface est en effet soumise à des **fluctuations thermiques** de position, encore appelées **ondes capillaires** [Helfrich 1984]. Au contraire, une interface de grande tension de surface est pratiquement insensible à ces fluctuations et apparaît comme une interface plane et rigide.

Ainsi, lorsque l'une des interfaces qui délimitent un film de mouillage est de basse tension de surface, ses fluctuations thermiques la font entrer en collision avec l'autre interface bordant le film de mouillage [Kellay 1992]. De ce fait, les fluctuations de grande longueur d'onde ne sont plus permises, ce qui a pour effet de diminuer l'entropie de l'interface fluctuante. Pour compenser cette diminution d'entropie, une interaction répulsive s'établit entre les deux interfaces, appelée **répulsion entropique** [Helfrich 1984].

L'expression de la **pression de disjonction théorique due aux fluctuations** entre les deux interfaces distantes de l , correspondant au modèle de Helfrich [Helfrich 1984] généralisé par Kellay *et al.* [Kellay 1992] s'écrit :

$$\Pi_H(l) = \frac{\sigma}{\left(\frac{\kappa}{k_B T}\right) 2\pi^2 l \left[\exp\left(\frac{2\pi}{3k_B T} \sigma l^2\right) - 1 \right]}$$

où σ et κ sont respectivement la tension de surface et la rigidité de courbure de l'interface qui fluctue. Cette pression de disjonction présente une décroissance avec la distance l entre interfaces, qui n'est ni une décroissance exponentielle ni une décroissance algébrique. Plus exactement, la portée de cette interaction dépend très fortement de la tension de surface σ de l'interface fluctuante.

Expérimentalement, nous avons étudié, par ellipsométrie, le cas du mouillage de trois alcanes différents sur l'eau : l'hexane, l'octane, et le décane. Ayant déterminé expérimentalement la tension interfaciale et la rigidité de courbure de l'interface eau/alcane pour chacun des trois alcanes considérés, il nous est possible de comparer directement les pressions de disjonction Π_{fluc} dues aux fluctuations, déterminées expérimentalement, avec l'expression théorique Π_H [Bertrand 2003]. Π_{fluc} est déterminée à partir de la mesure ellipsométrique de l'épaisseur du film de mouillage et du calcul selon la théorie de Lifshitz, déjà évoquée au chapitre 1, des interactions de van der Waals qui s'exercent entre les deux interfaces bordant le film. Afin de pouvoir tracer les pressions de disjonction théoriques correspondant aux trois alcanes sur une seule courbe (figure 2.1), nous définissons une pression de disjonction réduite Π_{fluc}^* et une épaisseur réduite l^* par les relations suivantes :

$$\Pi_{\text{fluc}}^* = \Pi_{\text{fluc}} \frac{\kappa l}{\sigma k_B T} \quad \text{et} \quad l^* = l \sqrt{\frac{\sigma}{k_B T}}$$

Ces grandeurs réduites Π_{fluc}^* et l^* sont sans dimension. Le modèle théorique se traduit avec ces grandeurs réduites par la même expression pour tous les alcanes :

$$\Pi_H^*(l^*) = \frac{1}{2\pi^2 \left[\exp\left(\frac{2\pi}{3} l^{*2}\right) - 1 \right]}$$

La comparaison entre les pressions de disjonction de fluctuations réduites des trois alcanes et le modèle théorique est représentée en échelles logarithmiques sur la figure 2.1. Les barres d'erreur qui apparaissent sur la figure ont comme origine l'incertitude sur le calcul de la constante de Hamaker, qui quantifie les interactions de van der Waals. Les points expérimentaux correspondant aux trois alcanes étudiés sont très bien décrits par le modèle théorique. Ce modèle pour la répulsion entropique due aux fluctuations d'interface est donc parfaitement adapté au cas des films de mouillage [Bertrand 2001]. La validité de ce modèle avait déjà été mise en évidence expérimentalement, pour $\sigma = 0$, dans le cas des membranes multilamellaires [Safinya 1986], mais n'avait jamais été mise à l'épreuve pour un film de mouillage.

On observe sur la figure 2.1 une transition entre un régime à décroissance algébrique, linéaire en coordonnées logarithmiques, et un régime Gaussien, qui s'effectue pour une épaisseur réduite $l_0^* \approx 0,7$, désignée par une flèche verticale sur la figure 2.1. Physiquement, il

s'agit de la transition entre un régime dominé par la rigidité de courbure ($l^* \leq l_0^*$) et un régime dominé par la tension de surface ($l^* \geq l_0^*$).

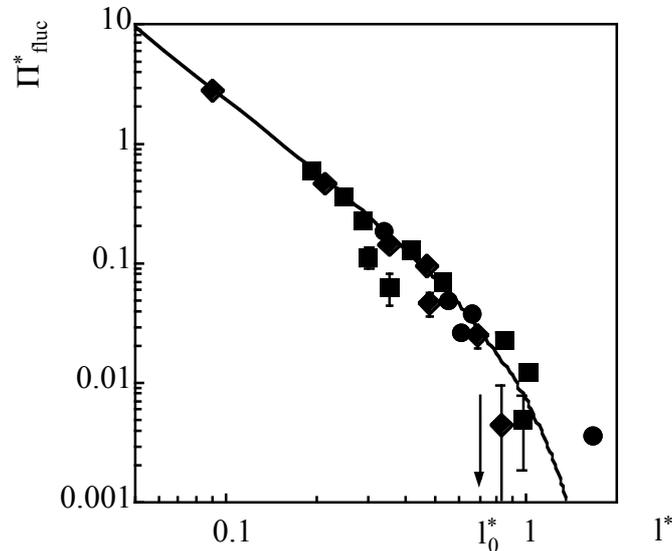


Figure 2.1 : comparaison entre les valeurs expérimentales de la pression de disjonction de fluctuations réduite pour l'hexane (disques), l'octane (losanges), et le décane (carrés) et le modèle théorique (courbe).

On peut donc affirmer sans peine qu'en termes d'interactions entropiques dues aux fluctuations d'interface, *Helfrich avait déjà tout dit*.

2.2. Colloïdes et interactions de pontage par des polymères

Doctorante : Laetitia Cohen-Tannoudji

Collaborations internes : Lydie Bressy, Cécile Goubault, Jérôme Bibette

Collaborations externes : Jean-François Joanny (Institut Curie, Paris), Jacob Klein (Université d'Oxford, Royaume Uni)

Grâce à la méthode expérimentale décrite au paragraphe 1.2, nous avons étudié un système colloïdal plus complexe et qui ne peut pas être appréhendé par le modèle DLVO [Cohen-Tannoudji 2005]. Il s'agit de sphères magnétiques colloïdales sur lesquelles sont adsorbées des chaînes de polymères. Une même chaîne de polymère peut s'adsorber simultanément sur deux surfaces adjacentes de façon irréversible, comme illustré sur la figure 2.2. Cette interaction attractive est ainsi liée à la formation de ponts entre particules, et est appelée « **pontage par des polymères** » [Klein 1984, 1998].

De façon générale, les chaînes de polymère adsorbées ont une grande influence sur la stabilité cinétique des colloïdes car elles engendrent divers types d'interactions entre les surfaces des particules colloïdales. Lorsque l'équilibre d'adsorption des polymères sur les particules colloïdales n'est pas atteint, il s'agit des interactions attractives, dites « de pontage », entre particules colloïdales. Au contraire, lorsque l'équilibre d'adsorption est atteint, les interactions dominantes entre les surfaces colloïdales sont des répulsions entropiques qui l'emportent toujours sur les interactions attractives de pontage. Ces interactions répulsives augmentent alors la stabilité cinétique des colloïdes. En réduisant le taux d'adsorption des chaînes de polymère à la surface des particules, on peut donc envisager de transformer les répulsions entropiques en attractions de pontage.

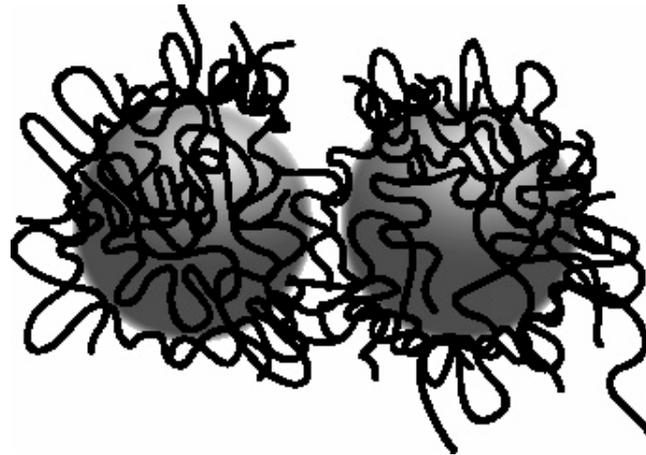


Figure 2.2 : représentation schématique du pontage par des polymères : adsorption de la même chaîne de polymère sur deux billes adjacentes.

Le polymère utilisé dans notre étude est l'acide polyacrylique (PAA), de masse moléculaire moyenne 250 000 g/mol. Son pK_a est de 5,8 et il peut donc être considéré comme pratiquement neutre dans nos conditions expérimentales, c'est-à-dire à $pH \approx 3,5$. À ce même pH, les sphères utilisées sont très peu chargées et forment très rapidement des agrégats. En revanche, lorsque du PAA (solution à 0,1% en masse) est adsorbé sur les sphères, celles-ci restent parfaitement bien dispersées. Ce sont donc les répulsions entropiques dues à la présence de chaînes de polymères adsorbées qui assurent la stabilité colloïdale de la suspension considérée [Mondain-Monval 1998]. Afin d'avoir la certitude que l'équilibre d'adsorption des chaînes de PAA sur les sphères colloïdales est bien atteint, nous avons laissé ces dernières incuber pendant 20 heures dans la solution de PAA avant d'appliquer le moindre champ magnétique [Mondain-Monval 1998].

Lorsqu'elles sont soumises à un champ magnétique pendant un temps suffisant, les sphères recouvertes de PAA forment des chaînes permanentes. Contrairement aux chaînes obtenues au paragraphe 1.2 dans le cadre d'interactions DLVO, ces chaînes commencent à se désassembler après quelques jours, ce qui prouve qu'elles ne correspondent pas à une adhésion « de type DLVO » induite par des interactions de Van der Waals. En outre, la distance entre deux sphères adjacentes est d'environ 10 nm au sein de ces chaînes formées avec du PAA [Goubault 2003] alors qu'elle serait de moins de 2 nm dans un puits de potentiel DLVO.

Nous avons donc attribué la formation de chaînes en présence de PAA (à l'équilibre d'adsorption) à une attraction effective de pontage entre les sphères. Or, comme nous l'avons expliqué, cette attraction ne peut intervenir que si l'adsorption des chaînes de PAA est inférieure à son niveau d'équilibre. Cela requiert donc d'éjecter une partie des chaînes de polymères hors de la région de « contact » entre les sphères. Les chaînes peuvent être ainsi éjectées par une force latérale $F_S(r)$ agissant sur chaque chaîne. L'origine de cette force est le gradient latéral de pression ($\partial\Pi/\partial r$) qui s'exerce entre les surfaces courbes et qui résulte de la décroissance de la pression osmotique $\Pi(r)$ avec la distance r à partir de la distance D d'approche maximale. En écrivant $\Pi(r) \approx (k_B T/a^3) \cdot \phi^2$ [de Gennes 1979], où a est la taille du monomère, $\phi = 2\Gamma/(D+r^2/R)$ la fraction volumique en monomères, R le rayon des sphères, et Γ l'adsorbance du polymère, on peut estimer grossièrement : $F_S(r) \approx (\text{volume d'une chaîne}) \cdot (\partial\Pi/\partial r)$. On obtient alors $F_S(r) \approx (n^{3/2} \cdot k_B T \cdot \Gamma^2 r / RD^3)$, ($n = \text{degré de polymérisation} \approx 3500$ pour le PAA utilisé) ce qui donne $F_S(r) \approx 10^{-11} \text{N}$ pour des valeurs typiques des paramètres. L'énergie caractéristique de l'adsorption d'un monomère est $\varepsilon \approx 0,02 - 0,1 k_B T$ [Klein 1998]. Il faut donc une tension de l'ordre de $(\varepsilon/1\text{\AA}) \approx (1-5) \cdot 10^{-12} \text{N}$ pour détacher un monomère. La force latérale qui s'exerce sur chaque chaîne est donc suffisante pour détacher plusieurs monomères adsorbés. Le « glissement » des chaînes le long de la surface est donc possible, ainsi que leur éjection de la zone de contact. On se retrouve alors dans le régime d'adsorption ou le pontage est l'interaction dominante.

Les cinétiques d'adhésion des sphères recouvertes de PAA sont représentées sur la figure 2.3 par l'intermédiaire du nombre $N(t)$ de liens formés en fonction du temps t d'incubation sous champ magnétique. Les points expérimentaux sont bien ajustés à l'aide d'une courbe exponentielle d'équation $N(t) = N_0 (1 - \exp(-t/\tau))$, où $N_0 = 660$ est le nombre maximal de liens possibles dans nos conditions expérimentales.

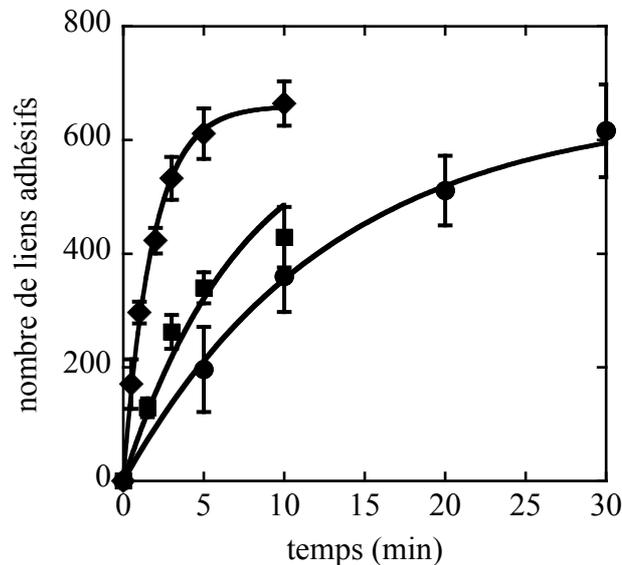


Figure 2.3 : cinétiques d'adhésion du pontage par du PAA. Influence de la température pour $B = 12$ mT : 35°C (●), 40°C (■), et 45°C (◆); les courbes sont des régressions exponentielles.

Le processus de glissement des chaînes de polymères, ou « reptation », le long d'une surface colloïdale est complexe. Dans la mesure où il intervient par détachement de monomères de la surface, ce doit être un processus thermiquement activé. On s'attend néanmoins à ce qu'il dépende également de la dynamique complexe de la couche de polymère la plus proche de la surface.

En utilisant une loi d'Arrhénius pour ajuster l'évolution du temps caractéristique τ avec la température, nous obtenons une estimation de l'énergie d'activation en l'absence de champ magnétique d'environ $150 k_B T$. Comme dans le cas du système DLVO (paragraphe 1.2), la cinétique du pontage dépend de l'intensité du champ magnétique via l'effet de ce dernier sur la distance D entre sphères adjacentes. Cette distance a alors une influence sur la force « d'éjection » $F_S (\propto 1/D^3)$. La valeur de $150 k_B T$ reflète probablement le besoin de coopérativité dans le détachement des segments de chaînes de polymères. De façon inattendue, la loi d'Arrhénius donne par ailleurs des fréquences d'essai de l'ordre de 10^{30} Hz, ce qui est beaucoup trop élevé pour un phénomène moléculaire, et ne peut pas avoir la moindre signification physique. La loi d'Arrhénius est donc, à l'évidence, incapable de modéliser l'activation thermique du phénomène de pontage par des polymères, et le recours à une autre approche s'impose. La présence, non loin de nos températures de travail, d'un état vitreux dans les couches de polymère les plus proches de la surface [Kremer 1986] justifie l'utilisation du **modèle VTF d'activation thermique** [Vogel 1921, Fulcher 1925, Tammann 1926] :

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} \exp\left[-\frac{A}{k_B(T - T_0)}\right]$$

où $1/\tau_0$ est toujours une fréquence d'essai. A est un paramètre énergétique, T_0 la température empirique de Vogel, et $T > T_0$. T_0 est la température à laquelle tous les temps de relaxation du système divergent [Ediger 1996] et se situe quelques dizaines de degrés au-dessous de la température de transition vitreuse T_g [Williams 1955]. Pour un polymère donné à une concentration donnée, T_0 peut être déterminé empiriquement en ajustant des données de relaxation diélectrique ou viscoélastique à l'aide de l'équation précédente [Ediger 1996]. Dans le cadre de ce modèle, il est toujours possible de définir une énergie d'activation apparente $E_a(T)$, qui dépend de la température [Ediger 1996], et est simplement la pente de la courbe “ $\ln(\tau)$ vs. $1/k_B T$ ”, soit : $E_a(T) = k_B \cdot d(\ln(\tau))/d(1/T) = A \cdot [T/(T - T_0)]^2$.

La figure 2.4.a met en évidence le bon ajustement des points expérimentaux par le modèle VTF pour trois intensités différentes du champ magnétique. T_0 et T_g sont des fonctions croissantes de la concentration en polymère [Williams 1955] et la concentration locale en polymère à proximité d'une surface sur laquelle il est adsorbé est beaucoup plus élevée que sa concentration en solution [Semenov 1995]. Dans la mesure où il nous est impossible de déterminer la concentration locale, nous n'avons aucune précision sur les valeurs de T_g ou T_0 . Dans la littérature, on trouve $T_0 \approx -120^\circ\text{C}$ pour les solutions aqueuses diluées de PAA (à moins de 1% en masse) [Phillies 1992] et $T_0 \approx 0^\circ\text{C}$ pour 75% en masse de PAA dans l'eau [Krevelen 1997]. Le PAA adsorbé impliqué dans le pontage a donc une température de Vogel comprise vraisemblablement entre -70°C et 0°C . Nous avons vérifié que le choix de T_0 n'avait pratiquement aucune influence sur l'énergie d'activation apparente déduite de l'ajustement. T_0 a été fixé arbitrairement à -30°C pour la figure 2.4, qui permet d'obtenir une valeur de $160 k_B T$ pour l'énergie d'activation $E_a(40^\circ\text{C})$ sans champ magnétique, ce qui est très proche de la valeur obtenue dans le cadre de la loi d'Arrhenius (i.e. pour $T_0 = -$

273°C). Au contraire, la fréquence d'essai $1/\tau_0$ déterminée par l'ajustement au modèle VTF est très sensible au choix de T_0 . Sa valeur va de 100 Hz pour $T_0 = 0^\circ\text{C}$ à 10^{10} Hz pour $T_0 = -70^\circ\text{C}$, ce qui, dans tous les cas, est physiquement acceptable. Cela prouve bien que le modèle VTF d'activation thermique est bien mieux adapté à la description du phénomène de pontage par des polymères que la loi d'Arrhenius.

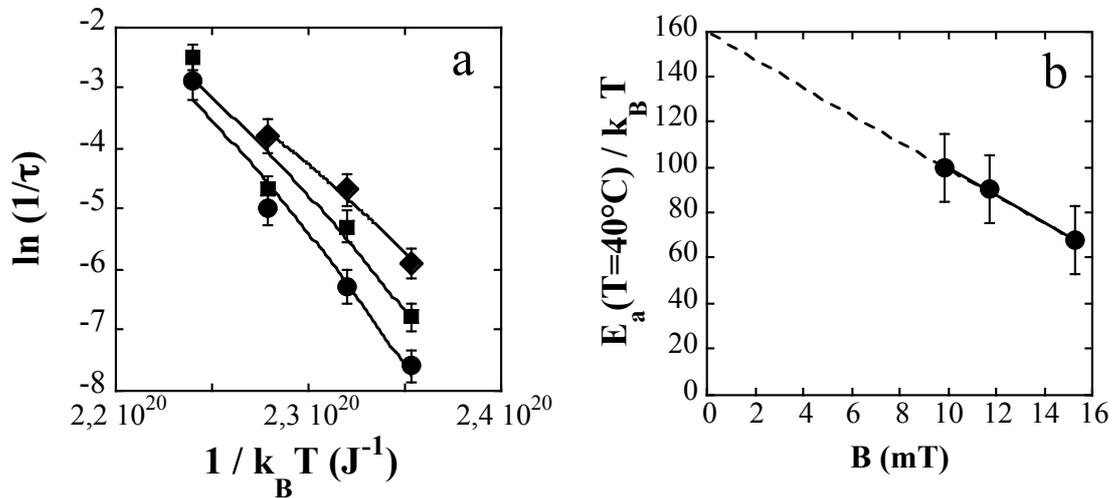


Figure 2.4 : **a)** $\ln(1/\tau)$ en fonction de $1/k_B T$ pour $B = 10$ mT (◆), 12 mT (■), et 15 mT (●); les courbes sont des ajustements au modèle VTF avec $T_0 = -30^\circ\text{C}$; **b)** $E_a(T=40^\circ\text{C})/k_B T$ en fonction de l'intensité B du champ; la ligne en pointillé est une extrapolation linéaire.

Notre interprétation du phénomène de pontage par des polymères est donc la suivante. Une fois atteint l'équilibre d'adsorption du polymère sur les sphères colloïdales, le pontage requiert d'éjecter une partie des chaînes présentes dans la région de contact entre deux sphères. Cela mène alors à un « classique » pontage colloïdal par des polymères « incomplètement » adsorbés [Klein 1984]. La reptation en surface grâce à laquelle intervient cette éjection de polymères est profondément influencée, et plus précisément ralentie, par la proximité d'un état vitreux dans la couche la plus intime de polymère adsorbé [Kremer 1986]. Cette éjection de polymère est assurée par la force osmotique latérale F_s , qui est une fonction croissante du degré n de polymérisation du polymère considéré. Expérimentalement, cela implique que le pontage devrait être plus rapide lorsque le polymère adsorbé est plus long. Nous avons fait des expériences, à 45°C et sous un champ de 11 mT, avec trois PAA de degrés de polymérisation n différents. Pour n de 28, 1400 et 3500, nous avons trouvé des temps caractéristiques τ respectifs de 1800s, 74s, et 54s. Cela confirme bien le rôle de l'éjection de polymère dans le phénomène de pontage.

Notre interprétation du pontage est également confirmée par l'expérience suivante. Nous avons effectué des mesures à 25°C sous un champ de 12 mT après deux temps différents d'incubation des sphères en présence de polymère. Alors que le temps caractéristique est $\tau \approx 12$ min lorsque l'équilibre d'adsorption des polymères sur les sphères est atteint (après 20 heures d'incubation), la cinétique est beaucoup plus rapide ($\tau \approx 0,9$ min) si le temps d'adsorption du PAA, avant d'appliquer le champ magnétique, n'est que de 10 minutes. Lorsque le temps d'incubation est insuffisant pour que le polymère s'adsorbe

complètement sur les sphères, il est logique, dans le cadre de notre interprétation, que le pontage soit plus rapide, car il nécessite l'éjection d'une moindre quantité de polymère.

Avec la nouvelle technique d'étude de phénomènes adhésifs, présentée au paragraphe 1.2, nous avons montré que le pontage par des polymères à l'équilibre d'adsorption est un phénomène thermiquement activé, mais que cette activation ne peut pas être appréhendée en termes de loi d'Arrhénius [Cohen-Tannoudji 2005]. En effet, nous avons dû utiliser une approche plus fine prenant en compte à la fois la nécessité d'enlever une partie du polymère adsorbé dans la région de contact et le ralentissement de la dynamique moléculaire dans la couche de polymère la plus proche de la surface des particules colloïdales, dû à la proximité d'un état vitreux de surface. Cette difficulté à induire du pontage colloïdal à l'équilibre d'adsorption des polymères est à l'origine de l'efficacité de la méthode de stabilisation cinétique des colloïdes qui consiste à adsorber des polymères à leur surface.

Pour décrire la dynamique des chaînes de polymères impliquée dans l'interaction de pontage par des polymères, il semble réaliste de prétendre qu'en ce qui concerne le ralentissement de la dynamique moléculaire au voisinage d'une transition vitreuse, *Vogel, Tammann et Fulcher avaient déjà tout dit.*

BIBLIOGRAPHIE du Chapitre 2

- [Bertrand 2001] E. Bertrand, D. Bonn, H. Kellay, B.P. Binks and J. Meunier, *Europhys. Lett.* 55, 827 (2001).
- [Bertrand 2003] E. Bertrand, in : "*Transitions de mouillage : rôle des interactions entre interfaces*", Editions Publibook Université, préfacé par Pierre-Gilles de Gennes, Paris (2003).
- [Cohen-Tannoudji 2005] L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, L. Bressy, C. Goubault, J. Baudry, J. Klein, J.-F. Joanny and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* 94, 038301 (2005).
- [de Gennes 1979] P.G. de Gennes, in : « *Scaling concepts in polymer physics* » (Cornell University Press, Ithaca, New York, 1979).
- [Ediger 1996] M.D. Ediger *et al.*, *J. Phys. Chem.* 100, 13200 (1996).
- [Fulcher 1925] G.S. Fulcher, *J. Am. Ceram. Soc.* 8, 340 (1925).
- [Goubault 2003] C. Goubault *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* 91, 260802 (2003).
- [Helfrich 1984] W. Helfrich and R.-M. Servuss, *Nuovo Cimento* 3D, 137 (1984).
- [Kellay 1992] H. Kellay, J. Meunier and B.P. Binks, *Phys. Rev. Lett.* 69, 1220 (1992).
- [Klein 1984] J. Klein and P.F. Luckham, *Nature* 308, 836 (1984).
- [Klein 1998] J. Klein and G. Rossi, *Macromolecules* 31, 1979 (1998).
- [Kremer 1986] K. Kremer, *J. Physique* 47, 1269 (1986).
- [Krevelen 1997] D.W. Krevelen, in : « *Properties of polymers* » (third edition, Elsevier, 1997).
- [Mondain-Monval 1998] O. Mondain-Monval *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* 80, 1778 (1998).
- [Phillies 1992] G.D.J. Phillies *et al.*, *Macromolecules* 25, 3689 (1992).
- [Safinya 1986] C.R. Safinya *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* 57, 2718 (1986).
- [Semenov 1995] A.N. Semenov and J.-F. Joanny, *Europhys. Lett.* 29, 279 (1995).
- [Tammann 1926] G. Tammann and W. Hesse, *Z. Anorg. Allgem. Chem.* 156, 245 (1926).
- [Vogel 1921] H. Vogel, *Physik Z.* 22, 645 (1921).
- [Williams 1955] M.L. Williams *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 77, 3701 (1955).

Chapitre 3 : Interactions spécifiques entre molécules biologiques reliées à des surfaces.

Nous allons désormais, dans ce chapitre, nous intéresser aux interactions spécifiques entre molécules biologiques. Nous essaierons notamment de comprendre, à travers une étude bibliographique, s'il s'agit de « nouvelles » interactions ou de la conjonction d'interactions moléculaires physiques « classiques ». Nous présenterons ensuite nos études expérimentales des interactions entre molécules biologiques liées à des surfaces. Pour cela, nous avons utilisé le paradigme du couple ligand-récepteur : le couple streptavidine-biotine, quasi-universellement utilisé par tout physicien cherchant à étudier des molécules biologiques. Nous verrons enfin, à travers l'étude expérimentale de molécules plus directement impliquées dans l'adhésion cellulaire, les cadhérines, les limites de l'approche du physicien.

3.1. Interactions spécifiques et reconnaissance moléculaire

3.1.1. Qu'appelle-t-on vraiment « interactions spécifiques »? des interactions de nature différente ?

Le terme d'« interaction spécifique » est couramment employé dans divers domaines, que ce soit à propos de processus d'adhésion biologique, de séparation ou de détection [Emneus 1995]. Cette notion permet de distinguer les interactions « physiques » entre surfaces, considérées jusqu'ici dans ce manuscrit, de la reconnaissance spécifique entre molécules biologiques. Ainsi, dans ce chapitre, les interactions entre surfaces étudiées précédemment seront appelées « **interactions non spécifiques** » car elles ne dépendent pas du détail moléculaire spécifique. On parle ainsi d'adhésion non spécifique entre surfaces ou d'adsorption non spécifique de protéines aux interfaces. Les adhésions non spécifiques résultent, entre autres, d'interactions de van der Waals, d'interactions électrostatiques, ou peuvent encore, comme nous l'avons vu au paragraphe 2.2, être provoquées par le pontage via des macromolécules adsorbées [Israelachvili 1991, Evans 1995]. Dans tous les cas, l'attraction qui s'en suit résulte d'interactions impliquant l'ensemble de la surface ou du volume des objets considérés. En revanche, la notion d'**interaction spécifique** renvoie à une notion moléculaire, qui fait intervenir un certain nombre d'interactions moléculaires, précisément localisées, au sein d'un couple de molécules biologiques (figure 3.1). Autrement dit, un processus d'adhésion spécifique est gouverné par des « **interactions ligand-récepteur** », c'est-à-dire par la reconnaissance moléculaire entre un récepteur et un ligand qui lui est spécifique. En biologie, on a l'habitude de définir un récepteur comme une protéine, ou un groupe de protéines, qui se trouve dans ou à la surface de cellules et qui se lie de façon sélective à une autre molécule appelée ligand [Lauffenburger 1993]. La nature des ligands est très diverse et un ligand peut consister en toute sorte de molécule.

Un exemple fondamental de processus spécifique est l'adhésion cellulaire. Cette adhésion ne peut pas être expliquée en termes d'adhésion colloïdale reposant sur un équilibre entre interactions attractives et répulsives : elle est directement gouvernée par des interactions

moléculaires spécifiques [Pierres 1998]. Un exemple célèbre d'interaction ligand-récepteur est l'**interaction antigène-anticorps**, dont la spécificité est bien connue.

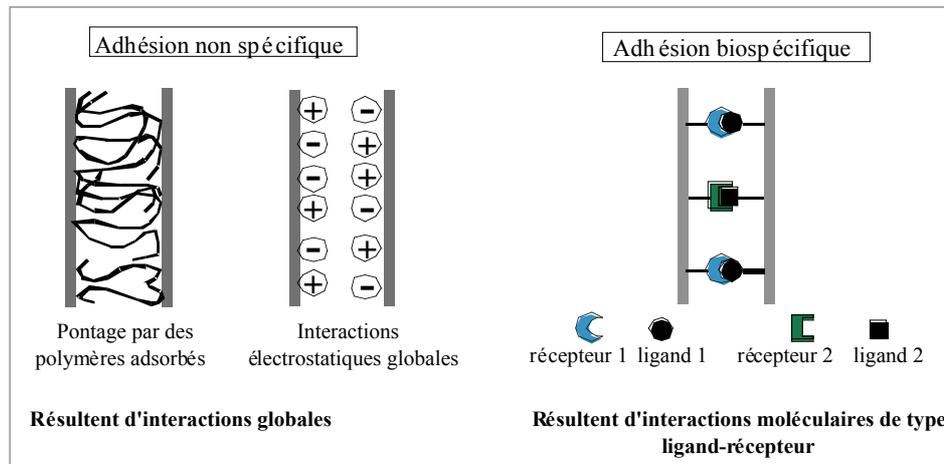
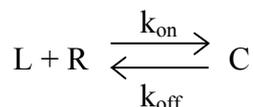


Figure 3.1 : adhésion non spécifique et adhésion spécifique entre deux surfaces.

La nature des interactions ligand-récepteur est complexe et multiple, et sera décrite ci-dessous. Sa particularité réside dans son caractère non-covalent et réversible. Comprendre et caractériser ces interactions s'avère fondamental tant ces interactions sont présentes partout en biologie. Les fonctions biologiques dépendent toujours d'interactions spécifiques entre des protéines et les molécules qui les entourent [Creighton 1993]. De la structure de la cellule [Pollard 1994] à l'organisation, la signalisation entre cellules, la migration des cellules, ou la réponse cellulaire à un stimulus [Bongrand 1999], chacune de ces manifestations biologiques est pilotée par des interactions ligand-récepteur.

Depuis des décennies, on cherche à décrire et caractériser de telles interactions. Pendant longtemps, l'étude des interactions ligand-récepteur s'est limitée principalement à l'étude thermodynamique de l'affinité et de la spécificité. Il s'agissait de déterminer la « force » du lien entre récepteur et ligand (**affinité**) et de mesurer la variabilité de cette force pour des molécules de structures relativement proches (**spécificité**). Pour rendre compte de cette force du lien ligand-récepteur, on s'attachait à évaluer les constantes thermodynamiques et cinétiques d'association et de dissociation pour des molécules biologiques en solution [Williams 1991, Kubi 1994]. Dans ce cadre, on définit simplement la réaction d'association entre un ligand L et un récepteur R, donnant un complexe C, par l'équilibre suivant :



où la constante cinétique d'**association** k_{on} , exprimée en $L \cdot s^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$, et la constante cinétique de **dissociation** k_{off} , exprimée en s^{-1} , sont reliées à la vitesse de réaction v par :

$$v = \frac{d[C]}{dt} = k_{\text{on}}[L][R] - k_{\text{off}}[C]$$

Les crochets font référence aux concentrations exprimées en mol.L⁻¹. Le système évolue vers un état d'équilibre, où les concentrations à l'équilibre vérifient :

$$\frac{[R]_{\text{eq}}[L]_{\text{eq}}}{[C]_{\text{eq}}} = \frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}} = K_D = \frac{1}{K_A}$$

où K_D est la constante thermodynamique de dissociation, exprimée en mol.L⁻¹, et K_A est la constante thermodynamique d'association en L.mol⁻¹, aussi appelée « **affinité** ».

Outre les techniques de calorimétrie et de marquage fluorescent des molécules, la technique de résonance de plasmons de surface (SPR), ou « Biacore » (du nom du principal fabricant), a permis de déterminer, pour de nombreux couples, les constantes thermodynamiques et cinétiques. Il s'agit d'une méthode de mesure « non-intrusive », en temps réel et sans marquage des molécules [Liedberg 1983]. Cette technique s'est introduite dans de nombreux laboratoires de biologie comme technique de référence. Cependant, depuis les années 1970, la description des interactions ligand-récepteur a engendré un champ d'étude beaucoup plus large et très varié [Lauffenburger 1993]. Ainsi, de nombreux éclairages ont pu être apportés grâce à divers outils. La cristallographie fait partie de ces outils depuis les années 1980. Elle permet de reconstruire, avec une résolution atomique, la structure des molécules, aussi bien indépendamment que dans leur état lié, au sein du complexe ligand-récepteur [Braden 1994]. Par ailleurs, la biologie moléculaire, grâce à la maîtrise et l'orientation des mutations, permet de déterminer l'influence de chaque acide aminé sur l'interaction globale. Cette technique s'est donc vue souvent couplée à d'autres outils de caractérisation. La modélisation moléculaire [Janin 1995, Deremble 2005] contribue aussi à la compréhension des interactions fondamentales qui aboutissent à la formation d'un complexe ligand-récepteur. Elle peut avoir un caractère prédictif ou explicatif [Janin 1995].

Enfin, depuis plus de deux décennies, un nouveau champ disciplinaire, la biophysique, vise notamment à caractériser les propriétés physiques des macromolécules biologiques en général, et des complexes ligand-récepteur en particulier. Un des objectifs de cette discipline consiste à relier structure et fonctions biologiques des molécules par l'étude de leurs comportements physiques dans des environnements modèles. Ainsi, en biophysique, on cherche, par exemple, à reproduire et modéliser des environnements qui miment les milieux biologiques, comme les membranes cellulaires. De nombreux outils ont aussi été mis au point pour reconstruire le type de contraintes mécaniques rencontrées dans la nature. Ces outils, comme les pinces optiques, la microscopie à force atomique (AFM), la chambre à flux ou les micropipettes, permettent d'étudier l'effet d'une force sur les caractéristiques physiques des liens ligand-récepteur. Dans une grande partie des études, les mesures sont effectuées sur des molécules individuelles [Lavery 2002, Zhu 2002], ce qui permet des interprétations a priori plus directes.

Nature de l'interaction ligand-récepteur

Une des principales caractéristiques de l'interaction ligand-récepteur est son caractère non-covalent : aucune liaison covalente n'est formée entre les deux molécules. Relier des macromolécules de synthèse par des liaisons non-covalentes constitue d'ailleurs également un domaine de recherche en chimie [Lehn 1990, Mihailescu 2004]. L'interaction ligand-récepteur fait appel à différents types d'interactions à l'échelle moléculaire : interactions de van der Waals, liaisons hydrogène, et interactions électrostatiques.

Il est intéressant de noter que **ce sont des interactions physiques de même nature qui interviennent dans les phénomènes non spécifiques et dans les phénomènes spécifiques, mais à des échelles et avec des amplitudes différentes.**

L'« effet hydrophobe », concept souvent employé en physico-chimie, est une manifestation entropique de l'impossibilité de créer des liaisons hydrogène entre un soluté non-polaire et un solvant polaire [Israelachvili 1991]. Néanmoins, ce concept est difficile à transposer au niveau moléculaire [Bongrand 1999]. On préfère alors parler d'interactions non-polaires, autrement dit d'interactions qui interviennent entre résidus (groupements caractéristiques d'un acide aminé) non-polaires, c'est-à-dire aromatiques ou aliphatiques. Les interactions électrostatiques et les liaisons hydrogène sont, elles, de nature polaire, faisant intervenir des résidus polaires et/ou chargés. Quelle que soit la nature des interactions, les molécules d'eau jouent un rôle primordial. Les interactions non-polaires conduisent à la libération de molécules d'eau qui permettraient la solvatation. Dans ce cas, le système y gagne d'un point de vue entropique, en relâchant plusieurs molécules d'eau [Israelachvili 1991], mais aussi énergétiquement car les interactions entre molécules d'eau et résidus non-polaires ne sont pas favorables. Pour les interactions polaires, les molécules d'eau peuvent, dans certains cas, relier directement ligand et récepteur, en engageant des liaisons hydrogène. Il est généralement proposé que les interactions de longue portée (électrostatiques) interviennent surtout dans le caractère spécifique de l'interaction ligand-récepteur, et que les interactions de plus courte portée (van der Waals, hydrogène) soient responsables de la stabilité du complexe.

En 1890, Emil Fisher proposa le modèle « **clé-serrure** » pour expliquer comment les molécules biologiques interagissent. Aujourd'hui cette image simple s'est imposée pour décrire l'interaction ligand-récepteur et l'idée de complémentarité des structures. L'interaction globale ligand-récepteur résulte de plusieurs interactions qui interviennent sur une aire allant d'une centaine à quelques milliers d'Å². La complémentarité des surfaces au contact a été démontrée tant en termes d'affinité chimique et physique, qu'en termes de forme géométrique. En outre, cette complémentarité est très fine : les interactions et l'aire de contact sont précisément ajustées, les attractions et les répulsions intervenant à l'échelle d'un résidu. Notons aussi que, de façon générale, les macromolécules ne sont que légèrement déformées par l'interaction. La conformation globale des molécules a également son importance : des mutations opérées sur des résidus situés loin de l'interface ont parfois abouti à des changements radicaux dans la formation du complexe. Enfin, il faut imaginer le lien ligand-récepteur comme étant susceptible d'évoluer avec le temps, avec plusieurs phases successives de complexation.

La caractérisation cristallographique par rayons X est à l'origine d'une grande partie de la compréhension de la nature de l'interaction ligand-récepteur. En effet, elle permet de reconstruire les structures atomiques des complexes ligand-récepteur avec une résolution qui va de 1,6 à 3 Å [Braden 1995, Davies 1996]. Résumons un exemple d'étude cristallographique, menée sur divers couples, à titre d'illustration [Lo Conte 1999]. D'un point de vue pratique, les auteurs de cette étude mesurent l'aire accessible aux molécules d'eau pour le complexe et pour les molécules individuelles et ils en déduisent l'aire interfaciale. La taille et la composition chimique de l'aire interfaciale attestent d'une complémentarité des surfaces. Dans cette étude, l'aire interfaciale varie entre 1150 Å² et 4660 Å², avec une valeur caractéristique de 1700 Å². La structure atomique étant connue pour le complexe et pour les molécules individuelles, il est possible d'apprécier l'amplitude des déformations causées par la complexation. Il s'avère que la grande majorité des couples ne subit que de très faibles

déformations. Seuls les couples présentant les aires interfaciales les plus grandes connaissent des déformations relativement importantes. Pour donner une idée du nombre d'atomes impliqués dans une liaison ligand-récepteur, les auteurs précisent que chaque protéine apporte dans l'aire interfaciale en moyenne 87 atomes de 27 résidus différents. Parmi ces résidus, en moyenne, 57% d'entre eux sont de nature non-polaire, aromatique (Histidine, Tryptophane, Phénylalanine, et Tyrosine) ou aliphatique (Leucine, Valine, et Isoleucine), 24% sont polaires mais neutres et 19% sont chargés. Ces chiffres sont évidemment très variables d'un complexe à l'autre. Comme nous l'avons déjà évoqué, les molécules d'eau peuvent participer à la liaison entre ligand et récepteur, en formant des liaisons hydrogène avec chacune des molécules du complexe. On compte en moyenne 18 molécules d'eau qui réalisent ce genre de pont, ce qui est plus important que le nombre moyen de liaisons hydrogène (9) directement réalisées entre les deux protéines. La figure 3.2 donne un exemple de structure de complexe ligand-récepteur reconstruite à l'aide de données cristallographiques.

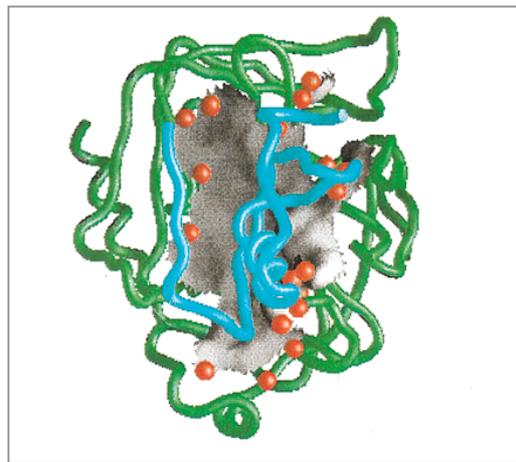


Figure 3.2 : reconstruction d'un complexe ligand-récepteur (CHO Chymotrypsin-ovomucoïd) à partir de données cristallographiques. L'aire de contact apparaît au centre en gris et les molécules d'eau sont représentées par des petites sphères [Lo Conte 1999].

Pour résumer, nous pouvons dire que l'**interaction ligand-récepteur** est le résultat de quelques interactions moléculaires « fortes », majoritairement non-polaires, entre des surfaces ajustées et complémentaires, et qu'elle n'engendre pas de grande déformation.

Cinétique de l'interaction ligand-récepteur

Pour décrire la cinétique d'association entre un ligand et un récepteur, on distingue généralement deux phénomènes : le phénomène de transport physique, ou **diffusion**, et le phénomène purement physico-chimique de transformation en complexe, ou **réaction** (non-covalente). Les constantes cinétiques d'association k_{on} mesurées en solution sont pratiquement toutes du même ordre de grandeur, $10^6 \text{ L.s}^{-1}.\text{mol}^{-1}$, pour des molécules pourtant très différentes, ce qui tend à prouver que la cinétique d'association ne dépend pas des détails moléculaires [Voss 1993]. Ainsi, la diffusion semble être le processus limitant pour la grande majorité des couples ligand-récepteur. En 1917, Smoluchowski a décrit les phénomènes de diffusion de sphères isotropiquement réactives et de même taille [Smoluchowski 1917]. Il a obtenu pour k_{on} une valeur de $10^9 \text{ L.s}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ indépendante de la taille des sphères considérées. De nombreux raffinements de cette théorie ont été proposés par la suite pour

tenir compte de la taille des parties réactives des molécules considérées [Berg 1977], de l'orientation relative de ces parties réactives au moment de la rencontre [Janin 1997], et de l'influence des interactions à longue portée entre molécules réactives [Schreiber 1996]. De plus, des simulations de dynamique brownienne ont montré que les molécules essaient différentes orientations au cours d'une seule rencontre [Northrup 1992]. Ces nombreuses améliorations de la théorie de Smoluchowski ont permis de bien rendre compte de l'ordre de grandeur mesuré expérimentalement pour la plupart des couples ligand-récepteur.

En ce qui concerne les constantes cinétiques de dissociation k_{off} des couples ligand-récepteur en solution, elles sont beaucoup plus variables que les constantes d'association. Des valeurs comprises entre 10^{-5} et 6000 s^{-1} sont rapportées dans la littérature [Bongrand 1999]. Ainsi la grande diversité des affinités K_A en solution est attribuée essentiellement à la diversité des cinétiques de dissociation.

3.1.2. Que deviennent ces interactions lorsque les molécules sont reliées à des surfaces ?

Nous avons vu au paragraphe précédent que la plupart des couples ligand-récepteur présentaient, en solution, les mêmes constantes cinétiques d'association. Néanmoins, pour le bon fonctionnement du vivant, une large gamme de cinétiques de reconnaissance des molécules situées à la surface des cellules est nécessaire. A titre d'exemple, le recrutement des leucocytes en réponse à une inflammation est éloquent car il implique deux couples aux rôles très différents [von Adrian 1991, Lawrence 1991]. Le premier (sélectines) permet d'assurer une capture rapide du leucocyte alors que le second (intégrines) assure, une fois le leucocyte ralenti par l'intermédiaire des sélectines, une consolidation du lien adhésif en vue d'une perméation ultérieure. Or, bien que les sélectines et les intégrines présentent des constantes d'affinité similaires en solution, leurs cinétiques de reconnaissance sont bien distinctes lorsque ces molécules sont situées en surface des cellules [Long 2001]. Il est donc fondamental d'étudier la cinétique de reconnaissance de ligands et récepteurs situés sur des surfaces en regard. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés expérimentalement et théoriquement aux interactions spécifiques, dites « 2D », entre ligands et récepteurs qui ne peuvent diffuser que sur les surfaces respectives auxquelles ils sont liés.

Lorsque les ligands et récepteurs sont liés à des surfaces, ils perdent certains degrés de liberté de diffusion par rapport au cas précédent où ils diffusaient librement en solution. On peut remarquer aussi que les concentrations en ligands et récepteurs s'expriment alors dans de nouvelles unités : des molécules par unité de surface, ou μm^{-2} . Ainsi, si la constante cinétique de dissociation « 2D » k_{off}^{2D} s'exprime toujours en s^{-1} , la constante cinétique d'association « 2D » k_{on}^{2D} s'exprime en $\mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Comme nous allons le voir plus précisément, il n'est alors pas possible de comparer directement les valeurs de constantes d'association obtenues en surface à celles obtenues en solution.

Expérimentalement, une des principales difficultés rencontrées dans l'étude des réactions « 2D » est l'observation et la détermination du nombre de liens ligand-récepteur formés en fonction du temps, ce qui est loin de se limiter à repérer l'adhésion entre deux surfaces. En effet, on peut facilement détecter, et sans ambiguïté, l'adhésion entre deux surfaces en observant, par exemple, leur déformation, leur immobilisation ou leur résistance

face à une contrainte mécanique. Mais la relation entre l'adhésion et le nombre de liens ligand-récepteur impliqué n'est pas directe. Pour résoudre ce problème, le recours à de faibles concentrations en ligands ou récepteurs est souvent employé pour avoir l'équivalence entre adhésion et formation d'un lien unique. Notons aussi que la définition de l'adhésion, ou du moins de son observation, dépend fortement de l'outil expérimental utilisé. Cette dépendance repose sur la résolution et la sensibilité de la technique. La résolution temporelle détermine la limite des temps de vie observables : seules les adhésions qui durent suffisamment longtemps sont détectées. En conséquence, les méthodes qui ont une faible résolution temporelle ne recensent pas les adhésions les plus courtes, qui correspondent, par exemple, à des états transitoires. De plus, seules les adhésions suffisamment fortes, susceptibles de maintenir les surfaces au contact, sont détectées.

Une difficulté expérimentale supplémentaire de l'étude des constantes cinétiques d'association « 2D » réside dans le contrôle du contact entre surfaces. En effet, le contact doit être maîtrisé et sa description précise. La taille de l'aire de contact, aire où les molécules ont la possibilité de se reconnaître, doit être contrôlée, mais aussi le temps de contact, la distance entre les surfaces, les densités surfaciques en récepteurs et en ligands, et les contraintes susceptibles de s'exercer sur les molécules. Enfin, toujours pour l'étude des constantes cinétiques d'association, les modes et les coefficients de diffusion des réactifs doivent aussi être connus ou tout au moins modélisés. Du fait de toutes ces difficultés, il existe, pour les ligands et récepteurs en surface, beaucoup plus de méthodes dédiées à l'étude des constantes cinétiques de dissociation qu'à l'étude des constantes cinétiques d'association.

Les méthodes de mesure des constantes cinétiques de dissociation entre molécules attachées à des surfaces sont nombreuses et fiables. Il s'agit, entre autres, de la technique des micropipettes, ou « Biomembrane Force Probe » [Evans 1991], de la Microscopie à Force Atomique [Florin 1994], des pinces optiques [Nishizaka 1995], ou de la technique de la chambre à flux [Pierres 1996]. Dans la plupart des cas, les constantes de dissociation sont déduites de la mesure des forces appliquées pour provoquer la rupture du lien ligand-récepteur. Ces diverses méthodes, que nous ne détaillerons pas ici, ont abouti à des valeurs de constantes de dissociation « 2D » cohérentes entre elles. Elles ont également permis de montrer qu'un lien ligand-récepteur peut présenter plusieurs états liés. Des études récentes ont également mis en évidence la notion de mûrissement du lien [Pincet 2005], qui peut emprunter les différents états liés au cours de son existence.

La mesure de constantes d'association entre molécules attachées à des surfaces, quant à elle, constitue toujours un défi expérimental. Seule la technique des micropipettes, adaptée en ce sens par Zhu et ses collaborateurs, s'est avérée permettre des mesures fiables et reproductibles de k_{on}^{2D} [Chesla 1998]. Cette approche repose sur la mesure de probabilités d'adhésion entre deux surfaces recouvertes, pour l'une de ligands, pour l'autre de récepteurs. Il peut s'agir, par exemple de la surface d'une cellule en regard de celle d'une vésicule. Les surfaces sont mises au contact pendant un certain temps, et sur une aire précisément contrôlée. Le contact prend fin lorsque les deux surfaces sont éloignées. Le nombre de liens adhésifs est déterminé par la forme que prend la vésicule au cours de l'éloignement et avant la rupture d'adhésion. Cette démarche n'a de sens que si la densité surfacique de ligands est faible, ce qui conduit à la formation de liens isolés. A l'aide de cette méthode, Zhu et ses collaborateurs ont déterminé, pour divers couples ligand-récepteur, des constantes cinétiques d'association « 2D » allant de $10^{-7} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ à $3 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ [Chesla 1998, Long 2001]. Il apparaît donc que, contrairement aux constantes cinétiques d'association en solution, qui ont toutes le même

ordre de grandeur de $10^6 \text{ L.s}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ [Voss 1993], les $k_{\text{on}}^{2\text{D}}$ présentent une grande variabilité, que nous avons essayé de comprendre.

On peut déjà se poser la question du lien entre les constantes cinétiques d'association en solution et les constantes d'association « 2D ». La différence entre ces constantes étant dimensionnelle, on peut les relier, de façon très générale, par un seul paramètre d , homogène à une distance [Dustin 1997] :

$$k_{\text{on}} \approx k_{\text{on}}^{2\text{D}} d$$

La distance d permet de reconstruire un volume d'interaction. On peut donc l'appréhender comme la portée de l'interaction ligand-récepteur, de l'ordre de 1 nm, ou comme la distance (de confinement) entre les surfaces, de l'ordre de 10 nm. Si l'on utilise la valeur $k_{\text{on}} \approx 10^6 \text{ L.s}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ de la littérature, on trouve un $k_{\text{on}}^{2\text{D}}$ équivalent compris entre 0,1 et $1 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$, ce qui est de plusieurs ordres de grandeur plus grand que les valeurs expérimentales rapportées ci-dessus pour les constantes d'association 2D. Cela signifie, en d'autres termes, que la reconnaissance entre molécules attachées à des surfaces est beaucoup plus « lente » que la reconnaissance moléculaire en solution.

L'étude expérimentale que nous présentons au paragraphe suivant s'est attachée précisément à élucider l'origine de ce ralentissement observé de la reconnaissance ligand-récepteur lorsque le ligand et le récepteur sont attachés à des surfaces.

3.2. La physique permet de caractériser la cinétique de reconnaissance entre molécules biologiques reliées à des surfaces

Doctorante : Laetitia Cohen-Tannoudji

Collaborations internes : Cécile Goubault, Caroline Robic, Jean Baudry, Marie Pelissier, Jérôme Bibette (LI2C, Paris)

Collaborations externes : Carlos Marques, Fabrice Thalmann, Albert Johner (Institut Charles Sadron, Strasbourg)

Comme nous l'avons vu précédemment (paragraphe 3.1.1), les cinétiques de reconnaissance entre molécules biologiques en solution sont approximativement identiques pour toutes les molécules. Au contraire, les constantes cinétiques de reconnaissance s'étalent sur plusieurs ordres de grandeur lorsque les mêmes biomolécules sont liées à des surfaces (paragraphe 3.1.2). Nous avons résolu ce paradoxe apparent en adaptant la méthodologie générale reposant sur des colloïdes magnétiques et introduite au paragraphe 1.2, c'est-à-dire en mesurant la cinétique de reconnaissance de molécules attachées à des surfaces. En faisant varier l'architecture du lien entre les molécules étudiées et les surfaces, nous avons pu expliquer la grande diversité de cinétiques de reconnaissance observée.

Outre le défi expérimental, déjà mentionné, qui consiste à mesurer la cinétique de reconnaissance de molécules attachées à des surfaces, la question fondamentale était double :

i) pourquoi la reconnaissance moléculaire « en surface » est-elle beaucoup plus lente que ce à quoi on pourrait s'attendre connaissant les ordres de grandeur en solution ; ii) comment expliquer la diversité quantitative des cinétiques de reconnaissance observées « en surface » [Chesla 1998, Long 2001, Pierres 2001, Cuvelier 2004] alors que tous les couples ligand-récepteur se reconnaissent pratiquement à la même vitesse en solution [Voss 1993] ?

Pour répondre à ces questions nous avons utilisé le paradigme du couple ligand-récepteur : le « fameux » couple streptavidine-biotine, tant utilisé par les physiciens qui s'intéressent à des problèmes biologiquement pertinents, et donc parfaitement caractérisé en solution. L'interaction streptavidine-biotine est la liaison non-covalente d'origine biologique la plus forte recensée à ce jour. Ce couple se distingue par une affinité et une stabilité remarquables. En effet, son affinité, ou constante thermodynamique d'association K_A , est de l'ordre de 10^{14} - 10^{15} L.mol⁻¹, ce qui correspond à une énergie de liaison de près de 30 k_BT [Miyamoto 1993]. La streptavidine est une protéine globulaire de masse molaire d'environ 60 000 g.mol⁻¹. La biotine est une petite molécule, la vitamine H, de masse molaire 244 g.mol⁻¹. La biotine étant une molécule bien plus petite qu'une protéine, on peut la considérer comme isotropiquement réactive et l'on peut donc s'attendre à ce que son association en solution avec la streptavidine soit encore plus rapide que celle de tous les autres couples ligand-récepteur. De fait, la constante d'association en solution k_{on} du couple streptavidine-biotine est d'environ 10^9 L.s⁻¹.mol⁻¹ [Perez-Luna 1999]. La constante de dissociation en solution du couple streptavidine-biotine a été déterminée expérimentalement et une valeur de 6.10^{-6} s⁻¹ a été obtenue, ce qui correspond à un temps de vie du complexe de plusieurs dizaines d'heures [Perez-Luna 1999]. Néanmoins, plusieurs états d'association entre ces deux molécules peuvent être observés, et, même si nous n'avons pas abordé ces aspects de la reconnaissance moléculaire, il a été montré expérimentalement que les interactions ligand-récepteur mûrissent au cours du temps [Pincet 2005].

Nous avons induit et mesuré une large palette de fréquences de reconnaissance entre une biotine et une streptavidine en variant l'architecture des liens entre ces molécules et les surfaces auxquelles elles sont attachées. Dans la mesure où notre méthodologie permet de tenir compte quantitativement de la contribution de la dynamique des surfaces à la cinétique mesurée, nous avons pu étudier l'influence de changements d'architectures moléculaires sur cette cinétique. Cette démarche est d'ailleurs tout à fait généralisable à l'ensemble des molécules qui gouvernent l'adhésion entre cellules. Elle offre aussi des pistes concrètes pour l'amélioration de techniques de bioanalyse, comme celles relatives au diagnostic immunologique [Baudry 2006].

Si les particules super-paramagnétiques présentées au cours des chapitres précédents sont fonctionnalisées avec des ligands pour certaines et des récepteurs pour les autres, la reconnaissance ligand-récepteur est susceptible de former des liens entre particules adjacentes sous champ magnétique. Les chaînes ainsi formées peuvent alors persister un certain temps après l'arrêt du champ. Si, au contraire, aucun lien n'est formé, les particules se redispersent instantanément. C'est sur ce principe simple déjà évoqué que repose notre méthode de mesure des constantes cinétiques d'association « 2D ».

Nous avons greffé sur les particules colloïdales un nombre contrôlé n_R de streptavidines par particule. Puis ces particules ont été mises en présence d'un nombre donné N de ligands multi-biotinylés. Ce nombre N doit impérativement être petit devant le nombre total de particules pour que l'on soit en « régime de doublets ». En effet, dans ces conditions, après l'interruption du champ, la suspension est intégralement constituée de particules

individuelles et de doublets (figure 3.3). En outre, chaque doublet de particules comprend un unique sandwich récepteur-ligand-récepteur. Dans la mesure où, selon la théorie de Mie de la diffusion [Mackowski 1996], un doublet diffuse plus la lumière que deux particules individuelles, la mesure de la différence de densité optique ΔDO (entre après et avant l'application du champ magnétique) permet de déterminer précisément le nombre $D(t)$ de doublets en fonction du temps d'incubation sous champ magnétique [Price 1997]. La densité optique d'un échantillon est égale à $-\log(I/I_0)$, où I et I_0 sont respectivement la lumière transmise et la lumière incidente, et sont mesurées avec un spectrophotomètre (à une longueur d'onde de 700 nm).

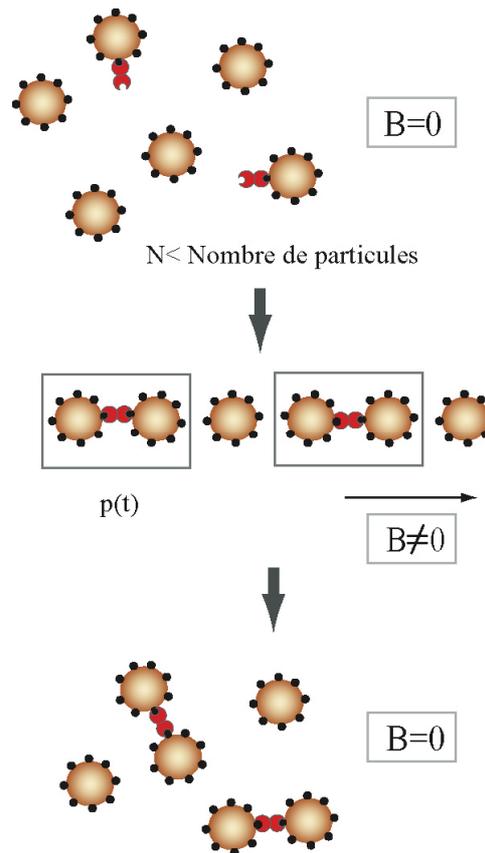


Figure 3.3 : principe de la méthode d'étude de cinétiques d'association ligand-récepteur.

Les protocoles de greffage covalent de la streptavidine sur les particules mettent en œuvre la création d'une liaison peptidique et sont détaillés dans la thèse de Laetitia Cohen-Tannoudji [Cohen-Tannoudji 2006]. Sur la figure 3.4, nous avons tracé $D(t)$ pour deux concentrations distinctes en Albumine de Sérum Bovin (BSA) biotinylée : 0 et $3 \cdot 10^{-11} \text{ mol.L}^{-1}$. L'intensité du champ magnétique est maintenue constante à 30 mT pendant la durée t de l'incubation sous champ. Le nombre de doublets est directement proportionnel à ΔDO . Les barres d'erreur correspondent aux fluctuations maximales du signal de base. Pour une concentration nulle en ligand (BSA biotinylée), nous n'avons détecté qu'un très faible signal, noyé dans le bruit instrumental. Cela prouve que nous nous sommes bien intéressés à une interaction spécifique entre la streptavidine et la biotine.

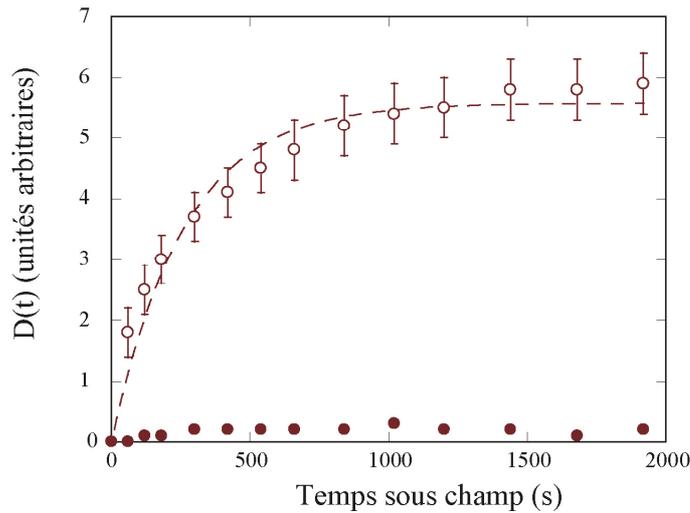


Figure 3.4 : cinétique de formation de doublets pour deux concentrations de BSA biotinyllée : 0 (disques) et $3 \cdot 10^{-11} \text{ mol.L}^{-1}$ (cercles).

En présence de ligands, nous avons systématiquement obtenu une forme exponentielle pour $D(t)$ avec une valeur asymptotique N_{eff} , qui correspond au nombre maximal de ligands pouvant contribuer à la formation de doublets. Dans la mesure où tous les événements de reconnaissance sont indépendants, la probabilité $p(t)$ qu'un lien apparaisse entre deux particules au cours du temps t est donnée par $p(t)=D(t)/N_{\text{eff}}$. Nos résultats montrent que cette probabilité $p(t)$ suit une cinétique du premier ordre : $p(t) = 1 - \exp(-k_{\text{exp}}t)$, où la fréquence de reconnaissance apparente k_{exp} est indépendante de N . Ici, la fréquence k_{exp} est relative à l'association entre une particule portant 1 ligand et une seconde particule portant n_R récepteurs. Nous avons observé expérimentalement une variation linéaire de k_{exp} avec n_R (figure 3.5). La quantité fondamentale déterminée par nos expériences est donc la fréquence de reconnaissance $k = k_{\text{exp}} / n_R$ qui représente la fréquence moyenne d'association entre une bille portant 1 ligand et une bille portant 1 récepteur.

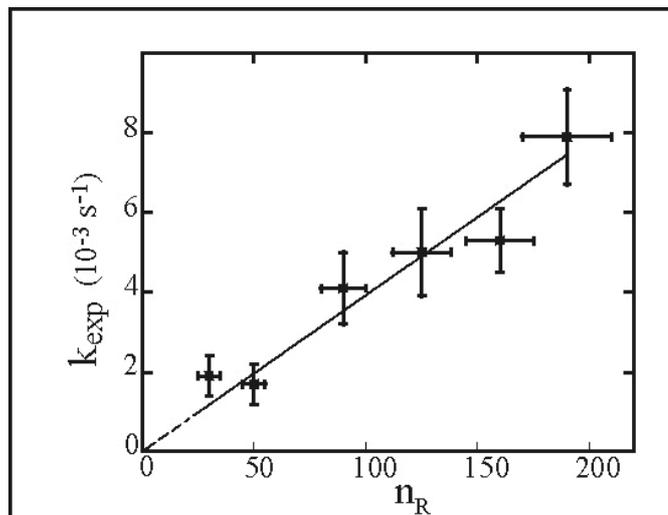


Figure 3.5 : variation de k_{exp} avec le nombre n_R de streptavidines par particule.

En premier lieu, ces résultats expérimentaux sont en accord avec l'approche théorique de Chesla *et al.* [Chesla 1998] qui prévoit bien une cinétique du premier ordre et la relation :

$$k_{\text{exp}} = \frac{n_R A_C}{A^2} k_{\text{on}}^{2D} + k_{\text{off}}^{2D}$$

où A est l'aire totale de l'une des particules utilisées, et A_C l'aire de contact, c'est-à-dire l'aire dans laquelle les molécules peuvent se rencontrer (voir figure 3.6), que l'on peut estimer géométriquement à environ 7% de l'aire totale A [Cohen-Tannoudji 2006].

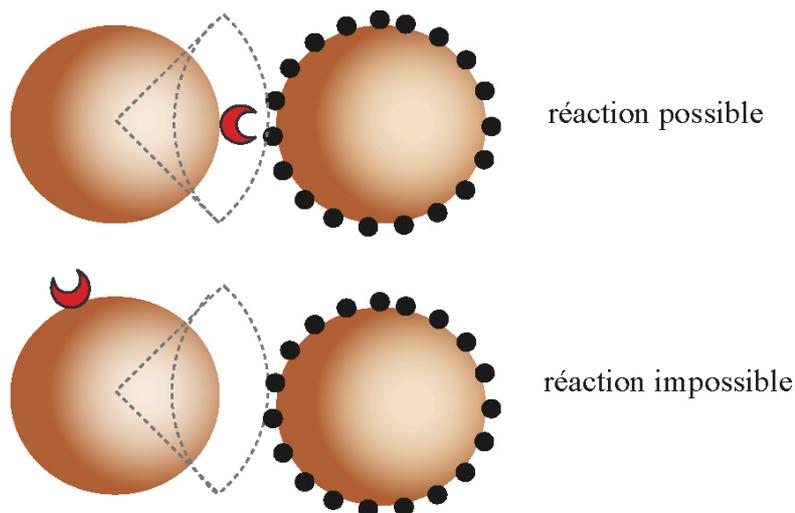


Figure 3.6 : définition de l'aire de contact.

Dans la mesure où le couple streptavidine-biotine est de grande durée de vie, le second terme du membre de droite peut être négligé, et l'on obtient, pour la fréquence de reconnaissance k la relation :

$$k = \frac{A_C}{A^2} k_{\text{on}}^{2D}$$

Expérimentalement, on obtient la valeur $k_{\text{on}}^{2D} \approx 10^{-5} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour le couple streptavidine-biotine, ce qui est complètement cohérent avec les valeurs obtenues pour des constantes d'association « 2D » d'autres couples à l'aide de la seule autre technique fiable disponible, les micropipettes.

Si on veut, cette fois encore, comparer cette valeur avec la constante d'association en solution du couple streptavidine-biotine, qui est de $10^9 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$, la relation dimensionnelle évoquée au paragraphe précédent donnerait une valeur « théorique » comprise entre 100 et $1000 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, ce qui est de 7 à 8 ordres de grandeur au-dessus de la valeur mesurée ! Ici aussi, on observe donc, comme dans les études en micropipettes, un ralentissement considérable de la reconnaissance moléculaire lorsque l'on passe du cas en solution au cas en surface.

Nous avons ensuite étudié l'influence du lien entre le ligand et la surface de la particule afin d'essayer de comprendre l'ordre de grandeur obtenu pour la constante cinétique de reconnaissance « 2D » et le spectaculaire ralentissement correspondant. Trois familles différentes de liens ont été étudiées (figure 3.7). La première, appelée famille (i), concerne des particules greffées avec des streptavidines comme récepteurs et des BSA biotinylées (avec 4 ou 12 biotines) comme ligands. Etant donnée la structure globulaire de ces deux protéines (BSA et streptavidine), le ligand et le récepteur sont tous deux considérés comme liés à la surface des particules de façon rigide. Dans la famille (ii), la BSA est remplacée par un fragment Fc d'immunoglobuline sur lequel 6 petites chaînes de polymère biotinylées sont greffées. Ces petites chaînes sont soit des polyéthylène glycols (PEG) de rayon de giration de 2,5 nm soit des séquences LC-LC de rayon de giration d'1 nm. Dans ce cas, les streptavidines restent rigidement liées aux surfaces, mais les biotines le sont de façon flexible. Enfin, dans la famille (iii), à la fois le ligand et les récepteurs sont reliés aux surfaces par les deux types de courts polymères mentionnés ci-dessus.

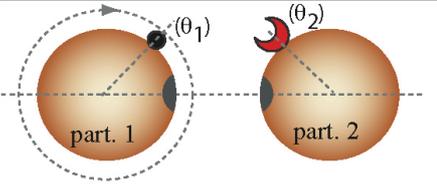
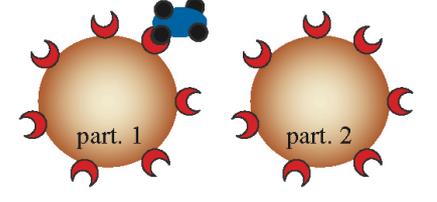
	Architecture moléculaire	k (s ⁻¹)	r _C (Angströms)
Famille (i) 	BSA 4biot	1,2 10 ⁻⁵	0,7
	BSA 12biot	4,0 10 ⁻⁵	1,3
Famille (ii)	LCLC 6biot	1,0 10 ⁻⁴	2,0
	PEG 6biot	1,2 10 ⁻⁴	2,2
Famille (iii)	LCLC1biot	5,6 10 ⁻⁴	4,7
	PEG1biot	2,910 ⁻³	11

Figure 3.7 : les trois familles de liens étudiées.

Sur la figure 3.8 sont représentées les courbes $p(t)$ pour plusieurs situation expérimentales. En déterminant la densité de surface n_R en récepteurs par dosage de fluorescence [Cohen-Tannoudji 2006], nous avons obtenu la valeur de la fréquence k pour chacun des six cas expérimentaux de la figure 3.7. La fréquence de reconnaissance la plus

basse correspond à la situation la plus contrainte de la famille (i), pour laquelle le ligand et le récepteur sont tous deux attachés de façon rigide aux particules. Tout degré de liberté supplémentaire offert au ligand ou au récepteur augmente la fréquence de reconnaissance. On voit bien sur la figure 3.7 que les différentes fréquences de reconnaissance sont en accord qualitatif à la fois avec le nombre de degrés de liberté conféré aux molécules par leur mode d'attachement et avec le nombre de sites réactifs (biotines) disponibles sur le ligand. La fréquence de reconnaissance k pour la configuration la plus flexible est 200 fois plus grande que celle correspondant à la configuration la plus rigide. Il est aussi remarquable que les changements de fréquence les plus significatifs interviennent pour la famille (iii), c'est-à-dire lorsque à la fois le ligand et le récepteur sont reliés à la surface par des liens flexibles.

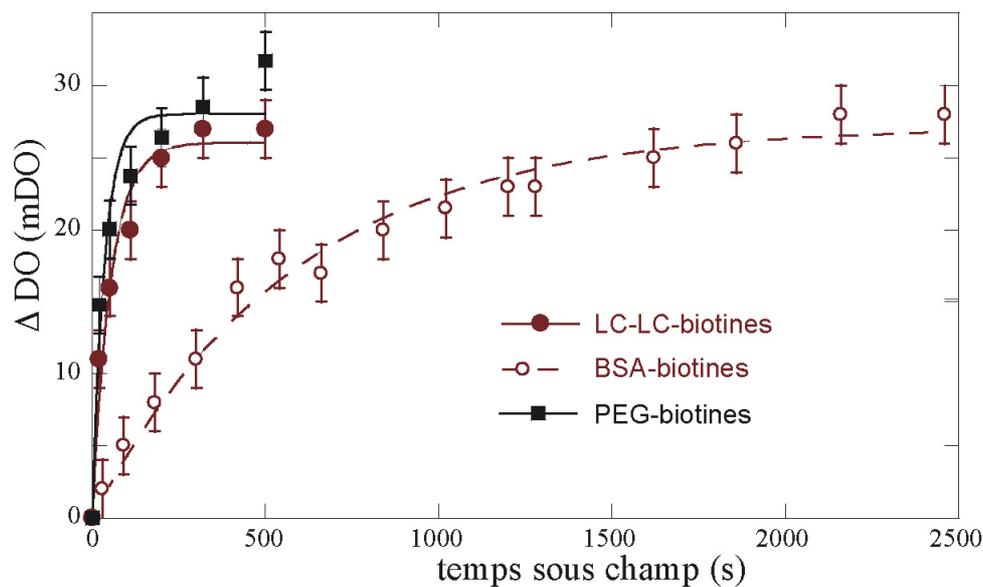


Figure 3.8 : cinétique de formation de doublets avec 0,04% de particules sous un champ de 30 mT pour une configuration de la famille (i) (cercles) et deux configurations de la famille (iii) (disques et carrés).

De tels résultats suggèrent que cette diversité de fréquences de reconnaissance pour un même couple ligand-récepteur tient son origine dans l'existence d'une barrière d'énergie libre qui dépend fortement de légers changements dans le mode d'attachement des molécules. En solution, comme nous l'avons vu, les constantes cinétiques de reconnaissance entre un ligand et un récepteur sont gouvernées par les diffusions translationnelle et rotationnelle qui doivent amener les deux molécules à proximité l'une de l'autre, et avec la bonne orientation relative [Janin 1997, Berg 1977, Northrup 1992]. Dans notre situation, la rencontre entre molécules (attachées à des surfaces) avec l'orientation relative correcte doit être également l'étape cinétiquement limitante. La barrière d'énergie libre suggérée par nos expériences est donc probablement liée à ces contraintes orientationnelles. Pour vérifier cette hypothèse, en collaboration avec le groupe de physique théorique de Carlos Marques, nous avons modélisé la fréquence de reconnaissance en tenant compte uniquement de la dynamique des colloïdes et d'un rayon de capture, qui est la traduction des restrictions d'orientation. En effet, le mouvement complet des molécules de reconnaissance peut être considéré comme la superposition d'une dynamique Brownienne lente liée aux colloïdes et d'une dynamique locale rapide des molécules elles-mêmes. Nous avons donc choisi de modéliser rigoureusement la dynamique colloïdale de notre système à l'aide d'une théorie de réaction-

diffusion, afin d'extraire des expériences un rayon de capture reflétant les restrictions locales imposées au ligand et au récepteur. Pour cela, deux particules sont considérées : la première porte un ligand et la seconde un récepteur. On suppose que les particules bougent le long de la ligne droite qui relie leurs centres de masse et sont soumises à un potentiel colloïdal unidimensionnel contrôlé par l'intensité du champ magnétique. Expérimentalement, nous n'avons observé aucun effet significatif de l'intensité du champ magnétique (au-dessus du seuil d'intensité pour lequel les chaînes magnétiques se forment), ce qui suggère que c'est uniquement la rotation des particules, et pas leur translation, qui est pertinente pour modéliser la reconnaissance. L'orientation des particules est décrite par les angles θ_1 et θ_2 (Figure 3.7). Dans le cadre d'une collaboration avec Paul Fannin (*Trinity College, Dublin*), nous avons montré expérimentalement (paragraphe 1.2.1) que la relaxation de Néel des particules magnétiques que nous utilisons était beaucoup plus rapide que leur relaxation brownienne [Fannin 2006]. Il est donc raisonnable de considérer que la fréquence caractéristique de rotation des particules, ou coefficient de diffusion rotationnelle, k_{rot} , est indépendante du champ magnétique et est donnée par la relation :

$$k_{\text{rot}} = \frac{k_B T}{8\pi\eta r^3}$$

où k_B est la constante de Boltzmann, T la température absolue, η la viscosité du solvant, et r le rayon des particules [Stark 2005].

Pour que la reconnaissance puisse avoir lieu, il faut que le ligand et le récepteur se trouvent très proches l'un de l'autre. Néanmoins, chacun possède un nombre fini de degrés de liberté supplémentaires grâce à sa propre flexibilité ou à celle du lien qui l'attache à la surface colloïdale. Cette dynamique locale, étant beaucoup plus rapide que la dynamique colloïdale, peut être décrite par l'intermédiaire d'un cône de capture θ_C , de telle sorte que la réaction aura lieu si et seulement si θ_1 et θ_2 sont inférieurs à θ_C . Cet angle définit également une surface de capture de rayon $r_C = \sqrt{2} r (1 - \cos\theta_C)^{1/2}$. En résolvant les équations de réaction-diffusion dans cette situation [Likhthman 2006, Lee 2007], on trouve que le comportement de $p(t)$ aux temps longs est une relaxation exponentielle. Dans la mesure où le rayon r_C est petit devant le rayon r des particules colloïdales, on obtient la fréquence caractéristique $k = \frac{k_{\text{rot}}}{8 \log 2} \left(\frac{r_C}{r} \right)^2$.

Sur la figure 3.7, nous avons attribué aux six différentes architectures étudiées le rayon de capture obtenu à l'aide de cette relation théorique. Les valeurs correspondantes ont l'ordre de grandeur moléculaire attendu, ce qui est cohérent avec notre hypothèse de contraintes d'orientation. La situation expérimentale la plus contrainte correspond à une valeur $r_C \approx 1 \text{ \AA}$, ce qui prouve que, dans ce cas, la reconnaissance exige une orientation relative particulièrement précise des particules colloïdales. En revanche, pour la famille (iii), nous trouvons des rayons de capture respectifs de 4.7 \AA et 11 \AA , ce qui est cohérent avec les valeurs des rayons de giration respectifs des polymères utilisés (10 \AA et 25 \AA).

Nous avons donc répondu aux deux questions qui se posaient à nous :

i) Si la reconnaissance moléculaire « en surface » est beaucoup plus lente que ce à quoi l'on pourrait s'attendre connaissant les ordres de grandeur en solution, c'est tout simplement car les objets qui diffusent sont de taille colloïdale (particules, vésicules, cellules) et pas de taille moléculaire. Dans les deux cas, le phénomène physique limitant est la **diffusion**, mais il est

clair que des protéines de 5 nm diffusent beaucoup plus vite que des cellules ou particules de l'ordre du micron.

ii) La diversité des constantes cinétiques d'association observées « en surface », alors que tous les couples ligand-récepteur se reconnaissent pratiquement à la même vitesse en solution, est due à la diversité des architectures des liens entre molécules et surfaces. Plus le lien est long et flexible, et plus la reconnaissance est rapide, car elle nécessite un **ajustement** moins strict.

Finalement, la physique des colloïdes magnétiques nous a permis de mettre au point une nouvelle méthode d'étude des cinétiques de reconnaissance moléculaire entre molécules attachées à des surfaces. À partir de mesures de cinétiques effectuées sur plusieurs centaines de secondes, il est possible d'extraire des dimensions moléculaires de l'ordre du nanomètre, pertinentes pour la reconnaissance moléculaire. La fréquence élémentaire est ici la fréquence d'exploration par la dynamique de rotation brownienne, $k_{\text{rot}} \sim 150$ Hz pour nos particules, qui représente la fréquence d'exploration d'un angle solide de 4π radians. Néanmoins, la fréquence de reconnaissance est beaucoup plus faible car il faut plusieurs tentatives élémentaires pour que le récepteur et le ligand se retrouvent au même endroit au même moment et avec la bonne orientation relative. La plupart des tentatives se solde en effet par un échec. Pour la situation la plus contrainte que nous ayons étudiée, il faut en moyenne environ 10^6 tentatives avant que la reconnaissance ait véritablement lieu, alors qu'environ 10^4 seulement sont nécessaires dans la situation expérimentale la plus favorable.

En conclusion, notre étude montre que, dans le cas de ligands et récepteurs attachés à des surfaces, le mécanisme de reconnaissance est limité par la diffusion, exactement comme dans le cas de la reconnaissance moléculaire en solution. Néanmoins, contrairement au cas en solution, les **restrictions orientationnelles** des molécules attachées, liées à la présence d'une surface, peuvent induire une grande diversité de fréquences de reconnaissance moléculaire.

Plus fondamentalement, on peut donc affirmer que la constante cinétique d'association k_{on}^{2D} entre un ligand et un récepteur situés sur des surfaces en regard **n'est pas une caractéristique intrinsèque du couple ligand-récepteur** considéré. En effet, cette constante cinétique k_{on}^{2D} caractérise à la fois le couple ligand-récepteur, la nature et l'architecture des liens entre les sites de reconnaissance et les surfaces, et surtout l'environnement des biomolécules considérées. L'environnement est ici la surface colloïdale (principalement membranaire) à laquelle la biomolécule est attachée, et il intervient à la fois à travers le mode de diffusion de la biomolécule sur la surface et le mode de diffusion de l'objet colloïdal (principalement la cellule) lui-même.

Avant d'aborder, au paragraphe suivant, l'application de cette méthodologie à des molécules d'adhésion cellulaire, il est intéressant de noter que cette approche nous a aussi permis, dans un registre beaucoup plus finalisé, d'améliorer la sensibilité de certains tests de diagnostic immunologique par agglutination. Sans rentrer du tout dans les détails, il s'agit d'utiliser la méthodologie que nous venons de décrire d'un point de vue légèrement différent. Au lieu de fixer la quantité de ligands et de mesurer la cinétique d'association, l'idée est désormais de faire des mesures après une durée constante d'application du champ magnétique et de mesurer le nombre de doublets en fonction de la concentration en ligands. Le but est de détecter la plus petite concentration en ligands possible. Les tests d'agglutination classiques (i.e. avec des particules colloïdales non magnétiques) ont une sensibilité de l'ordre du nanomolaire, et nous avons montré que notre méthodologie permettait d'abaisser la sensibilité jusqu'au picomolaire [Baudry 2006].

3.3. Les limites de l'approche du physicien : les interactions entre cadhérines

Doctorante : Laetitia Cohen-Tannoudji

Collaborations internes : Cécile Goubault, Jérôme Bibette (LI2C, Paris)

Nous avons par la suite appliqué la méthodologie présentée au paragraphe précédent, et validée à l'aide du couple streptavidine-biotine, à un couple directement impliqué dans l'adhésion cellulaire, et donc pour lequel la caractérisation cinétique en surface prend tout son sens. Etant données les caractéristiques de notre méthode, nous nous sommes orientés vers un couple dont le temps de vie du complexe est présumé relativement important. Notre choix s'est ainsi porté sur les cadhérines. Les mécanismes d'adhésion associés aux cadhérines étant multiples et complexes, nous avons aussi cherché à valider certaines hypothèses de la littérature.

Après un bref état de l'art sur les interactions entre cadhérines, qui permettra de mettre en évidence la complexité de leur mode d'interaction, nous détaillerons la voie expérimentale empruntée pour observer une adhésion spécifique induite par les cadhérines. Enfin, après avoir présenté la cinétique d'adhésion et les profils force-distance des liens cadhérines, nous montrerons que notre étude a permis de confirmer certains scénarii proposés pour le fonctionnement des cadhérines.

3.3.1. État de l'art sur les interactions entre cadhérines

Les cadhérines représentent une des principales familles de « molécules d'adhésion cellulaire », et sont impliquées dans de nombreux phénomènes comme le développement et le maintien de tissus cellulaires (figure 3.9). Les cadhérines sont à proprement parler des molécules d'adhésion, qui engagent des interactions dépendant de la concentration en calcium et qui sont de type **homotypique**, ce qui signifie qu'une cadhérine reconnaît une autre cadhérine.

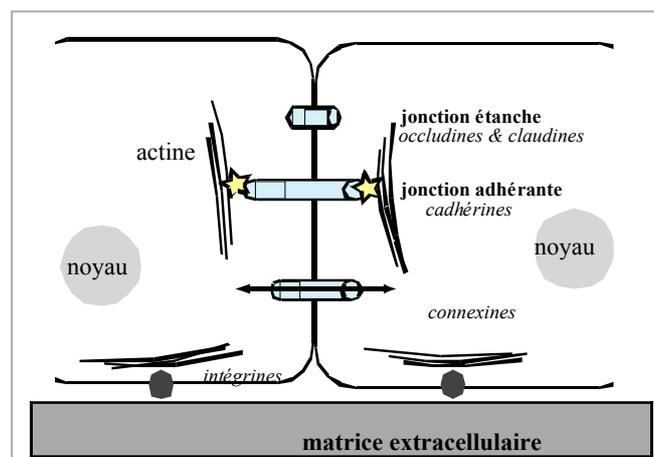


Figure 3.9 : implication des cadhérines dans les jonctions adhérentes entre cellules.
Exemple des cellules endothéliales.

L'adhésion homotypique entre cadhérines est un mécanisme simple pour permettre à des cellules identiques de s'associer et de former des tissus homogènes [Yagi 2000, Ivanov 2001]. Ainsi, les cadhérines interviennent directement dans la cohésion des tissus, en permettant un maintien solide de leur structure et donc la conservation de leur intégrité. Les cadhérines prennent également part aux processus de différenciation au cours de l'embryogenèse. La régulation temporelle et spatiale de leur expression aux différents stades du développement peut expliquer leur participation dans la structuration des tissus [Gumbiner 1996]. Outre ces capacités remarquables d'adhérence, les cadhérines jouent un rôle important dans la signalisation entre cellules [Steinberg 1999]. Les dérégulations de leur expression ou de leur fonctionnement peuvent entraîner de nombreuses conséquences, comme la désorganisation des jonctions entre cellules [Rothen-Rutishauser 2002]. Ces dysfonctionnements sont d'ailleurs largement étudiés en oncologie, la déficience des cadhérines dans les cellules cancéreuses pouvant être à l'origine de la propagation des métastases [Shiozaki 1996].

Les cadhérines sont des protéines transmembranaires caractérisées par trois parties distinctes : une partie intracellulaire, une « ancre » membranaire et une partie extracellulaire ou ectodomaine (figure 3.10). La partie intracellulaire est identique quelle que soit la famille considérée. Le segment extracellulaire consiste en une répétition de motifs de structure analogue, appelés **domaines cadhérine**, et notés EC. C'est la présence d'un tel motif qui est à l'origine de la définition de la grande famille des cadhérines. Plus de 80 cadhérines différentes sont exprimées chez les mammifères [Yagi 2000]. On classe ces différentes molécules en plusieurs sous-familles.

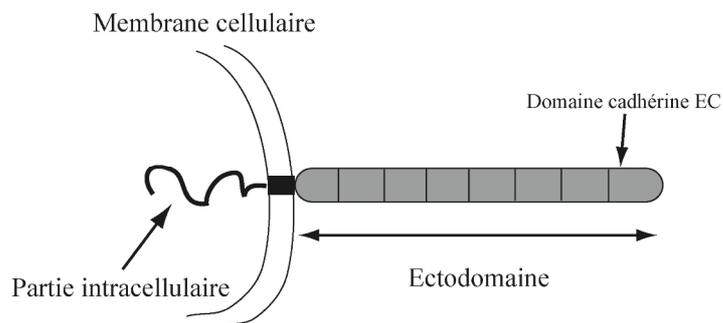


Figure 3.10 : structure générale des cadhérines.

Nous nous concentrons ici sur les cadhérines dites « classiques », c'est-à-dire sur la famille la plus représentée et qui a été la plus étudiée. Cette famille a la particularité de présenter **cinq domaines** cadhérine, notés EC1 à EC5, du plus éloigné au plus proche de la membrane (figure 3.11.A.i). Au sein d'une même famille, on distingue les cadhérines suivant leur tissu cellulaire d'origine, c'est-à-dire le tissu où elles ont été identifiées pour la première fois, avec, entre autres, la E-cadhérine pour « épithéliale » et la N-cadhérine pour « neuronale ». La grande majorité des études de la littérature recensées ici se rapporte à la E-cadhérine, car c'est sur ce type de molécules qu'ont porté nos études expérimentales.

Les cadhérines classiques ont donc une partie extracellulaire composée de cinq domaines de structure analogue (figure 3.11.A.i). Ces domaines cadhérine sont directement impliqués dans la fixation du calcium et dans l'interaction entre cadhérines. Un domaine cadhérine est composé de 110 acides aminés pour une masse moléculaire totale d'environ 12 000 g.mol⁻¹. La structure cristallographique du premier domaine, EC1, obtenue par Shapiro *et*

al. [Shapiro 1995], puis confirmée en RMN par Overduin *et al.* [Overduin 1995], révèle une unité compacte aux dimensions 45 x 25 x 25 Å³. Le repliement de la chaîne peptidique est similaire à celui des domaines Immunoglobuline (Ig). Le domaine EC1 joue un rôle particulier : il est nécessaire à l'adhésion entre cadhérines. EC1 comprend une séquence appelée **poche hydrophobe**, qui est reconnue pour participer directement aux interactions entre cadhérines. Cette interaction fait participer un acide aminé précis des cadhérines : le tryptophane en position 2 (Trp2).

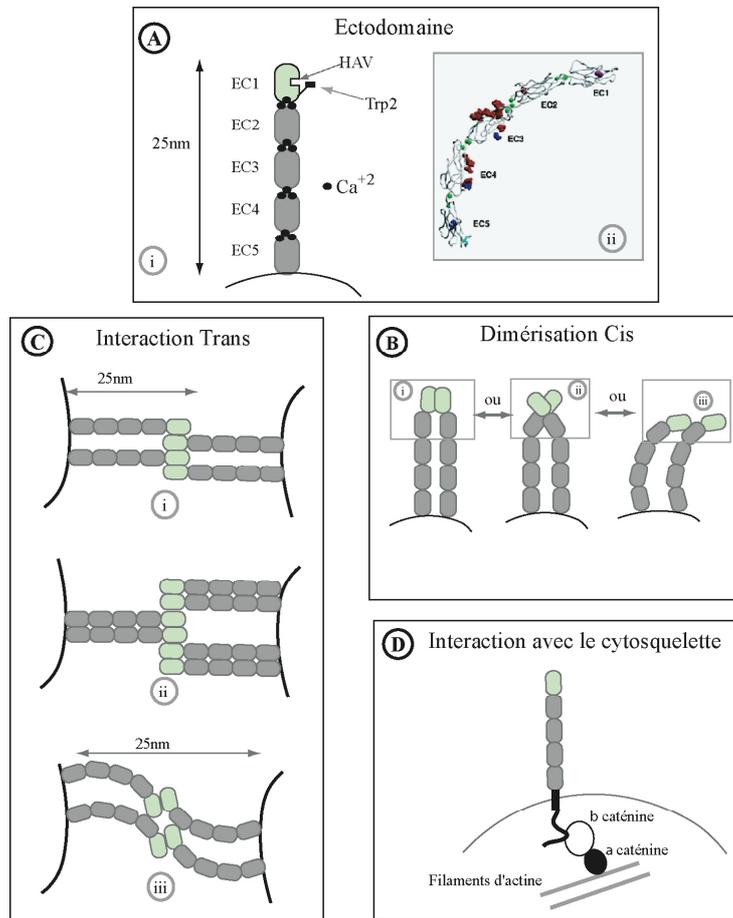


Figure 3.11 : structure des cadhérines classiques et leurs différentes interactions. **A.i.** Structure de la partie extracellulaire : définition des domaines EC, des sites de fixation du calcium et de la poche hydrophobe (HAV). EC1 apparaît avec un niveau de gris différent car ce domaine est nécessaire à l'adhésion avec le rôle du Trp 2. **A.ii.** Structure cristallographique obtenue par Boggon *et al.* [Boggon 2002]. **B.** Formation des dimères *cis* entre cadhérines parallèles (i, ii, et iii étant les différents scénarii envisagés). **C.** Les différents scénarii d'interaction *trans* entre cadhérines antiparallèles et hyperstructure en « zipper ». **D.** Interactions avec le cytosquelette d'actine.

En présence de calcium, l'ensemble de la partie extracellulaire adopte une structure **rigide** et droite, longue de 25 nm environ [Pokutta 1994], ou rigide et courbée (figure 3.11.A.ii) [Boggon 2002]. Le calcium se fixe entre chaque domaine, ce qui confirme le rôle structural du calcium. Nagar *et al.* ont montré qu'exactly trois ions calcium se fixent entre chaque domaine (figure 3.11.A) [Nagar 1996]. D'après les structures cristallographiques, les cadhérines semblent s'assembler entre molécules parallèles portées par la même surface. Ce type d'interaction est appelé **dimérisation cis**.

L'interaction qui permet l'adhésion entre surfaces est appelée **interaction *trans***. Des cadhérines antiparallèles, portées par des surfaces en regard, sont impliquées dans cette interaction « adhérente » (figure 3.11.C). Les structures cristallographiques montrent l'existence d'une organisation des cadhérines en hyperstructure de type « zipper » (figure 3.11.C). Cela annonce un mécanisme d'adhésion de type coopératif. Cependant, la formation de cette hyperstructure n'est pas encore claire : est-elle réalisée entre molécules individuelles (figure 3.11.C.i) ou entre dimères *cis* (figure 3.11.C.ii) ? Les interactions moléculaires entre les différents domaines EC ne sont pas clairement identifiées.

Les différents scénarii d'interaction

Le calcium et le Trp2 sont deux paramètres nécessaires à l'adhésion induite par les cadhérines. Pour décrire leur participation exacte, plusieurs scénarii ont été proposés grâce, entre autres, aux structures cristallographiques et aux études d'agrégation de cellules. On peut s'interroger sur la signification des structures cristallographiques et se demander si elles reflètent réellement les processus qui entrent en jeu *in vivo* et qui sont nécessaires pour l'adhésion effective entre cellules. L'implication des fragments autres qu'EC1 a fait également le sujet de nombreuses études. Le rôle de la dimérisation *cis* des cadhérines dans l'adhésion reste aussi une question importante en termes de compréhension des processus d'adhésion.

Un premier scénario d'adhésion a été proposé d'après les structures cristallographiques obtenues par Shapiro *et al.* sur le fragment EC1 [Shapiro 1995]. Ces auteurs ont mis en évidence l'existence de dimères *cis*. Une première étape du mécanisme d'adhésion consisterait en la formation de ces dimères entre cadhérines portées par la même cellule. Cette dimérisation semble être réalisée par l'intercalation du Trp2 d'une des cadhérines dans la poche hydrophobe de l'autre et inversement. L'interaction *trans* entre dimères *cis* est aussi observée dans cette étude. Une seconde étape dans l'adhésion est attribuée à cette interaction entre dimères initialement formés et portés par des cellules en vis-à-vis (figure 3.11.C.ii). Enfin, une organisation en « zipper » se mettrait en place et permettrait l'adhésion entre surfaces opposées.

Pertz *et al.* ont décrit précisément, grâce à une étude en microscopie électronique, le rôle du calcium dans l'interaction entre cadhérines [Pertz 1999]. Pour des concentrations en calcium comprises entre 50 et 500 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, les ions se fixent entre les motifs cadhérines et donnent à la partie extracellulaire sa structure rigide. Pour des concentrations comprises entre 500 et 1000 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, la dimérisation *cis* entre en jeu. Au-delà de 1 mmol.L^{-1} , les interactions *trans* se manifestent (figure 3.12). En outre, cette étude a montré que seule l'interaction *trans* fait participer le Trp2 et les poches hydrophobes, puisqu'elle est inhibée par des molécules telles que le IAA ou (acide 3-indole acétique), dont la structure est très proche du tryptophane.

La spécificité de l'adhésion entre cadhérines est attribuée au fragment EC1 [Nose 1990]. Mais les autres fragments ont une influence sur la force de l'adhésion. Chappuis-Flament *et al.* ont justement étudié le rôle de chacun des domaines sur l'agrégation entre cellules [Chappuis-Flament 2001]. Ils ont, pour cela, utilisé des cellules présentant différents mutants de cadhérines, amputés de un ou plusieurs domaines. Ils montrent que les fragments EC1 et EC2 sont nécessaires à l'adhésion. Ces deux fragments ne semblent pas suffisants pour induire une adhésion observable dans le cas de cette étude. Aucun des autres domaines ne semble spécifiquement indispensable à l'adhésion, ceux-ci étant « interchangeables ». Mais la

présence d'un troisième domaine s'avère nécessaire pour observer une adhésion, que ce soit pour augmenter le « nombre » d'interactions entre cadhérines ou pour jouer le rôle d'« espaceur ».

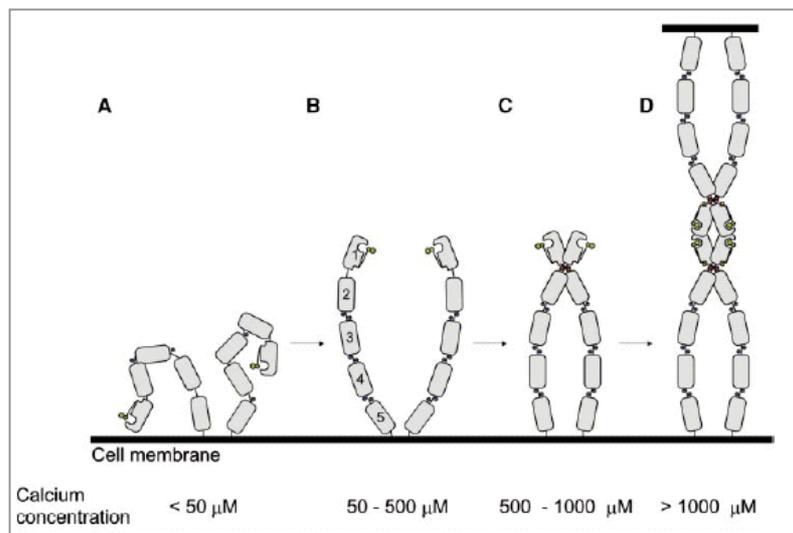


Figure 3.12 : rôle du calcium : pour la structure des cadhérines, pour les processus de dimérisation *cis* et pour les interactions *trans* [Pertz 1999].

L'adhésion entre molécules de cadhérines est donc complexe, et présente plusieurs étapes (dimérisation *cis*, interaction *trans*). Le rôle majeur du calcium est admis à la fois dans la structuration de la partie extracellulaire, dans la construction des dimères *cis* et dans l'interaction *trans*. Le Trp2 et la poche hydrophobe participent directement au processus d'adhésion mais divers scénarii sont envisagés pour expliquer leur implication. Le rôle exact de la dimérisation *cis* n'est pas encore admis : certaines études ne considèrent d'ailleurs que des monomères de cadhérines. Nous préciserons ainsi dans la suite si les études mentionnées portent sur des monomères ou sur des dimères *cis* préformés. La spécificité de l'interaction semble être attribuée à EC1, mais la participation des autres domaines fait l'objet de nombreuses études, avec l'idée communément admise que les cadhérines peuvent être interdigitées sur différentes longueurs.

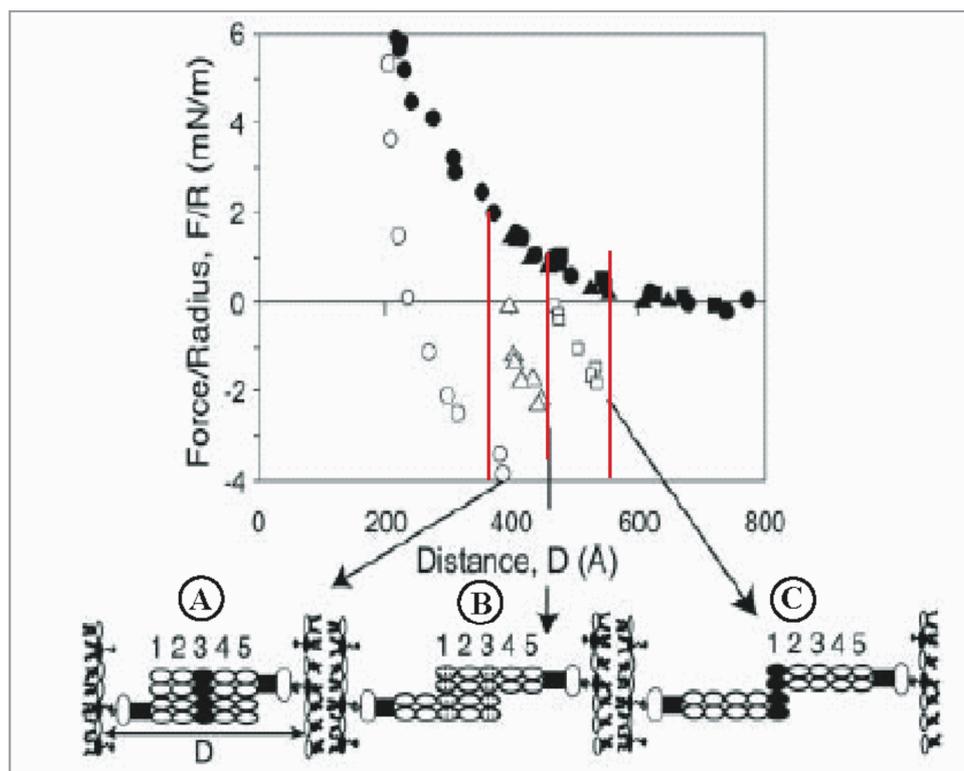
Force et cinétique d'interaction entre cadhérines

Nous détaillons ici les études récentes menées grâce à des méthodes biophysiques qui ont révélé la complexité de ces molécules, tant pour leur **profil d'interaction** que pour leur **cinétique d'adhésion**. Ces deux composantes sont cruciales pour comprendre leur mode d'interaction. C'est sur ces caractéristiques que nous avons tenté d'apporter de nouvelles informations avec notre étude.

Les cadhérines sont des molécules permettant une adhésion stable et longue entre cellules au repos : des propriétés cinétiques particulières sont donc attendues. En outre, la complexité de la structure des cadhérines annonce une complexité de profils d'interaction. Nous nous concentrons ici sur les études menées sur l'interaction *trans* entre cadhérines antiparallèles, portées par des surfaces en regard.

i) Mesures de profils force-distance

Le SFA (Surface Force Apparatus) a apporté des informations très précieuses sur les géométries d'interaction entre cadhérines. Des profils force-distance ont été réalisés entre deux surfaces recouvertes de cadhérines (seulement les parties extracellulaires). La distance interfaciale est mesurée par une technique d'interférométrie optique et la force appliquée entre les surfaces est déduite de la déformation des ressorts sur lesquels sont montées les surfaces. Sivasankar *et al.* ont montré que **tous les domaines EC** peuvent participer à l'interaction entre cadhérines [Sivasankar 1999]. Ces auteurs montrent, en outre, que **les états d'adhésion** accessibles **sont multiples**, et que l'existence de ces liens multiples ralentit le détachement des deux surfaces. En 2001, une seconde étude confirme l'existence d'états d'adhésion multiples [Sivasankar 2001]. Dans cette étude, les auteurs observent trois états d'adhésion distincts. Les différents états ont pu être distingués en imposant des contacts entre surfaces à des distances différentes. Les distances pour lesquelles les trois ruptures sont observées renseignent sur la longueur des liens et donc sur le nombre de domaines intercalés. Ceci est illustré par la figure 3.13. L'état d'adhésion le plus stable correspond à la configuration où les cadhérines sont interdigitées sur leurs cinq domaines, avec une énergie d'adhésion de $19 kT$ par lien. Un second état est atteint quand les cadhérines recouvrent entre 3 et 4 domaines, une énergie d'adhésion de $12 kT$ étant associée à cet état. Enfin, l'état le plus faible correspond au recouvrement des domaines EC1 et EC2 avec une énergie de $9 kT$.



Zhu *et al.* ont poursuivi les études précédentes, en identifiant le rôle des différents domaines [Zhu 2003]. Pour cela, ces auteurs ont mesuré des profils de force pour des mutants de cadhérines, amputés d'un ou plusieurs domaines. Notons ici que l'étude porte sur des dimères préformés de cadhérines. D'après l'allure des profils de force obtenus pour les différents mutants, les auteurs identifient les domaines directement impliqués dans les trois états d'adhésion, ce qui apparaît sur la figure 3.13.

Ces différentes études en SFA ont permis de révéler une **multiplicité d'états d'adhésion entre cadhérines, pour lesquels le nombre de domaines directement impliqués varie**. Ces différents états d'adhésion sont accessibles lorsque les surfaces sont suffisamment proches, les cadhérines étant en quelques sortes « forcées » de s'interdigiter. Il reste à savoir si ces états sont également atteints en conditions physiologiques.

ii) Constantes cinétiques

Une étude en AFM a conduit à la détermination d'une constante de dissociation [Baumgartner 2000]. Cette constante est estimée à $1,8 \text{ s}^{-1}$. Par ailleurs, considérant la probabilité d'adhésion en fonction du temps de contact entre pointe et surface, les auteurs concluent que l'adhésion entre cadhérines est plus lente que l'adhésion entre les sélectines et leurs ligands. Les comparaisons restent ici qualitatives, mais sont cohérentes avec les fonctions des cadhérines, qui, d'une part, sont « fixées » au cytosquelette, et, d'autre part, réalisent des liens entre cellules au repos, contrairement aux sélectines. Une étude récente conduite en AFM s'est intéressée aux interactions entre EC1 et EC2 uniquement [du Roure 2006]. Les auteurs ont alors déterminé une constante de dissociation comprise entre 10^{-2} s^{-1} et 1 s^{-1} . Perret *et al.* ont mesuré, en chambre à flux, la constante de dissociation pour l'interaction entre les domaines EC1-EC2, sous forme de monomères, en considérant le temps de vie d'un lien soumis à des forces constantes [Perret 2002]. Les auteurs mettent en évidence une constante de dissociation de $0,5 \text{ s}^{-1}$.

En utilisant le BFP, Perret *et al.* ont caractérisé les propriétés dynamiques des liens entre E-cadhérines, pour des monomères [Perret 2004]. Pour des parties extracellulaires complètes EC1-5, ces auteurs mettent en évidence une multiplicité d'état d'adhésion. **Deux groupes de liens sont repérés** : un groupe présentant **une adhésion faible et labile** et un second réalisant une **adhésion forte et durable**. Le groupe de liens forts et durables présente deux sous-populations caractérisées par des constantes de dissociation de 10^{-6} - 10^{-5} s^{-1} et 10^{-2} s^{-1} respectivement. Le groupe de liens faibles et labiles est attribué aux interactions via les fragments EC1 et EC2. Les liens les plus forts correspondent, sans doute, à des recouvrements plus larges entre cadhérines, comme ceux observés en SFA, mais ce n'est pas démontré via cette méthode. Les différents états d'adhésion sont peuplés de façon aléatoire. Cependant, augmenter le temps de contact augmente la proportion de liens forts et fait disparaître les états d'adhésion faible. La cinétique d'association semble donc aussi différente pour les divers états. Il est intéressant de noter ici que les conditions de formation de liens sont plus proches des conditions physiologiques, contrairement aux expériences de SFA. Ceci laisse penser que l'existence des états d'adhésion multiples est envisageable dans le cas d'adhésion entre cellules.

Bayas *et al.* ont aussi mené le même type d'étude en BFP mais sur la C-cadhérine, avec des dimères préformés [Bayas 2006]. Les auteurs observent également quatre états d'adhésion. Deux états labiles sont aussi attribués aux fragments EC1-EC2, et présentent des

constantes de dissociation de $3,9 \text{ s}^{-1}$ et $0,02 \text{ s}^{-1}$. Les deux états d'adhésion forte mettent en jeu les autres fragments et ont des constantes de dissociation de $3,9 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ et 10^{-5} s^{-1} . Les auteurs suggèrent le scénario suivant pour l'adhésion entre paires de cadhérines : l'adhésion entre cadhérines débute par une interaction faible et rapide, à laquelle seuls les fragments EC1 et EC2 prennent part. Puis, les liens entre cadhérines se renforcent en recouvrant un plus grand nombre de domaines, suivant une cinétique plus lente, à la fois pour l'association et la dissociation. La dimérisation *cis* serait très rapide et n'est pas considérée ici.

Bilan de l'état de l'art sur l'interaction entre cadhérines

Pour résumer, d'après les diverses études présentées ici, l'interaction entre cadhérines fait intervenir plusieurs états d'adhésion, aux temps de vie radicalement différents, rendant compte des fonctions multiples qu'assument les cadhérines : une reconnaissance spécifique rapide et la formation de liaisons adhérentes et stables entre cellules.

Les fragments EC1 et EC2 sont responsables de la spécificité de l'interaction et induisent une adhésion faible et labile. Cette adhésion n'est pas toujours observée, ceci dépendant de la sensibilité de la méthode de mesure. Les différentes études menées en AFM, chambre à flux et BPF convergent pour attribuer à l'interaction impliquant les fragments EC1 et EC2 des temps de vie faibles, avec des constantes de dissociation (à force nulle) proches de 1 s^{-1} . Les cadhérines peuvent aussi induire, en recouvrant davantage de domaines, une adhésion plus stable, avec des temps de vie qui varient entre 100 s et plusieurs heures, soit des constantes de dissociation variant entre 10^{-2} s^{-1} et 10^{-5} - 10^{-6} s^{-1} . Le temps de contact et les contraintes exercées sur les molécules sont des paramètres fondamentaux qui peuvent conduire à observer ces différents modes d'interaction entre cadhérines. Enfin, notons aussi que l'organisation en « zipper » et les interactions avec le cytosquelette peuvent également renforcer l'adhésion effective entre cellules.

Dans ce contexte, nous avons focalisé notre étude expérimentale sur des dimères de cadhérines préformés (ectodomains uniquement), où les cinq domaines sont présents. Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer l'état d'adhésion accessible avec notre méthode expérimentale. Dans un second temps, nous nous sommes attachés à mesurer la constante cinétique d'association relative à l'état d'adhésion observé.

3.3.2. Étude expérimentale de l'adhésion entre cadhérines

Nous avons étudié l'adhésion induite par les cinq fragments de cadhérines et, plus précisément, à l'aide de la méthodologie présentée dans les paragraphes précédents, nous avons estimé la constante cinétique d'association entre ces cinq fragments. Dans ce cadre, nous avons cherché à réaliser une adhésion entre particules magnétiques due à la reconnaissance spécifique entre cadhérines et déclenchée par l'application d'un champ magnétique extérieur.

a) Greffage des cadhérines sur les particules magnétiques

Nous avons utilisé des E-cadhérines d'origine humaine, distribuées par Sigma Aldrich, qui sont sous forme de chimères. Il s'agit donc d'assemblages moléculaires à base de cadhérines. Seule la partie extracellulaire, composée des cinq fragments EC, est présente dans cet assemblage. Une chimère est composée de deux molécules de cadhérines (dimère *cis*), fixées par leur domaine EC5 à un même fragment Fc d'une immunoglobuline G (IgG) humaine (figure 3.14). En outre, ce fragment Fc est lié par son extrémité à une série d'histidines, appelée « tag histidine ». Cet assemblage présente ainsi deux fonctions : les dimères de cadhérines sont préformés et les cadhérines peuvent être facilement greffées et orientées sur des surfaces. Le greffage peut être réalisé suivant deux voies : via le fragment Fc ou via le tag histidine. Le fragment Fc peut être capturé de façon spécifique par une protéine anti-Fc, comme la protéine A. Le tag histidine peut chélater un ion métallique, comme le Nickel. Notons que les chimères de cadhérines utilisées ont un poids moléculaire d'environ 150 000 g.mol⁻¹. Ce produit est fourni sous la forme d'une poudre, obtenue après lyophilisation de 1 mL d'une solution de chimères, avec notamment 2 mM de CaCl₂.

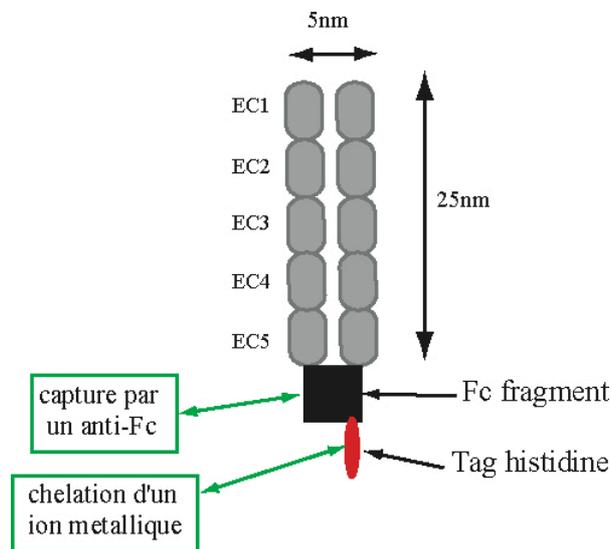


Figure 3.14 : chimère de E-cadhérines utilisée (distribuée par Sigma Aldrich).

L'étape de fixation des cadhérines à la surface des particules est une étape critique, car l'adhésion entre particules va dépendre de la manière dont sont accrochées les cadhérines et de leur quantité. Nous avons choisi une capture des chimères de cadhérines via leur fragment Fc, car le greffage de protéines anti-Fc était relativement « simple » sur nos particules, contrairement à une capture via le tag histidine. Pour cela, des protéines A, reconnaissant spécifiquement les fragments Fc, ont été greffées auparavant sur les particules. De cette manière, nous avons pu contrôler la quantité de chimères de cadhérines accrochées par la quantité de protéines A greffées. D'autre part, nous avons assuré une bonne orientation des cadhérines à la surface des particules grâce à l'accrochage via le fragment Fc de la chimère. Les divers protocoles de greffage et de dosage du nombre de molécules greffées sont détaillés dans la thèse de Laetitia Cohen-Tannoudji [Cohen-Tannoudji 2006]. Notons qu'une étape de dialyse a été nécessaire pour, entre autres, se débarrasser des ions Calcium, car leur concentration est un des paramètres de contrôle de notre étude. Nous avons finalement obtenu

des particules recouvertes de cadhérines correctement orientées (figure 3.15). Cette configuration a été confirmée par plusieurs expériences de contrôle.

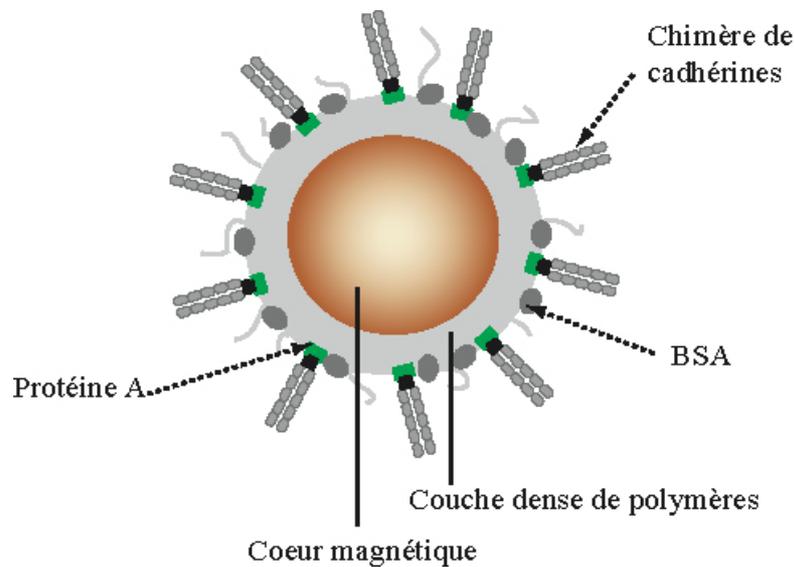


Figure 3.15 : accrochage des chimères de cadhérines à la surface des particules magnétiques.

b) Spécificité de l'adhésion

Pour étudier l'adhésion entre particules magnétiques, spécifique de l'interaction entre cadhérines, et déclenchée par le champ magnétique, de nombreuses précautions ont été prises. La reconnaissance entre cadhérines requiert des conditions physico-chimiques particulières, en termes d'état de surface des particules et de composition du milieu continu, qui peuvent perturber la stabilité colloïdale. Dans un premier temps, nous avons étudié la stabilité des particules recouvertes de cadhérines dans des conditions favorables à la reconnaissance, mais sans champ magnétique. Puis, dans un second temps, nous avons comparé l'adhésion déclenchée par le champ avec ou sans cadhérines, toutes choses égales par ailleurs. Les principaux paramètres physico-chimiques jouant sur la stabilité colloïdale sont : la force ionique totale de la solution, la présence d'ions divalents (Calcium) qui interagissent avec le polyélectrolyte à la surface des particules, le pH, et le taux de greffage de protéines, qui change l'état de surface des particules.

Pour s'assurer de la spécificité de l'adhésion observée, nous avons vérifié deux propriétés essentielles de l'interaction entre cadhérines. En effet, nous avons confirmé l'influence attendue de la concentration en Calcium et vérifié que l'adhésion était inhibée par des molécules (acide indole 3-acétique) se substituant au tryptophane. Par la suite, nous avons travaillé en milieu calcique, à une concentration en Calcium de 2 mM.

Enfin, nous avons montré que l'adhésion dépendait de la quantité de cadhérines adsorbées à la surface des particules. L'augmentation de l'adhésion avec le nombre de cadhérines présentes à la surface des particules, dans des conditions expérimentales identiques, nous a conforté dans l'idée que l'adhésion observée était bien spécifique de l'interaction entre cadhérines.

c) Caractérisation des particules recouvertes de cadhérines

Avant d'étudier les profils force-distance et la cinétique d'adhésion entre particules induite par la reconnaissance entre cadhérines, il est indispensable de caractériser ces particules. Il s'agit, d'une part, de vérifier que l'image proposée pour décrire l'état de surface des particules est, à peu de chose près, correcte. D'autre part, il est nécessaire d'évaluer la quantité de cadhérines capturées à la surface des particules, car l'état d'adhésion après une étape de champ magnétique dépend de cette quantité. Dans la suite, la connaissance de cette quantité sera nécessaire pour estimer une constante cinétique d'association entre cadhérines.

Par ailleurs, en répétant l'expérience d'adhésion pour les mêmes échantillons et de façon consécutive, nous avons vérifié que l'adhésion induite par les cadhérines était réversible. Une fois les liens réalisés, ils se défont, mais peuvent se former à nouveau, en quantité comparable, grâce à une nouvelle étape de champ magnétique. Cette observation suggère que **les cadhérines ne se décrochent pas des particules pendant la durée de nos expériences et qu'elles restent « actives »**. Le temps de dissociation des fragments Fc sur la protéine A ne semble donc pas être un facteur limitant ici. La capture des chimères de cadhérines par la protéine A est donc une voie d'accrochage efficace.

Par dosage en retour [Cohen-Tannoudji 2006], nous avons estimé que 70 chimères étaient capturées par particule, pour des particules incubées avec 100 chimères par particule et que 10 chimères étaient capturées pour une incubation avec 25 chimères par particule. Ainsi, nous avons montré que le nombre de cadhérines fixées à la surface des particules pouvait être contrôlé par l'étape d'incubation (table 3.1).

Quantité de protéines A apportées	Quantité de protéines A greffées	Quantité de chimères apportées	Quantité de chimères capturées
850 PA/ particule	280 PA/ particule	100 / particule	70 / particule
		25 / particule	10 / particule

Table 3.1 : quantités de chimères capturées pour différentes conditions.

Le dosage des chimères sur les particules a permis de s'assurer que les cadhérines étaient bien à la surface des particules. De plus, une étude du rôle de la protéine A a permis de vérifier l'orientation des cadhérines à la surface des particules. L'image proposée en figure 3.15 semble ainsi correcte pour décrire l'état de surface des particules recouvertes de cadhérines. Enfin, nous avons également montré que les cadhérines restaient accrochées sur les particules sur des temps plus longs que nos temps caractéristiques d'observation.

3.3.3. Profils force-distance de particules magnétiques liées par des cadhérines

En réalisant des profils force-distance sur des particules liées par des cadhérines, nous avons pu caractériser plus précisément ces liens. En effet, d'après les études bibliographiques, l'interaction entre cadhérines est multiple et présente plusieurs états d'adhésion.

a) La « Magnetic Chaining Technique » (MCT)

La technique expérimentale que nous avons utilisée pour déterminer les profils force-distance est appelée MCT et a été mise au point par Leal Calderon *et. al.* en 1994 [Leal Calderon 1994]. Elle repose sur les propriétés des particules colloïdales superparamagnétiques que nous avons déjà présentées, et plus précisément sur les caractéristiques des chaînes qu'elles forment sous champ. En effet, dès l'application d'un champ magnétique, les particules s'organisent sous forme de chaînes au sein desquelles elles sont régulièrement espacées, d'une distance centre à centre d . Cette organisation résulte d'un équilibre entre forces colloïdales répulsives et forces colloïdales attractives. Les forces répulsives comprennent les forces électrostatiques, si les particules sont chargées, et/ou les forces stériques si les particules sont recouvertes de chaînes de polymères. La force magnétique est la principale contribution aux forces attractives. Elle dépend de l'intensité B du champ magnétique, des caractéristiques des particules et de la distance d . L'autre composante attractive est la force de van der Waals entre objets colloïdaux de même composition. Ces deux composantes peuvent être calculées connaissant les propriétés des particules et la distance d . De l'équilibre mécanique, on déduit l'amplitude des forces répulsives pour la distance d .

Si l'intensité du champ magnétique augmente, la force attractive augmente, un nouvel équilibre est atteint, pour lequel la distance d est plus faible. A chaque valeur de B , si on mesure d , on peut alors calculer la force attractive et en déduire la force répulsive. On reconstruit ainsi le profil de la force répulsive entre particules en fonction de d . La principale difficulté réside dans la détermination expérimentale de la distance d . C'est grâce aux propriétés optiques des chaînes de particules que cette distance peut être mesurée. L'origine de cette méthode réside dans l'observation des suspensions magnétiques qui changent de couleur avec l'intensité du champ appliqué. En effet, les chaînes de particules régulièrement espacées créent un réseau unidimensionnel qui diffracte la lumière, ce qui est illustré par la figure 3.16. La longueur d'onde diffractée λ vérifie la condition de Bragg :

$$d = \frac{k\lambda}{n(1 + \cos\theta)}$$

où k est un entier positif, n est l'indice de réfraction du milieu et θ l'angle entre la direction de la lumière incidente et la direction de la lumière diffractée (figure 3.16). Ainsi, un détecteur, relié à un analyseur de spectre, est placé à un angle θ précis. La longueur d'onde diffractée à l'angle θ est déterminée et la distance d entre particules en est déduite. Pour des particules de 200 nm de diamètre, pour des angles proche de 0° , la longueur d'onde diffractée est dans le visible.

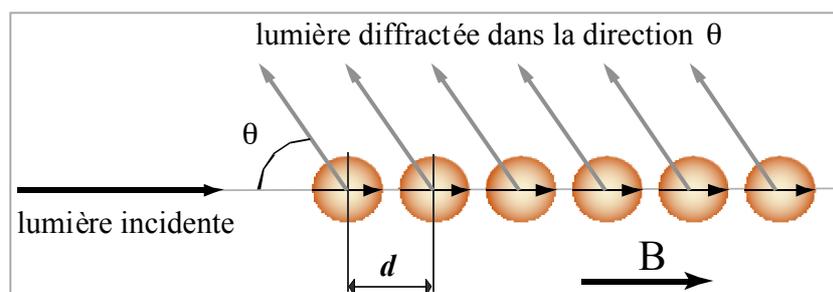


Figure 3.16 : les particules organisées sous chaînes dans la direction du champ diffractent la lumière.

Cette technique a notamment permis de vérifier expérimentalement la théorie DLVO sur des particules chargées par un tensioactif ionique [Leal Calderon 1994], grâce à la construction de profils de force répulsive d'origine électrostatique. La force magnétique dipolaire attractive a été modélisée par Zhang et Widom [Zhang 1995] pour des particules espacées de d dans une chaîne infinie, connaissant l'intensité B du champ extérieur appliqué. Au niveau d'une particule dans une chaîne, il faut distinguer champ extérieur et champ local, qui résulte de la présence des autres particules. Chaque particule ressent donc un champ total B_T qui est la somme de ces deux contributions :

$$B_T = B + 1,202 \frac{\mu_0 m}{\pi d^3}$$

où le préfacteur 1,202 provient de la somme des contributions de chacune des particules dans la chaîne, et où le moment magnétique m d'une particule s'écrit :

$$m = \frac{4\pi}{3} r^3 \chi_{\text{part}} \frac{B_T}{\mu_0}$$

Des deux équations précédentes, on déduit l'expression du moment m :

$$m = \frac{4\pi r^3 \chi_{\text{part}} B}{3\mu_0 \left(1 - \frac{1,202 \cdot 4\pi r^3 \chi_{\text{part}}}{3d^3} \right)}$$

Finalement, la force magnétique dipolaire entre deux particules distantes de d dépend de m et de d selon :

$$F_{\text{magn}} = -1,202 \frac{3\mu_0 m^2}{2\pi d^4}$$

La force attractive de van der Waals entre deux particules polymérisées peut être décrite par un système à 5 couches, comme cela est illustré en figure 3.17.

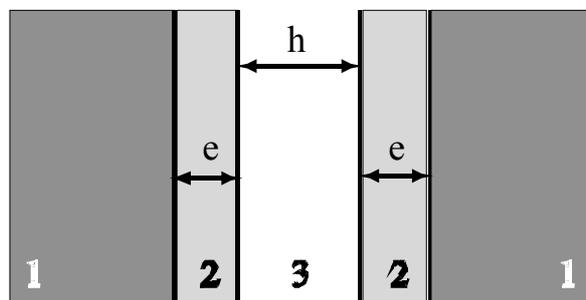


Figure 3.17 : modèle à cinq couches pour les interactions de van der Waals, le milieu 1 correspond au cœur magnétique, le milieu 2 à la couche de polymères réticulée et le milieu 3 à la solution aqueuse.

Pour une telle situation la force de van der Waals est donnée par [Israelachvili 1991] :

$$F_{\text{vdw}} = -\frac{r}{12} \left(\frac{W_{232}}{h^2} - \frac{2W_{123}}{(h+e)^2} + \frac{W_{121}}{(h+2e)^2} \right)$$

où r est le rayon des particules, h et e sont définis sur la figure 3.17. W_{ijk} est la constante de Hamaker de deux milieux semi-infinis (i) et (k) interagissant à travers un milieu (j). Plus précisément ces constantes de Hamaker dépendent des indices de réfraction n et des constantes diélectriques statiques ϵ de chacun des milieux [Bertrand 2003].

Pour le milieu 1 correspondant au cœur magnétique, l'indice de réfraction a été mesuré sur des particules non polymérisées par Rémi Dreyfus à l'aide d'un spectrophotomètre à sphère intégratrice [Dreyfus 2005]. Pour une longueur d'onde de 500 nm, n_1 vaut 1,73 et $\epsilon_1 \approx 3$ car, ici, dans la mesure où le cœur dur absorbe peu la lumière aux longueurs d'onde considérées, on a $\epsilon = n^2$. Pour le milieu 2, on a fait l'approximation qu'il s'agissait uniquement de polystyrène avec n_2 valant 1,6 et $\epsilon_2 \approx 2,6$. Enfin, pour l'eau, n_3 vaut 1,33 et $\epsilon_3 = 80$. Ainsi, le calcul des constantes de Hamaker donne ici $W_{232} = 2,4 \cdot 10^{-20}$ J, $W_{121} = 3,2 \cdot 10^{-21}$ J et $W_{123} = 8,2 \cdot 10^{-21}$ J.

b) Détermination expérimentale des profils force-distance

En premier lieu, la détermination des profils force-distance nous a renseigné sur l'état de surface des particules dans nos conditions expérimentales. Les profils force-distance ont d'abord été réalisés sans Calcium. Le profil est peu sensible à la présence de cadhérines : il est seulement légèrement plus répulsif. Cette faible composante répulsive supplémentaire peut résulter d'une composante stérique, due à la présence des cadhérines, ou d'un léger changement du potentiel de surface des particules. On a donc pu raisonnablement considérer que les interactions colloïdales entre particules n'étaient pratiquement pas perturbées par la présence de cadhérines dans ces conditions.

Dans un second temps, nous avons réalisé les profils force-distance de particules liées par des cadhérines. Pour s'assurer que toutes les particules étaient liées au sein des chaînes, nous avons utilisé des particules « fortement » recouvertes de cadhérines en présence de Calcium. Les échantillons ont subi une première étape de champ magnétique constant pendant 10 min, puis les profils ont été mesurés pour une rampe croissante de champ magnétique (figure 3.18).

Nous nous sommes placés dans des conditions expérimentales pour lesquelles les profils de force n'évoluent plus avec le nombre de ligands à la surface des particules. Ainsi, nous pouvons affirmer que les particules sont liées par plusieurs liens cadhérines, et que ce nombre de liens (que nous pouvons évaluer à cinq environ) n'évolue plus.

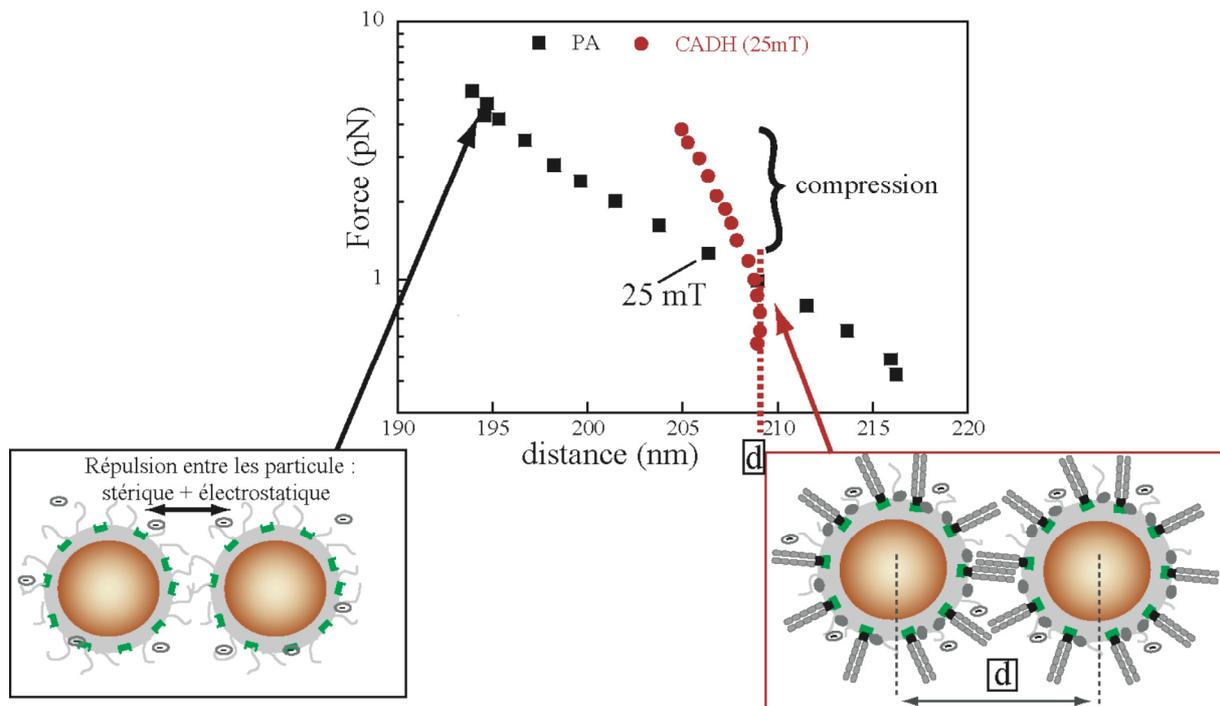


Figure 3.18 : profil force-distance après une étape de 10 min à 25 mT pour : des particules greffées avec de la protéine A uniquement (carrés), en présence de 2 mM de CaCl_2 ; des particules incubées avec 270 cadhérines par particule (disques) et en présence de 2 mM de CaCl_2 . Le lien entre particules est attribué à un état d'adhésion « profond » entre cadhérines.

Le profil force-distance pour des particules greffées avec de la protéine A, sans cadhérine mais en présence de calcium, est considéré comme le profil de référence. Le profil force-distance des particules liées « croise » ce profil de référence : il y a donc un régime de compression et un régime d'étirement des « liens cadhérines » [Koenig 2005]. Remarquons ici que seule la compression engendre une « déformation » du lien : la distance varie davantage dans ce régime (de 4 nm), alors qu'elle reste constante dans le régime d'étirement (figure 3.18). L'origine de la déformation peut être attribuée à une courbure des molécules, à une compression pure des cadhérines ou à un glissement des cadhérines vers un état d'interdigitation plus grand.

Quand le lien est « au repos », la distance centre à centre entre particules est d'environ 210 nm, et est caractéristique du lien sondé. Les particules ayant un diamètre de 175 nm (en présence de calcium), la taille totale du lien est donc proche de 35 nm. En prenant en compte la taille des sandwiches protéine A - fragment Fc (10 nm environ), la taille mesurée du lien « cadhérine » est proche de 25 nm. Comme nous l'avons mentionné précédemment, les cadhérines forment différents types de liens, caractérisés par le nombre de domaines cadhérine qui y participent. D'après la taille du lien mesurée dans nos expériences, le nombre de domaines impliqués peut être estimé. Si les cadhérines sont strictement perpendiculaires à la surface des particules, le lien mesuré correspond à des cadhérines totalement interdigitées, c'est-à-dire où les cinq domaines sont impliqués (figure 3.13.A). En revanche, si les cadhérines ont une « structure courbe » (figure 3.11.A.ii) ou si elles ne sont pas « parfaitement » perpendiculaires à la surface des particules, on peut attribuer le lien formé à des cadhérines qui ne sont pas totalement interdigitées. En tout état de cause, la configuration

où les cadhérines interagissent uniquement via les fragments EC1-2 est exclue, car elle donnerait des liens d'environ 50 nm.

Le profil force-distance mesuré est donc attribuable à un état d'adhésion « profond » entre cadhérines, c'est-à-dire avec une interdigitation au moins jusqu'à EC3 (figure 3.18).

c) Influence des conditions de formation des liens cadhérines

L'influence de l'étape de formation des liens a fait l'objet d'une étude en MCT. Dans le cas des cadhérines, d'après la littérature, les liens entre cadhérines semblent dépendre des conditions de contact entre surfaces. Ainsi, nous nous sommes intéressés à cette caractéristique spécifique aux cadhérines en réalisant des profils force-distance dans différentes conditions de formation des liens. Pour tenter de mettre en évidence une propriété propre aux cadhérines, l'étude des conditions de formation des liens a été conduite en parallèle pour des liens cadhérines et pour des liens « classiques », à savoir des liens streptavidine-BSA-biotinylée. Les liens entre particules sont formés pendant une étape de 10 min pour différentes intensités de champ magnétique, entre 17 mT et 60 mT.

Pour les liens streptavidine-BSA biotinylée, les profils de force des particules liées sont très proches quelle que soit l'intensité du champ magnétique de l'étape de formation. Nous en concluons que la distance moyenne entre surfaces au moment de la formation du lien n'a pas d'influence sur l'adhésion obtenue. La variabilité sur les profils force-distance est d'environ 2 nm, ce qui constitue à peu près la précision de cette technique, et sera utilisée comme barre d'erreur sur la distance dans la figure 3.19.

Pour les liens entre cadhérines, une grande variabilité de profils force-distance est observée en fonction de l'intensité du champ magnétique de l'étape de formation. Nous nous intéressons désormais à la distance centre à centre au « repos » (i.e. ni en compression ni en étirement), caractéristique des liens observés. Cette distance varie ici sur une plage de 10 nm, ce qui ne peut être attribué à l'incertitude de la technique. Néanmoins, une tendance générale, caractéristique des liens cadhérines, se dégage. Au champ le plus faible (17 mT), la distance au repos est d'environ 215 nm, de façon très reproductible. Pour tous les autres champs (de 25 mT à 60 mT), cette distance est comprise entre 206 nm et 208 nm. Notons que la valeur de 206 nm obtenue à 60 mT est, elle aussi, une observation particulièrement reproductible. Pour tous les champs intermédiaires (25 à 42 mT) la variabilité est plus grande, la distance n'excédant toutefois jamais 210 nm. Deux groupes de profils « reproductibles » se distinguent donc : l'un à champ « faible » et l'autre à champ « fort ».

L'existence de deux populations de distance au repos suggère la formation de deux états d'adhésion distincts entre cadhérines. Etant donnée la valeur de ces distances au repos, nous pouvons affirmer que ces deux états d'adhésion correspondent à des états d'adhésion « profonds » entre cadhérines (figure 3.19). Cette observation est cohérente avec les études de Perret *et al.* et Bayas *et al.* qui, pour cette adhésion « forte » suggèrent l'existence de plusieurs états d'interdigitation des liens [Perret 2004, Bayas 2006]. Dans le cas de notre étude, c'est la contrainte imposée par les conditions de contact qui détermine l'état d'adhésion observé. Pour les champs intermédiaires, une moyenne entre les deux états d'adhésion est sans doute obtenue sur les différentes particules au sein des chaînes. En effet, il faut garder à l'esprit que cette technique donne une distance moyennée sur un très grand nombre de liens.

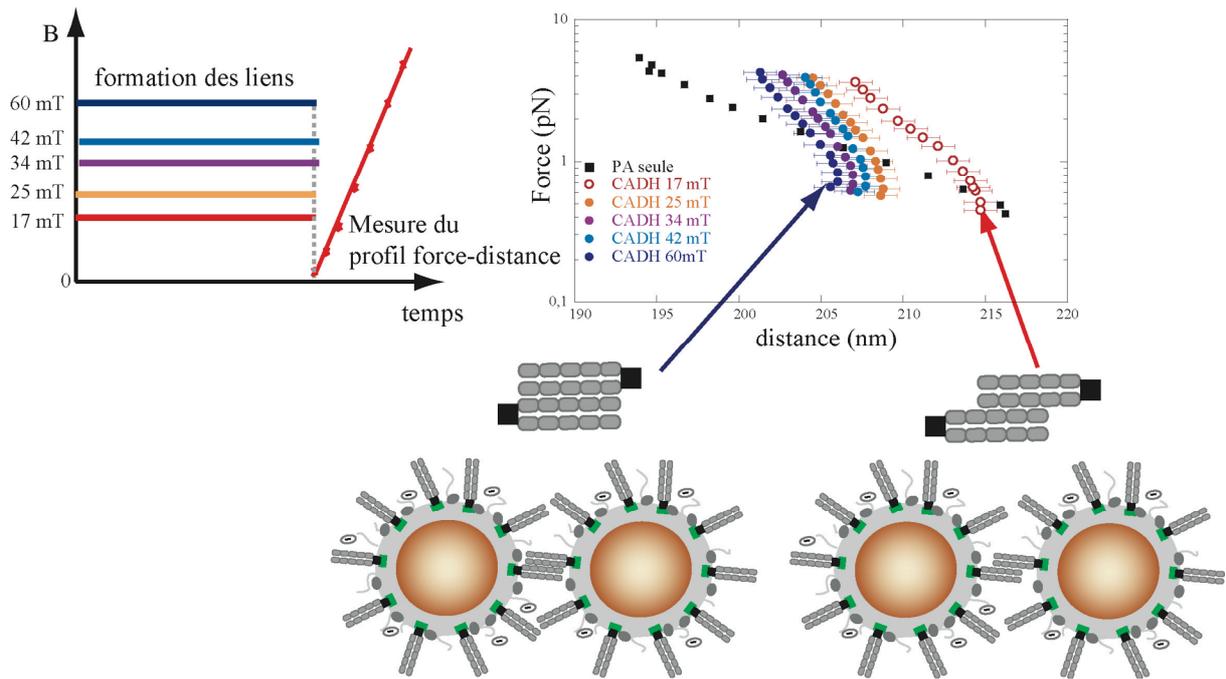


Figure 3.19 : effet de l'intensité du champ magnétique de l'étape de formation des liens sur la taille des liens formés entre particules dans le cas de l'interaction entre cadhérines.

Pour le champ le plus fort, la distance centre à centre est de 206 nm, ce qui correspond à une taille de lien cadhérine d'environ 20 nm. Dans ce cas, il ne peut s'agir que de l'état d'adhésion où tous les domaines cadhérines sont impliqués. Dans la suite, cet état sera appelé l'état « d'interdigitation totale ». Pour le champ le plus faible, la distance centre à centre est d'environ 215 nm, ce qui correspond à une taille de lien entre cadhérines d'environ 30 nm. Cet état se rapporte à une adhésion impliquant entre 3 et 4 domaines cadhérines. Cet état sera appelé l'état « d'interdigitation moyenne ».

Notons, pour conclure, que le décalage des profils de force, entre le champ le plus faible et le champ le plus fort, est une observation reproductible, preuve expérimentale de l'observation de deux états d'adhésion différents, qui correspondent à deux états d'adhésion profonds entre cadhérines, obtenus grâce à des conditions de contact différentes. Cette variabilité dans la formation des liens est caractéristique des liens entre cadhérines et confirme certaines hypothèses de la littérature (paragraphe 3.3.1).

L'étude de la cinétique d'adhésion entre particules s'est donc inscrite dans le cadre de la description de ces états d'adhésion profonds entre cadhérines.

3.3.4. Détermination expérimentale de la constante cinétique d'association entre cadhérines

Nous avons exploité la méthodologie expérimentale basée sur les particules magnétiques, présentée et validée au paragraphe 3.2, pour mesurer les constantes cinétiques de reconnaissance entre cadhérines. D'après les données de la littérature déjà évoquées, les liens réalisés par EC1-2 sont trop « labiles », avec des temps de vie de quelques dixièmes de seconde, trop courts pour être détectés par notre méthode. L'étude cinétique de la reconnaissance entre cadhérines ne se rapporte donc pas à une interaction entre les fragments EC1-2. Par ailleurs, l'étude des profils force-distance a confirmé que nous n'observons pas ce type de liens, puisque nous avons montré que les liens formés dans nos conditions expérimentales étaient réalisés par une interdigitation des cadhérines au moins jusqu'à EC3.

a) Conditions expérimentales requises pour un couple homotypique

Notre méthode expérimentale repose sur la mesure de cinétiques de formation de doublets indépendants. Dans le cas de couples ligand-récepteur classiques, c'est-à-dire « hétérotypiques », le protocole expérimental pour reconstruire des couples de particules réactives indépendantes est relativement simple. En revanche, dans le cas de couples homotypiques, comme dans le cas présent des cadhérines, le mode opératoire doit être adapté. En effet, il doit répondre à deux conditions fondamentales : **obtenir uniquement des doublets** et des singulets après une étape de champ, et réaliser **un lien unique** au sein de chaque doublet. Être en « régime doublets », régime où au maximum des doublets sont formés, est une condition essentielle pour pouvoir interpréter les signaux de turbidimétrie, et pour attribuer un temps caractéristique, spécifique de l'interaction étudiée, à la formation d'un doublet. Réaliser un unique lien entre doublets permet d'utiliser la description cinétique présentée au paragraphe 3.2. pour interpréter les expériences.

Nous ne pouvons pas utiliser une seule population de particules recouvertes de cadhérines : des chaînes permanentes de différentes tailles se seraient alors formées. À des particules recouvertes de cadhérines ont donc dû être ajoutées des particules « nues » (ou non-gréffées), ce qui permet de « séparer » les particules recouvertes de cadhérines. En ajoutant suffisamment de particules nues, on peut se placer dans un régime où, statistiquement, des doublets seront majoritairement formés. Cependant, pour réaliser des liens uniques entre doublets permanents, nous avons même dû considérer trois populations de particules : des particules nues, des particules « peu recouvertes » de cadhérines et des particules « fortement recouvertes » de cadhérines. En jouant sur les quantités relatives des différentes populations, nous avons réussi à former majoritairement des doublets, avec un unique lien, entre une particule fortement recouverte et une particule peu recouverte de cadhérines (doublets de type A sur la figure 3.20).

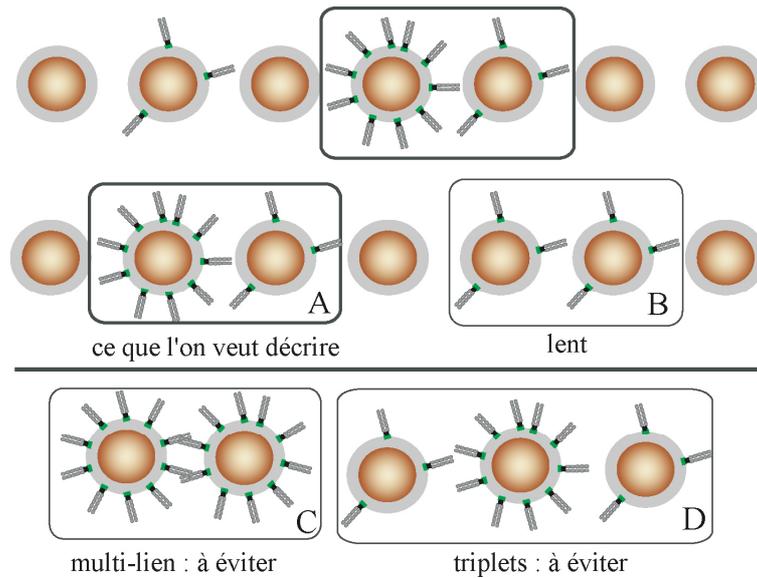


Figure 3.20 : comment réaliser les conditions de « régime doublets » pour un couple homotypique.

La cinétique de formation de doublets de type A conduit aux constantes cinétiques de la reconnaissance entre cadhérines. Mais la formation d'objets différents (doublets B, C, triplets D) ne peut être complètement évitée. Les doublets de types B, entre particules peu recouvertes, se forment beaucoup plus lentement, et nous pouvons supposer que leur formation n'interfère pas avec la mesure de la formation des doublets A. En revanche, nous nous sommes efforcés de minimiser la formation des doublets C, entre particules fortement recouvertes, car ils peuvent être reliés par plusieurs liens. Enfin, la formation de triplets D a aussi dû être minimisée. En considérant toutes ces contraintes, nous avons travaillé avec des échantillons « mélange », de composition optimisée à : 50% de particules nues, 40% de particules peu recouvertes (10 chimères dosées par particule) et 10% de particules fortement recouvertes (70 chimères dosées par particule). Dans de telles proportions, nous avons évalué statistiquement, par une simulation numérique basique : 8 % de doublets de nature A et 16 % de nature B (mais beaucoup plus lents), 1% de doublets C, et 1,5 % de triplets D.

Même dans ces conditions adaptées à la formation majoritaire de doublets A, la formation des autres doublets et de doublets non spécifiques intervient. Cela a pour conséquence de bruyter la cinétique qui nous intéresse et que l'on sait interpréter. Pour rendre compte de l'amplitude des différentes sources de bruit, divers échantillons témoins ont été considérés. Un premier témoin était constitué entièrement de particules « nues ». Pour évaluer l'importance de la formation des doublets de type B, un échantillon témoin contenant des particules nues (60%) et des particules faiblement recouvertes (40%) a aussi été étudié. De la même façon, pour estimer l'influence de la formation des doublets C, un échantillon composé de particules nues (90%) et de particules fortement recouvertes (10%) a été considéré.

b) Évaluation de la constante d'association entre cadhérines

Mesure de cinétique de formation de doublets liés par des cadhérines

La mesure de cinétique de formation de doublets est beaucoup plus bruitée dans le cas de liens cadhérines que dans le cas de liens streptavidine-biotine. En effet, la formation des

différents types de doublets perturbe la mesure. Un exemple de suivi de cinétique d'adhésion est donné en figure 3.21 pour un champ de 17 mT pour l'échantillon « mélange » et les échantillons témoins (figure 3.21.A). La cinétique de formation de doublets de type A est déduite de la différence entre la contribution du mélange et la somme des différentes contributions des témoins (figure 3.21.B).

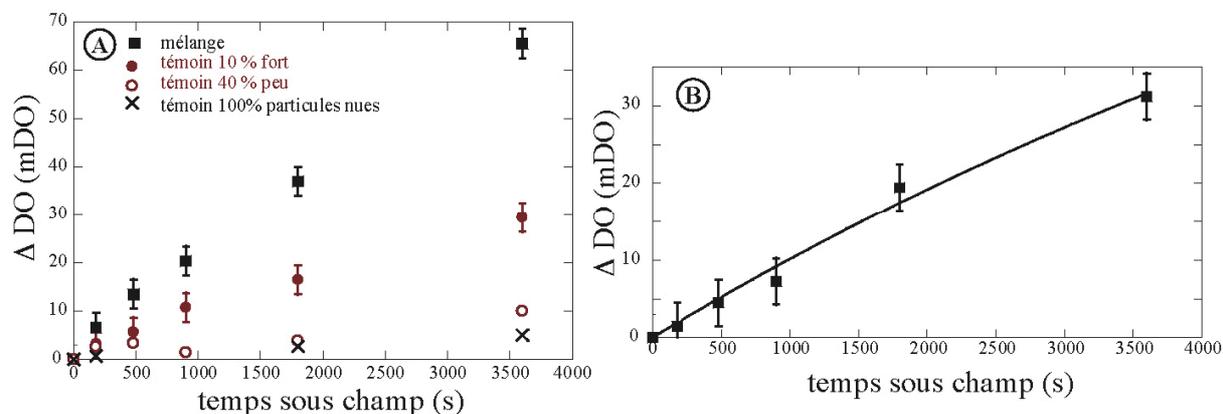


Figure 3.21 : A. Suivi de cinétique d'adhésion à 17 mT, pour un échantillon « mélange » avec 10% de particules fortement recouvertes de cadhérines (70 chimères par particule), 40% de particules peu recouvertes de cadhérines (10 chimères par particule) et 50% de particules non greffées (carrés) ; pour un échantillon témoin avec 10% de particules fortement recouvertes en cadhérines et 90% de particules non greffées (disques) ; pour un échantillon témoin avec 40% de particules peu recouvertes de cadhérines et 60% de particules non greffées (cercles) ; pour un échantillon témoin avec 100% de particules non greffées (croix). B. Déduction de la cinétique de formation de doublets de type A.

En utilisant la cinétique des doublets de type A, une fréquence de reconnaissance apparente est estimée à $2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. En reproduisant ce type de mesure, la variabilité sur les témoins est relativement importante, mais la cinétique du mélange est toujours du même ordre de grandeur. Ainsi, la fréquence de reconnaissance apparente est comprise entre $2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ et $5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, avec une valeur moyenne de $3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

Estimation de la constante cinétique d'association entre cadhérines

Pour estimer la constante d'association entre cadhérines, nous considérons la valeur caractéristique de $3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ pour la fréquence de reconnaissance apparente, k_{exp} . Après dosage des cadhérines capturées, il s'avère que la fréquence mesurée correspond à un couple de particules réactives avec l'une portant 10 chimères et l'autre 70 chimères. Comme nous l'avons vu, dans l'expression de la fréquence de reconnaissance apparente k_{exp} , intervient également la constante cinétique de dissociation :

$$k_{\text{exp}} = \frac{n_R A_C}{A^2} k_{\text{on}}^{2D} + k_{\text{off}}^{2D}$$

Pour déterminer la constante d'association, il faut donc estimer la constante de dissociation pour les liens formés, et à force nulle. En effet, pendant le contact entre cadhérines, c'est-à-dire sous champ magnétique, il y a un équilibre mécanique et aucune force

extérieure ne s'exerce sur les molécules. D'après les études menées en MCT et présentées précédemment, les liens formés ont été attribués à des états d'adhésion profonds. Leur constante de dissociation à force nulle est estimée à 10^{-5} s^{-1} , d'après l'étude de Perret *et al.* en BFP [Perret 2004]. Ainsi, il est raisonnable de négliger la contribution de la constante de dissociation dans la fréquence de reconnaissance apparente.

La fréquence de reconnaissance k ramenée à une chimère sur chaque particule a donc été estimée expérimentalement à $4 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$. Cette valeur correspond à une constante cinétique d'association de $7 \cdot 10^{-7} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, en considérant, comme dans le cas du couple streptavidine-biotine, une aire de contact de 7% de l'aire totale de la particule. Cet ordre de grandeur se distingue nettement de celui obtenu pour le couple streptavidine-biotine, même dans la configuration symétrique rigide (constante de $10^{-5} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). En effet, l'association est plus d'un ordre de grandeur plus lente pour les cadhérines que pour le couple streptavidine-biotine, pris dans sa configuration la plus lente.

Cette étude a donc permis de donner un ordre de grandeur de la constante d'association entre dimères de cadhérines quand elles se lient dans un état d'adhésion « profond ». Les cinétiques de formation de doublets pour des liens cadhérines ont été réalisées pour des champs magnétiques de 17 mT et 45 mT. Aucune influence significative du champ magnétique n'a été observée. Bien que nous ayons montré l'existence de liens différents avec la MCT, nous n'avons pas pu, compte tenu de la résolution de notre méthode, les distinguer par leur constante cinétique d'association.

3.3.5. Conclusions sur les interactions entre cadhérines et confrontation avec l'art antérieur

Notre étude a confirmé la complexité et la multiplicité des interactions entre cadhérines. Nous avons montré l'existence de deux états d'adhésion profonds entre dimères de cadhérines. Ces états sont relativement stables et font intervenir l'interdigitation d'au moins trois domaines cadhérine. Ces observations confirment les études en BFP de Perret *et al.* et de Bayas *et al.* [Perret 2004, Bayas 2006] et celles en SFA de Sivasankar *et al.* [Sivasankar 2001]. Alors que, dans les études en BFP, ces états étaient observés spontanément ou pour des temps de contact plus ou moins longs, nous les avons distingués en « contraignant » le contact entre surfaces, c'est-à-dire en imposant une distance moyenne différente. Nos conditions expérimentales se rapprochent, en ce sens, davantage de celles imposées dans les études en SFA. Dans ces études, la distance initiale entre surfaces est aussi fixée, et permet de sonder les différents états d'adhésion entre cadhérines.

Nous avons ainsi confirmé que la distance entre surfaces était un paramètre important dans la formation des différents états d'adhésion profonds. Enfin, notons que l'observation d'états d'adhésion profonds entre cadhérines est raisonnable si l'on garde à l'esprit que la fonction des cadhérines est de réaliser des jonctions adhérentes et stables entre cellules.

En ce qui concerne la cinétique de formation de ces états d'adhésion profonds, nous avons mesuré une constante cinétique d'association relativement faible, de $7 \cdot 10^{-7} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Cette mesure est cohérente avec les hypothèses et les indices présents dans la littérature, mais

cette constante cinétique n'avait jamais été mesurée auparavant. En considérant les temps de contact entre surfaces, Baumgartner *et al.* avaient remarqué que l'association entre cadhérines (pour les cinq fragments) était plus lente que l'association entre la sélectine et ses ligands [Baumgartner 2000]. Par ailleurs, Bayas *et al.* avaient aussi émis l'hypothèse d'une cinétique lente pour la formation d'états d'adhésion profonds entre cadhérines [Bayas 2006]. En effet, ces auteurs détectaient davantage de liens associés à des états d'adhésion profonds pour les temps de contact les plus longs. Enfin, une cinétique lente est également cohérente avec les fonctions attribuées aux cadhérines, qui, d'une part, sont ancrées au cytosquelette et qui, d'autre part, réalisent des jonctions entre cellules au repos, c'est-à-dire pour des temps de contact longs.

La constante d'association mesurée pour l'interaction entre cadhérines est aussi significativement plus petite que celle mesurée pour l'interaction entre streptavidine et biotine, prises dans leur configuration la plus lente. Cette différence peut être interprétée en invoquant, pour les cadhérines, un mécanisme de diffusion encore plus contraint que pour le couple streptavidine-biotine, c'est-à-dire avec un « ajustement » entre molécules plus complexe. Cette tendance ne serait pas surprenante car les cadhérines sont des « grosses » molécules rigides qui interagissent « en de nombreux points » et la spécificité stérique est sans aucun doute plus grande que dans le cas du couple streptavidine-biotine. Pour la reconnaissance entre cadhérines, nous pouvons également envisager l'existence d'une barrière d'activation, et interpréter la cinétique d'association comme limitée par une étape de réaction.

Nous avons donc appliqué notre méthode de mesure de constantes d'association à l'étude de molécules biologiques impliquées dans l'adhésion cellulaire : les cadhérines. Concilier l'environnement des cadhérines et la stabilité colloïdale, liée à notre méthode, a exigé une mise en oeuvre délicate. Cette étude a néanmoins permis d'observer l'influence déterminante des conditions de contact entre surfaces sur l'interaction entre cadhérines. En jouant sur ces conditions de contact, deux états d'adhésion profonds différents, impliquant au moins trois domaines cadhérines, ont pu être mis en évidence. En outre, l'étude de la cinétique d'association entre cadhérines s'est révélée pertinente, notamment à travers la détermination expérimentale d'une constante d'association lente. Cette caractéristique de l'interaction profonde entre cadhérines est à rapprocher de la fonctionnalité de ces molécules d'adhésion, qui maintiennent la cohésion des cellules au sein des tissus. En effet, cette fonction cohésive intervient entre cellules au repos, et ne nécessite pas une association rapide.

Par ailleurs, cette étude de l'interaction entre cadhérines nous a permis de démontrer la pertinence de la méthodologie introduite au paragraphe 3.2. pour des couples ligand-récepteur d'intérêt biologique, et plus complexes à manipuler que le couple modèle streptavidine-biotine. À l'occasion de cette étude, nous avons pu constater que notre méthode de mesure de cinétique était capable de mesurer des constantes d'association « 2D » aussi faibles que $7 \cdot 10^{-7} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. La gamme de mesure accessible avec notre méthode est donc finalement au moins comprise entre $7 \cdot 10^{-7} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $3 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

CONCLUSION du Chapitre 3

Au cours de ce chapitre, nous avons établi, par une étude bibliographique, que les interactions spécifiques entre molécules biologiques étaient des interactions physiques de même nature que celles qui régissent les phénomènes non-spécifiques, mais intervenant cette fois-ci de façon collective et à des échelles et avec des amplitudes différentes.

Nous avons également montré qu'une approche de physicien de ces interactions spécifiques entre molécules reliées à des surfaces permettait d'apporter des informations nouvelles quant à leur cinétique de reconnaissance. De ce point de vue, on peut affirmer que *Lifshitz et Helfrich n'avaient pas tout dit* sur les interactions entre surfaces, et même qu'il reste encore beaucoup à dire. Néanmoins, à travers l'étude des interactions entre cadhérines, nous avons vu les limites d'une approche purement physicienne de ces problématiques. En effet, il semble relativement artificiel de s'intéresser aux interactions entre molécules biologiques sans tenir compte de leur environnement physiologique réel. Ainsi, s'il reste beaucoup à apprendre sur les interactions entre molécules biologiques reliées à des surfaces, il est certain que rien de vraiment nouveau ne sera dit sans collaboration étroite entre physiciens et biologistes. Ce sont donc, à mes yeux, essentiellement les biologistes, secondés par les physiciens, qui ont encore beaucoup à dire sur les interactions entre surfaces d'intérêt biologique.

BIBLIOGRAPHIE du Chapitre 3

- [Baudry 2006] J. Baudry, C. Rouzeau, C. Goubault, C. Robic, L. Cohen-Tannoudji, A. Koenig, E. Bertrand and J. Bibette, Proc. Nat. Acad. Sci. 103, 16076 (2006).
- [Baumgartner 2000] W. Baumgartner *et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. 97, 4005 (2000).
- [Bayas 2006] M.V. Bayas *et al.*, Biophys. J. 90, 1385 (2006).
- [Berg 1977] H. Berg and E. Purcell, Biophysical Journal 20, 193-219 (1977).
- [Bertrand 2003] E. Bertrand, in : "*Transitions de mouillage : rôle des interactions entre interfaces*", Editions Publibook Université, préfacé par Pierre-Gilles de Gennes, Paris (2003).
- [Boggon 2002] T.J. Boggon *et al.*, Science 296, 1308 (2002).
- [Bongrand 1999] P. Bongrand, Reports on Progress in Physics 62, 921-968 (1999).
- [Braden 1994] B.C. Braden *et al.*, J. Mol. Biol. 243, 767 (1994).
- [Braden 1995] B.C. Braden and R.J. Poljak, Faseb Journal 9, 9 (1995).
- [Chappuis-Flament 2001] S. Chappuis-Flament *et al.*, J. Cell. Biol. 154, 231 (2001).
- [Chesla 1998] S.E. Chesla, P. Selvaraj and C. Zhu, Biophysical Journal 75, 1553-1572 (1998).
- [Cohen-Tannoudji 2006] Laetitia Cohen-Tannoudji, in : "*Cinétique de réactions ligand-récepteur en surface – étude fondée sur l'utilisation de colloïdes magnétiques*", Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2006.
- [Creighton 1993] T.E. Creighton, in : "*Proteins : structure and molecular properties*", (W.H. Freeman, New York, second edition, 1993).
- [Cuvelier 2004] D. Cuvelier and P. Nassoy, Phys. Rev. Lett. 93 (2004).
- [Davies 1996] D.R. Davies and G.H. Cohen, Proc. Nat. Acad. Sci. 93, 7 (1996).
- [Deremble 2005] C. Deremble and R. Lavery, Curr. Op. Struct. Biol. 15, 171 (2005).
- [Dreyfus 2005] Rémi Dreyfus, in : "*Filaments magnétiques : application à la conception de capteurs de force et de nageurs microscopiques artificiels*", Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2005.
- [du Roure 2006] O. du Roure *et al.*, Langmuir 22, 4680 (2006).
- [Dustin 1997] M.L. Dustin *et al.*, J. Biol. Chem. 272, 30889 (1997).
- [Emneus 1995] J. Emneus and G. Markovarga, J. Chromatography A 703, 191 (1995).
- [Evans 1991] E. Evans, D. Berk and A. Leung, Biophys. J. 59, 838 (1991).
- [Evans 1995] E. Evans, in : "*Physical actions in biological adhesion*", (Elsevier, Amsterdam, 1995).
- [Fannin 2006] P.C. Fannin *et al.*, Journal of Magnetism and Magnetic Materials 303, 147-152 (2006).
- [Florin 1994] E.L. Florin, V.T. Moy and H.E. Gaub, Science 264, 415 (1994).
- [Gumbiner 1996] B.M. Gumbiner, Cell 84, 345 (1996).
- [Israelachvili 1991] J.N. Israelachvili, in : "*Intermolecular and Surface Forces*", (Academic Press, London, second edition, 1991).
- [Ivanov 2001] D.B. Ivanov *et al.*, Biochem. Moscow 66, 1174 (2001).
- [Janin 1995] J. Janin, Prog. Biophys. Mol. Biol. 64, 145 (1995).
- [Janin 1997] J. Janin, Proteins-Structure, Function and Genetics 28, 153-161 (1997).
- [Koenig 2005] A. Koenig, P. Hébraud, C. Gosse, R. Dreyfus, J. Baudry, E. Bertrand and J. Bibette, Phys. Rev. Lett. 95, 128301 (2005).
- [Kubi 1994] J. Kubi, in : "*Immunology*", (W.H. Freeman, New York, 1994).
- [Lavery 2002] R. Lavery *et al.*, J. Phys. Cond. Matt. 14, R383 (2002).
- [Lauffenburger 1993] D.A. Lauffenburger and J.J. Linderman, in : "*Receptors – Models for binding, trafficking and signaling*", (Oxford University Press, 1993).
- [Lawrence 1991] M.B. Lawrence and T.A. Springer, Cell 65, 859-873 (1991).

- [Leal Calderon 1994] F. Leal Calderon, T. Stora, O. Mondain Monval, P. Poulin and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* 72, 2959 (1994).
- [Lee 2007] N.K. Lee, A. Johner, F. Thalmann, L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, J. Baudry, J. Bibette and C.M. Marques, soumis à publication à *Langmuir* (2007).
- [Lehn 1990] J.M. Lehn *et al.*, *J. Chem. Soc. – Chem. Comm.* 479 (1990).
- [Liedberg 1983] B. Liedberg, C. Nylander and I. Lundstrom, *Sensors and Actuators* 4, 299 (1983).
- [Likhthman 2006] A.E. Likhthman and C.M. Marques, *Europhysics Letters* 75, 971-977 (2006).
- [Lo Conte 1999] L. Lo Conte, C. Chothia and J. Janin, *J. Mol. Biol.* 285, 2177 (1999).
- [Long 2001] M. Long *et al.*, *Annals of biomedical engineering* 29, 935-946 (2001).
- [Mackowski 1996] D.W. Mackowski and M.I. Mishchenko, *Journal of the Optical Society of America A* 13, 2266-2278 (1996).
- [Mihailescu 2004] M. Mihailesci and M.K. Gilson, *Biophys. J.* 87, 23 (2004).
- [Miyamoto 1993] S. Miyamoto and P.A. Kollman, *Proteins-Struct. Funct. Bioinform.* 16, 226 (1993).
- [Nagar 1996] B. Nagar *et al.*, *Nature* 380, 360 (1996).
- [Nishizaka 1995] T. Nishizaka *et al.*, *Nature* 377, 251 (1995).
- [Northrup 1992] S. Northrup and H. Erickson, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89, 3338-3342 (1992).
- [Nose 1990] A. Nose *et al.*, *Cell* 61, 147 (1990).
- [Overduin 1995] M. Overduin *et al.*, *Science* 267, 386 (1995).
- [Perez-Luna 1999] V.H. Perez-Luna *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 121, 6469 (1999).
- [Perret 2002] E. Perret *et al.*, *Embo J.* 21, 2537 (2002).
- [Perret 2004] E. Perret *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101, 16472 (2004).
- [Pertz 1999] O. Pertz *et al.*, *Embo J.* 18, 1738 (1999).
- [Pierres 1996] A. Pierres *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 93, 15114 (1996).
- [Pierres 1998] A. Pierres, A.M. Benoliel and P. Bongrand, *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 3, 525 (1998).
- [Pierres 2001] A. Pierres *et al.*, *Biophysical Journal* 81, 25-42 (2001).
- [Pincet 2005] F. Pincet and J. Husson, *Biophys. J.* 89, 4374 (2005).
- [Pokutta 1994] S. Pokutta *et al.*, *Eur. J. Biochem* 223, 1019 (1994).
- [Pollard 1994] T.D. Pollard *et al.*, *Ann. Rev. Cell. Biol.* 10, 207 (1994).
- [Price 1997] C.P. Price and D.J. Newman, in : "*Principles and Practice of Immunoassay*", (Macmillan Reference LTD, London, second edition, 1997).
- [Rothen-Rutishauser 2002] B. Rothen-Rutishauser *et al.*, *J. Membrane Biol.* 188, 151 (2002).
- [Schreiber 1996] G. Schreiber and A.R. Fersht, *Nat. Struct. Biol.* 3, 427 (1996).
- [Shapiro 1995] L. Shapiro *et al.*, *Nature* 374, 327 (1995).
- [Shiozaki 1996] H. Shiozaki *et al.*, *Cancer* 77, 1605 (1996).
- [Sivasankar 1999] S. Sivasankar *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96, 11820 (1999).
- [Sivasankar 2001] S. Sivasankar *et al.*, *Biophys. J.* 80, 1758 (2001).
- [Smoluchowski 1917] M.V. Smoluchowski, *Zeit. Phys. Chem.* 92, 129 (1917).
- [Stark 2005] H. Stark *et al.*, *Journal of Physics-Condensed Matter* 17, S3631-S3637 (2005).
- [Steinberg 1999] M.S. Steinberg and P.M. McNutt, *Curr. Op. Cell Biol.* 11, 554 (1999).
- [von Andrian 1991] U.H. von Andrian *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88, 7538-7542 (1991).
- [Voss 1993] E.W. Voss, *Journal of Molecular Recognition* 6, 51-58 (1993).
- [Williams 1991] A.F. Williams, *Nature* 352, 473 (1991).
- [Yagi 2000] T. Yagi and M. Takeichi, *Genes Development* 14, 1169 (2000).
- [Zhang 1995] H. Zhang and M. Widom, *Phys. Rev. E* 51, 2099 (1995).

- [Zhu 2002] C. Zhu, M. Long, S.E. Chesla and P. Bongrand, *Ann. Biomed. Engin.* 30, 305 (2002).
- [Zhu 2003] C. Zhu *et al.*, *Biophys. J.* 84, 4033 (2003).

Chapitre 4 :

Des interactions entre surfaces d'objets en mouvement.

Jusqu'ici, dans ce mémoire, nous ne nous sommes intéressés qu'aux interactions entre surfaces au repos. Ainsi, la thermodynamique du XX^e siècle s'est avérée un outil puissant pour expliquer nos observations. Néanmoins, comme nous allons le voir dans ce chapitre, lorsque les surfaces sont en mouvement, la thermodynamique ne suffit plus, et l'hydrodynamique devient tout aussi pertinente.

Nous verrons, dans un premier temps, que la compréhension des interactions entre surfaces est indispensable pour appréhender les propriétés d'écoulement des suspensions. Dans un second temps, des comportements rhéologiques originaux, comme le rhéoépaississement ou le « jamming », seront élucidés dans le cas de suspensions de particules fortement répulsives.

4.1. Influence des interactions sur les propriétés d'écoulement des suspensions

Doctorante : Julie Guery

Collaboration interne : Jérôme Bibette (LI2C, Paris)

Collaboration externe : Pierre Levitz (Ecole Polytechnique, Palaiseau)

Les suspensions de particules solides dans un fluide interviennent dans de nombreuses technologies. Pour les particules non-browniennes, c'est-à-dire submicrométriques, la stabilité colloïdale est déterminée par la barrière répulsive dans le potentiel d'énergie libre entre particules. Tout dépend alors de la hauteur relative de cette barrière par rapport à l'énergie thermique $k_B T$. En revanche, pour des particules plus grosses, les effets thermiques ne sont pas dominants. La stabilité est alors généralement déterminée par les conséquences du transport de la suspension ou par son vieillissement. Le cisaillement et la gravité sont alors cruciaux.

Si les particules en suspension sont fortement répulsives à toute distance, les propriétés rhéologiques de la suspension correspondante peuvent être modifiées radicalement lorsque le taux de cisaillement augmente. Ces propriétés peuvent alors aller du rhéoépaississement continu [Hoffman 1972] au « jamming » induit par le cisaillement [Bertrand 2002, Holmes 2005], qui peut avoir des conséquences désastreuses sur l'utilisation industrielle de ces suspensions. Ainsi, pour des particules sphériques, ce jamming sous écoulement peut intervenir pour des fractions volumiques supérieures à $\varphi = 0,4$ [Hoffman 1972], alors que, pour des particules anisotropes, il peut apparaître à des valeurs nettement plus basses de φ , comme nous le verrons au paragraphe 4.2.

Néanmoins, il est rare que les dispersions industrielles soient purement répulsives. Les particules correspondantes sont généralement répulsives à longue distance et légèrement attractives à courte distance. Dans ce cas, l'écoulement peut induire des changements encore plus drastiques et irréversibles dans la texture des matériaux, et peut transformer les fluides en pâtes fortement élastiques [Trappe 2001]. Cette transition peut intervenir à très basse fraction

volumique, aussi bien pour des particules sphériques [Trappe 2001] que pour des particules très anisotropes [Lin-Gibson 2004], rendant la manipulation industrielle de ces matériaux extrêmement délicate. Bien que ce phénomène soit tout à fait générique [Blanshard 1987], son origine physique n'a jamais été élucidée.

Nous avons, dans le cadre de la thèse de Julie Guery [Guery 2006a et 2006b], démontré expérimentalement l'existence d'une **agrégation irréversible induite par le cisaillement** dans des suspensions de particules solides non-browniennes à des fractions volumiques remarquablement faibles. Ces particules légèrement répulsives présentent une très bonne stabilité cinétique au repos. Il s'agit de gouttes d'huile renfermant des gouttelettes d'eau, l'huile utilisée étant partiellement solide à température ambiante. L'agrégation observée sous cisaillement se caractérise par une augmentation rapide et soudaine de la viscosité après un temps d'induction dépendant de l'intensité du cisaillement. Nous avons montré que, de façon inattendue, ce temps d'induction dépendait exponentiellement du taux de cisaillement [Guery 2006b]. Cela reflète l'importance des forces hydrodynamiques pour réduire la barrière d'énergie d'interaction qui empêche les particules de s'agréger. Cela démontre aussi que l'agrégation de deux particules sous cisaillement est contrôlée par la hauteur de cette barrière d'énergie et qu'elle constitue l'étape limitante de l'agrégation macroscopique observée. Ces effets induits par le cisaillement ont également des conséquences sur l'apparence macroscopique de la suspension : au microscope, on voit de gros agrégats se développer dans l'échantillon.

Dans cette étude, nous avons réalisé et utilisé des **émulsions doubles** où des gouttelettes d'eau sont dispersées dans des globules d'émulsion aqueuse à base d'**huile cristallisable**. L'utilisation d'émulsions doubles nous a permis d'ajuster la cinétique d'agrégation sous cisaillement en modifiant la quantité de gouttelettes internes dans les globules huileux. En effet, l'agrégation est beaucoup trop rapide pour être étudiée expérimentalement lorsque les globules ne contiennent aucune gouttelette d'eau. L'huile utilisée est une cire commerciale (Suppocire DM, Gatefossé), mélange de glycérides d'acides gras saturés (de C8 à C18) de températures de fusion comprises entre 30°C et -20°C. Les émulsions doubles ont donc été préparées à haute température (65°C) afin que l'huile soit complètement liquide. À cette température, les émulsions sont cinétiquement stables sous cisaillement. Il s'agit, plus précisément, d'émulsions doubles pratiquement monodisperses (polydispersité inférieure à 20%) contenant, à une fraction volumique φ_g variant de 10% à 20%, des globules d'huile de diamètre $d_g \approx 4.5 \mu\text{m}$. Ces globules d'huile contiennent des gouttelettes d'eau à une fraction volumique interne φ_i de 40%. Les émulsions sont refroidies et stockées à 5°C pendant au moins 12 heures afin que l'huile atteigne son état d'équilibre solide/liquide. Une fois refroidies, les émulsions conservent leur stabilité cinétique au repos. Cela prouve la nature principalement répulsive des interactions entre globules. Néanmoins, la texture des globules est légèrement modifiée par ce traitement thermique. En effet, comme on le voit sur les clichés de microscopie de la figure 4.1, la forme parfaitement sphérique des globules à chaud évolue, après refroidissement, en une surface légèrement rugueuse et ridée à température ambiante. Le **comportement rhéologique** des émulsions doubles change aussi considérablement après refroidissement. Les émulsions sont alors sujettes à une forte agrégation induite par le cisaillement.

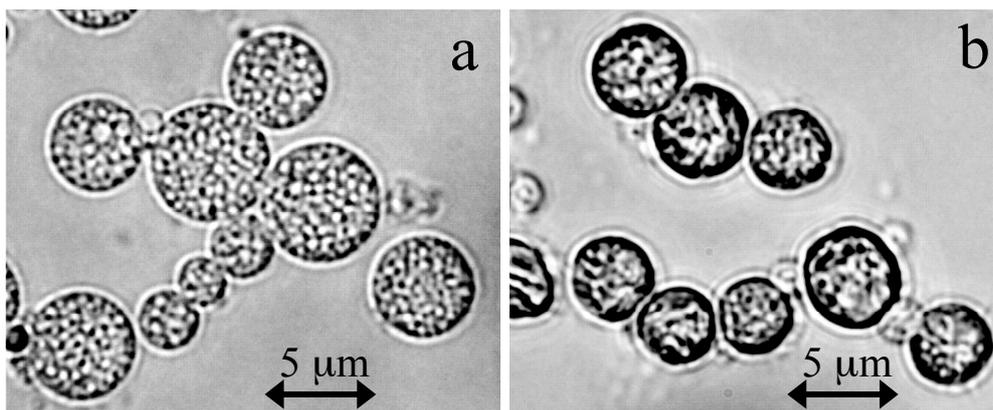


Figure 4.1 : clichés de microscopie optique (grossissement x100) d'émulsions doubles à 65°C (a) et à température ambiante (b).

Nous avons mesuré l'évolution temporelle de la viscosité η des émulsions à l'aide d'un rhéomètre à taux de cisaillement contrôlé avec une géométrie cône-plan de 45 μm d'entrefer (Rheometrics RFSII). Sur la figure 4.2 est représentée l'évolution temporelle de la viscosité pour différents taux de cisaillement $\dot{\gamma}$. Cette viscosité reste constante pendant un **temps d'induction** t_c qui dépend de $\dot{\gamma}$, puis subit une augmentation soudaine et rapide d'un facteur environ 3. Bien que cette augmentation ne soit que d'un facteur 3, le changement de texture du matériau est beaucoup plus prononcé : à l'intérieur de l'entrefer, l'échantillon passe d'un fluide à une pâte élastique.

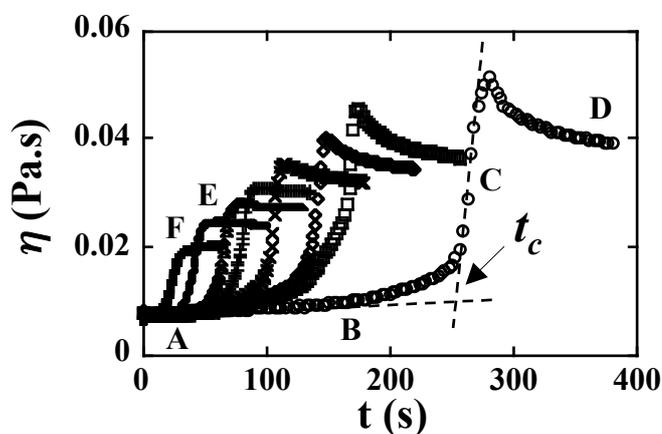


Figure 4.2 : évolution de la viscosité d'une émulsion double cristallisable ($d_g \approx 4,5 \mu\text{m}$, $\varphi_g = 13\%$) à différents taux de cisaillement : 80s^{-1} (\circ); 100s^{-1} (\square); 120s^{-1} (\diamond); 140s^{-1} (\times); 160s^{-1} ($+$); 180s^{-1} (Δ); 200s^{-1} (\bullet); 300s^{-1} (\blacksquare); les droites en pointillés correspondent à la définition du temps d'induction t_c dans le cas d'un taux de cisaillement de 80s^{-1} ; les lettres majuscules renvoient à la figure 4.3.

La nature de cette transition irréversible a aussi été étudiée en visualisant directement les structures formées dans l'entrefer au cours du cisaillement à l'aide d'un « rhéoscope », dans une géométrie cône-plan de 45 μm d'entrefer (Haake Rheoscope, Thermo Electron Corporation). Le rhéoscope est un rhéomètre couplé à un microscope optique et une caméra digitale. Il permet d'enregistrer simultanément les propriétés rhéologiques et des clichés de

microscopie de l'échantillon. Les images ainsi capturées laissent apparaître des changements de texture bien avant l'augmentation de viscosité. Comme on le voit en comparant les figures 4.3.A et B, qui correspondent aux premiers stades de l'évolution d'un échantillon soumis à un taux de cisaillement de 80 s^{-1} , de larges zones dépeuplées en globules se développent. Au fur et à mesure que le cisaillement continue, la viscosité augmente soudainement et les zones dépeuplées (régions blanches sur les photos) se développent (Figure 4.3.C). Après la transition de viscosité, l'échantillon révèle la présence d'agrégats de taille supérieure à la dimension de l'entrefer ($45 \text{ }\mu\text{m}$), visibles sur la figure 4.3.D (régions sombres). Le même comportement a été observé pour des taux de cisaillement plus élevés. Néanmoins, le temps d'induction t_c décroît lorsque le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ augmente, et l'échelle de longueur typique des agrégats finaux diminue aussi significativement (figures 4.3.E et F).

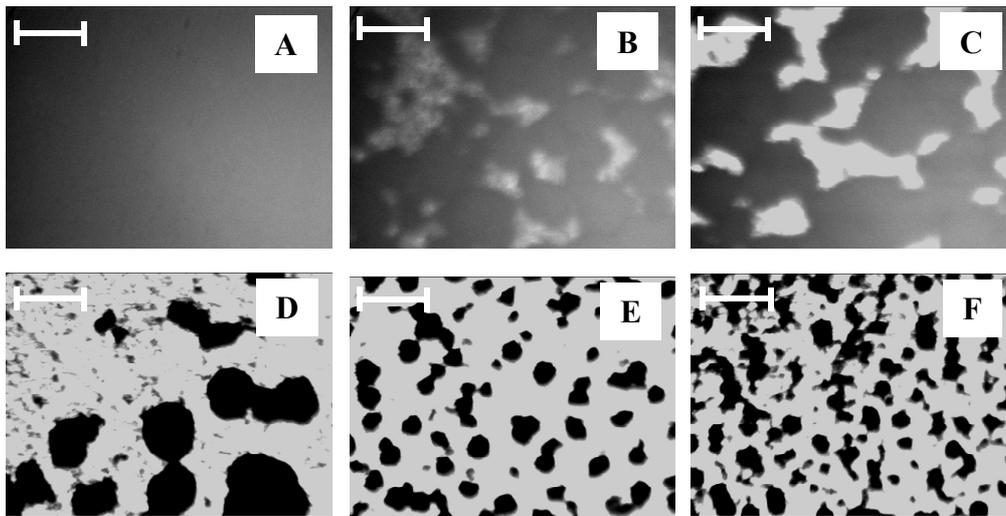


Figure 4.3 : clichés de microscopie de l'évolution d'une émulsion double cristallisable au cours de son cisaillement : A, B, C, D correspondent à un taux de cisaillement de 80 s^{-1} . E et F sont les états finaux après cisaillement à 200 s^{-1} et 300 s^{-1} respectivement. L'échelle correspond à $200 \text{ }\mu\text{m}$.

Pour déterminer l'origine de ce comportement inhabituel, il a fallu quantifier l'évolution du temps d'induction avec le taux de cisaillement. Pour cela, nous avons dû définir plus précisément le temps d'induction, comme indiqué sur la figure 4.2 : il s'agit donc du temps correspondant au point d'intersection entre les tangentes à la courbe de viscosité aux temps courts et à la courbe de forte croissance de la viscosité. L'évolution de t_c en fonction de $\dot{\gamma}$, pour différentes fractions volumiques φ_g en globules, est représentée sur la figure 4.4. Contre toute attente, le temps d'induction est une fonction exponentielle décroissante de $\dot{\gamma}$, quelle que soit φ_g , et est donc bien décrit par l'expression:

$$t_c = t_0 \exp\left(-\frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_c}\right)$$

où $\dot{\gamma}_c$ est une valeur critique du taux de cisaillement pour une fraction volumique donnée, et t_0 est un préfacteur avec la dimension d'un temps. Expérimentalement, t_0 dépend légèrement de $\dot{\gamma}$, mais cette dépendance est négligeable devant la fonction exponentielle. Une

forte décroissance de $\dot{\gamma}_c$, lorsque φ_g augmente, a aussi été observée. L'agrégation est donc quasiment instantanée lorsque la fraction volumique en globules est trop importante.

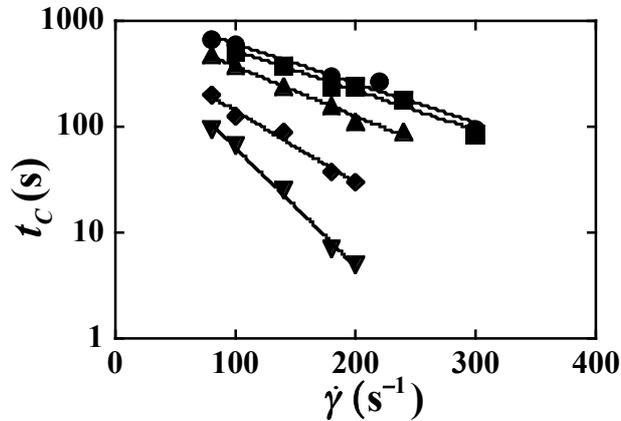


Figure 4.4 : évolution du temps d'induction t_c en fonction de $\dot{\gamma}$ pour différentes fractions volumiques en globules : 10% (●); 11.5% (■); 13% (▲); 15% (◆); 17% (▼); les droites sont des régressions exponentielles.

Cette dépendance exponentielle inattendue n'avait jamais été observée auparavant. Une dépendance algébrique, avec un exposant compris entre -1 et $-0,75$, est théoriquement attendue pour le temps d'agrégation entre deux sphères, lorsque le mécanisme de transport dominant est la convection [Potanin 1991]. Expérimentalement, pour les dispersions sous cisaillement, une dépendance algébrique avec un exposant proche de -1 a effectivement été observée [Omari 2003, Legrand 2005]. Néanmoins, nos points expérimentaux ne sont pas ajustables par une telle décroissance algébrique, sauf à considérer un exposant qui varie de $-3,5$ à $-1,5$ en fonction de la fraction volumique considérée. Le phénomène d'agrégation que nous avons observé ne peut donc pas être interprété en termes de convection simple.

La dépendance exponentielle observée peut faire penser à un processus d'Arrhénius thermiquement activé, avec une fréquence d'essai et une barrière d'énergie à franchir. Cependant, il ne semble pas qu'il y ait ici, avec nos globules non-browniens, de véritable activation thermique. Au contraire, la thermalisation effective du système doit provenir du cisaillement, qui entraîne des collisions entre globules à une fréquence qui dépend du taux de cisaillement. En effet, l'agitation thermique n'est pas ici suffisante pour franchir la barrière répulsive entre globules, puisque la suspension est très stable cinétiquement au repos. Les forces hydrodynamiques sont donc essentielles pour réduire la barrière d'activation et entraîner l'agrégation irréversible. En conséquence, la dépendance exponentielle doit refléter la diminution de la barrière d'énergie due à l'énergie hydrodynamique, $\eta\dot{\gamma}a^2\delta$, où δ est la portée du potentiel répulsif entre globules colloïdaux et a le rayon des globules. Cette idée de réduction d'une barrière d'énergie par le cisaillement a déjà été utilisée par Ozon *et al.* [Ozon 2003] pour décrire un système complètement différent, le rajeunissement d'un verre colloïdal. Dans nos expériences, on peut aisément estimer que la réduction de la barrière d'énergie varie entre $k_B T$ et $8 k_B T$ selon la série d'expériences considérée. Dans ce cadre, le temps moyen nécessaire à l'agrégation irréversible de deux particules s'écrit :

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E - \eta\dot{\gamma}a^2\delta}{k_B T}\right)$$

où τ_0 est le temps d'essai (pour une paire) généré par le cisaillement, et E la hauteur de la barrière d'énergie en l'absence de cisaillement. Comme déjà mentionné, le temps τ_0 en l'absence de barrière d'énergie dépend algébriquement de $\dot{\gamma}$ avec un exposant proche de -1 [Potanin 1991], d'où $\tau_0 \propto \frac{1}{\dot{\gamma}}$. On obtient finalement :

$$\tau \propto \frac{1}{\dot{\gamma}} \exp\left(\frac{-\eta\dot{\gamma}a^2\delta}{k_B T}\right).$$

La relation exacte entre le temps expérimental d'induction t_c et le temps théorique τ n'est pas triviale. L'hypothèse d'une agrégation de clusters limitée par la réaction est certainement une simplification de l'esprit au regard de nos observations microscopiques, qui suggèrent un mécanisme plus coopératif. Néanmoins, si l'on se contente de cette hypothèse simplificatrice, on peut écrire :

$$1/t_c \propto (1/\tau)^{F(\varphi_g)}$$

où $F(\varphi_g)$ est la probabilité, pour une particule, d'appartenir à un cluster final, à une fraction volumique φ_g . La forme analytique exacte de $F(\varphi_g)$ n'est pas connue, mais F est nécessairement une fonction croissante de φ_g . On aboutit donc finalement à l'expression théorique [Guery 2006b] :

$$t_c \propto \frac{1}{\dot{\gamma}^{F(\varphi_g)}} \exp\left(\frac{-\eta\dot{\gamma}a^2\delta}{k_B T} F(\varphi_g)\right).$$

Cette relation est en très bon accord avec la dépendance exponentielle de t_c en $\dot{\gamma}$. En effet, dans la mesure où la probabilité $F(\varphi_g)$ vérifie $0 \leq F(\varphi_g) \leq 1$, la dépendance pré-exponentielle en $\dot{\gamma}$ est négligeable devant la dépendance exponentielle. Ce modèle permet aussi d'expliquer la décroissance expérimentale de $\dot{\gamma}_c$ lorsque φ_g augmente, car F est une fonction croissante de φ_g . Néanmoins, une compréhension plus profonde de l'hydrodynamique du système serait nécessaire pour améliorer ce modèle, et notamment pour expliciter la forme de la probabilité $F(\varphi_g)$.

Dans la littérature sur l'agrégation de suspensions sous cisaillement, l'agrégation est toujours déterminée par le taux de formation hydrodynamique d'un doublet de particules soumises uniquement à un phénomène de convection. Cela mène donc toujours à une dépendance algébrique d'exposant proche de -1 du temps d'induction avec le taux de cisaillement. Au contraire, dans nos expériences, la convection n'est pas le seul phénomène physique à prendre en compte : il y a une barrière d'énergie d'interaction colloïdale à franchir pour former un doublet irréversible. L'énergie thermique ne suffit pas pour franchir cette barrière. L'énergie hydrodynamique induite par le cisaillement fournit l'énergie supplémentaire indispensable pour la franchir.

Il est intéressant de comparer nos expériences à celles de Legrand *et al.*, qui utilisent un ajustement algébrique avec un exposant proche de -1 pour décrire leurs points expérimentaux [Legrand 2005]. En effet, ces auteurs utilisent des émulsions de bitume qui sont cinétiquement stables au repos et s'agrègent sous cisaillement. Il devrait donc également y avoir, dans leur système, une barrière d'énergie à franchir pour obtenir l'agrégation. Si l'on reprend leurs données, on s'aperçoit qu'elles sont aussi parfaitement ajustables par une décroissance exponentielle. Cet ajustement exponentiel est même encore plus satisfaisant que l'ajustement algébrique car il permet de rendre compte de la légère concavité qui apparaît sur les courbes expérimentales en représentation log-log [Legrand 2005]. Notons qu'au contraire, en ce qui concerne nos données expérimentales, l'ajustement algébrique avec un exposant -1 est inenvisageable. Ainsi, l'ajustement exponentiel n'est pas, pour nous, comme il l'est pour Legrand *et al.*, une simple amélioration d'une approche classique mais est la seule façon rationnelle de décrire le comportement de notre système.

En ce qui concerne les agrégats finaux, nous pensons que les forces hydrodynamiques induisent une déformation plastique de la surface des globules d'huile, entraînant la nucléation de ponts liquides entre les zones fluides des globules. En effet, si l'on réchauffe l'état final agrégé du système, on constate que les globules ont perdu leur intégrité et forment une structure unique et continue, qui contient néanmoins toujours les gouttelettes d'eau internes. Cette hypothèse de formation de ponts liquides entre globules sera l'une des problématiques de l'un des projets que nous présenterons au chapitre suivant.

Finalement, nous avons été capables de contrôler et de caractériser l'agrégation de dispersions induite par cisaillement grâce à l'utilisation d'huile cristallisable pour former des émulsions doubles ni trop ni pas assez répulsives. Néanmoins, ce comportement est très général et intervient dans un large spectre de domaines d'activité industriels, qu'il s'agisse de l'agro-alimentaire ou des revêtements à base d'émulsions contenant des particules solides [Legrand 2005].

4.2. Rhéoépaississement des suspensions de particules fortement répulsives

Collaborations internes : Véronique Schmitt, Jérôme Bibette (Centre de Recherches Paul Pascal, Pessac)

Au cours de mon stage post-doctoral (du 1^{er} Décembre 2000 au 31 Août 2001, avec Véronique Schmitt, au Centre de Recherches Paul Pascal, à Bordeaux), j'ai étudié la rhéologie des **suspensions concentrées de particules fortement répulsives** et fortement anisotropes (oxychlorure de bismuth, BiOCl) en solution aqueuse.

Ces suspensions présentent, selon leur fraction volumique en particules, divers comportements rhéologiques. Au fur et à mesure que cette fraction volumique augmente, on passe successivement d'un fluide newtonien à un **fluide rhéoépaississant**, puis à un système « bistable », puis, enfin, aux plus fortes fractions, à une pâte, ou état de « **jamming** ». On

désigne par le terme « **bistable** » une suspension pouvant se présenter sous deux aspects, liquide ou pâteux, selon le cisaillement appliqué. Notons que, dans le cas « bistable », l'état liquide est stable et l'état pâteux est métastable.

Mon travail a consisté à caractériser cet état « bistable », à étudier la transition réversible liquide/pâte induite par cisaillement et à essayer de comprendre l'origine physique microscopique du phénomène de **rhéoépaississement dans les suspensions**.

Le rhéoépaississement et le « jamming » sont des phénomènes dont la pertinence n'est pas seulement fondamentale mais aussi industrielle. En effet, ils sont souvent observés dans les processus industriels et peuvent entraîner de sérieux problèmes, comme l'endommagement des pales de mélangeurs ou le blocage de tuyaux de transport de suspensions [Barnes 1989, Liu 1998]. Observé pour la première fois en 1938 par Freundlich et Röder [Freundlich 1938] dans des suspensions de sphères dures, le phénomène de rhéoépaississement correspond à l'augmentation de la viscosité apparente avec le taux de cisaillement [Barnes 1989, Metzner 1958].

Nous avons mesuré les différentes composantes du tenseur de conductivité d'une suspension de particules non-browniennes fortement répulsives et anisotropes sous cisaillement. Nous avons ainsi démontré la pertinence du scénario de **transition dynamique ordre-désordre** proposé par Hoffman [Hoffman 1972, 1974, 1998] pour expliquer l'origine du rhéoépaississement dans les suspensions de particules non-browniennes. Nous avons également suggéré que le rhéoépaississement et le « jamming » induit par cisaillement étaient deux conséquences de cette même transition structurale dynamique réversible [Bertrand 2002].

Le système expérimental que nous avons étudié est une suspension d'oxychlorure de Bismuth (BiOCl) dans une solution diluée d'un polyélectrolyte, le poly(acrylate de sodium). Les particules de BiOCl sont non-browniennes, de diamètre équivalent moyen d'environ 6 μm (mesuré à l'aide d'un granulomètre Malvern), fortement anisotropes et ont des formes irrégulières. La polydispersité de ces particules est modérée : la mesure de la déviation moyenne au diamètre médian de la distribution de taille, ou « uniformité », est d'environ 40%. Sans polyélectrolyte, ces particules sont très hydrophobes et s'agrègent immédiatement dans l'eau pure. Grâce à la répulsion stérique due au polyélectrolyte adsorbé, ces particules sont très répulsives et les suspensions correspondantes sont très stables cinétiquement.

Une fois dispersées, les particules de BiOCl présentent un comportement rhéologique qui dépend fortement de leur fraction volumique. Aux fractions volumiques inférieures à 17%, la suspension est un liquide newtonien. Entre 17% et 22,5%, la suspension est un liquide qui se comporte de la façon suivante : il est rhéofluidifiant à bas taux de cisaillement, la viscosité décroissant lorsque le taux de cisaillement augmente ; il est ensuite rhéoépaississant à plus fort taux de cisaillement, puis redevient rhéofluidifiant aux plus hauts taux de cisaillement accessibles expérimentalement. Entre 22,5% et 31,5%, un comportement inattendu intervient. Il s'agit d'un liquide qui se transforme en pâte par cisaillement modéré. Ce phénomène, que nous avons appelé « **jamming induit par cisaillement** », est spectaculaire : un échantillon liquide devient pâteux en quelques secondes lorsqu'il est agité modérément avec une spatule. Le comportement de l'état pâteux correspondant est également remarquable : alors que cet état est stable cinétiquement, il s'effondre et redevient liquide après une légère vibration. Finalement, pour une fraction volumique supérieure à 31,5%, la

suspension est une pâte et se comporte comme un solide, symptomatique d'un état de « jamming » [Liu 1998, Cates 1998, Trappe 2001].

Nous nous sommes d'abord concentrés sur le domaine de fractions volumiques (entre 17% et 22,5%) pour lequel la suspension présente un rhéoépaississement dans une gamme restreinte de taux de cisaillement. Afin d'étudier en détail ce phénomène, nous avons utilisé un rhéomètre à contrainte imposée (TA Instruments) avec une géométrie plan-plan et un entrefer de 2 mm, grand devant la taille des particules. Nous avons mesuré la viscosité de cette suspension en évitant les phénomènes de sédimentation et de glissement aux parois (parois rugueuses). La figure 4.5.a représente la viscosité mesurée en fonction de la contrainte imposée. Les deux courbes correspondant aux plus basses fractions volumiques (inférieures à 17%) traduisent un comportement newtonien. Aux fractions volumiques supérieures à 22,5%, aucune expérience de rhéologie reproductible n'a pu être menée. Tous les autres échantillons (entre 17,5% et 22,5%) présentent le même profil de viscosité. A basse contrainte (inférieure à environ 5 Pa), la suspension se comporte comme un fluide à seuil rhéofluidifiant. A plus forte contrainte, la suspension est rhéoépaississante. A encore plus forte contrainte, au-delà d'environ 100 Pa, la suspension redevient rhéofluidifiante. Il est important de noter que tous ces profils de viscosité sont parfaitement réversibles : ils peuvent être obtenus aussi bien en augmentant qu'en diminuant la contrainte appliquée. Ce comportement est en fait commun à toutes les suspensions de particules solides répulsives [Barnes 1989]. Sur la figure 4.5.b, bien que nos expériences aient été effectuées à contrainte imposée, nous avons représenté la viscosité mesurée en fonction du taux de cisaillement pour quatre fractions volumiques différentes. Le rhéoépaississement apparaît sur une plage de taux de cisaillement extrêmement limitée. En particulier, pour les deux plus grandes fractions volumiques (21% et 22,5%), le profil de viscosité revient presque « en arrière ». Cela signifie qu'un tel profil serait instable s'il avait été effectué avec un rhéomètre à taux de cisaillement imposé [Porte 1997, Head 2001], correspondant à une réelle discontinuité dans la viscosité [Barnes 1989, Hoffman 1972].

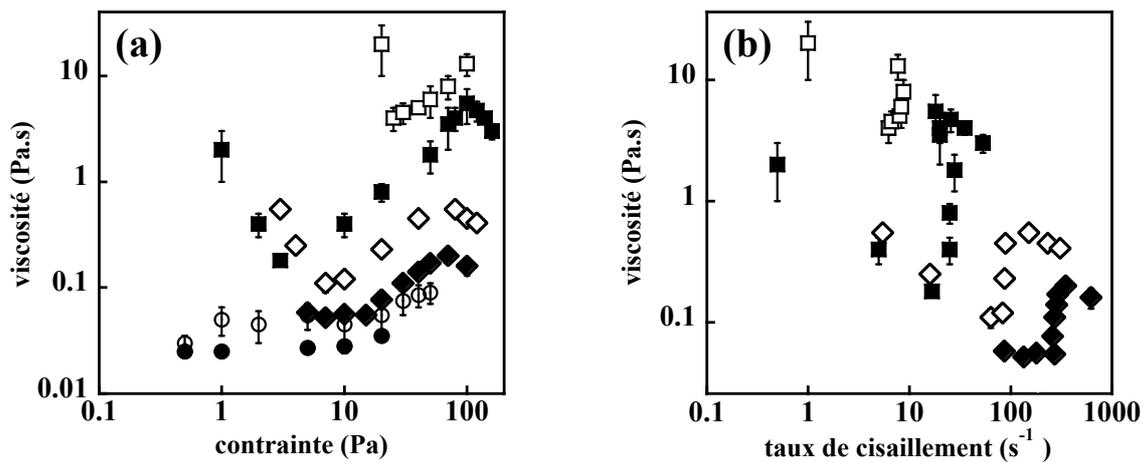


Figure 4.5 : **a)** évolution de la viscosité d'une suspension de BiOCl en fonction de la contrainte appliquée (disques: fraction volumique de 11,5 %, cercles: 16,5 %, losanges pleins: 17,5 %, losanges vides: 19 %, carrés pleins: 21 %, carrés vides: 22,5 %) ; **b)** évolution de la viscosité en fonction du taux de cisaillement correspondant (mêmes symboles).

En ce qui concerne l'origine structurale du rhéoépaississement, deux théories distinctes ont été proposées dans le cadre de suspensions de sphères dures. La première repose sur le concept de Reiner [Reiner 1949] de couches de particules glissant les unes sur les autres [Metzner 1958] et a été formalisée par Hoffman [Hoffman 1972, 1974]. Selon cette théorie, dans le régime de basse contrainte de cisaillement, cet écoulement par couches induit un comportement rhéofluidifiant. A partir d'un certain niveau de contrainte, une instabilité hydrodynamique se développe qui a pour effet de désordonner les couches de particules et de provoquer un « embouteillage » induisant une augmentation de viscosité, c'est-à-dire le rhéoépaississement [Hoffman 1972]. Cette transition dynamique structurale de couches ordonnées à un état désordonné au sein de l'écoulement a été baptisée « **transition ordre-désordre** » par Hoffman [Hoffman 1972]. Cette théorie n'implique absolument aucun ordre au sein des couches de particules [Hoffman 1998].

La seconde théorie implique une floculation réversible de particules induite par le cisaillement, ou « **agrégation hydrodynamique** », qui entraînerait une augmentation de la viscosité au fur et à mesure que les clusters deviendraient de plus en plus grands [Hoffman 1998, Kruyt 1952, Bossis 1989]. Il faut néanmoins ajouter qu'il s'agit ici de clusters dynamiques, c'est-à-dire que les particules des clusters sont en équilibre avec les particules hors des clusters. De nombreux expérimentateurs, dont Hoffman, ont utilisé la diffusion de la lumière [Hoffman 1972, 1974, 1998] ou des neutrons [Chen 1992] pour démontrer, avec succès, l'existence de couches ordonnées, dans le cas de suspensions colloïdales monodisperses de sphères dures sous cisaillement. Néanmoins, dans le cas de particules polydisperses ou anisotropes, de telles expériences se sont toutes soldées par des échecs [Hoffman 1998, Bender 1996], ce qui explique pourquoi la théorie de l' « agrégation hydrodynamique » est la plus souvent citée dans la littérature récente [Hoffman 1998], en particulier pour les suspensions de particules sphériques browniennes [Maranzano 2001a et 2001b].

Afin d'essayer de valider l'une ou l'autre de ces deux théories, nous avons réalisé des mesures de **conductivité sous cisaillement** dans une cellule de Couette, avec un entrefer de 1 mm, à taux de cisaillement imposé [Soubiran 1995]. La conductivité à basse fréquence (20 kHz) de la suspension rhéoépaississante de BiOCl a donc été mesurée dans la direction de la vorticité (S_z), de la vitesse (S_v), et du gradient de vitesse (S_G). Le montage complet est décrit dans la référence [Soubiran 1995]. Nous avons trouvé des différences entre les trois conductivités mesurées, dans une certaine gamme de taux de cisaillement. Nous avons donc défini deux « anisotropies de conductivité » : $(S_v/S_G)-1$ et $(S_z/S_G)-1$. Les figures 4.6.a et b représentent ces deux anisotropies en fonction du taux de cisaillement pour une fraction volumique de 18%. Dans les deux cas, la conductivité est isotrope au repos et à fort taux de cisaillement, et fortement anisotrope à faible taux de cisaillement. L'anisotropie de conductivité décroît brutalement pour un taux de cisaillement compris entre 200 s^{-1} et 300 s^{-1} . Il est important de remarquer que, en vertu de nos mesures rhéologiques, la viscosité d'une telle suspension commence à croître pour un taux de cisaillement de 200 s^{-1} . Ainsi, une transition dynamique entre des structures anisotropes et des structures isotropes intervient au sein de l'écoulement précisément lorsque la suspension devient rhéoépaississante.

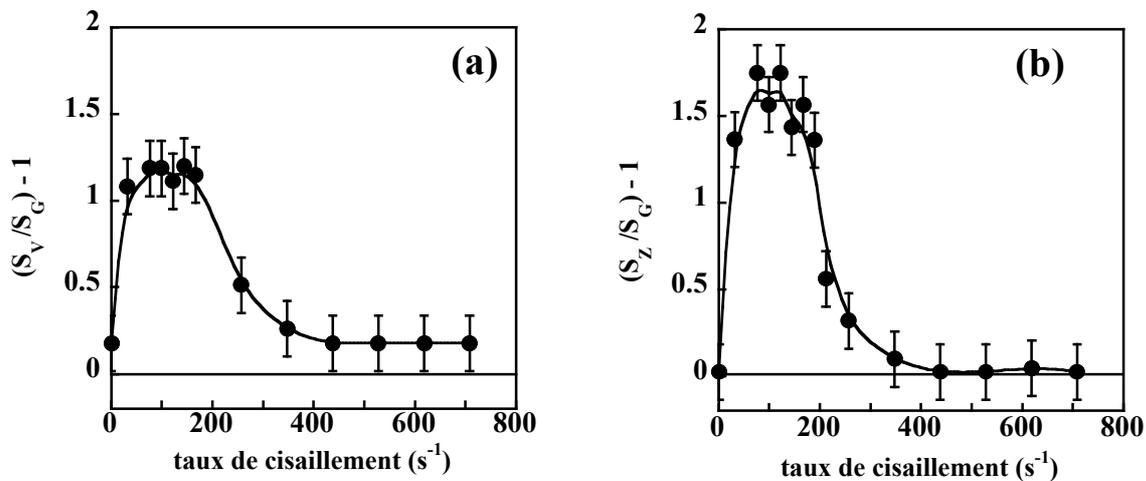


Figure 4.6 : évolution des deux anisotropies de conductivité en fonction du taux de cisaillement pour une suspension de BiOCl à 18% de fraction volumique.

Les deux modèles théoriques présentés précédemment sont compatibles avec l'anisotropie de conductivité à bas taux de cisaillement. En effet, un écoulement ordonné de couches adjacentes, concentriques avec l'axe de la cellule de Couette, glissant les unes sur les autres dans la direction de la vitesse, aurait pour effet d'écranter la conductivité des ions dans la direction perpendiculaire aux couches, c'est-à-dire dans la direction du gradient de vitesse. Parallèlement, on peut imaginer le même effet d'écranage en présence de clusters hydrodynamiques anisotropes orientés dans la direction du plan écoulement-vorticité. Néanmoins, dans ce dernier cas, l'anisotropie de conductivité devrait continuer à augmenter en régime de rhéoépaississement puisque les clusters anisotropes seraient de plus en plus gros. Une telle augmentation n'est pas observée expérimentalement dans le domaine de rhéoépaississement. Nos mesures de conductivité confirment donc l'hypothèse théorique d'un écoulement en couches partiellement ordonnées à bas taux de cisaillement et d'un écoulement désordonné à fort taux de cisaillement. Néanmoins, nos expériences n'ont pas permis une observation directe de la structure interne des suspensions. Malgré tout, nous interprétons la transition anisotrope-isotrope de la conductivité comme une preuve indirecte mais convaincante de l'existence d'une transition structurale dynamique au sein de l'écoulement à l'origine du phénomène de rhéoépaississement observé dans les suspensions de particules non-browniennes fortement répulsives et anisotropes.

Dans le domaine des fractions volumiques comprises entre 22,5% et 31,5%, le système peut être soit liquide soit pâteux. Un cisaillement manuel modéré de la phase liquide induit alors une transition de jamming dynamique. Néanmoins, cet état de jamming induit par le cisaillement est un état métastable. En effet, lorsqu'une goutte de phase liquide est mise au contact d'un échantillon pâteux (induit par cisaillement) de même fraction volumique, la goutte croît instantanément et l'ensemble de l'échantillon devient liquide en quelques secondes. La métastabilité de cet état pâteux a été confirmée par une autre observation : la pâte s'« effondre » et redevient liquide lorsqu'on la soumet à une légère vibration. Malheureusement, aucune expérience de rhéologie ou de diffusion multiple (DWS) n'a pu être effectuée à ces fractions volumiques.

En conclusion, la transition de jamming dans une suspension, induite par une augmentation de la fraction volumique en particules, peut aussi être induite par le cisaillement, à plus basse fraction volumique. Par ailleurs, le comportement rhéoépaississant à encore plus basse fraction volumique semble impliquer une transition réversible ordre-désordre dans nos suspensions de particules non-browniennes répulsives et anisotropes. En conséquence, nous faisons l'hypothèse que la transition de jamming induite par le cisaillement pourrait être une autre manifestation de cette même transition structurale ordre-désordre. Les deux phénomènes, rhéoépaississement et transition de jamming induite par le cisaillement, seraient donc deux manifestations d'un même processus dynamique. La différence de comportement ne tiendrait donc qu'à la différence de fraction volumique. Si la fraction volumique est comprise entre 22,5% et 31,5%, l'état pâteux est cinétiquement stable, alors que, si la fraction volumique est inférieure à 22,5%, il est instable et n'entraîne qu'un rhéoépaississement. En d'autres termes, dans le premier cas, la fraction volumique serait trop élevée et le volume libre insuffisant pour permettre aux particules de se réordonner. Au contraire, dans le second cas, il y aurait suffisamment de volume libre pour que les particules se « débloquent ». Cela expliquerait la réversibilité de la transition ordre-désordre et des profils de viscosité correspondant au rhéoépaississement.

BIBLIOGRAPHIE du Chapitre 4

- [Barnes 1989] H.A. Barnes, *J. Rheol.* 33, 329 (1989).
- [Bender 1996] J.W. Bender and N.J. Wagner, *J. Rheol.* 40, 899 (1996).
- [Bertrand 2002] E. Bertrand, J. Bibette and V. Schmitt, *Phys. Rev. E* 66, 060401(R) (2002).
- [Blanshard 1987] J.M.V. Blanshard and P. Lillford, in : « *Food structure and behavior* » (Academic Press, New York, 1987).
- [Bossis 1989] G. Bossis and J.F. Brady, *J. Chem. Phys.* 91, 1866 (1989).
- [Cates 1998] M.E. Cates, J.P. Wittmer, J.-P. Bouchaud, P. Claudin, *Phys. Rev. Lett.* 81, 1841 (1998).
- [Chen 1992] L.B. Chen *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* 69, 688 (1992).
- [Freundlich 1938] H. Freundlich and H.L. Röder, *Trans. Faraday Soc.* 34, 308 (1938).
- [Guery 2006a] Julie Guery, in : "*Emulsions doubles cristallisables. Stabilité, encapsulation et relargage.*", Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2006.
- [Guery 2006b] J. Guery, E. Bertrand, C. Rouzeau, P. Levitz, D. Weitz and J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* 96, 198301 (2006).
- [Head 2001] D.A. Head, A. Ajdari and M.E. Cates, *Phys. Rev. E* 64, 061509 (2001).
- [Hoffman 1972] R.L. Hoffman, *J. Rheol.* 16, 155 (1972).
- [Hoffman 1974] R.L. Hoffman, *J. Colloid Interface Sci.* 46, 491 (1974).
- [Hoffman 1998] R.L. Hoffman, *J. Rheol.* 42, 111 (1998).
- [Holmes 2005] C.B. Holmes, M.E. Cates, M. Fuchs and P. Sollich, *J. Rheol.* 49, 237 (2005).
- [Kruyt 1952] H.R. Kruyt, in : « *Colloid Science* » (Elsevier, New York, 1952), vol. 1, p. 354.
- [Legrand 2005] J. Legrand, M. Chamerois, F. Placin, J.E. Poirier, J. Bibette and F. Leal-Calderon, *Langmuir* 2005, 64 (2005).
- [Lin-Gibson 2004] S. Lin-Gibson, J. A. Pathak, E. A. Grulke, H. Wang and E. K. Hobbie, *Phys. Rev. Lett.* 92, 048302 (2004).
- [Liu 1998] A.J. Liu and S.R. Nagel, *Nature* 396, 21 (1998).
- [Maranzano 2001a] B.J. Maranzano and N.J. Wagner, *J. Chem. Phys.* 114, 10514 (2001).
- [Maranzano 2001b] B.J. Maranzano and N.J. Wagner, *J. Rheol.* 45, 1205 (2001).
- [Metzner 1958] A.B. Metzner and M. Whitlock, *J. Rheol.* 2, 239 (1958).
- [Omari 2003] A. Omari, G. Chauveteau and R. Tabary, *Colloids Surf. A* 225, 37 (2003).
- [Ozon 2003] F. Ozon, T. Narita, A. Knaebel, G. Debrégeas, P. Hébraud and J.-P. Munch, *Phys. Rev. E* 68, 032401 (2003).
- [Porte 1997] G. Porte, J.-F. Berret and J.L Harden, *J. Phys. II France* 7, 459 (1997).
- [Potanin 1991] A.A. Potanin, *J. Colloid Interface Sci.* 145, 140 (1991).
- [Reiner 1949] M. Reiner, in : « *Deformation and Flow* » (H.K. Lewis & Co., London, 1949).
- [Soubiran 1995] L. Soubiran, C. Coulon, P. Sierro and D.Roux, *Europhys. Lett.* 31, 243 (1995).
- [Trappe 2001] V. Trappe, V. Prasad, L. Cipelletti, P.N. Segre, D.A. Weitz, *Nature* 411, 772 (2001).

Chapitre 5 : Projets de recherches

Après avoir passé les six dernières années à m'intéresser à des problèmes physiques de pertinence biologique, je suis arrivé à la conclusion qu'il serait nécessaire d'acquérir une véritable culture de biologie pour aller plus loin dans ces problématiques. J'ai donc préféré, ces derniers mois, m'éloigner de la biophysique et me recentrer sur l'étude des propriétés de la matière molle sous écoulement.

Ce chapitre me permet de présenter mes deux principaux projets de recherches futures, le second ayant déjà été entamé dans le cadre d'une thèse qui vient de commencer.

5.1. Coalescence et mûrissement d'Ostwald des émulsions sous cisaillement

Collaborations externes : Fernando Leal Calderon (Laboratoire des Milieux Dispersés Alimentaires, Talence), Véronique Schmitt (Centre de Recherches Paul Pascal, Pessac)

Ce projet, que je compte développer au cours des prochaines années, concerne l'influence du cisaillement sur la stabilité cinétique des émulsions.

Les émulsions sont des systèmes métastables à cause de l'énergie interfaciale qui résulte de la création d'une grande quantité d'interfaces entre deux liquides non-miscibles. Elles peuvent être stabilisées cinétiquement par des espèces adsorbées aux interfaces (tensioactifs, polymères, protéines, particules solides) qui abaissent l'énergie interfaciale et prolongent leur durée de vie. Néanmoins, les émulsions subissent une évolution cinétique qui mène inexorablement à leur séparation macroscopique en deux phases liquides, selon deux mécanismes : le **mûrissement d'Ostwald** [Ostwald 1901] et la **coalescence**. Le mûrissement d'Ostwald est contrôlé par la différence de pression de Laplace entre les gouttes de tailles différentes : la phase dispersée diffuse des petites vers les grosses gouttes. La vitesse de croissance des gouttes peut alors dépendre de la diffusion moléculaire à travers la phase continue et/ou de la perméation à travers les films stabilisant les gouttes [Lifshitz 1959]. La coalescence, quant à elle, est la rupture du film mince qui se forme entre deux gouttes adjacentes, qui fusionnent alors en une seule goutte. A l'échelle microscopique, un événement de coalescence nécessite la nucléation thermiquement activée d'un trou qui atteigne la taille critique au-dessus de laquelle il devient instable et croît.

Généralement, la destruction d'une émulsion fait intervenir une combinaison de coalescence et de mûrissement d'Ostwald. Dans un souci de simplification, la plupart des études expérimentales ont été menées dans des conditions où seul l'un de ces deux mécanismes est dominant. Dans ce cadre, les modèles théoriques et les expériences ont révélé que le mûrissement d'Ostwald génère des émulsions de distributions de tailles étroites. Au contraire, la coalescence favorise la croissance des gouttes les plus grosses, qui forment rapidement une couche en haut ou en bas de l'émulsion [Hasmy 1999]. Ainsi, il est facile de

distinguer les deux phénomènes : un système évoluant sous l'effet du mûrissement d'Ostwald conserve sa monodispersité initiale et la vitesse de croissance des gouttes tend progressivement vers zéro ; pour un système gouverné par la coalescence, la polydispersité augmente et la destruction s'accélère progressivement.

Le mûrissement d'Ostwald dans les émulsions diluées est désormais bien compris [Lishitz 1959]. Il est gouverné par deux paramètres : la tension interfaciale et le coefficient de transport des molécules dispersées, soit à travers la phase continue (coefficient de diffusion), soit à travers le film séparant deux gouttes (coefficient de perméabilité). Malheureusement, à cause de sa complexité intrinsèque, la coalescence est loin d'être aussi bien comprise. La coalescence implique différents phénomènes à l'échelle du nanomètre (drainage de film, nucléation de trous) et des relaxations à l'échelle du micron (relaxation de forme, réarrangements dans les émulsions concentrées).

Récemment, des études ont montré que la destruction des émulsions concentrées suivait un processus en deux étapes : le mûrissement d'Ostwald est le processus dominant aux temps courts et la coalescence domine aux temps longs [Schmitt 2004a et 2004b]. La transition entre les deux régimes intervient pour un diamètre critique D^* bien défini des gouttes, qui caractérise la monocouche de tensioactifs. Un paramètre cinétique ω a été défini comme le nombre d'évènements de coalescence par unité de temps et de surface [Schmitt 2004b]. Ce paramètre, mesuré expérimentalement, permet un suivi quantitatif de la destruction des émulsions. Dans le cas d'émulsions concentrées stabilisées par des tensioactifs non-ioniques, les expériences suggèrent que le mûrissement d'Ostwald et la coalescence ont une origine microscopique commune : la nucléation de pores dans le film liquide qui sépare deux gouttes [Schmitt 2004b]. Ces pores seraient seulement transitoires dans le cas du mûrissement d'Ostwald et permettraient alors le passage de molécules dispersées entre les gouttes avant de disparaître. Dans le cas de la coalescence, les pores dépasseraient la taille critique permettant leur croissance [Schmitt 2004a].

Les études concernant l'évolution cinétique des émulsions ont été généralement conduites dans des conditions statiques, et, à l'exception de quelques expériences pionnières [van Aken 2000, Langenfeld 1998], on ne sait pratiquement rien de l'influence d'un cisaillement sur le mûrissement d'Ostwald ou la coalescence.

Dans de nombreux procédés industriels, les émulsions sont déplacées, et donc soumises à des écoulements macroscopiques. Il est donc fondamental d'étudier la stabilité cinétique des émulsions soumises à des forces extérieures telles que les forces hydrodynamiques. Nous avons donc comme objectif d'effectuer en parallèle des expériences de rhéologie et de microscopie sur des émulsions. Il s'agira de suivre le taux de coalescence au cours du cisaillement. Afin de mener à bien ces études, nous fabriquerons d'abord des émulsions directes (huile dans eau) de taille contrôlée, en collaboration avec Véronique Schmitt (CRPP, Pessac) et Fernando Leal Calderon (LMDA, Talence). Il s'agira d'émulsions de diamètre moyen autour du micron, la largeur de la distribution en taille n'étant pas un paramètre critique. La seule condition essentielle sur la taille est que l'ensemble des gouttes soit de diamètre inférieur à D^* . Cette gamme de taille permet en effet d'avoir des émulsions sensibles aux deux mécanismes de destruction déjà évoqués. Parmi les nombreuses huiles utilisables, les alcanes seront privilégiés car ils permettent, en variant leur longueur de l'heptane au dodécane, d'obtenir des émulsions dont la stabilité cinétique s'étend d'un jour à plusieurs mois.

L'influence d'un cisaillement sur la coalescence d'une émulsion a déjà été observée dans la littérature [van Aken 2000, Langenfeld 1998]. Le principal consensus est que le cisaillement est capable d'induire de la coalescence dans des émulsions cinétiquement stables au repos. Dans les émulsions diluées, la raison de ce phénomène est probablement l'augmentation par le cisaillement de la probabilité de collision des gouttes. Pour les émulsions concentrées, l'explication est certainement plus complexe et nécessite de nouvelles expériences.

Il sera aussi important d'étudier le rôle du stabilisant dans les phénomènes de coalescence sous cisaillement. L'induction de la coalescence par le cisaillement semble en effet plus prononcée dans le cas d'émulsions stabilisées par des protéines ou des particules solides que dans le cas d'émulsions stabilisées par des tensioactifs. Dans le premier cas, des phénomènes de fracture de surface sont souvent invoqués [van Aken 2000]. Nous nous intéresserons aussi au cas des émulsions stabilisées par des polymères. Nous nous attendons alors à un comportement intermédiaire, les polymères formant une couche moins solide et fragile que les protéines mais une interface plus élastique que les tensioactifs.

Nous étudierons aussi l'influence de l'intensité du cisaillement. Il est possible que, bien que la coalescence soit le phénomène prédominant dans les émulsions à faible taux de cisaillement, elle soit dominée par la fragmentation des gouttes à fort taux de cisaillement [Langenfeld 1998]. Le taux de cisaillement sera donc notre principal paramètre de contrôle.

En ce qui concerne l'étude du mûrissement d'Ostwald sous cisaillement, nous utiliserons des émulsions suffisamment diluées et avec des gouttes de tailles assez petites pour s'affranchir de la coalescence. Lors du cisaillement, il est probable que la convection, au lieu de la diffusion moléculaire à travers la phase continue, devienne le mécanisme pertinent et modifie sensiblement la vitesse du mûrissement. Nous étudierons l'évolution de la distribution de tailles d'émulsions diluées en fonction de la durée et de l'intensité du cisaillement.

5.2. Rhéophysique des gels d'émulsions à base de substances cristallisables

Doctorant : Fabrice Springinsfeld (depuis le 1^{er} Novembre 2006)

Collaborations externes : Fernando Leal Calderon (Laboratoire des Milieux Dispersés Alimentaires, Talence), Véronique Schmitt (Centre de Recherches Paul Pascal, Pessac)

Ce second projet s'inscrit dans le cadre de la continuité des thèses de Julie Guery [Guery 2006], que j'ai encadrée sur les aspects de rhéologie, de Nicolas Drelon [Drelon 2006], encadré par Fernando Leal Calderon, et de Florence Thivilliers [Thivilliers 2006 et 2007, Giermanska 2007], encadrée par Fernando Leal Calderon et Véronique Schmitt. Ce nouveau projet a déjà commencé à être mis en oeuvre, à travers la thèse de Fabrice Springinsfeld, que j'encadre depuis le 1^{er} Novembre 2006.

Les émulsions à base de matières cristallisables sont des matériaux largement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et cosmétique. Ces systèmes désordonnés appartiennent à la classe des « milieux mous vitreux » dont les évolutions lentes de la structure et les évolutions

rhéologiques lors du vieillissement sont encore mal comprises et donc insuffisamment maîtrisées [Rousseau 2000].

Si l'émulsion est de type « Huile dans Eau », la cristallisation de la matière grasse peut induire une gélification par **coalescence partielle** (*i.e.* sans relaxation de forme) des gouttes et la structure du matériau devient bicontinue par formation de ponts liquides entre les zones fluides des gouttes. Sur le plan fondamental, ces matériaux métastables soulèvent des questions concernant leur préparation (gélification spontanée ou sous cisaillement), leurs propriétés rhéologiques et leur évolution cinétique (modes de destruction) [Boode 1991].

Le comportement de ces gels lors de la sollicitation mécanique est variable. Dans certains cas, les gels se fragmentent et se reforment spontanément au repos ou à l'issue d'un traitement thermique modéré (appelé « tempéage ») [Thivilliers 2006 et 2007]. La dynamique de reconstitution de ces gels (« **cicatrisation** » physique) est encore mal comprise.

Dans d'autres cas, les gels sous écoulement subissent une évolution topologique conduisant à la séparation complète des phases grasse et aqueuse. À titre d'exemple, cette évolution induite par le cisaillement est à la base de la fabrication du beurre (« **barattage** »). Les données relatives à ce phénomène demeurent très empiriques et nous envisageons d'étudier différents paramètres susceptibles d'influencer l'évolution topologique des gels sous cisaillement : gradient de cisaillement appliqué, temps de cisaillement, fraction volumique en huile cristallisable, rigidité des cristaux, diamètre des gouttes, etc.

Partant du constat que l'essentiel des études expérimentales sur ces systèmes met en oeuvre des composés complexes comme la matière grasse laitière, nous avons entrepris de reproduire la phénoménologie correspondante avec des systèmes modèles. Cette approche devrait permettre d'interpréter plus quantitativement et plus profondément les phénomènes rhéophysiques mis en jeu. En effet, la complexité de composition des systèmes étudiés au paragraphe 4.1 [Guery 2006] ou au cours de la thèse de Florence Thivilliers [Thivilliers 2007] empêche parfois de déduire des comportements complètement génériques des observations expérimentales. Nous avons donc choisi d'utiliser, comme substance cristallisable, des alcanes linéaires, soit purs soit en mélanges binaires. L'idée est de trouver le système à nombre minimal de constituants chimiques capable de reproduire la phénoménologie observée sur les systèmes empiriques à grand nombre de composants.

BIBLIOGRAPHIE du Chapitre 5

- [Boode 1991] K. Boode, C. Bisperink and P. Walstra, *Coll. and Surf.* 61, 55 (1991).
- [Drelon 2006] Nicolas Drelon, in : "*Elaboration et consolidation thermique de gels à base de substances émulsionnées cristallisables.*", Thèse de doctorat de l'Université Bordeaux 1, 2006.
- [Giermanska 2007] J. Giermanska, F. Thivilliers, R. Backov, V. Schmitt, N. Drelon and F. Leal Calderon, *Langmuir* 23, 4792 (2007).
- [Guery 2006] Julie Guery, in : "*Emulsions doubles cristallisables. Stabilité, encapsulation et relargage.*", Thèse de doctorat de l'Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2006.
- [Hasmy 1999] A. Hasmy, R. Paredes, O. Sonnevile-Aubrun, B. Cabane and R. Botet, *Phys. Rev. Lett.* 82, 3368 (1999).
- [Langenfeld 1998] A. Langenfeld, F. Lequeux, M.-J. Stébé and V. Schmitt, *Langmuir* 14, 6030 (1998).
- [Lifshitz 1959] E.M. Lifshitz and V.V. Slyozov, *Soviet Physics JETP* 35, 331(1959).
- [Ostwald 1901] W. Ostwald, *Analytisch. Chemi.*, 3rd Ed Wilhelm Ingelmann, Leipzig (1901).
- [Rousseau 2000] D. Rousseau, *Food Res. Int.* 33, 3 (2000).
- [Schmitt 2004a] V. Schmitt, C. Cattelet and F. Leal Calderon, *Langmuir* 20, 46 (2004).
- [Schmitt 2004b] V. Schmitt and F. Leal-Calderon, *Europhys. Lett.* 67, 662 (2004).
- [Thivilliers 2006] F. Thivilliers, N. Drelon, V. Schmitt and F. Leal Calderon, *Europhys. Lett.* 76, 332 (2006).
- [Thivilliers 2007] Florence Thivilliers, in : "*Gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables : mécanismes de formation et propriétés rhéologiques.*", Thèse de doctorat de l'Université Bordeaux 1, 2007.
- [van Aken 2000] G.A. van Aken and F.D. Zoet, *Langmuir* 16, 7131 (2000).

CONCLUSION

Je me suis efforcé, tout au long de ce mémoire résumant dix années de recherches, de répondre à la question posée par son titre : Lifshitz et Helfrich avaient-ils déjà tout dit en ce qui concerne les interactions entre surfaces ? Ma conclusion est que, si l'on se contente des interactions purement physiques entre surfaces de matière inerte, alors oui, tout avait été dit. Certes, je pense avoir apporté des illustrations expérimentales originales, fondamentales ou appliquées, de ces problèmes d'interactions entre surfaces, mais l'arsenal conceptuel pour comprendre ces expériences était déjà en place.

Par contre, je suis convaincu que tout n'a pas été dit sur les interactions spécifiques entre surfaces biologiques. J'ai contribué à répondre à quelques questions les concernant, mais je crois que, pour aller plus loin dans la compréhension des interactions spécifiques entre molécules biologiques, une approche de biologiste est au moins aussi indispensable que le regard du physicien. En effet, une molécule biologique reliée à une surface est faite pour fonctionner dans un environnement physiologique précis, et il est un peu vain de se contenter d'appréhender son comportement dans un milieu modèle inerte.

N'ayant pas vocation à acquérir une véritable culture en sciences de la vie permettant de faire la passerelle entre le monde des physiciens et celui des biologistes, j'ai décidé de me recentrer sur des problèmes fondamentaux et appliqués de rhéophysique mettant en œuvre des colloïdes et des surfaces dans des systèmes modèles. Ayant déjà beaucoup travaillé sur l'influence des interactions entre surfaces sur les propriétés d'écoulement de la matière molle, je sais à quel point il s'agit d'un champ encore propice à de nombreuses découvertes.

CURRICULUM VITAE détaillé

BERTRAND Emanuel

Maître de Conférences de l'Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielles (ESPCI)
Docteur de l'Université Paris VI - Pierre et Marie Curie (*Spécialité* : Physique des Liquides)
Ingénieur ENSCPB

Né le 02/06/1973 à Toulouse (31)
1 enfant

Laboratoire LI2C - UMR 7612
CNRS / ESPCI / Université Paris 6
bâtiment F/74 - 5e étage - case courrier 51
4, place Jussieu
75252 Paris Cedex 05
Tel: 01 44 27 31 74
Fax: 01 44 27 32 28
e-mail: emanuel.bertrand@espci.fr

Cursus

- 1997/2000 Thèse de doctorat au Laboratoire de Physique Statistique de l'Ecole Normale Supérieure, sous la direction de Jacques Meunier et Daniel Bonn.
Financement : Bourse de Docteur-Ingénieur Entreprise (BDIE) cofinancée par le CNRS et l'Institut Français du Pétrole.
Sujet : Transitions de mouillage des alcanes sur l'eau : rôle des interactions entre interfaces.
Mention : très honorable avec les félicitations du jury.
- 1996/1997 D.E.A. de Chimie Physique de l'Université Bordeaux I ; mention : bien.
- 1994/1997 Ecole Nationale Supérieure de Chimie et Physique de Bordeaux (ENSCP).
- 1991/1994 Classes Préparatoires Scientifiques au Lycée Louis-le-Grand (Paris).

Autres Expériences de Recherche Antérieures à la Titularisation

- Oct.2001-Sept.2003 poste d'ATER à l'ESPCI avec Jérôme Bibette et Elie Raphael.
Sujet : colloïdes magnétiques et interactions adhésives.
- Déc.2000-Août.2001 stage post-doctoral au Centre de Recherche Paul Pascal à Bordeaux, avec Véronique Schmitt.
Sujet : rhéologie des suspensions colloïdales de particules anisotropes.
- Avril-Juin 1997 stage de DEA au Centre de Recherche Paul Pascal à Bordeaux, sous la direction de Fernando Leal Calderon.
Sujet : la cinétique de coalescence des émulsions multiples.
- Sept.-Déc. 1996 stage de 3^{ème} année d'Ecole d'ingénieur à l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux, sous la direction d'Olivier Kahn.
Sujet : le photo-magnétisme moléculaire.

LISTE DES PUBLICATIONS

a) ouvrages (ou extraits)

1. **E. Bertrand**, “Transitions de mouillage : rôle des interactions entre interfaces”, Editions Publibook Université, **préface de Pierre-Gilles de Gennes**, Paris (2003).
2. P. Jop, C. Goubault, C. Derec, J. Baudry, E. Bertrand, J. Bibette, M. Fermigier, “Flexible magnetic filaments as micromechanical sensors”, MicroTAS 2003, ed M. A. Northrup *et al.*, Transducers Research Foundation Pub, 159-163 (2003).
3. J. Baudry, C. Goubault, E. Bertrand, J. Bibette, “Self-assemblies of magnetic colloids as biosensors” in “Nanoscale Magnetic Oxides and Bio-World”, ed I. Nedkov and Ph. Tailhades, Heron Press, Sofia (2004).

b) publications acceptées dans des revues avec comité de lecture

* *auteur correspondant*

1. E. Bertrand*, D. Bonn, D. Broseta and J. Meunier, “Wetting of hydrocarbon mixtures on water under varying pressure or composition”, **J. Petrol. Sci. Eng.** 24, 221 (1999).
2. D. Bonn, E. Bertrand, J. Meunier and R. Blossey, “Dynamics of wetting layer formation”, **Phys. Rev. Lett.** 84, 4661 (2000).
3. E. Bertrand*, H. Dobbs, D. Broseta, J.O. Indekeu, D. Bonn and J. Meunier, “First-order and critical wetting of alkanes on water”, **Phys. Rev. Lett.** 85, 1282 (2000).
4. E. Bertrand*, D. Bonn and J. Meunier, “Bertrand, Bonn, and Meunier reply”, **Phys. Rev. Lett.** 85, 4189 (2000).
5. E. Bertrand*, D. Bonn, J. Meunier and D. Segal, “Wetting of alkanes on water”, **Phys. Rev. Lett.** 86, 3208 (2001).
6. D. Bonn, E. Bertrand, N. Shahidzadeh, K. Ragil, H. Dobbs, A.I. Posazhennikova, D. Broseta, J. Meunier and J.O. Indekeu, “Complex wetting phenomena in liquid mixtures: Frustrated-complete wetting and competing intermolecular forces.”, **J. Phys: Cond. Matt.** 13, 4903 (2001)
7. E. Bertrand*, D. Bonn, H. Kellay, B.P. Binks and J. Meunier, “Fluctuation effects on wetting films”, **Europhys. Lett.** 55, 827 (2001).
8. E. Bertrand*, D. Bonn, D. Broseta, N. Shahidzadeh, K. Ragil, H. Dobbs, J.O. Indekeu, and J. Meunier, “Wetting of alkanes on water”, **J. Petrol. Sci. Eng.** 33, 217 (2002).
9. D. Bonn, D. Ross, E. Bertrand, K. Ragil, N. Shahidzadeh, D. Broseta, and J. Meunier, “Wetting transitions”, **Physica A** 306, 279 (2002).

10. E. Bertrand*, J. Bibette and V. Schmitt, "From shear thickening to shear-induced jamming", **Phys. Rev. E** 66, 060401(R) (2002).
11. N. Shahidzadeh, E. Bertrand, J.-P. Dauplait, J.-C. Borgotti, P. Vié and D. Bonn, "Effect of wetting on gravity drainage in porous media", **Transport in Porous Media** 52, 213 (2003).
12. N. Shahidzadeh, E. Bertrand, J.-P. Dauplait, J.-C. Borgotti, P. Vié and D. Bonn, "Gravity drainage in porous media : the effect of wetting", **J. Petrol. Sci. Eng.** 39, 409 (2003).
13. C. Goubault, P. Jop, M. Fermigier, J. Baudry, E. Bertrand, and J. Bibette, "Flexible Magnetic Filaments as Micromechanical Sensors", **Phys. Rev. Lett.** 91, 260802 (2003).
14. J. Baudry, E. Bertrand*, C. Rouzeau, O. Greffier, A. Koenig, R. Dreyfus, L. Cohen-Tannoudji, C. Goubault, L. Bressy, L. Vincent, N. Lequeux and J. Bibette, "Colloids for studying molecular recognition" **Ann. Chim. Sci. Mat.** 29, 97 (2004).
15. J. Baudry, E. Bertrand, N. Lequeux and J. Bibette, "Bio-specific recognition and applications: from molecular to colloidal scales", **J. Phys.: Condens. Matter** 16, R469-R480 (2004).
16. S. Rafai, D. Bonn, E. Bertrand, J. Meunier, V.C. Weiss and J. Indekeu, "Long-range critical wetting: observation of a critical end point", **Phys. Rev. Lett.** 92, 245701 (2004).
17. L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand*, L. Bressy, C. Goubault, J. Baudry, J. Klein, J.-F. Joanny and J. Bibette "Polymer bridging probed by magnetic colloids", **Phys. Rev. Lett.** 94, 038301 (2005).
18. A. Koenig, P. Hebraud, C. Gosse, R. Dreyfus, J. Baudry, E. Bertrand and J. Bibette, "Magnetic force probe for nanoscale biomolecules", **Phys. Rev. Lett.** 95, 128301 (2005).
19. P.C. Fannin, C. Mac Oireachtaigh L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand and J. Bibette, "Complex susceptibility measurements of a suspension of magnetic beads", **J. Magn. Magn. Materials** 300, e210 (2006).
20. P.C. Fannin, L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, A.T. Giannitsis, C. Mac Oireachtaigh and J. Bibette, "Investigation of the complex susceptibility of magnetic beads containing maghemite nanoparticles", **J. Magn. Magn. Materials** 303, 147 (2006).
21. J. Guery, E. Bertrand*, C. Rouzeau, P. Levitz, D. Weitz and J. Bibette, "Irreversible shear-activated aggregation in non-Brownian suspensions", **Phys. Rev. Lett.** 96, 198301 (2006).
22. J. Baudry, C. Rouzeau, C. Goubault, C. Robic, L. Cohen-Tannoudji, A. Koenig, E. Bertrand and J. Bibette, "Acceleration of the recognition rate between grafted ligands and receptors with magnetic forces", **Proc. Nat. Ac. Sci.** 103, 16076 (2006).
23. N.K. Lee, A. Johner, F. Thalmann, L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, J. Baudry, J. Bibette and C.M. Marques, à paraître dans **Langmuir** (2007).

c) soumises dans des revues avec comité de lecture

L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand*, J Baudry, C. Robic, C. Goubault, M. Pélissier, A. Johner, N.K Lee, F. Thalmann, C. Marques and J. Bibette, "Solving the Recognition Conundrum of Tethered Biomolecules", soumis à Phys. Rev. Lett.

V. Weiss, E. Bertrand, S. Rafai, D. Bonn and J.O. Indekeu, soumis à Phys. Rev. E.

DISTINCTIONS ET CONFERENCES INVITEES

Lauréat du prix de thèse Ilya Prigogine 2001, décerné par le Centre Européen de Réflexion et d'Etude en Thermodynamique (CERET).

Conférence invitée aux 7^{èmes} Journées Européennes de Thermodynamique Contemporaine, 27-31 Août 2001, Mons, Belgique.

Conférence invitée au Colloque « Nano-hybrides 3 », 5-9 Juin 2006, Porquerolles, France.

SEMINAIRES INVITES

Séminaire du Laboratorium voor Vaste-Stoffysica en Magnetisme de l'Université Catholique de Leuven, 3 Mai 2000, Leuven, Belgique.

Séminaire du Centre de Recherches Paul Pascal, 7 Février 2001, Pessac, France.

G.D.R. « pâtes et poudres », 26 Février 2001, E.S.P.C.I., Paris, France.

Séminaire du Laboratoire de Physique des Matériaux Divisés et Interfaces de l'Université de Marne-la-Vallée, 23 Novembre 2001, Champs-sur-Marne, France.

Séminaire du Laboratoire de Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes de l'ESPCI, 4 Janvier 2002, Paris, France.

G.D.R. « pâtes et poudres », 17 Janvier 2002, E.S.P.C.I., Paris, France.

Séminaire du Laboratoire des Liquides Ioniques et Interfaces Chargées de Paris 6, 21 Janvier 2002, Paris, France.

Séminaire du Laboratoire de Biorhéologie et d'Hydrodynamique Physico-chimique, 20 Février 2002, Paris, France.

Séminaire du Laboratoire des Milieux Désordonnés et Hétérogènes, 25 Février 2002, Paris, France.

Séminaire du Centre de Recherche de Philips, 28 Octobre 2004, Eindhoven, Pays-Bas.

Séminaire du Laboratoire de Physique des Solides, 3 Février 2006, Orsay, France.

Séminaire du Laboratoire de Physique Statistique de l'Ecole Normale Supérieure, 27 Septembre 2006, Paris, France.

Colloque Van der Waals-Zeeman de l'Institut Van der Waals-Zeeman, 3 Octobre 2006, Amsterdam, Pays-Bas.

Séminaire Général de l'Institut des Nanosciences de Paris (INSP), 30 Novembre 2006, Paris, France.

Séminaire du Laboratoire des Colloïdes, Verres et Nanomatériaux, 11 Mai 2007, Montpellier, France.

12^{ème} Séminaire franco-japonais sur les fluides magnétiques, 20 Juillet 2007, Paris, France.

COMMUNICATIONS ORALES INTERNATIONALES

5th International Symposium on Reservoir Wettability and its Effect on Oil Recovery, 27-28 Juin 1998, Trondheim, Norvège.

International Workshop « Wetting : from microscopic origins to industrial applications », 6-12 Mai 2000, Giens, France.

XVth Conference of the European Colloid and Interface Society, 16-21 Septembre 2001, Coimbra, Portugal.

XVIIth Conference of the European Colloid and Interface Society, 21-26 Septembre 2003, Florence, Italie.

6th Liquid Matter Conference, 2-6 July 2005, Utrecht, Pays-Bas.

COMMUNICATIONS ORALES NATIONALES

Journées de Physique Statistique, 26-27 Janvier 1999, Paris, France.

7^{èmes} Journées de la Matière Condensée de la Société Française de Physique, 29 Août – 1^{er} Septembre 2000, Poitiers, France.

Journées de Physique Statistique, 25-26 Janvier 2001, Paris, France.

Journées de Physique Statistique, 24-25 Janvier 2002, Paris, France.

Journées de Physique Statistique, 30-31 Janvier 2003, Paris, France.

PARTICIPATIONS A DES RESEAUX INTERNATIONAUX

Participation (1997-2000) au Réseau Européen Joule N° JOF3-CT97-0042, impliquant plusieurs équipes de recherche universitaires et plusieurs entreprises européennes, et concernant l'étude de fluides pétroliers modèles proches de leur point critique.

Participation (1998-2000) au Réseau Européen TMR (Training and Mobility of Researchers) N° FMRX-CT98-0171, intitulé « Stabilité des mousses et transitions de mouillage » et impliquant neuf équipes de recherche universitaires européennes.

ENSEIGNEMENT

32 heures de préceptorat (1998-2000) à l'Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielles de la Ville de Paris (ESPCI) dans le cadre du cours de première année de Thermodynamique Statistique de Julien Bok.

18 heures de cours (2000-2002) sur le mouillage et ses applications à la récupération du pétrole au Mastère Spécialisé « Colloïdes Industriels : Formulation, Qualité, Innovation. » de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie et Physique de Bordeaux (ENSCP).

10 heures de préceptorat (2001-2002) à l'ESPCI dans le cadre du cours de troisième année de « Principes de formulation de la matière molle » de Jérôme Bibette.

12 heures de préceptorat par an (depuis 1998) à l'ESPCI dans le cadre du cours de première année de Thermodynamique Physico-chimique de Henri Vandamme.

28 heures de TD et 34 heures de préceptorat par an (depuis 2001) à l'ESPCI dans le cadre des cours de première et deuxième année de Méthodes Mathématiques d'Elie Raphael.

135 heures de TP par an (depuis 2003) et 3 heures de cours par an (depuis 2005) à l'ESPCI dans le cadre du cours de deuxième année de Matériaux Cristallisés de Nicolas Lequeux.

10 heures de cours par an (depuis 2005) en 2^{ème} année de Mastère Recherche, spécialité Physico-chimie analytique, parcours Matière Molle et Condensée (Unité d'Enseignement 523), de l'Université Paris 6.

9 heures de préceptorat par an (depuis 2005) à l'ESPCI dans le cadre du cours de troisième année de « Colloïdes » de Jérôme Bibette.

60 heures de TP (2007) à l'ESPCI avec Madeleine Djabourov, dans le cadre du cours de première année de Thermodynamique Physico-chimique de Henri Vandamme.

ENCADREMENT de THESES et PARTICIPATION à des JURYS de THESE

Co-encadrement (avec Jérôme Bibette) de la thèse de Lydie Bressy (2000-2003). Financement par bourse Cifre (fromageries Bel).

Encadrement de la thèse de Laetitia Cohen-Tannoudji (2003-2006). Financement par allocation du ministère de la recherche. Cette thèse a obtenu le Prix Siemens 2003 de l'innovation, division « élève en Ecole d'Ingénieur » et le Prix Langlois 2006 pour la diffusion de la recherche. Membre du jury de cette thèse.

Co-encadrement (avec Jérôme Bibette) de la thèse de Julie Guéry (2003-2006). Financement par allocation du ministère de la recherche.

Encadrement de la thèse de Fabrice Springinsfeld (2006-2009). Financement par allocation du ministère de la recherche.

Examineur dans le Jury de Thèse de l'Université Bordeaux I de Florence Thivilliers (direction Véronique Schmitt et Fernando Leal-Calderon), 17 Septembre 2007.

ENCADREMENT DIVERS

Encadrement d'un stage de licence de chimie-physique de l'Université Bordeaux I pendant trois mois (2000-2001).

Encadrement d'un projet de recherche de 3^{ème} année de l'ESPCI pendant 3 mois (2001-2002).

Encadrement du stage de D.E.A « Matière condensée : chimie et organisation » de l'Université Paris VI de Laetitia Cohen-Tannoudji pendant 9 mois (2002-2003).

Encadrement du stage d'ingénieur de troisième année de l'Ecole des Mines d'Albi d'Aurélien Lorin pendant 3 mois (2002-2003).

Encadrement du stage de D.E.A « Matière condensée : chimie et organisation » de l'Université Paris VI d'Erwan Grasland-Mongrain pendant 9 mois (2003-2004).

Encadrement du stage de D.E.A « Chimie-Physique » de l'Université Bordeaux I de Marie Pelissier pendant 4 mois (2004-2005).

Encadrement d'un projet de recherche de 3^{ème} année de l'ESPCI pendant 3 mois (2005-2006).

RESPONSABILITES SCIENTIFIQUES ET ADMINISTRATIVES

Gestion des finances et de la comptabilité du Laboratoire Colloïdes et Matériaux Divisés (2001-2003).

Membre élu de la section 11 du Comité National de la Recherche Scientifique (2004-2008).

Membre nommé du bureau de la section 11 du Comité National de la Recherche Scientifique (2006-2008).

Elu Secrétaire scientifique de la section 11 du Comité National de la Recherche Scientifique (2006-2008).

Membre élu du Conseil (instance de décisions) de l'UMR 7612 (2005-2008).

Membre nommé du Conseil scientifique (instance consultative) de l'UMR 7612 (2005-2008).

Expert pour le comité d'évaluation du Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimique (UMR 5623, Toulouse, Janvier 2006).

Expert pour le comité d'évaluation du Laboratoire du Futur (FRE 2771 mixte Rhodia / CNRS, Bordeaux, Janvier 2006).

Expert pour le comité d'évaluation du Laboratoire Polymères, Biopolymères, Membranes (UMR 6522, Rouen, Décembre 2006).

Membre nommé de la commission électorale spécialisée pour les élections 2008 des sections du Comité National de la Recherche Scientifique.

Rapporteur pour divers périodiques scientifiques (Physical Review, Europhysics Letters, Journal of Chemical Physics, Journal of the American Chemical Society, Colloids and Surfaces).

PROJETS SUBVENTIONNES

Porteur d'un Programme Interdisciplinaire de Recherche (PIR) "Microfluidique et microsystèmes fluidiques" du CNRS (2003-2005) sur un projet de "coalescence en canal microfluidique".

FLORILÈGE DE PUBLICATIONS REPRESENTATIVES

E. Bertrand, H. Dobbs, D. Broseta, J.O. Indekeu, D. Bonn and J. Meunier, “First-order and critical wetting of alkanes on water”, **Phys. Rev. Lett.** 85, 1282 (2000).

E. Bertrand, D. Bonn, H. Kellay, B.P. Binks and J. Meunier, “Fluctuation effects on wetting films”, **Europhys. Lett.** 55, 827 (2001).

E. Bertrand, J. Bibette and V. Schmitt, “From shear thickening to shear-induced jamming”, **Phys. Rev. E** 66, 060401(R) (2002).

L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, L. Bressy, C. Goubault, J. Baudry, J. Klein, J.-F. Joanny and J. Bibette “Polymer bridging probed by magnetic colloids”, **Phys. Rev. Lett.** 94, 038301 (2005).

P.C. Fannin, L. Cohen-Tannoudji, E. Bertrand, A.T. Giannitsis, C. Mac Oireachtaigh and J. Bibette, “Investigation of the complex susceptibility of magnetic beads containing maghemite nanoparticles”, **J. Magn. Magn. Materials** 303, 147 (2006).

J. Guery, E. Bertrand, C. Rouzeau, P. Levitz, D. Weitz and J. Bibette, “Irreversible shear-activated aggregation in non-Brownian suspensions”, **Phys. Rev. Lett.** 96, 198301 (2006).

J. Baudry, C. Rouzeau, C. Goubault, C. Robic, L. Cohen-Tannoudji, A. Koenig, E. Bertrand and J. Bibette, “Acceleration of the recognition rate between grafted ligands and receptors with magnetic forces”, **Proc. Nat. Ac. Sci.** 103, 16076 (2006).

First-Order and Critical Wetting of Alkanes on Water

Emanuel Bertrand,¹ Harvey Dobbs,² Daniel Broseta,³ Joseph Indekeu,² Daniel Bonn,¹ and Jacques Meunier¹

¹*Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure, 24 rue Lhomond, F-75231 Paris Cedex 05, France*

²*Laboratorium voor Vaste-Stoffysica en Magnetisme, Katholieke Universiteit Leuven, B-3001 Leuven, Belgium*

³*Institut Français du Pétrole, 1-3 avenue du Bois Préau, F-92852 Rueil Malmaison Cedex, France*

(Received 30 December 1999)

Ellipsometry measurements of the wetting behavior of different alkanes on water show a sequence of two wetting transitions: a first-order (discontinuous) transition followed by a critical (continuous) one. We report temperature-induced wetting transitions for different alkanes and a novel pressure-induced wetting transition for an alkane mixture. The experiments enable us to determine the global wetting phase diagram as a function of chain length and temperature which we subsequently calculate theoretically. The two transition lines are found to be approximately parallel, in accordance with basic theoretical arguments.

PACS numbers: 68.10.-m, 64.70.Ja, 68.45.Gd

When a liquid droplet is put onto a surface, either one of two equilibrium situations exist, distinguishable by the contact angle θ of the droplet. If the contact angle is zero, the droplet spreads across the surface, a situation known as complete wetting. On the other hand, if the contact angle is between zero and 180° , the droplet does not spread, a situation called partial wetting. The wetting transition from partial to complete wetting is usually of first order [1] and is accompanied by a discontinuous jump in the thickness of the adsorbed film coexisting with the droplet from a microscopic to a macroscopic value. The first-order character of this transition has been demonstrated experimentally by the observation of hysteresis [2].

Wetting transitions which are not first order have been found very recently [3,4]. When n -alkane droplets are deposited on a water substrate, a continuous and reversible divergence of the wetting layer thickness is observed with increasing temperature [5], called a *critical* wetting transition. This divergence is due to a change in sign of the Hamaker constant W , which gives the net effect of the intermolecular van der Waals forces, and represents the difference between alkane-alkane (cohesive) and water-alkane (adhesive) interactions. W changes sign when increasing the temperature, so that the effective attraction between the two surfaces bounding the wetting layer changes to repulsion, leading to the divergence of the layer thickness.

It was demonstrated experimentally that the critical wetting transition is preceded by a first-order transition between a microscopic and a mesoscopic film [6], and that a new wetting state exists between the two transitions, in which droplets coexist with the mesoscopic film. We call this situation *frustrated-complete* wetting. This first-order transition between microscopic and mesoscopic films was anticipated on the basis of a generalization of the Cahn theory of wetting to include the long-range tails which contribute to the Hamaker constant [5,7].

We consider alkanes at the free surface of water. This system has received a lot of attention, although the wetting

behavior of the different alkanes is still not clear [8]. One reason for the interest in these systems is that the wetting properties of oil on water in the presence of their common vapor strongly impact oil recovery from water-wet rocks [9]. This is also the reason for studying pressure-induced wetting transitions: it is the pressure one controls in oil recovery.

In this Letter we show that the sequence of two wetting transitions is generic to alkanes and alkane mixtures on water, by determining experimentally the wetting phase diagram for different chain lengths. We consider only short alkanes, as the longer ones are known to crystallize both at free surfaces and on substrates [10]. We subsequently show that it is possible to predict the wetting transition temperatures theoretically, demonstrating how the wetting behavior is related to the intermolecular forces.

The experiments are done by means of ellipsometry measurements [11] of the equilibrium thickness of the liquid alkane film on water. These are carried out in cylindrical closed glass cells half filled with ultrapure water on which a small alkane droplet has been deposited. The film thickness is subsequently measured far from the droplet, which is trapped in a corner of the cell by a Teflon disk [5]. The measured ellipticity is related to the thickness by the Drude formula [12] and is, to a very good approximation, proportional to the layer thickness and to the refractive index difference between the two liquid phases. As the latter is small, we determine it experimentally using differential refractometry for each system.

We first consider the binary alkane mixture of propane (C_3H_8) and hexane (C_6H_{14}). To do ellipsometry at relatively high pressures, we use a cylindrical pressure cell with floating seals [13]. A small quantity (10 μ l) of hexane is deposited on the water. Subsequently, the pressure is increased by stepwise injections of gaseous propane. In the following, we mean by pressure the partial pressure of the alkanes.

The experiment shows two pressure-induced wetting transitions (Fig. 1). Upon increasing the pressure, a

discontinuous jump in the film thickness is observed at $P_{w1} \approx 3.3$ bars from a microscopic film to a mesoscopic film (≈ 100 Å). When the pressure is subsequently decreased, the jump in the film thickness takes place at a much lower pressure ($P \approx 1.0$ bar): The system thus exhibits hysteresis. Both this hysteresis and the discontinuous jump clearly show that a first-order wetting transition occurs. For higher pressures, a continuous divergence of the film thickness is observed, which is completely reversible. The divergence, taking place at $P_{cw} \approx 4.8$ bars, corresponds to a critical wetting transition, similar to that observed for the pentane/water [5] and hexane/brine [6] systems as a function of temperature.

These and previous results [6] suggest that the critical wetting transition found for pentane at 53 °C [5] should also be preceded at lower temperatures by a discontinuous transition from a microscopic to a mesoscopic film. However, Ragil *et al.* found no evidence for this transition by going down to the lowest temperatures accessible experimentally (0 °C) [5]. Repeating the experiment, but starting from a partial wetting state at low temperature (just above 0 °C), we find, surprisingly, that a clear first-order transition takes place at $T \approx 25$ °C (Fig. 2). The conclusion must therefore be that in the experiment of Ragil *et al.* the system remained trapped in a metastable frustrated-complete wetting state, which is extremely long lived [2], so that the thin film state was not observed.

For the wetting of hexane on salt water, the sequence of two wetting transitions has also been observed [6]. The jump at the first-order transition is again of about 100 Å. The dependence of both transition temperatures on salt concentration is found to be linear. Then, the wetting temperatures for hexane on pure water are obtained by extrapolating to zero salt, leading to $T_{w1} \approx 73$ °C and $T_{cw} \approx 96$ °C, respectively.

We use the same trick to study the wetting of heptane. Performing measurements as a function of salinity at $T = 20$ °C, the same sequence of two wetting transitions is observed (data not shown). The jump in film thick-

ness at the first-order transition is again of about 100 Å. Extrapolating to zero salinity, assuming parallelism of the transition lines as a function of salt (as found for hexane [6]), yields estimates $T_{w1} \approx 138$ °C and $T_{cw} \approx 150$ °C for heptane on pure water.

Knowing the transition temperatures, we can construct the wetting phase diagram (Fig. 3). The lines of first-order and critical wetting transitions separate three regions: partial wetting, frustrated-complete wetting, and complete wetting. To include the pressure-induced wetting transitions in this diagram, we use the so-called equivalent alkane carbon number concept [14]. This gives an effective chain length n_C to a mixture of alkanes, which is the mean chain length of the components weighted by their mole fractions. The two wetting transition pressures of propane/hexane can be related to the composition of the liquid phase using the equation of state discussed below. The composition at 3.3 bars corresponds to an equivalent alkane carbon number $n_{w1} \approx 4.9$ and that at 4.8 bars corresponds to $n_{cw} \approx 4.3$. These two new points are consistent with the phase diagram for the pure alkanes, which can thus be extended to alkane mixtures.

The question is now how the wetting behavior can be understood and related to the cohesive and adhesive interactions. We first consider the critical wetting transition. As was predicted theoretically [3] and verified experimentally [5,6], critical wetting occurs through the change in sign of the Hamaker constant W . The interaction between two particles decays with distance r as $u(r) = -(c_{ij}/r^6)$. Integration over the two half spaces bounding a wetting film of thickness l leads to a force per unit area $\Pi(l) \approx -(W/l^3)$, with the Hamaker constant $W \approx \pi^2 \rho_a(\rho_w c_{aa} - \rho_w c_{aw})$; here ρ_w and ρ_a are the densities of the water and the alkane, and c_{aw} and c_{aa} are the amplitudes of the alkane-water and alkane-alkane interaction tails [15].

This result was obtained by Hamaker, assuming pairwise additivity of the intermolecular forces. It was shown later that this is not completely justified, although the error is small. The exact expression of the Hamaker constant

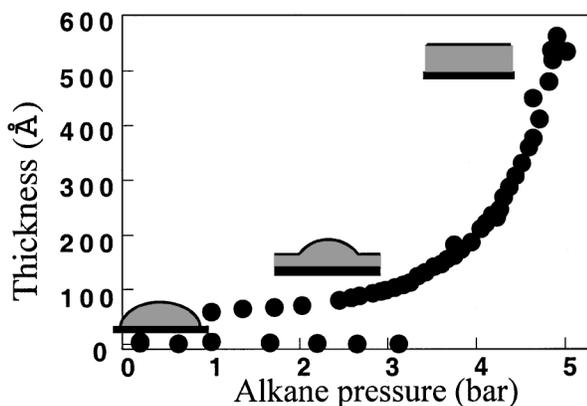


FIG. 1. Measured thickness of the wetting layer as a function of pressure for the propane/hexane system.

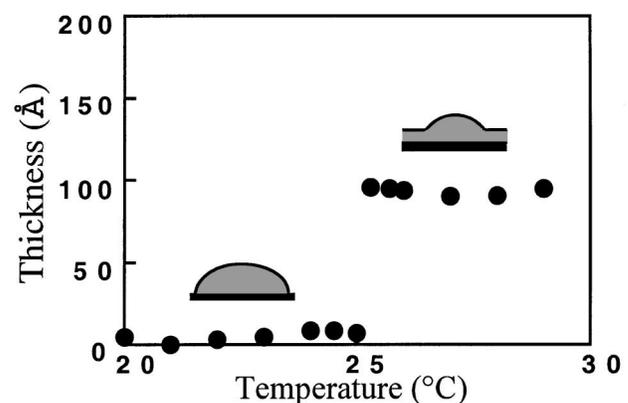


FIG. 2. Measured thickness of the pentane wetting layer as a function of temperature.

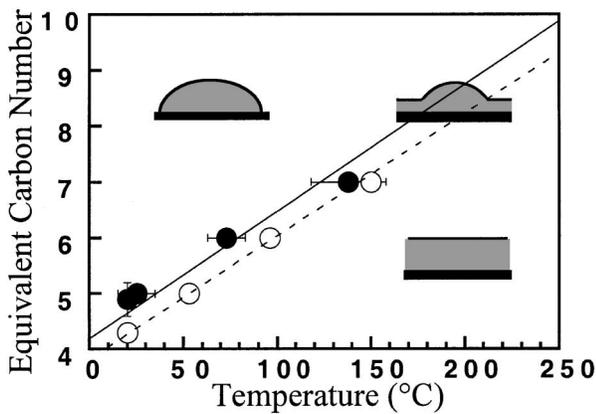


FIG. 3. Global wetting phase diagram: the filled circles correspond to the experimental first-order wetting transitions and the solid line is the theoretically calculated first-order line. The open circles correspond to the experimental critical wetting transitions and the dashed line is the theoretically calculated critical wetting transition line.

[16] is rather complex but can be simplified considerably if retardation effects are neglected and the three media are assumed to possess the same single absorption frequency in the ultraviolet range [17]. Then it effectively decomposes into two contributions: a zero-frequency term arising from dipolar interactions $W_{\nu=0}$ and a dispersion term arising from induced dipoles $W_{\nu>0}$. The former is given by the difference in static dielectric constants, whereas the latter is proportional to the refractive index difference between the water and the alkane phases ($n_w - n_a$). These quantities can still be related to the densities and interaction strengths, so that the Hamaker result can be retrieved approximately. We thus calculate the total Hamaker constant $W = W_{\nu=0} + W_{\nu>0}$, using the measured refractive index difference. The temperature for which W vanishes for each of the alkanes should correspond to the critical wetting temperature and is indeed in excellent agreement with the experimental results (Fig. 3).

It is worth noting here that in the frustrated-complete wetting state the surface free energy is very close to that for complete wetting. The difference can be estimated from the work performed against the disjoining pressure $\Pi(l) \approx -(W/l^3)$ between 100 Å and an infinite film, yielding approximately 10^{-6} N m^{-1} , much smaller than a typical surface tension. This allows us to calculate the two wetting transitions independently: Critical wetting follows from the Hamaker constant, whereas first-order wetting follows from the surface tensions. These can be reunited afterwards, by adding the van der Waals interactions as a small perturbation to the surface tension calculation [7].

For predicting the surface tensions, and thus the first-order wetting transitions, it is not feasible to use the molecular interaction potentials directly and solve a microscopic theory. Instead we employ the phenomenological Cahn theory [1,18]. The water is modeled as an impenetrable substrate, and the surface free energy of the substrate-vapor

interface is given by an integral involving the concentration profile $\rho(z)$:

$$\gamma(\rho, \rho_\infty) = \int_0^\infty dz \left[\Delta f(\rho, \rho_\infty) + \frac{1}{2} m \left(\frac{d\rho}{dz} \right)^2 \right] + \varphi(\rho_0).$$

Minimization of this surface free energy yields the equilibrium profile of the adsorbed alkane and thus the wetting state [1]. In the formula, m is the so-called influence parameter [19], ρ_∞ is the density of the vapor, and $\rho_0 = \rho(z=0)$ is the density at the substrate. Δf represents the local free-energy density of the alkane over that in the equilibrium bulk phase. Δf thus measures the cohesive alkane-alkane interactions and can be deduced from the Peng-Robinson [20] equation of state (EOS):

$$p = \frac{\rho RT}{1 - \rho b} - \frac{a\rho^2}{1 + \rho b(2 - \rho b)}.$$

This EOS is similar to the van der Waals equation; the molar excluded volume b is related to the hard sphere diameter σ through $b/N_a = \frac{2}{3}\pi\sigma^3$, with N_a Avogadro's number [17]; the molar interaction parameter a relates to the amplitude of the cohesive interaction tail through $c_{aa} = (3/2\pi)^2 ab/N_a^3$.

Adhesive contributions to the surface free energy are included in the Cahn theory through the function $\varphi(\rho_0)$, called a contact energy; usually one assumes an expansion $\varphi(\rho_0) \approx h_1\rho_0 + g\rho_0^2$. For the different alkane-water systems considered here, it was demonstrated recently that this contact energy is a universal function of ρ_0 , provided it is rescaled by a factor $\sqrt{mP_c}$, where P_c is the critical pressure of the alkane [21], suggesting that a law of corresponding states operates for the adsorption of alkanes on water, at least as far as $\varphi(\rho_0)$ is concerned.

To quantitatively predict the first-order wetting temperatures, previous attempts used h_1 and g determined from experimental surface tension data. Unfortunately, this led to an underestimation of T_{w1} by more than 50 °C [7,17,21], which is probably a consequence of the assumption that the contact energy depends only on the density exactly at the wall. This assumption also means that Cahn theory does not adequately describe states of low surface adsorption, symptomatic of which is the failure to reproduce Henry's law for thin adsorbed films [22].

Both problems are solved by taking into account the finite width Δz of the first layer of adsorbed alkane, so that the contribution to the free energy in the Cahn theory in the interval $0 < z < \Delta z$ is replaced by a discrete term $\{\Delta f(\rho_0, \rho_\infty) + 1/2m[(\rho_1 - \rho_0)/\Delta z]^2\}\Delta z$, with $\rho_1 = \rho(z = \Delta z)$, and the integral over the density profile runs from Δz to infinity, a thickness domain in which the fully continuum Cahn theory is adequate [22]. In order to minimize the modified surface free energy with respect to the density profile, we choose the hard sphere diameter σ that follows from the EOS as the thickness Δz of the first layer for each alkane (4.1 Å for pentane, 4.4 Å for

hexane, and 4.7 Å for heptane). Using these values, the theory yields an adequate prediction for the first-order wetting transitions, as shown in Fig. 3. It is important to stress that this modified-Cahn theory does not make use of any adjustable parameter since the thickness of the first layer is fixed by the size of the molecules.

Also from Fig. 3, the rather surprising observation is that the first-order and critical wetting lines are roughly parallel. That the jump in layer thickness at the first-order transition is approximately the same for all the systems studied lends weight to this observation, since, if the two transition lines were to approach each other, the jump in thickness would increase [23]. The parallelism is interesting, because critical wetting is governed by the tails of the intermolecular forces only, while the first-order transition is governed by both the cohesive interactions featuring in the EOS (also due to the van der Waals forces), and the adhesive forces represented in Cahn theory by the contact energy $\varphi(\rho_0)$. The law of corresponding states for the latter also suggests that it can be related to the total intermolecular interaction potential; the connection, however, still needs some clarification.

A microscopic explanation of the results can be found by examining a density functional theory [24], in which the free energy of the adsorbed alkane is written in terms of an alkane-alkane potential from which the short-range repulsive part is removed, and the alkane-water potential. Short-range repulsion is taken into account by referring the system to a hard-core gas with a molecular volume corresponding to the molar excluded volume b in the EOS, which is proportional to the carbon number n of the alkane. Because the amplitudes of the long-range tails c_{aw} and c_{aa} should be proportional to n and n^2 , respectively, it follows that the n dependence of the microscopic functional appears only as a prefactor to the temperature. Thus, the ratio of the temperature of any surface phase transition to the bulk critical temperature T_c would be independent of n , which implies that the transition lines are nearly parallel, as is indeed observed in the experiment.

In conclusion, we performed an experimental determination of the wetting behavior of alkanes on water. Two roughly parallel transition lines exist in the phase diagram, corresponding to first-order and critical wetting transitions. The critical wetting temperatures are well described as the temperatures for which the Hamaker constant changes sign. The first-order wetting temperatures are well described by a modified-Cahn theory.

LPS de l'ENS is UMR 8550 of the CNRS, associated with the Universities Paris 6 and Paris 7. This work was supported by EC Joule Contract No. JOF3-CT97-0042 and

by TMR Network No. FMRX-CT98-0171. Support from IFP, Elf E.P., and Gaz de France is also acknowledged.

-
- [1] J.W. Cahn, *J. Chem. Phys.* **66**, 3667 (1977); P.G. de Gennes, *Rev. Mod. Phys.* **57**, 827 (1985).
 - [2] D. Bonn, H. Kellay, and G.H. Wegdam, *Phys. Rev. Lett.* **69**, 1975 (1992); J.E. Rutledge and P. Taborek, *Phys. Rev. Lett.* **69**, 937 (1992).
 - [3] R. Lipowsky and D.M. Kroll, *Phys. Rev. Lett.* **52**, 2303 (1984); S. Dietrich and M. Schick, *Phys. Rev. B* **31**, 4718 (1985).
 - [4] D. Ross, D. Bonn, and J. Meunier, *Nature (London)* **400**, 737 (1999).
 - [5] K. Ragil, J. Meunier, D. Broseta, J.O. Indekeu, and D. Bonn, *Phys. Rev. Lett.* **77**, 1532 (1996).
 - [6] N. Shahidzadeh, D. Bonn, K. Ragil, D. Broseta, and J. Meunier, *Phys. Rev. Lett.* **80**, 3992 (1998).
 - [7] J.O. Indekeu, K. Ragil, D. Bonn, D. Broseta, and J. Meunier, *J. Stat. Phys.* **95**, 1009 (1999).
 - [8] S. Akatsuka, H. Yoshigiwa, and Y. Mori, *J. Colloid Interface Sci.* **172**, 335 (1995); T. Pfohl and H. Riegler, *Phys. Rev. Lett.* **82**, 783 (1999).
 - [9] F. Kalaydjian, J.-C. Moulu, O. Vizika, and P.K. Munkerud, *Soc. Pet. Eng. J.* 26671 (1993).
 - [10] X.Z. Wu, E.B. Sirota, S.K. Sinha, B.M. Ocko, and M. Deutsch, *Phys. Rev. Lett.* **70**, 958 (1993); J.P. Rabe and S. Buchholz, *Science* **253**, 424 (1991).
 - [11] S.N. Jasperson and S.E. Schnatterly, *Rev. Sci. Instrum.* **40**, 761 (1969).
 - [12] P. Drude, *The Theory of Optics* (Dover, New York, 1959).
 - [13] J.W. Schmidt and M.R. Moldover, *J. Chem. Phys.* **99**, 582 (1993).
 - [14] J.L. Cayias, R.S. Schechter, and W.H. Wade, *Soc. Pet. Eng. J.* 351 (1976).
 - [15] H.C. Hamaker, *Physica (Utrecht)* **4**, 1058 (1937).
 - [16] I.E. Dzyaloshinskii, E.M. Lifshitz, and L.P. Pitaevskii, *Adv. Phys.* **10**, 165 (1961).
 - [17] J.N. Israelachvili, *Intermolecular & Surface Forces* (Academic Press, London, 1985), p. 145.
 - [18] K. Ragil, D. Bonn, D. Broseta, and J. Meunier, *J. Chem. Phys.* **105**, 5160 (1996).
 - [19] B.S. Carey, L.E. Scriven, and H.T. Davis, *AIChE J.* **24**, 1076 (1978).
 - [20] D.Y. Peng and D.B. Robinson, *Ind. Eng. Chem. Fundam.* **15**, 59 (1976).
 - [21] H.T. Dobbs, *Langmuir* **15**, 2586 (1999).
 - [22] H.T. Dobbs (to be published).
 - [23] V.B. Shenoy and W.F. Saam, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 4086 (1995).
 - [24] S. Dietrich, in *Phase Transitions and Critical Phenomena*, edited by C. Domb and J. Lebowitz (Academic, New York, 1988); E. Cheng *et al.*, *Rev. Mod. Phys.* **65**, 557 (1993).

Fluctuation effects on wetting films

E. BERTRAND¹, D. BONN¹, H. KELLAY², B. P. BINKS³ and J. MEUNIER¹

¹ *Laboratoire de Physique Statistique, Ecole Normale Supérieure
24 rue Lhomond, F-75231 Paris Cedex 05, France*

² *CPMOH, Université de Bordeaux 1 - 351 Cours de la Libération
F-33405 Talence Cedex, France*

³ *Department of Chemistry, University of Hull - Hull HU6 7RX, UK*

(received 4 December 2000; accepted in final form 6 July 2001)

PACS. 68.05.-n – Liquid-liquid interfaces.

PACS. 68.35.Rh – Phase transitions and critical phenomena.

PACS. 68.08.Bc – Wetting.

Abstract. – We provide a quantitative experimental determination of the fluctuation repulsion that stabilizes wetting films in systems for which the interfacial tension of one of the two interfaces bounding the wetting film is low. This is achieved by studying the wetting of different alkanes on water, in the presence of a surfactant. The results agree well with the theoretical calculation of the fluctuation repulsion of a membrane under vanishing surface tension.

If one deposits a drop of liquid on a substrate, it either remains a drop (partial wetting), or spreads out to form a film (complete wetting), depending on the three surface tensions involved. Cahn [1] predicted a first-order surface phase transition between partial and complete wetting, resulting in a discontinuous jump in the film thickness at the transition. The generic first-order character of this wetting transition was questioned lately by two observations [2,3]. First, different alkanes on water were found to undergo first-order (discontinuous) transition followed by a completely continuous and reversible divergence of the wetting layer thickness [2]. As the occurrence of this *critical wetting transition* was shown to be due to the effect of the long-range van der Waals forces [2], the continuous transition has been dubbed *long-range critical wetting transition* [4]. Second, different mixtures of alkanes and methanol were shown [3] to undergo, in certain cases, a completely continuous transition between a microscopic and a macroscopic film. Here, the logarithmic divergence of the film thickness indicated that short-range (*i.e.*, exponentially fast decaying) forces are at the origin of the transition; the transition is called *short-range critical wetting transition* [5].

For long-range critical wetting, the fluctuations of the two interfaces are irrelevant in the renormalization group (RG) sense, *i.e.*, they do not change the asymptotic critical behavior near the critical wetting transition. For short-range critical wetting, on the other hand, the effect of the fluctuations has been much debated, as a strongly non-universal behavior was predicted due to the fluctuations: the critical exponents characterizing the transition depend explicitly on the fluctuations [3,5].

The fluctuations add an extra term to the interactions between the two interfaces that is entropic in origin. If the interfacial tension of one of the two interfaces bounding the wetting film becomes much smaller than that of the other interface, the excursions of the low-tension interface become large. The presence of the second interface then inhibits certain large-scale fluctuations of the low-tension interface, resulting in an entropic repulsion between the two interfaces [6].

The exact form of this fluctuation repulsion remains a matter of debate. Scaling relations from RG and thermodynamic arguments show that it should be exponentially decaying, but do not provide the prefactors [7]. One of the origins of this problem may be that even for a simple liquid-vapor interface the correct formulation of the Hamiltonian for the interface fluctuations is open to question. One of the problems is the UV divergence of the RMS amplitude of the interface fluctuations. Different cutoffs have been proposed [8], but recent theory and experiments [9] show that the situation may in fact be even more complicated than was anticipated initially.

Here we present the first quantitative experimental determination of this fluctuation repulsion in a system for which there is no ambiguity on the small-scale cutoff. To do so, we determine equilibrium film thicknesses of different oils on brine in the presence of a surfactant. The presence of the surfactant allows us to tune the interfacial tension between the oil and the aqueous phase over several orders of magnitude, and thus vary the fluctuation repulsion. Secondly, it is well known that the presence of surfactant films introduces a bending rigidity for the interface: at small scales the interface is flat since surfactant films introduce a curvature elasticity of the saturated interface [6].

These systems are chosen because they allow for explicit calculation of the long-range van der Waals interactions, so that all the interactions —except for the fluctuation repulsion— are known. Kellay *et al.* [10] already demonstrated the existence of this fluctuation repulsion but our precise knowledge of the van der Waals interaction potential enables us to quantify their results. We thus show that these surface phase transitions allow us to determine experimentally the interaction induced by fluctuations, a thing that is not feasible for bulk phase transitions.

We discuss the results for hexane in detail; the results are representative also for the other alkanes. The wetting layer is bounded by two interfaces: a water-hexane and a hexane-vapor interface. The water-hexane interfacial tension is tuned by adding a small amount of a surfactant (AOT, Sigma) at concentrations slightly above its critical micelle concentration. Adding the surfactant changes the equilibrium wetting state from partial wetting into the so-called *frustrated-complete wetting* state, characterized by the coexistence of a lens and a mesoscopic wetting film [2, 10]. Addition of small amounts of NaCl allows for changing the water-hexane interfacial tension (measured by the spinning drop method [11]) by several orders of magnitude [10]. The quantities of surfactant and salt added are so small that they hardly influence the bulk properties.

The film thickness is obtained by ellipsometry [10]. The two contributions to the ellipticity $\bar{\rho}$ are due to the roughness of the hexane-water interface (constrained by the other interface) and to the hexane film. The roughness contribution is calculated from the known interfacial tension [12]. The remaining contribution can be translated into the wetting film thickness using Drude's formula [13]. The combined results for the interfacial tension and film thickness (fig. 1) show that as the NaCl concentration increases, the interfacial tension passes through a minimum, whereas the film thickness displays a maximum. This was studied previously in [10] for octane and decane, and provides a direct demonstration of the fluctuation repulsion: the thickening of the film upon the lowering of the interfacial tension is due to an entropic repulsion that results from the confinement of the fluctuations of the low-tension interface by the other one [6, 10].

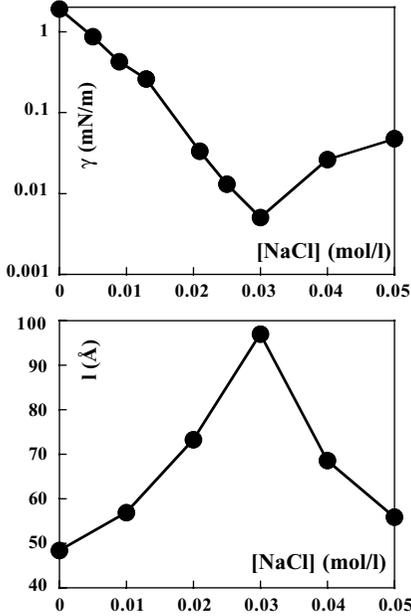


Fig. 1

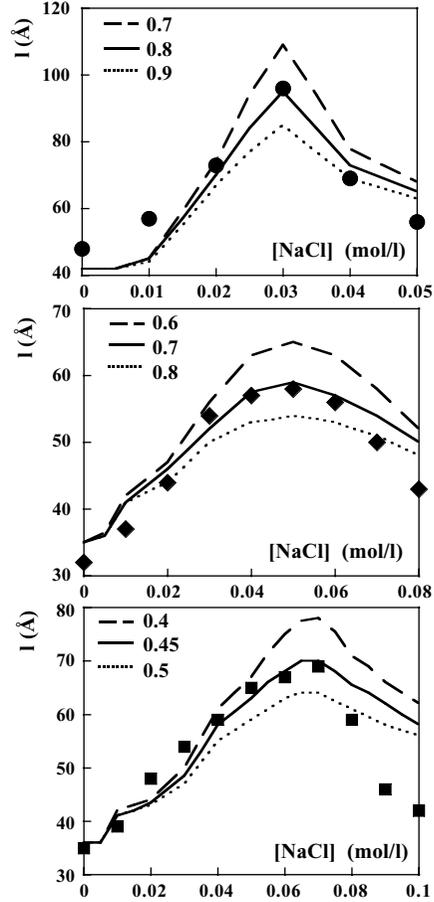


Fig. 2

Fig. 1 – Hexane-water interfacial tension γ and thickness l of the hexane wetting film on aqueous AOT solutions as a function of brine salinity.

Fig. 2 – Measured thickness of the wetting layer as a function of salinity for hexane (circles), octane (diamonds) and decane (squares); comparison with eq. (4) at different bending rigidity constants $\kappa/k_B T$ (different lines).

Here we provide a quantitative study of *all* the interactions stabilizing the wetting film, from which the entropic fluctuation repulsion can be determined. We study the disjoining pressure $\Pi(l)$, the force per unit area the two interfaces exert on each other; the equilibrium film thickness follows directly from the mechanical equilibrium condition $\Pi(l) = 0$.

Since the film thicknesses are large compared to molecular dimensions, short-range interactions can be neglected. The other interactions are thus determined by the intermolecular van der Waals forces. The interaction between the two interfaces results from the difference between the cohesive (hexane-hexane) and adhesive (water-hexane) interactions, and reads [14]

$$\Pi_{\text{vdW}}(l) = 2A/l^3 + 3B/l^4. \tag{1}$$

For hexane on water, the Hamaker constant A was shown [2] to follow $A = A_0(T_{\text{cw}} - T)$,

where A_0 is a constant and T_{cw} the critical wetting temperature. A can be calculated exactly through the DLP theory [15], which can be simplified if the three media are assumed to have the same absorption frequency ν_{UV} [16] in the UV range, leading to [16]

$$A = -\frac{k_{\text{B}}T}{16\pi}D_0(1, 3, 2, 3) - \frac{h\nu_{\text{UV}}}{32\sqrt{2}\pi}D_1(1, 3, 2, 3),$$

with

$$D_0(h, i, j, k) = \frac{(\varepsilon_h - \varepsilon_i)(\varepsilon_j - \varepsilon_k)}{(\varepsilon_h + \varepsilon_i)(\varepsilon_j + \varepsilon_k)},$$

$$D_1(h, i, j, k) = \frac{(n_h^2 - n_i^2)(n_j^2 - n_k^2)}{(n_h^2 + n_i^2)^{1/2}(n_j^2 + n_k^2)^{1/2}\{(n_h^2 + n_i^2)^{1/2} + (n_j^2 + n_k^2)^{1/2}\}}, \quad (2)$$

where ε is the static dielectric constant, n the refractive index; the subscripts 1, 2, 3 refer to water, vapor and hexane, respectively, and the indices h, i, j, k vary between 1 and 3. All constants can be found in standard textbooks [17].

To test the approximation, we calculated A from the complete DLP theory, using the model dielectric constant for water from [18]. We found $A_0 = -1.2 \cdot 10^{-24} \text{ J K}^{-1}$ and $T_{\text{cw}} = 75^\circ\text{C}$, compared with the values of $A_0 = -1.2 \cdot 10^{-24} \text{ J K}^{-1}$ and $T_{\text{cw}} = 96^\circ\text{C}$ obtained from eq. (2). Both calculations give the same A_0 and, in addition, the experimental T_{cw} (96°C) [2] agrees very well with that obtained from the approximation; we therefore use eq. (2) [19]. The better agreement between the approximation and the experiment is probably fortuitous and only due to the inexactitude of the model dielectric constant given in [18].

The next-to-leading-order term B is more difficult to calculate [14]. Its physical origin is due to the fact that the density of the wetting fluid is enhanced close to the substrate over a distance of the order of the bulk correlation length ξ [20]. We show here that B can be calculated explicitly by considering the system to consist of four media rather than three: we add a dense alkane layer close to the water-alkane interface. Mean-field calculations based on experimental data for alkane vapor adsorption on water indicate that the alkane density near the surface is approximately 12% higher than its density in the bulk over a distance of the order of ξ [21]. We take the hard-sphere diameter σ of the alkane [2] as an approximation for ξ , and calculate ε and n for the dense layer using the mean-field result for the density. Using the same approximations, it follows that [22]

$$B = \frac{k_{\text{B}}T}{8\pi}\sigma D_0(1, 4; 2, 3) + \frac{h\nu_{\text{UV}}}{16\sqrt{2}\pi}\sigma D_1(1, 4; 2, 3), \quad (3)$$

where 4 denotes the dense alkane layer. This yields $B = 1.5 \cdot 10^{-31} \text{ J m}$ for pentane and $B = 2.1 \cdot 10^{-31} \text{ J m}$ for hexane ($T = 20^\circ\text{C}$). The experimental value of B for pentane [2] is $B \approx 1.3 \cdot 10^{-31} \text{ J m}$: the calculation yields a satisfactory estimate for B . The Hamaker constant A can also be calculated within this four-media model, but it changes the result by less than one percent.

It follows that $A (< 0)$ represents a net attraction and $B (> 0)$ a net repulsion between the two interfaces. This agrees with our observations that the wetting layer is neither microscopic nor macroscopic: the competition between the two terms results in a mesoscopic film [2]: this is the origin of the above-mentioned *frustrated-complete wetting* state.

The remaining contribution to the disjoining pressure is then due to the fluctuation repulsion. Two limiting cases have been calculated theoretically. First, as already mentioned above, if surface tension is the only “restoring force” for the interface fluctuations, one expects

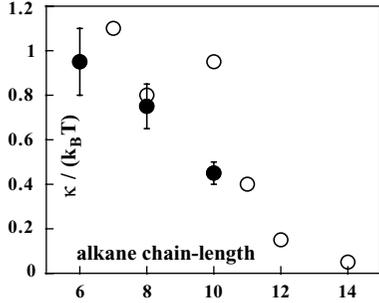


Fig. 3

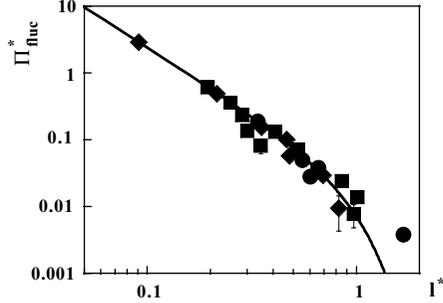


Fig. 4

Fig. 3 – Experimental determination of the bending rigidity constant at the alkane-water interface for hexane, octane and decane (filled circles), the error bars being estimated by taking into account the small discrepancy (see text) between the complete DLP theory and eq. (2); comparison is made with the values obtained by Binks *et al.* [24] (open circles).

Fig. 4 – Rescaled fluctuation disjoining pressure Π^*_{fluc} (circles for hexane, diamonds for octane and squares for decane; error bars determined as in fig. 3) as a function of the rescaled interfacial distance l^* , in log-log scale; comparison with eq. (4) (solid line).

an exponential decay of the interaction energy between the two interfaces. Unfortunately, the numerical prefactors for the interaction are not known. Second, the existence of a fluctuation repulsion is well established, both theoretically and experimentally, for membranes having a bending rigidity but a vanishing surface tension [6, 23]. However, our systems have both a bending rigidity and a surface tension; this case has, to our knowledge, not been treated theoretically. In order to see which of the two dominates, it suffices to note that the presence of the surfactant AOT introduces a bending rigidity constant κ of order $k_B T$. The system thus possesses an intrinsic characteristic length $\sqrt{\kappa/\gamma}$ separating two regimes: the first, for large separations between the interfaces, is dominated by the surface tension and the second, at smaller distances, is governed by the bending rigidity. Near the minimum of alkane-water interfacial tension, this length scale is about 400 Å, which is much larger than the typical film thicknesses we measure here. This implies that we mainly study the regime of low surface tension.

In the original paper by Helfrich and Servuss [6], the surface tension γ is included in the theoretical treatment and the fluctuation repulsion between membranes is determined by taking the limit $\gamma \rightarrow 0$. If we retain the surface tension term and consider the alkane-vapor interface as a hard wall, the fluctuation pressure follows as [10]

$$\Pi_{\text{fluc}}(l) = \frac{\gamma k_B T}{2\pi^2 \kappa l [\exp[\frac{2\pi\gamma l^2}{3k_B T}] - 1]}, \quad (4)$$

an equation that is incorrect for surface tension-dominated interfaces, but that becomes asymptotically correct in the limit of vanishing tension. As the fluctuation repulsion in our measurements is mainly governed by the bending rigidity (and no other explicit form for the fluctuation repulsion is available), we compare eq. (4) to our experiments.

From the variation of the film thickness with the interfacial tension in fig. 1, and similar curves for octane and decane [10], we can determine the fluctuation contribution to the disjoining pressure by equating $\Pi_{\text{fluc}}(l) = -\Pi_{\text{vdW}}(l)$ for each thickness, considering, in first approximation, that the two contributions to the disjoining pressure are independent and ad-

ditive. To compare $\Pi_{\text{fluc}}(l)$ with eq. (4), one still needs to know the bending rigidity constant κ for each alkane. The comparison between the measured and calculated thicknesses (fig. 2), using different values for κ , shows that eq. (4) satisfactorily describes the data. The deviation observed for the highest and the lowest salinities may be due to the intrinsic incapacity of eq. (4) to describe the regime in which the surface tension prevails. The fits are very sensitive to the value of κ , which is used here as an adjustable parameter. Our experiments thus allow determining κ ; fig. 3 compares these values to earlier measurements on the same systems with a different method [24], showing that the two independent determinations yield very similar results.

Using these values for κ , we compare, in fig. 4, Π_{fluc} to eq. (4); the results obtained at zero salt are not shown as they correspond to high surface tensions. The disjoining pressure is made dimensionless by rescaling as $\Pi_{\text{fluc}}^* = \Pi_{\text{fluc}}(\kappa l / \gamma k_B T)$, and the thickness as $l^* = l \sqrt{(\gamma / k_B T)}$. Using these, the results for the different systems coincide. It is worthwhile noting here that these results do not depend very sensitively on the value of κ ; if we naively assume $\kappa = k_B T$, a satisfactory data collapse is also obtained. The uncertainties on the calculated Hamaker constants do not change these results either, as shown by the error bars of fig. 4.

This result is already surprising, because it indicates that eq. (4) gives the correct scaling form for the fluctuation repulsion, also in the regime where the surface tension is no longer negligible: the power law behavior for small l^* is the rigidity-dominated regime, the curved region for large l^* is the crossover regime between rigidity and surface tension. Even more spectacular is the excellent quantitative agreement between eq. (4) and the data: for wetting systems in which the surface tension of one of the two interfaces is very low, the fluctuation repulsion is adequately described by eq. (4). This poses an interesting theoretical problem, because eq. (4) has to fail in the regime dominated by surface tension.

In conclusion, we have quantitatively determined the fluctuation repulsion that stabilizes wetting films in systems for which the interfacial tension of one of the two interfaces bounding the wetting film is low. It agrees surprisingly well with a theoretical calculation of the entropic repulsion due to the fluctuations of a membrane with a small but non-zero surface tension [6, 10].

* * *

We thank H. DOBBS for a critical reading of the manuscript. LPS de l'ENS is UMR 8550 (CNRS) associated with Universities P6 and P7. This work was supported by EC Contracts No. JOF3-CT97-0042 and No. FMRX-CT98-0171. Support from IFP, Total-Fina, Elf E.P. and Gaz de France is also acknowledged.

REFERENCES

- [1] CAHN J. W., *J. Chem. Phys.*, **66** (1977) 3667.
- [2] RAGIL K. *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **77** (1996) 1532; SHAHIDZADEH N. *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **80** (1998) 3992; BERTRAND E. *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **85** (2000) 1282.
- [3] ROSS D., BONN D. and MEUNIER J., *Nature*, **400** (1999) 737; ROSS D., BONN D. and MEUNIER J., *J. Chem. Phys.*, **114** (2000) 2784.
- [4] LIPOWSKY R. and KROLL D. M., *Phys. Rev. Lett.*, **52** (1984) 2303; DIETRICH S. and SCHICK M., *Phys. Rev. B*, **31** (1985) 4718.
- [5] BRÉZIN E., HALPERIN B. I. and LEIBLER S., *Phys. Rev. Lett.*, **44** (1983) 775.
- [6] HELFRICH W. and SERVUSS R.-M., *Nuovo Cimento D*, **3** (1984) 137.

- [7] LIPOWSKY R. and FISHER M. E., *Phys. Rev. B*, **36** (1987) 2126; LIPOWSKY R., in *Random Fluctuations and Pattern Growth: Experiments and Models*, edited by H. E. STANLEY and N. OSTROWSKY (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht) 1988, pp. 227-245.
- [8] BUFF P. F., LOVETT R. A. and STILLINGER F. H., *Phys. Rev. Lett.*, **15** (1965) 621; MEUNIER J., *J. Phys. (Paris)*, **48** (1987) 1819.
- [9] FRADIN C., BRASLAU A., LUZET D., SMILGIES D., ALBA M., BOUDET N., MECKE K. and DAILLANT J., *Nature*, **403** (2000) 871.
- [10] KELLAY H., MEUNIER J. and BINKS B. P., *Phys. Rev. Lett.*, **69** (1992) 1220.
- [11] VONNEGUT B., *Rev. Sci. Instrum.*, **13** (1942) 6.
- [12] MEUNIER J., to be published.
- [13] DRUDE P., *The Theory of Optics* (Dover, New York) 1959.
- [14] DIETRICH S. and NAPIORKOWSKI M., *Phys. Rev. A*, **43** (1991) 1861.
- [15] DZYALOSHINSKII I. E., LIFSHITZ E. M. and PITAEVSKII L. P., *Adv. Phys.*, **10** (1961) 165.
- [16] ISRAELACHVILI J. N., *Intermolecular & Surface Forces* (Academic Press, London) 1985.
- [17] WEAST R. C. (Editor), in *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 66th edition (CRC Press, Boca Raton, Florida) 1985-86.
- [18] ELBAUM M. and SCHICK M., *Phys. Rev. Lett.*, **66** (1991) 1713.
- [19] We do not take into account the surfactant layer at the interface between water and alkane since the aliphatic chains of AOT are alkane-like and therefore have similar refractive indices, and since we neglect the slight change of refractive index of water near the interface due to the presence of AOT head-groups.
- [20] SHENOY V. B. and SAAM W. F., *Phys. Rev. Lett.*, **75** (1995) 4086.
- [21] RAGIL K. *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **105** (1996) 5160.
- [22] MAHANTY J. and NINHAM B. W., *Dispersion Forces* (Academic Press, London) 1976.
- [23] SAFINYA C. R. *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **57** (1986) 2718.
- [24] BINKS B. P., KELLAY H. and MEUNIER J., *Europhys. Lett.*, **16** (1991) 53.

From shear thickening to shear-induced jamming

Emanuel Bertrand,^{1,2} Jerome Bibette,¹ and Véronique Schmitt²

¹Laboratoire Colloïdes et Nanostructures, ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75231 Paris Cedex 05, France

²Centre de Recherches Paul Pascal, avenue Schweitzer, 33600 Pessac, France

(Received 12 December 2001; published 11 December 2002)

We show that applying shear to a suspension may lead to either thickening or permanent jamming, depending on the volume fraction of the considered suspension. Interpreting measurements of conductivity under shear, we invoke a dynamical structural transition to explain the origin of shear thickening in suspensions of non-Brownian particles. We finally suggest that shear thickening and shear-induced jamming be regarded as two consequences of this dynamical structural transition.

DOI: 10.1103/PhysRevE.66.060401

PACS number(s): 83.60.Rs, 83.80.Hj, 82.70.Kj

Shear thickening and jamming are questioning phenomena from both the fundamental and the industrial point of view. Both are very often observed with industrial suspensions and may cause severe problems in many processes, such as mixer blade damage or jamming in a transport pipe [1,2]. First observed in 1938 by Freundlich and Röder [3] in suspensions of hard spheres, shear thickening is the increase of apparent viscosity with increase in shear rate [1,4]. In this paper, we show that, when a sufficiently concentrated suspension of non-Brownian particles is submitted to shear, it may exhibit either shear thickening or permanent jamming (i.e., become pasty), depending on the volume fraction of the considered suspension. We subsequently measure different components of the conductivity tensor of a suspension under shear and invoke the dynamical order-disorder transition scenario proposed by Hoffman [5–7] to explain the origin of shear thickening in suspensions of non-Brownian particles. Finally, we suggest that shear thickening and shear-induced jamming be seen as two consequences of this same dynamical structural transition.

The system considered here is a suspension of bismuth oxychloride (BiOCl) in a very dilute polyelectrolyte—namely a short poly(sodium acrylate)—solution. The BiOCl particles are non-Brownian (mean equivalent diameter of 6 μm , measured with a Malvern granulometer), highly anisotropic, and have irregular shapes. The polydispersity of these particles is moderate as it corresponds to a measured uniformity of 40%. The uniformity is defined as the mean deviation to the median diameter of the size distribution. Without additive, the BiOCl particles are very hydrophobic: they strongly aggregate in pure water.

Once dispersed, BiOCl particles exhibit a rheological behavior that depends strongly on their volume fraction. At volume fractions inferior to 17%, the suspension is a Newtonian liquid. Between 17% and 22.5%, the suspension is a liquid that behaves as follows. It is shear-thinning at low shear rates; the viscosity decreases when the shear rate increases. It is then shear-thickening at higher shear rates and shear thinning again at the highest accessible shear rates. Between 22.5% and 31.5%, an amazing behavior takes place. It consists of a liquid that can be transformed into a persisting paste by moderate shearing. This phenomenon, which we have dubbed *shear-induced jamming*, is spectacular: a whole liquid sample becomes pasty in a few seconds

when it is moderately stirred with a spatula. The behavior of the corresponding shear-induced jammed state is also noticeable: while this state is indefinitely stable kinetically, it breaks down and becomes liquid again if slightly vibrated. Finally, above 31.5% volume fraction, the suspension looks like a paste and behaves like a solid, symptomatic of a jammed state [2,8,9].

Let us first focus on the range of volume fraction (between 17% and 22.5%) where the suspension is a liquid that exhibits shear thickening in a limited range of shear rates. In order to study this phenomenon quantitatively, we used a stress-controlled rheometer (TA Instruments) with a plate-plate geometry and a gap of 2 mm, large compared with the particle size. We made viscosity measurements in a time scale appropriate to avoid any influence of water evaporation or particle sedimentation and scratched the inner face of the geometry to prevent any slippage. Figure 1(a) shows the measured viscosity as a function of the imposed shear stress. The two samples with the lowest volume fractions show a Newtonian behavior. At fractions higher than 22.5%, no reproducible rheology experiments could be performed. All the other samples (from 17.5% to 22.5%) display the same viscosity profile as a function of the imposed shear stress. At low stress (less than approximately 5 Pa), the suspension behaves as a shear-thinning yield-stress fluid: viscosity decreases from infinity. At higher stress, shear thickening takes place: viscosity increases with shear stress. At even higher stress, above approximately 100 Pa, the suspension becomes

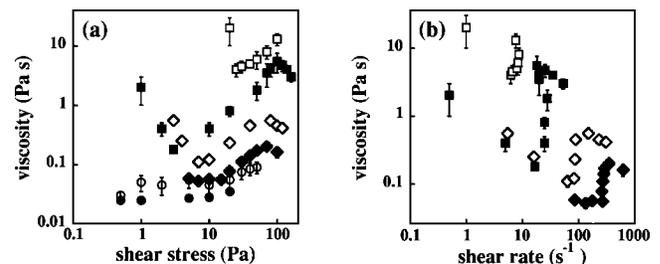


FIG. 1. Measured viscosity of a BiOCl suspension as a function of the applied shear stress (a) and as a function of shear rate (b) in a logarithmic scale. Each symbol refers to a different volume fraction; full circles, 11.5%; empty circles, 16.5%; full diamonds, 17.5%; empty diamonds, 19%; full squares, 21%; empty squares, 22.5%.

shear thinning again. It is worth emphasizing here that all these viscosity profiles are perfectly reversible: they can be obtained either by increasing or by decreasing the applied shear stress. This whole behavior is a general feature of all concentrated suspensions of nonaggregating solid particles [1]. In Fig. 1(b), we have represented the measured viscosity as a function of shear rate for four samples. The range of shear rate within which the suspension shows shear thickening appears extremely limited. In particular, for the two highest volume fractions (21% and 22.5%), the viscosity versus shear rate profile almost bends backward. This part of the viscosity profile would be obviously unstable at controlled shear rate [10,11], leading to a clear discontinuity in viscosity [1,6].

For the structural origin of shear thickening, two distinct theories have been proposed in the framework of hard spheres suspensions. The first one relies on Reiner's [12] concept of entire layers of particles gliding over each other [4] and has been formalized by Hoffman [6,7]. According to this theory, in the regime of low shear stress, this layered flow of particles induces a shear-thinning behavior in the suspension. At some critical level of shear stress, a flow instability causes the particles to break out of their ordered layers and jam into each other, thereby inducing the rise in viscosity that defines shear thickening [6]. This microstructural dynamical transition from ordered layers to a jammed state within the flow has been called an order-disorder transition by Hoffman [6]. Note that this theory does not involve any ordering of the particles within the layers [5]. The second theory involves a shear-induced reversible flocculation of particles, or hydrodynamic clustering, which causes the increase in viscosity with increasing shear stress as the dynamical clusters become larger and larger [5,13,14]. Hoffman and others have used light [5–7] or neutron [15] scattering techniques to demonstrate the existence, in highly monodisperse colloidal suspensions of hard spheres, of ordered layers under flow. However, for polydisperse or anisotropic particles, such experiments have all failed to detect layering [5,16], which explains why the model of hydrodynamic clustering is the most often cited in the recent literature [5], in particular for suspensions of Brownian spherical particles [17].

We have performed conductivity measurements under flow in Couette cells (with a gap of 1 mm) at controlled shear rate [18]. The conductivity at low frequency (20 kHz) of the shear-thickening BiOCl suspension has been measured in the directions of the vorticity (S_Z), the velocity (S_V), and the velocity gradient (S_G). The whole setup is described in detail in Ref. [18]. It enables us to measure the three diagonal components of the conductivity tensor but not the whole tensor. We have found differences between the three measured conductivity values for a certain range of shear rates. We have thus defined two anisotropies $(S_V/S_G)-1$ and $(S_Z/S_G)-1$. Figure 2(a) and 2(b) show each of these two anisotropies versus shear rate, for a system corresponding to 18% of particles in volume. In both cases, the conductivity is roughly isotropic at rest and at high shear rate, and strongly anisotropic at low shear rate. The anisotropy in the conductivity abruptly decreases for a shear rate between 200 and

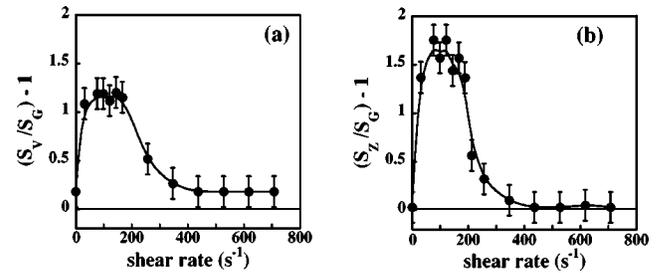


FIG. 2. Conductivity anisotropies $(S_V/S_G)-1$ (a) and $(S_Z/S_G)-1$ (b) as a function of the applied shear rate for a BiOCl suspension of 18% volume fraction. In each case, the curve is only a guide to the eye.

300 s⁻¹. It is important to point out that, according to our rheological measurements, the viscosity of this suspension (18% volume fraction) starts increasing at a shear rate of approximately 200 s⁻¹. Consequently, a dynamical transition within the flow between anisotropic and isotropic (as far as the three measured components of the conductivity tensor are concerned) structures takes place when the suspension becomes shear thickening. The difference, at low shear rate, between the conductivity in the direction of the velocity and that in the direction of the velocity gradient and of the vorticity is compatible with the two aforementioned models invoked to explain shear thickening. Indeed, an ordered flow of adjacent layers (or at least pieces of layers), concentric with the Couette cell, gliding over each other in the direction of the velocity, would result in screening the conductivity of the ions in the direction perpendicular to the layers, i.e., in the direction of the velocity gradient. Nevertheless, one could imagine the same screening effect resulting from the presence of anisotropic hydrodynamic clusters oriented in the flow-vorticity plane. However, in this latter case, the anisotropy would go on increasing as the liquid enters the shear-thickening regime of shear rate, since the anisotropic clusters would be larger and larger. Such an increase of the anisotropy is not observed experimentally. Our conductivity measurements thus confirm the hypothesis of an at least partially layered flow at low shear rate, and of a disordered (or, at least, less ordered) flow at high shear rate. However, these experiments provide no direct insight into the structure either before or after the transition. Let us mention the slight residual difference between S_Z and S_V at low shear rate, which means that these gliding layers of particles are not perfectly concentric with the Couette cell and are slightly tilted with its surface. We interpret the anisotropy-isotropy transition of the measured conductivity as indirect but compelling evidence that a dynamical structural transition within the flow is at the origin of the phenomenon of shear thickening for suspensions of non-Brownian anisotropic particles.

Between 22.5% and 31.5% volume fraction, the system can be either liquid or pasty. In this region, a moderate manual shearing of the liquid phase induces a dynamical jamming transition. However, the so-called shear-induced jammed state is only metastable. Indeed, when a tiny drop of liquid phase is put into contact with a shear-induced jammed sample at the same volume fraction, the drop instantly grows

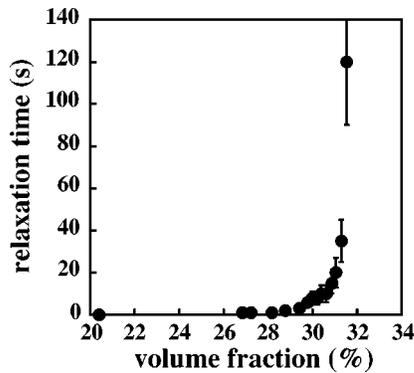


FIG. 3. Relaxation time (defined in the text) of a BiOCl shear-induced paste submitted to a constant vibration, as a function of the particle volume fraction.

and the whole sample becomes liquid in a few seconds. The metastability of the shear-induced jammed state is confirmed by another observation: the shear-induced paste breaks down when vibrated and comes back to the stable liquid state. Neither reproducible rheology measurements nor reproducible DWS (diffusing wave spectroscopy) experiments could be performed within the corresponding range of volume fraction. Finally, we could only perform a more qualitative experiment to characterize the metastability of the shear-induced jammed state. Figure 3 shows the relaxation time of this shear-induced jammed state submitted to a constant vibration, as a function of the particle volume fraction. This measurement consists of inducing the jammed state in the whole sample, putting it in contact with a vibrator set at 1000 rounds per minute, and recording the relaxation time necessary for the whole sample to become liquid again. A very strong divergence of this relaxation time appears for a volume fraction of 31.5%: above this volume fraction, the system is irreversibly trapped into the jammed (or pasty) state [2]. This measurement thus provides a means to locate pre-

cisely the border between the metastable shear-induced jammed state and the irreversible jammed state induced by an increase of the particle volume fraction.

In conclusion, the observed jamming transition, induced by an increase of the particle volume fraction (above 31.5%), can also be induced by shear at volume fractions below 31.5%. The question that remains open concerns the relation between the shear-induced jammed state and the shear-thickened state. The former is kinetically stable and has a finite lifetime, even when it is vibrated, whereas the latter is transient and persists only while the shear is applied. However, this difference is only quantitative: as can be seen in Fig. 3, the relaxation time tends towards zero continuously when the volume fraction decreases. It is thus impossible to locate precisely the border between the shear-thickening liquid state and the metastable shear-induced jammed state. We consequently suggest that the shear-induced jamming transition could result from the same structural transition invoked to explain shear thickening in our suspensions of non-Brownian anisotropic particles. Both phenomena would thus be two different consequences of the same cause. The two different outputs only come from the difference in volume fraction. If the volume fraction is in the range 22.5–31.5%, the shear-induced jammed state is kinetically stable, whereas if the volume fraction is below 22.5%, it is unstable and only leads to shear thickening. In other words, in the former case, the volume fraction is too high and there is not enough free space for the particles to unjam. Conversely, in the latter case, there is enough space for the particles to unjam and the dynamical order-disorder transition is reversible: viscosity goes through the same profile if the shear stress is increased or decreased.

The Christian Dior company provided some financial support. We thank Roland Bernon, Daniel Bonn, Cindy Cattelet, Belen Gonzalez, Philippe Gorria, François Lequeux, Pawel Pieranski, and Jean-François Tranchant for helpful discussions, and Mike Cates and Pascal Hébraud for a careful reading of the manuscript.

-
- [1] H. A. Barnes, *J. Rheol.* **33**, 329 (1989).
 [2] A. J. Liu and S. R. Nagel, *Nature (London)* **396**, 21 (1998).
 [3] H. Freundlich and H. L. Röder, *Trans. Faraday Soc.* **34**, 308 (1938).
 [4] A. B. Metzner and M. Whitlock, *Trans. Soc. Rheol.* **2**, 239 (1958).
 [5] R. L. Hoffman, *J. Rheol.* **42**, 111 (1998).
 [6] R. L. Hoffman, *Trans. Soc. Rheol.* **16**, 155 (1972).
 [7] R. L. Hoffman, *J. Colloid Interface Sci.* **46**, 491 (1974).
 [8] M. E. Cates, J. P. Wittmer, J.-P. Bouchaud, and P. Claudin, *Phys. Rev. Lett.* **81**, 1841 (1998).
 [9] V. Trappe, V. Prasad, L. Cipelletti, P. N. Segre, and D. A. Weitz, *Nature (London)* **411**, 772 (2001).
 [10] G. Porte, J.-F. Berret, and J. L. Harden, *J. Phys. II* **7**, 459 (1997).
 [11] D. A. Head, A. Ajdari, and M. E. Cates, *Phys. Rev. E* **64**, 061509 (2001).
 [12] M. Reiner, *Deformation and Flow* (H. K. Lewis & Co., London, 1949).
 [13] H. R. Kruyt, *Colloid Science* (Elsevier, New York, 1952), Vol. 1, p. 354.
 [14] G. Bossis and J. F. Brady, *J. Chem. Phys.* **91**, 1866 (1989).
 [15] L. B. Chen *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **69**, 688 (1992).
 [16] J. W. Bender and N. J. Wagner, *J. Rheol.* **40**, 899 (1996).
 [17] B. J. Maranzano and N. J. Wagner, *J. Chem. Phys.* **114**, 10 514 (2001); *J. Rheol.* **45**, 1205 (2001).
 [18] L. Soubiran, C. Coulon, P. Sierro, and D. Roux, *Europhys. Lett.* **31**, 243 (1995).

Polymer Bridging Probed by Magnetic Colloids

Laetitia Cohen-Tannoudji,¹ Emanuel Bertrand,^{1,*} Lydie Bressy,¹ Cécile Goubault,^{1,2} Jean Baudry,¹ Jacob Klein,³ Jean-François Joanny,² and Jérôme Bibette¹

¹LCMD, ESPCI, CNRS UMR 7612, 10 rue Vauquelin, 75231 Paris CEDEX 05, France

²PCC, Institut Curie, CNRS UMR 168, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris CEDEX 05, France

³PTCL, Oxford University, South Parks Road, Oxford OX1 3QZ, United Kingdom,
and Weizmann Institute, Rehovot, Israel

(Received 19 May 2004; published 25 January 2005)

Superparamagnetic particles offer a new way to probe the kinetics of adhesive processes. Two different scenarios of physical adhesion are studied. The thermal activation of van der Waals adhesion is well described by an Arrhenius model. In contrast, it is necessary to go beyond the Arrhenius description to understand the thermal activation of bridging between colloidal particles by a polymer at equilibrium adsorbance. We show that polymer bridging requires some removal of adsorbed polymer and is strongly influenced by the proximity of a glass transition within the adsorbed polymer.

DOI: 10.1103/PhysRevLett.94.038301

PACS numbers: 82.70.Dd, 82.35.Gh

The various strategies to stabilize or to destabilize colloids have been extensively studied over the last decades, both for the fundamental understanding of adhesion and for numerous industrial applications. To study the kinetics of adhesive processes, we have developed a new tool based on the self-assembling properties of superparamagnetic beads under field. It consists in following the kinetics of formation of permanent links between self-organized magnetic beads with optical microscopy. Here, we apply this new method to two types of physical adhesion. We first consider van der Waals attraction and study its activation by temperature and by the intensity of the magnetic field. We subsequently show that adhesion by polymer bridging is also activated both by temperature and by the field. However, the thermal activation of polymer bridging can only be understood if the proximity of a glass transition within the adsorbed polymer is taken into account.

To be used in these experiments, the magnetic beads must be spherical, monodisperse, strongly magnetic, and Brownian. In addition, their surfaces must provide very strong colloidal stability. They consist in calibrated emulsion droplets of an organic ferrofluid in water. The ferrofluid used is a suspension in octane of γ -Fe₂O₃ ferri-magnetic nanoparticles stabilized by oleic acid. In the following experiments, we use beads of diameter 800 nm, supplied by Ademtech [1]. Some oleic acid ($pK_a = 5.0$) covers the surfaces of the beads, which are thus negatively charged at neutral pH. Such suspensions are therefore very stable kinetically against flocculation, due to electrostatic repulsions.

Whereas they remain perfectly dispersed when no field is applied, the magnetic beads self-organize under field: a magnetic moment is induced in each bead and an anisotropic dipolar attraction takes place. The conformation of lowest energy consists in chains of beads aligned along the direction of the field [Fig. 1(a)]. If no adhesive process occurs, the beads redisperse immediately once the field is

removed. In contrast, if adjacent beads are linked by any adhesive phenomenon, some permanent chains remain [Fig. 1(b)] [2].

Our new method to follow the kinetics of adhesion relies on the formation of magnetic chains that persist after the field removal. A colloidal sample is introduced by capillarity in a square tube of 50 μm . The tube is placed under a given field, at a controlled temperature, during a given incubation time. After the field removal, the sample is observed by optical microscopy with a $\times 40$ objective (Nikon) and six photographs of different parts of the tube are taken. For each photograph, the sum of the lengths of all the chains is determined numerically (Image Pro Plus, MediaCybernetics). The ratio of this total length by the diameter of a bead gives the number N of adhesive links and is averaged over the six photographs. This is repeated for different incubation times, which gives the kinetics of the adhesive process. The field intensity must be sufficiently high so that the time required for the formation of

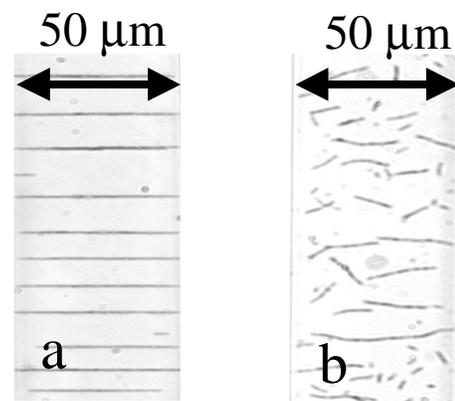


FIG. 1. Superparamagnetic beads (optical microscope, $\times 40$ objective): (a) under $B = 10$ mT; (b) after field removal.

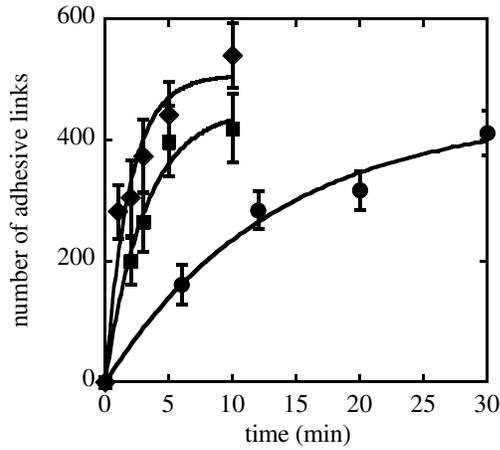


FIG. 2. $N(t)$ for $B = 23$ mT, in the case of van der Waals attraction, at 25°C (\bullet), 45°C (\blacksquare), and 55°C (\blacklozenge); curves are fits to Eq. (1).

the chains is negligible compared with the characteristic time of adhesion.

To prove the validity of this method, we have considered a pure Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) system where the only interactions are electrostatic repulsions and van der Waals attractions. A zeta potential of -31.5 mV for the beads has been measured at $p\text{H} = 10$ with a Beckman Coulter zetameter. We thus have a very stable suspension of negatively charged beads. Nevertheless, applying a magnetic field, at $p\text{H} = 10$, with 1 mM of NaCl, enables one to observe adhesion induced by van der Waals attraction. Figure 2 shows the number N of adhesive links as a function of the incubation time t under $B = 23$ mT, for three different temperatures. We observe a monoexponential growth of $N(t)$, well modeled by a first-order kinetics:

$$N(t) = N_0[1 - \exp(-t/\tau)], \quad (1)$$

where N_0 is the averaged total number of particles in the volume captured by a photograph and τ is the characteristic time of the kinetics. $N_0 = 490$ particles is determined and kept fixed while fitting the experimental points with Eq. (1). The only fitting parameter is thus the characteristic time τ . The relevance of a first-order kinetics is not surprising since the chains are formed very rapidly (after a few seconds under field) and since the appearances of links between particles can be regarded as independent events.

The van der Waals adhesion is found to be thermally activated, and the dependence of τ with T [Fig. 3(a)] is well fitted to an Arrhenius law: $1/\tau = 1/\tau_0 \cdot \exp[-E_a(B)/(k_B T)]$, where k_B is Boltzmann's constant, $E_a(B)$ is the activation energy for a field intensity B , and $1/\tau_0$ is the attempt frequency. $E_a(B)$ can be interpreted as the height of the energy barrier to overcome to go from a metastable redispersible chain to a stable permanent chain. This barrier is due to electrostatic repulsions. Figure 3(b)

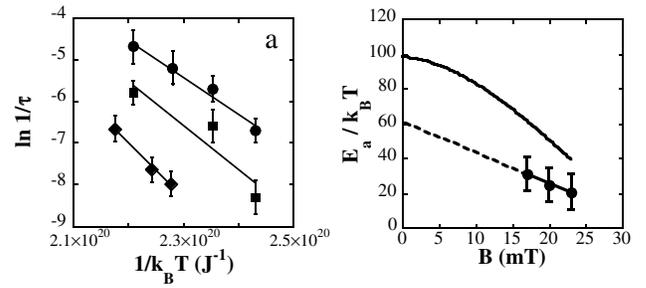


FIG. 3. (a) $\ln(1/\tau)$ as a function of $1/k_B T$ for $B = 17$ mT (\blacklozenge), 20 mT (\blacksquare), and 23 mT (\bullet); lines are Arrhenius fits (see text); (b) $E_a/k_B T$ as a function of B (\bullet); the solid line is a theoretical prediction (see text); the dotted line is a linear extrapolation to $B = 0$.

shows that E_a decreases when B increases. This adhesion is thus also activated by the magnetic field as it adds an attractive interaction between the beads, the magnitude of which increases with B . In addition, as the three points of Fig. 3(b) are aligned, one can extrapolate to zero field to estimate the activation energy of the intrinsic adhesive phenomenon without field. We find $E_a \approx 60k_B T$, i.e., much higher than the thermal energy, which is in line with the kinetic stability of the corresponding suspension without field. Moreover, $E_a(B)$ can be obtained theoretically from the DLVO theory and the expression of the magnetic attraction [3]. An almost linear variation with B and $E_a \approx 100k_B T$ is found [Fig. 3(b)], in a rather good agreement with the above extrapolation. The attempt frequency can also be estimated from the DLVO energy-distance profile, according to Kramers' theory [4]: we find approximately 10^5 Hz. Experimentally, only an order of magnitude can be obtained, due to the very narrow temperature experimental window. We find frequencies between 10^5 and 10^9 Hz, which is coherent with the previous estimation. Let us mention that the chains formed here have an “almost infinite” lifetime (more than months), which was expected since they correspond to a thermodynamically stable state.

Having proved that our method is valid, we apply it to a more complex non-DLVO system where polymers are adsorbed on the beads and can bridge them. Adsorbed polymers have a strong influence on the stability of colloids. At subequilibrium adsorbance, they may destabilize colloids due to net attractions between particles originating in the formation of bridges between them [5,6], as schematically depicted in Fig. 4. In contrast, at equilibrium adsorbance, polymers are used to stabilize colloids, since the osmotic repulsions exceed the bridging attractions at all separations. Reducing the adsorbance to less than its equilibrium value can therefore change the net osmotic repulsion to a net bridging attraction. The polymer used here is a polyacrylic acid (PAA, Aldrich) of average molecular weight 250 000. It has a pK_a of 5.8, so that in the conditions of our experiments, at $p\text{H} \approx 3.5$, it may be consid-

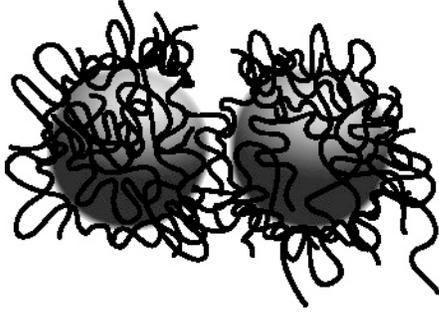


FIG. 4. Schematic picture of polymer bridging: adsorption of the same polymeric chains on both beads.

ered essentially neutral. At this pH the beads are poorly charged and form aggregates very rapidly, whereas if PAA (0.1 wt% solution) is first adsorbed onto the beads, they remain perfectly dispersed. Colloidal stability is thus conferred on the suspension by osmotic repulsions [7]. To ensure that equilibrium adsorbance was attained, we let the beads incubate for 20 h in the PAA solution prior to applying any field [7]. However, when subjected to a magnetic field for a sufficient time, the beads covered by PAA form permanent chains. Contrary to the previous case (DLVO), these chains start breaking apart after a few days, which proves that they do not correspond to a DLVO-like adhesion induced by van der Waals attractions. Moreover, the distance between the beads in a magnetic chain formed with PAA is of approximately 10 nm [8], whereas this distance would be less than 2 nm in a van der Waals potential well.

We thus attribute the chain formation to a net attraction between the beads arising from bridging by the polymers. This net attraction can arise only through reduction of the adsorbance to subequilibrium levels by removal of polymer from the region of closest approach. Polymers may be squeezed out of the gap by the lateral force $F_S(r)$ on each chain arising from the lateral pressure gradient $(\partial\Pi/\partial r)$ acting between the curved surfaces, which results from the decrease in osmotic pressure $\Pi(r)$ a distance r away from the point of closest approach D . Writing $\Pi(r) \approx (k_B T/a^3)\phi^2$ [9], where a is a monomer size and the monomer volume fraction $\phi = 2\Gamma/(D + r^2/R)$, R being the bead radius and Γ the polymer adsorbance, we may roughly estimate $F_S(r) \approx (\text{volume of polymer chain})(\partial\Pi/\partial r)$. This gives $F_S(r) \approx (n^{3/2}k_B T \Gamma^2 r/RD^3)$ ($n =$ degree of polymerization ≈ 3500 for the PAA used), which for typical values of the parameters give $F_S(r) \approx 10^{-11}N$. The typical net monomer adsorption energy is $\varepsilon \approx 0.02\text{--}0.1k_B T$ [6], requiring a tension of order $(\varepsilon/1 \text{ \AA}) \approx (1\text{--}5) \times 10^{-12}N$ to detach. The outward lateral force on each chain is thus comparable with that required to detach the adsorbed monomers, enabling the creep of chains along the surface and their squeezeout to take place, and therefore bridging to become dominant.

The kinetics of adhesion for beads covered with PAA is presented in Fig. 5. A monoexponential fits well the experimental points: Equation (1) is used with $N_0 = 660$ links in the present experimental conditions. The process of polymer creep and relaxation along the surfaces is complex. Since it occurs by the detachment of monomers from the surface, it is likely to be an activated process but will depend also on the dynamics of the near-surface layer. Using an Arrhenius law to fit the evolution of τ with T leads to an estimated activation energy without field of about $150k_B T$ (fits not shown). As in the DLVO system, the rate at which bridging is attained will depend on the magnetic field through its effect on D , which affects the lateral squeezing force $F_S(\propto 1/D^3)$. The value of $150k_B T$ may reflect the need for cooperativity in detachment of polymer segments. Surprisingly, we find attempt frequencies of order 10^{30} Hz, which is much too high for a molecular phenomenon and cannot have any physical meaning. Evidently, the Arrhenius law is thus unable to model the activation of polymer bridging, and another approach has to be considered that takes into account the existence of a glass transition in the system [10–14]. The relevance of this relies on the approach to a glassy state of the near-surface layers [15]. This so-called Vogel-Tamman-Fulcher (VTF) model reads

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} \exp\left[-\frac{A}{k_B(T - T_0)}\right], \quad (2)$$

where $1/\tau_0$ is still an attempt frequency, A is an energetic parameter, T_0 is the empirical Vogel temperature, and $T > T_0$. T_0 is the temperature at which all the relaxation times of the system diverge [14] and is a few tens of degrees below the glass transition temperature T_g [13]. For a given polymer at a given concentration, T_0 can be determined empirically by fitting dielectric or viscoelastic relaxation data to Eq. (2) [14]. It is still possible to define an apparent activation energy, which depends on temperature [14], and

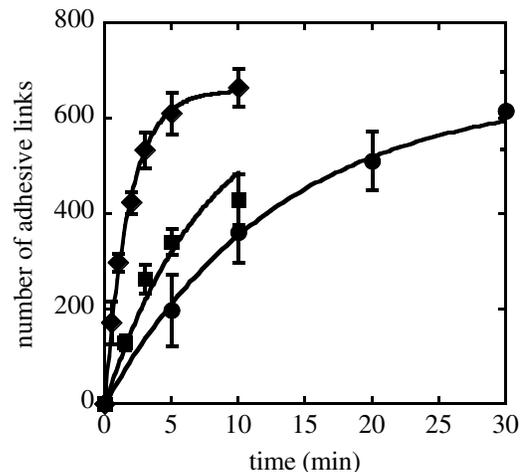


FIG. 5. $N(t)$ for $B = 12$ mT, in the case of adsorbed PAA, at 35 °C (●), 40 °C (■), and 45 °C (◆); curves are fits to Eq. (1).

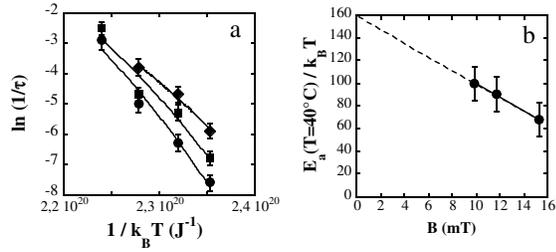


FIG. 6. (a) $\ln(1/\tau)$ as a function of $1/k_B T$ for $B = 10$ mT (\blacklozenge), 12 mT (\blacksquare), and 15 mT (\bullet); lines are fits to Eq. (2) with $T_0 = -30^\circ\text{C}$; (b) $E_a(T = 40^\circ\text{C})/k_B T$ as a function of B ; the dotted line is a linear extrapolation to $B = 0$.

is simply the slope of the “ $\ln(t)$ versus $1/k_B T$ ” curve: $E_a(T) = k_B d[\ln(\tau)]/d(1/T) = A[T/(T - T_0)]^2$.

Figure 6(a) shows the good fit of the experimental points to the VTF model for three field intensities. T_0 and T_g are increasing functions of the polymer concentration [13], and it is known that the local concentration of polymer near the surface on which it is adsorbed is much higher than the bulk concentration [16]. As it is impossible to determine the polymer local concentration in our case, we cannot have any precision on the values of T_g or T_0 . $T_0 \approx -120^\circ\text{C}$ for dilute solutions of PAA in water (less than 1 wt %) [17] and $T_0 \approx 0^\circ\text{C}$ for 75% wt % PAA in water [18]. The adsorbed polymers involved in the bridging should thus have a Vogel temperature ranging roughly between -70°C and 0°C . We have checked that the choice of T_0 has almost no influence on the apparent activation energy deduced from the fit. T_0 has been arbitrarily fixed at -30°C for Fig. 6, and we find $160k_B T$ for $E_a(40^\circ\text{C})$ at zero field [Fig. 6(b)], which compares very well with the value of $150k_B T$ found with the Arrhenius law (i.e., for $T_0 = -273^\circ\text{C}$). In contrast, the frequency $1/\tau_0$ determined by the VTF fit is very sensitive to T_0 . It ranges from 100 Hz for $T_0 = 0^\circ\text{C}$ to 10^{10} Hz for $T_0 = -70^\circ\text{C}$, which is physically reasonable. This proves that the VTF model for the thermal activation of polymer bridging is a much better description than the Arrhenius law.

As already mentioned, our interpretation of polymer bridging is the following. The equilibrium adsorption of PAA on the beads being reached, bridging requires that polymer be squeezed away from the near-contact region, which leads to bridging at subequilibrium adsorbance [5]. The surface creep by which this removal of polymer occurs is strongly influenced, namely, slowed, by the proximity of a glassy state within the adsorbed polymer of the near-surface layer [15]. As mentioned above, the squeezing away of the polymer is due to the osmotic outward lateral force F_S , which is an increasing function of the degree n of polymerization of the considered polymer. Experimentally, this implies that the bridging phenomenon should be faster when the adsorbed polymer is longer. We did experiments at 45°C under $B = 11$ mT with three PAA of different

average n . For n of about 28, 1400, and 3500, we found characteristic times τ equal to 1800, 74, and 54 s, respectively. This confirms the role of the squeezing out of polymer in the bridging process. Our interpretation of polymer bridging is also confirmed by the following experiments. We did measurements at 25°C under $B = 12$ mT after different equilibration times of the beads with the polymer. Whereas a characteristic time $\tau \approx 12$ min is found if the adsorption equilibrium is reached (after 20 h), the kinetics is much more rapid ($\tau \approx 0.9$ min) if the PAA has only 10 min to adsorb prior to applying the field. When the time is insufficient for the polymer to be completely adsorbed, bridging dominance requires less polymer to be squeezed away.

We have presented a new general method based on magnetic colloids to study adhesive processes. With this new tool, we have shown that polymer bridging is activated by temperature but that it cannot be simply understood in terms of an Arrhenius model. Indeed, a more precise approach is required that takes into account the necessary removal of adsorbed polymer from the near-contact region and the slowdown of the dynamics in the near-surface layer, due to the proximity of a surface glassy state. This difficulty to induce bridging at equilibrium adsorbance explains the efficiency of adsorbing polymers at the surface of colloids to improve their kinetic stability.

We thank the French Ministry of Research for financial support.

*Corresponding author.

Electronic address: emanuel.bertrand@espci.fr

- [1] <http://www.ademtech.com>
- [2] E. M. Furst *et al.*, *Langmuir* **14**, 7334 (1998).
- [3] H. Zhang and M. Widom, *Phys. Rev. E* **51**, 2099 (1995).
- [4] H. A. Kramers, *Physica (Amsterdam)* **7**, 284 (1940).
- [5] J. Klein and P. F. Luckham, *Nature (London)* **308**, 836 (1984).
- [6] J. Klein and G. Rossi, *Macromolecules* **31**, 1979 (1998).
- [7] O. Mondain-Monval *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **80**, 1778 (1998), and references therein.
- [8] C. Goubault *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 260802 (2003).
- [9] P. G. de Gennes, *Scaling Concepts in Polymer Physics* (Cornell University Press, Ithaca, NY, 1979).
- [10] H. Vogel, *Phys. Z.* **22**, 645 (1921).
- [11] G. S. Fulcher, *J. Am. Ceram. Soc.* **8**, 340 (1925).
- [12] G. Tammann and W. Hesse, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **156**, 245 (1926).
- [13] M. L. Williams *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 3701 (1955).
- [14] M. D. Ediger *et al.*, *J. Phys. Chem.* **100**, 13 200 (1996).
- [15] K. Kremer, *J. Phys. (Paris)* **47**, 1269 (1986).
- [16] A. N. Semenov and J.-F. Joanny, *Europhys. Lett.* **29**, 279 (1995).
- [17] G. D. J. Phillies *et al.*, *Macromolecules* **25**, 3689 (1992).
- [18] D. W. Krevelen, *Properties of Polymers* (Elsevier, New York, 1997), 3rd ed.



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Journal of Magnetism and Magnetic Materials 303 (2006) 147–152



www.elsevier.com/locate/jmmm

Investigation of the complex susceptibility of magnetic beads containing maghemite nanoparticles

P.C. Fannin^{a,*}, L. Cohen-Tannoudji^b, E. Bertrand^b, A.T. Giannitsis^a,
C. Mac Oireachtaigh^a, J. Bibette^b

^aDepartment of Electronic and Electrical Engineering, Trinity College, Dublin 2, Ireland

^bLaboratoire Colloïdes et Matériaux Divisés, CNRS UMR7612, ESPCI, 10 Rue Vauquelin, F-75005, Paris, France

Received 8 April 2005; received in revised form 11 July 2005

Available online 7 December 2005

Abstract

We report on frequency and field-dependent complex susceptibility, $\chi_s(\omega) = \chi'_s(\omega) - i\chi''_s(\omega)$, measurements of a magnetic colloidal system consisting of 200 nm spherical beads, containing maghemite ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticles. The relaxation properties of both the magnetic colloid and a free suspension of the $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ particles, are investigated over the frequency range 200 Hz–1 MHz.

Under a polarizing field H , an absorption peak is detected in the χ''_s component at frequencies f_{max} between 1.1 and 1.7 kHz. We show that this absorption peak can be attributed to the Néel relaxation of the inner maghemite nanoparticles. It is also shown that the general trend for the value of f_{max} and the amplitude of both χ'_s and χ''_s is to increase with increasing H . Furthermore, the relation between $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ and their dependence on frequency, $\omega/2\pi$, is investigated by means of the magnetic analogue of the Cole–Cole plot and a measure of the Cole–Cole distribution parameter α_s is determined.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Ferrofluid; Magnetic fluids; Magnetic emulsion; Relaxation; Cole–Cole plot

1. Introduction

Superparamagnetic colloids [1] are presently used in many fundamental and applied fields of research. For instance, the use of such colloids with beads coated with antibodies that specifically bind to specific proteins is of current interest in the area of medical diagnosis [2].

The magnetic spheres investigated here have a diameter of 200 nm and were supplied by Ademtech [3]. They are made by evaporating the solvent (octane) in emulsions of an organic ferrofluid. Emulsions are colloidal systems constituted of droplets of a liquid dispersed in another immiscible one; the droplets being stabilized by a surfactant. Once the solvent is evaporated, the solid-like spheres contain 50% volume fraction of maghemite particles of approximately 10 nm mean radius (as measured by Dynamic Light Scattering), the surfactant being oleic acid. With spheres of this diameter (200 nm) the dominant

relaxation mechanism could be due to either Brownian [4] or Néel relaxation [5]. As far as the considered spheres are composite materials, the inner component (maghemite particles) could also contribute to the relaxation. However, the maghemite particles are extremely confined inside the spheres (almost close-packed) and therefore cannot experience Brownian relaxation. The only possible contribution of the inner particles is thus their Néel relaxation.

Here we set out to determine which of these three mechanisms is dominant: Brownian relaxation of the spheres, Néel relaxation of the spheres or Néel relaxation of the inner particles.

Single domain particles have a magnetic moment, m_p , given by

$$m_p = M_s v, \quad (1)$$

where M_s denotes the saturation magnetisation and v is the magnetic volume of the particle.

The Brownian relaxation time τ_B is given by [4]

$$\tau_B = 4\pi r^3 \eta / kT, \quad (2)$$

*Corresponding author. Tel.: +353 1608 1860; fax: +353 1 6772442.

E-mail address: pfannin@tcd.ie (P.C. Fannin).

where r is the hydrodynamic radius of the particle, η is the dynamic viscosity of the carrier liquid, k is Boltzmann's constant and T is the absolute temperature.

In the case of the Néel relaxation mechanism, the magnetic moment may reverse direction within the particle by overcoming an energy barrier, which for uniaxial anisotropy, is given by Kv , where K is the anisotropy constant of the particle. The associated reversal or switching time τ_N was estimated by Néel to be

$$\tau_N = \tau_0 \exp(\sigma), \quad (3)$$

τ_0 being a damping time having an approximate value of 10^{-9} s [6] and $\sigma = Kv/kT$.

When a sample contains a distribution of particle sizes, both relaxation mechanisms contribute to the magnetisation. They do so with an effective relaxation time τ_{eff} [7,8], where

$$\tau_{\text{eff}} = \tau_N \tau_B / (\tau_N + \tau_B), \quad (4)$$

the mechanism with the shortest relaxation time being dominant.

2. Complex susceptibility

The frequency dependent susceptibility, $\chi(\omega)$, may be written in terms of its real and imaginary components, where

$$\chi(\omega) = \chi'(\omega) - i\chi''(\omega). \quad (5)$$

The theory developed by Debye [9] to account for the anomalous dielectric dispersion in dipolar fluids has been used [10–12] to account for the analogous case of magnetic fluids in the approximate range 10 Hz–1 MHz.

According to Debye's theory the complex susceptibility, $\chi(\omega)$ has a frequency dependence as given by

$$\chi(\omega) - \chi_\infty = (\chi_0 - \chi_\infty) / (1 + i\omega\tau_{\text{eff}}), \quad (6)$$

where

$$\chi_0 = nm^2 / 3kT\mu_0 \quad (7)$$

and

$$\tau_{\text{eff}} = 1/\omega_{\text{max}} = 1/2\pi f_{\text{max}}, \quad (8)$$

where f_{max} is the frequency at which $\chi''(\omega)$ is a maximum, n is the particle number density and χ_0 and χ_∞ indicate susceptibility values at $\omega = 0$ and at very high frequencies.

Thus by determining f_{max} , Eq. (8) enables one to obtain the mean particle or aggregate size of the sample.

For a distribution of particle sizes a distribution of relaxation times, τ , will exist so that $\chi(\omega)$ may also be expressed in terms of a distribution function, $F(\tau)$ giving

$$\chi(\omega) = \chi_\infty + (\chi_0 - \chi_\infty) \int_0^\infty F(\tau) d\tau / (1 + i\omega\tau). \quad (9)$$

$F(\tau)$ may be represented by a range of distribution functions [13] including the Cole–Cole distribution function. In the Cole–Cole [14] case where the complex susceptibility data fits a depressed circular arc, the relation

between $\chi'(\omega)$ and $\chi''(\omega)$ and their dependence on frequency, $\omega/2\pi$, can be displayed by means of the magnetic analogue of the Cole–Cole plot [15]. In the Cole–Cole case the circular arc cuts the $\chi'(\omega)$ axis at an angle of $\alpha\pi/2$; α is referred to as the Cole–Cole parameter and is a measure of the distribution of relaxation times.

The magnetic analogue of the Cole–Cole circular arc is described by

$$\chi(\omega) = \chi_\infty + (\chi_0 - \chi_\infty) / (1 + (i\omega\tau_{\text{eff}})^{1-\alpha}), \quad 0 < \alpha < 1, \quad (10)$$

which for $\alpha = 0$, reduces to that of Eq. (6).

As the measurement frequency increases beyond approximately 1 MHz, a transition from relaxation to resonance occurs.

$\chi(\omega)$, of an assembly of single domain particles can also be described in terms of its parallel, $\chi_{\parallel}(\omega)$, and perpendicular, $\chi_{\perp}(\omega)$, components, with Ref. [16]

$$\chi(\omega) = \frac{1}{3}(\chi_{\parallel}(\omega) + 2\chi_{\perp}(\omega)). \quad (11)$$

$\chi_{\perp}(\omega)$ can have a resonant character, whereby precession of the magnetic moment occurs about an easy axis (i.e. the direction of the internal field H_A).

Under equilibrium conditions, the magnetic moment, m_p , and the anisotropy field, H_A , of a particle are parallel and any deviation of the magnetic moment from the easy axis direction results in the precession of the magnetic moment about this axis. If the polar angle θ is small, the angular resonant frequency, ω_{res} , is given in Ref. [17]

$$\omega_{\text{res}} = \gamma H_A. \quad (12)$$

H_A is the internal field for a particle with uniaxial anisotropy and where the polar angle between the easy axis and the magnetic moment is small, has magnitude, $H_A = 2K/M_s$ where K is the anisotropy constant in J/m^3 .

From Eq. (12) it can be seen that the effect of applying an external polarising field, H , results in an increase in the resonant frequency ω_{res} , which can be described approximately by

$$\omega_{\text{res}} = 2\pi f_{\text{res}} = \gamma(H + \bar{H}_A), \quad (13)$$

where \bar{H}_A represents some mean value of the anisotropy field. Eq. (13) is the equation of a straight line and from a plot of f_{res} against H , the value of \bar{H}_A can be determined from the intercept of the plot with the x -axis whilst γ is determined from the slope

3. Experimental and results

Measurements were performed on two samples:

- (i) Sample 1 which consisted of the base ferrofluid, a suspension of maghemite ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) particles of mean particle radius 10 nm in octane, with oleic acid as surfactant; the saturation magnetization was 55 emu/g and

(ii) Sample 2 which was a dilute (0.3% volume fraction) magnetic colloid of 200 nm solid-like spheres; the spheres contained the maghemite particles of Sample 1.

We first characterized Sample 1. This was done by means of low frequency, 100 Hz–0.1 MHz and high frequency, 100 MHz–6 GHz, complex magnetic susceptibility measurements. Low-frequency measurements were made to determine whether or not the sample was aggregated and this was accomplished by means of the toroidal technique [18] in conjunction with a Hewlett Packard RF Bridge 4291A.

Fig. 1 shows a plot of $\chi'(\omega)$ and $\chi''(\omega)$ against f (Hz) obtained for Sample 1. There is no evidence of the existence of an absorption peak in the $\chi''(\omega)$ profile (which could be indicative of aggregation) and thus this fluid would be considered to be a well dispersed colloid.

The higher frequency range measurements were made by the short-circuit transmission line technique [19,20]. The measurements were performed at different values of polarising field, H , over the range 0–110 kA/m. For all values of polarizing field the $\chi'(\omega)$ component went negative thereby indicating the presence of magnetic resonance for all values of H .

Fig. 2 shows a normalized plot of the dependencies against frequency of the components of complex magnetic susceptibility, at different values of polarizing field, H , obtained in the case of Sample 1. For the unpolarised case $f_{\max} = 1.15$ GHz and $f_{\text{res}} = 1.8$ GHz and over the polarizing field range f_{\max} and f_{res} increase to 5.0 and 5.2 GHz, respectively.

The field dependence of f_{res} is given by $2\pi f_{\text{res}} = \gamma(H + H_A)$ and from a plot of f_{res} against H , the effective anisotropy field, H_A , of the maghemite particles of Sample 1 was determined as being 47.8 kA/m. Using an M_s of 0.4 T the anisotropy constant, K , is determined as

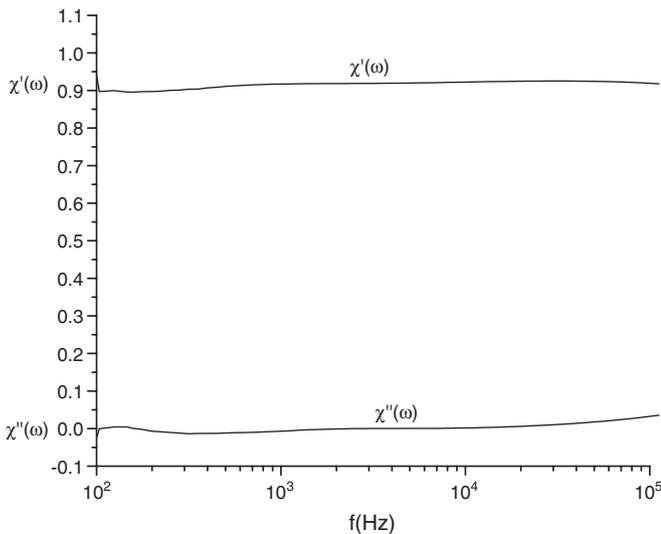


Fig. 1. Plot of $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ against f (Hz) over the range 10^2 – 10^5 Hz, for Sample 1.

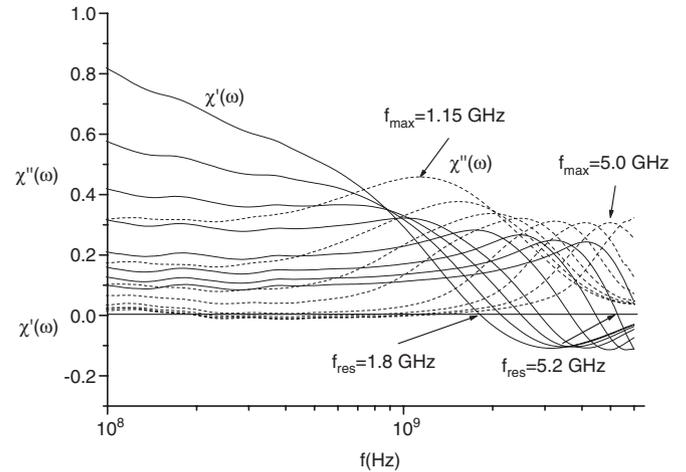


Fig. 2. Plot of $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ against f (Hz) over the range 10^8 – 6×10^9 Hz, for Sample 1.

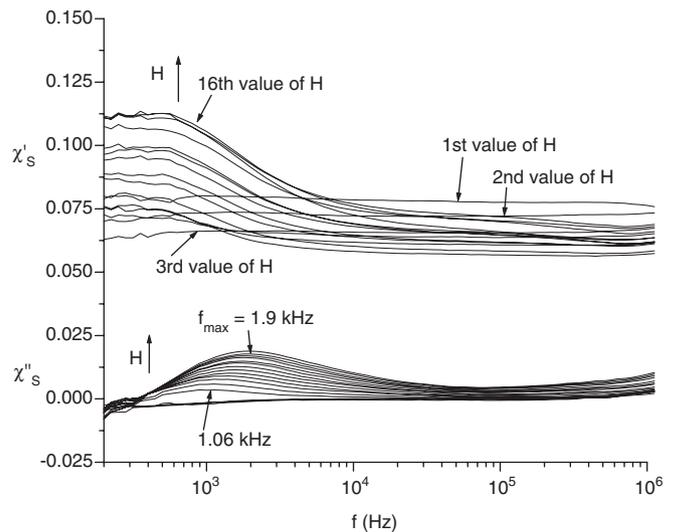


Fig. 3. Plot of $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ against f (Hz) for Sample 2, for 16 values of polarizing field, H .

$K = M_s H_A / 2 \approx 10^4 \text{ J/m}^3$. Furthermore, from the slope of f_{res} against H , the gyromagnetic constant, γ is found to have a value of $2.2 \times 10^5 \text{ s}^{-1} \text{ A}^{-1} \text{ m}$.

Fig. 3 shows the complex susceptibility spectra obtained for Sample 2 with the complex components being labelled as $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$, respectively. Since the sample was a very dilute one, no useful signal was obtained below 200 Hz and for convenience, the static susceptibility, χ_{0S} was taken to be equivalent to the values of $\chi'_s(\omega)$ obtained at 400 Hz. Fig. 4 shows a plot of χ_{0S} against H , and an interesting feature of both Figs. 3 and 4 is that they clearly show an overall trend of increasing values of χ_{0S} , $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ with increasing H . This is in contrast to what happens in the case of magnetic fluids [14] where the equivalent

components decrease with increasing H . Furthermore an absorption peak is first detected at a frequency of $f_{\max} = 1.06$ kHz, for $H = 1.8$ kA/m, and increases to $f_{\max} = 1.9$ kHz for $H = 13.6$ kA/m.

Fig. 5 shows a Cole–Cole plot of the $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ components obtained for $H = 4.55$ kA/m with the corresponding value of the Cole–Cole distribution parameter, $\alpha = 0.1$. This exercise was repeated for values of H over the range 2.73–13.6 A/m and the results obtained are shown in Table 1.

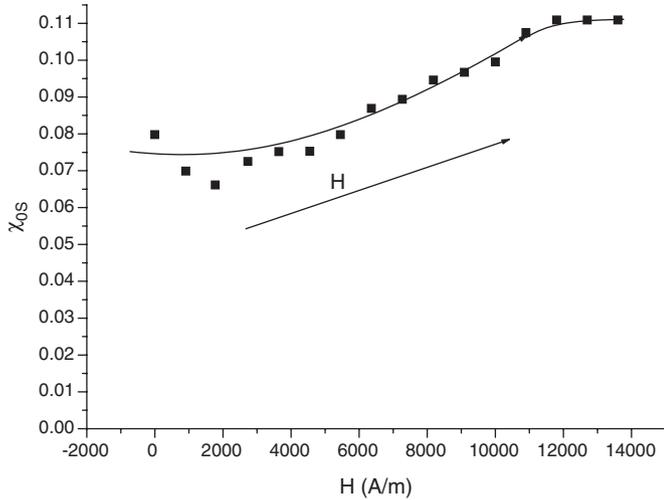


Fig. 4. Plot of χ_{0s} against H for Sample 2.

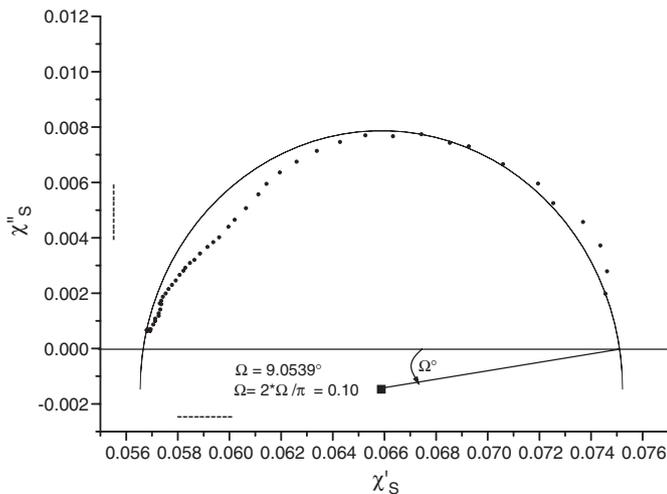


Fig. 5. Cole–Cole plot of $\chi'_s(\omega)$ against $\chi''_s(\omega)$ for $H = 4.55$ kA/m.

4. Discussion

The results present a number of interesting issues. First, we shall try to attribute the measured absorption peak to the relevant relaxation mechanism. In this perspective, let us estimate the order of magnitude of the three possible relaxation frequencies.

Experimentally, we have

$$\tau_{\text{eff}} = 1/\omega_{\max} = 1/2\pi f_{\max}$$

In the case of Brownian relaxation (from Eq. (2)) there comes

$$1/2\pi f_{\max} = 4\pi\eta r^3/kT,$$

giving,

$$f_{\max} = kT/8\pi^2 r^3 \eta.$$

So, if we assume negligible change in viscosity η the increase in f_{\max} over the polarising field range, corresponds to a decrease in the effective hydrodynamic radius, r , of the spheres.

In the case of the magnetic spheres in a water based carrier, using a radius of 100 nm, at room temperature the Brownian relaxation time is given by

$$\begin{aligned} \tau_B &= 4\pi\eta r^3/kT \\ &= 4\pi \times 10^{-27} \times 10^6 \times 10^{-3}/4 \times 10^{-21} \\ &\approx 3 \times 10^{-3} \text{ s}, \end{aligned}$$

resulting in $f_{\max} = 1/6\pi \times 10^{-3} \approx 50$ Hz. This frequency is well outside the frequency range where the loss-peaks are detected.

In the case of Néel relaxation (from Eq. (3))

$$\tau_N = \tau_0 \exp(\sigma) \text{ with } \tau_0 \approx 10^{-9} \text{ s.}$$

Thus for spheres of 100 nm radius, with $K \approx 10^4$ J/m³ (as determined from our high frequency measurements), we get a value of $\sigma \approx 1 \times 10^4$ which corresponds to an almost infinite relaxation time that is to say to an undetectable (almost zero) frequency.

However, for a 10 nm particle, with $K \approx 10^4$ J/m³, we get a value of $\sigma = 10.5$ and $\tau_N = 3.6 \times 10^{-5}$ s. The corresponding $f_{\max} = 1/(2\pi\tau_N) \approx 4$ kHz, which is in line with the observed loss-peaks (between 1 and 2 kHz). Thus from the above calculations of the Néel and Brownian relaxation times it appears that the loss-peaks detected have their origins in the Néel relaxation of the inner maghemite particles. To conclusively confirm this fact, the susceptibility measurements were repeated with the viscosity of the carrier being increased 1000 times (by changing the carrier from water to glycerine). The result of this

Table 1

H (kA/m)	2.73	3.64	4.55	5.45	6.36	7.27	8.18	9.09	10	10.9	11.8	12.7	13.6
α	0.1	0.11	0.1	0.1	0.11	0.14	0.13	0.13	0.14	0.09	0.10	0.14	0.14

exercise showed that the frequency, f_{\max} , of the loss peaks were unchanged. Since, from Eq. (2), τ_B is directly proportional to the viscosity, η , and from Eq. (3) τ_N is independent of η , this result thus confirms that Néel relaxation of the inner particles is responsible for the loss-peaks.

The second issue raised by the results is why the complex components, $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ increase with increasing polarising field.

From Eq. (6), (neglecting χ_∞)

$$\begin{aligned}\chi(\omega) &= \chi_{0S}/(1 + i\omega\tau_{\text{eff}}) \\ &= \chi_{0S}(1/(1 + \omega^2\tau_{\text{eff}}^2) - i\omega\tau_{\text{eff}}/(1 + \omega^2\tau_{\text{eff}}^2)).\end{aligned}\quad (14)$$

So both $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ are directly proportional to χ_{0S} .

Now, since $\chi_{0S} = nm_{\text{ps}}^2/3kT\mu_0$, all parameters are fixed except for m_{ps} , the effective magnetic moment of the spheres. Thus an increase in m_{ps} could be due to the fact that the individual spheres and magnetic moments in the spheres are becoming more aligned with increasing H . So from Eq. (14) both $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ should increase with increasing H , as they indeed do.

It is of interest to mention that a factor which may influence the variation in $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ with H , is the customary diminution of $\chi(\omega)$ due to the saturation of the magnetization and this may be a contributing factor, for example, in the flattening of the χ_{0S} against H profile at higher fields.

We also note that (from Eq. (1)) $m_p = M_s v$; M_s is fixed and so only the effective magnetic volume, v , can increase, resulting in m_{ps} increasing, as stated. Of course, the actual volume of material within the spheres does not change but a change in the distribution of relaxation times of particles within the spheres may arise under the influence of the polarising field, H . The Cole–Cole plot is an established method for investigating this effect and for this purpose, data corresponding to ten values of polarising field was

fitted to Cole–Cole plots and a value of the Cole–Cole distribution parameter, α , determined in each case. Table 1 shows the results obtained and it clearly shows that the value of α increases slightly with increasing H .

Fig. 5 shows the Cole–Cole plot obtained for the case of $H = 4.55$ kA/m, where α was found to be 0.14. This value of α was inserted in Eq. (10) and a fit made to the complex components, $\chi'_s(\omega)$ against $\chi''_s(\omega)$, obtained for $H = 4.55$ kA/m. It is clear that the fit is a good one thereby confirming the value of α obtained. Fig. 6 shows the data and its fit which prove to be quite similar and testify to the accuracy of the value of α determined by means of the Cole–Cole plot.

5. Conclusion

In this paper, for the first time, measurements of the frequency dependent, complex susceptibility, $\chi_s(\omega) = \chi'_s(\omega) - i\chi''_s(\omega)$, over the frequency range 200 Hz–1 MHz, of a magnetic colloid consisting of spherical beads of 200 nm diameter, containing maghemite ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticles, have been presented. The relaxation properties of the colloid are investigated and it is demonstrated that the absorption peak of the $\chi''_s(\omega)$ component is due to Néel relaxation of the inner maghemite particles.

It is also shown that, unlike in the case of ferrofluids, the general trend is for the amplitude of the static susceptibility, χ_{0S} , to increase with increasing polarizing field, H .

Finally, the $\chi'_s(\omega)$ and $\chi''_s(\omega)$ data is analysed by means of the Cole–Cole plot and a measure of Cole–Cole distribution parameter, α_s , determined.

Acknowledgements

Acknowledgement is due to B.K.P. Scaife for useful discussions and also to ESA for the part funding of this work.

References

- [1] F. Montagne, O. Mondain-Monval, C.H. Pichot, H. Mozzanega, A. Elaissari, J. Magn. Mater. 250 (2002) 302.
- [2] J. Baudry, E. Bertrand, N. Lequeux, J. Bibette, J. Phys. Cond. Matt. 16 (2004) 469.
- [3] www.ademtech.com.
- [4] W.F. Brown, J. Appl. Phys. 34 (1963) 1319.
- [5] L. Néel, Ann. Géophys. 5 (1949) 99.
- [6] E. Kneller, E.P. Wohlfarth, J. Appl. Phys. 37 (1966) 4816.
- [7] M.I. Shliomis, Sov. Phys. Usp. 17 (1974) 53.
- [8] M.I. Shliomis, Yu.L. Raikher, IEEE Trans. Magn. Mag. 16 (1980) 237.
- [9] P. Debye, Polar Molecules, The Chemical Catalog Company, New York, 1929.
- [10] M.M. Maiorov, Magnetohydrodynamics (cover-to-cover translation of Magnitnaia Hidrodinamika) 2 (1979) 21, 135.
- [11] P.C. Fannin, B.K.P. Scaife, S.W. Charles, J. Magn. Mater. 72 (1988) 95.
- [12] P.C. Fannin, J. Mol. Liq. 69 (1996) 39.
- [13] P.C. Fannin, Acta Phys. Polon. A 37 (2000) 3, 591.

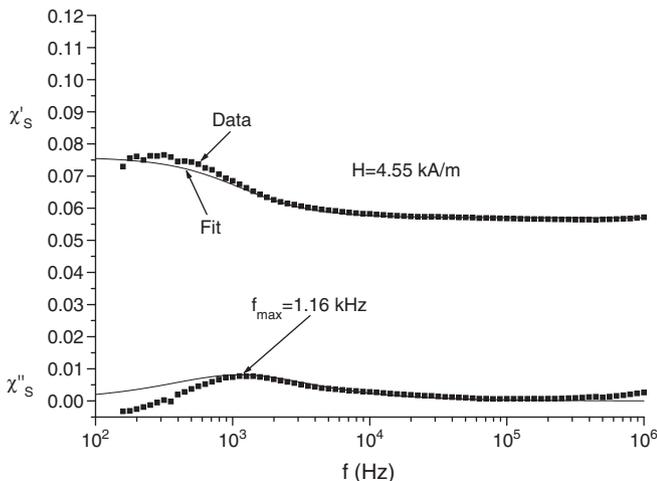


Fig. 6. Plot of data (Sample 2) obtained for $H = 4.55$ kA/m and corresponding fit obtained using Eq. (10) with $\alpha = 0.1$.

- [14] K.S. Cole, R.H. Cole, *J. Chem. Phys.* 9 (1941) 341.
- [15] P.C. Fannin, A.T. Giannitsis, *J. Mol. Liq.* 114 (2004) 8.
- [16] Y.L. Raikher, M.I. Shliomis, *Sov. Phys. JETP* 40 (1975) 526.
- [17] M.I. Shliomis, Yu.L. Raikher, *IEEE Trans. Magn. Mag.* 16 (1980) 237.
- [18] P.C. Fannin, B.K.P. Scaife, S.W. Charles, *J. Phys. E Sci. Instrum.* 19 (1986) 238.
- [19] S. Roberts, A.R. von Hippel, *J. Appl. Phys.* 17 (1946) 610.
- [20] P.C. Fannin, T. Relihan, S.W. Charles, *J. Phys. D Appl. Phys.* 28 (1995) 10, (2003).

Irreversible Shear-Activated Aggregation in Non-Brownian Suspensions

J. Guery,¹ E. Bertrand,^{1,*} C. Rouzeau,¹ P. Levitz,² D. A. Weitz,³ and J. Bibette¹

¹*ESPCI, UMR 7612, Laboratoire Colloïdes et Matériaux Divisés, ParisTech, 10 rue Vauquelin, Paris, F-75005 France; CNRS, UMR 7612, Paris, F-75005 France; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMR 7612, Paris, F-75005 France*

²*Laboratoire Physique de la Matière Condensée, CNRS UMR 7643, Ecole Polytechnique, ParisTech, 91128 Palaiseau Cedex, France*

³*Department of Physics, Harvard University, Cambridge, Massachusetts 02138, USA*

(Received 30 May 2005; published 19 May 2006)

We have studied the effect of shear on the stability of suspensions made of non-Brownian solid particles. We demonstrate the existence of an irreversible transition where the solid particles aggregate at remarkably low volume fractions ($\varphi \approx 0.1$). This shear-induced aggregation is dramatic and exhibits a very sudden change in the viscosity, which increases sharply after a shear-dependent induction time. We show that this induction time is related exponentially to the shear rate, reflecting the importance of the hydrodynamic forces in reducing the repulsive energy barrier that prevents the particles from aggregating.

DOI: [10.1103/PhysRevLett.96.198301](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.96.198301)

PACS numbers: 82.70.Kj, 83.80.Hj

Stable dispersions of solid particles in a fluid are particularly important in many technologies. For small particles, in the colloidal regime, stability is determined by a repulsive barrier in the interparticle potential, and is dictated by the effect of thermal energy. This regime is well understood. By contrast, for larger particles, thermal effects are no longer dominant. Instead, stability is usually dictated by the consequences of processing or aging, for which shear or gravitational forces are crucial. When the suspended particles are strongly repulsive at any distance and interact solely by volume exclusion, the concentrated suspensions can exhibit dramatic changes in their rheological properties with increasing shear rates. The corresponding behaviors range from continuous shear thickening [1] to shear-induced jamming [2,3], which can have a significant impact on the processing of these suspensions. For instance, for spherical particles, shear-induced jamming can occur at volume fraction above roughly $\varphi = 0.4$ [1], whereas for anisotropic particles, this can occur at substantially lower values of φ [2]. However, technologically important dispersions are rarely purely repulsive. The corresponding particles are generally repulsive at long distances and slightly attractive at shorter ones. In this case, shear forces due to processing can induce even more dramatic and irreversible changes in the texture of the material, transforming it from a fluid into a highly elastic paste [4]. This transition can occur at very low volume fractions, for spherical particles [4] as much as for highly anisotropic ones [5], making the processing of these materials extremely delicate. This behavior is well known to anyone who cooks; some cold creams can be gently stirred with a spoon, whereupon they suddenly become very viscous and nearly solidlike. For instance, this happens during the first steps of churning, which consists of stirring a milky cream to make butter [6]. While this behavior is quite generic, its physical origin has never been explored.

In this Letter, we demonstrate the existence of an irreversible aggregation activated exclusively by shear, in

suspensions of non-Brownian solid particles at remarkably low volume fraction. We use slightly repulsive particles that exhibit a good kinetic stability at rest. They consist of oil globules containing water droplets, the oil being partially solidified at room temperature. The observed aggregation under shear is dramatic, exhibiting a very sudden onset where the viscosity increases sharply after a shear-dependent induction time. We show that, unexpectedly, this induction time is exponentially related to the shear rate. This reflects the importance of the hydrodynamic forces in reducing the repulsive energy barrier that prevents the particles from aggregating. This also proves that the pairwise aggregation of particles under shear is controlled by the height of this energy barrier and is the kinetically limiting step for the observed aggregation. These shear-induced effects also have consequences on the appearance of the suspension: even at these low volume fractions, large-scale aggregates develop in the sample.

We make a double emulsion consisting of water droplets dispersed in larger globules of crystallizable oil [7]. The use of a double emulsion enables us to tune the kinetics of aggregation under shear by changing the quantity of internal droplets within the globules. Indeed, this aggregation takes place too rapidly to be studied experimentally when the oil globules contain no water droplet. The oil used is comprised of many components with a wide range of melting temperatures, from 30 °C to -20 °C. As a result, upon solidification, it forms a soft waxy solid. The emulsion is prepared at high temperature (65 °C) where the oil is fully liquid. At this temperature, the emulsion remains stable under shear and is easily processed. We prepare a nearly monodisperse water-in-oil-in-water double emulsion using a two-step procedure [8,9]. The dispersed phase is water with 0.1M NaCl, and the surfactant is a sorbitan monooleate [10]. We use a thermoregulated Couette-type device [11] to make an inverse water-in-oil emulsion with a droplet size of 400 nm with 25% polydispersity [12]. This inverse emulsion is diluted with the crystallizable oil to a

volume fraction φ_i of 40% and is used as the dispersed phase for the second step of the emulsification procedure. Following the same strategy, we prepare a double emulsion of this dispersed phase in an aqueous phase containing a surfactant, which is a diblock poly(ethylene glycol) (PEG) phospholipid at 8 wt %, with glucose at 2.9 wt %, to match the osmotic pressure of the internal water phase [13], and alginate at 1.5 wt % as a thickener for controlling the globule size during emulsification. We end up with a nearly monodisperse double emulsion consisting of globules of diameter $d_g \approx 4.5 \mu\text{m}$ with less than 20% polydispersity [11,12]. The double emulsion is diluted with 2.9 wt % glucose in water at 65°C to make samples with final volume fractions φ_g varying from 10% to 20%. These samples are cooled and stored at 5°C for at least 12 hours to ensure that the oil has reached its final solidified state. Once the emulsion has cooled and the oil has solidified, the emulsion remains kinetically stable. This proves the repulsive nature of the interactions between the globules. However, there is a slight but noticeable change in the texture of the globules. The spherical shape of the warm fluid globules evolves into a slightly rough and rippled surface as shown in Fig. 1, where the same emulsion is imaged with a microscope at both 65°C (a) and room temperature (b). The rheological behavior of the double emulsion also changes dramatically on cooling. It is no longer stable under shear, but is instead highly susceptible to shear-induced aggregation.

We measure the time evolution of the viscosity η using a controlled-shear rate rheometer with a cone-plate geometry and a gap of $45 \mu\text{m}$ [14]. In Fig. 2 we show the time evolution of η measured for different applied shear rates, $\dot{\gamma}$. It remains essentially constant for an induction time t_c that depends on $\dot{\gamma}$, whereupon it suddenly and sharply increases by a factor of about 3. Although the measured viscosity increases only by a factor 3, the actual change in the state of the material is much more pronounced. Inside the gap of the rheometer, the sample turns from a fluid to a solidlike paste. We have measured the stress as a function of the applied shear rate for a sample that has undergone this irreversible transition (results not shown). A minimum stress value of about 1 Pa is required to achieve even the smallest shear rates, confirming the solidlike structure of

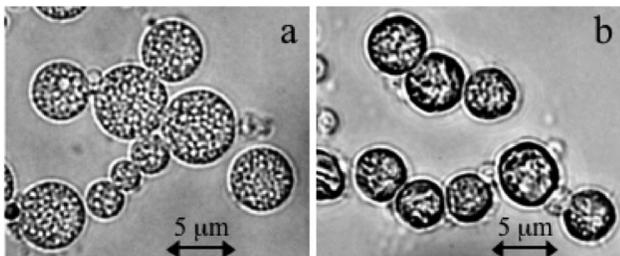


FIG. 1. Double emulsions imaged with an optical microscope ($\times 100$ objective) at 65°C (a) and at room temperature (b).

the sample. Above this minimum stress value, the flow properties of the sample seem to be much more complex than those of a classic yield-stress material. These properties have not been further investigated since, in this Letter, we focus on the early stages of the irreversible aggregation.

Considerable insight into the nature of this irreversible transition is obtained by directly imaging the structures formed in the sample while shearing in a controlled-shear rate “rheoscope” with a cone-plate geometry and a gap of $45 \mu\text{m}$ [15]. A precursor of the onset of the viscosity increase is seen well before it occurs: large voids develop where the globule concentration is significantly reduced, as seen by comparing Figs. 3(a) and 3(b), which correspond to the early time evolution of the sample for a shear rate of 80 s^{-1} . As the shear is applied for a longer time, the viscosity increases sharply and these voids (white regions) become more pronounced, as shown in Fig. 3(c). The sharp viscosity increase following the induction time takes place in between Figs. 3(b) and 3(c). Ultimately, the sample reveals the formation of solidlike aggregates or clusters of large length scale, at least that of the $45 \mu\text{m}$ gap, as shown by the dark regions in Fig. 3(d). Similar behavior is observed for larger applied shear rates. However, the induction time t_c is reduced with increasing $\dot{\gamma}$ and the typical length scale of the final solid clusters is also significantly reduced as shown in Figs. 3(e) and 3(f). Despite the fact that this phenomenon is strongly nonequilibrium and irreversible, the structures formed may recall those produced by equilibrium phase transitions such as spinodal decomposition. Large length-scale structures are formed as the transition is initiated, and they coarsen as the transition proceeds. Moreover, the final length scale decreases as $\dot{\gamma}$ increases, reminiscent of the behavior expected for a deeper temperature quench in a demixing system. Here,

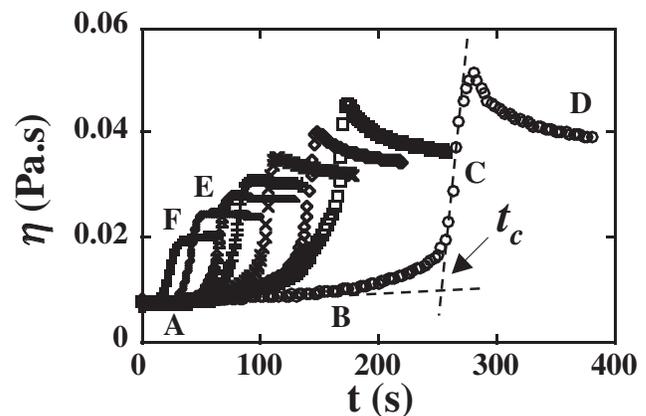


FIG. 2. Evolution of the viscosity of crystallizable double emulsions ($d_g \approx 4.5 \mu\text{m}$, $\varphi_g = 13\%$) sheared at different shear rates: 80 s^{-1} (\circ); 100 s^{-1} (\square); 120 s^{-1} (\diamond); 140 s^{-1} (\times); 160 s^{-1} ($+$); 180 s^{-1} (\triangle); 200 s^{-1} (\bullet); 300 s^{-1} (\blacksquare); the dotted lines correspond to the definition of the induction time t_c (see text for details), in the case of a 80 s^{-1} shear rate; the capital letters refer to the photographs of Fig. 3

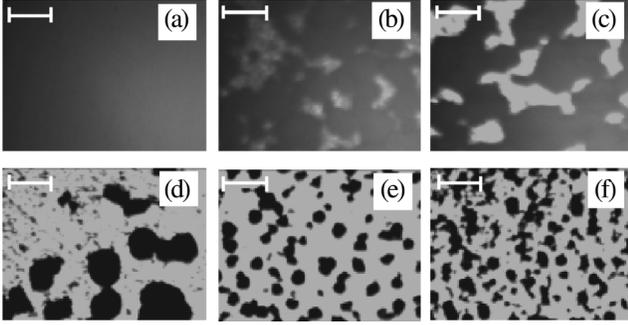


FIG. 3. Time evolution of crystallizable double emulsions imaged with a microscope during shear: (a)–(d) correspond to a shear rate of 80 s^{-1} . (e) is the final state after shearing at 200 s^{-1} . (f) is the final state after shearing at 300 s^{-1} . The scale corresponds to $200 \mu\text{m}$.

both the appearance and the evolution of these large length-scale clusters must reflect the role of the macroscopic flow behavior. This behavior is very complex and not well understood. However, we believe that the interspersed solid and fluid regions in the dispersion are responsible for this flow behavior.

Quantifying the dependence of the induction time on the applied shear rate is essential to determine the origin of this unusual behavior. We do so by defining a more precise value for the induction time, t_c : we linearly extrapolate both the initial slow increase in viscosity and the rapid rise, and determine t_c from the intersection of these two extrapolations, as shown in Fig. 2. To capture the dependence of the transition on the main control parameter, we plot t_c as a function of $\dot{\gamma}$ for different volume fractions in Fig. 4. Surprisingly, the induction time depends exponentially on $\dot{\gamma}$ for all values of φ_g and is well described by the expression $t_c = t_0 \exp(-\frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_c})$ where $\dot{\gamma}_c$ is a critical value of the shear rate for a given volume fraction and t_0 is a prefactor (with the dimension of a time). Experimentally, t_0 may depend slightly on $\dot{\gamma}$, but this dependence can be

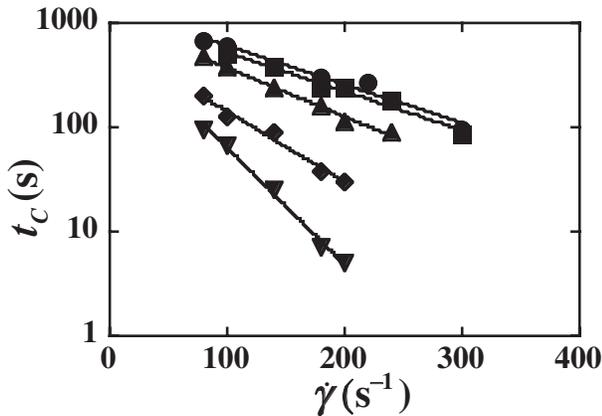


FIG. 4. Evolution of t_c (in log scale) with $\dot{\gamma}$ for different φ_g : 10% (●); 11.5% (■); 13% (▲); 15% (◆); 17% (▼); the solid lines are exponential fits.

neglected by comparison with the exponential one. A clear decrease of $\dot{\gamma}_c$ with increasing φ_g is observed. This precludes any measurement when φ_g becomes too large since the aggregation is almost instantaneous.

This exponential dependence is unexpected and has never been observed previously. An algebraic dependence, with an exponent between -1 and -0.75 , is typically encountered for the aggregation time of two spheres when convection is the dominant transport mechanism [16]. Experimentally, for dispersions under shear, an algebraic dependence on the shear rate is typically measured for the induction time before aggregation, and the exponent is close to -1 [17,18]. However, if we try to fit our experimental data to an algebraic decay, we find an exponent ranging between -3.5 and -1.5 , depending on the volume fraction considered. This precludes any interpretation in terms of a purely convective phenomenon.

The exponential dependence is reminiscent of a thermally activated Arrhenius process, characterized by an attempt frequency and an energy barrier. However, there is no apparent thermal activation here. Instead, the effective thermalization, which generates an attempt frequency for the pairwise aggregation, must arise from the shear itself. The shear flow causes the globules to run into each other at some frequency, which depends on $\dot{\gamma}$. Similarly, thermal effects alone are not sufficient to overcome the activation barrier, since the suspension is kinetically stable at rest. Instead, the hydrodynamic forces between the colloidal particles are essential to reduce the activation barrier and enable the observed irreversible aggregation. Therefore, the exponential dependence must reflect the decrease in the energy barrier between the particles caused by the hydrodynamic energy, $\eta \dot{\gamma} a^2 \delta$, where δ is the microscopic length over which the interparticle repulsive potential is effective and a is the particle radius. This concept of reduction of an energy barrier by the shear has also been used by Ozon *et al.* [19] to describe a completely different system, the rejuvenation of a colloidal glass. In our experiments, the shear-induced reduction in the repulsive barrier can be easily estimated: the barrier is reduced by amounts ranging from $1k_B T$ to $8k_B T$ (where $k_B T$ is the thermal energy), depending on the set of experiments considered. Following this approach, the average time for two particles to aggregate irreversibly is given by $\tau = \tau_0 \exp(\frac{E - \eta \dot{\gamma} a^2 \delta}{k_B T})$, where τ_0 is the pairwise attempt time generated by the shear and E the repulsive energy barrier in the absence of shear. As already mentioned, in the absence of an energy barrier, the pairwise attempt time depends algebraically on $\dot{\gamma}$ with an exponent close to -1 [16], so we take $\tau_0 \propto \frac{1}{\dot{\gamma}}$. This leads to $\tau \propto \frac{1}{\dot{\gamma}} \exp(-\frac{\eta \dot{\gamma} a^2 \delta}{k_B T})$.

The exact relation between the experimental induction time t_c and the theoretical time τ is uncertain. A hypothesis based on a reaction-limited cluster aggregation (RLCA) is certainly a simplification in view of our observations under

the microscope, which suggest a more cooperative mechanism. However, with this hypothesis, $1/t_c \propto (1/\tau)^{F(\varphi_g)}$, where $F(\varphi_g)$ is the probability of a particle to belong to a final solidlike cluster, at a volume fraction φ_g . The exact analytical form of $F(\varphi_g)$ is unknown, but F must be an increasing function of φ_g . This leads to the theoretical expression $t_c \propto \frac{1}{\dot{\gamma}^{F(\varphi_g)}} \exp\left[\frac{-\eta\dot{\gamma}a^2\delta}{k_B T} F(\varphi_g)\right]$. This formula is in very good agreement with the experimental exponential dependence of t_c on $\dot{\gamma}$. Indeed, since $0 \leq F(\varphi_g) \leq 1$, the preexponential dependence on $\dot{\gamma}$ is negligible compared with the exponential one. This model may also explain the experimental decrease of $\dot{\gamma}_c$ with increasing φ_g since F is an increasing function of φ_g . However, a deeper understanding of the shear hydrodynamics would be required to improve this prediction, particularly the form of the probability $F(\varphi_g)$.

In the existing literature on the aggregation of suspensions under shear, the pairwise aggregation is driven only by the hydrodynamic doublet formation rate. This leads to an algebraic scaling of the induction time before aggregation on the shear rate, with an exponent close to -1 . However, in our experiments, there is an energy barrier that must be overcome in order to form irreversible doublets. The hydrodynamic energy induced by the shear provides the extra energy required to overcome this barrier. We emphasize the similarity between our experimental system and that described by Legrand *et al.*, who use an algebraic fitting with an exponent close to -1 [18]. Indeed, they deal with bitumen emulsions that do not aggregate unless shear is applied, and thus there should also be an energy barrier to overcome in their case. However, their published data can be perfectly fitted to an exponential decay. Moreover, the exponential fit is even better, as it describes the slight concavity that appears on their experimental curves in a log-log representation [18]. In contrast, we cannot use an algebraic decay with an exponent -1 to fit our data. Thus, by contrast to the data of Legrand *et al.* [18], our experimental fit with an exponential decay is not merely an improvement of a more commonly used approach but is the only way to describe the behavior of our system.

For the final solidlike aggregates, we speculate that the shear-induced forces, which drive the globules together, also induce plastic deformation of their surfaces, allowing nucleation of liquid bridges between fluid portions of the globules. Indeed, if the final aggregated state is rewarmed, the globules lose their integrity and form a single continuous structure, which nevertheless still contains the small internal water droplets. Finally, our ability to control and characterize this shear-activated aggregation rests in large measure on our use of a crystallizable oil to form double emulsions that are neither too strongly nor too weakly repulsive. However, this type of behavior is ubiquitous and occurs in a wide range of technological materials

from food to emulsified coatings containing solid particles [18]. The most intriguing result of this work is certainly the existence of the exponential relation between the induction time before aggregation and the shear rate. We have shown that this original behavior can be interpreted in terms of the reduction, by the hydrodynamic forces, of the repulsive energy barrier that prevents the particles from aggregating.

We thank F. Leal-Calderon, C. Goubault, L. Leibler, B. Cabane, K. Andrieux, and H. Stone for helpful discussions.

*Corresponding author.

Email address: emanuel.bertrand@espci.fr

- [1] R. L. Hoffman, *Trans. Soc. Rheol.* **16**, 155 (1972).
- [2] E. Bertrand, J. Bibette, and V. Schmitt, *Phys. Rev. E* **66**, 060401 (2002).
- [3] C. B. Holmes, M. E. Cates, M. Fuchs, and P. Sollich, *J. Rheol. (N.Y.)* **49**, 237 (2005).
- [4] V. Trappe, V. Prasad, L. Cipelletti, P. N. Segre, and D. A. Weitz, *Nature (London)* **411**, 772 (2001).
- [5] S. Lin-Gibson, J. A. Pathak, E. A. Grulke, H. Wang, and E. K. Hobbie, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 048302 (2004).
- [6] J. M. V. Blanshard and P. Lillford, *Food Structure and Behavior* (Academic, New York, 1987).
- [7] The crystallizable oil used is a mixture of glycerides of saturated fatty acids from C8 to C18 (Suppocire DM from Gatefossé).
- [8] C. Goubault, K. Pays, D. Olea, P. Gorria, J. Bibette, V. Schmitt, and F. Leal-Calderon, *Langmuir* **17**, 5184 (2001).
- [9] C. Mabile, F. Leal-Calderon, J. Bibette, and V. Schmitt, *Europhys. Lett.* **61**, 708 (2003).
- [10] The surfactant used to stabilize the W/O emulsion is a PEG-30 dipolyhydroxystearate (Arlacel P135 from Uniqema) and the one used for the O/W emulsion is a mixture of mono-, di-, and triglycerides and of mono-, di-, and trimesters of PEG and fatty acids (Gelucire 4414 from Gatefossé).
- [11] C. Mabile, V. Schmitt, P. Gorria, F. Leal Calderon, V. Faye, B. Deminière, and J. Bibette, *Langmuir* **16**, 422 (2000).
- [12] The size distribution of the emulsions is measured by static light scattering (Malvern Mastersizer granulometer).
- [13] M. P. Aronson and M. F. Petko, *J. Colloid Interface Sci.* **159**, 134 (1993).
- [14] The evolution of viscosity with time at constant shear rate is measured with a rheometer Rheometrics RFSII.
- [15] We use a Haake Rheoscope (Thermo Electron Corporation), which is a combination of an optical microscope, a digital video camera, and a rheometer. It allows for the synchronous recording of both the rheological properties and the changes in the apparent structure of a sample.
- [16] A. A. Potanin, *J. Colloid Interface Sci.* **145**, 140 (1991).
- [17] A. Omari, G. Chauveteau, and R. Tabary, *Colloids Surf. A* **225**, 37 (2003).
- [18] J. Legrand, M. Chamerois, F. Placin, J. E. Poirier, J. Bibette, and F. Leal-Calderon, *Langmuir* **21**, 64 (2005).
- [19] F. Ozon, T. Narita, A. Knaebel, G. Debrégeas, P. Hébraud, and J.-P. Munch, *Phys. Rev. E* **68**, 032401 (2003).

Acceleration of the recognition rate between grafted ligands and receptors with magnetic forces

J. Baudry*, C. Rouzeau, C. Goubault, C. Robic, L. Cohen-Tannoudji, A. Koenig, E. Bertrand, and J. Bibette

Laboratoire Colloïdes et Matériaux Divisés, Unité Mixte de Recherche 7612, Université Pierre et Marie Curie—Centre National de la Recherche Scientifique—École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles, 10 Rue Vauquelin, F-75005 Paris, France

Communicated by Paul M. Chaikin, New York University, New York, NY, September 12, 2006 (received for review February 1, 2006)

When ligands and receptors are both attached on surfaces, because of the restriction of configurational freedom, their recognition kinetics may be substantially reduced as compared with freely diffusing species. In nature, this reduction may influence the efficiency of the capture and adhesion of circulating cells. Here we show that similar consequences are observed for colloids grafted with biomolecules that are used as probes for diagnostics. We exploit Brownian magnetic colloids that self-assemble into linear chains to show also that the resulting one-dimensional confinement considerably accelerates the recognition rate between grafted receptors and their ligands. We propose that because confinement significantly augments the colliding frequency, it also causes a large increase in the attempt frequency of the recognition. This work gives the basis of a rapid, homogeneous, and highly sensitive bioanalysis method.

association rate | bioassay | magnetic colloids | specific adhesion

Diagnostics techniques are generally based on building a specific immunocomplex structure in which the antigen to be detected is recognized by two antibodies (1–8). Early immunochemistry was based on precipitation of large complexes made of antibodies and antigens. Following the same track, the use of Brownian particles significantly improved the detection sensitivity, because of the increase in scattered light when aggregation between grafted colloids takes place. As the most simple but very generic example, let us consider an antigen *Ag* having two different epitopes for two antibodies, *A* and *B*. To reveal the presence of such antigen, particles grafted with *A* and *B* antibodies are mixed with the sample to be analyzed. The formation of small clusters is then expected, at a rate depending on many factors. Change in light scattering due to the presence of these small clusters will reveal the existence of sandwich-like structures: *A–Ag–B* (latex agglutination immunoassay). These homogeneous assays, as opposed to heterogeneous assays in which washing steps are necessary before detection, are today by far the most simple and straightforward assays. They were introduced >40 years ago (2), and today several hundred different tests based on this principle can be found on the market, mainly for infectious disease detection and protein quantification, as long as the antigen concentration to be detected is ≥ 1 nmol/liter (1). Meanwhile, many diagnostic assays require sensitivity in the picomolar range. They are presently performed by using a heterogeneous approach (such as ELISA) (1). For that range of concentration, if we were still to consider the same homogeneous approach, it would in principle take too long. Indeed, decreasing the number of antigens to be detected implies also decreasing the number of particles in solution,[†] and thus the particles' colliding frequency. Therefore, at these very low antigen concentrations, the encounter frequency between species becomes a critical issue to consider.

In this work, we demonstrate conditions that accelerate specific recognition between grafted ligands and receptors, giving the basis of a rapid, homogeneous, and highly sensitive bioanalysis method. Under a homogeneous magnetic field, Brownian magnetic colloids can transport and hold the reactants in the

vicinity, considerably increasing the colliding frequency. Because the used particles are superparamagnetic with a high susceptibility, the resulting magnetic colloidal forces induce a fast chaining process (9): the time scale for bringing two colloidal particles at contact in the presence of a magnetic field *H* and at an initial volume fraction ϕ , is given by

$$\tau = \frac{6\eta}{\phi\mu_0\chi^2 H^2}, \quad [1]$$

where η is the viscosity of the surrounding fluid, μ_0 is the vacuum magnetic permeability, and χ is the magnetic susceptibility of the particles (10). For typical experiments ($B = \mu_0 H = 20$ mT, $\chi = 0.95$, $\phi = 0.03\%$, and $\eta = 0.001$ Pa·s), the time τ to nucleate chains is < 1 s. These chains persist as long as the field is maintained and allows for rapid formation of ligands–receptors–ligands links between pairs of particles within the chain. To quantify the influence of this one-dimensional confinement on the recognition rate, we detect the resultant colloidal doublets that remain after the field is switched off, as illustrated in Fig. 1.

As a quantitative demonstration, we use ovalbumin as a model ligand. Colloidal magnetic particles 200 nm in diameter (Ademtech, Pessac, France) are grafted with polyclonal IgG rabbit anti-ovalbumin antibodies as a model for receptors (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France), with ≈ 30 antibodies per particle. The colloids volume fraction ϕ is 0.03% and corresponds to a particle concentration C_p of 120 pmol/liter. A final concentration C_{ova} of ovalbumin is adjusted, each sample is first incubated for 1 min at 25°C, and then a homogeneous field of 20 mT is applied for 5 min. The same experiment is also performed with zero field. Optical density, defined as $OD = -\log(I/I_0)$, where *I* and I_0 are, respectively, the transmitted and incident light intensity, is measured at a wavelength of 700 nm before and after the field is applied. The difference is plotted in Fig. 2 as a function of C_{ova} . In the absence of field, the signal is low, reflecting the very limited number of persisting doublets and therefore the inefficiency of free Brownian collisions on that time scale. By contrast, in the presence of a 20-mT field, a turbidity difference can be measured down to picomolar concentrations. For C_{ova} much less than C_p , only doublets of particles can form, allowing a straightforward determination of the absolute concentration of links C_{link} from this turbidity difference (see *Methods*). The slope of C_{link} as a function of C_{ova} in the presence of 20-mT magnetic field is found to be close to 1 (Fig. 3), which demonstrates that essentially all of the antigens are

Author contributions: J. Bibette designed research; J. Baudry, C. Rouzeau, C.G., C. Robic, L.C.-T., A.K., and E.B. performed research; J. Baudry, C. Rouzeau, C.G., C. Robic, L.C.-T., A.K., and E.B. analyzed data; and J. Baudry and J. Bibette wrote the paper.

The authors declare no conflict of interest.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: jean.baudry@espci.fr.

[†]In the regime of low antigen concentration, the particle number is large compared with the antigen number, so only doublets of particles can form. The light scattered by nonaggregated beads will add to the signal originating from the doublets. Turbidity measurements typically resolve better than a 1% intensity variation, so the concentration of beads in solution must not exceed 100 times the concentration of antigen.

© 2006 by The National Academy of Sciences of the USA

capture of the antigen on the beads. For free antigen in solution ($R_B = 5$ nm, $r_p = 0.25$ nm) and homogeneously reactive spheres ($R_A = 100$ nm, concentration 10^{-10} M), $k = 3 \times 10^{10}$ M⁻¹·s⁻¹, and $f = 0.2$, which leads to τ_1 of ≈ 2 s. The second step consists of bridging one colloidal particle, which has already captured one antigen, with another particle. In the absence of field, only free diffusion is involved, and τ_2 is estimated to be ≈ 1 min (homogeneously reactive particles at concentration 10^{-10} M with radius $R_B = 100$ nm and $r_p = 0.25$ nm, so $k = 6 \times 10^9$ M⁻¹·s⁻¹ and $f = 3 \times 10^{-2}$). Note that these two predicted time scales are certainly underestimated and should be considered as upper limits, because the assumption of uniformly reactive spheres is too optimistic. We have indeed measured 30 antibodies per particle, which is far below the estimated monolayer threshold of $\approx 1,000$ per particle (‡, 13).

In our experiment, the first step requires an incubation time of < 1 min, in good agreement with the previous diffusion-based estimation. By contrast, in the absence of field, the second step would require > 8 h, as deduced from the slope of Fig. 3. We can therefore conclude that the previous diffusion-based model does not hold once grafted biomolecules are concerned. Some repulsive colloidal forces could be responsible for this slowdown; however, because we do not find any role of the field strength above the onset of chaining, we can rule out this contribution as a major effect. We believe that the immobilization of the biomolecules onto colloidal surfaces causes restrictions to their dynamics, which drops further down the steric factor as compared with a nongrafted case. To improve the rate of colloidal bridging, we must therefore augment the attempt frequency. One simple way consists of increasing the particles' colliding frequency by locally increasing the particle concentration; this result is readily obtained from chaining magnetic colloids with magnetic field. As deduced from our experiment, the measured

agglutination rate is increased by a factor of 100 above the onset of chaining. This effect shifts the detection threshold of the latex agglutination immunoassay homogeneous bioassay down to 1 pmol/liter, making these simple methods as sensitive as heterogeneous approaches. However, although confinement has significantly increased the agglutination rate, it also raises the delicate question of the coupling between translation and rotation in such confined geometry and therefore the ultimate limitation of this approach.

This letter gives the basis of a previously unreported homogeneous assay for protein detection with high sensitivity. Indeed, because magnetic colloids can immediately self assemble under field, they are very efficient carriers, considerably reducing the diffusion time; most importantly, magnetic forces can hold colloids and reactants in vicinity, which increases the sampling frequency, allowing a more rapid reaction. These results also demonstrate the relatively slower process of recognition when both ligand and receptor are grafted onto colloidal surfaces.

Methods

Turbidity measurement relies on the fact that a doublet scatters more light than two separate beads. If α is the ratio of the total scattered light intensity by one doublet to the total scattered light intensity by one particle, the optical density difference before and after the magnetic field is applied will be $OD_a - OD_b = h\pi a^2 Q_{\text{scat}}(\alpha - 2)n_2/2.3$, where h is the optical path length, a is the particle radius, Q_{scat} is the scattering efficiency of one particle, and n_2 is the density number of doublets. $Q_{\text{scat}} = 0.23$ and $\alpha = 2.45$ are numerically computed by using Mie Theory (14) using freely available software (<ftp://ftp.eng.auburn.edu/pub/dmckwski/scatcodes/index.html>) with the measured particle optical index ($1.78 + 0.02i$ at 633 nm) and the measured particle diameter (200 nm).

We thank P. Fannin and A. Franceschini for fruitful discussions and I. Genois for technical help. This work was supported by Stago Diagnostica Company and the Bioengineering Program of the French Ministry of Research.

*Nevertheless, as shown by Berg and Purcell (13), a sphere partially covered by receptors behaves almost like a uniformly reactive sphere. Indeed, before diffusion moves the reactants out, they try many orientations during repeated encounters. The same argument explains why the steric factor f is higher than a purely geometrical estimation.

1. Price CP, Newman DJ (1997) *Principles and Practice of Immunoassay* (MacMillan Reference, London).
2. Singer JM, Plotz CM (1956) *Am J Med* 21:888–892.
3. Van Weemen BK, Schuurs AHW (1971) *FEBS Lett* 15:232–236.
4. Lee GU, Metzger S, Natesan M, Yanavich C, Dufrene YF (2000) *Anal Biochem* 287:261–271.
5. Thomas NE, Coakley WT (1996) *Ultrasound Med Biol* 22:1277–1284.
6. Ullman E, Kirakossian H, Singh S, Wu Z, Irvin B, Pease J, Switchenko A, Irvine J, Dafforn A, Skold C, Wagner D (1994) *Proc Natl Acad Sci USA* 91:5426–5430.
7. Benecky MJ, Post DR, Schmitt SM, Kochar MS (1997) *Clin Chem* 43:1764–1770.
8. Nam JM, Thaxton CS, Mirkin CA (2003) *Science* 301:1884–1886.
9. Calderon FL, Stora T, Monval OM, Poulin P, Bibette J (1994) *Phys Rev Lett* 72:2959–2962.
10. Promislow JHE, Gast AP, Fermigier M (1995) *J Chem Phys* 102:5492–5498.
11. Northrup SH, Erickson HP (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:3338–3342.
12. Berg OG (1985) *Biophys J* 47:1–14.
13. Berg HC, Purcell EM (1977) *Biophys J* 20:193–219.
14. Mackowski DW, Mishchenko MI (1996) *J Opt Soc Am A* 13:2266–2278.

